



**OIV** 100

International Year of Vine and Wine 1924 • 2024

## **Beitrag von José Enrique Herbert-Pucheta, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Mexiko**

Die OIV-Methode Typ II Nr. **OIV-MA-AS2-12**: „Methode zur Bestimmung des  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Isotopenverhältnisses von Wasser in Wein und Most“, veröffentlicht im Kompendium der internationalen Analysemethoden der Internationalen Organisation für Rebe und Wein (OIV), umfasst die Bestimmung des  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Isotopenverhältnisses von Wasser aus Wein und Most nach dem Ausgleich mit Standard-Kohlendioxid  $\text{CO}_2$  unter Verwendung der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS).

Die aus Sicht der Chemie kleinsten Bausteine der Materie sind die Atome, die in ihrem Atomkern aus Protonen und Neutronen bestehen (deren Gesamtheit wiederum als Nukleonen bezeichnet wird) und von Elektronen umgeben sind. Jedes Element besitzt eine eindeutige Konfigurationszahl, die einer bestimmten Anzahl von Protonen und Elektronen entspricht. Die Anzahl der Neutronen in den Nukleonen der Elemente kann jedoch variieren. Atome mit der gleichen Anzahl an Protonen (und damit Elektronen für die elektrostatische Stabilität), aber einer unterschiedlichen Anzahl an Neutronen werden als Isotope bezeichnet. Verschiedene Isotope desselben Elements können zwar gleiche chemische Eigenschaften aufweisen, unterscheiden sich jedoch in ihrer Masse und damit in ihren physikalischen Eigenschaften. Die ersten 80 Elemente des Periodensystems (von Wasserstoff bis Quecksilber) weisen fast alle mindestens ein stabiles Isotop auf (d. h., sie geben keinerlei Strahlung ab). Die nachfolgenden Elemente (von Thallium-81, Blei-82 bis Ununoctium-118) weisen mindestens ein Radioisotop auf, d. h., sie geben Strahlung ab. Eine Isotopensignatur ist ein festgelegter Satz von Isotopenverhältnissen zwischen einem Isotop mit geringer Häufigkeit und seinem Isotop mit höherer natürlicher Häufigkeit eines Elements in einer Probe. Isotopensignaturen werden allgemein als Fingerabdrücke zur Nachverfolgung und Ermittlung verschiedener Prozesse bei Pflanzen, Menschen, Tieren, Insekten und Böden anerkannt, wie z. B. anthropologisch-archäologische Alterung, geografische und botanische Herkunft von Lebensmitteln, Nahrungsketten und Ernährungsumstellungen bei Tieren, Herkunft, Alter und Qualität von Gewässern, Luftverschmutzung und vieles mehr. Natürliche stabile Isotopenverhältnisse, die zur Überprüfung der Echtheit von Lebensmitteln und alkoholischen Getränken verwendet werden, stammen von stabilen Wasserstoffisotopen

( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ), Kohlenstoffisotopen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) und Sauerstoffisotopen ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ). Die häufigsten natürlichen Sauerstoffquellen in der Natur sind Luftsauerstoff ( $\text{O}_2$ ), Kohlendioxid ( $\text{CO}_2$ ) und Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Sauerstoffisotopenfraktionierungen treten auf natürliche Weise in verschiedenen Verdunstungs- und Kondensationsprozessen auf. Einige wichtige Sauerstoffisotopenverhältnisse in der Natur sind: i)  $^{16}\text{O}$  ist die häufigste Sauerstoffquelle mit einem Vorkommen von 99,757 % in der Natur, während  $^{18}\text{O}$  das stabilste Sauerstoffisotop mit einem Vorkommen von 0,205 % ist; ii) das  $^{18}\text{O}$ -Isotop kommt in Wolken in höherer Menge vor als im Meerwasser, während meteorisches Wasser im Vergleich zu Wolken stark mit dem  $^{18}\text{O}$ -Isotop angereichert ist. Die Weingärung führt nicht zu einer Anreicherung von  $^{18}\text{O}$ -Wasser, exogenes Wasser (Leitungswasser) hingegen schon. Daher werden  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Isotopensignaturen in önologischen Proben bestimmt, um das Verdünnen von Wein und Säften nachzuweisen. Während des Gärungsprozesses tritt in Weinwasser eine Anreicherung mit  $^2\text{H}$  auf, nicht jedoch mit Sauerstoff. Daher werden die Isotopensignaturen von Deuterium ( $^2\text{H}$ , 0,0114 % natürliche Häufigkeit) und Protium ( $^1\text{H}$ , 99,985 % natürliche Häufigkeit) gemessen, um die Süßung mit  $\text{C}_4$ -Pflanzen (Zuckerrohr oder Mais) in Wein (der von  $\text{C}_3$ -Reben stammt) und Säften nachzuweisen und die Chaptalisierung und Authentizität von önologischen Produkten zu beschreiben. Schließlich werden die Kohlenstoffisotopensignaturen  $^{13}\text{C}$  (1,06 % natürliche Häufigkeit) /  $^{12}\text{C}$  (98,93 % natürliche Häufigkeit) durch die Kohlenstoffisotopensignatur der  $\text{CO}_2$ -Fixierung in Pflanzen vermittelt, die drei verschiedene Isotopensignaturen erzeugt: i)  $\text{C}_3$ -Pflanzen (Calvin-Photosynthesezyklus in Pflanzen wie Weinreben, Kartoffeln, Reis etc.); ii)  $\text{C}_4$ -Pflanzen (Hatch-Slack-Photosynthesezyklus in Mais oder Zuckerrohr) und iii) CAM-Pflanzen (Crassulacean Acid Metabolism), die in Kakteen, Ananas usw. beobachtet werden. Spezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Fingerabdrücke ermöglichen im Wesentlichen die Identifizierung von Zuckerquellen im vergorenen Alkohol von Weinen und Spirituosen.

Heutzutage ist es notwendig, weltweit  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopensignaturen verschiedener önologischer Proben zu erstellen, damit so in Übereinstimmung mit dem Strategieplan 2020–2024/2025–2029 der OIV eine solide Datenbasis geschaffen wird, um weltweit harmonisierte Regeln für die Kontrolle von Echtheit und Verfälschung zu haben. Die Verwendung und Regulierung verschiedener Algorithmen der Künstlichen Intelligenz (KI) in Kombination mit hochauflösenden Analysetechniken wie IRMS oder der standortspezifischen Kernresonanzspektroskopie mit natürlicher Isotopenfraktionierung (SNIF-NMR) ist zweifellos der Auftakt einer neuen Generation von Analysemethoden in der OIV-

Unterkommission, während die genaue Validierung sowohl analytischer Methoden als auch der KI-Algorithmen einige der Ziele der Vereinten Nationen für nachhaltige Entwicklung (UN-SDGs) erfüllen soll, die im kürzlich erstellten OIV-Plan für den digitalen Wandel definiert wurden.

### **Beitrag von Alexander Kolesnov, Peoples' Friendship University of Russia, benannt nach Patrice Lumumba, Russland:**

Die IRMS/SIRA-Massenspektrometrie zur Analyse der Isotopenzusammensetzung leichter Elemente, hauptsächlich Kohlenstoff und Sauerstoff, nimmt einen zentralen Platz im gesamten Analysespektrum des modernen Weinbaus und der Weinherstellung ein. Obwohl diese Methode mittlerweile zum Standard geworden ist und das Maximum ihrer Möglichkeiten erreicht hat, kann ihr Beitrag zur Entwicklung der Analytik in der Weinherstellung kaum überschätzt werden. Seit der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts, als die weltweit führenden Theoretiker der praktischen Massenspektrometrie – Arthur Dempster, Kenneth Brainbridge und Alfred Nier – die ersten Instrumentenmodelle entwickelten, die Messungen mit der erforderlichen Genauigkeit ermöglichen, hat sich die Analyse der Verhältnisse der stabilen Isotope leichter Elemente von einer exklusiven, hochentwickelten Methode der wissenschaftlichen Grundlagenforschung zu einer vertrauten Routineanalysemethode entwickelt, die in einer Vielzahl von Laboratorien, auch in der Industrie, eingesetzt werden kann.

Mit der Resolution OIV-OENO 2/96 wurde 1996 erstmals die massenspektrometrische Methode zur Bestimmung der Verhältnisse der beiden Sauerstoffisotope  $^{18}\text{O}$  und  $^{16}\text{O}$  in Wein- und Mostwasser in die Datenbank der internationalen Analysemethoden aufgenommen, die später durch die Resolution OIV-OENO 353/2009 modifiziert wurde und heute als offizielle OIV-Methode (OIV-MA-AS2-12, Methode Typ II) allen Interessierten zur Verfügung steht. Neben anderen massenspektrometrischen Methoden zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse, hauptsächlich von Kohlenstoff, in einer Reihe von Verbindungen (Kohlenhydrate, Ethanol, Glycerin und Kohlendioxid), wird bei dieser Analyse ein methodischer Ansatz verwendet, der es ermöglicht, objektive Informationen über die Isotopenzusammensetzung von Sauerstoff in Wasser zu erhalten, der nicht nur einer der Hauptbestandteile von Wein ist, sondern auch in größerem Umfang das Milieu darstellt, in dem die biochemischen Gärungsprozesse, die Reifeprozesse und

schließlich die Ausbildung der authentischen und nicht zuletzt der organoleptischen Eigenschaften der Produkte stattfinden. Die Ergebnisse dieser Analyse erlauben es uns, die Frage nach der Beschaffenheit von Wein- und Mostwasser mit einem ausreichenden Grad an Zuverlässigkeit zu beantworten, was wiederum für eine objektive Qualitätsbeurteilung von großer Bedeutung ist, insbesondere bei der Lösung von Problemen im Zusammenhang mit der Identifizierung von verfälschten Produkten, die mit Wasser gestreckt wurden. Seit ihrer Anerkennung als offizielles OIV-Dokument ist diese Methode zusammen mit anderen Analysemethoden eine zuverlässige analytische Ressource, um die Unverfälschtheit von Wein gewährleisten und Manipulationen seiner Beschaffenheit verhindern zu können.

Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung der Methode war die wissenschaftliche Grundlage, die im 20. Jahrhundert, von 1953 bis 1997, durch die Arbeiten einer Reihe von Forschern gelegt wurde und die das erforderliche Qualitätsniveau für die Interpretation der Analyseergebnisse lieferte. Die Erfahrung mit der Anwendung der massenspektrometrischen Methode zur Bestimmung der Verhältnisse der Sauerstoffisotope  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  und die sachkundige Interpretation der Ergebnisse sowie die modernen wissenschaftlichen Errungenschaften und Erkenntnisse über die Isotopenverhältnisse der leichten Elemente in den Stoffwechselprozessen während der Traubenreife und ihrer technologischen Verarbeitung haben die notwendige Grundlage für die Entwicklung und Einführung neuer Ansätze zur Bewertung von Weinwasser in diesem Jahrhundert geschaffen. In diesem Zusammenhang wird die klassische Effizienz und Zuverlässigkeit der massenspektrometrischen Methode zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Sauerstoff  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  in Weinwasser durch den Einsatz neuer fortschrittlicher Methoden, zu denen zweifellos die hochauflösende Kernspinresonanzspektroskopie von Deuterium- und Protiumkernen ( $^2\text{H}/^1\text{H-NMR}$ ) gehört, entsprechend weiterentwickelt und ergänzt.

Nur so kann sowohl der wissenschaftliche Fortschritt als auch die Kontinuität der angewandten Analytik in der Weinbereitung gewährleistet werden, die ihrerseits aus drei Komponenten besteht: der grundlegenden Kenntnis der Messprinzipien, der Professionalität bei der Durchführung und nicht zuletzt der Effektivität bei der praktischen Anwendung der entwickelten Analysemethoden. Ohne die Kombination all dieser Komponenten ist es nicht möglich, das volle analytische Potenzial für die Beurteilung der Qualität und Sicherheit von Wein nachhaltig zu entwickeln und das Vertrauen in die Ergebnisse der Anwendung analytischer

Methoden sowohl bei den Weinproduzenten als auch bei den Weinkonsumenten zu stärken.