



Vitis 23, 66—72 (1984)

Bundforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen
 Institut für Lebensmittelchemie, Universität Karlsruhe

Neue schwefelhaltige Aromastoffe in Wein — cis- und trans-2-Methyl-thiolan-3-ol¹⁾

von

A. RAPP, M. GÜNTERT und J. ALMY²⁾

New volatile sulphur compounds in wine — cis- and trans-2-methyl-thiolane-3-ol

S u m m a r y. — For the first time cis- and trans-2-methyl-thiolane-3-ol were identified (GC-MS) in the aroma extract of wines of the varieties Riesling and Morio-Muskat. These compounds are not present in must. They develop during the alcoholic fermentation in a narrow correlation with production of ethanol.

Einleitung

Flüchtige organische Schwefelverbindungen können infolge ihrer niedrigen Geruchs-Schwellenwerte die sensorische Beurteilung unserer Nahrungs- und Genussmittel sehr nachhaltig beeinflussen. Bei den bisher in Weißweinen identifizierten S-Verbindungen (5, 10) handelt es sich um leicht flüchtige Thioäther wie Dimethylsulfid (DMS), Diäthylsulfid (DES) oder Dimethyldisulfid (DMDS) (5) und um einige weniger flüchtige Komponenten. Unter diesen wurde 3-(Methylthio)-propanol-1 (Methionol) als Hauptkomponente nachgewiesen (3, 6). Weiterhin wurden 3-(Äthylthio)-propanol-1 (Äthionol) (7, 8), Essigsäure-3-(methylthio)-propylester (Methionylacetat) (7, 8), 3-(Methylthio)-propionsäure-methylester (7, 8), 3-(Methylthio)-propionsäure-äthylester (7, 8), N-(3-[Methylthio]-propyl)-acetamid (9), Methylthiolacetat (1) und Äthylthiolacetat (1) in Wein identifiziert. Ferner wurde als zyklische S-Komponente 2-Methyl-thiolan-3-on nachgewiesen (7). Dabei wird Methionol im Verlaufe der alkoholischen Gärung aus der S-haltigen Aminosäure Methionin gebildet, während Methionylacetat und 2-Methyl-thiolan-3-on gleichzeitig als Nebenprodukte entstehen (5).

Im Rahmen unserer Untersuchungen zur Charakterisierung verschiedener Rebsorten anhand der Aromastoffzusammensetzung konnten wir cis- und trans-2-Methyl-thiolan-3-ol im Wein nachweisen und identifizieren.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

- a) Weine der Rebsorten Riesling und Morio-Muskat der Qualitätsstufen Q. b. A. und Kabinett aus den Jahren 1980, 1981 und 1982 von Winzergenossenschaften des Bereichs Südliche Weinstraße.
- b) Aus einem Großgebilde (Gebietswinzergenossenschaft Deutsches Weintor, Ilbesheim/Rheinpfalz) wurden mehrere Proben vor, während sowie nach der Gärung entnommen (Morio Muskat, Q. b. A., 1981).

¹⁾ Auszug aus der Dissertation (in Vorbereitung) von M. GÜNTERT, Universität Karlsruhe.

²⁾ California State College, Stanislaus/Turlock.

Aufarbeitung, Extraktion und Konzentrierung der Aromastoffe

Die Weine (250 ml) wurden in einer von RAPP *et al.* (4) beschriebenen Extraktionsapparatur über 20 h mit 60 ml einer Mischung aus Monofluortrichlormethan und Dichlormethan (9+1, v/v) extrahiert. Die Extraktionsmittel wurden zuvor über eine Kolonne (l = 1,8 m, i.D. = 4,5 cm) rektifiziert. Als interner Standard wurden 0,1 ml einer 0,2%igen äthanolischen Octanol-3-Lösung auf 250 ml Wein vor der Extraktion zugegeben.

Die Most- und Weinproben aus dem Gärgebinde wurden nach der Entnahme mit Actidion (15 mg/l), Kochsalz (100 g/l) und Natriumfluorid (2,5 g/l) versetzt (Inhibierung) und anschließend wie o. a. extrahiert.

Die Aromaextrakte wurden bis zur Analyse bei -25°C aufbewahrt.

Von diesen Weinextrakten wurden unmittelbar vor der Analyse etwa 20 ml abgenommen und in einem Spitzkölbchen über eine wassergekühlte Vigreuxkolonne konzentriert. Der erhaltene Aromaextrakt wurde bei -25°C gekühlt, ein aliquoter Teil (1–2 μl) wurde mit einer gekühlten Mikroliterspritze in das Injektionssystem des Gaschromatographen eingespritzt.

Zur Bestimmung der S-Komponenten mittels eines flammenphotometrischen Detektors (FPD) wurde den Weinextrakten nach der Extraktion 1 μl Tetradecanthiol als externer Standard zugesetzt.

Auftrennung der Aromastoffe (GC-Bedingungen)

System	A	B	C
Geräte:	Siemens Chromatograph L 350	Siemens Chromatograph L 402	Siemens Sichromat mit S-Detektor
Integrator:	Hewlett Packard 3390 A		
Detektor:	FID	FID	FPD (Wellenlänge 395 nm)
Schreiber:	Rikadenki Multi-Pen Recorder (R 10)		Printer-Plotter (Siemens)
Schreibervorschub:	0,5 cm/min	0,5 cm/min	0,5 cm/min
Trärgas:	H ₂ (3-Ring)	H ₂ (3-Ring)	N ₂ (reinst)
Split:	1 : 32,3	1 : 25	1 : 25
Injektortemperatur:	200 °C	200 °C	200 °C
Detektortemperatur:	200 °C	200 °C	200 °C
Temperaturprogramm:	50–170 °C bei ΔT 1,5 °C/min	60–170 °C bei ΔT 1,5 °C/min	60–170 °C bei ΔT 2 °C/min
Glaskapillaren:	Reoplex 400 l = 60 m; i.D. = 0,25 mm	Carbowax 20 M l = 50 m; i.D. = 0,25 mm	Carbowax 20 M l = 25 m; i.D. = 0,25 mm
Injektionsvolumen:	1,0 μl	1,5 μl	1,0 μl

Identifizierung der Aromastoffe

Die Identifizierung der Komponenten erfolgte durch Vergleich der Retentionsdaten der entsprechenden Referenzsubstanzen sowie mit Hilfe der Massenspektrometrie (GC-MS).

Gerät:	Finnigan 3200 mit INCOS-Auswertesystem
Trägergas:	He
Temperaturprogramm:	50—160 °C bei ΔT 2 °C/min
Glaskapillare:	Carbowax 20 M, l = 60 m, i. D. = 0,25 mm
Anregungsenergie:	70 eV

Die Referenzsubstanz 2-Methyl-thiolan-3-ol wurde durch Reduktion von 2-Methyl-thiolan-3-on³⁾ mit NaBH₄ in wäßrig-äthanolischer Lösung (1 : 1 v/v) erhalten.

Ergebnisse und Diskussion

In allen bisher untersuchten Weißweinen der Rebsorten Weißer Riesling und Morio-Muskat konnten die cis/trans-Isomere des 2-Methyl-thiolan-3-ol nachgewiesen werden. Da es sich nicht um eine sortenabhängige Komponente handeln dürfte, sollte

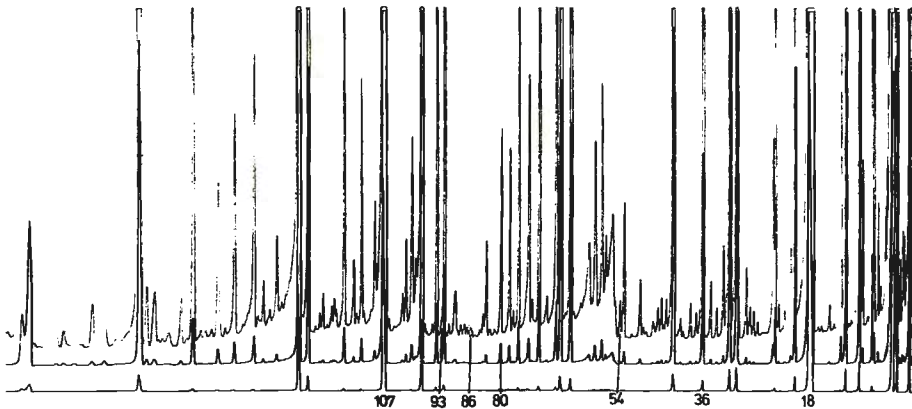


Abb. 1: Aromagrammausschnitt eines Aromaextraktes aus Wein der Rebsorte Riesling. (Glaskapillare, Carbowax 20 M.)

18 = i-Amylalkohole	86 = cis-2-Methyl-thiolan-3-ol (2S, 3S und 2R, 3R)
36 = Octanol-3 (Standard)	93 = trans-2-Methyl-thiolan-3-ol (2S, 3R und 2R, 3S) + Nerol
54 = 2-Methyl-thiolan-3-on	107 = 2-Phenyläthanol
80 = Methionol	

Chromatogram section of aroma extract from wine of the cultivar Riesling. Glasscapillary, Carbowax 20 M. For peak numbers compare German text.

ihr Nachweis auch in Weinen anderer Rebsorten möglich sein. Im Aromagrammausschnitt eines Weines der Rebsorte Riesling (Abb. 1) erscheint mit kürzerer Retentionszeit (Peak Nr. 86) cis-2-Methyl-thiolan-3-ol (2S, 3S und 2R, 3R), mit längerer Retentionszeit (Peak Nr. 93) trans-2-Methyl-thiolan-3-ol (2S, 3R und 2R, 3S). Diese Zuordnung der Isomere wurde von ZABRANSKÝ *et al.* (11) auf GE-XE-60 vorgenommen.

³⁾ Für die Überlassung der Ausgangsprobe danken wir Herrn Dr. W. PICKENHAGEN, Firmenich SA, Genf, sehr herzlich.

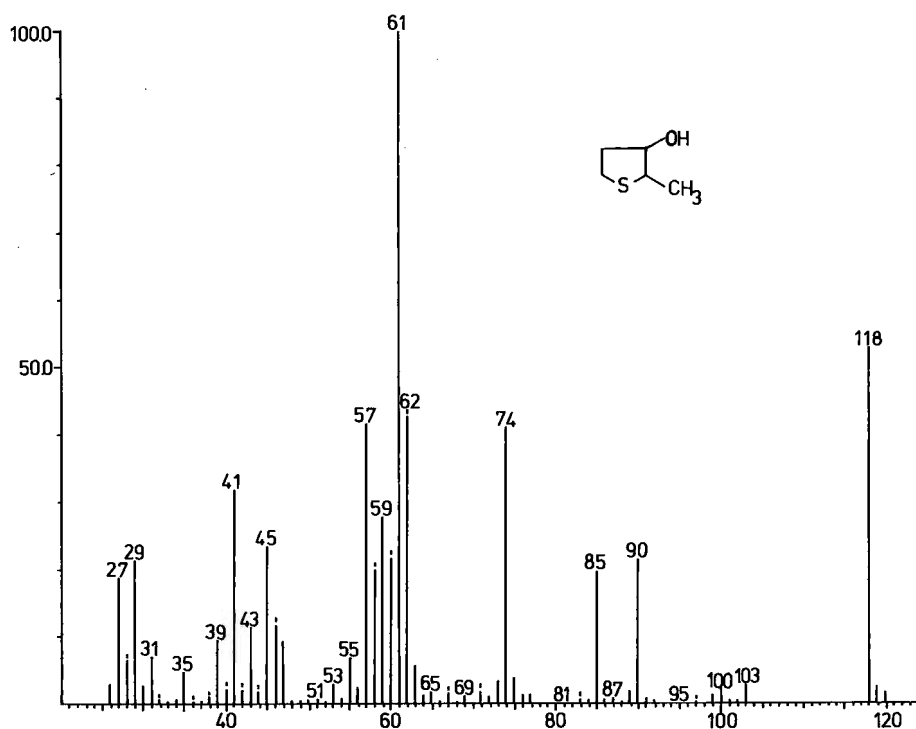


Abb. 2: Massenspektrum von 2-Methyl-thiolan-3-ol.

Mass spectrum of 2-methyl-thiolane-3-ol.

Relative Retentionszeiten verschiedener S-Verbindungen auf Carbowax 20 M (Tetradecanthiol = 1,000) (Geräteanordnung C)

Relative retention times of S-compounds on Carbowax 20 M (tetradecanthiol = 1.000) (equipment C)

Verbindung	Referenzsubstanzen	Weinextrakte
2-Methyl-thiolan-3-on	0,251	0,247
Unbekannt	—	0,261
3-(Methylthio)-propionsäure-methylester	0,265	—
3-(Methylthio)-propionsäure-äthylester	0,317	—
Methionylacetat	0,407	—
Methionol	0,556	0,552
2-Methyl-thiolan-3-ol (cis)	0,583	0,587
Äthionol	—	0,636
2-Methyl-thiolan-3-ol (trans)	0,673	0,678
Unbekannt	—	0,884
Tetradecanthiol (Standard)	1,000	1,000
N-(3-[Methylthio]-propyl)-acetamid	—	1,729

Die Massenspektren der Referenzsubstanzen (Abb. 2) sowie die Retentionszeiten auf zwei verschiedenen belegten Glaskapillaren (Reoplex 400 und Carbowax 20 M) stimmen überein mit den entsprechenden Daten der aus dem Wein extrahierten Verbindungen.

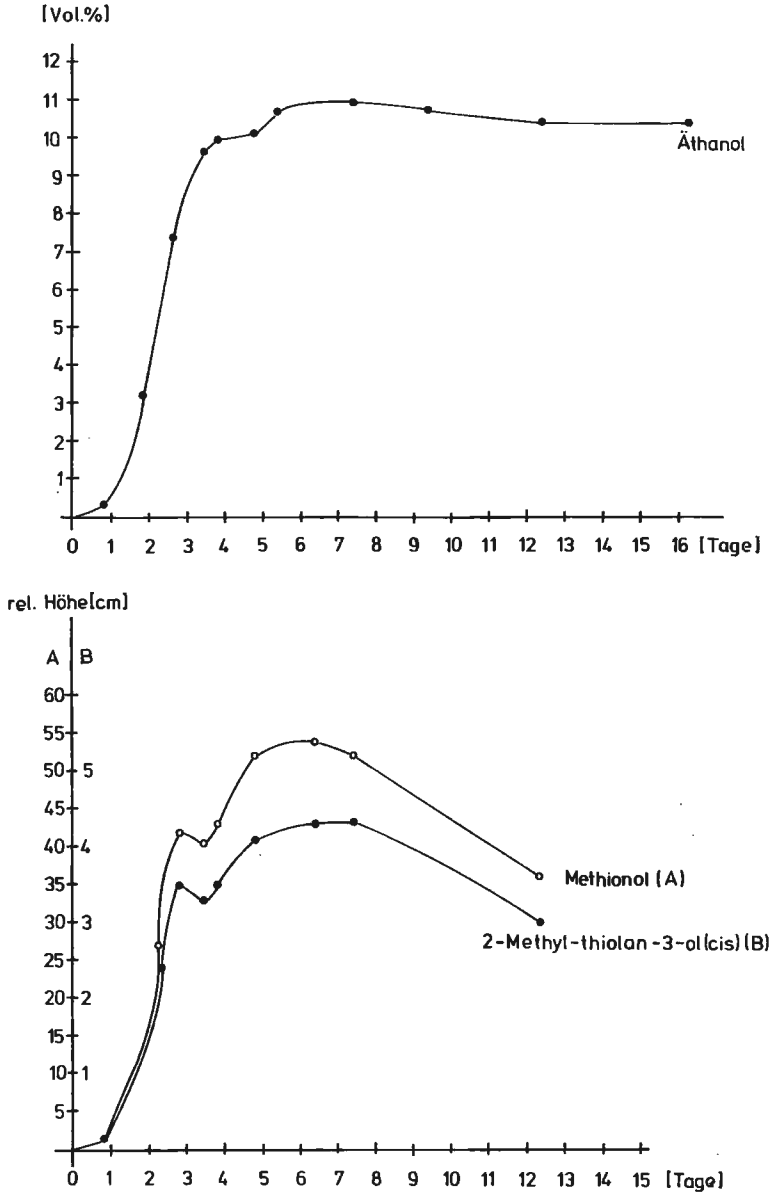


Abb. 3: Die Gehalte von Äthanol und von cis-2-Methyl-thiolan-3-ol und Methionol im Verlauf der alkoholischen Gärung.

Development of ethanol and of cis-methyl-thiolane-3-ol and methionol during the alcoholic fermentation.

dungen. Im vorliegenden Aromagramm (Abb. 1) sind neben cis- und trans-2-Methylthiolan-3-ol auch 2-Methylthiolan-3-on (Peak Nr. 54), das zusammen mit Milchsäuren-butylester eluiert wird, und Methionol (Peak Nr. 80) sowie Octanol-3 als innerer Standard (Peak Nr. 36) und zur besseren Übersicht auch die i-Amylalkohole (Peak Nr. 18) und 2-Phenyläthanol (Peak Nr. 107) gekennzeichnet.

Von der einleitend genannten Gruppe der weniger flüchtigen S-Komponenten konnten anhand von Massenspektren auch Äthionol sowie N-(3-[Methylthio]-propyl)-acetamid in allen untersuchten Weinen identifiziert werden. Da von diesen beiden Verbindungen keine Referenzsubstanzen vorhanden waren, wurden sie im Aromagramm nicht angegeben.

Zur Überprüfung der erzielten Ergebnisse wurden einige der Weinextrakte mit Hilfe eines S-spezifischen FPD-Detektors (Gerät C) untersucht und ausgewertet. In der Tabelle sind die relativen Retentionszeiten (bezogen auf Tetradecanthiol) der vorhandenen Referenzsubstanzen und der im Wein nachgewiesenen S-Verbindungen aufgeführt. Es wurde bestätigt, daß in den Weinen 2-Methylthiolan-3-on, Methionol, cis- und trans-2-Methylthiolan-3-ol vorhanden sind. Bei den Peaks mit den relativen Retentionszeiten 0,636 und 1,729 sollte es sich um Äthionol und N-(3-[Methylthio]-propyl)-acetamid handeln.

Obwohl für die Verbindungen Methionylacetat, 3-(Methylthio)-propionsäuremethylester und 3-(Methylthio)-propionsäureäthylester die Referenzsubstanzen und deren Massenspektren vorlagen, wurde keine dieser drei Verbindungen in einem der untersuchten Weine aufgefunden. Dabei ist vor allem das Fehlen von Methionylacetat überraschend, da im Wein neben Äthylacetat alle Essigsäureester der höheren Alkohole vorliegen, wenn die Alkohole entsprechende Konzentrationen aufweisen.

In Versuchen, bei denen das Verhalten der Aromastoffe vor, während und nach der Gärung untersucht wurde (2), konnte ermittelt werden, daß cis- und trans-2-Methylthiolan-3-ol erstmalig mit Gärungsbeginn nachzuweisen sind und dann während der Gärung fast kontinuierlich bis zu einem Maximum ansteigen. Anschließend fällt der Gehalt bis zum ersten Abstich von der Hefe (16 d nach Gärbeginn) leicht ab. In Abb. 3 sind die Gehalte an Äthanol (oben) und cis-2-Methylthiolan-3-ol sowie Methionol (unten) dargestellt. Die Bildung dieser S-Verbindungen zeigt einen sehr ähnlichen Verlauf und ist eng korreliert mit der Äthanolbildung. Eine Abweichung zwischen dem Verhalten der S-Komponenten und der Äthanolbildung ist jedoch zwischen dem 3. und 4. d zu beobachten, wo die Gehalte der S-Verbindungen unter die Werte abfallen, die analog zur Äthanolbildung zu erwarten wären. Zwischen dem 4. und 5. d war es erforderlich, das Gärgebilde zu kühlen. Die dadurch verminderte Gärtätigkeit der Hefen äußert sich zu diesem Zeitpunkt in einem geringeren als dem zu erwartenden Äthanolgehalt.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der GC-MS-Kopplung identifizierten wir zum erstenmal cis- und trans-2-Methylthiolan-3-ol im Aromaextrakt von Weinen der Rebsorten Riesling und Morio-Muskat. Diese Verbindungen sind im Traubenmost nicht enthalten und werden im Verlauf der alkoholischen Gärung — eng korreliert mit der Äthanolzunahme — gebildet.

Für die sorgfältige Durchführung der GC-MS-Messungen danken wir Herrn H. ULLEMEYER recht herzlich.

Literaturverzeichnis

1. LEPPÄNEN, O. A., DENSLOW, J. and RONKAINEN, P. P., 1980: Determination of thiolacetates and some other volatile sulfur compounds in alcoholic beverages. *J. Agricult. Food Chem.* **28**, 359—362.
2. MANDERY, H., 1983: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen flüchtiger Inhaltsstoffe des Traubenmost- und Weinaromas: Auswirkung der Süßung auf die Aromazusammensetzung. Diss. Univ. Karlsruhe.
3. MULLER, C. J., KEPNER, R. E. and WEBB, A. D., 1971: Identification of 3-(methylthio)-propanol as an aroma constituent in Cabernet Sauvignon and Ruby Cabernet wines. *Amer. J. Enol. Viticult.* **22**, 156—160.
4. RAPP, A., HASTRICH, H. und ENGEL, L. 1976: Gaschromatographische Untersuchungen der Aromastoffe von Weinbeeren. I. Anreicherung und kapillarchromatographische Auftrennung. *Vitis* **15**, 29—36.
5. SCHREIER, P., 1979: Flavor composition of wines: a review. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **12**, 59—111.
6. — — und DRAWERT, F., 1974: 3-(Methylthio)-1-propanol, eine flüchtige Komponente des Weinaromas. *Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch.* **154**, 27—28.
7. — — und — —, 1975: Schwefelhaltige Aromastoffe. In: DRAWERT, F. (Hrsg.): Geruch- und Geschmackstoffe, 113—131. Verlag Hans Carl, Nürnberg.
8. — —, — — und JUNKER, A., 1974: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines. II. Thioäther-Verbindungen des Weinaromas. *Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch.* **154**, 279—284.
9. — —, — — und — —, 1975: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines. IV. Nachweis sekundärer Amide in Wein. *Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch.* **157**, 34—37.
10. STRATEN, S., VAN, BEAUVESER, I. C. DE and VISSCHER, C. A., 1980: Volatile compounds in food. *TNO, Suppl.* **5**, 70.8.
11. ZÁBRANSKÝ, J., CERNÝ, J. V. and SEDMERA, P., 1976: Stereochemistry of formation of thietane, thiolane and thiane derivatives in cyclisations of dichloro alcohols and chlorooxiranes. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **41**, 3294—3307.

Eingegangen am 19. 8. 1983

Dr. A. RAPP
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
D 6741 Siebeldingen