Bachelor-Thesis

Wirksamkeitsstudie zum Einsatz von Erbsenprotein, Kartoffelprotein, PVPP und Kasein zur Abreicherung von flavonoiden und nicht-flavonoiden Phenolen im Wein

Referent: **M.Sc. Ludwig Pasch**, Institut für Oenologie der Hochschule Geisenheim

Korreferent: **Dr. Maximilian Freund**, Institut für Oenologie der Hochschule Geisenheim

Vorgelegt von:
Achim Popp
Draiser Str. 134
55128 Mainz

Mainz, den 18.05.2022

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich die vorliegende Bachelor-Thesis „Wirksamkeitsstudie zum Einsatz von Erbsenprotein, Kartoffelprotein, PVPP und Kasein zur Abreicherung von flavonoiden und nicht-flavonoiden Phenolen im Wein“ selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Ich habe dabei nur die in der Arbeit angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt.

Mainz, den 18.05.2022

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung ..... - 1 -
2. Literaturübersicht ..... - 2 -
   2.1. Polyphenole ..... - 2 -
      2.1.1. Nicht-Flavonoide ..... - 3 -
      2.1.2. Flavonoide ..... - 4 -
   2.2. Einflussgrößen auf den Polyphenolgehalt im Wein ..... - 7 -
      2.2.1. Traubenverarbeitung von der Lese bis zum Pressen ..... - 7 -
      2.2.2. Maischestandzeit ..... - 8 -
      2.2.3. Oxidative versus reduktive Mostverarbeitung ..... - 8 -
      2.2.4. Mostvorklärung ..... - 9 -
      2.2.5. Maischegärung ..... - 10 -
      2.2.6. Behandlungsmittel zur Beeinflussung des Phenolgehaltes im Wein ... - 10 -
         2.2.6.1. Gelatine ..... - 12 -
         2.2.6.2. Kasein ..... - 13 -
         2.2.6.3. Behandlungsmittel aus Kartoffel- und Erbsenprotein ..... - 14 -
         2.2.6.4. Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) ..... - 16 -
   2.3. Analysemethoden ..... - 17 -
      2.3.1. Bestimmung Gesamtphenole im Wein nach Folin-Ciocalteu ..... - 18 -
      2.3.2. Bestimmung Flavonoide und Nicht-Flavonoide ..... - 18 -
      2.3.3. Farbanalyse ..... - 19 -
      2.3.4. Bräunungstest ..... - 21 -
3. Material und Methoden ..... - 22 -
   3.1. Weine ..... - 22 -
      3.1.1. Wein 1 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21713c) ..... - 22 -
      3.1.2. Wein 2 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21714c) ..... - 23 -
   3.2. Behandlungsmittel ..... - 24 -
   3.3. Versuchsablauf Wein 1 ..... - 24 -
      3.3.1. Flaschen vorbereiten, Schönungsmittel einwiegen ..... - 25 -
      3.3.2. Wein filtrieren, auf Flaschen verteilen ..... - 25 -
   3.4. Versuchsablauf Wein 2 ..... - 26 -
   3.5. Weinchemische Analysen ..... - 27 -
      3.5.1. Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu ..... - 28 -

3.5.2. Bestimmung des Flavonoidgehalts (Catechin) ..... - 29 -
3.5.3. Farbbestimmung (380-770 nm) ..... - 30 -
3.5.4. Bräunungstest ..... - 32 -
3.6. Statistische Methoden ..... - 34 -
4. Ergebnisse ..... - 35 -
4.1. Wein 1 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21713c) ..... - 35 -
4.1.1. Gesamtphenole ..... - 35 -
4.1.2. Flavonoide ..... - 36 -
4.1.3. Nicht-Flavonoide ..... - 37 -
4.1.4. Farbanalyse ..... - 38 -
4.1.5. Bräunungstest ..... - 38 -
4.2. Wein 2 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21714c) ..... - 41 -
4.2.1. Gesamtphenole ..... - 41 -
4.2.2. Flavonoide ..... - 42 -
4.2.3. Nicht-Flavonoide ..... - 43 -
4.2.4. Farbanalyse ..... - 44 -
4.2.5. Bräunungstest ..... - 45 -
5. Diskussion ..... - 48 -
6. Zusammenfassung ..... - 52 -
7. Literaturverzeichnis ..... - 54 -
8. Anhang ..... - 58 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einteilung der Polyphenole (Quelle: SAWERT, 2020) ..... - 2 -
Abbildung 2: Polyphenolverteilung in der Beere (Quelle: TEIXEIRA et al., 2013) ..... - 3 -
Abbildung 3: Phenolkarbonsäuren in Weintrauben und Wein, Konzentrationsangaben in der Beere (Quelle: WÜRDIG und WOLLER, 1989) ..... - 4 -
Abbildung 4: Grundstruktur Flavonoide ..... - 4 -
Abbildung 5: Flavonoide in Weintrauben und Wein, Konzentrationsangeben in der Beere (Quelle: WÜRDIG und WOLLER, 1989) ..... - 5 -
Abbildung 6: Enzymatische (Polyphenoloxidase und Peroxidase) Oxidation von Phenolen in Chinone (Quelle: MACHEIX et al., 2005) ..... - 6 -
Abbildung 7: Reduktive versus oxidative Mostverarbeitung (Quelle: SCHNEIDER, 2008) ..... - 9 -
Abbildung 8: Wirksamkeit von Behandlungsmitteln auf Flavonoide im Weißwein (Quelle: SCHNEIDER, 2008) ..... - 12 -
Abbildung 9: Sensorische Bewertung von Flavonoiden in Weißwein (Quelle: SCHNEIDER und KOST, 2020) ..... - 19 -
Abbildung 10: CIELab Farbraum (Quelle: KENNERBLICK, 2022) ..... - 20 -
Abbildung 11: Wein 1 im Barrique ..... - 22 -
Abbildung 12: Wein 2 im Barrique ..... - 23 -
Abbildung 13: Konstruktionsansicht der Fässer a,b für Wein 21713c sowie c,d für Wein 21714c (Quelle: POPA, 2021) ..... - 23 -
Abbildung 14: Versuchsablauf Wein 1 ..... - 25 -
Abbildung 15: Probefläschchen auf dem Rüttelpult ..... - 26 -
Abbildung 16: Versuchsablauf Wein 2 ..... - 27 -
Abbildung 17: Abfiltrieren der Proben ..... - 28 -
Abbildung 18: Proben nach Zugabe der Folin-Ciocalteu-Reagenz ..... - 28 -
Abbildung 19: Messung der Extinktion bei 640 nm ..... - 30 -
Abbildung 20: Spektralphotometer zur Bestimmung der Extinktion ..... - 31 -
Abbildung 21: Photokammer ..... - 32 -
Abbildung 22: Proben jeweils vor Bentonitschönung (links) und nach Bentonitschönung (rechts) mit v.l.n.r. Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP und Kasein ..... - 33 -
Abbildung 23: Eingetrübte Proben Wein 2 nach Bräunungstest mit Sauerstoffüberlagerung ..... - 33 -
Abbildung 24: Proben Wein 2 nach Bräunungstest mit Sauerstoffüberlagerung nach erneuter Filtration ..... - 34 -
Abbildung 25: Gesamtphenole Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ..... - 36 -

Abbildung 26: Flavonoide Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 36 -
Abbildung 27: Flavonoide und Nicht-Flavonoide Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied bezogen auf die Nicht-Flavonoide (grüne Balken) α=0,05) ....- 37 -
Abbildung 28: Extinktion bei 420 nm Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 38 -
Abbildung 29: Bräunungstest Wein 1 mit Stickstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 39 -
Abbildung 30: Bräunungstest Wein 1 mit Sauerstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 40 -
Abbildung 31: Extinktionen bei 420 nm vor Bräunungstest, nach Bräunungstest (N_2) und nach Bräunungstest (O_2) sowie Flavonoidgehalt [mg/l] für Wein 1 (Mittelwerte n=3) ....- 41 -
Abbildung 32: Gesamtphenole Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 42 -
Abbildung 33: Flavonoide Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 42 -
Abbildung 34: Flavonoide und Nicht-Flavonoide Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied bezogen auf die Nicht-Flavonoide (grüne Balken) α=0,05) ....- 43 -
Abbildung 35: Extinktion bei 420 nm Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 44 -
Abbildung 36: Visueller Vergleich von Wein 2 48 h nach der Behandlung mit Schönungsmitteln mit (v.l.n.r.) Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP, Kasein ....- 45 -
Abbildung 37: Bräunungstest Wein 2 mit Stickstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an) ....- 46 -
Abbildung 38: Bräunungstest Wein 2 mit Sauerstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=1) ....- 47 -
Abbildung 39: Extinktionen bei 420 nm vor Bräunungstest, nach Bräunungstest (N_2) und nach Bräunungstest (O_2) sowie Flavonoidgehalt [mg/l] für Wein 2 ....- 47 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Interpretationshilfe zur Farbdifferenz ΔE (Quelle: KENNERBLICK, 2022) .....- 31 -

Tabelle 2: CIELab-Werte Wein 1 (Mittelwerte n=3).....- 38 -

Tabelle 3: CIELab-Werte Wein 1 nach Bräunungstest mit N_2 (Mittelwerte n=3).....- 39 -

Tabelle 4: CIELab-Werte Wein 1 nach Bräunungstest mit O_2 (Mittelwerte n=3).....- 40 -

Tabelle 5: CIELab-Werte Wein 2 (Mittelwerte n=3).....- 44 -

Tabelle 6: CIELab-Werte Wein 2 nach Bräunungstest mit N_2 (Mittelwerte n=3).....- 46 -

1. Einleitung

Hohe Phenolgehalte, und hier insbesondere flavonoide Polyphenole, können im Weißwein zu Adstringenz und Bitterkeit führen und sich durch Oxidationsprozesse während der Lagerung negativ auf die Haltbarkeit auswirken, verbunden mit negativen Auswirkungen auf Farbe, Geruch und Geschmack. Neben Möglichkeiten, den Phenolgehalt während der Traubenreifung und der Traubenverarbeitung zu beeinflussen, sind unterschiedliche oenologische Behandlungsmittel zulässig, um den Phenolgehalt im Wein zu reduzieren. In den vergangenen Jahren ist die Nachfrage nach veganen Produkten bei Konsumenten und Weinerzeugern stark angestiegen. Um dieser Entwicklung gerecht zu werden, kamen in den vergangenen Jahren immer mehr Behandlungsmittel pflanzlicher Herkunft auf dem Markt. Neben diesem wird auch auf den Aspekt allergieauslösender Stoffe eingegangen. In der vorliegenden Arbeit werden je ein Behandlungsmittel tierischen Ursprungs, eines synthetischen sowie zwei pflanzlichen Ursprungs hinsichtlich ihrer Wirksamkeit zur Abreicherung der flavonoiden und nicht-flavonoiden Polyphenole verglichen. Darüber hinaus wird mit einem beschleunigten Alterungstest das Bräunungsverhalten der behandelten Weine untersucht. Zielsetzung der Untersuchungen war es somit herauszufinden, inwieweit Behandlungsmittel in der Lage sind, die Phenolfraktionen im Weinstadium bei unterschiedlichen Phenolgehalten effektiv herabzusetzen. Zur Verfügung standen zwei Weißweine aus der Müller-Thurgau-Rebe, einer wurde ohne Vorklärung mit Spontangärung im Barrique ausgebaut, der andere wurde auf der Maische im Barrique vergoren und brachte entsprechend hohe Phenolgehalte mit. Zusätzlich wurde die Dosierung der Behandlungsmittel variiert.

2. Literaturübersicht

2.1. Polyphenole

Polyphenole sind eine bei Pflanzen sehr weit verbreitete Stoffgruppe (RECHNER, 2000). Es handelt sich um eine Gruppe von sekundären Pflanzenstoffen, die Pflanzen zur Anpassung und zum Schutz vor biotischem und abiotischem Stress dienen (ROUSSERIE et al., 2019). Neben dem Schutz vor Pilzbefall, Schädlings- oder Tierfraß sind sie Bestandteile von Riech- und Geschmacksstoffen, die im Primärstoffwechsel der Pflanze weder synthetisiert noch metabolisiert werden können (POUR NIKFARDJAM, 2001). In der Natur sind mehr als 8.000 phenolische Verbindungen bekannt, sie kommen vor allem in Farb- und Gerbstoffen vor. Neben der Wirkung als Schutzsubstanz, etwa gegen UV-Strahlung, fungieren sie auch als Attraktions- bzw. Lockmittel für Insekten und Vögel, um die Verteilung der Samen zu gewährleisten (EDER und WENDELIN, 2002).

Grundsätzlich lassen sich die in der Traube beziehungsweise im Most und Wein vorkommenden Polyphenole in zwei Gruppen unterteilen, in Flavonoide und Nicht-Flavonoide (Phenolcarbonsäuren und Stilbene), mit einer Klassifizierung in weitere Untergruppen, siehe Abbildung 1.

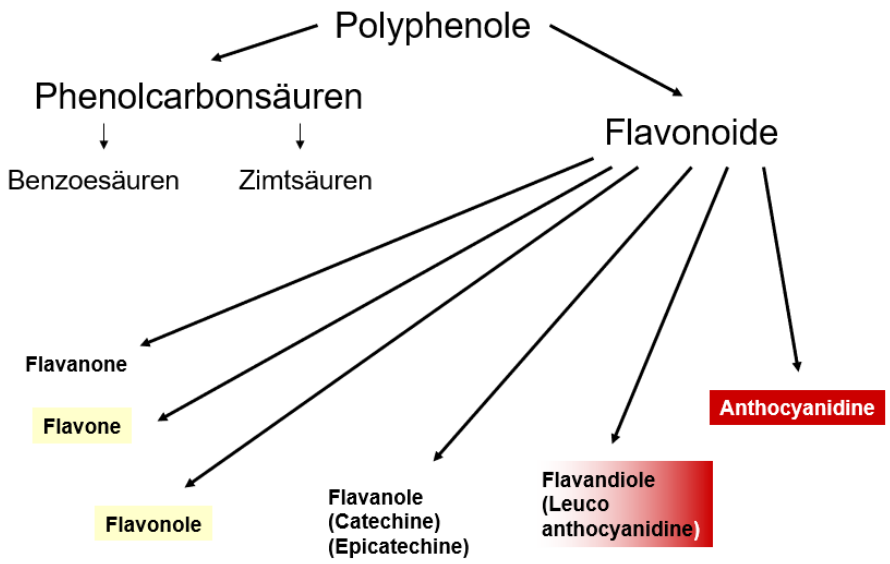


Abbildung 1: Einteilung der Polyphenole (Quelle: SAWERT, 2020)

Auch eine Unterteilung in monomere und polymere Moleküle ist möglich. Chemisch gesehen sind Polyphenole Moleküle mit einem aromatischen Ring, an dem mindestens zwei, meistens jedoch mehrere Hydroxylgruppen (OH-Gruppen) gebunden sind.

Während die Phenolkarbonsäuren vor allem im Fruchtfleisch vorkommen, befinden sich die Flavonoide hauptsächlich in der Beerenhaut, den Kernen und dem Stielgerüst (TEIXEIRA et al., 2013; SCHNEIDER, 2008). Abbildung 2 zeigt die Verteilung der Polyphenole in der Beere.

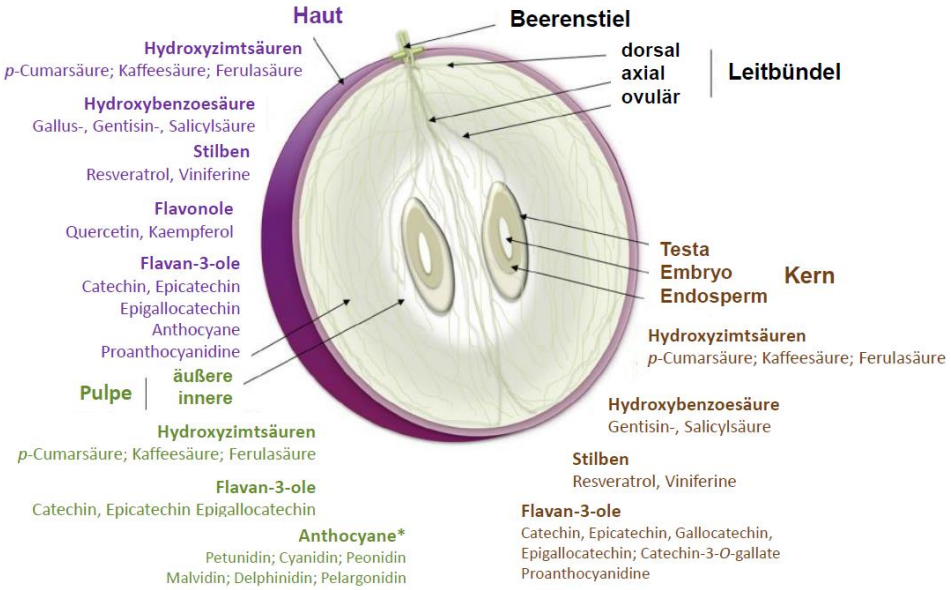


Abbildung 2: Polyphenolverteilung in der Beere (Quelle: TEIXEIRA et al., 2013)

2.1.1. Nicht-Flavonoide

Neben den Stilbenen, von denen das bekannteste das Resveratrol ist, handelt es sich bei dieser Gruppe hauptsächlich um Phenolcarbonsäuren mit einer C_6-C_1- oder einer C_6-C_3-Struktur sowie weiteren Hydroxy- und Methoxygruppen. Im Wein kommen vor allem die Hydroxy-Benzoecarbonsäure und die Hydroxy-Zimtsäure vor (WÜRDIG und WOLLER, 1989). Abbildung 3 gibt eine Übersicht über die im Wein vorkommenden Phenolcarbonsäuren. In Weißweinen sind es vor allem die Hydroxyzimtsäuren, die den Hauptbestandteil der Polyphenole ausmachen (SCHNEIDER, 2008). Es handelt sich um leicht oxidierbare Stoffe, die zu Bräunungsreaktionen führen können und deswegen als effektive Antioxidantien gelten. Da sie hauptsächlich im Traubenmark enthalten und

gut wasserlöslich sind, bleiben die Phenolcarbonsäuregehalte im Verarbeitungsprozess nahezu konstant (EDER und WENDELIN, 2002). In Weinen liegen die Gehalte im Bereich der Wahrnehmungsschwelle und haben daher keine adstringierende Wirkung, tragen aber gegebenenfalls zur Mundfülle bei. Sie haben allerdings keine Relevanz bei der geschmacklichen und farblichen Alterung von Weißweinen (SCHNEIDER und KOST, 2020).

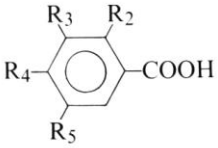
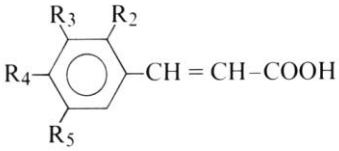
Chemische Grundstruktur	Liganden	Konzentration (mg/kg)
Derivate der Benzoesäure		
	R_4 = OH, p-Hydroxy-Benzoesäure	50–100
	R_3 = R_4 = OH, Protocatechusäure	12*
	R_3 = OCH_3, R_4 = OH, Vanillinsäure	15*
	R_3 = R_4 = R_5 = OH, Gallussäure	8*
	R_3 = OCH_3, R_4 = OH, R_5 = OCH_3, Syringasäure	30*
	R_2 = OH, Salicylsäure	?
	R_3 = R_5 = OH, Gentisinsäure	?
Derivate der Zimtsäure		
	R_4 = OH, p-Cumarsäure	0,3–30
	R_3 = R_4 = OH, Kaffeesäure	1–20
	R_3 = OCH_3, R_4 = OH, Ferulasäure	0,2–1
	R_3 = OCH_3, R_4 = OH, R_5 = OCH_3, Chinasäure	?

Abbildung 3: Phenolkarbonsäuren in Weintrauben und Wein, Konzentrationsangaben in der Beere (Quelle: WÜRDIG und WOLLER, 1989)

2.1.2. Flavonoide

Bei den Flavonoiden handelt es sich um die größte und wichtigste Gruppe an Polyphenolen in Pflanzen (POUR NIKFARDJAM, 2001). Das Grundgerüst aller Flavonoide besteht aus einer charakteristischen C_6-C_3-C_6-Konfiguration.

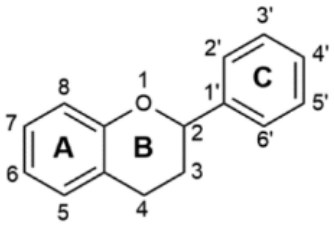


Abbildung 4: Grundstruktur Flavonoide

Flavonoide kommen vor allem in den festen Bestandteilen der Traube vor, daher ist ihr Gehalt in Verarbeitungsprodukten stark abhängig von dem angewandten technischen Verfahren. Sie sind sehr oxidationsanfällig und zeichnen sich durch einen herb-bitteren Geschmack aus (EDER und WENDELIN, 2002). Die wichtigsten Vertreter sind in Abb. 4 aufgeführt, wobei Anthocyanidine in weißen Trauben nur in Spuren enthalten sind.

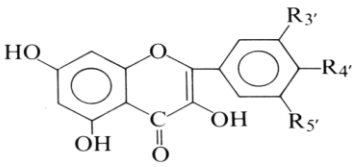
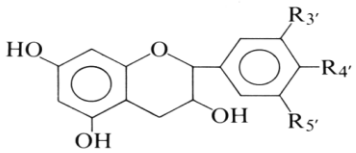
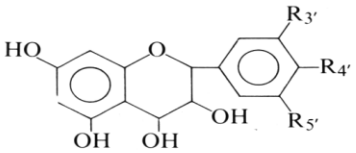
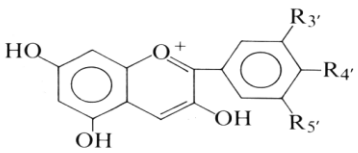
Chemische Grundstruktur	Liganden	Konzentration (mg/kg)
Flavonole 	$R_{4'}$ = OH, Kämpferol $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = OH, Quercetin $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = $R_{5'}$ = OH, Myricetin	20–40
3-Flavanole (Catechine) 	$R_{3'}$ = $R_{4'}$ = OH, Catechin (Epicatechin) $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = $R_{5'}$ = OH, Gallocatechin	50–100
3,4-Flavandiole (Proanthocyanidine) 	$R_{3'}$ = $R_{4'}$ = OH, Leucocyanidin $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = $R_{5'}$ = OH, Leucodelphinidin	2–3
Anthocyanidine 	$R_{4'}$ = OH, Pelargonidin $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = OH, Cyanidin $R_{3'}$ = OCH_3, $R_{4'}$ = OH, Päonidin $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = $R_{5'}$ = OH, Delphinidin $R_{3'}$ = OCH_3, $R_{4'}$ = OH, $R_{5'}$ = OCH_3 = Malvidin $R_{3'}$ = $R_{4'}$ = OH, $R_{5'}$ = OCH_3, Petunidin	? ? 20–60 2–20 200–600 2–70

Abbildung 5: Flavonoide in Weintrauben und Wein, Konzentrationsangeben in der Beere (Quelle: WÜRDIG und WOLLER, 1989)

Flavan-3-ole sind dabei die am häufigsten vorkommende Klasse von Phenolen in der Weinbeere. Sie haben eine monomere (Catechine) oder polymere Struktur, die als Proanthocyanidine oder kondensierte Tannine bekannt sind (TEIXEIRA et al., 2013).

Catechine werden nochmals unterteilt in (+)-Catechine, (+)-Gallocatechin, (-)-Epicatechin und (-)-Epigallocatechin.

Flavonoide zeichnen sich durch ihre eiweißfällende Wirkung aus. Diese gerbende Eigenschaft bekommen sie erst mit einem bestimmten Polymerisationsgrad. Durch diese Kettenbildung, bei der es meistens zu Verbindungen zwischen dem achten C-Atom eines Moleküls mit dem jeweils vierten C-Atom eines benachbarten kommt, werden Molekülgrößen erreicht, die in der Lage sind, Eiweiße, also z.B. Pilzenzyme oder Speichelenzyme zu fällen und dadurch je nach Polymerisationsgrad einen bitteren oder adstringierenden Geschmack hervorzurufen (SAWERT, 2020; SCHNEIDER, 2006).

Flavonoide Polyphenole werden bei Vorhandensein von Sauerstoff sehr leicht zu sogenannten Chinonen oxidiert (Moleküle mit zwei benachbarten O-Doppelbindungen). Dabei werden Elektronen und in der Folge Wasserstoffatome abgegeben, wodurch aus OH-Gruppen Ketone entstehen. Durch die Zunahme um insgesamt eine Bindung wird das Molekül farbig (gelblich bis bräunlich). Besonders oxidationsanfällig sind Strukturen, bei denen die OH- oder Ketogruppen benachbart sind (vizinale Gruppen). Die Oxidation wird dabei durch Polyphenoloxidasen (Tyrosinase) oder durch Pilzenzyme (Laccase) katalysiert. Voraussetzung für eine Polymerisation ist das Vorhandensein von sowohl oxidierten als auch noch reduzierten Flavonoiden (SAWERT, 2020).

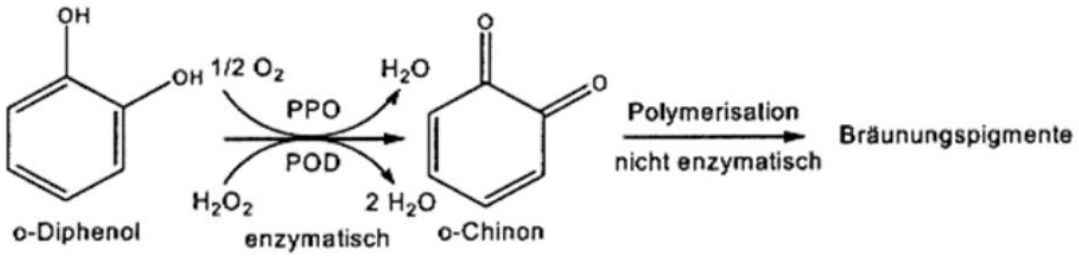


Abbildung 6: Enzymatische (Polyphenoloxidase und Peroxidase) Oxidation von Phenolen in Chinone (Quelle: MACHEIX et al., 2005)

Durch das Vorhandensein von Metallkationen können sogenannte Komplexe aus Polyphenolen und Metallen entstehen, in deren Folge das Polyphenol zum Chinon oxidiert und das Metallkation reduziert wird, z.B. von Fe^{3+} zu Fe^{2+} (JUNGBLUTH, 2000). Vorhandener Sauerstoff kann die Elektronen vom Metallkation aufnehmen und in der Folge

kann es zur Bildung von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) kommen, einem sehr starken Oxidationsmittel sowie zu weiteren Peroxiden. Man spricht dann von gekoppelter Oxidation. Vorhandenes SO_2 wird durch Wasserstoffperoxid zum Sulfat oxidiert, ein Teil des H_2O_2 wird allerdings Ethanol zu Acetaldehyd oxidieren. Neben Acetaldehyd kommt es auch zur Bildung geruchsaktiver, höherer Aldehyde, die für den Geruch der Altersfirne verantwortlich gemacht werden (SCHNEIDER, 2010).

2.2. Einflussgrößen auf den Polyphenolgehalt im Wein

Neben der Rebsortenwahl, dem Pflanzmaterial, dem Standort, weinbaulichen Maßnahmen wie dem Boden- und Laubwandmanagement, klimatischen Bedingungen, dem Gesundheitszustand der Trauben sowie dem Lesezeitpunkt (Phenolreife) sind es vor allem die Traubenverarbeitung und die Ausbauart, die die Phenolgehalte im Wein maßgeblich beeinflussen (SCHNEIDER, 2008).

2.2.1. Traubenverarbeitung von der Lese bis zum Pressen

Eine schonende, zügige und kühle Traubenverarbeitung mit möglichst geringer mechanischer Beanspruchung vermeidet die Freisetzung großer Mengen flavonoider Polyphenole (SCHNEIDER, 1998; PASCH, 2020). Dies umfasst unter anderem eine schonende Lese möglichst gesunder Trauben, einen schonenden Transport, Mühlen mit nicht zu eng eingestellten Walzen (um nicht die Kerne zu verletzen), optimal eingestellte Entrapper, damit keine Phenole aus dem Stielgerüst freigesetzt werden und einen schonenden Pressvorgang mit wenigen Scheitervorgängen. Geringe Einträge flavonoider Phenole erzielt man z.B. durch Ganztraubenpressung in Verbindung mit einem sequentiellen Pressprogramm, auch „Crémant-Programm“ genannt. Eine schonende Behandlung kann unter anderem erzielt werden durch selektive Handlese, Transport in kleinen Kisten, Synchronisation von Förderschnecken und Pumpen, Verwenden großer Förderschnecken-Querschnitte in Kombination mit niedriger Förderleistung, abgegratete Schnecken, Stiftwellen zum Vermeiden von Brückenbildungen in Maischebehältnissen, Verwendung von besonders schonenden Pumpen, z.B. Schlauchpumpen, oder die Nutzung der Schwerkraft.

In einer neueren Publikation wird allerdings dargelegt, dass bereits im Pulpesaft der Beeren Flavonoide gelöst sind und somit eine schonende Verarbeitung allein nicht ausreicht, um gerbstoffarme Weine zu erzielen (SCHNEIDER und KOST, 2020).

2.2.2. Maischestandzeit

Durch eine mehrstündige Maischestandzeit, bei der es sich um einen wässrigen Extraktionsvorgang handelt, kommt es neben einem stetigen Anstieg der Aromakomponenten und einer Abpufferung der Weinsäure, hervorgerufenen durch Extraktion von Mineralstoffen, insbesondere Kalium, auch zu einer Zunahme der Phenolextraktion, die abhängig vom Traubenzustand, der mechanischen Belastung, der Enzymaktivität, der Extraktionsdauer und der Temperatur ist (DARIAS-MARTIN, 2000; GOMEZ-MIGUEZ, 2007). Durch den Kontakt der festen Traubenbestandteile mit dem Most und der damit einhergehenden Zunahme von flavonoiden Phenolen kommt es neben einer Zunahme des Mundgefühls auch zu einer Zunahme von Adstringenz und Bittertönen (SCHNEIDER, 2018).

2.2.3. Oxidative versus reduktive Mostverarbeitung

In Abhängigkeit einer mehr oxidativen oder mehr reduktiven Mostverarbeitung wird ein großer Einfluss auf die späteren Polyphenolgehalte im Wein genommen.

Eine reduktive Behandlung vor der Gärung umfasst den Einsatz von SO_2, Ascorbinsäure und die Schaffung von inerten Verhältnissen (geschlossene Presse, Einsatz Inertgas), eine oxidative Behandlung den Verzicht auf Schwefelung und eine passive oder auch aktive Zufuhr von Sauerstoff (siehe Abbildung 7).

Mit dem Einsatz von SO_2 vor der Gärung werden Enzyme gehemmt, das betrifft neben Laccase, ein durch Botrytis eingebrachtes Enzym auch traubeneigene Enzyme wie die Tyrosinase, eine Polyphenoloxidase. Tyrosinase katalysiert die Oxidation der Polyphenole zu Chinonen, durch Schwefelung wird diese Bräunungsreaktion gehemmt und die Phenole werden im Most konserviert. Mit der Zufuhr von Sauerstoff zum ungeschwefelten Most können die für die Weinalterung mitverantwortlichen Polyphenole, vor allem die flavonoiden Phenole, bereits vor der Gärung oxidiert, ausgefällt und mit dem Mosttrub abgetrennt werden (SCHNEIDER, 2008).

Oxidation vor Gärung			Haltbarkeit des Weins
gering	Hyper-Reduktion	Extremer Schutz vor Oxidation durch Anwendung von SO_2, Ascorbinsäure und Inertgas bei Maische, Pressung und Mostverarbeitung. Keine Oxidation.	kurz
	reduktive Vinifikation	Anwendung von SO_2 und eventuell Ascorbinsäure, beschränkter Sauerstoffzutritt bei der Mostverarbeitung. Keine Oxidation.	
	Normalverarbeitung	Schwefelung des Mostes ohne besondere Maßnahmen zur Vermeidung von Sauerstoffaufnahme. Geringe Oxidation.	
	oxidative Vinifikation	Keine Schwefelung vor Gärung, keine Maßnahmen zur Verhinderung des Sauerstoffzutritts. Passive Oxidation.	
stark	aktive Mostoxidation (Hyper-Oxidation)	Keine SO_2 vor Gärung, aktive Zufuhr von reinem Sauerstoff oder Luft. Gezielte Oxidation.	lang

Abbildung 7: Reduktive versus oxidative Mostverarbeitung (Quelle: SCHNEIDER, 2008)

Ein Verlust an Primäraromen wird gegen eine oxidative Mostverarbeitung angeführt, insbesondere von Thiolen bei bestimmten Rebsorten wie Sauvignon Blanc, dem gegenüber steht die aromatische Stabilität und Haltbarkeit der so erzeugten Weine (SCHNEIDER, 2008). In einer neueren Studie wird dagegen die förderliche Wirkung einer reduktiven Mostverarbeitung bei thiolreichen Rebsorten in Frage gestellt (ROLAND et al., 2011).

Flavonoide Polyphenole, die nach der Gärung noch im Wein enthalten sind, werden dort mit der Zeit zu Gerbstoffen polymerisieren und die Aromatik im Weißwein zu mehr Bitternoten und Adstringenz verändern (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

2.2.4. Mostvorklärung

Um die ausgeflockten Phenole bei oxidativer Mostbehandlung weitgehend zu entfernen, ist eine Mostvorklärung mit einem Schleudertrubgehalt < 0,6 % gew., bzw. < 100 NTU anzustreben. Ansonsten würden die Phenole nach der Gärung durch Alkohol und schweflige Säure wieder in Lösung gehen (SCHNEIDER, 2008). Mit welcher Methode dies erreicht wird, also z.B. durch Sedimentation oder Flotation (mit O_2 oder Luft), ist dabei nicht entscheidend.

2.2.5. Maischegärung

Bei der Maischegärung werden die Trauben zunächst abgebeert und angequetscht, um ein Austreten des Saftes zu erreichen. Es handelt sich bei der Maischegärung um eine Wechselwirkung aus mechanischem Öffnen der Beere, enzymatischen Vorgängen und später alkoholischer Extraktion (SCHMIDT, 2013).

Entscheidet man sich bei der Weißweinherstellung für eine Maischegärung, wie es etwa bei im Quevri ausgebauten Weinen oder bei Orange Wine üblich ist, werden bei der Gärung große Mengen an flavonoiden Polyphenolen durch den intensiven Kontakt mit Schalen und Kernen extrahiert (PRASNIKAR et al., 2014). Sobald diese Weine mit Sauerstoff in Kontakt kommen, setzen intensive Oxidationsprozesse und damit einhergehende Bräunungsreaktionen ein. Die Gehalte an Polyphenolen, hauptsächlich Gerbstoffe, variieren bei maischevergorenen Weißweinen zwischen 1.000 und 2.500 mg/l Catechin-Äquivalenten, und sind stark abhängig vom Lesegut und der Maischestandzeit (SCHNEIDER, 2018). Damit liegt der Gesamtphenolgehalt deutlich über dem traditionell hergestellter Weißweine, der im Bereich von 150 bis 250 mg/l liegt (SCHNEIDER und KOST, 2020).

Wichtige Voraussetzungen für maischevergorene Weißweine sind reifes und gesundes Lesegut. Trauben, die noch nicht die phenolische Reife erreicht haben, würden zu unreifen und besonders bitteren oder adstringierenden Noten im Wein führen.

Die Aromatik maischevergorener Weißweine, die in Kontakt mit Sauerstoff gekommen sind, ist nicht fruchtiger Art, sondern entspricht eher der Art altersfirner Weine, eine Sortentypizität ist nicht zu erwarten (SCHNEIDER, 2018).

2.2.6. Behandlungsmittel zur Beeinflussung des Phenolgehaltes im Wein

Behandlungsmittel sind technische Hilfsstoffe, die der Stabilität und der Sicherung der Produktbeschaffenheit dienen und nach erfolgter Behandlung vom Getränk wieder abgetrennt werden, sie wirken klärend und entfernen Stoffe, die zur Trübung sowie Farb- und Geruchsveränderungen führen können (BINDER, 2013). Grundsätzlich können Behandlungsmittel, auch Schönungsmittel genannt, im Most- oder Weinstadium angewendet werden. Je früher eine Behandlung durchgeführt wird, desto weniger wirkt sie

sich negativ auf die Weinqualität aus, aber desto ungenauer ist die Anwendung und muss gegebenenfalls im Wein wiederholt werden (HAMATSCHEK, 2015). Eine Behandlung, vor allem im Weinstadium, birgt immer das Risiko, dass neben der gewünschten Maßnahme auch andere, wertgebende Stoffe wie etwa Aromastoffe entfernt werden, mit entsprechend negativen Auswirkungen auf die Weinqualität. Behandlungsmittel haben immer auch unspezifische Wirkkomponenten.

Weinbehandlungen sollten nur in Ausnahmefällen durchgeführt werden, die meisten angebotenen Präparate sind überflüssig oder zum Teil kontraproduktiv, nur ein kleiner Teil ist tatsächlich sinnvoll. Da in der Regel der Einsatz von Behandlungsmitteln oft mit dem Einsatz zusätzlicher Rühr-, Pump- und Filtrationsvorgänge verbunden ist, sind die Schäden meistens größer als der Gewinn (SCHNEIDER, 2008).

Zusätzlich zu den weiter oben erläuterten Maßnahmen, die das Ziel haben, den Gehalt an Polyphenolen im Wein zu beeinflussen, können im Rahmen einer Gerbstoffschönung auch Behandlungsmittel auf der Basis von Proteinen eingesetzt werden.

Die Wirkungsweise eiweißartiger Behandlungsmittel beruht auf der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Peptidgruppen von Eiweißen und den Hydroxygruppen kondensierter Polyphenole. Da beide Verbindungsklassen von sich aus schon so groß sind, dass sie kolloidal gelöst sind, erreichen sie zusammen so große Molekülkomplexe, dass sie nicht mehr löslich sind und ausfallen. Da unterschiedliche Eiweiße aus unterschiedlichen Aminosäuren aufgebaut sind, präsentieren sie sich nach außen mit unterschiedlichen Bindungsfähigkeiten und Oberflächen, mit entsprechenden Auswirkungen auf die Wirkungsweise eiweißartiger Behandlungsmittel. Das Wissen um Wirkungsspektren beruht dabei auf reiner Empirie (SAWERT, 2020).

Neben traditionellen Behandlungsmitteln tierischen Ursprungs zur Gerbstoffschönung wie Gelatine, Hausenblase, Albumin und Kasein werden heute Behandlungsmittel pflanzlichen (Kartoffelprotein, Erbsenprotein) und synthetischen (Polyvinylpolypyrrolidon) Ursprunges eingesetzt.

2.2.6.1. Gelatine

Gelatine ist ein Eiweißstoff, der aus der Hydrolyse des Kollagens tierischen Ursprungs gewonnen wird. Hierfür dienen etwa Häute, Knochen oder Schwarten größerer Schlachttiere (HAMATSCHEK, 2015). Die Aminosäuren Glycin, Prolin, Hydroxyprolin und Glutaminsäure sind die Hauptbestandteile der Gelatine (RIBEREAU-GAYON et al., 2006). Man unterscheidet Gelatine nach der Aufschlussart in enzymatisch, alkalisch oder sauer aufgeschlossene Gelatine, die sich stark in ihrem Isoelektrischen Punkt (IEP) unterscheiden. Der isoelektrische Punkt gibt an, bei welchem pH-Wert eine Verbindung mit positiven und negativen Ladungen nach außen neutral ist. Der Ladungszustand der Gelatine ist dabei abhängig vom pH-Wert und dem IEP. Die meisten für die Klärung eingesetzten Gelatinen sind bei im Wein üblichen pH-Werten positiv geladen und können sich mit negativ geladenen Polyphenolen verbinden und ausflocken. Bei alkalisch aufgeschlossener Gelatine liegt der IEP bei pH 5, bei sauer aufgeschlossenen bei pH 8-9. Auch die Bloomzahl, die die Gelierkraft beziehungsweise die Viskosität der Gelierlösung angibt, variiert stark bei den auf dem Markt befindlichen Handelsprodukten. Gelatine wird hauptsächlich als Klär- und Stabilisierungsmittel eingesetzt, hat aber auch gerbstoffmindernde Wirkung (STOCKÉ, 2016).

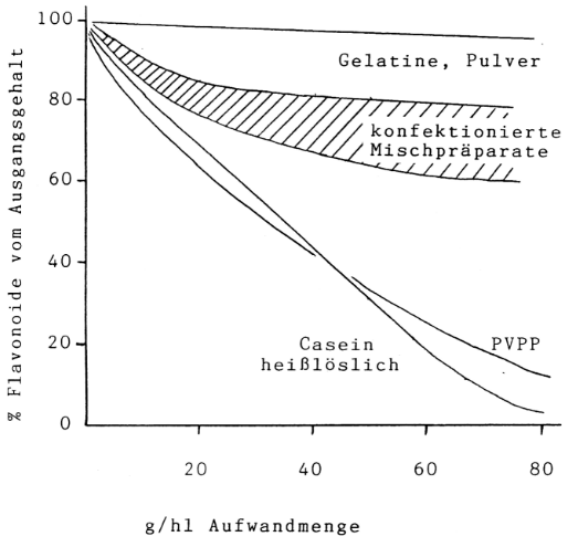


Abbildung 8: Wirksamkeit von Behandlungsmitteln auf Flavonoide im Weißwein (Quelle: SCHNEIDER, 2008)

In einer anderen Publikation wird Gelatine eine Wirksamkeit zur Verminderung von Gerbstoffen im Weißwein wegen zu gering konzentrierten und polymerisierten Flavonoiden abgesprochen, siehe Abbildung 8. Für Rotweine ist Gelatine dagegen als äußerst effizient bekannt (SCHNEIDER, 2008).

Eine Wirksamkeitsstudie mit zwei Gelatinen, Kasein und Kaliumkaseinat hinsichtlich Farbe, phenolischen Verbindungen und sensorischen Eigenschaften je eines Rot- und Weißweines kommt zu dem Schluss, dass Gelatine zwar nicht in der Lage ist, den Gehalt an monomeren Flavanolen im Weißwein, aber den an oligomeren und polymeren Proanthocyanidinen zu reduzieren, insbesondere Gelatine mit einer geringeren Molekulargewichtsverteilung (GL) von < 43 kDa. GL war bei einer Aufwandmenge von 5 ml/hl in der Lage, die oligomeren um 34% und die polymeren Proanthocyanidine um 71% zu reduzieren (BRAGA et al., 2007).

Ab einem Gehalt von 25 mg/l Gelatine im Wein besteht eine Allergenkennzeichnungspflicht.

2.2.6.2. Kasein

Kasein ist das Haupteiweiß der Kuhmilch, es wird aus frischer und pasteurisierter entrahmter Milch gewonnen. Kasein ist elektrisch positiv geladen und kann so negativ geladenen Stoffe wie Trub- und Gerbstoffe, Farbstoffe, Eisen, Kupfer und Schwermetalle binden. Es wird bei der Weinbereitung zumeist in Form von Kaliumkaseinat zum Klären und Schönen verwendet. Dabei wird Kaliumkaseinat mittels Aufschluss durch Kaliumlauge aus Kasein hergestellt, um es so in eine lösliche Form zu bringen. Besonders wirksam ist es bei der Behandlung oxidierter Weine wie zum Beispiel bei Hochfarbigkeit bzw. Brauner Bruch. Oxidierte Stoffe werden gebunden, sowie Geschmack und Farbe stabilisiert. Kaseinhaltige Präparate zählen ab einer Menge von 0,25 mg/l Eiweißen im Wein zu den deklarierungspflichtigen Allergenen (OIV, 2014). Der isoelektrische Punkt liegt bei 4,7.

Als heißlösliches Kasein angewendet, kann es die Flavonoide im Weißwein effektiv entfernen, wird aber aufgrund der aufwendigen Dosierung als heiße Lösung in den Pro-

duktstrom und der Gefahr spontaner Flockung im Wein kaum noch eingesetzt. Kaliumkaseinat dagegen hat nur eine geringe Wirkung auf Flavonoide, entsprechend der konfektionierter Mischpräparate, siehe Abbildung 8 (SCHNEIDER, 2008).

Dies wird auch durch eine weitere Quelle bestätigt. Bei der im vorherigen Kapitel erwähnten Wirksamkeitsstudie mit Kasein und Kaliumkaseinat war ersteres in der Lage, monomere Catechine als auch oligomere und polymere Proanthocyanidine im Weißwein effektiver zu reduzieren als zweiteres. Kaliumkaseinat konnte bei einer Aufwandmenge von 20 g/hl den Gehalt an monomeren Catechinen um 33%, an oligomeren Catechinen um 29% und den an polymeren Catechinen um 31% reduzieren, während Kasein bei einer Aufwandmenge von 15 g/hl die Catechingehalte um 60%, 49% bzw. 44% reduzieren konnte (BRAGA et al., 2007).

2.2.6.3. Behandlungsmittel aus Kartoffel- und Erbsenprotein

Neben dem Wunsch nach Erzeugnissen aus nachhaltiger, ökologischer oder regionaler Produktion ist in den vergangenen Jahren die Nachfrage nach veganen Produkten bei Konsumenten und Weinerzeugern stark angestiegen. Auch dem Aspekt allergieauslösender Inhaltsstoffe wird eine immer größere Bedeutung zugemessen. Beiden Anforderungen kann, im Gegensatz zu Gelatine, Hausenblase, Albumin oder Kasein, durch den Einsatz von Kartoffel- und Erbsenprotein gerecht werden.

Wegen der Problematik allergieauslösender Substanzen bei der Verwendung von tierischen Eiweißstoffen, wird an der Entwicklung von Behandlungsmitteln auf pflanzlicher Basis (z. B. Proteine aus Getreide, Traubenkernen, Kartoffeln, Hülsenfrüchten usw.) und auch auf Basis anderer pflanzlicher Stoffe, die keine Proteine sind (z.B. Zellwandpolysaccharide und Tresterstoffe) gearbeitet, die zur Klärung und Stabilisierung von Weinen sowie zur Entfernung von Phenolverbindungen in Frage kommen (MARANGON et al., 2019).

In der Studie von (MARANGON et al., 2019) wurden Studien, die sich mit alternativen Behandlungsmitteln bei der Weinschönung in den vergangenen Jahren befasst haben, untersucht und zusammengefasst. Erbsenprotein war in der Lage, die Tannine und Ad-

stringenz in Rotweinen vergleichbar mit PVPP abzusenken, allerdings deutlich schwächer als Gelatine (KANG et al., 2018). Erbsenproteine (0,4 g/l) wurden mit PVPP (0,25 g/l) und Kaliumkaseinat (0,4 g/l) zur Schönung von Weißwein verglichen. Dabei zeigte sich, dass die flavonoiden und nicht-flavonoiden Phenole in allen Weinen, die mit den drei Schönungsmitteln behandelt wurden, deutlich abnahmen. Durch Erbsenprotein wurden die Flavonoide um 13% und die Gesamtphenole um 9% reduziert, bei Kaliumkaseinat betrugen die Werte 11% und 9% und für PVPP 15% und 11%. Nur Kaliumkaseinat war in der Lage, das Bräunungspotenzial des Weins zu verringern (73%). Erbsenprotein und Kaliumkaseinat wurden als die besten Mittel zur Klärung des Weins angesehen, während aus sensorischer Sicht alle Schönungsmittel ähnliche Wirkungen auf den Wein hatten (COSME et al., 2012). Erbsenproteine sind von der OIV als Schönungsmittel für Wein zugelassen. Erbsenallergien sind selten, aber die immunologische Kreuzreaktivität zwischen Hülsenfrüchten ist gut dokumentiert, was darauf hinweist, dass Erbsenproteine für einige Menschen, die auf Erdnuss, Soja oder Lupine sensibilisiert sind, allergen sein können (VERMA et al., 2013). Trotzdem sind diese Proteine als Schönungsmittel in Wein ohne Einschränkungen zugelassen. Auch Kartoffelprotein kann zu Schönungszwecken im Wein verwendet werden, insbesondere Patatin, ein wichtiges Glykoprotein, das über 40% der löslichen Proteine von Kartoffeln ausmacht.

Patatin wurde als Schönungsmittel für Most in zwei Weißweinsorten untersucht und in seiner Wirksamkeit mit der von Bentonit und Kaliumkaseinat verglichen. Patatin konnte die Bräunungsneigung der Moste stärker als Kaliumkaseinat verringern. Dazu wurde die Abnahme der Extinktion bei 420 nm nach 20h verglichen. Die Extinktion bei 420 nm von unbehandeltem Most der Rebsorte Greco nahm nach 20h um 0,65 ab, während sie sich bei dem mit Patatin behandelten (0,3 g/hl) Grecomost um 1,11 verringerte, was einem Unterschied von Faktor 1,7 entspricht. Für Most der Rebsorte Falanghina konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Patatin zeichnete sich zudem durch eine verringerte Trübung des Mostes beim Absetzen dank seiner guten Flockulierungseigenschaften aus (GAMBUTI et al., 2015). Bei Rotweinen war Patatin das zweitbeste Behandlungsmittel nach Gelatine, um Tannine, Gesamtphenole und Adstringenz zu reduzieren (GAMBUTI et al., 2012). Bei einer Studie zu Rotweinen

wurde festgestellt, dass Patatin die nach CIELab gemessene Weinfarbe signifikant verändert hat (KANG et al., 2018). Patatin hat mit einer Molekularmasse von etwa 40 kDa und einem isoelektrischen Punkt von 4,6 chemische Eigenschaften, die denjenigen von tierischen Proteinen ähneln (GAMBUTI et al., 2015). Patatin wurde von der OIV mit der Resolution OIV-OENO 495-2013 zugelassen, das Risiko von allergischen Reaktionen auf mit Patatin behandelten Weinen kann aufgrund der geringen Allergenität von Kartoffeln als sehr gering angesehen werden (OIV, 2013). Bisher gibt es nur eine Allergenkennzeichnungspflicht für Ei- und Milcheiweiß-Rückstände ab 0,25 mg/l im Wein, da aber die Liste der allergenen Stoffe ständig überarbeitet wird, ist es möglich, dass in Zukunft andere allergene Proteine, auch solche aus Pflanzen, von den Regulierungsbehörden aufgenommen werden (MARANGON et al., 2019).

In der Studie von (COSME et al., 2012) wurden Erbsenprotein mit Kaliumkaseinat und PVPP hinsichtlich ihrer Schönungseigenschaften bei Weißwein untersucht. Die Gesamtphenole konnten zwischen 9 und 12%, die Flavonoide zwischen 11 und 15% verringert werden. Bezüglich der Reduzierung des Bräunungspotentials war Kaliumkaseinat effektiver als die anderen Schönungsmittel (Reduktion der Extinktion bei 420 nm nach 5 Tagen bei 55°C gegenüber der Kontrolle um 73%). PVPP und Erbse konnten zwar ebenfalls das Bräunungspotential reduzieren, lieferten aber keine signifikanten Ergebnisse. Das Bräunungspotential wurde dabei mit der von (SINGLETON und KRAMLING, 1976) vorgeschlagenen Methode bestimmt, siehe auch Kapitel Bräunungstest.

Die Farbe bei 420 nm konnte durch alle Behandlungsmittel signifikant reduziert werden (10%).

2.2.6.4. Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)

Polyvinylpolypyrrolidon ist ein synthetisches Behandlungsmittel und ist hervorragend geeignet zur Entfernung von Polyphenolen. Es entfernt Polyphenole effektiver als Kaliumkaseinat bei geringeren Konzentrationen (siehe vorheriges Kapitel) und bietet sich zudem als allergiefreie Alternative an (COSME et al., 2012).

PVPP ist ein dreidimensionaler, vernetzter Kunststoff, der in Wasser, Säuren und in den meisten organischen Lösungsmitteln unlöslich ist und in Form eines weißen Pulvers in

den Handel kommt. PVPP ist ein rieselfähiges, schwach hygroskopisches Pulver. Die Oberfläche ist sehr fein strukturiert und stark faltig, sodass ein hohes Adsorptions-vermögen resultiert. Innerhalb der Gruppe der Polyphenole werden insbesondere diejenigen adsorbiert, die ein breites Hydroxylierungsmuster, also besonders viele OH-Gruppen an der Oberfläche aufweisen, und so entsprechend viele Wasserstoffbrück-enbindungen ausbilden können. PVPP kann Hochfarbigkeit vermeiden bzw. beseitigen, es wird unter anderem in der Analytik zur Totalentfärbung von Säften und Weinen eingesetzt (SAWERT, 2020).

PVPP wird auch zur Vorbeugung oder Entfernung von Pinking eingesetzt, indem die Vorstufen dieser Pigmente entfernt werden. Zudem ist es hilfreich, um die Tendenz zur Bräunung in Weißweinen zu minimieren. Allein oder in Kombination mit Kasein, hemmt es die Bräunung durch die Eliminierung von Tanninen, oxidierbare Zimtsäuren und Chinonen, die bei ihrer Oxidation entstehen (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Anders als Gelatine und Kaliumkaseinat entfernt PVPP neben den bereits als Gerbstoff vorliegenden auch die noch als Monomer vorliegenden Flavonoide. Der Mangel an Spezifität, neben Flavonoiden auch geschmacklich wertvolle Nicht-Flavonoide herauszuschönen, ist bei PVPP besonders stark ausgeprägt (SCHNEIDER, 2008).

Als synthetischer Stoff ist PVPP im Bio-Weinbau nicht zugelassen, allerdings kann er als veganer und nicht-allergener Ersatz für eiweißhaltige Behandlungsmittel tierischen Ursprungs zum Einsatz kommen.

2.3. Analysemethoden

Um die Phenolgehalte sowie die Farb- und Bräunungseigenschaften von Weißweinen zu bestimmen, können unterschiedliche Analysemethoden zum Einsatz kommen. Zur Bestimmung der Phenolgehalte können sowohl spektralphotometrische als auch chromatographische Untersuchungsmethoden eingesetzt werden. Ein Beispiel für eine chromatographische Methode ist die Mixed-Mode-Phasen HPLC, wobei HPLC für High Pressure Liquid Chromatographie, also Hochleistungsflüssigkeitschromatographie steht (SCHMALFUSS et al., 2013). Meistens steht die erforderliche instrumentelle Ausstattung allerdings nicht zur Verfügung (SCHNEIDER und KOST, 2020). Häufig eingesetzte

photometrische Untersuchungsmethoden für Polyphenolgehalte im Wein sind die Bestimmung nach Folin-Ciocalteu und die kolorimetrische Bestimmung des Catechingehaltes mit DAC-Lösung.

2.3.1. Bestimmung Gesamtphenole im Wein nach Folin-Ciocalteu

Der Gesamtphenolgehalt in Weinen wird meistens mit der Methode nach Folin-Ciocalteu bestimmt (SCHNEIDER und KOST, 2020).

Der Test ist in der EG-Verordnung (EWG Nr. 2676 aus 1990) zur Bestimmung der Gesamtphenole in Form des Folin-Ciocalteu-Index in Wein und in der Methodensammlung der OIV von 2009 beschrieben (DIETRICH et al., 2019).

Analysen nach Folin-Ciocalteu sind einfach durchzuführen, bedürfen keiner großen Fachkenntnis und haben eine große Anzahl vergleichbarer Daten hervorgebracht (SINGLETON et al., 1999).

Es handelt sich um eine gut reproduzierbare und leicht anwendbare Methode zur Gesamtphenolbestimmung (BEER et al., 2004).

Allerdings werden bei dieser eher unspezifischen Methode auch andere Reduktone wie schweflige Säure, Ascorbinsäure und Fruktose miterfasst. Wichtig ist zudem die genaue Einhaltung der vorgegebenen Reagenzien und Reaktionszeiten.

Das Prinzip der Methode beruht auf der Blaufärbung von phenolischen Substanzen in alkalischem Milieu mit Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR), die bei 720 nm photometrisch ausgewertet wird. FCR ist eine Mischung aus Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure, durch die Reaktion entstehen blaugefärbtes Molybdänoxid und Wolframoxid. Die Methode beruht dabei auf der Messung der gesamten antioxidativen Kapazität.

2.3.2. Bestimmung Flavonoide und Nicht-Flavonoide

Um Catechine photometrisch zu bestimmen, wurden bereits seit den 70er Jahren Methoden entwickelt, zunächst mit Vanillin, später dann mit einem anderen, zyklischen Aldehyd 4-Dimethylaminocinnamaldehyd (DAC). Die kolorimetrische Bestimmung mit DAC beruht auf der spezifischen Bindung dieses aromatischen Aldehyds an Position 8

des A-Rings des Flavans. Die dabei entstehende Verbindung hat ein Absorptions-maximum bei 640 nm (ZIRONI et al., 1992). Kolorimetrische Bestimmung bedeutet dabei Konzentrationsbestimmung einer Substanz in meist flüssiger Phase durch eine Vergleichsmessung mit einer Farbskala.

Die Reaktion dieses Stoffes in Weißweinen wird als extrem spezifisch beschrieben. Deshalb kann sie direkt in der filtrierten Probe eingesetzt werden, wo sie störungsfrei abläuft. Die Methode ist einfach, schnell durchzuführen, robust und empfindlich, außerdem kommt es zu keinen Interferenzen durch nicht-phenolische Weinbestandteile. Die Bestimmung der Flavonoide wird nicht durch Alkohol, Zucker, SO_2 und Ascorbinsäure beeinflusst, womit sie direkte Vergleiche von Werten zwischen Most und Wein ermöglicht. Alle Catechine werden in Form eines Summenwertes erfasst, der in mg/l Catechin angegeben wird. Damit können alle relevanten sensorischen Phenole bestimmt werden (SCHNEIDER und KOST, 2020). Abbildung 9 gibt eine Interpretationshilfe zur Sensorik durch Flavonoide im Weißwein abhängig vom Catechingehalt.

Gehalt (mg/l) Catechin	Interpretation
1	Niedrigster gemessener Wert
3 - 6	Typische deutsche Weißweine
~ 10	Durch flavonoide Phenole bedingte Adstringenz kann wahrgenommen werden
15 - 25	Weißweine aus Ländern mit konsequent reduktiver Vinifikation
über 20	Betonte Adstringenz, die stets als solche wahrgenommen wird

Abbildung 9: Sensorische Bewertung von Flavonoiden in Weißwein (Quelle: SCHNEIDER und KOST, 2020)

Nicht-flavonoide Polyphenole wurden im Rahmen dieser Arbeit unter der Annahme bestimmt, dass der Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu abzüglich des mittels DAC-Lösung bestimmten Flavonoidgehalts dem Gehalt an Nicht-Flavonoiden entspricht.

2.3.3. Farbanalyse

Die Farbe eines Weines gehört zu den wichtigsten visuellen Elementen, über die wir verfügen, da sie sehr viele und sehr bedeutende Informationen liefert. Sie ist ein visuell wahrgenommener Eindruck, der auf der Brechung oder Reflexion des Lichts auf der

Oberfläche von Gegenständen beruht. Wein absorbiert einen Teil des einfallenden Lichts und reflektiert wiederum Lichtstrahlen, die zum Auge des Beobachters gelangen und bei ihm einen Farbeindruck hervorrufen. Zum Beispiel kommt der Eindruck, dass ein Wein eine sehr dunkle rote Tönung hat, dadurch zustande, dass fast das gesamte einfallende Licht vom Wein absorbiert wird (OIV, 2006).

Mit den drei Attributen bzw. spezifischen Eigenschaften des visuellen Eindrucks Tönung, Leuchtstärke und Farbstärke kann die Farbe eines Weines beschrieben werden. Die farblichen Merkmale eines Weines werden von den kolorimetrischen Koordinaten oder Farbkoordinaten Helligkeit (L*), Farbkomponente rot/grün (a*) und Farbkomponente gelb/blau (b*) sowie daraus abgeleiteten Größen bestimmt. Das CIELab-Farbsystem stützt sich auf ein sequenzielles oder kontinuierliches kartesisches Koordinatensystem mit den 3 orthogonalen Achsen L*, a* und b* (OIV, 2006).

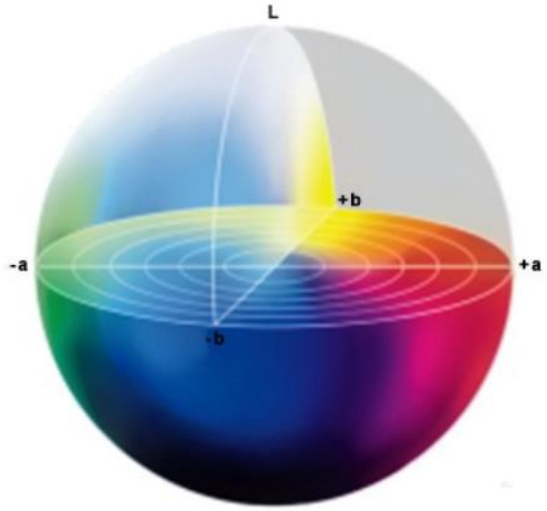


Abbildung 10: CIELab Farbraum (Quelle: KENNERBLICK, 2022)

Die Koordinate L* steht dabei für die Helligkeit (L* = 0 schwarz und L* = 100 weiß), a* für die Farbkomponente rot/grün (a*>0 rot, a*<0 grün) und b* für die Farbkomponente gelb/blau (b*>0 gelb, b* <0 blau). Der allgemeine kolorimetrische Unterschied zwischen zwei Weinen wird mit $\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]}$ bestimmt (OIV, 2006).

2.3.4. Bräunungstest

Um den Zusammenhang zwischen der Bräunungsneigung und der Oxidation von Weißweinen zu dokumentieren, wurde ein sogenannter standardisierter Bräunungstest entwickelt (SINGLETON und KRAMLING, 1976). Dabei wird Wein mit 1 g Bentonit pro 100 ml Wein versetzt und unter Stickstoffatmosphäre für 2 Stunden unter gelegentlichem Schütteln behandelt. Nach Absetzen und Abfiltrieren des Bentonits werden zwei Reagenzgläser mit dem Wein befüllt und jeweils eines mit Stickstoff und eines mit Sauerstoff überlagert und gasdicht verschlossen. Anschließend kommen die Proben zur künstlichen Alterung für fünf Tage bei 55°C in den Wärmeschrank. Die mit N_2 überlagerten Proben dienen dabei als Kontrolle hinsichtlich einer eventuellen nicht-oxidativen Bräunung oder einem Auftreten von Leckagen. Die Bräunungsneigung von verschiedenen Produkten wird im Wellenlängenbereich zwischen 400 nm und 480 nm gemessen. Der Effekt des Pinking hat bei 445 nm ein Extinktionsmaximum, die braune Farbkomponente bei Rotweinen wird dagegen bei 420 nm bestimmt. Aus Standardisierungsgründen wird die Extinktion für den Bräunungstest bei Weißweinen daher ebenfalls bei 420 nm bestimmt.

In der Studie von Singleton und Kramling blieb die Extinktion bei 420 nm der mit N_2 überlagerten Proben fast unverändert. Abhängig von der Menge an zugegebenem Catechin zu den mit O_2 versetzten Proben war die Bräunungsneigung stark zunehmend.

3. Material und Methoden

3.1. Weine

Um den Einfluss verschiedener Behandlungsmittel hinsichtlich ihrer Wirksamkeit zur Reduzierung des Phenolgehalts von Weinen zu untersuchen, standen zwei Weißweine aus der Rebsorte Müller-Thurgau zur Verfügung, die dem gleichen Traubenmaterial entstammen. Die Trauben wurden am 28.09.2021 in der Lage Geisenheimer Fuchsberg, Eibinger Weg, Versuchsfläche E6 mit der Hand gelesen und in Einheitsbütten mit einem Inhalt für 450 kg Trauben zum Weingut transportiert. Anschließend wurden zwei unterschiedliche Varianten ausgebaut.

3.1.1. Wein 1 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21713c)

Die Trauben wurden in einer halboffenen Tankpresse (Flath, FWP, Baujahr 2016) mit einem Korbinhalt von 1.800 l direkt gepresst, die Pressenbeschickung erfolgte per Schwerkraft mittels Gabelstapler-Drehkranz. Der Most wurde anschließend direkt, ohne Mostvorklärung und ohne SO_2-Gabe, in neues Barrique gefüllt (199 l Most/ Barrique). Die anschließende Spontangärung im Barrique (slawonische Eiche, Herkunft Kroatien, medium toast, Tonnellerie Auric) fand unter einem Gegendruck von 0,8 bar Überdruck statt. Die Lagerung des Weins erfolgte nach Abschluss der alkoholischen Gärung im Barrique unter CO_2-Atmosphäre bei winterlichen, kühlen Temperaturen im Freien.

Abbildung 11: Wein 1 im Barrique

3.1.2. Wein 2 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21714c)

Abbildung 12: Wein 2 im Barrique

Bei diesem Wein wurden die Beeren mit einer Trommel-Abbeermaschine (Amos, Baujahr 1988) vom Stielgerüst abgetrennt und die Maische per Schwerkraft in ein neues Barrique auf der Maische spontan vergoren und anschließend, wie Wein 1, ohne SO_2-gabe und unter CO_2-Gegendruck im Barrique im Freien gelagert.

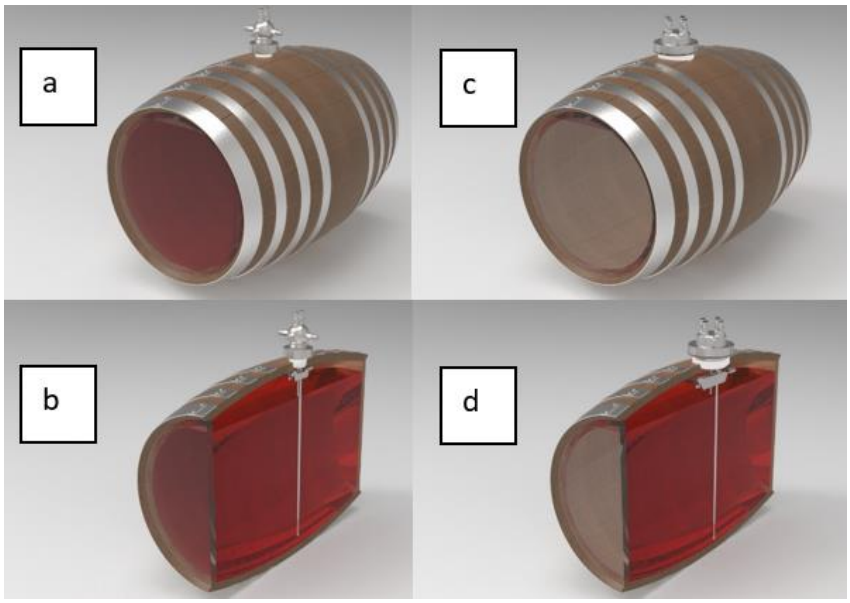


Abbildung 13: Konstruktionsansicht der Fässer a,b für Wein 21713c sowie c,d für Wein 21714c (Quelle: POPA, 2021)

3.2. Behandlungsmittel

Für die Wirksamkeitsstudie wurden zwei pflanzliche Behandlungsmittel, ein synthetisches sowie eines tierischen Ursprungs eingesetzt.

Kartoffelprotein VEGEFINE® der Firma Laffort, 100% Patatin, pflanzliches Eiweiß
Laut Hersteller handelt es sich bei dem Protein um eine nicht-allergene Formulierung, die in der Bio-Weinbereitung eingesetzt werden kann und eine effiziente Schönung von Most und Wein gewährleistet und dabei klassische Schönungsmittel tierischen Ursprungs ersetzen kann (LAFFORT, 2020a).

Erbsenprotein LittoFresh® Origin der Firma Erbslöh, pflanzliches Eiweiß
Laut Produktdatenblatt hat das Protein eine erhöhte Reaktionsfähigkeit gegenüber phenolischen Komponenten, enthält keine allergenen Stoffe und ist zulässig für den Einsatz in biologisch zertifiziertem Wein (ERBSLÖH, 2019a).

Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) VINICLAR® der Firma Laffort, synthetischer Stoff
In dem Produktkatalog von Laffort wird VINICLAR als mikrogranuliertes Präparat aus PVPP zur präventiven und kurativen Behandlung gegen die Oxidation von Wein beschrieben (LAFFORT, 2020b). Zulässige Dosage laut EU-Gesetzgebung: 80 g/hl

Kaliumkaseinat Kal-Casin der Firma Erbslöh, Milch-Eiweiß-Produkt
Bei diesem Produkt handelt es sich um ein Kaliummilchkaseinat zur Verminderung des Gerbstoffgehaltes in Weinen (ERBSLÖH, 2019b).

3.3. Versuchsablauf Wein 1

Der schematische Versuchsablauf für Wein 1 wird in Abbildung 14 gezeigt. Von dem zu untersuchenden Wein wurden Proben mit den Behandlungsmitteln versetzt und zusammen mit den Kontrollproben analysiert. Zur statistischen Absicherung der Ergebnisse wurden jeweils drei Proben gezogen.

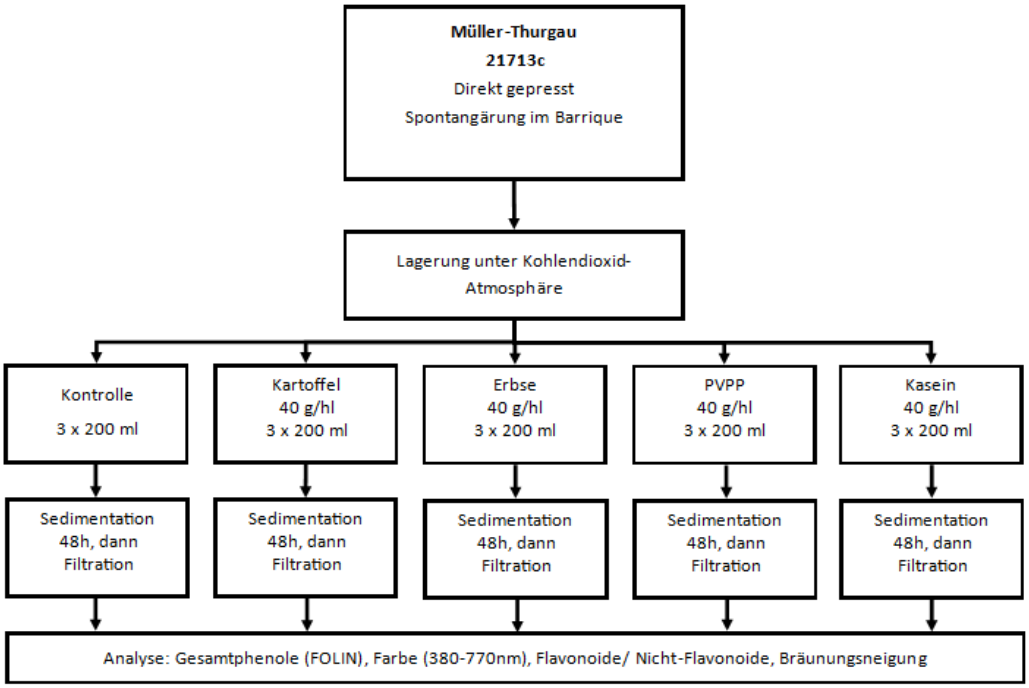


Abbildung 14: Versuchsablauf Wein 1

Der Ablauf der Untersuchungen wird im Folgenden näher erläutert:

3.3.1. Flaschen vorbereiten, Schönungsmittel einwiegen

Für die Proben kamen 215 ml-Fläschchen mit MCA-Drehverschluss zum Einsatz. Nach Kennzeichnung der 15 Flaschen wurden die Behandlungsmittel auf einer Feinwaage eingewogen, je 3 mal 80 mg (≙ 40 g/hl) Kartoffelprotein, Erbsenprotein, PVPP und Kaliumkaseinat.

3.3.2. Wein filtrieren, auf Flaschen verteilen

Nach Inertisierung eines KEK-Fasses mit Stickstoff, wurde auch das Barrique mit Stickstoff beaufschlagt. Die Filtration des Weines mit einem Schichtenfilter (Filterschichten PALL Seitz K100) erfolgte somit per Gasdruck. 5 l Filtrat wurden im KEK-Fass aufgefangen.

Nachdem auch die Probe-Fläschchen mit Stickstoff inertisiert worden sind, wurden jeweils 200 ml Wein aus dem KEK-Fass auf die Flaschen verteilt, der Füllstand wurde dabei über eine Präzisionswaage bestimmt: 200 ml entsprechen 199 g von Wein 1 (rel. Dichte 20/20: 0,9952, mittels FTIR bestimmt).

Zur Vermengung der Schönungsmittel mit dem Wein wurden die Flaschen für zwei Stunden auf ein Rüttelpult gestellt und anschließend die Proben für 48 Stunden sedimentieren lassen.

Abbildung 15: Probefläschchen auf dem Rüttelpult

3.4. Versuchsablauf Wein 2

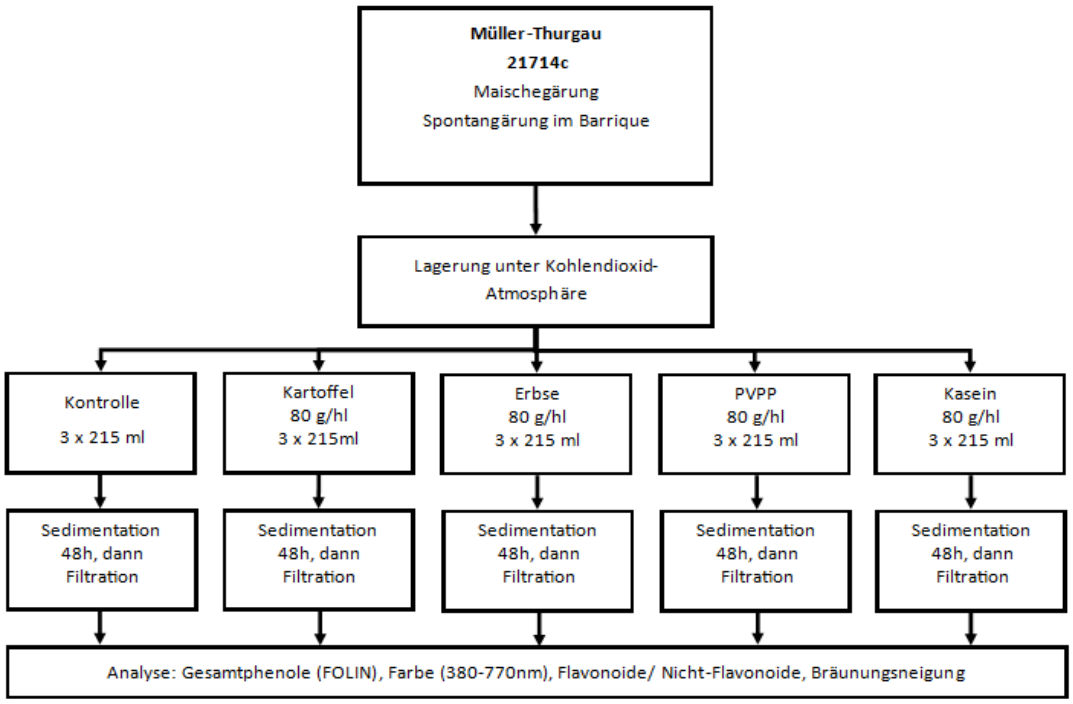


Abbildung 16: Versuchsablauf Wein 2

Grundsätzlich war der Versuchsaufbau für Wein 2 vergleichbar mit dem von Wein 1, wie aus Abbildung 16 hervorgeht.

Da der zweite Wein zeitlich versetzt untersucht wurde, konnten aus der Erfahrung mit dem ersten Versuch kleine Veränderungen im Versuchsablauf vorgenommen werden. Um eine noch bessere Inertisierung der Flaschen zu gewährleisten und somit eine vorzeitige Oxidation der Proben zu vermeiden, wurden die Flaschen wie bei Versuch 1 zunächst mit Stickstoff inertisiert und dann randvoll mit Wein befüllt, was einem Inhalt von 215 ml entspricht. Zudem wurde die Konzentration der Behandlungsmittel von 40 auf 80 g/hl verdoppelt, um dem sehr hohen Phenolgehalt des maischevergorenen Weißweins zu entsprechen. Hierzu wurden die einzuwiegenden Mengen an Behandlungsmittel entsprechend auf 172 mg pro Flasche angehoben.

3.5. Weinchemische Analysen

Je ca. 50 ml der Proben wurden zunächst über Glasfaserfilter abfiltriert.

Abbildung 17: Abfiltrieren der Proben

3.5.1. Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes erfolgte mit der Methode nach Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999). Das Prinzip der Methode beruht auf einer Blaufärbung phenolischer Substanzen in alkalischem Milieu mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR), die photometrisch bei 720 nm ausgewertet wird, entsprechend der Arbeitsanweisung zur Bestimmung der Gesamtphenole.

Abbildung 18: Proben nach Zugabe der Folin-Ciocalteu-Reagenz

Andere antioxidativ wirkende Substanzen im Wein, insbesondere SO_2 und Ascorbinsäure, werden bei der Methode miterfasst und würden, wenn vorhanden, den Gehalt an Polyphenolen verfälschen. Da die beiden Weine weder geschwefelt noch mit Ascor-

binsäure behandelt wurden, mussten diese nicht gesondert mit H_2O_2 neutralisiert werden und die Gesamtphenolwerte konnten direkt nach der folgenden Methode bestimmt werden:

- 100 ml-Kolben werden mit je 75 ml destilliertem Wasser vorgelegt
- je 1 ml der Proben mit Pipette in die Kolben geben und gründlich mischen
- Nach 3 Minuten Wartezeit 10 ml gesättigte $NaCO_3$-Lösung zugeben und die Kolben mit destilliertem Wasser auf 100 ml auffüllen
- Nach gründlichem Durchmischen 1 Stunde stehen lassen
- Je 3 ml der Proben in eine Glasküvette (Schichtdicke 1 cm) pipettieren und im Spektrometer bei 720 nm messen

Eine Eichgerade wurde bereits vorher erstellt (f(x) = - 20,02 + 1.156,41 x).

Die Umrechnung der gemessenen Extinktion in einen Gesamtphenolwert unter Berücksichtigung der Eichgeraden und nach Abzug des Blindwertes (0,006) erfolgt mit Excel, die Angabe erfolgt aufgrund der Eichsubstanz in mg/l Catechin.

3.5.2. Bestimmung des Flavonoidgehalts (Catechin)

Die Bestimmung des Flavonoidgehalts wurde entsprechend der Arbeitsanweisung kolorimetrische Bestimmung des Catechingehaltes in Most und Wein mit Dimethylaminocinnamaldehyd (DAC)-Lösung des Instituts für Oenologie durchgeführt, vgl. (ZIRONI et al., 1992; SCHNEIDER, 1995; SCHNEIDER und KOST, 2020).

Als Vorbereitung für die Durchführung der beiden Probenreihen wurde jeweils eine DAC-Lösung frisch angesetzt. Dabei wurden 100 mg Dimethylaminocinnamaldehyd in 75 ml 100%igem Methanol aufgelöst und mit 37%iger HCL auf 100 ml aufgefüllt. Über eine Kalibrierkurve in Form einer linearen Funktion wurde die Konzentration des Summenwertes mittels Catechin erstellt.

Die Durchführung der Messung umfasste die folgenden Schritte:

- Nullen des Spektralphotometers mit destilliertem Wasser
- Je 0,5 ml filtrierte Probe mit Pipette in eine Küvette füllen

- Je 2,5 ml DAC-Lösung mit Pipette hinzugeben und mit Einmal-Spatel vermischen
- Nach drei Minuten Ablesen der Extinktion im Photometer bei 640 nm

Um die 3 Minuten Wartezeit möglichst genau einzuhalten, wurden jeweils nur drei Küvetten mit filtrierter Probe und Dac-Lösung befüllt und anschließend gemessen.

Abbildung 19: Messung der Extinktion bei 640 nm

Die Umrechnung der gemessenen Extinktion in einen Flavonoidgehalt unter Berücksichtigung der Kalibrierkurve (f(x) = 4,34 + 320,29 x) erfolgt mit Excel, die Angabe erfolgt in mg/l Catechin.

Unter der Maßgabe, dass sich der Gesamtphenolgehalt aus der Summe von Flavonoiden und Nicht-Flavonoiden zusammensetzt, kann der Gehalt an Nicht-Flavonoiden aus der Differenz aus Gesamtphenolen und Flavonoiden bestimmt werden.

3.5.3. Farbbestimmung (380-770 nm)

Die Farbe der Proben wurde mit einem Spektralphotometer erfasst, dabei wird die Extinktion über einen Wellenlängenbereich von 380 nm bis 770 nm in 10 nm- Schritten gemessen. Trübungen könnten das Ergebnis der Farbanalyse verfälschen, daher wurden die Proben zunächst über einen Glasfaserfilter filtriert. Von den Proben wurden je 3 ml mit einer Pipette in eine Küvette mit 10 mm Schichtdicke gegeben, mit dem Photometer die Extinktion gemessen, die Messwerte in eine Excel-Datei übertragen und dort in die Farbe charakterisierende Werte umgerechnet, neben den Normfarbwerten

XYZ sind dies die Werte des L*a*b*-Farbraums, auch CIELab-Farbraum genannt. Auch eine Umrechnung in den RGB-Farbraum ist möglich.

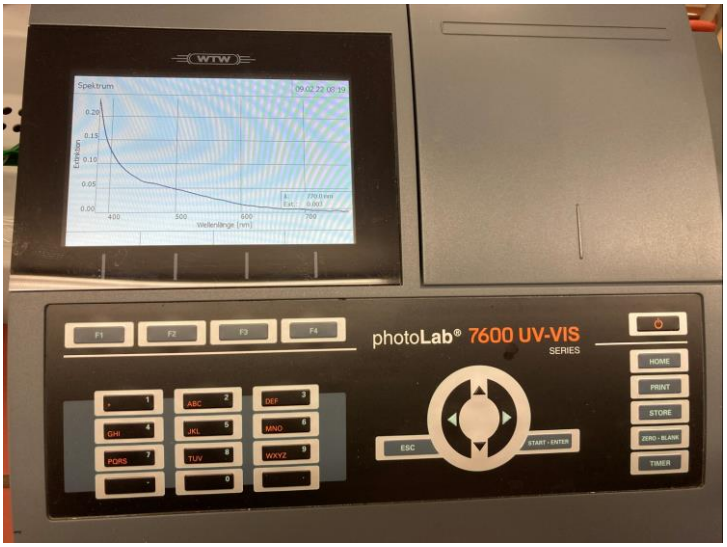


Abbildung 20: Spektralphotometer zur Bestimmung der Extinktion

Die Farbe von Weinen kann durch die kolorimetrischen Koordinaten L*, a* und b* bestimmt werden. Die Helligkeit L* wird in einer Skala von Schwarz L*=0 bis Weiß L*=100 angegeben. Die Koordinate a* steht für die Farbkomponenten Grün und Rot und die Koordinate b* für die Farbkomponenten Gelb und Blau, a* und b* können Werte zwischen -128 und 127 annehmen. Eine abgeleitete Größe ist die Farbdifferenz ΔE, die den allgemeinen kolorimetrischen Unterschied zwischen zwei Weinen ausdrückt und nach der Formel $\Delta E = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]}$ berechnet wird. Tabelle 1 gibt eine Interpretationshilfe zur Farbdifferenz ΔE.

Tabelle 1: Interpretationshilfe zur Farbdifferenz ΔE (Quelle: KENNERBLICK, 2022)

ΔE	**Bewertung**
0,0 … 0,5	kein bis fast kein Unterschied
0,5 … 1,0	Unterschied kann für das geübte Auge bemerkbar sein
1,0 … 2,0	unmerklicher Farbunterschied
2,0 … 4,0	wahrgenommener Farbunterschied
4,0 … 5,0	wesentlicher Farbunterschied, der selten toleriert wird
oberhalb 5,0	die Differenz wird als andere Farbe bewertet

Die Farbintensität eines Weines wird als Summe der Extinktionswerte bei 420 nm, 520 nm und 620 nm berechnet, der Farbton als Quotient der Extinktionen bei 420 nm und 520 nm.

Dem Extinktionswert bei 420 nm kommt bei der Beurteilung der Weine eine besondere Bedeutung zu, da er für gelbe bzw. braune Pigmente steht und somit als charakteristisch für Flavonoide und Nicht-Flavonoide angesehen werden kann.

Um einen visuellen Eindruck von den unterschiedlichen Proben festzuhalten, wurden Aufnahmen in einer Photokammer gemacht, um eine gute und gleichmäßige Ausleuchtung zu gewährleisten.

Abbildung 21: Photokammer

3.5.4. Bräunungstest

Die Weine wurden auf ihre Bräunungsneigung hin untersucht, wie er bei Singleton und Kramling beschrieben wurde (SINGLETON und KRAMLING, 1976). Dabei wird der Wein einer beschleunigten Alterung bei hohen Temperaturen unterworfen mit dem Ziel, einen Zusammenhang zwischen Braunfärbung und Oxidation in Abhängigkeit des Catechingehaltes zu zeigen.

Für beide Weine wurde folgende Versuchsschritte durchgeführt.

- Jeweils 100 ml der 15 Proben mit 1 g Bentonit vermischen (10g/l)
    - 1g Bentonit in leere Glasflaschen einfüllen
    - Glasflasche mit Stickstoff inertisieren
    - Glasflasche mit je 100 ml Wein befüllen

    - Kopfraum mit Stickstoff spülen
    - Flasche verschließen und Bentonit aufschütteln
- 2 h warten, gelegentlich schütteln
- Proben über Glasfaserfilter filtrieren
- Je 10 ml Probe in zwei Reagenzgläser verteilen
- Jeweils den Kopfraum eines Reagenzglases mit Stickstoff und eines mit Sauerstoff spülen und mit Silikonstopfen verschließen
- Im Wärmeschrank bei 55°C für 5 Tage lagern
- Photometrische Messung wie im Kapitel Farbbestimmung beschrieben
- Auswertung der Extinktionen bei 420 nm

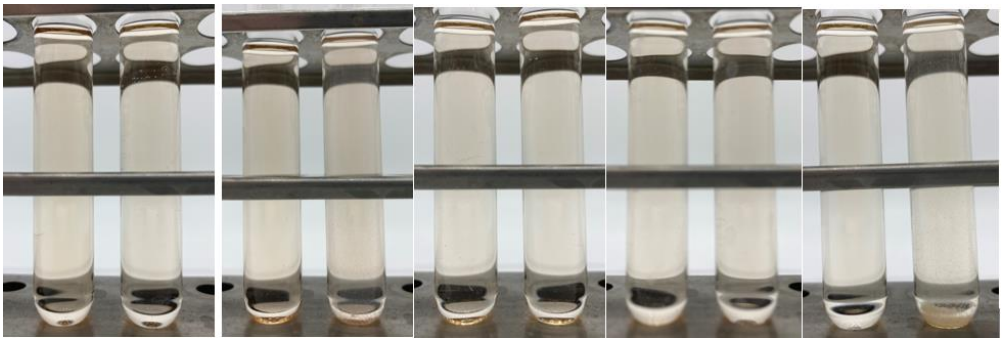


Abbildung 22: Proben jeweils vor Bentonitschönung (links) und nach Bentonitschönung (rechts) mit v.l.n.r. Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP und Kasein

Da 14 der 15 Proben des zweiten Weins unter Sauerstoffatmosphäre nach fünf Tagen stark eingetrübt waren, wurden alle Proben vor der Messung nochmals über Glasfaserfilter filtriert, siehe Abbildung 23.

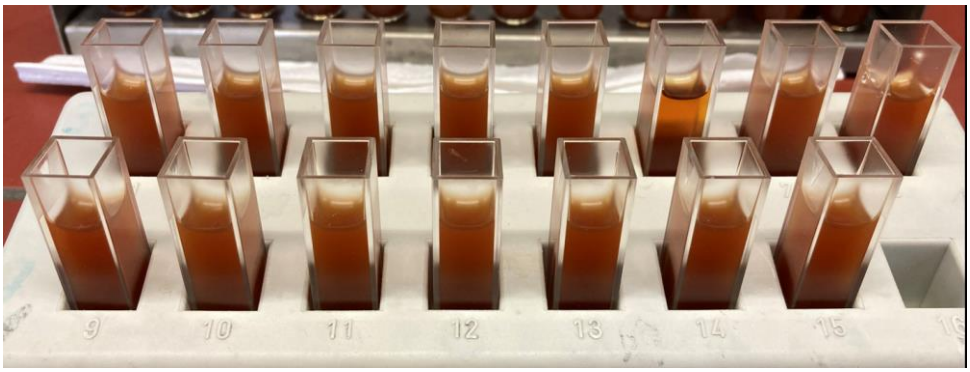


Abbildung 23: Eingetrübte Proben Wein 2 nach Bräunungstest mit Sauerstoffüberlagerung

Dabei hat sich die verfügbare Menge so stark verringert, dass die drei Proben der verschiedenen Varianten jeweils miteinander vermischt werden mussten, um die für die Küvette erforderlichen 3 ml Flüssigkeit zu erzielen.

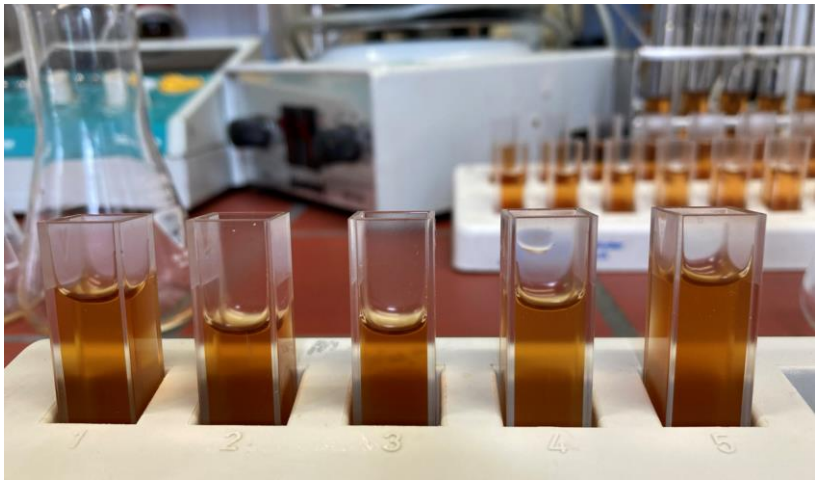


Abbildung 24: Proben Wein 2 nach Bräunungstest mit Sauerstoffüberlagerung nach erneuter Filtration

3.6. Statistische Methoden

Um die Ergebnisse statistisch abzusichern, wurden jeweils drei Proben von jeder Variante untersucht. Mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse wurde überprüft, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gibt.

Hierzu wurde zunächst mit einem One-Way ANOVA (Analysis of Variance) berechnet, ob es zwischen den verschiedenen Varianten überhaupt einen signifikanten Unterschied zu einem bestimmten Faktor gibt.

Um festzustellen, welche der fünf Gruppen sich voneinander signifikant unterscheiden, wurde anschließend ein Tukey HSD durchgeführt, ein post-hoc-Test mit paarweisem Mittelwertvergleich.

Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha = 0{,}05$ festgelegt, es wird also eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 5% toleriert. Die Berechnungen wurden mit Excel durchgeführt.

4. Ergebnisse

Um die Wirksamkeit verschiedener Behandlungsmittel auf die Phenolgehalte im Weißwein zu bestimmen, wurden Untersuchungen zu den Gesamtphenolgehalten sowie den flavonoiden und nicht-flavonoiden Polyphenolen von zwei Weißweinen durchgeführt. Des Weiteren wurde die Farbe sowie das Bräunungsverhalten der beiden Weine analysiert. Mit dem Bräunungstest, der den Wein einer beschleunigten Alterung bei hohen Temperaturen unterwirft, soll ein Zusammenhang zwischen Braunfärbung und Oxidation in Abhängigkeit des Catechingehaltes aufgezeigt werden.

Die Ergebnisse werden im Folgenden unterteilt für Wein 1 und Wein 2 dargestellt.

4.1. Wein 1 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21713c)

4.1.1. Gesamtphenole

Abbildung 25 zeigt für die fünf Varianten (Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP, Kasein) die Mittelwerte der Gesamtphenolgehalte, wie sie nach der Methode von Folin-Ciocalteu bestimmt wurden, angegeben als Catechin [mg/l]. Die roten Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an, d.h. die Werte liegen mit 95%iger Wahrscheinlichkeit in diesem Bereich.

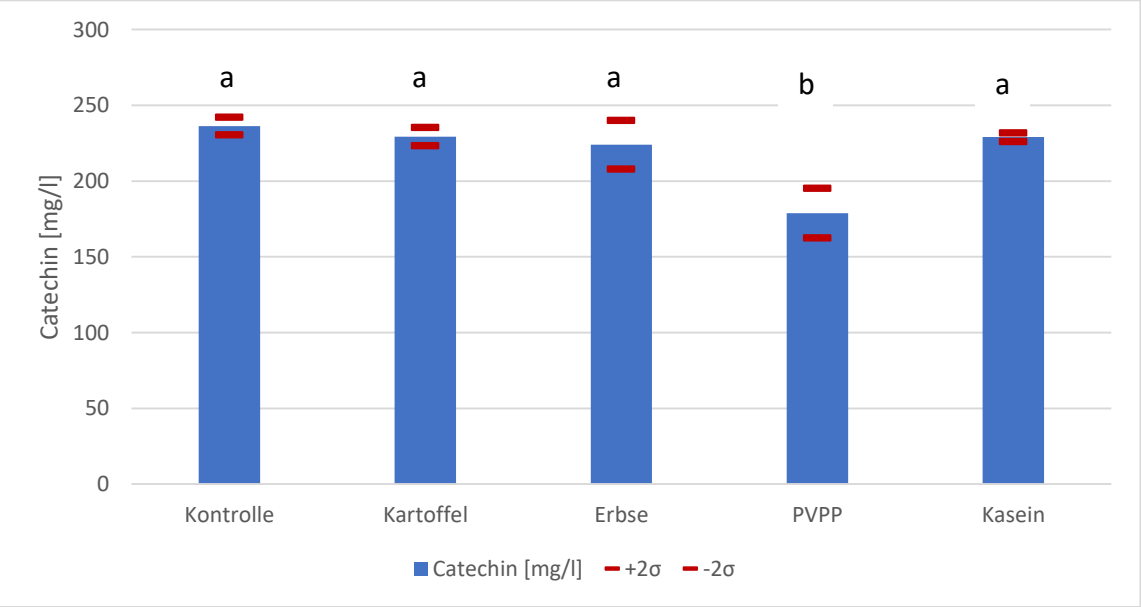


Abbildung 25: Gesamtphenole Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

Die Phenolwerte liegen mit 170 mg/l bis 240 mg/l in einem für Weißwein typischen Bereich. PVPP zeigt gegenüber dem unbehandelten Wein eine Reduzierung des Gesamtphenolgehalts um 25%, alle anderen Varianten zeigen ein mehr oder weniger unverändertes Niveau gegenüber der Kontrolle. Das zeigt sich auch bei der Varianzanalyse.

4.1.2. Flavonoide

Bei den Flavonoiden zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei den Gesamtphenolen, PVPP senkt gegenüber der Kontrolle den Flavonoidgehalt sehr deutlich ab (-44%), siehe Abbildung 26. Auch Kasein ist in der Lage, die Flavonoide in Wein 1 zu reduzieren (-12%). Die beiden veganen Proteine Kartoffel und Erbse zeigen dagegen keinen Einfluss auf den Flavonoidgehalt. Dies bestätigt sich auch bei der Varianzanalyse in Verbindung mit den paarweisen Vergleichen, PVPP weist einen signifikanten Unterschied zu allen anderen Varianten auf, Kasein zur Kontrolle und zu dem mit Erbsenprotein behandelten Wein.

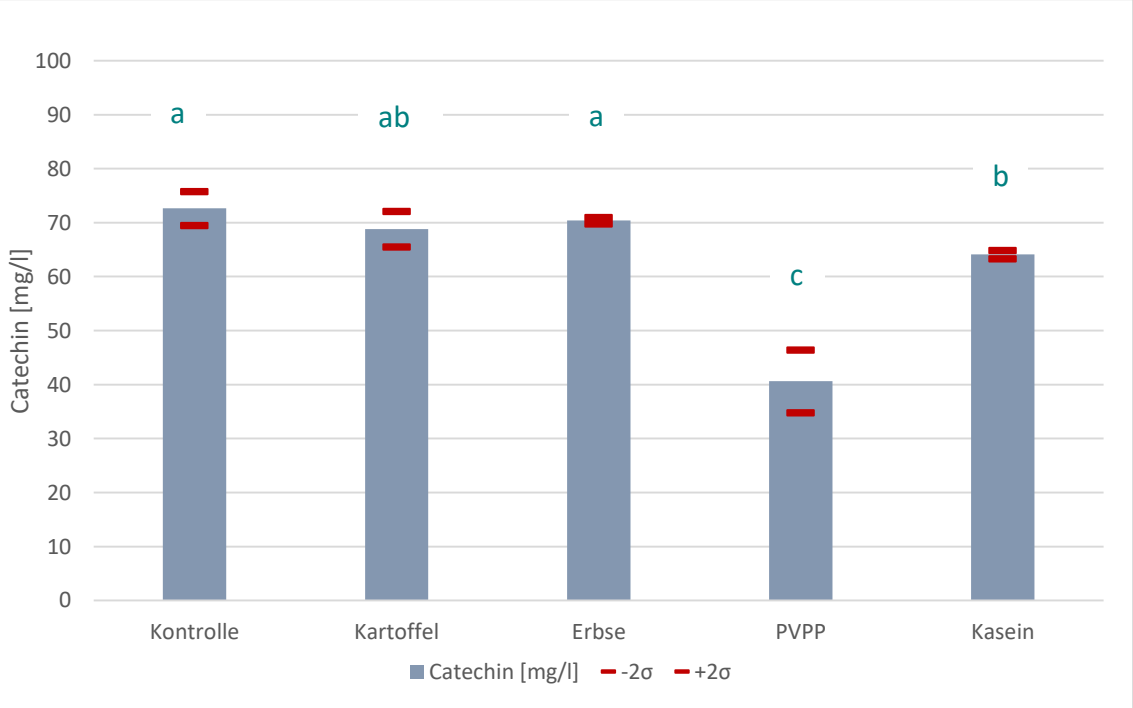


Abbildung 26: Flavonoide Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

4.1.3. Nicht-Flavonoide

Unter der Annahme, dass sich der Gesamtphenolgehalt in einem Weißwein im Wesentlichen aus den Flavonoiden und den Nicht-Flavonoiden zusammensetzt, können die Nicht-Flavonoide durch Subtraktion der Flavonoide vom Gesamtphenolgehalt bestimmt werden. Abbildung 27 zeigt die Gehalte an Flavonoiden und Nicht-Flavonoiden in Wein 1.

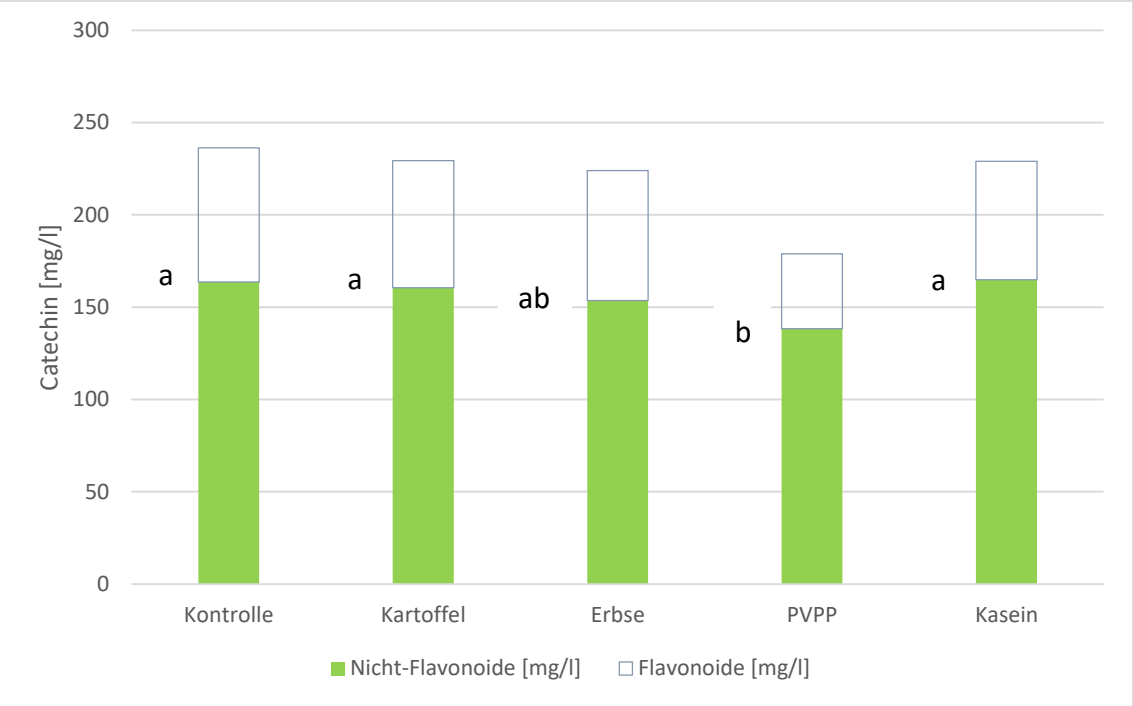


Abbildung 27: Flavonoide und Nicht-Flavonoide Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied bezogen auf die Nicht-Flavonoide (grüne Balken) α=0,05)

Vergleicht man die Nicht-Flavonoide miteinander (grüne Balken), so ergibt sich lediglich durch PVPP eine Absenkung gegenüber der Kontrolle. Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede nur für PVPP gegenüber der Kontrolle, Kartoffel sowie Kasein.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass PVPP den Gesamtphenolgehalt signifikant reduzieren kann, wobei der Anteil der Flavonoide deutlich stärker verringert wird als der der Nicht-Flavonoide. Kasein kann den Gehalt an Flavonoiden in Wein 1 leicht reduzieren.

4.1.4. Farbanalyse

Tabelle 2 zeigt die L*a*b*- und ΔE-Werte für Wein 1. Gegenüber der Kontrolle lässt sich für alle Varianten eine geringe farbliche Veränderung erkennen, die für Kartoffel, Erbse und PVPP im Grenzbereich der Wahrnehmung (bei einem ΔE von 2) liegt.

Tabelle 2: CIELab-Werte Wein 1 (Mittelwerte n=3)

	Kontrolle	**Kartoffel**	**Erbse**	**PVPP**	**Kasein**
L*	97,0	96,5	97,0	96,1	96,5
a*	0,3	1,4	1,5	2,0	2,8
b*	7,0	6,2	5,8	7,0	7,0
ΔE	**0,0**	**1,5**	**1,8**	**1,9**	**2,6**

Legt man die Varianzanalyse für die gemessene Extinktion bei 420 nm zu Grunde, ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den fünf Varianten, siehe Abb. 28.

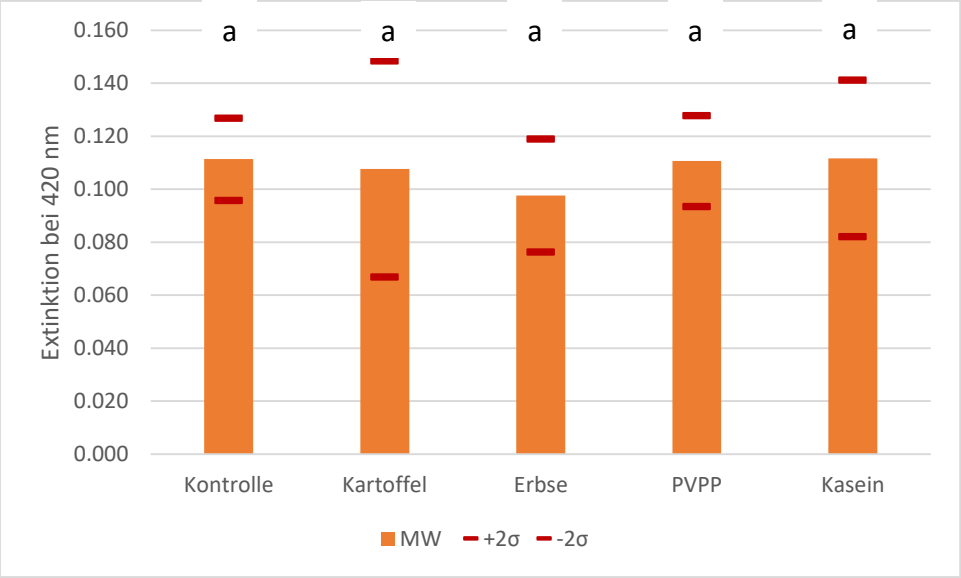


Abbildung 28: Extinktion bei 420 nm Wein 1 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

4.1.5. Bräunungstest

Die mit Stickstoff überlagerten Proben zeigen nach fünf Tagen die in Abbildung 29 dargestellten Extinktionswerte bei 420 nm. Die Bräunung ist für PVPP mit -16 % signifikant

geringer als die der Kontrolle, bei Kasein ist sie etwas erhöht. Dies wird durch die Varianzanalyse bestätigt, PVPP ist signifikant unterschiedlich zu allen anderen Varianten, Kasein allerdings nur zu PVPP und zu Kartoffel, nicht aber zur Kontrolle.

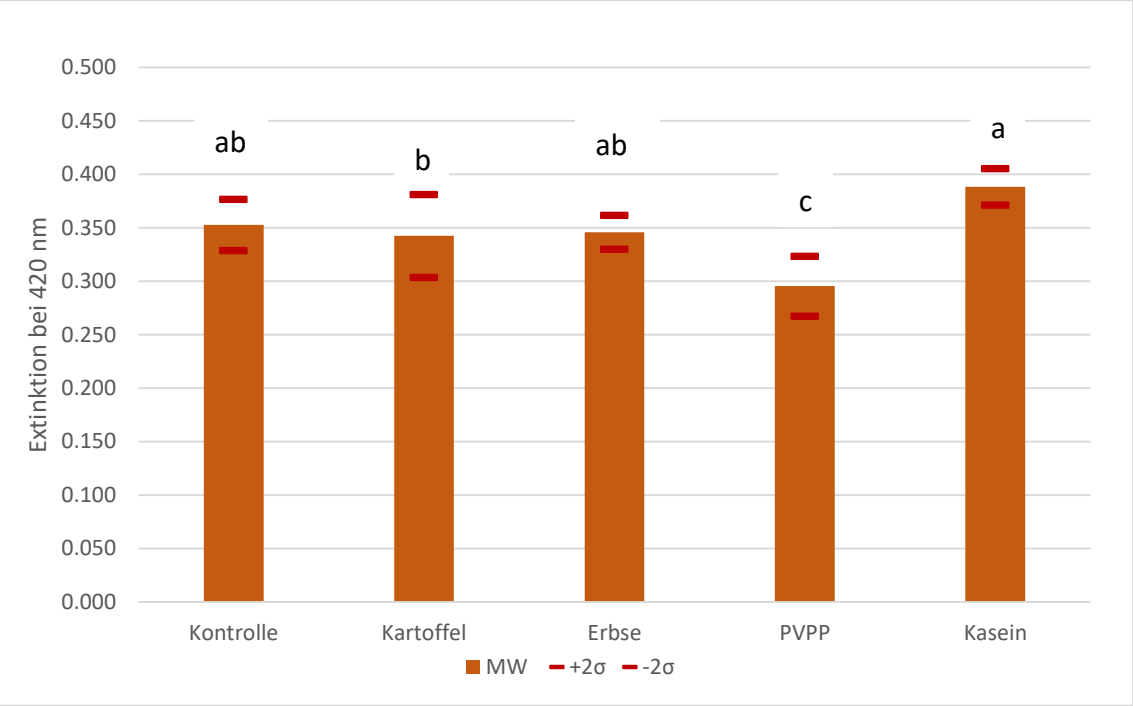


Abbildung 29: Bräunungstest Wein 1 mit Stickstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

Betrachtet man die Farbdifferenz ΔE in Tabelle 3, zeigt sich PVPP mit einem wesentlichen Farbunterschied gegenüber der Kontrolle, die anderen Varianten lediglich mit einem unmerklichem Farbunterschied.

Tabelle 3: CIELab-Werte Wein 1 nach Bräunungstest mit N_2 (Mittelwerte n=3)

	Kontrolle	**Kartoffel**	**Erbse**	**PVPP**	**Kasein**
L*	90,9	91,1	90,9	92,1	90,0
a*	4,0	3,6	3,7	2,0	4,3
b*	24,2	23,1	23,2	20,2	25,8
ΔE	**0,0**	**1,2**	**1,1**	**4,7**	**1,9**

Die mit Sauerstoff überlagerten Proben zeigen wie erwartet deutlich höhere Extinktionswerte als die mit Stickstoff überlagerten. Die Bräunung bei 420 nm ist bei PVPP ge-

ringer als bei der Kontrolle. Kartoffel, Erbse und Kasein zeigen dagegen eine eher stärkere Bräunung als die Kontrolle. Statistisch signifikante Unterschiede zeigt allerdings nur PVPP gegenüber Kartoffel und Erbse, siehe Abbildung 30.

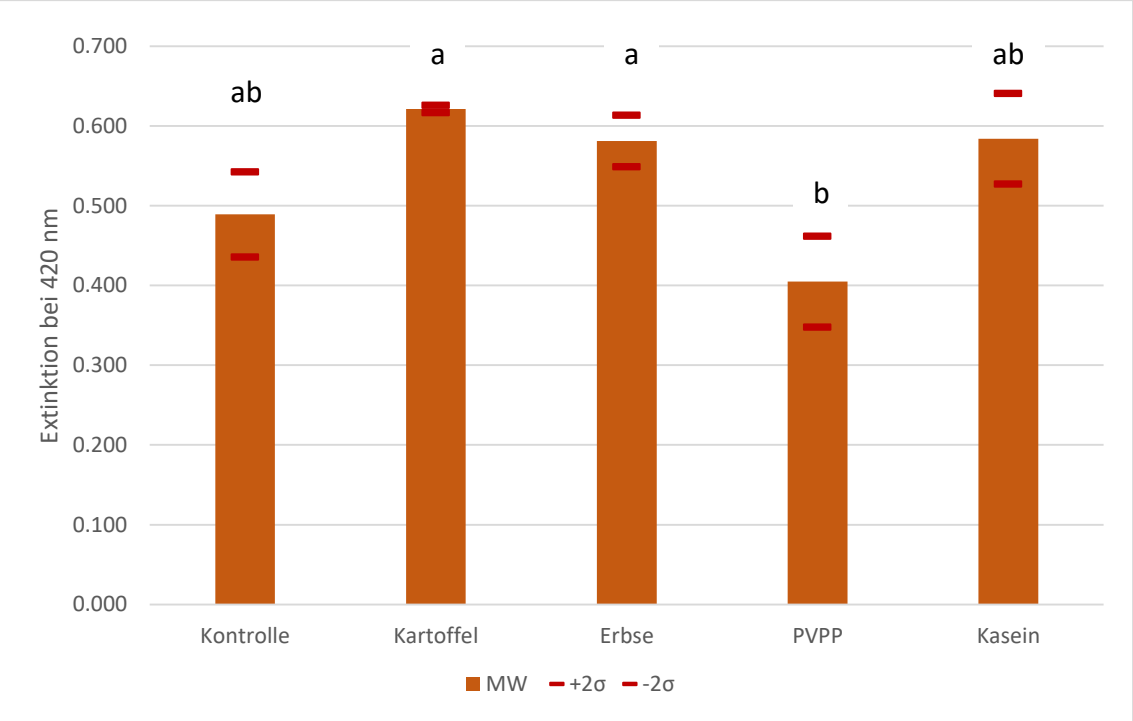


Abbildung 30: Bräunungstest Wein 1 mit Sauerstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

Die Farbdifferenz ΔE ist bei PVPP sehr groß gegenüber der Kontrolle, auch die anderen Varianten unterscheiden sich deutlich von der Kontrolle (Tabelle 4).

Tabelle 4: CIELab-Werte Wein 1 nach Bräunungstest mit O_2 (Mittelwerte n=3)

	Kontrolle	**Kartoffel**	**Erbse**	**PVPP**	**Kasein**
L*	87,5	85,6	86,7	91,3	86,6
a*	6,2	6,3	5,8	1,8	5,7
b*	32,5	36,5	35,0	24,6	35,0
ΔE	**0,0**	**4,5**	**2,7**	**9,8**	**2,7**

Die intensive Zunahme der Extinktion bei 420 nm für alle Varianten durch den Bräunungstest verdeutlicht Abbildung 31. So nimmt zum Beispiel bei dem unbehandelten Wein die Extinktion bei 420 nm durch den Bräunungstest unter Stickstoffatmosphäre

um den Faktor 3,2 und mit dem Bräunungstest unter Sauerstoffatmosphäre um den Faktor 4,4 zu, verglichen mit der Extinktion vor dem Bräunungstest.

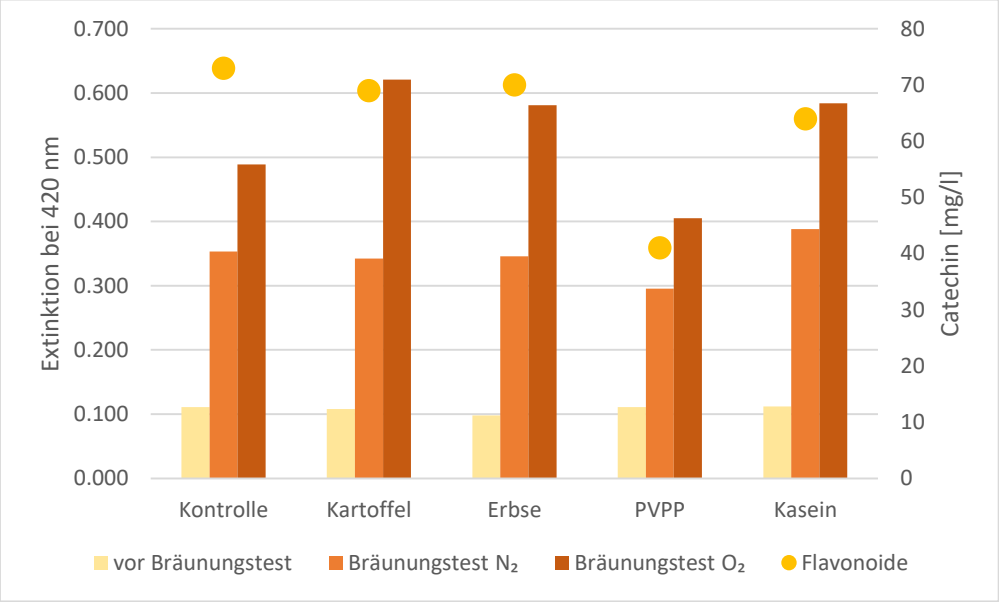


Abbildung 31: Extinktionen bei 420 nm vor Bräunungstest, nach Bräunungstest (N_2) und nach Bräunungstest (O_2) sowie Flavonoidgehalt [mg/l] für Wein 1 (Mittelwerte n=3)

4.2. Wein 2 (Müller-Thurgau, Weinnummer 21714c)

4.2.1. Gesamtphenole

Durch die Maischegärung und den reduktiven Ausbau haben die fünf Varianten mit 960 mg/l bis 1.150 mg/l Catechin sehr hohe Gesamtphenolgehalte im Vergleich mit traditionell ausgebauten Weißweinen, die in einem Bereich von 150-250 mg/l Catechin liegen (SCHNEIDER und KOST, 2020).

Die Mittelwerte der Gesamtphenolgehalte für die fünf Varianten (Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP, Kasein) werden in Abbildung 32 gezeigt. Wie bei Wein 1 geben die roten Balken die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an, d.h. die Werte liegen mit 95%iger Wahrscheinlichkeit in diesem Bereich.

PVPP ist in der Lage, den Gesamtphenolgehalt gegenüber dem unbehandelten Wein mit 18% am stärksten zu reduzieren, es folgen Kartoffel mit 8%, Erbse mit 3% und Kasein mit 2%. Für alle Varianten ergab die Varianzanalyse signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrolle sowie auch untereinander, bis auf Erbse gegenüber Kasein.

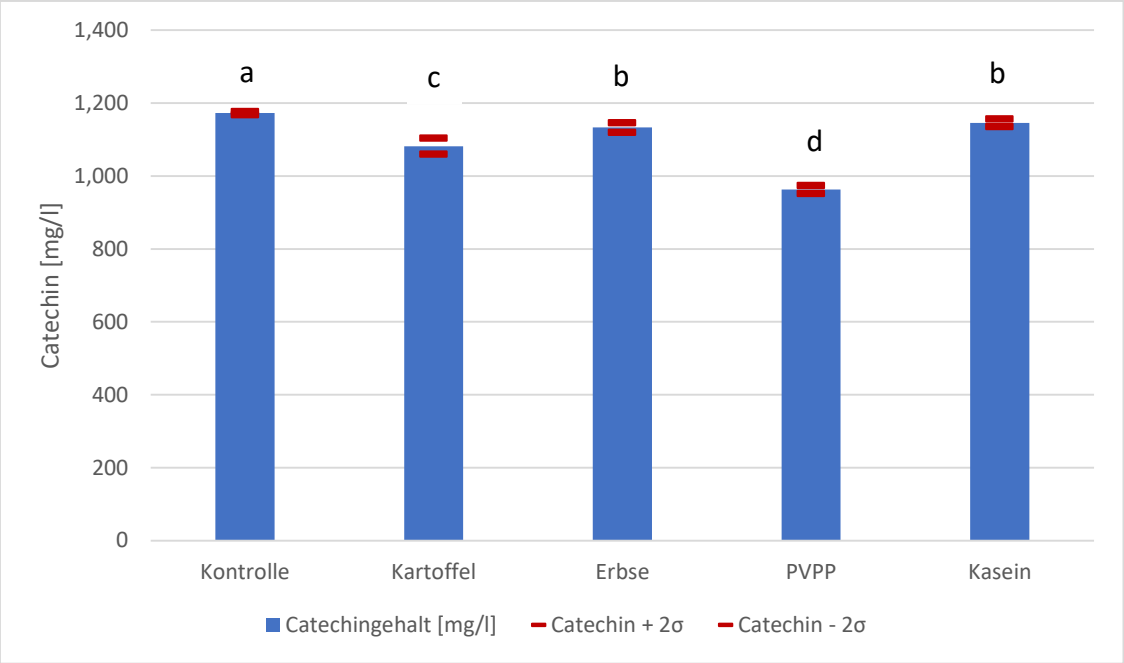


Abbildung 32: Gesamtphenole Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

4.2.2. Flavonoide

Wie Abbildung 33 verdeutlicht, waren alle Varianten in der Lage, den Flavonoidgehalt gegenüber der Kontrolle abzusenken.

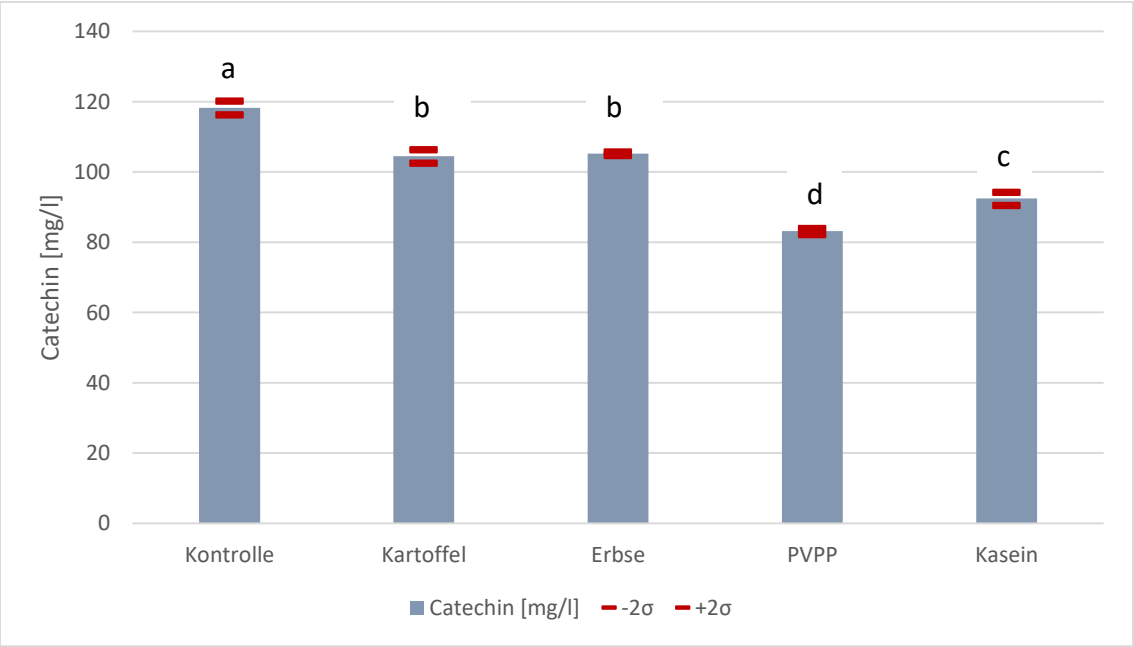


Abbildung 33: Flavonoide Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

PVPP ist in der Lage, die Flavonoide gegenüber dem unbehandelten Wein mit 30% am stärksten zu reduzieren, es folgen Kasein mit 22%, Kartoffel mit 12% und Erbse mit 11%. Für alle Varianten ergab die Varianzanalyse signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrolle sowie auch untereinander, bis auf Erbse gegenüber Kartoffel.

4.2.3. Nicht-Flavonoide

Abbildung 34 zeigt die Gehalte an Flavonoiden und Nicht-Flavonoiden in Wein 2. Vergleicht man die Nicht-Flavonoide miteinander (grüne Balken), so ergibt sich durch PVPP eine Absenkung gegenüber der Kontrolle um 17%, durch Kartoffel um 7% und durch Erbse um 2%. Durch Kasein kommt es zu keiner Verringerung der Nicht-Flavonoide in Wein 2. Die Varianzanalyse bestätigt signifikante Unterschiede zwischen allen Varianten bis auf Kasein gegenüber der Kontrolle.

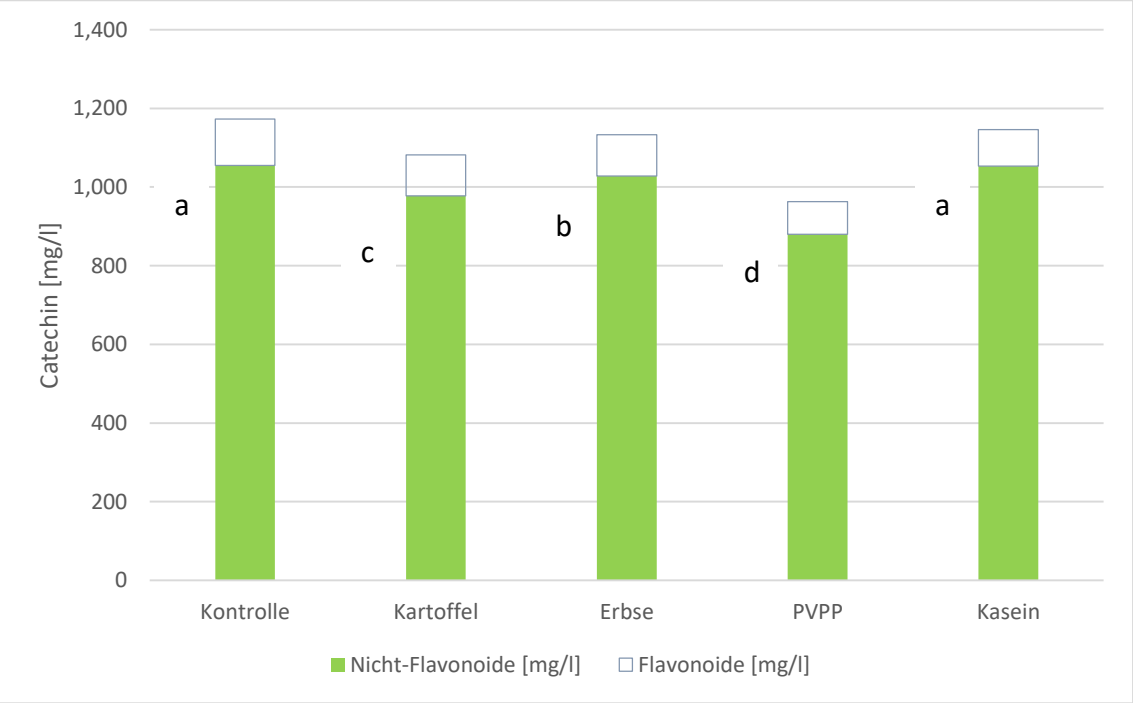


Abbildung 34: Flavonoide und Nicht-Flavonoide Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied bezogen auf die Nicht-Flavonoide (grüne Balken) α=0,05)

Fasst man die Ergebnisse zusammen, so lässt sich festhalten, dass bei Wein 2 neben PVPP auch die anderen Behandlungsmittel in der Lage waren, sowohl die Flavonoide als auch die Gesamtphenolgehalte signifikant zu reduzieren, wobei der Anteil der Flavonoide deutlich stärker verringert wird als der der Nicht-Flavonoide.

4.2.4. Farbanalyse

Tabelle 5 zeigt die L*a*b*- und ΔE-Werte sowie die Extinktion bei 420 nm für Wein 2. Gegenüber der Kontrolle lässt sich für alle Varianten kein bis fast kein Unterschied erkennen.

Tabelle 5: CIELab-Werte Wein 2 (Mittelwerte n=3)

	Kontrolle	**Kartoffel**	**Erbse**	**PVPP**	**Kasein**
L*	98,5	98,6	98,4	98,6	98,8
a*	-0,2	-0,1	0,0	0,0	-0,3
b*	5,8	5,3	5,9	5,3	5,8
ΔE	**0,0**	**0,5**	**0,2**	**0,5**	**0,4**

Legt man die Varianzanalyse für die gemessene Extinktion bei 420 nm zu Grunde, ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den fünf Varianten, siehe Abb. 35.

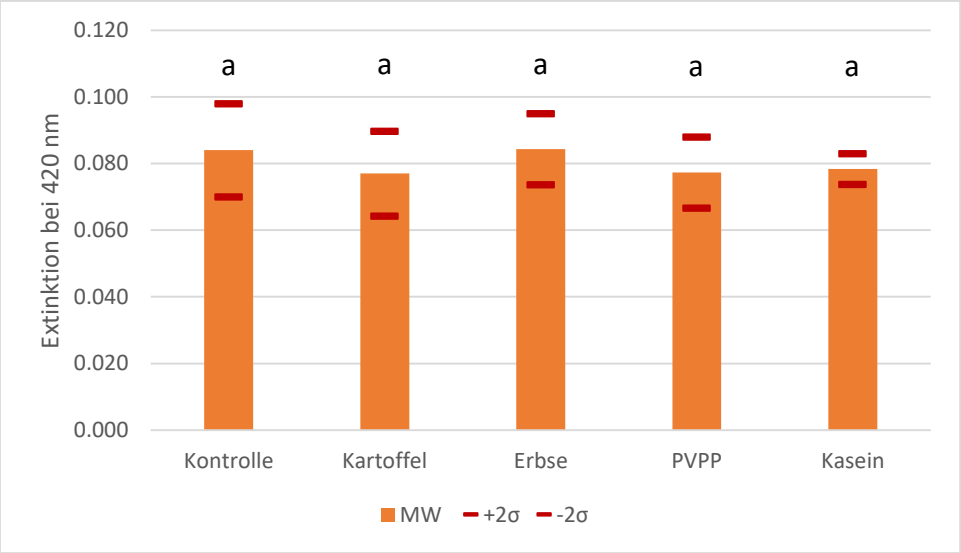


Abbildung 35: Extinktion bei 420 nm Wein 2 (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

Die Aufnahme der Varianten 48 h nach der Behandlung in Abbildung 36 verdeutlicht die Aussage, dass keine visuellen Unterschiede erkennbar sind.

Abbildung 36: Visueller Vergleich von Wein 2 48 h nach der Behandlung mit Schönungsmitteln mit (v.l.n.r.) Kontrolle, Kartoffel, Erbse, PVPP, Kasein

4.2.5. Bräunungstest

Die Extinktionswerte bei 420 nm für die mit Stickstoff überlagerten Varianten zeigt Abbildung 37. Die Bräunung, die durch die Extinktion bei 420 nm gemessen wird, ist für PVPP etwas geringer als die der Kontrolle, kann aber nicht durch die Varianzanalyse bei einem Signifikanzniveau von 5% abgesichert werden.

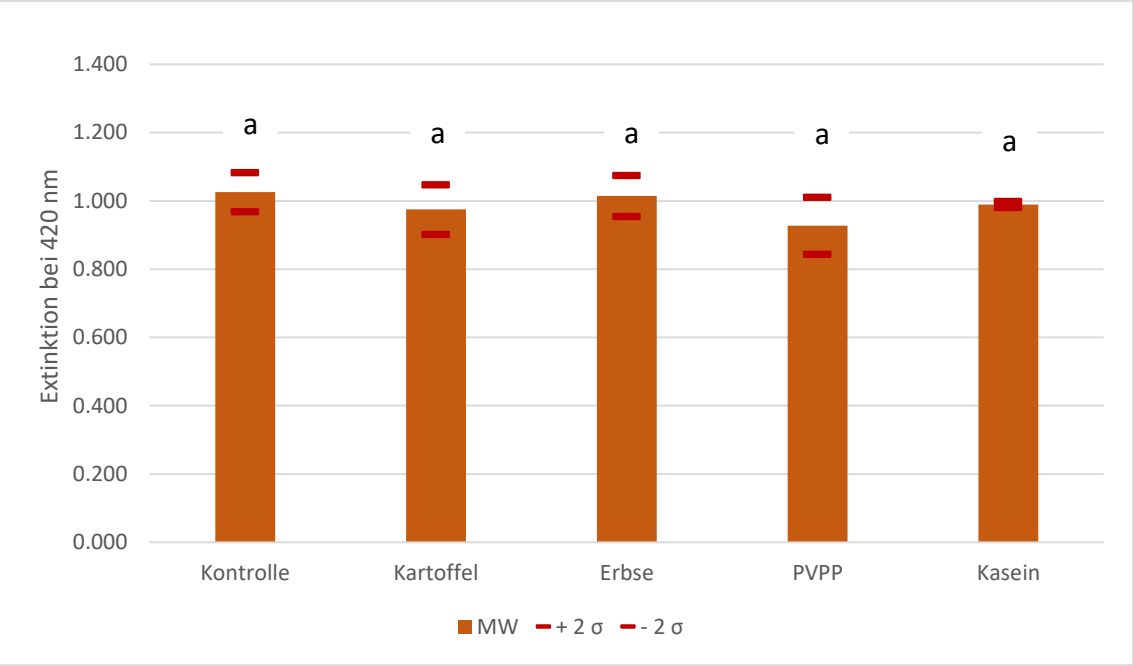


Abbildung 37: Bräunungstest Wein 2 mit Stickstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=3; unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikanter Unterschied α=0,05, rote Balken geben die Abweichung um zwei Standardabweichungen nach oben und unten an)

Betrachtet man die Farbdifferenz ΔE, zeigt sich PVPP mit einem wesentlichen Farbunterschied gegenüber der Kontrolle, die anderen Varianten lediglich mit einem unmerklichem Farbunterschied.

Tabelle 6: CIELab-Werte Wein 2 nach Bräunungstest mit N_2 (Mittelwerte n=3)

	Kontrolle	**Kartoffel**	**Erbse**	**PVPP**	**Kasein**
L*	72,1	73,6	72,5	74,0	72,6
a*	21,6	20,9	22,1	19,8	21,8
b*	56,3	55,7	56,8	52,6	55,3
ΔE	**0,0**	**1,8**	**0,9**	**4,5**	**1,2**

Die mit Sauerstoff überlagerten Proben zeigen wie erwartet deutlich höhere Extinktionswerte bei 420 nm als die mit Stickstoff überlagerten. Die Werte für PVPP liegen auf dem gleichen Niveau wie die Kontrolle, die Werte der anderen Varianten darüber (Abbildung 38). Für die Varianten Kartoffel, Erbse und insbesondere Kasein kommt es zu einer Bräunungszunahme, deren Ursache noch abzuklären ist.

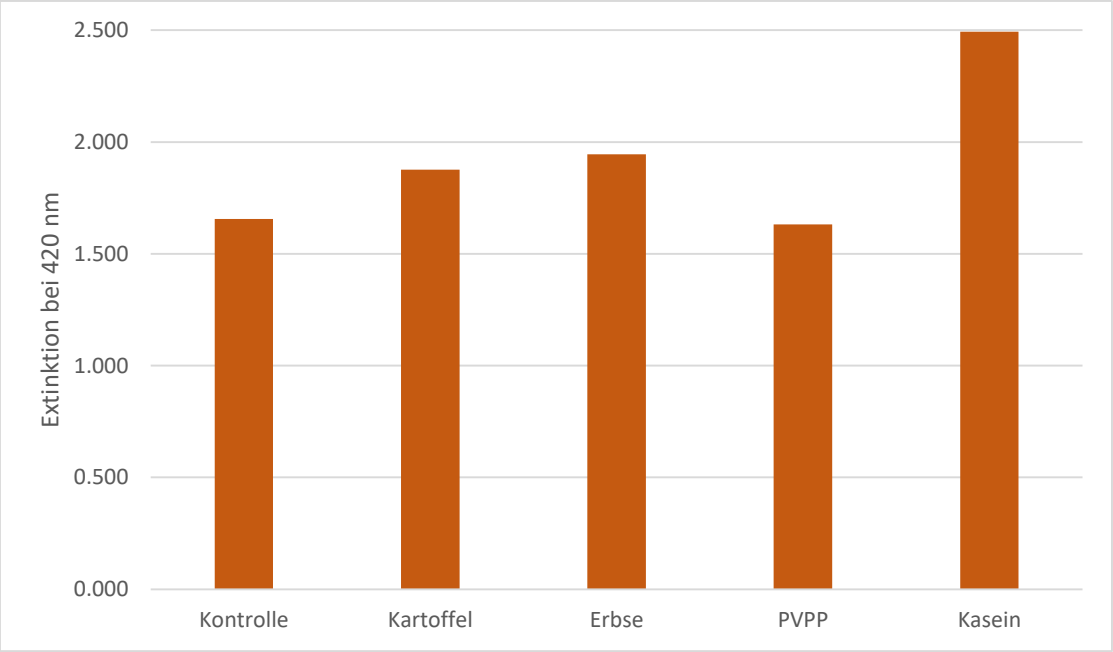


Abbildung 38: Bräunungstest Wein 2 mit Sauerstoffüberlagerung, Extinktion bei 420 nm (n=1)

Die intensive Zunahme der Extinktion bei 420 nm für alle Varianten durch den Bräunungstest verdeutlicht Abbildung 39. So nimmt zum Beispiel bei dem unbehandelten Wein die Extinktion bei 420 nm durch den Bräunungstest unter Stickstoffatmosphäre um den Faktor 12,2 und mit dem Bräunungstest unter Sauerstoffatmosphäre um den Faktor 19,7 zu, verglichen mit der Extinktion vor dem Bräunungstest.

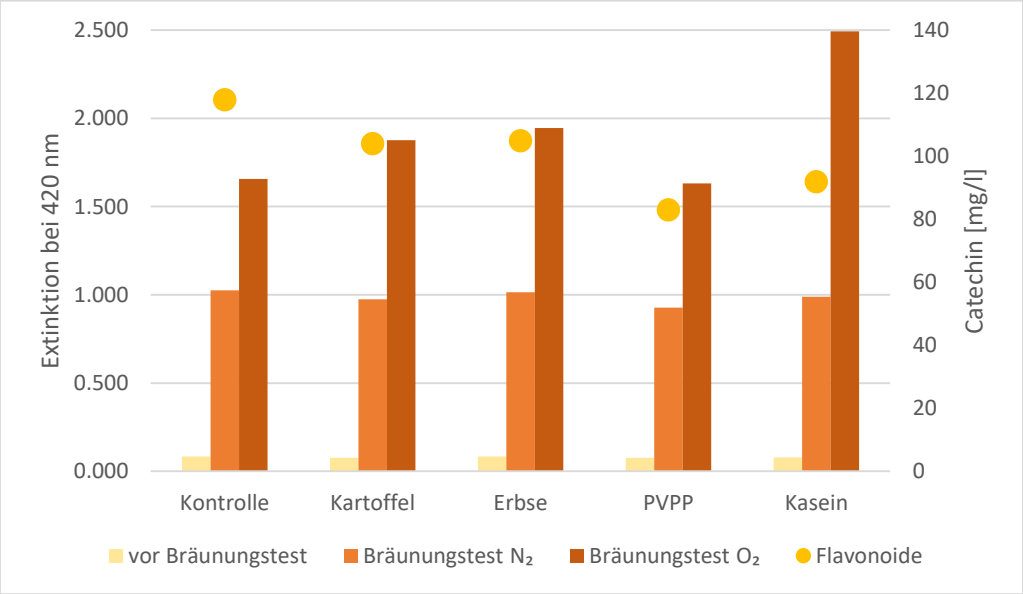


Abbildung 39: Extinktionen bei 420 nm vor Bräunungstest, nach Bräunungstest (N_2) und nach Bräunungstest (O_2) sowie Flavonoidgehalt [mg/l] für Wein 2

5. Diskussion

Die zentrale Frage dieser Arbeit war die nach der Wirksamkeit verschiedener Behandlungsmittel auf die Phenolgehalte im Weißwein. Es wurden zwei unterschiedlich ausgebaute Weißweine der Rebsorte Müller-Thurgau untersucht.

Wein 1 wurde ohne Mostvorklärung spontan im Barrique vergoren, vor den Schönungsversuchen hatte er einen Gesamtphenolgehalt von 236 mg/l Catechin und einen Flavonoidgehalt von 73 mg/l Catechin (pH-Wert 3,7, Gesamtsäure 6,8 g/l, vorh. Alkohol 10,4% Vol., freie SO_2 2 mg/l, Restzuckergehalt 0,5 g/l).

Wein 2 wurde auf der Maische spontan im Barrique vergoren, der Gesamtphenolgehalt lag bei 1.173 mg/l Catechin und der Gehalt an Flavonoiden bei 118 mg/l Catechin (pH-Wert 3,8, Gesamtsäure 5,8 g/l, vorh. Alkohol 9,8% Vol., freie SO_2 3 mg/l, Restzuckergehalt 2,8 g/l).

Als Behandlungsmittel kamen Kartoffel- und Erbsenprotein, Kaliumkaseinat und PVPP zum Einsatz.

In Kapitel 2.2. ‚Einflussgrößen auf den Polyphenolgehalt im Wein' wurden die verschiedenen Möglichkeiten vorgestellt, den Gehalt an Phenolen im Weißwein zu beeinflussen. Dabei steht die Anwendung von Behandlungsmitteln im Weinstadium als letzte Möglichkeit, die Flavonoide und die Gesamtphenole zu reduzieren. Strebt man Weißweine mit geringen Gerbstoffgehalten an, sollte ganz klar eine schonende Traubenverarbeitung und eine Reduzierung der Phenolgehalte im Moststadium im Vordergrund stehen. Als Hauptgründe für geringe Flavonoidgehalte im Weißwein können einerseits das Vermeiden von Adstringenz und Bitterstoffen, die sich sensorisch negativ äußern, wenn Flavonoide im Laufe der Alterung zu Gerbstoffen polymerisieren, und andererseits das Vermeiden einer vorzeitigen Weinalterung in Zusammenhang mit oxidierenden Flavonoiden angeführt werden. Bei den sehr hohen Flavonoidgehalten, wie es bei Wein 1 mit 73 mg/l Catechin und bei Wein 2 mit 118 mg/l Catechin der Fall ist, war es in dieser Studie nicht möglich, den Flavonoidgehalt mit Behandlungsmitteln im Weinstadium so stark abzusenken, dass es zu keiner sensorischen Beeinflussung kommt. Dies wird durch die Studie von (SCHNEIDER und KOST, 2020) bestätigt, die den Grenz-

wert für Flavonoide, ab dem es zu einer bedeutenden Adstringenz, die stets wahrgenommen wird, mit 20 mg/l Catechin angeben, siehe Abbildung 9. Insbesondere die Behandlungsmittel auf pflanzlicher Basis, aber auch Kaliumkaseinat, haben nur einen geringen reduzierenden Effekt auf die Phenolgehalte.

In den Schönungsversuchen hat sich für beide Weißweinvarianten PVPP als das wirksamste Mittel erwiesen, um sowohl die Gesamtphenole als auch die Flavonoide im Wein zu reduzieren. Mit 44% bei Wein 1 und 30% bei dem maischevergorenen Wein 2 war PVPP in der Lage, die Flavonoide im Wein effektiv abzusenken. Auch die Nicht-Flavonoide werden durch PVPP um 16% (Wein 1) bzw. um 17% (Wein 2) abgesenkt. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Aussage von (SCHNEIDER, 2008), dass PVPP neben den Flavonoiden auch geschmacklich wertvolle Nicht-Flavonoide entfernt. In der Studie von (COSME et al, 2012) war PVPP bei einer Aufwandmenge von 25 g/hl in der Lage, die Flavonoide lediglich um 15% und die Gesamtphenole um 11% zu reduzieren, was gegebenenfalls an der um 15 bzw. 55 mg/l geringeren Dosierung liegen könnte oder an der anderen Weinmatrix. Ein weiterer Grund könnte in der unterschiedlichen Analysemethode für die Phenolgehalte liegen. Der bei Cosme et al. untersuchte Weißwein aus der Vinho Verde Region brachte einen Gesamtphenolgehalt von 210 mg/l Catechin und, einen Gehalt an Flavonoiden von 122 mg/l Catechin mit. Die Flavonoide und Nicht-Flavonoide wurden mit der Methode nach Kramling und Singleton von 1969 bestimmt. Bei dieser Methode wird die Extinktion bei 280 nm vor und nach Reaktion mit Formaldehyd bestimmt, laut (SCHNEIDER und KOST, 2020) eine viel ungenauere Methode als die in dieser Studie verwendete Methode mit DAC-Lösung. Der Alkoholgehalt lag bei 11,5% Vol., die Gesamtsäure bei 7,0 g/l sowie der pH-Wert bei 3,37.

Kaliumkaseinat war neben PVPP das einzige Behandlungsmittel, das den Flavonoidgehalt in beiden Weinen signifikant reduzieren konnte (-12 % bzw. -22%). Die effektivere Reduzierung der Flavonoide in Wein 2 könnte teilweise an der höheren Aufwandmenge (von 40 g/hl auf 80 g/hl) oder an den höheren Flavonoidgehalten von Wein 2 liegen, aber auch an anderen Unterschieden in der Weinmatrix der beiden Weine. In der Studie von (BRAGA et al., 2007) wurden mit Kaliumkaseinat bei einer Aufwandmenge von 20 g/hl die Catechine um 30% reduziert, war also entsprechend wirksamer.

Die Weinmatrix des untersuchten Weißweins aus der Region Lissabon unterschied sich gegenüber den beiden Müller-Thurgau-Weinen vor allem im pH-Wert mit einem niedrigeren Wert von 3,48 bei einer Gesamtsäure von 5,5 g/l und einem Alkoholgehalt von 10,4% Vol. Unterschiede in der Wirksamkeit können darüber hinaus auch von unterschiedlichen Eigenschaften der eingesetzten Behandlungsmittel, z.B. dem Isoelektrischen Punkt (IEP), herrühren. (SCHNEIDER, 2008) attestiert Kaliumkaseinat lediglich eine geringe Wirkung auf Flavonoide, was dem Ergebnis dieser Untersuchung entspricht. Die Gesamtphenole in Wein 1 blieben durch die Behandlung mit Kaliumkaseinat unverändert, die von Wein 2 wurden lediglich um 2% reduziert.

Erbsenprotein war bei der Aufwandmenge von 40 g/hl und den niedrigeren Phenolwerten von Wein 1 nicht in der Lage, die Flavonoide oder die Gesamtphenole zu reduzieren. Bei einer Aufwandmenge von 80 g/hl und den hohen Phenolgehalten von Wein 2 war es in der Lage, die Gehalte an Flavonoiden um 11% und die Gesamtphenolgehalte um 3 % zu reduzieren. Demgegenüber steht die Studie von (COSME et al., 2012), bei der Erbsenprotein bei einer Aufwandmenge von 40 g/hl die Flavonoide um 13% und die Gesamtphenole um 9% reduzieren konnte. Auch hier müssen allerdings wieder Unterschiede in der Weinmatrix und den Eigenschaften der Behandlungsmittel (IEP) berücksichtigt werden.

Auch Kartoffelprotein, das zweite pflanzliche Protein, konnte weder den Flavonoid- noch den Gesamtphenolgehalt in Wein 1 reduzieren. Bei Wein 2 zeigte es bei einer Verdopplung der Aufwandmenge auf 80 g/hl und den gegenüber Wein 1 hohen Phenolgehalten bei den Flavonoiden eine Reduzierung von -12% und bei den Gesamtphenole von -8%.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Kartoffel- und Erbsenprotein nur sehr geringe reduzierende Effekte auf die Flavonoide und die Gesamtphenole gezeigt haben. Kaliumkaseinat zeigte eine signifikante, wenn auch geringe Wirksamkeit in der Reduzierung der Phenolfraktionen, PVPP dagegen eine signifikante, starke Wirksamkeit. Diese Ergebnisse decken sich im Wesentlichen mit der bei (SCHNEIDER, 2008) ge-

zeigten Darstellung hinsichtlich der Wirksamkeit von Behandlungsmitteln auf Flavonoide im Weißwein, siehe Abbildung 8. Erbsenprotein, Kartoffelprotein und Kaliumkaseinat werden dort in den Bereich der konfektionierten Mischpräparate eingeordnet.

Durch den Einsatz der Behandlungsmittel kommt es zu keinen wahrnehmbaren oder allenfalls sehr geringen Farbveränderungen bei Wein 1 und 2. Die Extinktion bei 420 nm zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten, auch die ΔE-Werte gegenüber der Kontrolle liegen mit Werten zwischen 0,2 und 2 im Bereich von keinem bis zu einem unmerklichen Farbunterschied. Es scheint daher keinen direkten Zusammenhang zwischen der unterschiedlichen Wirksamkeit der Behandlungsmittel und visuellen Veränderungen der behandelten Weine zu geben.

Die Frage nach einem Zusammenhang zwischen den Phenolgehalten und der Bräunung der verschiedenen Varianten ist nicht eindeutig zu beantworten, außer für PVPP gegenüber der Kontrolle bei Wein 1. PVPP war in der Lage, sowohl die Flavonoide und auch die Gesamtphenole signifikant zu senken, was sich auch in den geringsten Extinktionswerten bei 420 nm nach dem Bräunungstest sowohl unter Stickstoff- als auch unter Sauerstoff-Atmosphäre gezeigt hat. Die anderen Behandlungsmittel erhöhen, anders als erwartet, die Extinktion bei 420 nm gegenüber der Kontrolle nach dem Bräunungstest unter Sauerstoffatmosphäre. Dieser nicht zu erklärende Effekt bedarf weiterer Untersuchungen. In der Studie von (SINGLETON und KRAMLING, 1976) waren die Extinktionswerte unter Stickstoffatmosphäre zwischen den Varianten gleich, so wie es auch in dieser Untersuchung für Wein 2 und, mit Ausnahme von PVPP, für Wein 1 der Fall war. Unter Sauerstoffatmosphäre lieferte die Studie von Singleton und Kramling abhängig von der Menge an zugegebenem Catechin eine stark zunehmende Bräunungsneigung. Dieser Zusammenhang wird in der vorliegenden Untersuchung durch PVPP bei Wein 1 insofern bestätigt, dass bei verringerten Mengen an Flavonoiden auch eine geringere Bräunungsneigung festgestellt werden kann. Ein Grund, warum das bei Wein 2 nicht der Fall ist, könnte an den für Weißweine sehr hohen Phenolwerten von Wein 2 liegen, oder auch an der Notwendigkeit einer erneuten Filtrierung durch die während des Wärmetests eingetretenen Trübung. Gegebenenfalls könnte auch der Verschluss der mit den Proben gefüllten Reagenzgläser weiter optimiert werden, um

eine optimale Abdichtung nach Begasung mit O_2 bzw. N_2 während des Wärmetests zu gewährleisten. Auch die eingesetzte Methode, um die Behandlungsmittel aus den Proben zu entfernen (Bentonit Dosage (1000 g/hl), 2 h Einwirkdauer, Abfiltrieren über Glasfaserfilter) sollte nochmal überdacht werden, um sicherzustellen, dass sowohl die Behandlungsmittel als auch das Bentonit vollständig entfernt werden. Um dem Fall vorzubeugen, dass es während des Wärmetests zu Eintrübungen kommt und eine erneute Filtration notwendig wird, sollten die Probenmengen so erhöht werden, dass auch nach einer Filtration noch ausreichend Flüssigkeit für die photometrischen Untersuchungen zur Verfügung steht.

In der Studie von (COSME et al., 2012), die einen Bräunungstest nach der Methode von Singleton und Kramling durchgeführt hat, zeigte nur Kaliumkaseinat mit 73% eine signifikante Reduzierung der Extinktion bei 420 nm gegenüber der Kontrolle, anders als PVPP und Erbsenprotein, die keine signifikanten Ergebnisse lieferten. Dieses Ergebnis steht in starkem Kontrast zu den eigenen, vorliegenden Untersuchungen. (GAMBUTI et al., 2015) haben die Bräunungsneigung von Weißweinmosten untersucht, dazu wurde die Abnahme der Extinktion bei 420 nm nach 20h verglichen. Dabei war sowohl Patatin, also Kartoffelprotein, als auch Kaliumkaseinat in der Lage, den Most der Rebsorte Greco signifikant zu reduzieren, allerdings nicht Most der Rebsorte Falanghina. In der vorliegenden Untersuchung dagegen waren Kartoffelprotein und Kaliumkaseinat nicht in der Lage, die beiden Müller-Thurgau-Weine in ihrer Bräunungsneigung zu beeinflussen.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirksamkeit verschiedener Behandlungsmittel auf die flavonoiden und nicht-flavonoiden Phenolgehalte im Weißwein und die Auswirkungen auf die Bräunungsneigung untersucht. Dafür standen zwei Müller-Thurgau-Weine zur Verfügung, der eine ohne Vorklärung spontan im Barrique als Most vergoren, der andere auf der Maische ebenso spontan im Barrique vergoren. Ein Wein brachte somit hohe Gehalte an Flavonoiden bei normalem Gesamtphenolgehalt, der

andere sehr hohe Flavonoid- als auch Gesamtphenolgehalte mit. Zudem wurde die Dosierung der Behandlungsmittel zwischen 40 und 80 g/hl variiert. Als Behandlungsmittel im Rahmen dieser Thesis zur Reduzierung des Phenolgehaltes im Weinstadium kamen neben Erbsen- und Kartoffelprotein Kaliumkaseinat und PVPP zum Einsatz. Der Gesamtphenolgehalt wurde mit der Methode nach Folin-Ciocalteu bestimmt, die Flavonoide kolorimetrisch mit DAC-Lösung. Die Farbe der behandelten Weine wurde mit einem Spektralphotometer erfasst, die Bräunungsneigung wurde in einem Wärmetest (55°C, 5 Tage) nach der Methode von (SINGLETON und KRAMLING, 1976) bestimmt.

Die eingesetzten Behandlungsmittel zeigten erheblich unterschiedliche Wirksamkeiten. PVPP hat sich als das wirksamste Mittel zur Reduzierung der Flavonoide (30 bzw. 44 %) als auch der Gesamtphenolgehalte (18 bzw. 25 %) bei beiden Weinen gezeigt, Kaliumkaseinat war in der Lage, die Flavonoide beider Weine (12 bzw. 22 %) sowie die Gesamtphenole des Weins mit hohen Phenolgehalten und hoher Dosierung des Behandlungsmittels um 2 % zu reduzieren. Die beiden pflanzlichen Proteine auf Kartoffel- und Erbsenbasis waren nur bei dem Wein mit hohen Phenolgehalten und hoher Dosierung in der Lage, die Flavonoide und die Gesamtphenole im Bereich 3 bis 12 % zu reduzieren.

Der Bräunungstest nach Singleton & Kramling von 1976 soll einen Zusammenhang zwischen Braunfärbung und Oxidation in Abhängigkeit des Catechingehaltes aufzeigen können. Dieser Zusammenhang hat sich in der vorliegenden Untersuchung nur für PVPP bei Wein 1 eindeutig bestätigen lassen.

7. Literaturverzeichnis

DE BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLOM, W. C. A. und MANLEY, M. (2002): Phenolic compounds: a review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. South African Journal of Enology and Viticulture, 23(2), S. 48-61.

BINDER, G. (2013): Behandlungsstoffe – Definition, Anforderungen, Aufgaben. Abteilung Weinbau und Oenologie (Gruppe Oenologie), Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz, Neustadt an der Weinstraße.

BRAGA, A.; COSME, F.; RICARDO-DA-SILVA, J.M. und LAUREANO, O. (2007): Gelatine, casein and potassium caseinate as distinct wine fining agents: different effects on colour, phenolic compounds and sensory characteristics. OENO One, 41(4), S. 203-214.

COSME, F; CAPAO, I.; FILIPE-RIBEIRO, L.; BENNET, R.N. und MENDES-FAIA, A. (2012): Evaluating potential alternatives to potassium caseinate for white wine fining: Effects on physicochemical and sensory characteristics. LWT - Food Science Technology 46, S. 382-387.

DARIAS-MARTÍN, J. J., RODRÌGUEZ, O., DÍAZ, E., und LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. (2000): Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine. Food Chemistry, 71(4), S. 483-487.

DIETRICH, H.; OTTENEDER, H. und WITTKOWSKI, R. (2019): Analytik des Weines. Untersuchen und bewerten. Stuttgart: Ulmer.

EDER, R. und WENDELIN, S. (2002): Phenolzusammensetzung und antioxidative Kapazität von Trauben und Weinen. Fachgruppe Wein und Obst, Arbeitsgemeinschaft landwirtschaftlicher Versuchsanstalten, Jahrestagung in Klosterneuburg, S. 292-296.

ERBSLÖH (2019a): https://erbsloeh.com/fileadmin/user_upload/pdf/Wine/technical_data_sheet/DE/littofresh_origin-datenblatt-deutsch-erbsloeh.pdf, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

ERBSLÖH (2019b): https://erbsloeh.com/fileadmin/user_upload/pdf/Wine/technical_data_sheet/DE/kal_casin_leicht_loeslich-datenblatt-deutsch-erbsloeh.pdf, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

GAMBUTI, A.; RINALDI, A. und MOIO, L. (2012): Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. European Food Research and Technology 235.4, S. 753-765.

GAMBUTI, A.; RINALDI, A; ROMANO, R; MANZO, N. und MOIO, L. (2015): Performance of a protein extracted from potatoes for fining of white musts. Food Chemistry 190, S. 237–243.

GÓMEZ-MÍGUEZ, M. J., GONZÁLEZ-MIRET, M. L., HERNANZ, D., FERNÁNDEZ, M. Á., VICARIO, I. M. und HEREDIA, F. J. (2007). Effects of prefermentative skin contact conditions on colour and phenolic content of white wines. Journal of Food Engineering, 78(1), S. 238-245.

HAMATSCHEK, J. (2015): Technologie des Weines. Stuttgart: Ulmer

JUNGBLUTH, G. (2000): Wechselwirkungen von Polyphenolen mit Cu2+, Fe3+, Fe2+ und Al3+. Analyse der Reaktionsprodukte mittels HPLC. Dissertation. Universität Hannover, Hannover.

KANG, W.; NIIMI, J. und BASTIAN, S.E.P. (2018): Reduction of red wine astringency perception using vegetable protein fining agents. Am. J. Enol. Vitic. 69, S. 22–31.

KENNERBLICK (2022): https://www.kennerblick.net/delta-e.html, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022

LAFFORT (2020a): https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_DE_Vegefine.pdf, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

LAFFORT (2020b): https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_DE_Viniclar_GR.pdf, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

MACHEIX, J.; FLEURIET, A. und JAY-ALLEMAND, C. (2005): The phenolic composition of plants. An example of secondary metabolites of economic importance. PPUR presses polytechniques.

MARANGON, M.; VINCENZI, S. und CURIONI, A. (2019): Wine Fining with Plant Proteins. Molecules, 24, 2186; doi:10.3390/molecules24112186.

OIV (2006): Bestimmung der farblichen Merkmale gemäß CIELab. Resolution OIV-Oeno 1-2006.

OIV (2013): Monographie zu Eiweißstoffen pflanzlichen Ursprungs – Änderung des Dokuments. Resolution OIV-Oeno 495-2013.

OIV (2014): Kodex für eine gute Praxis bei der Weinschönung bei Verwendung von ursprünglich proteinhaltigen potentiell allergenen Schönungsmitteln (Kasein und Eiweiß). Resolution OIV-Oeno-Sescan 520-2014.

POUR NIKFARDJAM, M. (2001): Polyphenole in Weißweinen und Traubensäften und ihre Veränderungen im Verlauf der Herstellung. Dissertation. Justus von Liebig Universität Gießen, Gießen.

PASCH, L. (2020): Vorlesung Technologie der Weinbereitung. Hochschule Geisenheim University.

PRASNIKAR, N.; HANN, S. und EDER, R. (2014): Orange Weine – Erfassung der chemisch-physikalischen Zusammensetzung. Deutsche Lebensmittel Rundschau 110 (08), S. 383-390.

RECHNER, A. (2000): Einfluss der Verarbeitungstechnik auf die Polyphenole und antioxidative Kapazität von Apfel- und Beerenobstsäften. Dissertation. Justus von Liebig Universität Gießen, Gießen.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A. und DUBOURDIEU, D. (2006): The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments in: Handbook of Enology, Volume 2. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.

ROLAND, A.; SCHNEIDER, R.; RAZUNGLES, A. und CAVELIER, F. (2011): Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. Chemical Reviews 2011 111 (11), S. 7355-7376. DOI: 10.1021/cr100205b

ROUSSERIE, P.; RABOT, A. und GENY-DENIS, L. (2019): From Flavanols Biosynthesis to Wine Tannins: What Place for Grape Seeds? Journal of Agricultural and Food Chemistry 67(5).

SAWERT, A. (2020): Vorlesung Weinchemie. Hochschule Geisenheim University.

SCHMALFUSS, E.; WEBER, F. und WINTERHALTER, P. (2013): Quantifizierung von polymeren phenolischen Verbindungen in Wein mittels Mixed-Mode-Phasen HPLC. Technische Universität Braunschweig. http://www.hsfs.org/download/RV_Poster_Schmalfu.pdf, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

SCHMIDT, O. (2013): Moderne Kellertechnik. Neue und bewährte Verfahren. Stuttgart: Ulmer.

SCHNEIDER, V. (1995): Evaluation of small amounts of flavonoid phenols in white wines by colorimetric assays. Am. J. Enol. Vitic. 46 (2), S. 274-277.

SCHNEIDER, V. (1998): Must Hyperoxidation: A Review. American Journal of Enology

and Viticulture 49, S. 65-71.

SCHNEIDER, V. (2006): Gerbstoffe in Weißwein. Der Winzer 03, S. 6-10.

SCHNEIDER, V. (2008): Önologische Aspekte fruchtiger Weine, Die Rolle von Oxidation und Reduktion. Wien: AV-Fachbuch, Österreichischer Agrarverlag.

SCHNEIDER, V. (2010): Sauerstoff im Weißwein und oxidative Alterung. www.Ithaka-Journal.net, 01, S. 250-265, zuletzt aufgerufen am 08.04.2022.

SCHNEIDER, V. (2018): Orange-Weine: Tannine im Fokus. Extraktion von Tannin während der Maischestandzeit. Das Deutsche Weinmagazin 10, S. 28-31.

SCHNEIDER, V. und KOST, C. (2020): Präzise Bestimmung von Gerbstoffen in Weißwein. Das Deutsche Weinmagazin 16-17, S. 50-53.

SINGLETON, V.L. und KRAMLING, T.E. (1976): Browning of White Wines and an Accelerated Test for Browning Capacity. Am. J. Enol. Vitic. 27 (4).

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R. und LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: Methods in enzymology. Academic press, S. 152-178.

STOCKÉ, R. und Meinl, J. (2016): Alles klar? Weinklärung, Teil 1: Gelatine und Kieselsol. Das Deutsche Weinmagazin 4, S. 30-32.

TEIXEIRA, A.; EIRAS-DIAS, J.; CASTELLARIN, S. und GERÓS, H. (2013): Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments. International Journal of Molecular Sciences, 14, S. 18711-18739; doi:10.3390/ijms140918711.

VERMA, A.K.; KUMAR, S.; DAS, M. und DWIVEDI, P.D. (2013): A comprehensive review of legume allergy. Clin. Rev. Allergy Immunol. 45, S. 30–46.

WÜRDIG, G. und WOLLER, K. (1989): Chemie des Weines, Handbuch der Lebensmitteltechnologie. Stuttgart: Ulmer.

ZIRONI, R.; BUIATTI, S. und CELOTTI, E. (1992): Evaluation of a new colourimetric method for the determination of catechins in musts and wines. Die Wein-Wissenschaft 47 (1), S. 1-7.

8. Anhang

Alle für den Versuch relevanten Daten wurden in der Thesis in Schrift und Tabellen dargestellt. Der Thesis liegt ein Datenträger bei, welcher detaillierte, vollumfängliche Daten enthält.