



Dr. Martin Pour Nikfardjam, Sarah Mrugala, Dr. Jan Porep, Prof. Dr. Dr. h.c. Reinhold Carle

Schnelle und objektive Erkennung der Traubenqualität mittels Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS)

Die Weinproduktion in Genossenschaften erfolgt arbeitsteilig in Traubenerzeugerbetrieben sowie Verarbeitungs- und Weinausbaubetrieben. Allein im Anbaugebiet Württemberg bewirtschaften aktuell 33 Genossenschaften knapp 70% der Rebfläche (HONOLD, Weinbaukartei Weinsberg, persönliche Mitteilung).

Die Traubenproduzenten werden für ihre Erzeugungsleistung von den Genossenschaften grundsätzlich nach zwei Kriterien, Menge und Qualität, entlohnt. Das traditionelle Qualitätsbewertungsverfahren für Trauben auf Basis des Oechsle-Grades ist aber in vielen Fällen unsachgerecht, da es maßgeblich vom Zuckergehalt beeinflusst wird. Es entspricht daher nicht mehr den modernen Anforderungen an eine umfassende Qualitätsanalyse und -sicherung (GISHEN et al., 2001). So kann Traubenfäulnis mit diesem Verfahren nicht detektiert werden, obwohl Fäulnis die Genussqualität der Weine erheblich beeinträchtigen kann (DITTRICH, 1989). Traubenfäule, hervorgerufen durch *Botrytis cinerea*, kann zu Konzentrierungseffekten in den Beeren führen, wodurch

das Mostgewicht ansteigt. Dies bedeutet, dass für pilzbefallenes Lesegut kein Qualitätsabzug, sondern sogar eine höhere Auszahlung als für gesunde Trauben erhalten wird.

Darüber hinaus zeigen gerade die vergangenen Jahrgänge 2006, 2010 und 2014 im Hinblick auf Essigfäule und Kirschessigfliege, wie wichtig es für die Branche ist, die angelieferten Trauben nach Qualität zu sortieren und zu verarbeiten. Darüber hinaus kann Traubenfäulnis zu Fehlgeschmack und -geruch sowie Bitterkeit führen und sogar die Lebensmittelsicherheit durch die Bildung von Schimmelpilzgiften (Mykotoxinen) beeinträchtigen (WALTER, 2012; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006, HAUSINGER, 2014).

Bis dato gibt es allerdings keine Möglichkeit, die Traubenqualität in einem praxistauglichen Online-Verfahren zu messen, sondern es muss für klassische Laboranalysen zusätzlich zur eigentlichen Analyse sogar noch mindestens ein Aufarbeitungsschritt durchgeführt werden. Da die Anlieferung der Trauben in der Regel in vielen Kleinpartien erfolgt, entsteht hierdurch eine Zeitverzögerung, so dass zwischen der Anlieferung der Trauben und dem Vorliegen des analytischen Ergebnisses zwischen 10 und 15 Minuten Wartezeit einzurechnen sind. In der arbeitsintensiven Phase der Weinlese ist dies allerdings zu lange. Darüber hinaus muss die Maische egalisiert werden, um die Gesamtprobe beurteilen zu können. Anstatt schlechte Trauben einer Anlieferung vor der Weiterverarbeitung auszusortieren, wird durch das Vermischen die komplette Partie in der Qualität gemindert. Es besteht bislang noch keine Möglichkeit, mittels eines Online-Verfahrens die Probe zu vermessen, zu beurteilen und den Maischestrom nach Qualitäten in verschiedene Partien aufzuteilen. Aufgrund des Mangels an geeigneten Qualitätsparametern für die angemessene Bewertung des Leseguts ist folglich nach dessen Übergang in den Besitz der Genossenschaften eine qualitätsorientierte und somit gerechte Auszahlung unmöglich.

Hier kann die Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) zur objektiven Qualitätsbewertung und -sicherung einen erheblichen Beitrag leisten. Mit Hilfe infrarotspektroskopischer Messtechnik kann durch eine einzige Messung eine Vielzahl an Informationen über die Probe erhalten werden. Aufgrund der Spezifität des aufgenommenen Infrarot-Spektrums stellt letzteres für jede Probe einen eindeutigen „Fingerabdruck“ dar, der die chemischen, physikalischen und strukturellen Eigenschaften

der Probe widerspiegelt (BLANCO & VILLARROYA, 2002). Darüber hinaus haben infrarotspektroskopische Methoden den Vorteil, dass die Proben bei NIRS nicht bzw. bei Messung im mittleren Infrarotbereich (MIRS) nur geringfügig aufbereitet werden müssen. Somit entstehen nur geringe laufende Analysenkosten und die Umwelt wird geschont, da keine Chemikalien benötigt werden (COZZOLINO et al., 2006). Da die Spektren allerdings nicht direkt interpretiert werden können, bedarf es einer sorgfältigen Kalibrierung (Eichung), um damit anschließend unbekannte Proben unterschiedlicher Sorten und Herkunft analysieren zu können.

Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass Ergosterin als zuverlässiger Indikator für die Traubengesundheit herangezogen werden kann (POREP et al. 2014). Ergosterin, dessen chemische Struktur in Abbildung 1 dargestellt ist, stellt einen essentiellen und spezifischen Bestandteil der Zellmembran von Pilzen dar (WEETE et al., 2010). Je nach Schimmelpilz-Gattung liegen die Gehalte in infizierten Trauben in unterschiedlichen Bereichen, sind aber immer deutlich höher als in gesundem Kontrollmaterial (vergleiche Tab. 1). Über den Gehalt an Ergosterin kann also nicht nur Fäulnis qualitativ, sondern darüber hinaus auch quantitativ bestimmt werden.

Ziel unserer Arbeiten war es daher, Ergosterin in kommerziellen Traubenmaischemproben zu analysieren sowie gleichzeitig in einem On-line-Verfahren das NIR-Spektrum der Maischen aufzuzeichnen. Anhand der Analysedaten sollte eine Kalibrierung des verwendeten NIR-Geräts erfolgen, um den Ergosterin-Gehalt von Traubenmaischen im Durchfluss in Echtzeit zu ermitteln.

Bisher gibt es keine Möglichkeit die angelieferten Trauben zu vermessen und zu beurteilen und nach Qualitäten in verschiedene Partien aufzuteilen.

Mit Hilfe infrarotspektroskopischer Messtechnik kann durch eine einzige Messung eine Vielzahl an Informationen erhalten werden.

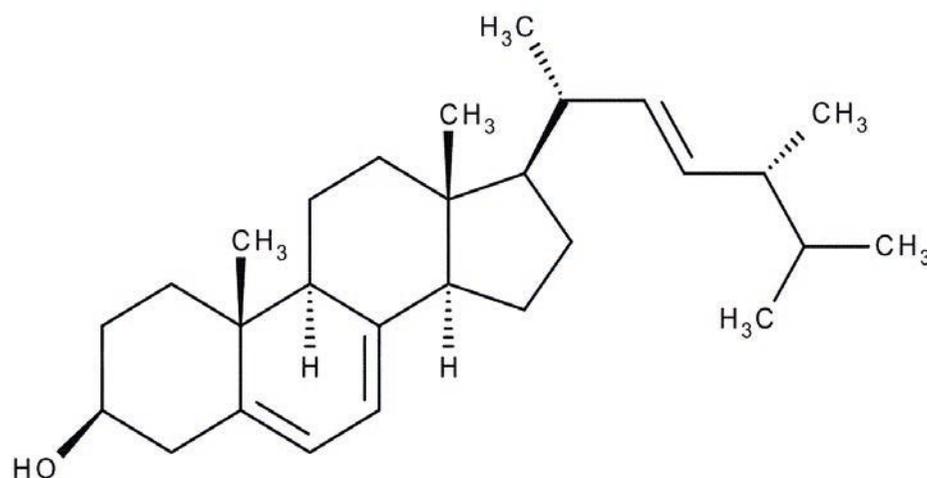


Abbildung 1
Chemische Struktur von Ergosterin.

Tabelle 1
Ergosterin-Gehalte [mg/kg]
von mit verschiedenen
Fäulnisregern infizierten
Trauben (nach Porep et al.
(2014) Food Control 37, 77-84;
Wes (1987) Ecology and
Metabolism of Plant Lipids
19, 304–328).

Probe	Ergosterin (mg/kg)
Kontrolle	0,07 - 0,10
Trichothecium roseum	0,47 - 3,47
Botrytis cinerea	2,71 - 10,12
Penicillium expansum	4,84 - 12,23
Aspergillus niger	9,06 - 13,71
Erysiphe necator	nicht nachweisbar
Plasmopara viticola	nicht nachweisbar

Material und Methoden

Während der Leseperiode 2013 wurden insgesamt 177 Maischeproben an zwei Standorten gezogen: 1) Genossenschaftskellerei Heilbronn-Erlenbach-Weinsberg (Württemberg) und 2) Winzergenossenschaft Weinbiet in Neustadt-Mußbach (Pfalz). Die Proben lassen sich nach folgenden Kriterien in Gruppen aufteilen: nach der Farbe der Trauben, weiße (n=76) und rote Trauben (n=101); nach Herkunft, Heilbronn (n=163) und Neustadt-Mußbach (n=14); und nach der Rebsorte, Müller-Thurgau (n=45), Dornfelder (n=34), Riesling

(n=31), Schwarzriesling (n=31), Trollinger (n=23) und Lemberger (n=13). Von jeder Rebsorte wurde 1 kg Maischeprobe direkt bei der Probenahme zur Konservierung mit 200 mg Natriumazid versetzt und anschließend sofort eingefroren und bis zur weiteren Analyse bei 20°C eingelagert. Gleichzeitig wurden die NIR-Spektren der Proben mittels eines NIR-Spektrometers (Process Analyser X-Three, NIR-Online, Walldorf) aufgezeichnet.

Die Proben wurden mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie und UV-Detektion (HPLC-UV) nach einer modifizierten Methode von GHI-

Bild links
Ansicht des NIR-Spektrometers eingebaut in einer Maischeleitung unterhalb des Oechslemeters.

Bild rechts
NIR-Spektrometer der Firma NIR-Online/Walldorf.



Bild: J. Mayer



Bild: Firmenbild

RETTI et al. (1995) auf Ergosterin analysiert. Die Messdaten wurden zur Erstellung einer Kalibrierung für die NIRS-Bestimmung herangezogen.

Die statistische Auswertung der HPLC-Daten erfolgte mittels XLStat (Version 2011.1.05, Adinsoft, Paris, Frankreich). Die Verarbeitung der aufgenommenen Spektraldaten und die Kalibrierung erfolgten mit der Software SX-Plus (Version 2.10, NIR-Online, Walldorf).

Ergebnisse

HPLC-Analyse

Die Ergebnisse der HPLC-Analyse können der Abbildung 2 entnommen werden. Sie sind als Box-Plot dargestellt. In der Box liegen die mittleren 50% der Daten, wobei der Mittelwert durch ein rotes Kreuz und der Median durch eine horizontale Linie in der Box gekennzeichnet sind. Die ober- und unterhalb der Box liegenden T-förmigen „Whisker“ markieren den Bereich, der die 1,5-fache Boxhöhe ausgehend vom Median umfasst. Ausreißer werden als Punkt, Extremwerte als Stern dargestellt.

Die höchsten mittleren Ergosterin-Gehalte wurden in Schwarzriesling-Maische nachgewiesen (Mittelwert 3,1 mg/kg; Maximum 11,4 mg/kg).

Diese Rebsorte ist generell als fäulnis anfällig bekannt (KAST et al. 2004). Riesling und Müller-Thurgau wiesen ebenfalls recht hohe Ergosterin-Gehalte auf. Dies ist vermutlich auf ihre relativ kompakte Traubenstruktur zurückzuführen, die wegen des schlechten Abtrocknens nach Niederschlägen und Taubildung Pilzinfektionen fördert (MOLITOR & EVERS 2012). Die geringsten Ergosterin-Gehalte wurden in Dornfelder und Lemberger gefunden, wobei Dornfelder statistisch signifikant ($p < 0,05$) geringere Ergosterin-Gehalte als Schwarzriesling aufwies. Aufgrund der hohen Polyphenolgehalte in Dornfelder-Trauben ist diese Sorte vermutlich weniger anfällig für Fäulnis (MÜLLER, 2003; PRIOR, 2006).

POREP et al. (2014) haben für gesunde und faule Trauben folgende vorläufige Ergosterin-Grenzwerte vorgeschlagen: 0 bis 3,0 mg/kg (gesund); 3,0 bis 6,2 mg/kg (auffällig) und $>6,2$ mg/kg (faul). Abbildung 3 zeigt die Verteilung der untersuchten Proben unter Berücksichtigung der oben genannten Grenzen. Demnach muss fast ein Viertel der Proben als auffällig (20,3%) oder definitiv faul (3,4%) angesehen werden. Weitere Auswertungen zeigten in den auffälligen Proben erhöhte Werte an Glycerin und Gluconsäure. Diese Inhaltsstoffe gelten ebenfalls als Fäulnisindikatoren und deuten auf mikrobiell problematisches Lesegut hin (DITTRICH, 1989).

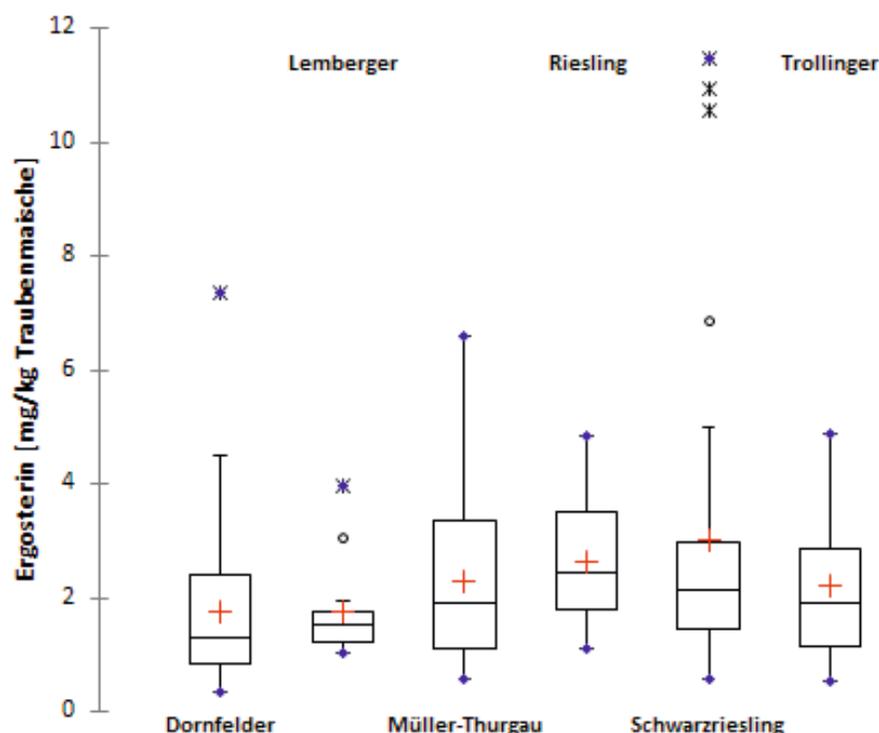
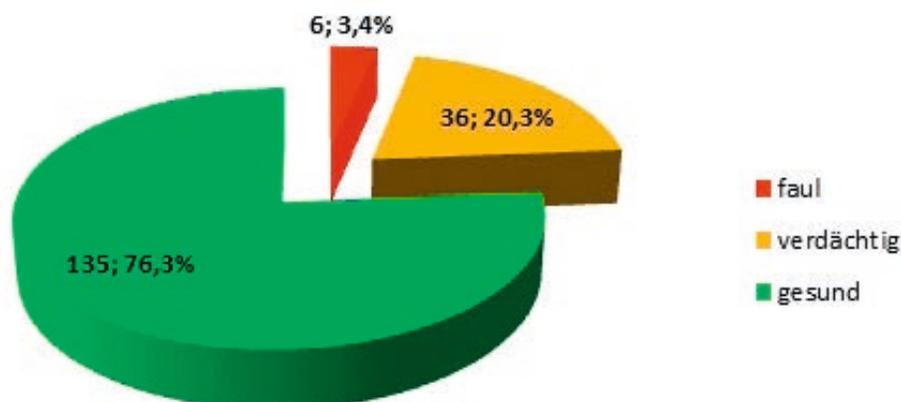


Abbildung 2
Ergosterin-Gehalte [mg/kg]
von Traubenmaisichen
verschiedener Rebsorten
bestimmt mittels HPLC-UV
(n=177).

Ergosterin kann als zuverlässiger Indikator für die Traubengesundheit herangezogen werden. Es stellt einen essentiellen und spezifischen Bestandteil der Zellmembran von Pilzen dar.

Abbildung 3
Prozentuale Verteilung des Gesundheitszustandes der 177 vermessenen Maischeproben.



Die Methode eignet sich um gesunde und faule Trauben sekundenschnell zu unterscheiden. In Zukunft könnte durch entsprechende Kalibrierung auch eine Quantifizierung des Mehлтаubefalls möglich sein.

Kalibrierung des NIR-Geräts

Die Ergebnisse der HPLC-Analyse konnten nun zur Kalibrierung des NIR-Gerätes herangezogen werden. Der mittlere quadratische Vorhersagefehler („root mean square error of prediction“, RMSEP) betrug 0,84 mg/kg. Dies bedeutet, dass die vorhergesagten Werte des NIR-Geräts im Mittel um etwa 1 mg/kg um den mit HPLC ermittelten Wert abweichen werden. Trotz dieser zunächst recht hoch erscheinenden Abweichung kann auf dieser Basis eine gute Differenzierung von Maischen nach ihrer Qualität vorgenommen werden. Liegt beispielsweise eine Maische vor, deren Ergosterin-Gehalt mittels NIR mit 1 mg/kg ermittelt wurde, so liegt der HPLC-Wert mit hoher Wahrscheinlichkeit im Bereich von 0 bis 2 mg/kg. In diesem Falle wäre die Maische als „gesund“ einzustufen. Bei einer Maische mit einem mittels NIR ermittelten Gehalt von 6 mg/kg läge der HPLC-Wert im Bereich von 5 bis 7 mg/kg. In diesem Fall wäre von einer „sehr auffälligen“ bis „faulen“ Probe auszugehen. Diese Kalibrierung würde somit zweifellos eine Separierung von einwandfreier und fauler Maische erlauben.



Dr. Martin Pour Nikfardjam
LVW Weinsberg
Tel. 07134/ 504-170
Martin.PourN@lvwo.bwl.de

Fazit

Mittels NIR-Spektroskopie kann der Ergosterin-Gehalt von Traubenmaischen abgeschätzt werden. Hierüber ist eine objektive Beurteilung der Traubengesundheit von Maischeproben möglich. Trotz eines mittleren quadratischen Vorhersagefehlers dieser Abschätzung von 0,84 mg/kg können gesunde und faule Traubenpartien zuverlässig voneinander unterschieden werden. Da das NIR-

Gerät mehrere Messungen pro Sekunde ermöglicht, ist selbst innerhalb einer Partie eine äußerst differenzierte Separierung des angelieferten Leseguts nach Qualität möglich. Hierzu ist eine Koppelung des Messgerätes mit einer Ventilsteuerung zur Förderung der Maische in verschiedene Annahmebehälter erforderlich.

Ein erster Praxistest im vergangenen Herbst zeigte, dass auch eine Quantifizierung des Traubenbefalls mit Mehltau durch eine entsprechende Kalibrierung möglich sein könnte (REUSTLE, persönliche Mitteilung). Da Mehltau kein Ergosterin, sondern stattdessen 24-Methylencholesterin in seiner Zellmembran enthält (NES 1987; MIKES et al., 1997), waren wir zunächst davon ausgegangen, dass Mehлтаubefall nur über eine zusätzliche Kalibrierung auf 24-Methylencholesterin bestimmbar ist.

Weitere Versuche in den kommenden Leseperioden werden zeigen, wie die vorhandene Kalibrierung verbessert und - gerade im Hinblick auf zusätzliche qualitätsmindernde Einflüsse - weiter ausgebaut werden kann.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei der Raiffeisen-Stiftung (Berlin) für die finanzielle Förderung des Projektes (Projektnummer 2013-009-fw).

Literatur

Das Literaturverzeichnis ist beim Autor erhältlich. ■