

Aromastoffe des Weines

Die Carbonsäureester des Weines und der Trauben

von

E. BAYER

Die Charakterisierung und Bestimmung der spezifischen Aroma- oder Bukettstoffe des Weines ist eine reizvolle Aufgabe, der schon LIEBIG seine Aufmerksamkeit widmete. So konnte LIEBIG (1) 1836 den Önanthäter aus Wein gewinnen, der sich vorwiegend aus Estern aliphatischer Carbonsäuren zusammensetzt und in Verdünnung einen weinähnlichen Geruch aufweist. In der Folgezeit haben viele Autoren durch Destillation von Weinen Duftstoffe angereichert und identifiziert. Es soll nicht Aufgabe dieser Arbeit sein, die umfangreiche Literatur über die bisher erhaltenen Ergebnisse zu referieren, welche z. B. HENNIG und VILLFORTH (2) gut zusammengefaßt haben. Vor allem sei darauf hingewiesen, daß die zur Anreicherung der Duftstoffe benutzte Destillation zu unkontrollierbaren Veränderungen der Aromastoffe führen kann. Es war daher für die Untersuchung des Weinaromas ein wesentlicher Fortschritt, als HENNIG und VILLFORTH (2,3) die Bukettstoffe durch schonende Extraktion mit Pentan angereichert haben. Für eine Charakterisierung der sortenspezifischen, je nach Lage und Jahrgang verschiedenen Aromastoffe erscheinen die bisher zur Identifizierung verwendeten Methoden ungeeignet, da sie einen erheblichen Aufwand an Material und Arbeitszeit bedingen. So verwendeten HENNIG und VILLFORTH (2) 360 Liter Wein zur Untersuchung der Aromastoffe und selbst in jüngster Zeit sind von FREY und WEGENER (4) noch Mengen von 1000 Liter Brennwein zur Untersuchung der Bukettstoffe im Weindestillat verarbeitet worden. Es liegt auf der Hand, daß es unmöglich ist, über solche Mengen bei Neuzüchtungen, qualitativ hochstehenden Weinen und bei Untersuchungen der biochemischen Bildung von Duftstoffen in den Trauben, bei der Gärung und dem Weinausbau zu verfügen.

Während Äthylalkohol, Säuren, Zucker und Glycerin, die bislang als Hauptmerkmale der Qualität eines Weines chemisch untersucht werden, in Mengen von einigen g/Liter vorkommen, entfalten die Duft- und Geschmacksstoffe schon in Konzentrationen von 10^{-3} - 10^{-6} g/Liter ihre volle Wirkung. Zur Untersuchung dieser geringen Substanzmengen ist die Papierchromatographie geeignet, und es wurden Mikromethoden zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Carbonsäureestern (5,6), Aldehyden (7), flüchtigen Säuren und Alkoholen (8) ausgearbeitet, da diese Verbindungen als Bestandteile von ätherischen Ölen bekannt sind.

Die Bestimmungen der Carbonsäureester beruht auf deren Umwandlung in Hydroxamsäuren mittels Hydroxylamin (5,6), papierchromatographischer Trennung auf mit Eisen(III)-chlorid imprägniertem Papier (6), Elution der gebildeten Eisen(III)-hydroxamsäurekomplexe und deren photometrischen quantitativen Bestimmung. Eine speziell für Wein und Traubensaft anwendbare Bestimmungsvorschrift ist im experimentellen Teil dieser Arbeit wiedergegeben.

Gemeinsam mit G. KUPFER und K.-H. REUTHER wurden die Ester von Weinen verschiedener Sorten, Lagen und Jahrgänge untersucht und festgestellt, inwieweit diese Aromastoffe schon in den Trauben vorgebildet sind bzw. bei Vergärung und Weinausbau entstehen. Für eine Analyse aller vorhandenen Ester benötigen wir nurmehr 100 - 300 ml Wein, dem die Aromastoffe durch mehrmaliges Ausschütteln mit peroxydfreiem Äther entzogen werden. Solche ätherische Lösungen enthalten die Bukettstoffe unverändert. Denn nach Verdampfen des Äthers ist das jeweilig typische Weinaroma unverändert zu erkennen. Untersuchungen über die beim Ausschütteln unter unseren standardisierten, vergleichbaren Bedingungen erhaltene Ausbeute an Estern sind im Gang. Bei den sehr niedrig siedenden Estern (z. B. Ameisensäure- und Essigsäureester) sind die Ausbeuten beim Ausschütteln mit Diäthyläther infolge der leichten Flüchtigkeit dieser Verbindungen relativ gering. Zur papierchromatographischen Trennung und quantitativen Bestimmung der im Äther vorhandenen Ester setzt man die Lösungen direkt mit dem Hydroxylaminreagenz um, wie es im Versuchsteil beschrieben ist.

Es hat sich nun bei über 500 untersuchten Weinen verschiedenster Qualität herausgestellt, daß alle Weine ausnahmslos Essigsäure- und Ameisensäureester enthalten. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Qualität eines Weines und seinem Gehalt an diesen Estern ist nicht feststellbar, da sowohl qualitativ hochstehende als auch mindere Weine große Mengen der genannten Ester enthalten können. Sehr stark duftende Weine weisen aber in der Regel hohe Konzentrationen an Ameisensäure- und Essigsäureestern auf. Propionsäureester sind in geringen Quantitäten in den meisten Weinen vorhanden und erreichen in einigen guten Riesling-Weinen etwas höhere Konzentrationen. Nach unseren Untersuchungen ist ein höherer Gehalt an Propionsäureestern durchaus erwünscht und qualitätsverbessernd. Es hat sich demgemäß nicht bewahrheitet, daß Propionsäureester für einen reintonigen Wein unerwünscht seien, wie wir dies nach unseren ersten, orientierenden Versuchen angenommen hatten (6). Ester der Buttersäure sind in Riesling-Weinen vorhanden und für deren Bukett ohne Zweifel ein wertvoller Bestandteil. Größere Mengen Buttersäureester finden sich jedoch in Weinen von Sylvaner, Traminer und Portugieser. Eine wesentliche Komponente eines geschmacklich guten Weines sind Valeriansäureester. Gute Qualität macht sich in den meisten Fällen auch in erhöhtem Valeriansäureestergehalt bemerkbar. Die organoleptisch sehr gut beurteilten, in Tab. 1 (Seite 36) aufgeführten Weine der Sorte Sbl. 2-19-58, sowie die 34er und 37er Riesling-Weine aus Bad Kreuznach enthalten demgemäß auch größere Mengen dieser Ester.

Tabelle 1
Estergehalte einiger Weine

Wein	Ester (Gehalt in μ Mol je Liter) der							
	Ameisen- säure	Essig- säure	Propion- säure	Butter- säure	Valerian- säure	Aliphatischen C ₆ -C ₁₀ - Carbonsäuren	Benzoe- u. Salicyl- säure	Zimt- säure
1953 Morio-Muskat Geilweilerhof	11,01	10,26				1)		18,20 ¹⁾
1955 Morio-Muskat Geilweilerhof	17,55	76,00	sehr wenig	sehr wenig	sehr wenig	1)		8,02 ¹⁾
1955 Riesling, Natur Geilweilerhof	11,95	24,70	sehr wenig	wenig	wenig	7,30		
1955 Riesling, verbessert Geilweilerhof	9,41	32,30	wenig	wenig	wenig	8,44	5,55	
1934 Riesling Nr. 34 094 Bad Kreuznach	12,17	14,44	wenig	wenig	7,60	2,51	9,77	
1934 Riesling Nr. 34 095 Bad Kreuznach	21,65	23,56	wenig	wenig	10,49	2,28	11,10	
1934 Riesling Nr. 34 096 Bad Kreuznach	9,86	13,68	2,12	sehr wenig	6,46	3,80	9,50	
1934 Riesling Nr. 34 097 Bad Kreuznach	wenig	31,92	sehr wenig	wenig	wenig	2)	28,58 ²⁾	
1937 Riesling Nr. 37 091 Bad Kreuznach	9,26	36,48	sehr wenig	sehr wenig	wenig	2)	25,31 ²⁾	
1937 Riesling Nr. 37 095 Bad Kreuznach	9,26	9,66	3,50		wenig	1,15	9,40	
1943 Riesling Nr. 43 064 Bad Kreuznach	9,11	8,44	sehr wenig	sehr wenig	wenig	3,61		
1944 Riesling Nr. 44 055 Bad Kreuznach	4,70	15,50	sehr wenig	sehr wenig	1,56	3,04		
1946 Riesling Nr. 46 022 Bad Kreuznach	8,96	6,35	sehr wenig	wenig	3,57	3,42	4,29	
1954 Sbl. 2—19—58 Geilweilerhof	10,60	26,60	wenig	wenig	3,65	9,50	6,73	
1955 Sbl. 2—19—58 Geilweilerhof	wenig	36,86	sehr wenig	wenig	4,18	5,24	13,12	
1955 Traminer	wenig	12,20	sehr wenig	3,65	wenig	2)	15,25 ²⁾	
1955 Portugieser Siebeldingen	wenig	33,44	sehr wenig	8,63		21,28 ²⁾	2)	
1955 Müller-Thurgau Geilweilerhof	8,21	26,60	sehr wenig	sehr wenig		4,37	8,51	
1955 Sylvaner Geilweilerhof	6,27	114,76		2,20	6,76	8,25	53,28	

¹⁾ Die nicht voneinander getrennten C₆ - C₁₀ - Carbonsäure- und Zimtsäureester wurden gemeinsam bestimmt und als Zimtsäureester berechnet.

²⁾ C₆ - C₁₀ - Carbonsäureester und aromatische Ester wurden gemeinsam bestimmt.

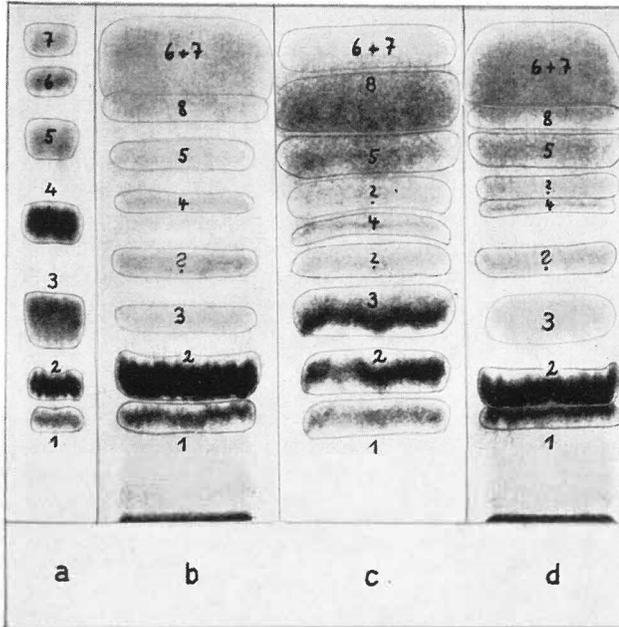
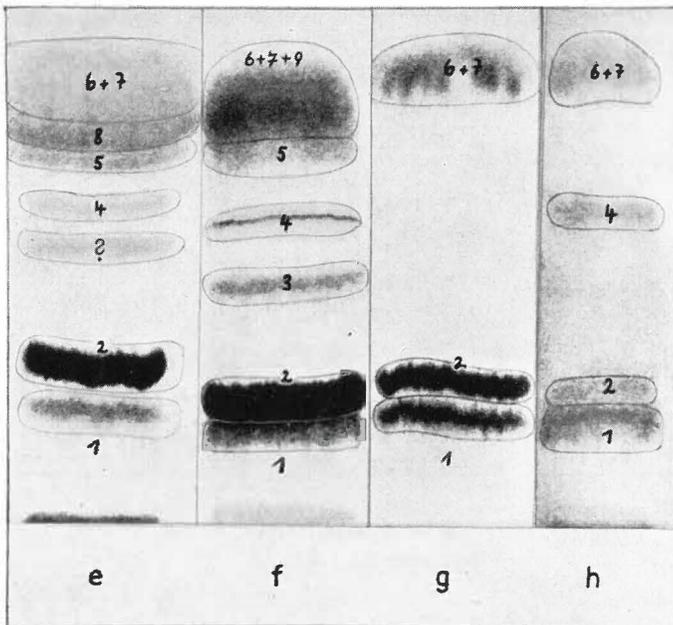


Abb. 1: Chromatographische Trennung der aus den Estern von Weinen und Traubensäften erhaltenen Eisen(III)-hydroxamate.

- a. Künstliches Estergemisch
- b. 1955 Riesling
- c. 1934 Riesling Bad Kreuznach
- d. 1954 Sbl. 2-19-58
- e. 1955 Müller-Thurgau
- f. 1955 Morio-Muskat
- g. Morio-Muskat Traubenmost
- h. Gf. 30n-8-127 Most



Die den einzelnen Estern entsprechenden Flecke sind durch folgende Zahlen gekennzeichnet: 1 Ameisensäure-, 2 Essigsäure-, 3 Propionsäure-, 4 Buttersäure-, 5 Valeriansäure-, 6 Caprinsäure-, 8 Benzoe- und Salicylsäure-, 9 Zimtsäureester, ? nicht identifizierte Ester.

In Abbildung 1 sind die Esterchromatogramme der beiden zuletzt genannten Weine, eines 1955er Riesling und Müller-Thurgau Geilweilerhof, eines 1955er Morio-Muskat zusammen mit dem Referenzchromatogramm eines künstlichen Estergemischs abgebildet.

Ester der Capron-, Önanth-, Capryl-, Pelargon- und Caprinsäure finden sich in allen untersuchten Weinen und sind in Tab. 1 (Seite 36) in ihrer Gesamtkonzentration zusammengefaßt. Der Gehalt an diesen Estern und die Qualität eines Weines lassen sich hier, ähnlich wie bei Essigsäure- und Ameisensäureestern, nicht in eine einfache Beziehung bringen. Wesentlich anders ist dies bei den Estern aromatischer Carbonsäuren. Obgleich die Eisen(III)-hydroxamate aus den aromatischen Estern mit den gleichen Rf-Werten wandern, wie die aus höheren aliphatischen Carbonsäureestern, sind sie doch leicht an ihrer blauviolettten Farbtonung zu erkennen. Während Riesling-Weine normalerweise nur sehr wenig aromatische Ester aufweisen, zeigen Spitzenweine dieser Sorte hohe Gehalte, wie wir dies schon am Beispiel eines 1954er Forster Langenböhle zeigen konnten (6) und wie in Abb. 1c, S. 37 und in Tab. 1, S. 36, bei einigen Kreuznacher Riesling-Weinen zu ersehen ist. Auch die Sorte Sbl. 2-19-58 weist relativ große Konzentrationen an aromatischen Estern auf. Die untersuchten Traminer und Morio-Muskat enthalten sehr viel aromatische Ester, weit mehr als höhere aliphatische Ester. Das Zurücktreten der höheren aliphatischen Ester und das verstärkte Auftreten der aromatischen Ester scheint uns eine spezifische Sorteneigenschaft des Traminers und Morio-Muskats zu sein. Das aus dem aromatischen Ester des Traminers gebildete Eisen(III)-hydroxamat wandert mit einem Rf-Wert von 0,83 und das Eisen(III)-hydroxamat des aromatischen Esters aus Morio-Muskat hat ein Rf-Wert von 0,90. Nach Vergleichschromatogrammen deutet die bei 0,83 wandernde Substanz auf Benzoesäure- oder Salicylsäureester und die bei 0,90 wandernde Verbindung auf Zimtsäureester hin. Auch die im Riesling vorhandenen Ester aromatischer Carbonsäuren ergeben eine Bande Rf=0,83. Eine weitere papierchromatographische Auftrennung der aromatischen Ester voneinander und von den höheren aliphatischen Estern ist bislang noch nicht gelungen. Jedoch wird deren Charakterisierung durch neue Analysenmethoden untersucht, die auch Aufschluß über bisher nicht identifizierbare, bei Rf-Werten von 0,38 und 0,46 aufgefundene Ester ergeben werden. *)

Von den im Wein entdeckten Estern, finden sich in Traubensäften durchwegs Ester der Ameisen- und Essigsäure sowie höhere aliphatische Ester, wengleich auch in wesentlich geringerer Menge als im Wein. Daneben finden sich, vor allen Dingen bei Neuzüchtungen (vgl. Tab. 2 und Abb. 1h, Seite 37)

Tabelle 2
Estergehalte verschiedener Traubenmoste

Traubenmost	Ester (Gehalt in μ Mol je Liter) der				
	Ameisen- säure	Essig- säure	Butter- säure	Valerian- säure	Aliphatischen C ₆ - C ₁₀ - Carbonsäuren
Riesling 3. 9. 1956 ¹⁾	sehr wenig	wenig			wenig
Riesling 4. 10. 1956 ¹⁾	wenig	wenig			2,85
Riesling 29. 10. 1956 ¹⁾	2,62	wenig	sehr wenig		2,44
Seibel 6468	wenig	sehr wenig		wenig	wenig
Sbl. 2 - 26 - 65	31,36	wenig	wenig		6,44
Gf. 3on - 9 - 35	9,80	7,21			3,33
F.S. 4 - 201 - 39	wenig	wenig			4,79
Sylvaner	11,65	2,65			5,70

¹⁾ Die im Verlauf des Reifungsprozesses an Rieslingtrauben durchgeführten Untersuchungen zeigen deutlich eine Zunahme und Abrundung des Esterbuketts mit fortschreitender Reifung.

*) siehe Anmerkung bei der Korrektur.

Buttersäure- und in wenigen Fällen Propionsäureester sowie aromatische Carbonsäureester. Interessant erscheint, daß die stark bonbonartig riechende und schmeckende Traube der *Vitis labrusca* einen wesentlich höheren Gehalt an Estern aufweist als andere Traubensäfte und daß Trauben von *Vitis riparia* neben den üblichen Ameisen- und Essigsäureestern auch Buttersäure- und Valeriansäureester enthalten. Diese zweifellos geschmacklich günstigen Substanzen werden ebenso wie eine von uns in *Vitis riparia* aufgefundene vanillinartig riechende Substanz von dem aufdringlichen Grasgeschmack überdeckt. Der Grasgeschmack geht auf keinen Ester zurück. Die dafür verantwortliche Substanz wurde angereichert und wir sind mit der weiteren Reinigung dieser Verbindung beschäftigt.

Beschreibung der Esterbestimmung

Die Aufstellung der Eichkurven zur Esterbestimmung erfolgt nach den in anderen Arbeiten (5,6) gegebenen Vorschriften.

Zur Extraktion der Aromastoffe werden 300 ml Wein 3 mal mit je 30 ml Peroxyd-freiem Diäthyläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherauszüge werden darauf mit 40 ml dest. Wasser gewaschen und über Nacht in einer dichtverschlossenen Flasche über 15 g frischgeglühtem Natriumsulfat im Kühlschrank getrocknet.

Bei Traubensäften werden 500 ml 3 mal mit je 50 ml Peroxyd-freiem Diäthyläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherauszüge werden nach Waschen mit 50 ml dest. Wasser unter den oben angegebenen Bedingungen mit 20 g Natriumsulfat getrocknet.

Zur quantitativen Bestimmung der Ester in den nach obigen Angaben erhaltenen ätherischen Extrakten gibt man 1,5 ml Hydroxylaminreagenz hinzu, das unmittelbar vor dem Gebrauch durch Mischen gleicher Volumina einer 5%igen methanolischen Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid (Merck pro analysi) und einer 12,5%igen Lösung von Natriumhydroxyd (Merck pro analysi) in Methanol bereitet wird. In einem dicht mit Glas- oder Gummistopfen verschlossenen Glasgefäß wird nun diese Mischung zur Reaktion 20 Minuten bei 25°C in einen Thermostaten gestellt. Unmittelbar darauf neutralisiert man mit 0,175 ml 32%iger Salzsäure, schüttelt gut durch, filtriert durch ein hydrophobisiertes Faltenfilter (Nr. 560, SCHLEICHER u. SCHÜLL), wäscht 3 mal mit je 10 ml Äther nach und engt im Wasserstrahlvakuum auf ca. 1 ml ein. Die so konzentrierte Hydroxamsäurelösung wird in einen 3 ml-Meßkolben gegeben und bis zur Marke mit Diäthyläther aufgefüllt.

Zur chromatographischen Bestimmung trägt man 1,5-3 ml der im Meßkolben befindlichen Lösung in 3-5 cm langen Streifen auf Chromatographiepapier Nr. 2043 bM (SCHLEICHER u. SCHÜLL), welches vorher zur Imprägnierung in einer 2%igen methanolischen Eisen(III)-chlorid-Lösung (FeCl_3 , wasserfrei SCHUCHARDT) gebadet und nach kurzem Abtropfen (30 sec.) bei 80°C im Ventilator-trockenschrank getrocknet wird. Nach maximal 20stündiger Laufzeit der organischen Phase eines Gemisches aus n-Butanol/Dimethylformamid/Wasser 4,5 : 0,5 : 5,0 (absteigend) ist eine Trennung der rot-blauvioletten Eisen(III)-hydroxamsäurekomplexe beendet. Zur quantitativen Bestimmung werden die den einzelnen Estern entsprechenden Flecken herausgeschnitten

und in einem Meßkölbchen mit 10 ml einer 0,04⁰/oigen Lösung von wasserfreiem Eisen(III)-chlorid in Methanol unter gelegentlichem Umschütteln eluiert. Die Extinktion dieser Lösung wird bei 530 m μ (Elko II, Zeiss, Filter S 53 oder Spektralphotometer, Zeiss, PMQ II) in Küvetten von 1 cm Schichtdicke gegen eine Vergleichslösung, die man durch Ausschneiden und Elution eines gleichgroßen, nicht violett gefärbten Streifens aus dem Chromatographiepapier erhält, gemessen. Aus den Extinktionen berechnen sich nach den in anderen Arbeiten (5,6) angegebenen Gleichungen *) die Menge an Carbonsäureestern. Beim Vorliegen von geringen Konzentrationen einer Esterkomponente, empfiehlt es sich, die Elution von 3 bzw. 5 ml der methanolischen Eisen(III)-chlorid-Lösung durchzuführen.

Bei der Bestimmung ist folgendes zu beachten: Vor Inangriffnahme der Bestimmung von Estern in Aromastoffen sollten die Eichkurven mit reinen Esterlösungen aufgestellt werden. peinlichste Sauberkeit der Gefäße und Küvetten. Die Hydroxylaminhydrochloridlösung soll nicht älter als 3 Tage sein. Die Reaktionsgefäße müssen beim Umsatz dicht verschlossen sein. Die Trocknung der ätherischen Extrakte mit entwässertem Natriumsulfat muß so vollständig sein, daß beim Eindampfen keine Phasentrennung wegen zu großem Wassergehalt auftritt. Das mit Eisen(III)-chlorid imprägnierte Papier soll im Dunkeln aufbewahrt werden.

Herrn Prof. Dr. Husfeld möchte ich für die anregende Förderung und Unterstützung dieser Untersuchungen sehr danken. Herrn Direktor Dr. Wanner, Bad Kreuznach, bin ich für die Überlassung von Weinen sehr zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

Neue Mikromethoden zur Bestimmung der Ester in Aromastoffen wurden entwickelt und zur Untersuchung der Bukett- und Geschmacksstoffe des Weines angewandt. Ein wichtiges Merkmal für die Qualität eines Weines ist dessen Gehalt an Propion-, Buttersäure-, sowie insbesondere Valerian- und aromatischen Carbonsäureestern. Zwischen Gehalt an Ameisensäure-, Essigsäure- und aliphatischen C₈-C₁₀-Carbonsäureestern und Qualität eines Weines konnte bisher kein einfacher Zusammenhang festgestellt werden.

In Traubensäften finden sich vorwiegend Ameisensäure-, Essigsäure- und aliphatische C₈-C₁₀-Carbonsäureester und in geringem Ausmaß Propion-, Butter-, Valerian- und aromatische Carbonsäureester.

Literaturverzeichnis

1. PELOUZE und LIEBIG, Liebigs Ann. Chem. **19**, 241-251 (1836)
2. K. HENNIG und F. VILLFORTH, Vorratspflege und Lebensmittelforsch. **5**, 181-199 (1942)
3. K. HENNIG und F. VILLFORTH, Vorratspflege und Lebensmittelforsch. **5**, 313-333 (1942)
4. A. FREY und B. WEGENER, Z. Lebensmittel-Unters.-Forsch. **104**, 127-136 (1956)
5. E. BAYER und K.-H. REUTHER, Chem. Ber. **89**, 2541-2546 (1956)
6. E. BAYER und K.-H. REUTHER, Angew. Chem. **68**, 698-701 (1956)
7. E. BAYER und K.-H. REUTHER, im Druck
8. E. BAYER, unveröffentlicht

*) Sonderdrucke werden auf Anforderung zur Verfügung gestellt.

***) Anmerkung bei der Korrektur:** In einem am 4. 2. 1957 gehaltenen Referat über: „Gasphasen-Flüssigkeits-Chromatographie zur Analyse von Aromastoffen“ am Forschungs-Institut für Rebenzüchtung, hat der Verfasser darauf hingewiesen, daß mittels Gasphasen-Flüssigkeits-Chromatographie die Aromastoffe des Weines analysiert werden können. Eine gemeinsam mit F. BORN entwickelte Apparatur gestattet gute Auftrennung von Estern, wobei auch diejenigen Ester unterschieden werden können, die lediglich in ihren Alkoholkomponenten differieren. Außer Ester, lassen sich mit Hilfe der neuen Methode besonders gut auch Aldehyde und Alkohole trennen. Da zur Erkennung der auf den Säulen getrennten Verbindungen die physikalische Methode der Wärmeleitfähigkeit angewandt wird, werden die Substanzen nicht verändert und lassen sich durch spektroskopische Charakterisierung und chemische Reaktion weiter identifizieren. Die Gasphasen-Flüssigkeits-Chromatographie gestattet auch quantitative Bestimmungen der getrennten Aromastoffe.