

Fremdkomponenten im Aroma von Trauben und Weinen interspezifischer Rebsorten

I. Die Erdbeernote

von

A. RAPP, W. KNIPSER¹⁾, L. ENGEL, H. ULLEMAYER und W. HEIMANN²⁾

Off-flavour compounds in the berry and wine aroma of grapevine hybrids I. The strawberry-like flavour

S u m m a r y. — Using GC-MS together with the "sniffing-technique", the compounds responsible for the strawberry-like off-flavour — 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanone and 2,5-dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanone — were identified for the first time in berries and wines of interspecific grapevine breedings. Thus, an objective diagnosis method can be developed in order to recognize these off-flavour compounds at the stage of the seedling.

Both compounds could be detected neither in *Vitis vinifera* varieties nor in the various *V. riparia* clones examined. On the other hand, they are present in berries of the American wild species *V. labrusca* and in the *V. labrusca* cv. Niagara. From these results it is concluded that the cv. Vi 5861, the mother of the newbreeding Castor, did not originate by self pollination from the cv. Oberlin 595, but is a crossing from Oberlin 595 and a *V. labrusca* descendant.

Einleitung

Die Züchtung pilzresistenter Rebsorten, die sich besonders in der Qualität ihrer Weine mit den europäischen Sorten messen können, gehört aus ökonomischen und ökologischen Gründen zu den wichtigsten Aufgaben der deutschen Rebenzüchter.

Die durch Kreuzung amerikanischer Wildreben mit europäischen Kultursorten (*Vitis vinifera*) erhaltenen interspezifischen Neuzuchten besitzen trotz mehr als hundertjähriger züchterischer Arbeit meist noch deutlich wahrnehmbare Aromanoten (Fremdtöne), die bei Weinen der Europäer-Reben bisher unbekannt sind.

Während es gelungen ist, die besonders abstoßenden Geruchs- und Geschmackseigenschaften, wie den Fuchs-, Gras- und Krautton praktisch vollständig herauszukreuzen, treten Aromanoten, die von Weintrinkern teils als angenehm empfunden, teils abgelehnt werden, noch relativ häufig auf. Hierzu gehört u. a. der Erdbeerton.

Im Hinblick auf das starke Interesse, das dieser Aromanote für die Beurteilung von Neuzuchten zukommt, wurde die vorliegende Arbeit in Angriff genommen. Sie hatte zum Ziel, mit Hilfe moderner, analytischer Verfahren die chemische Natur des Erdbeertons aufzuklären und damit die Grundlagen für eine Aromadiagnose im

¹⁾ Auszug aus der Dissertation (in Vorbereitung) von W. KNIPSER, Universität Karlsruhe.

²⁾ Institut für Lebensmittelchemie der Universität Karlsruhe.

Sämlingsstadium zu erarbeiten. Die durch eine solche, objektive Methode ermöglichte Frühselektion könnte die Effizienz der züchterischen Arbeit erheblich steigern.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

a. Die Trauben stammten aus dem Sortiment der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung (Jahrgänge 1977 und 1978).

b. Die Weine der verschiedenen Rebsorten wurden im Versuchskeller der BFAR ausgebaut und abgefüllt (Jahrgänge 1974—1978). Weine interspezifischer Rebsorten (Ringversuch des Forschungsrings des Deutschen Weinbaues) wurden auch von den Landesanstalten und vom Weinbau-Versuchsring „Untere Nahe“ zur Verfügung gestellt.

c. Die Erdbeeren (Sorte unbekannt) wurden unmittelbar vor der Verarbeitung gepflückt.

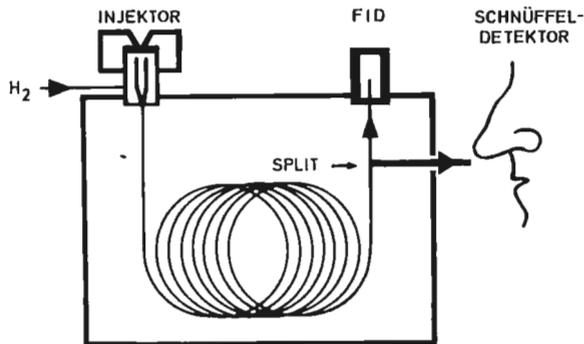


Abb. 1: Schematische Darstellung eines „Schnüffel“-Gaschromatographen. Beschreibung der Funktionsweise s. Text.

Schematic diagram of a "sniffing" gas chromatograph. Description of its function see text.

Aufarbeitung und Extraktion

a. Je 250 g Trauben wurden abgebeert, mit 100 ml Wasser versetzt, 1 min homogenisiert (Messerhomogenisator, Braun, Stufe III) und bei 3000 U/min ("swing out"-Rotor, Durchmesser 35 cm) zentrifugiert. Der Rückstand wurde verworfen. Der Überstand (ca. 250 ml) wurde in einer Extraktionsapparatur mit Freon 11 (HARDY 1969, RAPP *et al.* 1976) extrahiert. Die Aromaextrakte wurden bis zur Analyse bei -25°C aufbewahrt.

b. Je 250 ml Wein wurden 20 h mit Freon 11 (50 ml) extrahiert. Als Standard wurde $1\ \mu\text{l}$ C₁₁-Methylester (1 %ig in Äthanol)/100 ml Wein zugesetzt. Die Aromaextrakte wurden bis zur Analyse bei -25°C aufbewahrt.

c. 500 g Erdbeeren wurden mit 300 ml Wasser versetzt und wie unter a. beschrieben aufgearbeitet. Der erhaltene Saft (500 ml) wurde in einer 500-ml-Extraktionsapparatur mit Freon 11 (50 ml) extrahiert und bei -40°C bis zur Analyse gelagert.

Konzentrierung und Auftrennung

Je 15 ml Aromaextrakt wurden in einem Spitzkölbchen mit Vigreuxkolonne (30 cm) konzentriert, gekühlt (4°C), mit einer gekühlten Mikroliterspritze aufgenommen und in das Einlaßsystem des GC injiziert.

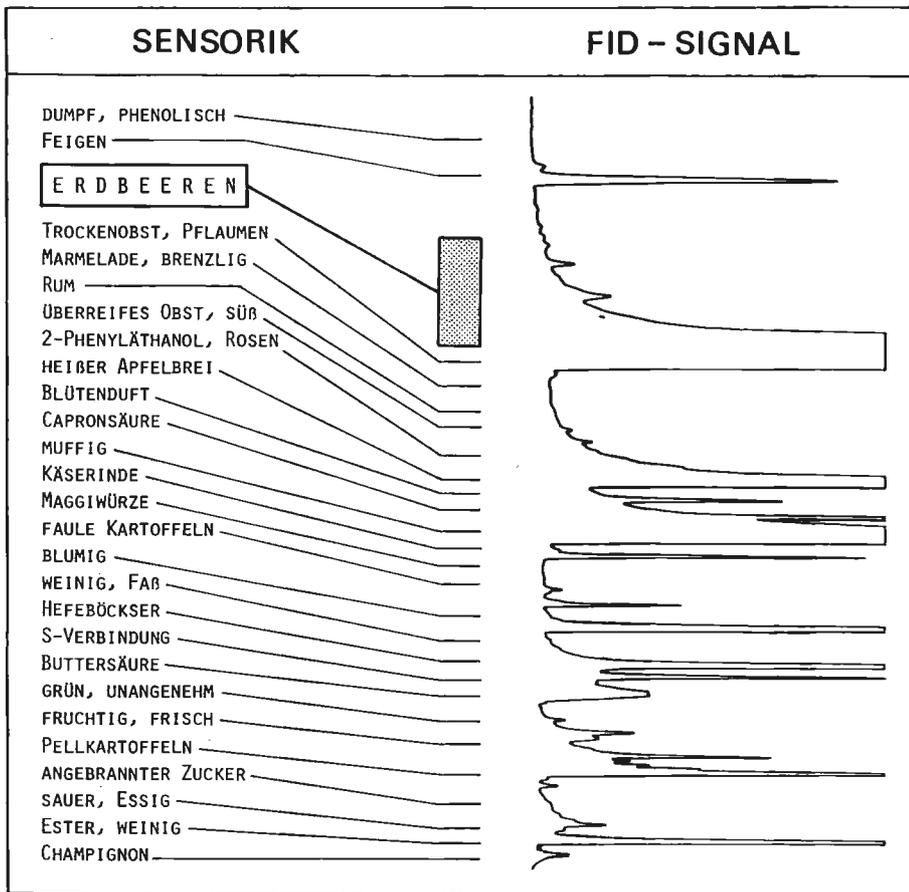


Abb. 2: „Schnüffel“-Chromatogrammausschnitt (25.—80. min) eines 1977er Castor-Weinextraktes. Es wurden nur die intensivsten sensorischen Eindrücke festgehalten. Die gaschromatographische Auftrennung erfolgte auf einer Glaskapillare (GK 9). Der gerasterte Bereich markiert die Stelle, wo die sortentypische Erdbeernote wahrgenommen wurde.

Part of a "sniffing" chromatogram (25th to 80th min) of a 1977 Castor wine extract. Only the most intensive sensory impressions have been recorded. For gas-chromatographic separation a glass capillary (GK 9) was used. The occurrence of the variety-typical strawberry-like flavour is marked by the dotted field.

„Schnüffeldetektor“

Abb. 1 zeigt die Darstellung eines zum „Schnüffel“-Gaschromatographen umgebauten GC-Gerätes. Der konzentrierte Aromaextrakt (2–3 μ l) wird in den Injektor splitlos injiziert. Zur Auftrennung wurde eine 150-m-Glaskapillare (GK 9) eingesetzt. Der Gasstrom wird am Ende der Glaskapillare (Split) so geteilt, daß etwa 10% zum Flammenionisationsdetektor (FID) gelangen, während 90% durch ein dünnes Glasrohr aus dem Ofenraum herausgeführt und mit Hilfe des „spezifischen Detektors Nase“ sensorisch beurteilt werden. Der jeweilige Sinneseindruck wird auf dem Chromatogramm (FID-Signal) notiert. Es gelingt so in der Regel, Substanzen, die z. B. einen bestimmten Fremdton hervorrufen, im Chromatogramm zu lokalisieren. Dadurch wird das Problem, wichtige Spurenkomponenten in einem komplexen Vielstoffgemisch aufzufinden, wesentlich vereinfacht.

Gaschromatographie

Neben dem „Schnüffel“-Gaschromatograph wurden zwei GC-Geräte mit Split-einlaßsystem (Siemens L 350), die mit vielen verschiedenen, z. T. selbst hergestellten Glaskapillaren ausgerüstet waren, eingesetzt.

Glaskapillaren

GK 6: Carbowachs 20 M - Terephthalat (150 m, 0,46 mm i. D.); T-Programm: 50–150 °C mit 1,5 °C/min; Trägergas: H₂; Fluß: 2 ml/min.

GK 7: Reoplex 400 (65 m, 0,25 mm i. D.); T-Programm: 50–160 °C mit 1,5 °C/min; Trägergas: H₂; Fluß: 1,4 ml/min.

GK 8: Reoplex 400 (150 m, 0,46 mm i. D.); T-Programm: 50–160 °C mit 2 °C/min; Trägergas: He; Vordruck: 2,6 bar.

GK 9: Reoplex 400 (150 m, 0,46 mm i. D.); T-Programm: 50–160 °C mit 1,5 °C/min; Trägergas: H₂; Vordruck: 1,0 bar.

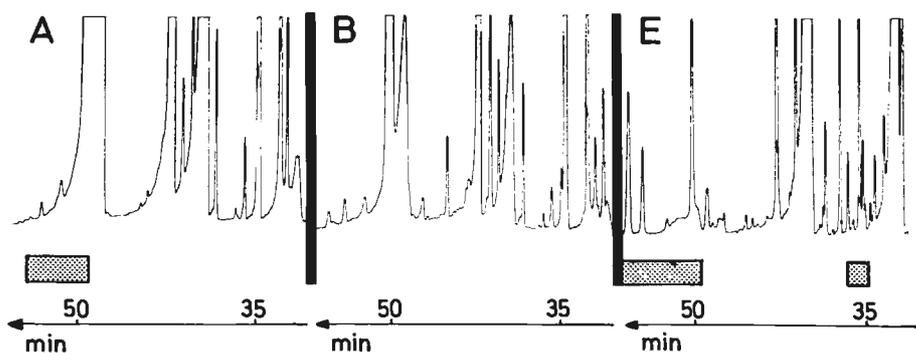


Abb. 3: Vergleich identischer „Schnüffel“-Chromatogrammausschnitte (jeweils 29.–57. min von 1977er Castor-Wein (A), 1977er Riesling-Wein (B) und frischen Erdbeeren (E). Die charakteristisch nach Erdbeeren riechenden Bereiche sind durch Raster hervorgehoben worden (vgl. Text).

Comparison of identical "sniffing" chromatogram sections (29th to 57th min each) of 1977 Castor wine (A), 1977 Riesling wine (B) and fresh strawberries (E). The sections characteristic of strawberry-like flavour have been marked by dotted fields.

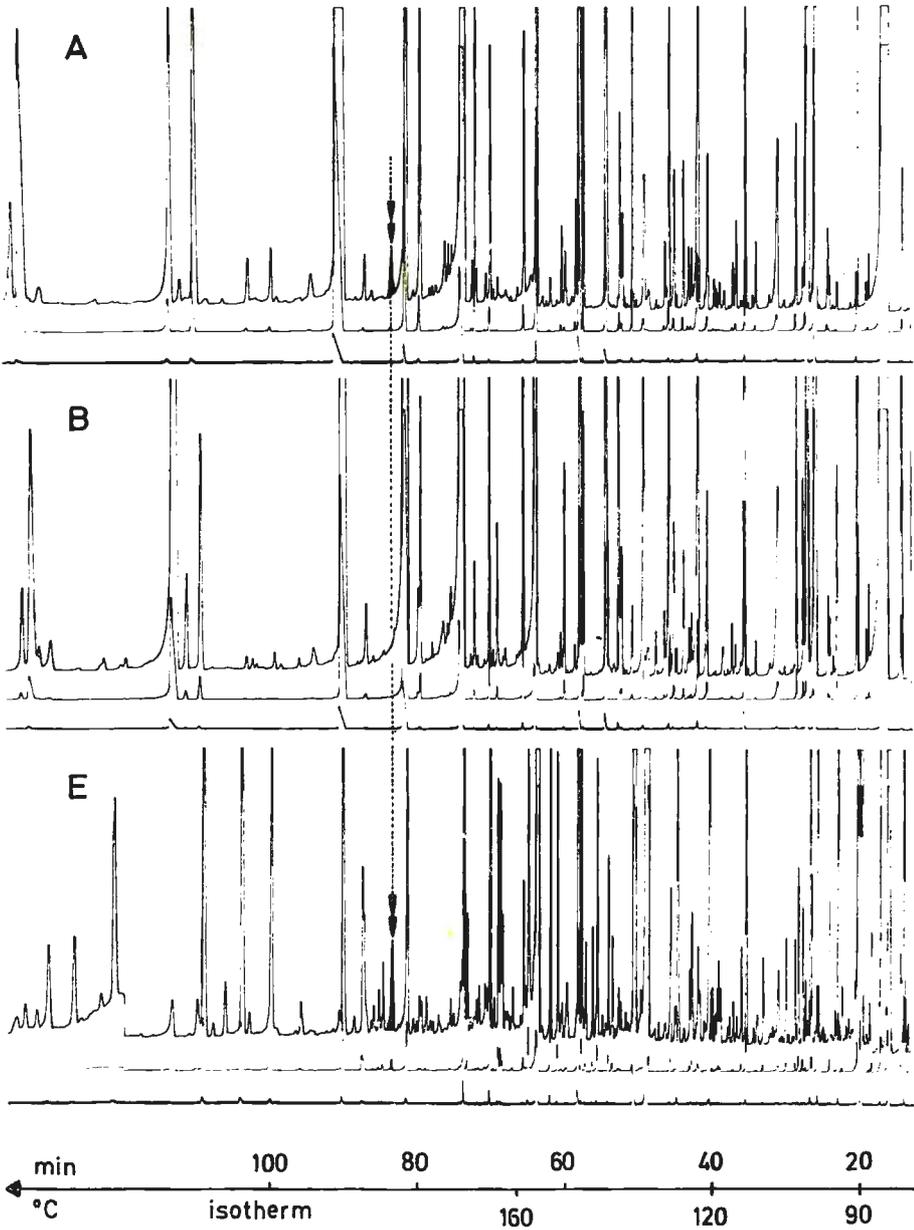
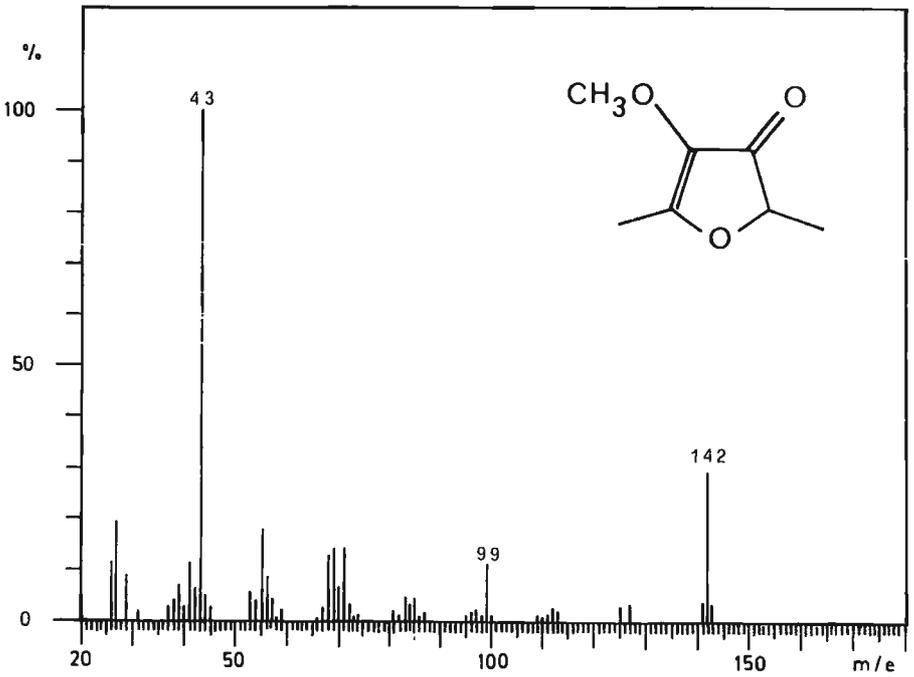
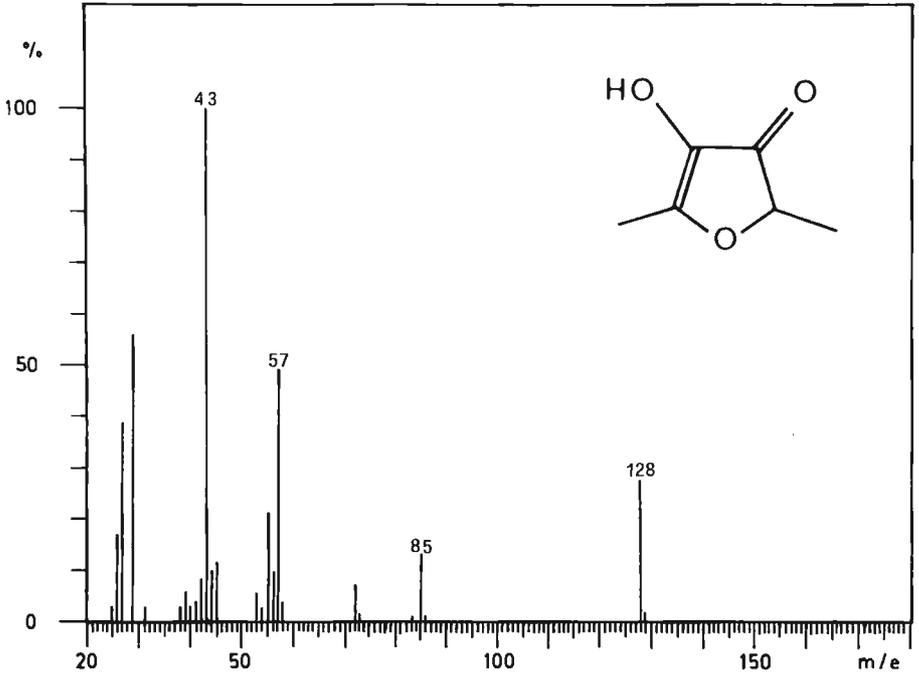


Abb. 4: Chromatogrammausschnitte (10.—138. min) der Aromaextrakte von 1977er Castor-Wein (A), 1977er Riesling-Wein (B) und frischen Erdbeeren (E). Die Doppelpfeile markieren den Peak von 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon. Glaskapillare (GK 6).

Chromatogram sections (10th to 138th min) of aroma extracts of 1977 Castor wine (A), 1977 Riesling wine (B) and fresh strawberries (E). The double arrows mark the peak of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanone. Glas capillary (GK 6).



Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Die GC-MS-Kopplung (Finnigan 3200) war mit GK 8 ausgerüstet. Die Massenspektren wurden jeweils bei einer Elektronenenergie von $E_e = 70$ eV im Peakmaximum aufgenommen. Scanbereich: 20–300 (m/e); Scandauer: 1 sec.

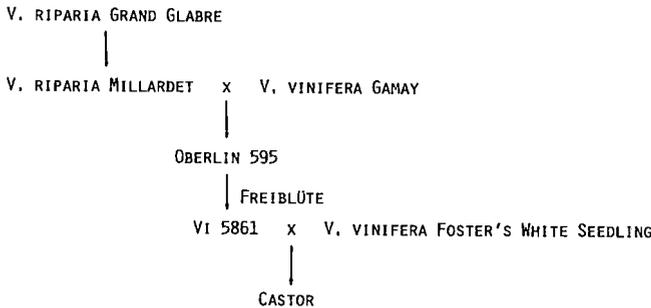


Abb. 6: Stammbaum der interspezifischen Rebsorte Castor nach den Zuchtunterlagen der BFAR.

The genealogy of the interspecific cv. Castor according to the breeding records of the BFAR.

Ergebnisse und Diskussion

Der Aromaextrakt eines deutlich nach Erdbeeren schmeckenden Weines (Neuzucht Castor der BFAR, Jahrgang 1977) wurde mit Hilfe der „Schüffeltechnik“ untersucht. Abb. 2 zeigt einen „Schnüffel“-Chromatogrammausschnitt dieses Weines. Die gerasterte Fläche markiert den Bereich, der deutlich den schweren, süßen, leicht an den Geruch gekochter Marmelade erinnernden typischen Erdbeerton besitzt. Der etwa 10 min andauernde Geruchseindruck legte die Vermutung nahe, daß es sich entweder um eine polare Verbindung oder um mehrere Verbindungen mit ähnlicher Retentionszeit handelt. In Abb. 3 sind die identischen „Schnüffel“-Chromatogrammausschnitte von 1977er Castor, 1977er Riesling und einem Extrakt, der aus frischen Erdbeeren gewonnen wurde, nebeneinandergestellt. Der Rieslingextrakt (B) enthielt erwartungsgemäß keine an Erdbeeren erinnernden Aromakomponenten, während der Erdbeerextrakt (E) zwei sehr typische (ca. 35. und 50. min) Bereiche aufwies, wobei der letztere dem des Castor-Weinextraktes (A) sensorisch stark ähnelte. Infolge der hohen Konzentrationen einer anderen polaren Verbindung (Caprylsäure), die im gleichen Retentionszeitbereich eluiert wird, erschien eine präparativ-gaschromatographische Anreicherung nicht sinnvoll.

Es wurde deshalb versucht, durch Herstellung von Glaskapillaren unterschiedlicher Polarität und durch Variation der Betriebsparameter (T-Programmbereich, Aufheizrate, Trägergasfluß) Bedingungen zu finden, unter denen eine gaschromato-

Abb. 5: Massenspektren der beiden Erdbeer-Komponenten 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon (oben) und 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon (unten).

Mass spectra of both strawberry components 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanone (above) and 2,5-dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanone (below).

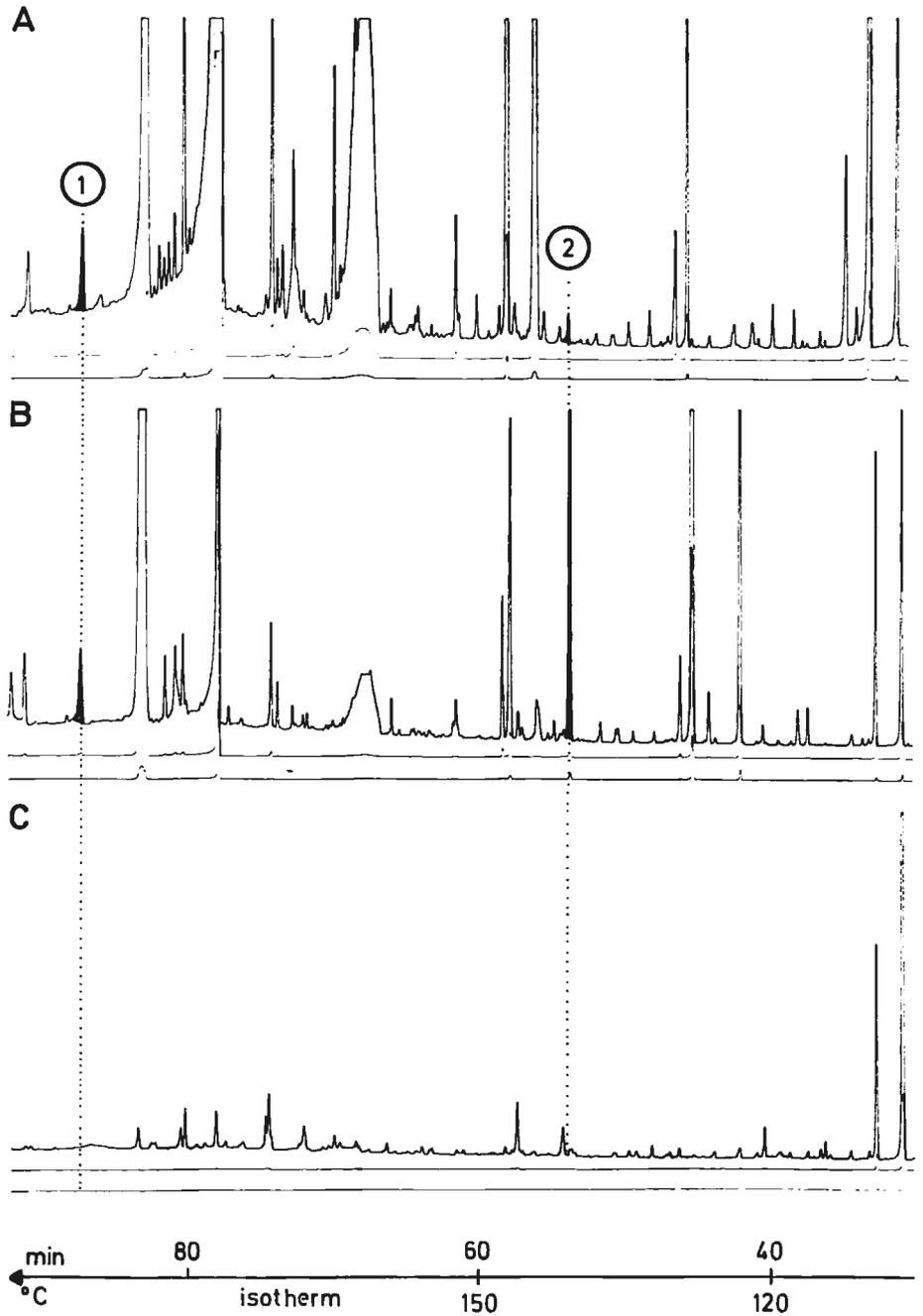


Abb. 7: Chromatogrammausschnitte (28.—94. min) von Traubenaromakonzentraten der amerikanischen Wildarten *V. labrusca* (A) und *V. riparia* (C) sowie der *V. labrusca*-Kultursorte Niagara (B). Die durch Schwärzung hervorgehobenen Peaks sind ① = 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon und ② = 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon. Als Trennkapillare wurde GK 8 eingesetzt.

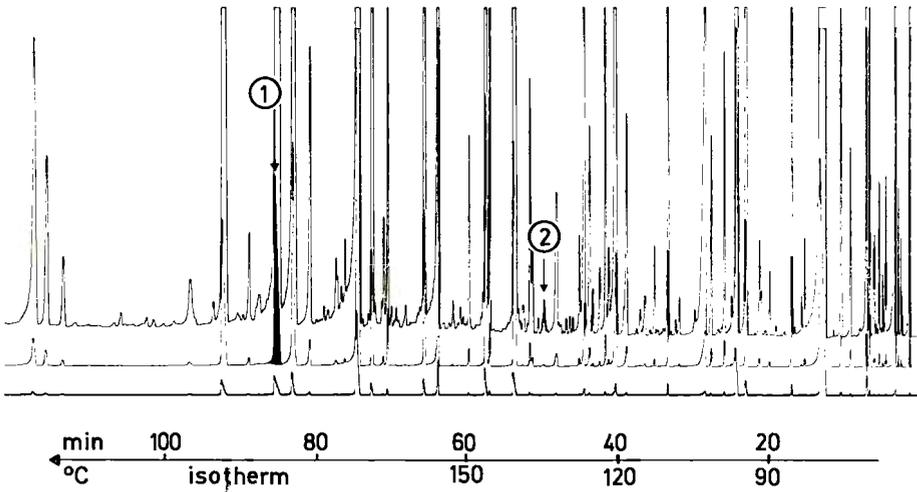


Abb. 8: Aromagramm eines mit extrem starkem Erdbeerton behafteten Castor-Weines, Jahrgang 1976, Weinbauversuchsring „Untere Nahe“. Die Pfeile markieren die Peaks von ① = 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon und ② = 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon.

Aromagram of a Castor wine with an extreme strawberry-like flavour. Year 1976, Weinbauversuchsring "Untere Nahe". The arrows mark the peaks of ① = 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanone and ② = 2,5 dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanone.

graphische Abtrennung der für den Erdbeerton verantwortlichen chemischen Verbindung(en) möglich wird. In Abb. 4 sind die Chromatogrammausschnitte der Aromaextrakte von 1977er Castor-Wein (A), 1977er Riesling-Wein (B) und frischen, reifen Erdbeeren (E) (Sorte unbekannt) dargestellt. Die Doppelpfeile markieren den Peak, der sowohl in Castor als auch in Erdbeeren vorhanden ist, nicht aber in Riesling. Durch gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung wurde dieser Peak als 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon (Abb. 5, oben) identifiziert und seine Identität durch Retentionszeit- und Massenspektrenvergleich mit einer Referenzsubstanz bestätigt. Die 10 intensivsten Fragmente sind: m/e (%) 26 (17), 27 (39), 29 (56), 43 (100), 45 (11), 55 (21), 56 (10), 57 (49), 85 (13), 128 (28). Diese Verbindung wurde von HODGE (1960), WILLHALM *et al.* (1965) und HOFMANN und EUGSTER (1966) beschrieben. Sie wurde in Früchten wie Ananas (RODIN *et al.* 1965), Erdbeeren (BÜCHI *et al.* 1973), der arktischen Brombeere (KALLIO 1976) sowie nach Hitzeeinwirkung als Aromakomponente von Rinderboullion (TONSBEEK *et al.* 1933), Popcorn (WALRADT *et al.* 1970), gerösteten Haselnüssen (SHELDON *et al.* 1972), gebrannten Mandeln (TAKEI und YAMANISHI 1974) und in Ahornsirup (UNDERWOOD 1971) identifiziert. MILLS und HODGE (1976) konnten diese Verbindung als Maillard-Reaktionsprodukt nachweisen.

Chromatogram sections (28th to 94th min) of grape aroma concentrates of the American grapevines *V. labrusca* (A), *V. riparia* (C) and *V. labrusca* cv. Niagara (B). The peaks set off by blackening are ① = 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanone and ② = 2,5-dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanone. GK 8 was used as separation capillary.

Abb. 6 zeigt den vom Züchter aufgestellten Stammbaum der Rebsorte Castor. Da der Erdbeerton in Europäersorten (*Vitis vinifera*) unbekannt ist, wurde überprüft, ob 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon im Aroma der Trauben der amerikanischen Wildart *V. riparia* vorhanden ist. Wie Chromatogramm (C) in Abb. 7 stellvertretend für vier weitere *V.-riparia*-Klone zeigt, war diese Verbindung trotz intensiver Bemühungen in keinem Fall nachweisbar. Dagegen gelang es, 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon sowohl in der amerikanischen Wildart *V. labrusca* (A) als auch in der *V.-labrusca*-Kultursorte Niagara (Concord \times Casady) (B) zu identifizieren. Daneben konnte auch 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon (Abb. 5, unten) in beiden Rebsorten nachgewiesen und mit einer Referenzprobe bestätigt werden. Die 10 intensivsten Fragmente sind m/e (%) 27 (19), 29 (10), 41 (11), 43 (100), 55 (18), 68 (13), 69 (14), 71 (15), 99 (7), 142 (29). Diese Substanz wurde auch in Alphonso-Mango-Früchte-Konserven (HUNTER *et al.* 1974), als Hauptbestandteil des Aromas der arktischen Brombeere (KALLIO und HONKAINEN 1975) und in einigen Hybriden von Himbeere und arktischer Brombeere (PYYSALO 1976) gefunden.

Schließlich gelang es, diese Verbindung auch in einem mit extremem Erdbeerton behafteten Castor-Wein (Jahrgang 1976, Versuchsring „Untere Nahe“) zu identifizieren (Abb. 8). Aufgrund dieser Beobachtungen kann man davon ausgehen, daß die vom Züchter als Oberlin-595-Freiblüte bezeichnete Rebsorte Vi 5861 durch Fremdbestäubung mit Pollen einer *V.-labrusca*-Erbgut enthaltenden Rebsorte entstanden ist. Unter dieser Voraussetzung wäre eine Interpretation weiterer Ergebnisse möglich, die bei der Untersuchung einer großen Zahl von Nachkommen der Rebsorte Vi 5861 erhalten wurden. Darüber wird in einer folgenden Publikation berichtet.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der GC-MS-Kopplung und der „Schnüffeltechnik“ gelang es erstmals, in Aromaextrakten von Trauben und Weinen interspezifischer Neuzuchten die für die häufig auftretende Erdbeernote verantwortlichen Verbindungen, 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon und 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon, zu identifizieren und damit die Voraussetzung für eine objektive Früherkennung dieses Fremdtones auf der Sämlingsstufe zu schaffen.

Beide Verbindungen konnten weder in *V.-vinifera*-Sorten noch in den zur Verfügung stehenden *V.-riparia*-Klonen nachgewiesen werden. Dagegen kommen sie in Trauben einer anderen amerikanischen Wildart, nämlich *V. labrusca*, und der *V.-labrusca*-Kultursorte Niagara vor. Aufgrund dieser Ergebnisse folgern wir, daß die als Muttersorte von Castor angegebene Sorte Vi 5861 nicht durch Selbstung von Oberlin 595 entstanden ist, sondern eine Kreuzung von Oberlin 595 mit einer *V.-labrusca*-Erbgut enthaltenden Rebsorte darstellt.

Dem Forschungsring des Deutschen Weinbaus (FDW) danken wir für die finanzielle Unterstützung der vorliegenden Arbeit. Für die Überlassung von verschiedenen Referenzsubstanzen bedanken wir uns bei Herrn Dr. G. OHLOFF und Herrn Dr. W. PICKENHAGEN, Firmenich & Cie., Genf.

Literaturverzeichnis

- BÜCHI, G., DEMOLE, E. and THOMAS, A. F., 1973: Synthese of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydrofuran-3-one (furanol), a flavor principle of pineapple and strawberry. *J. Org. Chem.* 38, 123—125.
- HARDY, P. J., 1969: Extraction and concentration of volatiles from dilute aqueous and aqueous-alcoholic solution using trichlorofluoromethane. *J. Agricult. Food Chem.* 17, 656—658.
- HODGE, J. E., 1960: U. S. Patent 2.936.308.
- HOFMANN, A. und EUGSTER, C. H., 1966: Synthese von 2,5-Dimethyl-3-hydroxy- β -furenidon-(4), einer Aromakomponente der Ananasfrucht. *Helv. Chim. Acta.* 49, 53—56.
- HUNTER, G. L. K., BUCEK, W. A. and RADFORD, T., 1974: Volatile components of canned Alphonso mango. *J. Food Sci.* 39, 900—903.
- KALLIO, H., 1976: Identification of vacuum steam-distilled aroma compounds in the press juice of arctic bramble, *Rubus arcticus* L. *J. Food Sci.* 41, 555—562.
- — and HONKANEN, E., 1975: An important major aroma compound in arctic bramble, *Rubus arcticus* L. *Congr. Publ. 4th Intern. Congr. Food Sci. Technol.*, Madrid, Sept. 23—27, 1974.
- MILLS, F. D. and HODGE, J. E., 1976: Amadori compounds: vacuum thermolysis of 1-deoxy-1-2-proline-D-fructose. *Carbohydrate Res.* 51, 9—21.
- PYYSAALO, T., 1976: Identification of volatile compounds in hybrids between raspberry (*Rubus idaeus* L.) and arctic bramble (*Rubus arcticus* L.). *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* 162, 263—272.
- RAPP, A., HASTRICH, H., und ENGEL, L., 1976: Gaschromatographische Untersuchungen der Aromastoffe von Weinbeeren. I. Anreicherung und kapillarchromatographische Auftrennung. *Vitis* 15, 29—36.
- RODIN, J. O., HIMEL, C. M., SILVERSTEIN, R. M., LEEPER, R. M. and GORTNER, W. A., 1965: Volatile flavor and aroma components of pineapple. Isolation and tentative identification of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone. *J. Food Sci.* 30, 280—285.
- SHELDON, R. M., LINDSAY, R. C. and LIBBEY, L. M., 1972: Identification of volatile flavor compounds from roasted filberts. *J. Food Sci.* 37, 313—316.
- TAKAI, Y. and YAMANISHI, T., 1974: Flavor components of roasted almond. *Agricult. Biol. Chem.* 38, 2329—2336.
- TONSBEEK, C., PLANCKEN, A. and WEERDHOF, T. v. D., 1968: Components contributing to beef flavor. Isolation of 4-hydroxy-5-methyl-3-(2H)-furanone and its 2,5-dimethyl-homolog from beef broth. *J. Agricult. Food Chem.* 16, 1016—1021.
- UNDERWOOD, J. C., 1971: Effect of heat on the flavoring components of maple sirup: A preliminary study by gas chromatography. *J. Food Sci.* 36, 228—230.
- WALRADT, J. P., LINDSAY, R. C. and LIBBEY, L. M., 1970: Popcorn flavor: Identification of volatile compounds. *J. Agricult. Food Chem.* 18, 926—928.
- WILLHALM, B., STOLL, M. and THOMAS, A. F., 1965: 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydrofuran-3-one. *Chem. Ind.* 1965, 1629—1630.

Eingegangen am 23. 8. 1979

Dir. u. Prof. Dr. A. RAPP
Dipl.-Chem. W. KNIPSER
BFA für Rebenzüchtung Geilweilerhof
D-6741 Siebeldingen