

Über die Eignung des Gehalts an Shikimisäure im Wein als Authentizitätsparameter

ELSA FISCHERLEITNER, KARIN KORNTHEUER, SILVIA WENDELIN und REINHARD EDER

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: Elsa.Fischerleitner@hblawo.bmlfuw.gv.at

Shikimisäure gewinnt als Parameter zur Sortenidentifizierung von Weinen zunehmend an Bedeutung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden 293 weiße und rote authentische Weine ('Welschriesling', 'Riesling', 'Weißer Burgunder', 'Traminer', 'Müller-Thurgau', 'Sauvignon blanc', 'Chardonnay', 'Neuburger', 'Grüner Veltliner', 'Blauer Zweigelt', 'Blauer Burgunder', 'Blauer Portugieser', 'Blaufränkisch', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot') der Jahrgänge 1997 bis 2003 mittels HPLC-Methode auf den Gehalt an Shikimisäure untersucht. Anhand der Ergebnisse kann man erkennen, dass dieser Parameter zur Charakterisierung von Weinsorten nur sehr eingeschränkt geeignet ist. Von den Weißweinsorten lässt sich kein Wein mit Sicherheit von den anderen abgrenzen. Die in Österreich relevanten Sorten 'Grüner Veltliner' und 'Welschriesling' haben, wie auch der 'Weißer Burgunder', niedrige Gehalte an Shikimisäure, was zu Überlappungen der Ergebnisse führt. Von den Rotweinsorten lässt sich als einzige Sorte der 'Cabernet Sauvignon' von den anderen analysierten Weinen unterscheiden, da er mit einem Mittelwert von über 100 mg/l weit über den Werten der anderen liegt. Außerdem bleibt noch zu klären, ob eine Behandlung der Rebe mit bestimmten Herbiziden aus der Gruppe der Glyphosate zu einer Erhöhung des Shikimisäuregehalts in der Traube führt.

Schlagwörter: Rebe, Wein, Sortenidentifizierung, Shikimisäure

Shikimic acid contents as a parameter for the verification of varietal authenticity with wines. The importance of shikimic acid as a parameter for varietal authenticity is of increasing importance. For the present investigation 293 white and red authentic wines ('Riesling Italicum', 'Riesling', 'Pinot blanc', 'Traminer', 'Müller-Thurgau', 'Sauvignon blanc', 'Chardonnay', 'Neuburger', 'Grüner Veltliner', 'Blauer Zweigelt', 'Pinot noir', 'Blauer Portugieser', 'Blaufränkisch', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' - vintages 1997 to 2003) were investigated for their shikimic acid contents by means of HPLC. These results show, that shikimic acid contents are only suited restrictedly for the characterisation of grape cultivars. With white wines not a single cultivar can be differentiated definitely from any other. Cultivars like 'Grüner Veltliner' and 'Riesling Italicum', which are important for Austrian viticulture, as well as 'Pinot blanc' show low contents of shikimic acid, thus causing interferences of the results. With red grape cultivars only 'Cabernet Sauvignon' can be identified from other cultivars due to its high average value of more than 100 mg/l, which is far beyond the shikimic acid contents of other cultivars. Furthermore it should be investigated, whether the application of certain glyphosate herbicides increases the shikimic acid contents in the grapes.

Key words: grapevine, wine, varietal authenticity, shikimic acid

La teneur du vin en acide shikimique comme paramètre de l'authenticité. L'importance de l'acide shikimique en tant que paramètre de l'identification de cépages de vins va en augmentant. Dans le cadre du présent travail, la teneur en acide shikimique de 293 vins blancs et rouges authentiques ('Welschriesling', 'Riesling', 'Weißer Burgunder', 'Traminer', 'Müller-Thurgau', 'Sauvignon blanc', 'Chardonnay', 'Neuburger', 'Grüner Veltliner', 'Blauer Zweigelt', 'Blauer Burgunder', 'Blauer Portugieser', 'Blaufränkisch', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot') des millésimes 1997 à 2003 a été déterminée par CLHP. Les résultats révèlent que ce paramètre ne convient que de manière très limitée à la caractérisation de cépages. Il est impossible de différencier avec certitude les vins des cépages blancs. Les cépages importants pour l'Autriche 'Grüner Veltliner' et 'Welschriesling' ainsi que le 'Weißer Burgunder' présentent des teneurs faibles en acide shikimique, ce qui conduit à des interférences des résultats. Parmi les cépages rouges, seul le cé-

page 'Cabernet Sauvignon' se distingue des autres vins analysés, car sa teneur moyenne de plus de 100 mg/l dépasse de loin celle des autres cépages. En outre, il reste encore à clarifier si un traitement de la vigne/du cep avec certains herbicides glyphosates a pour conséquence une augmentation de la teneur de la baie en acide shikimique.

Mots clés: vigne/cep, vin, identification des cépages, acide shikimique

Shikimisäure ist der Trivialname für die 3,4,5-Trihydroxy-1-cyclohexencarbonsäure. Sie ist benannt nach Shikimi-no-ki, dem japanischen Sternanisbaum (*Illicium anisatum* L.), aus dem die Verbindung erstmals isoliert wurde (RÖMPP, 1992).

Sie ist ein wichtiges Stoffwechselformprodukt der höheren Pflanzen und entsteht auf dem Shikimatweg. Ausgehend von Phosphoenolpyruvat entsteht Shikimat (Salz der Shikimisäure) über einen C7-Körper, dessen Struktur die Ringform vorgibt. Nach der Entstehung von Chorismat können zwei verschiedene Wege eingeschlagen werden: die Synthese der aromatischen Aminosäure Tryptophan über das Anthranilat oder die Synthese der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin aus dem Aroginat. Über Phenylalanin entsteht durch nachfolgende Umsetzung die Zimtsäure, die eine besondere Bedeutung für den Wein in Bezug auf den Phenolstoffwechsel einnimmt. Sie ist die Ausgangssubstanz für Phenolcarbonsäuren (auch Hydroxyzimtsäuren), wie die Cumar-, Kaffee- und Ferulasäure. Weiters leiten sich auch die einfachen Phenole des Weines von der Zimtsäure ab, die durch β -Oxidation der Seitenkette aus dieser entstehen (RICHTER, 1988).

Unter anderem wird anhand der Shikimisäure die Authentizität von Fruchtsäften bewertet (WALLRAUCH, 1999), und auch als Parameter zur Sortenidentifizierung von Weinen gewinnt diese in letzter Zeit an Bedeutung. Untersuchungen des Shikimisäuregehalts verschiedener Apfelsäfte und Apfelweine lassen darauf schließen, dass diese im Verlauf der alkoholischen Gärung nicht verändert wird (WALLRAUCH, 1999). Diese Stabilität ist eine wichtige Voraussetzung für die Charakterisierung von Weinen. HOLBACH et al. (2001) fanden bei der Untersuchung von 25 Rebsorten heraus, dass innerhalb der Weißweinsorten die Burgunder-Rebsorten ('Weißer Burgunder', 'Ruländer') sowie die Sorten 'Chenin blanc', 'Sauvignon blanc' und 'Auxerrois' auffällig niedrige Shikimisäuregehalte aufweisen (Maximalgehalt < 28 mg/l). Aufgrund der niedrigen Gehalte in den Weinen dieser Sorten postulieren sie, dass ein Verschnitt mit Weinen anderer Sorten anhand eines Shikimisäureanstiegs nachzuweisen ist. Auch bei den Rotweinsorten haben sie sortenabhängige Gehaltsunterschiede festgestellt, welche in Kombination mit den Anthocyanprofilen eine gute Charakterisierung von Rebsorten er-

möglichen (HOLBACH et al., 2001). Die in dieser Publikation angewendete Methode zur Analyse der Shikimisäure mittels HPLC wurde am Institut für Lebensmittelchemie in Trier entwickelt und von der Internationalen Organisation für Rebe und Wein (O.I.V.) mittels Ringtest überprüft und als offizielle Methode zur Sortenidentifizierung anerkannt.

Material und Methoden

Weine

Untersucht wurden insgesamt 293 authentische Weine, davon vorwiegend folgende Weißweinsorten ('Welschriesling', 'Riesling', 'Weißer Burgunder', 'Traminer', 'Müller-Thurgau', 'Sauvignon blanc', 'Chardonnay', 'Neuburger', 'Grüner Veltliner') und Rotweinsorten ('Blauer Zweigelt', 'Blauer Burgunder', 'Blauer Portugieser', 'Blaufränkisch', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot') der Jahrgänge 1997 bis 2003, die in der Höheren Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau vinifiziert wurden. Die Probenahme von ungefähr 25 kg pro Sorte erfolgte durch die zuständigen Bundeskellereinspektoren an definierten Standorten. Die Weine sind absolut sortenrein und wurden im Zuge der Vinifizierung nicht angereichert, entsäuert und geschönt.

HPLC-Analyse

Shikimisäure wird direkt mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit zwei gekoppelten Säulen bestimmt. Vor dem Einspritzen in die HPLC muss die Probe durch Spritzenfilter (0,45 μ m) filtriert werden, wobei die ersten Tropfen des Filtrats verworfen werden. 5 μ l der filtrierten Probe wurden in das HPLC-System (HPLC 1090, Fa. Hewlett-Packard) injiziert und die im Wein enthaltenen organischen Säuren wurden zuerst mit Reversed Phase HPLC an einer C18-Säule (LiChroart RP18 250x4, Fa. Merck) vorgetrennt und schließlich mit einer Kationenaustauschsäule (Aminex HPX-87H 300x7,8, Fa. Bio-Rad, Wien) bei 65 °C isokratisch mit einem Eluenten bestehend aus 0,02N H₂SO₄ (1N Schwefelsäure, Fa. Merck Nr.

1.09072.1000; verdünnt mit doppelt destilliertem Wasser) bei einer Flussrate von 0,6 ml/min und einer Laufzeit von 40 min vollständig getrennt. Die quantitative Bestimmung erfolgte mittels UV-VIS DAD (Fa. Agilent, Wien) bei 210 nm, da die Shikimisäure wegen der Doppelbindung im Ringsystem ein starkes Absorptionsvermögen bei dieser Wellenlänge besitzt.

Ergebnisse und Diskussion

Die von der Internationalen Organisation für Rebe und Wein im Jahr 2004 anerkannte Methode zur Bestimmung der Shikimisäure wurde an unserem Institut etabliert und die Eignung durch Teilnahme an einem internationalen Ringversuch erfolgreich bestätigt. Im Rahmen dieses Ringversuchs wurden folgende Methodenkennzahlen ermittelt:

Standardabweichung der Wiederholbarkeit:

$$(s_r: y = 0,0124 x + 0,2732)$$

Standardabweichung der Vergleichbarkeit:

$$(s_R: y = 0,0287 x + 1,4953)$$

Es wurden 293 authentische Weiß- und Rotweine unterschiedlichen Alters (1 bis 6 Jahre) aus verschiedenen Anbaugebieten Österreichs untersucht und die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Weißweine

Anhand der in Abbildung 1 dargestellten Mediane und Minimal- und Maximalwerte kann man erkennen, dass die Shikimisäure zur Identifizierung der Weißweinsorten nicht beziehungsweise nur sehr eingeschränkt geeignet ist, da es praktisch bei allen Sorten Überlappungen gibt. Wie schon von HOLBACH et al. (2001) publiziert, konnten auch wir bei den Weinen der Sorte 'Weißer Burgunder' niedrige Gehalte an Shikimisäure feststellen, allerdings fanden wir auch bei den Weinen der Sorte 'Welschriesling' und etwas abgeschwächt bei den Sorten 'Grüner Veltliner' ähnliche Mittelwerte und Spannweiten der Shikimisäuregehalte, sodass in diesen Fällen eine Unterscheidung nicht möglich ist. Hierbei ist anzumerken, dass in der Publikation von HOLBACH et al. (2001) für die Sorten 'Grüner Veltliner' und 'Welschriesling' keine Werte angegeben wurden. Da die Sorten 'Grüner Veltliner' und 'Welschriesling' mit 37 % bzw. 8 % der gesamten Anbaufläche in Österreich eine bedeutende Rolle spielen, stellt dies eine wesentliche Einschränkung bei der Identifizierung der

Tabelle 1:
Shikimisäuregehalte der untersuchten Rebsorten

Sorte	Anzahl	Mittelwert	Min.	Max.	Standardabweichung
Riesling	22	41	7	98	21,9
Welschriesling	31	13	2	46	9,8
Weißer Burgunder	26	13	4	42	9,9
Chardonnay	10	30	10	56	16,2
Traminer	12	29	17	41	7,9
Sauvignon blanc	9	25	6	43	12,1
Müller-Thurgau	19	26	7	50	11,1
Neuburger	17	36	8	62	13,8
Grüner Veltliner	55	20	4	52	9,9
Merlot	7	31	8	66	22,2
Zweigelt	23	21	5	40	9,9
Blauer Portugieser	13	38	15	95	20,2
Blaufränkisch	23	34	14	68	13,5
Cabernet Sauvignon	14	108	79	138	16,1
Blauer Burgunder	12	16	5	34	9,0
gesamt	293				

Sorte 'Weißer Burgunder' (5 % der Anbaufläche in Österreich) dar.

Die größte Spannweite (7 bis 98 mg/l) und der höchste Mittelwert zeigen sich bei der Sorte 'Riesling', von der sich aufgrund dieser Tatsache keine andere Weißweinsorte abgrenzen lässt. Die meisten weißen Weine weisen Gehalte an Shikimisäure zwischen 20 mg/l und 40 mg/l auf.

Rotweine

Die Mediane, Maximal- und Minimalwerte und Ausreißer der Rotweinsorten sind in Abbildung 2 dargestellt. Von den Rotweinsorten lässt sich als einzige Sorte 'Cabernet Sauvignon' von den anderen analysierten Weinen unterscheiden. Die Shikimisäuregehalte dieser Sorte liegen zumeist über 100 mg/l und sind somit um bis zu dreimal höher als die der anderen Rotweinsorten. Erwähnenswert ist auch noch, dass die Gehalte der Shikimisäure im 'Blauen Burgunder' eher im niedrigen Bereich liegen, aufgrund von Überlappungen (z.B. mit 'Blauer Zweigelt', 'Merlot') ist dieser einzige Parameter nicht zur Sortenidentifizierung geeignet. Zur Unterscheidung sind außer dem Gehalt an Shikimisäure auch andere Untersuchungen nötig, wie zum Beispiel das Anthocyanmuster (EDER et al., 1994) oder das Verhält-

Tabelle 2:
Weine der Weißweinsorten mit auffällig abweichendem Shikimisäuregehalt („Ausreißer“)

Sorte	Wert (mg/l)	$s_{\bar{x}}$ (%)	Jahr	Gebiet
Welschriesling	46	354	2001	Neusiedlersee
Welschriesling	32	246	2001	Südsteiermark
Riesling	98	239	2001	Weinviertel
Riesling	85	207	2002	Weinviertel
Weißer Burgunder	42	323	1998	Thermenregion
Weißer Burgunder	38	292	2001	Thermenregion
Grüner Veltliner	52	260	2001	Weinviertel

$s_{\bar{x}}$ = Abweichung vom Mittelwert in %

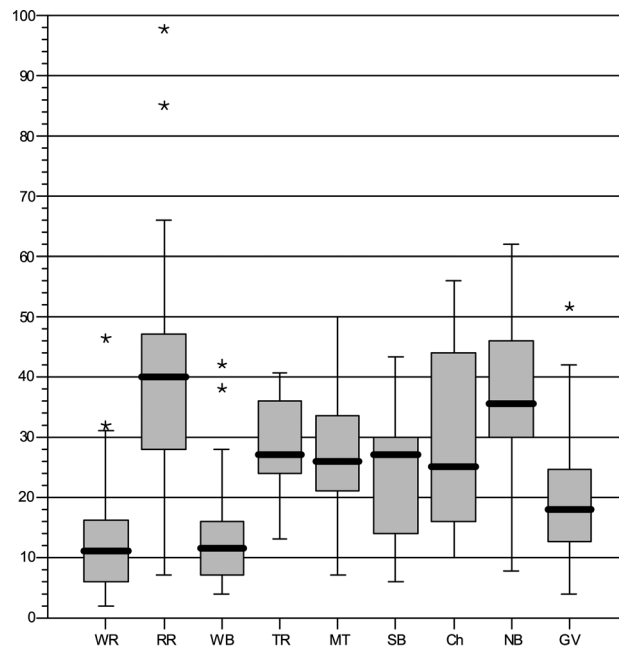
Tabelle 3:
Weine der Rotweinsorten mit auffällig abweichendem Shikimisäuregehalt („Ausreißer“)

Sorte	Wert (mg/l)	$s_{\bar{x}}$ (%)	Jahr	Gebiet
Blauer Portugiser	95	250	2001	Weinviertel
Blaufränkisch	68	200	2000	Mittelburgenland
Cabernet Sauvignon	138	128	1999	Mittelburgenland
Cabernet Sauvignon	132	122	1997	Mittelburgenland
Cabernet Sauvignon	85	-79	1998	Mittelburgenland
Cabernet Sauvignon	79	-73	2003	Mittelburgenland

$s_{\bar{x}}$ = Abweichung vom Mittelwert in %

nis der acetylierten zu den cumarylierten Anthocyanen (HOLBACH et al., 2001).

Die Werte der untersuchten Proben, die außerhalb des Bereichs der doppelten Standardabweichung lagen, wurden als Ausreißer gekennzeichnet und sind in den Tabellen 2 und 3 separat dargestellt. Hier wird ersichtlich, dass die ungewöhnlich hohen und niedrigen Gehalte an Shikimisäure augenscheinlich nicht vom Jahrgang und dem Standort des Weines abhängig sind. Auffällig ist nur, dass viele Weißweine mit hohen Werten an Shikimisäure im Jahr 2001 vinifiziert wurden, unabhängig von Weinbaugbiet und Sorte. Beim Rotwein zeigt sich wiederum ein ganz anderes Bild, hier sind fast alle Jahrgänge vertreten, dafür stammen die meisten aus der gleichen Region, wobei manche sehr hohe, manche aber sehr niedrige Gehalte an Shikimisäure aufweisen. Beim 'Cabernet Sauvignon' der Jahre 1997 bis 1999 aus dem Mittelburgenland handelt es sich um Proben, die jedes Jahr am gleichen Standort gelesen wurden. Einmal lagen die Werte um mehr als 120 % über, einmal um mehr als 70 % unter dem für diese Sorte durchschnittli-



WR	Welschriesling	RR	Rheinriesling
WB	Weißburgunder	TR	Traminer
MT	Müller Thurgau	SB	Sauvignon Blanc
Ch	Chardonnay	NB	Neuburger
GV	Grüner Veltliner		

Abb. 1: Box und Whiskers-Plot der Shikimisäuregehalte in verschiedenen Weißweinsorten

chen Gehalt, woraus man schließen kann, dass der Standort keinen Einfluss auf den Shikimisäuregehalt hat.

Ein wichtiger Aspekt für weiterführende Untersuchungen ist die Möglichkeit der Veränderung des Shikimisäuregehalts in der Traube durch die Behandlung der Pflanze mit bestimmten Herbiziden aus der Gruppe der Glyphosate. Glyphosat (N-[phosphonomethyl]-glycin) ist ein nicht selektives systemisch wirkendes Herbizid. Es wirkt als Enzymhemmer auf die Synthese von aromatischen Aminosäuren in Pflanzen, indem es ein Enzym des Shikimatweges, die Enolpyruvylshikimat-3-phosphat-Synthase, blockiert (PFEFFER et al., 2002). Dies führt zu einer Akkumulation von Shikimisäure in der betroffenen Pflanze. Nach PFEFFER et al. (2002) kann diese Anreicherung von Shikimat als Indikation für eine Glyphosatbehandlung herangezogen werden. Bereits 48 Stunden nach der Herbizidbehandlung konnte ein statistisch signifikanter Anstieg der Shikimisäure in Rapsblättern nachgewiesen werden.

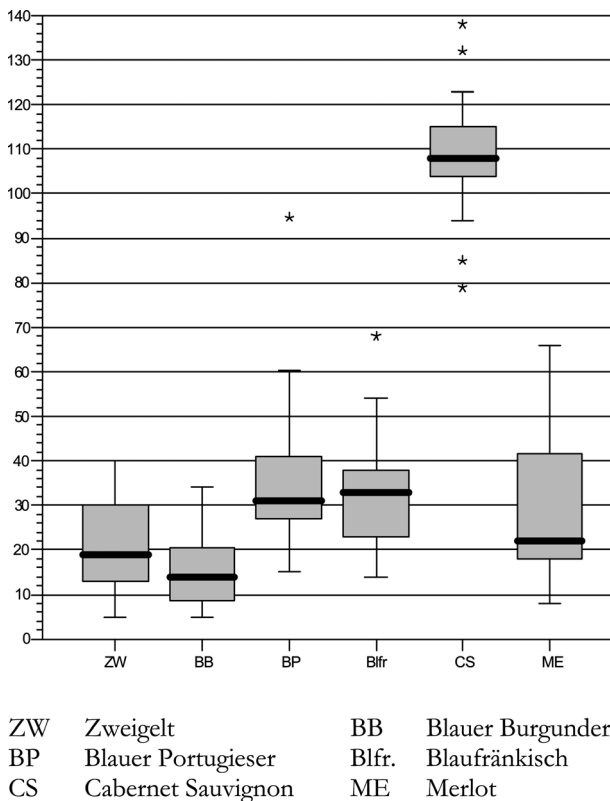


Abb. 2: Box und Whiskers-Plot der Shikimisäuregehalte in verschiedenen Rotweinsorten

Im Weinbau sind etliche Herbizide, darunter auch mehrere Glyphosate (z.B. Glyfos[®], Roundup[®]), zugelassen. Bei der Anwendung dieser Substanzen kann es zu einer Abdrift des Herbizids auf Blätter und Trauben oder zur Aufnahme des Wirkstoffs über die Wurzel kommen. Bekannt ist auch, dass bei glyphosatbehandelten Pflanzen Verrieselungen bzw. Fächerungen der Blätter sowie leichte Chlorosen und Laubverfärbungen auftreten können (FARDOSSI, pers. Mitt., 2004). Da Gly-

phosat das am dritthäufigsten verwendete Herbizid in Österreich und auch in Zukunft mit einer Steigerung der Anwendung zu rechnen ist (PFEFFER und KRESS, 2001), besteht die dringende Notwendigkeit der Überprüfung, in welchem Ausmaß sich eine Glyphosatbehandlung auf den Shikimisäuregehalt der einzelnen Rebsorten auswirkt.

Weiters gäbe es noch zu klären, ob auch andere Faktoren, wie Lesezeitpunkt oder Unterlagsorten, einen Einfluss auf die Shikimisäure haben.

Literatur

- EDER, R., WENDELIN, S. und BARNA, J. 1994: Klassifizierung von Rotweinsorten mittels Anthocyananalyse. 1. Mitteilung: Anwendung multivariater statistischer Methoden zur Differenzierung von Traubenproben. Mitt. Klosterneuburg 44: 201-212
- HOLBACH, B., MARX, R. und ZIMMER, M. 2001: Bedeutung der Shikimisäure und des Anthocyanpektrums für die Charakterisierung von Rebsorten. Lebensmittelchemie 55: 32-34
- PFEFFER, M., HAIN, E. und LANGER, C. (2002): Glyphosate induzierte Akkumulation von Shikimisäure. Eine Methode zum Nachweis einer Glyphosatebehandlung. ALVA-Tagungsband 2002: 109-110
- PFEFFER, M. und KRESS, K. (2001): Glyphosate - Risikobewertung für den Grund und Fließgewässerschutz. ALVA-Tagungsband 2001: 179-180
- RICHTER, G. (1998): Stoffwechselfysiologie der Pflanzen. 6. Aufl. - Stuttgart: Thieme, 1998
- RÖMPP (1992): Chemie-Lexikon. - Stuttgart: Thieme, 1992
- VON BAER, D., MARDONES, C., GUTIERREZ, L., HOFFMANN, G. and HITSCHFELD, A. (2004): Varietal authenticity verification of Cabernet Sauvignon, Merlot and Carmenere wines produced in Chile by their anthocyanin, flavonol and shikimic acid profiles. - Vienna: OIV-Congress 4.-9.7.2004
- WALLRAUCH, S. 1999: Ausgewählte Probleme der Analytik von Fruchtsäften und -nektaren: Shikimi- und Chinasäure als Beurteilungsparameter. Flüss. Obst 66(3): 107-113

Manuskript eingelangt am 8. Oktober 2004