

Schnellerfassung von Aromavorstufen in Traubenmost und Sektgrundweinen mittels FT-MIR und ihre gesteuerte Freisetzung während der Gärung

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I:	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Neustadt Abt. Weinbau und Önologie Prof. Dr. Ulrich Fischer
Forschungsstelle II:	Technische Universität Braunschweig Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Peter Winterhalter/Dr. Gerold Jerz
Industriegruppen:	Verband Deutscher Sektkellereien e.V. (vds), Wiesbaden Deutscher Weinbauverband e.V. (dwv), Bonn
	Projektkoordinator: Karl-Josef Lauzi Rotkäppchen-Mumm-Sektkellereien GmbH & Co. KG, Eltville
Laufzeit:	2011 – 2015
Zuwendungssumme:	€ 467.100,-- (Förderung durch BMWi via AiF)

Ausgangssituation:

Im zentralen Schritt der Wein- und Sektbereitung, der alkoholischen Gärung, werden Aromastoffe aus ihren geruchslosen Aromavorstufen (meist Glykoside) freigesetzt. So entsteht erst nach der Gärung das sortentypische Aroma von Wein. Mit dem „Glycosyl-Glucose-Assay“ (GG-Assay) wurde die Grundlage zur Quantifizierung der glykosidisch gebundenen Aromastoffe (Aromaprecursoren) in Mosten gelegt. Leider erfasst das GG-Assay über die Messung der „glykosidisch gebundenen Glucose“ summarisch aber sämtliche glykosiliert vorliegenden Stoffe und schließt neben Aromastoffen auch Polyphenole (z.B. Anthocyane) mit ein. Daher bedarf es einer stärkeren analytischen Auffächerung dieses Summenparameters, um aussagekräftigere Daten über den Gehalt der Precursoren der wichtigsten Aromastoffklassen zu erhalten.

Sowohl für Traubenmoste als auch für Sektgrundweine fehlt es den Wein- und Sektkellereien bislang ganz allgemein an verlässlichen Daten über den Gehalt an Aromavorstufen. Gleichzeitig mangelt es an Wissen über das konkrete enzymatische Freisetzungspotenzial der eingesetz-

ten Wein- und Sektheften. Erst mit diesem Wissen kann eine gezielte Auswahl des optimalen Hefestamms erfolgen. Diese unbefriedigende Situation liegt in dem hohen Aufwand der Aromastoffanalytik begründet, der für qualitätsrelevante Aussagen über den Gehalt an Aromastoffvorläufern zwingend notwendig ist. Da diese Analytik weder apparativ noch personell in Wein- und Sektkellereien abgedeckt werden kann, war es das Ziel des Forschungsvorhabens, eine Analytik zu entwickeln, die auf die in den Betrieben bereits seit Jahren etablierte FT-MIR-Analytik zurückgreift und die qualitative Beurteilung von Trauben, Mosten und Sektgrundweinen um ein wichtiges Kriterium erweitert.

Aufbauend auf den Ergebnissen des 2006 erfolgreich abgeschlossenen IGF-Vorhabens AiF 13932 N sollte eine verbesserte Erfassung und Nutzung gebundener Aromastoffe („Aromaprecursoren“) in Mosten und Sektgrundweinen in den exemplarisch ausgewählten Rebsorten Riesling, Chardonnay, Müller-Thurgau, Muskateller, Ugni blanc und Airén während der Wein- und Sektbereitung erreicht werden.

Forschungsergebnis:

In einem ersten Schritt gelang es, die in sehr niedrigen Konzentrationen vorliegenden Aromastoffvorläufer mittels Festphasenextraktion aufzukonzentrieren. Zur Sicherung eines hohen Probendurchsatzes und einer guten Reproduzierbarkeit wurde erfolgreich ein Festphasenextraktion-Roboter-System implementiert. Die aus den größtenteils von den Mitgliedern des Projektbegleitenden Ausschusses bereitgestellten Most- und Sektgrundweinproben gewonnenen Extrakte der Aromastoffvorläufer wurden zur Kalibrierung des FT-MIR wie folgt analysiert: In dreifacher Wiederholung hergestellte Extrakte wurden im Kalibriermodus in dem auf das sehr kleine Probenvolumen von 1 mL angepassten FT-MIR-Gerät vermessen. Weitere in vierfacher Wiederholung extrahierte Aromastoffvorläufer wurden nach enzymatischer Freisetzung der Aromastoffe einer GC-MS-Referenzanalytik zugeführt und auf Basis der an Forschungsstelle (FS) 1 und 2 selbst synthetisierten deuterierten Aromastoffe mittels des Stabil-Isotopen-Verdünnungs-Assays (SIVA) quantifiziert. Anschließend erfolgte die statistische Verrechnung mit dem FT-MIR-Datensatz auf Basis der Partial-Least-Square-Regression.

So gelang es, nach der Flüssig-Flüssig-Extraktion der freigesetzten Aromastoffe ohne weitere Aufkonzentrierung mittels einer innovativen Large-Volume-Injektion in einer GC-Analyse zwölf Monoterpene, neun C₁₃-Norisoprenoide, vier C₆-Alkohole, zwei aromatische Alkohole und ein flüchtiges Phenol in dreifacher Messwiederholung zu bestimmen. Erstmals konnte anhand von Sektgrundweinen aus vier Rebsorten eine FT-MIR-Basiskalibration erstellt werden, die sehr vielversprechende Ergebnisse lieferte. Für die Substanzklasse der Monoterpene konnte ein Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,92$ ermittelt werden, so dass die FT-MIR-Schnellmethode die Varianz der GC-MS Analyse zu 92 % abbildet und die Fehlerwahrscheinlichkeit nur 8 % beträgt. Für die C₆-Alkohole ergab sich $R^2 = 0,80$, für die aromatischen Alkohole $R^2 = 0,86$, für die C₁₃-Norisoprenoide $R^2 = 0,72$ sowie für die flüchtigen Phenole $R^2 = 0,93$. Um den äußerst geringen Konzentrationen der Aromastoffvorläufer Rechnung zu tragen, wird derzeit eine zusätzliche Kalibrierung unter Verwendung von Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel in Kombination mit einer auf 150 μm erhöhten Küvettenstärke entwickelt. Aufgrund des dadurch optimierten Signal-zu-Hintergrund-Verhältnisses ist die Ver-

wendung eines einfachen Extraktes aus 100 mL Most oder Wein zur Messung ausreichend.

Die Untersuchung oenologischer Verfahren hinsichtlich ihres Beitrags zur Extraktion der Aromaprekursoren erfolgte in zwei Jahrgängen (2013 und 2014). Erstmals konnten im Falle der Rebsorten Riesling und Muskateller für die fünf untersuchten Aromastoffgruppen die Extraktionskinetiken für unterschiedliche Maischezeiten/Pressfraktionen charakterisiert werden. Vergleichbare Daten sind bisher nur in Form des weniger aussagekräftigen Glycosyl-Glucose-Assays zugänglich. So konnte belegt werden, dass die glykosidisch gebundenen Aromastoffe bezüglich ihres Extraktions- und Freisetzungsverhaltens deutliche Unterschiede aufweisen.

Aromastoffe sind im Traubenmost und Sektgrundwein meist an Disaccharide gebunden, so dass die Hefe nicht nur über eine β -Glucosidase zur Abspaltung des Glucoserestes verfügen muss, sondern weitere Enzyme benötigt, um auch die Disaccharide zu spalten. In der Literatur gibt es bisher kaum Auskunft darüber, inwieweit die kommerziell angebotenen Hefestämme hierzu in der Lage sind. Zur Deckung dieser Wissenslücke wurden an Forschungsstelle 2 aus Riesling-, Chardonnay- und Muskatellermosten Prekursor-konzentrate mittels organischer Adsorberharze gewonnen, die hinsichtlich Struktur und Gehalt an gebundenen Aromastoffen charakterisiert wurden. Die Untersuchungen mittels GC-EI-MS belegten, dass der Aromaprekursor-Extrakt des Muskatellermosts mit Abstand die meisten Monoterpene aufweist, während der Extrakt aus Rieslingmost besonders viele C₁₃-Norisoprenoide enthält und im Chardonnay die wenigsten gebundenen Aromastoffe innerhalb dieser drei Rebsorten zu finden sind. Um für die Untersuchung des Freisetzungsverhaltens von Hefestämmen im Kleinstmaßstab (750 mL) ein genau definiertes Ausgangsmittel zu schaffen, wurden jeweils ein Most und Sektgrundwein aus den aromaschwachen Rebsorten Trebbiano und Airén mit diesen Extrakten dotiert. Dieses Screening ermöglichte die Charakterisierung von sechzehn Wein- und neun Sekthefestämmen bezüglich ihres individuellen Freisetzungsvermögens, d.h. der Spaltung der glykosidischen Aromavorstufen, wobei deutliche Unterschiede im Freisetzungspotenzial der einzelnen Hefen (auch in Bezug auf einzelne Aromastoffklassen) auftraten. Anhand dieser Ergebnisse konnte eine Selektion von Hefestämmen für die Vergärung im Versuchsmaßstab (25 L) getroffen werden, um eine möglichst große Varianz in der Freiset-

zungsratesicherzustellen. Die Vergärungen von Riesling, Chardonnay und Muskatellermosten ergaben sowohl sensorisch als auch aromaanalytisch große Unterschiede. Es konnte zwischen schwach und stark freisetzenden Hefen unterschieden werden, wobei die Ersteren für die Vergärung von Weinen mit einem längeren Lagerungspotenzial geeignet sind. Eine geringe Freisetzung der Aromastoffe belässt nach der Vergärung ein Reservoir an Prekursoren, die während einer mehrjährigen Lagerung der Weine hydrolytisch gespalten werden können und damit für ein stabiles Sortenaroma sorgen, da die Freisetzung der gebundenen Aromastoffe die langsame Oxidation der Monoterpene, C₆-Alkohole oder aromatischen Alkohole kompensiert. Für Weine, die innerhalb eines oder zwei Jahren konsumiert werden sollen, empfehlen sich allerdings Hefestämme mit einem hohen Freisetzungsvermögen.

Ein besonderes Augenmerk wurde auf die Freisetzung und Bildung des für die Altersfirne in Rieslingweinen verantwortlichen TDN gelegt. Die für die TDN-Bildung postulierte TDN-Vorstufe 3,6-Dihydroxy- α -jonon wurde im präparativen Maßstab synthetisiert und in Modellvergärungen eingesetzt. Erstmals konnte gezeigt werden, dass insbesondere die untersuchten Sekthefen einen Einfluss auf die TDN-Gehalte von Rieslingweinen haben.

Auch für Sekthefen konnten im Rahmen der im Versuchsmaßstab durchgeführten Flaschengärung mit neunmonatiger Lagerung auf der Hefe sowohl sensorisch als auch analytisch große Unterschiede festgestellt werden. Auf Anregung des Projektbegleitenden Ausschusses wurde auch der Frage nachgegangen, ob es sinnvoller ist, für die Vergärung der Grundweine eine wenig freisetzende Hefe anzuwenden, um bei der zweiten Gärung während der Versektung dann eine stark freisetzende Hefe zu verwenden. Diesem Anliegen wurde in zwei Versuchsjahren für die Rebsorten Riesling, Chardonnay und Muskateller Rechnung getragen, indem Hefestämme mit gering und stark freisetzendem Charakter für die Grundweinherstellung Anwendung fanden und die gleichen Hefestämme in vollfaktorierter Kombination auch zur Versektung verwendet wurden. Im ersten Versuchsjahr konnte für Riesling- und Sauvignon-blanc-Sekte auf Basis der Expertenverkostung die Arbeitshypothese aufgestellt werden, dass für die Erzeugung aromaintensiver und damit rebsortentypischer Sekte für die Grundweinherstellung eine eher schwach freisetzende Hefe eingesetzt werden sollte. Die-

se belässt einen Großteil der gebundenen Aromastoffe in ihrer für Oxidation und Verflüchtigung weniger anfälligen gebundenen Form. Erst während der Versektung im abgeschlossenen Gärbehältnis erfolgt dann die entscheidende Freisetzung der sortentypischen Aromastoffe. Im zweiten Versuchsjahr wurde diese Arbeitshypothese für die Rebsorten Riesling, Chardonnay und Muskateller überprüft und bestätigt. Zusätzlich kam jeweils vor der Weinvergärung und Versektung ein Enzympräparat (AR 2000) zur Anwendung. Sowohl sensorisch als auch die Freisetzung der Aromastoffe aus ihren Prekursoren betreffend konnte bei jeder Hefe mit dem Enzympräparat eine weitere Aromaintensivierung herbeigeführt werden. Insbesondere bei Einsatz von schwächer freisetzenden Hefen waren die Auswirkungen des Enzyms größer als die der Hefe selbst.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Der Ankauf von Trauben und Most an Stelle vergorener Fassweine durch Weinkellereien und Weingüter nimmt stetig zu. Zusammen mit den ausschließlich Trauben annehmenden Genossenschaften wird somit rund 50 % der deutschen Weinproduktion von den Erzeugern als Trauben oder Most an weiterverarbeitende Betriebe verkauft. Während Sortentypizität und Qualität von Weinen sensorisch und analytisch gut zu beurteilen sind, ergibt sich beim Bezug der Rohstoffe Trauben und Most, aber auch von Sektgrundwein das Problem, dass die spätere Wein- und Sektqualität nur unzureichend bewertet werden kann. Hier kann eine rasche Bestimmung der Aromaprekursoren, die maßgeblich an der Ausprägung der Sortentypizität und damit auch der Wein- bzw. Sektqualität beteiligt sind, den Betrieben ein wichtiges und objektives Bewertungskriterium an die Hand geben. Betriebe, die ihre Trauben, Moste oder Sektgrundweine von vertraglich gebundenen Erzeugern beziehen, können den Erfolg und die Einhaltung der vereinbarten qualitätsfördernden Maßnahmen im Weinberg u.a. anhand der gestiegenen Konzentrationen der Aromastoffvorläufer in den Mosten und Sektgrundwein überprüfen. Angesichts der weit ausgereiften Technologie der Wein- und Sektherstellung kommt neben der Qualität der Trauben und Sektgrundweine der Freisetzung der Aromaprekursoren während der Gärung und Versektung eine zentrale Bedeutung zu.

Der innovative Beitrag dieses Forschungsprojektes liegt in dem Nachweis des großen Einflusses

von Wein- und Sektheften, die sortentypischen und in der Traube gebildeten Aromastoffe aus ihren geruchslosen Vorläufern freizusetzen. Hierbei traten sowohl chemisch als auch sensorisch belegte größere Unterschiede auf als erwartet. Dies befähigt Wein- und Sekterzeugende Betriebe angesichts eines Hefeangebots von weit mehr als 100 Stämmen, diese gezielter und besser auf die Erwartungen an das Endprodukt Sekt abgestimmt auszuwählen. Diese Information kann umgehend in kleinen, aber auch größeren Betrieben umgesetzt werden. Die Kalibrierung des bei den meisten größeren Wein- und Sekterzeugern im Labor genutzten FT-MIR auf die Untersuchung von Aromastoffvorläufern in automatisierbar herzustellenden Aromaextrakten aus Mosten und Weinen erlaubt in Zukunft eine stärker wissensbasierte Auswahl von Sektgrundweinen oder Mosten. Da Aromastoffvorläufer weder geruchlich noch geschmacklich erfassbar sind und damit durch die Verkostung nicht beurteilt werden können, erschließt der Zugang zu dieser Schnellmethode eine analytische Qualitätskontrolle im Bereich der Aromenentwicklung während der ersten und zweiten Gärung. Ferner können Moste und Sektgrundweine als Rohstoffe für die Sektherstellung vor ihrem Bezug auf ihren Gehalt an gebundenen Aromastoffen getestet werden. Erstmals geschieht dies sowohl im Most als auch Wein getrennt für fünf verschiedene Aromastoffklassen. KMU bekommen Zugang zu dieser Analytik über die Nutzung spezialisierter Dienstleistungslaboratorien, größere Wein- und Sekterzeuger können mit einer Investition in die automatisierte Probenvorbereitung in (Kosten: ca. € 25.000) und die Nutzung der zur Verfügung gestellten Basiskalibrierung in ihren bestehenden FT-MIR-Systemen die neu entwickelte Analytik direkt nutzen.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2015.
2. Schober, D., Wacker, M., Brüggemann, M. und Fischer, U.: Freisetzung von Aromastoffen bei der Versektung - Einfluss von Hefen und Enzymen. Dt. Weinmag. 6, 12-16 (2015).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

Weiteres Informationsmaterial:

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR)
Rheinpfalz
Abt. Weinbau und Önologie
Breitenweg 71, 67435 Neustadt
Tel.: +49 6321 671-294
Fax: +49 6321 671-222
E-Mail: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Technische Universität Braunschweig
Institut für Lebensmittelchemie
Schleinitzstr. 20, 38106 Braunschweig
Tel.: +49 531 391-7202
Fax: +49 531 391-4577
E-Mail: p.winterhalter@tu-bs.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.