

Ihr Weg zu höchster Weinqualität

Analysemethoden in der Weinindustrie



Modernste Technologien und Vorteile der Automatisierung von enzymatischen Analysen



Behalten Sie die Kontrolle über die wichtigen Weinparameter in jedem Schritt des Weinproduktionsprozesses

Mehr Informationen:



<https://r-b.io/inhalt>

Analysemethoden in der Weinindustrie

Inhalt

1. In vino veritas? So finden Sie es heraus
2. Von der Traube bis zum fertigen Wein:
Welche Parameter man unter Kontrolle halten muss und warum
 - 2.1 Hygienezustand der Trauben
 - 2.2 Überwachung der Gärung (alkoholisch, malolaktisch und Glycerin/Pyruvat)
 - 2.3 Technologische Eingriffe für die Weinstabilität
 - 2.4 Kontrolle der Bildung unerwünschter Stoffe
3. Modernste Analysemethoden in der Weinindustrie
4. Enzymatische Analyse
5. Die Automatisierung und ihre Vorteile
 - 5.1 Semi-automatisierte Analysegeräte:
die einfache Lösung für die analytische Kontrolle einzelner Parameter in der Weinindustrie
 - 5.2 Voll-automatisierte Geräte für Multi-Parameter-Analytik:
die ideale Lösung für mittlere und große Analyseroutinen

Analysemethoden in der Weinindustrie

Ziele der Monografie

Die Vorteile der Automatisierung des analytischen Prozesses aufzeigen



Mehr über die Methoden und den Stand der Technik in der enzymatischen Analyse erfahren

Die Kontrolle chemischer und mikrobiologischer Prozesse bei der Weinherstellung darlegen



Über die Arten von Analyseautomaten auf dem Markt informieren

Analysemethoden in der Weinindustrie

„Bewerten Sie den Reifezustand und die Zusammensetzung der Trauben, bevor Sie sie verarbeiten“

1. In vino veritas? So finden Sie es heraus

Die Analyse von Mosten und Weinen ist eines der besten Mittel, die der Önologie zur Verfügung stehen, um eine immer umfassendere und genauere Kenntnis des Weins und seiner Umwandlungsprozesse zu erlangen: Sie ermöglicht es uns, die Zusammensetzung des Produkts und seine Echtheit (keine Manipulationen oder unerlaubte Zusätze), die Abwesenheit von Krankheitserregern sowie die Einhaltung der gesetzlich vorgeschriebenen Anforderungen (Alkoholgehalt, Trockenextrakt, Schwefel usw.) zu bestimmen. Die vollständige Analyse eines Weins ist ein komplexer Prozess, der Zeit in Anspruch nimmt und mitunter sehr viel Geld kostet.

Aus diesem Grund beschränken wir uns oft auf die Analyse einiger grundlegender önologischer Parameter, wie Alkohol, Zucker, Gesamt- und flüchtige Säure, pH-Wert oder das Vorhandensein von Schwefeldioxid, die jedoch keine vollumfänglichen Informationen liefern. Die Möglichkeit, einen Wein genau zu analysieren, ist heute ein dringendes Bedürfnis kleiner, mittlerer und großer Weinkellereien, um eine akurate Überwachung der Produktionsprozesse zu gewährleisten – angefangen bei der Traubenernte, über deren Vinifizierung, bis hin zur Lagerphase des finalen Produkts.

2. Von der Traube bis zum fertigen Wein

Welche Parameter man unter Kontrolle halten sollte und warum

2.1 Hygienezustand der Trauben

Ein besonderes Anliegen in der Weinbranche ist die Bestimmung des Gesundheitszustands und die Qualität der Trauben. Die visuelle Inspektion handgelesener Trauben stellt für viele Weingüter hierbei die einzige Methode dar, obwohl sie den Nachteil hat, dass z.B. Pilzbefall erst dann erkannt wird, wenn sich der Fruchtstand bereits gebildet hat. Die negativen Auswirkungen auf die Qualität der Trauben können dabei bereits lange vor diesem Stadium eingetreten sein. Andererseits erlaubt die Überwachung der Traubenzusammensetzung bzw. der Stoffwechselprodukte (v.a. **Glycerin, Gluconsäure, Ethanol und flüchtige Säure, Zitronensäure**) von Botrytis und anderen Schimmelpilzen eine objektive Bewertung ihrer Beschaffenheit. Um das Verhältnis von Zuckern (**Glucose/Fructose**), Säuren (**Wein- und Apfelsäu-**

re) sowie die Konzentration phenolischer Bestandteile der Schalen (**Polyphenole, Anthocyane**) zu messen, ist es wichtig, dass die Ernte unter den richtigen Bedingungen der technologischen und biologischen Reife stattfindet. Beispielsweise bauen viele Mikroorganismen – wie auch Weinhefen – bevorzugt Glucose ab. Und auch im Falle von Botrytis variiert das Glucose-/Fructose-Verhältnis mit dem Grad und der Dauer des Befalls.

Bei Mosten, die aus von Sauerfäule befallenen Trauben gewonnen werden, empfiehlt es sich, auch den Gehalt an flüchtigen Säuren (**Essigsäuregehalt**) zu überwachen und, falls die Gärung nicht innerhalb weniger Tage eintritt, **Schwefeldioxid** zuzusetzen.

Analysemethoden in der Weinindustrie

2.2 Überwachung der Gärung (alkoholisch, malolaktisch und Glycerin/Pyruvat)

Wein (bzw. der Anbau- und Produktionsprozess) ist ein biologisch komplexes Ökosystem, in dem eine Vielzahl von chemischen und biochemischen Reaktionen (Gärungen) ablaufen, die eng miteinander zusammenhängen. Die Bedeutung der Steuerung der Gärungsprozesse (**alkoholische Gärung** und Apfelsäureabbau) ist in der Auswirkung auf die biologische Stabilität und die organoleptischen Eigenschaften des Weines begründet. Hefen, die für die alkoholische Gärung verantwortlich sind, produzieren aus Glucose und Fructose Ethanol und Kohlendioxid. Die Milchsäurebakterien sind hingegen für die **malolaktische Gärung** verantwortlich, bei der unter Bildung von L-Milchsäure und Kohlendioxid L-Äpfelsäure abgebaut wird.

Die Möglichkeit, **Glucose, Fructose, Saccharose, Ethanol, L-Äpfelsäure, L-Milchsäure, Zitronensäure, Ascorbinsäure und Sulfite** analytisch nachzu-

weisen und zu quantifizieren, erlaubt eine korrekte Bewertung der verschiedenen Umwandlungsprozesse, die eine so komplexe Matrix wie Wein betreffen. Der **Stickstoffgehalt** ist ein weiterer entscheidender Parameter für den Abschluss des Gärungsprozesses und die Vermeidung der Bildung von Schwefelwasserstoff, der das organoleptische Profil des Weins verändert. Die Menge an verwertbarem Stickstoff steht in direkter Beziehung zur Biomasse der Hefezellen. Insbesondere benötigen Hefezellen Stickstoff für die Konfiguration der verschiedenen Enzyme, die einen neutralen pH-Wert innerhalb der Zelle gewährleisten und aktive Zuckertransporter bilden. Die Hauptquellen für Stickstoff sind Ammonium und Aminosäuren. Letztere sind auch wichtig für die Bildung höherer Alkohole und Ester, die die sensorische Qualität von Weinen, insbesondere von Weißweinen, beeinflussen.

„Kontrolle der chemischen und mikrobiologischen Prozesse zur Vorbeugung von Fehlern und sensorischen Abweichungen“

Analysemethoden in der Weinindustrie

2.3 Technologische Eingriffe für die Weinstabilität

Vor der Abfüllung in Flaschen, muss sichergestellt werden, dass der Wein stabil ist. Das bedeutet, er muss frei von Trübungen und Schlieren sein. Die Ursachen, die zu einer Trübung des Weins führen, sind vor allem organische oder anorganische Wechselwirkungen der verschiedenen Inhaltsstoffe im Wein, wie Proteine und Metalle (z.B. Eisen- und Kupfertrübung). Aber auch Trübungen mikrobiologischen Ursprungs sind hier zu nennen. Diese Trübungen betreffen sowohl Weiß- als auch Rotweine und verursachen chemische Veränderungen einer sonst klaren Flüssigkeit, was dazu führt, dass der Wein unangenehme Eigenschaften annimmt.

Ein weiteres Beispiel ist die Ausfällung von Weinstein, welche junge Weine betrifft und auf die Ausfällung von Kaliumbitartrat zurückzuführen ist, die durch niedrige Temperaturen verursacht wird.

Eisentrübung ist eine chemische Veränderung, die das im Wein enthaltene Eisen betrifft, wenn es mit Luft in Kontakt kommt. Bei von Eisentrübung be-

troffenen Weißweinen kommt es zu Ausfällungen in Form von weißlichen Ablagerungen (weißer Bruch), die den Wein trüben. Bei Rotweinen kann sich Eisen mit Tanninen und Farbstoffen verbinden und sich als bläuliche Ablagerung (schwarzer Bruch) niederschlagen.

Die Kupfertrübung tritt im Gegensatz zur Eisentrübung unter Ausschluss von Sauerstoff auf, daher betrifft sie vorzugsweise Flaschenweine. Kupfer, das aufgrund chemischer Produkte auf Kupferbasis im Wein vorhanden ist, die besonders wirksam gegen Rebkrankheiten sind, bildet bei Kontakt mit den im Wein vorhandenen eiweißhaltigen Substanzen Verbindungen, die sich abscheiden und den Wein trüben. Die Bestimmung von **Eisen**, **Kupfer**, **Weinsäure** und **Kalium** ist daher von grundlegender Bedeutung, um die Weinstabilität zu kontrollieren und eventuelle technologische Eingriffe zu planen (Zugabe von Zitronensäure in den Wein oder Korrektur durch Klärung).

3. Modernste Analysemethoden in der Weinindustrie

Zur Bestimmung der grundlegenden önologischen Parameter für eine korrekte Überwachung des Vinifizierungsprozesses werden derzeit verschiedene chemisch-analytische Ansätze verwendet. Wie bereits ausführlich dargestellt, soll eine genaue Analyse die eingehenden Trauben, die Halbfertigprodukte und das fertige Produkt kontrollieren, Verfälschungen feststellen (z.B. der Zusatz von Zucker oder anderer nicht deklarierter Zusatzstoffe) und technologische Eingriffe entlang der Produktionskette planen. Es besteht daher ein zunehmender Bedarf, diese Informationen so genau und schnell wie möglich zu

erhalten. Die bislang angebotenen Lösungen sind die klassische chemische (Wasserdampfdestillation, Titrations), die instrumentelle (über GC und HPLC) oder die enzymatische Analytik. Die instrumentelle chemische Analyse garantiert ein zuverlässiges Ergebnis, erfordert jedoch auf der anderen Seite hohe Investitionen in Geräte und bei komplexen Matrices wie Mosten und Weinen eine langwierige und mühsame Probenvorbereitung (Extraktion, Reinigung und oft Derivatisierung), die kaum zu den Zeiten und der Ausstattung eines Qualitätskontrolllabors in einer Weinkellerei passen.

Analysemethoden in der Weinindustrie

Die Enzymanalyse hingegen bietet den Vorteil einer präzisen und zuverlässigen Messung auch bei komplexen Matrices, da sie die Wirkung hochspezifischer Enzyme für die Quantifizierung eines einzelnen Bestandteils und oft auch eines einzelnen Enantiomers (wie im Fall von D/L Milchsäure) ausnutzt. Zum Beispiel sind die spektrophotometrische enzymatische Analyse und die HPLC-Analyse die beiden wichtigsten quantitativen chemischen Methoden, mit denen man den Verlauf der malolaktischen Gärung verfolgen kann.

Die enzymatische Analyse der L-Milchsäure ist sicherlich die beste Methode, um ihren Ausgangspunkt zu ermitteln. Die Standard-HPLC-Analyse bestimmt nämlich nicht nur die L-Milchsäure, sondern auch ihr D-Isomer, das von den Hefen während der alkoholischen Gärung gebildet wird. Mit dieser Analyse ist es daher nicht möglich, die Konzentration der L-Milchsäure eindeutig zu bestimmen, die der einzige Parameter ist, der den Beginn der **malolaktischen Gärung** anzeigt.

Vor- und Nachteile

NIR-Spektroskopie

- ⊕ Sehr geringe Analysekosten
- ⊖ Hohe Gerätekosten
- ⊖ Die Messung von verschiedenen Analyten erfolgt indirekt über das Infrarotspektrum und dies bedeutet:
 - unspezifische Messung
 - geringe Sensitivität
 - starke Interferenz der Matrix

HPLC

- ⊕ Mehrere Analyten pro Test möglich (z. B. sämtliche Zucker)
- ⊖ Hohe Kosten für die Probenvorbereitung (Aufreinigungssäulen)
- ⊖ Hohe Gerätekosten
- ⊖ Lange Probenvorbereitungs- und Analysezeiten: von 30 Min. bis 3 Stunden

Die einzig sinnvolle Alternative stellt die Automatisierung der enzymatischen Analyse dar.

Analysemethoden in der Weinindustrie

4. Enzymatische Analyse

Vom praktischen Standpunkt aus betrachtet, wird die enzymatische Analyse mithilfe gebrauchsfertiger Testkits durch eine photometrische Messung durchgeführt. Vom theoretischen Standpunkt aus betrachtet, nutzt sie die Eigenschaften von Enzymen, mit Substraten zu reagieren und deren Reaktionen zu katalysieren, um quantifizierbare und messbare Produkte zu erzeugen. Genauer gesagt basieren die meisten enzymatischen Analysen auf der Fähigkeit von Enzymen wie Katalase, Oxidase, Hexokinase und Isomerase Reaktionen zu katalysieren, die Zucker und organische Säuren als Substrate benötigen. Was wirklich quantifiziert wird, sind die Pyridin-Coenzyme NAD oder NADP, die aus Redoxreaktionen gewonnen werden. Ihre Umwandlung erlaubt es, durch Erhöhung der mit dem Photometer gemessenen Extinktion bei 340 nm die Kinetik der Reaktionen kontinuierlich zu verfolgen und mit der Konzentration des betreffenden Analyten in Beziehung zu setzen. Die Spezifität und die äußerst einfachen Betriebsabläufe auch bei komplexen Matrices haben sie zu den Referenzmethoden vieler internationaler Organisationen wie der OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) gemacht. Die Vorteile der enzymatischen Analyse lassen sich daher wie folgt zusammenfassen:

- Hohe Substratspezifität, daher extrem genau
- Hohe Präzision
- Hohe Sensitivität
- Einfache Probenvorbereitung
- Einfache und schnelle Durchführung der Analyse
- Kaum Interferenzen bzw. Beeinträchtigungen durch Matrixeffekte
- Ungiftige Reagenzien
- Einfache Automatisierbarkeit

Enzytec Liquid Test



Analysemethoden in der Weinindustrie

5. Die Automatisierung und ihre Vorteile

Zu den Vorteilen der enzymatischen Analyse gehört die Möglichkeit der Automatisierung von Arbeitsabläufen mithilfe von automatischen Analysegeräten. Dabei handelt es sich um Systeme, die autonom die Entnahme und das Dispensieren von Reagenzien und Proben sowie das Management der gesamten Analyse, einschließlich der Berechnungsphase der Analysedaten, ermöglichen.

Im Handel sind Ein- und **Multi-Parameter-Analyseautomaten** mit unterschiedlicher analytischer Produktivität (von 4 bis zu 80 - 250 Tests/Stunde, teilweise bis zu 600 Tests/Stunde) erhältlich, die den verschiedenen Anforderungen gerecht werden: von kleinen und mittelgroßen Weingütern bis hin zu großen önologischen Laboren. Beide Arten von Analysegeräten ermöglichen es, die Vorteile der enzymatischen Analytik (hohe Präzision, Genauigkeit und Spezifität) mit einem hohen Grad an Automatisierung zu kombinieren, sodass die Arbeitsbelastung des Personals, die bei herkömmlichen oder manuellen Methoden erforderlich ist, reduziert wird. Die Analyseautomaten arbeiten nämlich mit **stabilisierten Reagenzien in Lösung**, die auch nach dem Öffnen bis zu dem für die Referenzcharge angegebenen Datum gültig sind. Dies ermöglicht eine rationelle Nutzung, die sich gut für verschiedene analytische Bedürfnisse, auch für die von kleinen Produktionsbetrieben, eignet. Die Automatisierung garantiert zuverlässigere und reproduzierbare Ergebnisse, indem sie die Beseitigung grober und/oder systematischer

Fehler während der präanalytischen Phasen (falsche Dosierung von Volumina, falsche Verwendung von Pipetten und Dispensern, Berechnungsfehler) und die Standardisierung der Methoden einschließlich der Qualitätskontrolle ermöglicht.

Dank des Einsatzes dieser Analysesysteme kann nun Folgendes auf einfache und schnelle Art und Weise durchgeführt werden:

- Die Bestimmung der Zusammensetzung der Trauben, aber auch der Stoffwechselverbindungen von Botrytis und anderer Schimmelpilze sowie von natürlichen Hefen und Bakterien in faulen Trauben. Die gleichzeitige Überwachung diverser Parameter (**Glycerin, Gluconsäure, Ethanol und flüchtige Säure**), die für die Qualität des Weins schädlich sind, erlaubt es uns, eine objektive Bewertung der tatsächlichen Qualität der Trauben durchzuführen.
- Die tägliche Kontrolle der Gärung im Fass ermöglicht den Weinherstellern nicht nur die genaue Verfolgung des Gärungsprozesses in Bezug auf **Restzucker, flüchtige Säuren, Äpfel- und Weinsäure** sowie **Schwefeldioxid**, sondern auch grundlegende Informationen über den verfügbaren Stickstoff für die Hefe zu erhalten. So lassen sich Mängel rechtzeitig erkennen und durch Zugabe von Ammoniumsalzen beheben, die Bildung von Schwefelwasserstoff kann vermieden und bei stockender Gärung eingegriffen werden.

Analysemethoden in der Weinindustrie

5.1 Ein-Parameter-Analyseautomaten:

die einfache Lösung für die analytische Kontrolle in der Weinindustrie

Für die sequentielle enzymatische Analytik sind **tragbare** Geräte im Handel erhältlich, die mit **einfachsten** Verfahren die Bestimmung von Zuckern, organischen Säuren, Alkoholen und anderen Bestandteilen wie Sulfiten in Most und Wein ermöglichen.

Klein, kompakt und einfach zu bedienen sind sie in der Lage, analytische Ergebnisse zu liefern, die so präzise und genau sind wie die der größten biochemischen Analytoren. Der Test ist **schnell durchgeführt: In nur 15 Minuten wird das gewünschte Ergebnis auf dem Bildschirm angezeigt.**

Arbeitsabläufe

Das Gerät arbeitet mit speziellen Einzeltest-Reaktionsküvetten, die flüssige und stabile Reagenzien bereits dosiert für die Reaktion enthalten. Die einzige Aufgabe des Benutzers besteht darin, die Probe in die Küvette zu pipettieren. Die Küvetten enthalten Rührkugeln aus Metall, die eine perfekte Durchmischung von Reagenzien und Probe während der Durchführung des Tests gewährleisten.

Alle analytischen Schritte werden automatisch ausgeführt. Das Gerät durchstößt die mit dem Enzym vorgefüllte Kappe, sodass dieses in die Küvette dispensiert und die chemische Reaktion startet. Die vordosierten Reagenzien sind bis zu dem für die Referenzcharge angegebenen Verfallsdatum stabil, was einen rationellen Einsatz ermöglicht, der sich gut für verschiedene Analysebedürfnisse, auch für die von kleineren Produktionsbetrieben, eignet.

Die photometrische Messung wird mit LED und einer Photodiode durchgeführt.

Die für jede spezifische Charge gültige Kalibrierung und alle für die Durchführung der Analysen erforderlichen Daten sind auf der RFID-Karte gespeichert, die jedem Kit beiliegt, sodass es nicht notwendig ist, die Analysemethoden zu programmieren.

Das Gerät wird vollständig von einem Tablet mit Android-Betriebssystem bedient, die Anwendung ist einfach und intuitiv. Die Software wird mit zusätzlichen Inhalten wie Gebrauchsanleitung, FAQ und verschiedenen weiteren Informationen geliefert. Die Vorteile von Analysesystemen dieser Art lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Vollautomatisch
- Einfach zu bedienen
- Schnell
- Stabile und vordosierte Reagenzien
- Erfordert keine Kalibrierung oder Wartung

RIDA®CUBE SCAN und RIDA®CUBE gebrauchsfertige Test-Kartuschen



Analysemethoden in der Weinindustrie

5.2 Multi-Parameter-Analyseautomaten: die ideale Lösung für mittlere und große Analyseroutinen

Multi-Parameter-Analyseautomaten sind in der Lage, völlig autonom alle nötigen Schritte durchzuführen, die bei einem enzymatischen und/oder kolorimetrischen Test erforderlich sind. Sie ermöglichen die gleichzeitige Abarbeitung mehrerer Verdünnungen derselben Probe oder mehrerer Proben und sind ideal für die analytischen Bedürfnisse von önologischen Laboren und Weingütern mit einer mittleren oder hohen Analyseroutine.

Ihre analytische Produktivität reicht in der Regel von 80 bis 250 Tests/Stunde.

Proben und Reagenzien werden vom Benutzer auf spezielle Racks und/oder Rotoren gestellt, die thermostatisch auf Kühltemperatur geregelt werden, und deren Positionen über die Management-Software definiert werden. Das System übernimmt die Reagenz- und Probennahme, die Verdünnung (falls für die Methode erforderlich) und das Dispensieren in die Küvette, wo sie bei konstanter und geregelter Temperatur für die Dauer der vollständigen enzymatischen Reaktion verbleiben. Das Reaktionsprodukt wird bei der definierten Wellenlänge (in der Regel 340 nm) vermessen. Die aufgezeichnete Extinktion

wird anhand der vorherigen Kalibrierung in entsprechender Konzentration umgerechnet und ausgegeben. Die Verwendung voll-automatisierten Abarbeitung bringt folgende Vorteile:

- Gleichzeitige Messung mehrerer Parameter derselben oder mehrerer Proben
- Genaue Ergebnisse in kurzer Zeit mit einer Steigerung der analytischen Produktivität: von 10 Tests/Stunde bei manuellen Tests bis zu 80 - 250 Tests/Stunde je nach Gerät
- Reduzierung des Volumens der Reagenzien, die bei herkömmlichen Methoden verwendet werden, um das Zehnfache (von 3 ml auf 300 µl) und damit geringere Kosten pro Einzelanalyse
- Reduzierung der Arbeitsbelastung des Benutzers, da die Zeit für die Rekonstitution der Reagenzien sowie das Pipettieren und die Vermessung entfällt
- Beseitigung grober und/oder systematischer Fehler während der präanalytischen Phasen (falsche Dosierung von Volumina, falsche Verwendung von Pipetten und Dispensern, Berechnungsfehler)
- Kontrolle aller analytischen Parameter, die von grundsätzlicher Bedeutung sind.

| Säuren | Alkohole | Sonstige |
|------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| Essigsäure | Cholesterin | Acetaldehyd |
| L-Ascorbinsäure | Ethanol | Ammoniak |
| Zitronensäure | Glycerin | Anthocyane |
| Ameisensäure | D-Sorbitol/Xylitol | Alpha-Amino-Stickstoff |
| D-Gluconsäure/Glucono-delta-Lacton | | Beta-Glucane |
| L-Glutaminsäure | Zucker | Chloride |
| D-3-Hydroxybuttersäure | Stärke | Eisen |
| D-Isocitronensäure | D-Fructose | Phosphor |
| D-Milchsäure | D-Glucose | Nitrate |
| L-Milchsäure | D-Glucose/D-Fructose | Nitrate/Nitrite |
| D-Apfelsäure (D-Malat) | Laktose/D-Galaktose | Kalium |
| L-Apfelsäure | Laktose/D-Glucose | Polyphenole |
| Oxalsäure | Maltose/Saccharose/D-Glucose | Kupfer |
| Brenztraubensäure | Raffinose | Freie Sulfite |
| Bernsteinsäure | Saccharose/D-Glucose | Sulfite gesamt |
| Weinsäure | Saccharose/D-Glucose/D-Fructose | Harnstoff/Ammoniak |

Analysemethoden in der Weinindustrie

Wichtige Punkte

- ✓ Automatisierung: vollautomatischer Ablauf
- ✓ Benutzerfreundlichkeit
- ✓ Schnelle Analyse
- ✓ Stabile und gebrauchsfertige Reagenzien

Schlußfolgerung

Die Weinanalyse soll die Echtheit des Produktes, die Abwesenheit von weinschädigenden Substanzen und Veränderungen, die tatsächliche Einhaltung der gesetzlich und gemäß den Produktionsvorschriften geforderten chemischen und organoleptischen Eigenschaften sowie die Abwesenheit von unerlaubten Manipulationen oder Zusätzen feststellen.

Dank vollautomatischer Analysesysteme – wie den oben beschriebenen enzymatischen Systemen – sind wir in der Lage, diese Informationen ganz einfach, schnell, kostengünstig und vor allem genau zu erhalten. Diese Eigenschaften machen sie zu einer sinnvollen Hilfe für kleine, mittlere und große Weinkellereien und önologische Labore.

Analysemethoden in der Weinindustrie

Wein: chemische Zusammensetzung und Eigenschaften

Wein ist eine äußerst komplexe wässrige alkoholische Lösung, die sich aus einer Vielzahl von Substanzen zusammensetzt, von denen einige bereits im Most vorhanden sind, während andere erst durch den Gärungsprozess und biochemische Nebenreaktionen entstehen.

Wasser

Wasser macht den größten Anteil des Weins aus; sein Gehalt reicht von 80 % bei schweren Weinen bis zu 90 % bei Weinen mit niedrigem Alkoholgehalt. Alkohole: Ethylalkohol ist nach Wasser die mengenmäßig bedeutsamste Verbindung im Wein. Sein Anteil wird durch den Alkoholgehalt ausgedrückt, der den prozentualen Volumenanteil des Alkohols im Wein darstellt. Das Ethanol im Wein entsteht im Wesentlichen durch die alkoholische Gärung des Zuckers im Most, und sein Gehalt steht in direkter Beziehung zum Zuckergehalt des Ausgangsmostes. Aufgrund seiner Affinität und seiner Wasserlöslichkeit, die sich aus der Bildung von Wasserstoffbrücken ergibt, ist Ethanol ein starkes Dehydrierungsmittel. Dadurch hat es antiseptische Eigenschaften, die bei der Weinlagerung häufig zum Einsatz kommen. Dank der Wirkung des Ethanols in Verbindung mit der des Säuregehaltes kann der Wein lange Zeit ohne nennenswerte Veränderung gelagert werden. Seine Lösungskraft ermöglicht die Auflösung der phenolischen Verbindungen der festen Bestandteile der Traube während der Vinifizierung. Aufgrund der chemischen Eigenschaften der Alkoholfunktion verestert es mit der Wein- und Milchsäure. Es ist an der Stabilisierung bestimmter Geruchsmoleküle beteiligt und trägt wesentlich zum Gesamtaroma des Weins bei. Nach den geltenden Vorschriften ist der Handel mit Weinen, die einen Alkoholgehalt von weniger als 9 ° aufweisen, verboten. Methylalkohol ist in Weinen immer in kleinen Mengen zwischen 60 und 150 mg/l

vorhanden und hat keinen sensorischen Einfluss. Die alkoholische Gärung ist nicht an der Bildung dieser Verbindung beteiligt, die hingegen ausschließlich aus der enzymatischen Hydrolyse der Methoxypektine während der Vinifizierung stammt, die dabei in Pektinsäuren umgewandelt werden. Der Methanolgehalt hängt von der Gärungszeit in Gegenwart der festen Bestandteile der Trauben, insbesondere der pektinreichen Schalen, ab. Glycerin ist nach Wasser und Ethanol der wichtigste Zuckeralkohol und das erste Nebenprodukt der alkoholischen Gärung. Sein Mindestgehalt im Wein liegt bei 5 g/l (bis zu 20 g/l) und es wird von den Hefen zu Beginn der Gärung – bei der Glycerin/Pyruvat-Gärung – gebildet, dem einzigen Mittel, das der Hefe zur Verfügung steht, um die Reoxidation des Koenzyms NADH zu NAD durch Reduktion von Dihydroxyaceton zu Glycerin sicherzustellen. Und abschließend Mannit und Sorbit: Ersteres wird von Milchsäurebakterien durch Reduktion des Fructose-Keton-Carbonyls gebildet. Das zweite entsteht durch die Reduktion des Aldehyd-Carbonyls der Glucose bei der alkoholischen Gärung und ist in gesunden Trauben nicht vorhanden.

Carbonyl-Verbindungen

Acetaldehyd, das durch die Oxidation von Ethanol entsteht, ist die wichtigste Verbindung, deren Vorhandensein eng mit den Redox-Phänomenen verbunden ist. Bei jungen Weinen liegt der Gehalt an Acetaldehyd bei wenigen mg/l, aber mit zunehmendem Alter steigt der Gehalt aufgrund der langsamen Oxidation von Ethylalkohol durch den Luftsauerstoff deutlich an. Außerdem variiert sein Vorhandensein je nach der Menge an Schwefeldioxid, die während der Vinifizierung zugesetzt wurde. Weißweine enthalten mehr Acetaldehyd als Rotweine, in denen es sich mit Tanninen und Anthocyanen verbindet.

Analysemethoden in der Weinindustrie

Organische Säuren

Organische Säuren tragen entscheidend zur Zusammensetzung, zur mikrobiologischen und chemisch-physikalischen Stabilität und zu den sensorischen Eigenschaften aller Weine bei. Sie haben unterschiedliche Ursprünge: Einige sind bereits im Most vorhanden und liegen in höheren Mengen vor, andere entstehen erst während der Gärung. Die Weinsäure ist eine der wichtigsten Säuren in Mosten und Weinen und sie macht 20 bis 25 % aller Säuren im Wein aus. Sie ist die stärkste der im Wein vorhandenen organischen Säuren und daher auch die salzigste: Sie liegt im Wein in Form von Bitartraten – insbesondere Kaliumbitartrat – vor, deren Löslichkeit mit zunehmender alkoholischer Konzentration und niedrigerer Temperatur abnimmt. Aus diesen Gründen kommt es beim Übergang vom Most zum Wein zu einer teilweisen Abnahme des Kaliumbitartrats durch partielle Ausfällung. Der aus unreifen Säuren gewonnene Saft kann bis zu 25 g/l L-Apfelsäure enthalten. Mit der Reifung der Trauben und dem Stoffwechsel der Zellen sinkt ihre Konzentration auf 1–2 g/l in Mosten aus südlichen Regionen. Sie wird leicht von verschiedenen Mikroorganismen angegriffen und metabolisiert, insbesondere von Milchsäurebakterien, die sie in Milchsäure und Kohlendioxid umwandeln.

Zitronensäure ist eine in der Natur weit verbreitete Säure. In Mosten und Weinen liegt ihr Anteil vor der malolaktischen Gärung zwischen 0,5 und 1 g/l, da sie von Bakterien bis zum Verschwinden metabolisiert werden kann.

Während der Gärung werden Bernsteinsäure, Milchsäure und Essigsäure gebildet. Bernsteinsäure wird von Hefen während der Gärung synthetisiert und ihr Gehalt im Wein liegt bei etwa 1 g/l. Milchsäure hat einen wesentlich geringeren Anteil in jungen (~ 0,3 g/l) als in gealterten Weinen (4–5 g/l).

Sie kann wie folgt gebildet werden: durch die Bakterien der malolaktischen Gärung (als rechtsdrehendes Isomer), durch die Hefen der alkoholischen Gärung (als linksdrehendes Isomer), durch die Milchsäuregärung von Zuckern, Glycerin, Weinsäure und weiteren Bestandteilen des Weins durch bestimmte Milchsäurebakterien (Milchsäure). Für den Wein ist Essigsäure die wichtigste neu gebildete Säure, sie ist sogar praktisch der einzige Bestandteil der flüchtigen Säure eines Weines. Diese Säure wird zu Beginn der alkoholischen Gärung gebildet, was normalerweise zur Bildung von 0,2 bis 0,3 g/l flüchtiger Säure, ausgedrückt in Schwefelsäure, im Wein führt (0,24 g/l bis 0,37 g/l in Essigsäure). Ebenso wird im Verlauf der malolaktischen Gärung ein Anstieg der flüchtigen Säure von 0,1 bis 0,2 g/l in Schwefelsäure (0,12 bis 0,24 g/l in Essigsäure) beobachtet. Ungewöhnlich hohe Werte sind auf das Eingreifen von Milchsäurebakterien bei der Zersetzung von Restzucker, Weinsäure oder Glycerin und Essigbakterien zurückzuführen, die durch Oxidation von Ethanol Essigsäure bilden. Die maximalen Grenzwerte nach der Verordnung (EG) 1493/99 lauten 18 mEq/l (1,08 g/l Essigsäure) für Weiß- und Roséweine und 20 mEq/l (1,2 g/l Essigsäure) für Rotweine. (1)

Kohlenhydrate

Die im Wein vorhandenen Zucker sind Glucose, Fructose, Galactose (alle Hexosen) und Arabinose, Ribose, Xylose und Rhamnose (alle Pentosen). Im reifen Traubensaft liegt der Gesamtgehalt an Glucose und Fructose etwa zwischen 150 und 250 g/l. Der Wert des Glucose-/Fructose-Verhältnisses ist ein nützlicher Indikator für den Reifefortschritt der Trauben: Er schwankt von ca. 1,5 in der Reifephase bis zu weniger als 1 bei der Reife und sinkt während der Gärung regelmäßig, da Glucose von den meisten Hefen bevorzugt vergoren wird.

Analysemethoden in der Weinindustrie

Die Fructose, die normalerweise im Überschuss zur Glucose vorhanden ist, hat aufgrund ihrer beträchtlichen Süßkraft, die etwa doppelt so hoch ist wie die der Glucose (1,73 g/l gegenüber 0,74 g/l), einen beträchtlichen Einfluss auf die organoleptischen Eigenschaften des Weins. Neben diesen beiden vergärbaren Zuckern enthält Wein immer geringe Mengen an Pentosen (von 0,3 bis 2 g/l). Sie werden nicht von Hefen vergoren und sind weniger an der Bildung des süßen Geschmacks beteiligt.

Stickstoffhaltige Substanzen

Wein hat einen geringeren Stickstoffgehalt als der Ausgangsmost. Tatsächlich wird während der Gärung ein beträchtlicher Teil der stickstoffhaltigen Substanzen, insbesondere die in assimilierbarer Form, von den Hefen für den Aufbau ihres Protoplasmas verwendet und daher mit der Eliminierung des Hefesatzes aus dem Wein entfernt. Ein weiterer Teil wird aus dem Wein entfernt, da er aufgrund der Gerbstoffe oder des Alkohols, die sich während der Gärung nach und nach bilden, ausfällt. Im Wein kommt Stickstoff in folgenden Formen vor:

- Proteine: Sie machen 3 bis 5 % des Gesamtstickstoffs aus. In abgefülltem Wein können sie Trübungen und/oder Ablagerungen verursachen.
- Polypeptide: Sie machen mit einem Anteil von 70 bis 90 % am gesamten vorhandenen Stickstoff einen wesentlichen Teil des Stickstoffs aus. Sie können vor allem bei Weißweinen Trübungen verursachen.
- Aminosäuren: Als Bestandteile des komplexen Protein- oder Polypeptidmoleküls sind sie die bevorzugte Nahrung für Hefen. Sie machen 20 bis 25 % des Gesamtstickstoffs aus.
- Anorganischer Stickstoff: Stickstoff in Form von Ammoniak, Nitraten und Nitriten. Diese machen

zusammen 2 bis 5 % des Gesamtstickstoffs aus. Unter den in Weinen festgestellten Aminosäuren ist Prolin in überaus großen Mengen vorhanden. Dies ist auf die Schwierigkeit der Hefe zurückzuführen, die Aminogruppe vom heterozyklischen Ring abzulösen. Hefe-assimilierbarer Stickstoff bzw. YAN wird durch die Summe von Aminostickstoff α der von Aminosäuren stammt, und Ammoniakstickstoff, der von Hefen leicht assimiliert werden kann, angegeben.

Mineralische Substanzen

Kalium macht normalerweise etwa $\frac{3}{4}$ der im Wein vorhandenen Kationen aus, mit einem Gehalt von über 1 g/l. Es wird beim Übergang vom Most zum Wein aufgrund der fortschreitenden Unlöslichkeit von Kaliumbitartrat erheblich reduziert. Kalzium ist ein Kation, dessen Salze im Allgemeinen schwer löslich sind, z. B. Calciumtartrat und Oxalat. Der Kalziumgehalt im Wein liegt bei einigen Zehntel Milligramm pro Liter, in Weißweinen etwas höher als in Rotweinen. Das in den Trauben vorhandene Kupfer und Eisen nimmt während der Gärung des Mostes ab, die Verluste sind sowohl auf den Stoffwechsel der alkoholischen Hefen zurückzuführen, die diese Elemente – wenn auch in extrem kleinen Dosen – verwenden, als auch auf die Weinbereitungspraktiken, besonders bei Rotweinen, die die Ausfällung Oxidation-Reduktion von Kupfer und Eisen bestimmen: Diese Elemente spielen, auch wenn sie nur in kleinen Mengen vorhanden sind, eine wichtige Rolle bei der Weininstabilität, da sie für die Eisen- und Kupfertrübungen verantwortlich sind. Unter den mineralischen Anionen dürfen die Nitrate nicht vergessen werden, die im Wein nur in Spuren vorhanden sind; die Chloride, deren Natriumchloridgehalt im Allgemeinen unter 50 mg/l beträgt, und natürlich die Phosphor- und Schwefelanionen.

Analysemethoden in der Weinindustrie

Phenolische Verbindungen

Polyphenole spielen in der Önologie eine zentrale Rolle. Phenolische Verbindungen in Weinen werden im Wesentlichen durch eine Gruppe von Substanzen repräsentiert, die mit dem Sammelbegriff Flavonoide zusammengefasst werden. Dazu gehören die Gruppe der Anthocyane (Farbstoffe des Rotweins), die Gruppe der Leucoanthocyanidine (d. h. farblose Anthocyane), heute auch als Proanthocyanidine bekannt, die Gruppe der Catechine, die Gruppe der echten Flavanole, die Gruppe der Benzoesäuren und die Gruppe der Zimtsäuren. Die Gruppe der

Leucoanthocyanidine und Catechine ist praktisch in der Gruppe der Tannine vereint. Phenolische Verbindungen beeinflussen die Stabilität von Weißweinen hinsichtlich der Oxidation. Die Schalen reichern den Most weniger mit phenolischen Substanzen an als die übrigen festen Bestandteile der Trauben. Eine der grundlegenden Eigenschaften, die Rotwein von Weißwein unterscheidet, ist die Tatsache, dass ersterer eine ausreichend hohe Oxidationsbeständigkeit aufweist und daher länger gelagert werden kann und besser altert als Weißwein.

Autorin

Dott.ssa Tiziana Mariarita Granato, PhD, Project Manager Enzymatic & Automation

Bibliographische Referenzen

- Ribéreau-Gayon-B. Donèche-D. Dubourdieu-A. Lonvaud – Trattato di Enologia I – Edagricole, Bologna, 2007.
- Ribéreau-Gayon-Y. Glories-A. Maujean-D. Dubourdieu – Trattato di Enologia II – Edagricole, Bologna, 2007.
- Y. Margalit – Elementi di Chimica del vino – Eno-one, Reggio Emilia, 2005.
- OIV – Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (2011, Vol I e II)
- Anonymous – Methods of Enzymatic BioAnalysis and Food Analysis using Test Combinations – Boehringer Mannheim GmbH Biochemica, Mannheim, Germany (1997)
- Henniger, G. (1998) *Enzymatic Methods of Food Analysis, in Ashurst, P.R. & Dennis, M.J. (Ed.s) – Analytical Methods of Food Authentication – Blackie Academic & Professional, An Imprint of Chapman & Hall, pages 137 - 181*