

Phenolzusammensetzung und antioxidative Kapazität von Trauben und Weinen

R. EDER und S. WENDELIN

Allgemeines

Phenole sind sekundäre Metaboliten in Pflanzen, die aus einem aromatischen Ringsystem bestehen, an das direkt zumindest eine Hydroxy-Verbindung (alkoholische Gruppe, -OH) gebunden ist (Polyphenole mind. zwei OH-Gruppen). Tiere und Menschen können Phenole nicht synthetisieren, einzige Quelle ist die pflanzliche Nahrung. Phenole sind sehr vielfältig, in der Natur gibt es mindestens 8000 phenolische Verbindungen (ca. 3000 Flavonoide und ca. 5000 Nicht-Flavonoide). In der Natur kommen freie oder veretherte Phenole hauptsächlich in Blütenfarbstoffen (z.B. Anthocyane, Flavone) und Gerbstoffen (z.B. Catechine, Tannine) vor.

Allgemein fungieren Phenole in Pflanzen als Schutzsubstanz gegen Fäulnis, Schädlings- oder Tierfraß und sind Bestandteile von Wuchsstoffen, Riech- und Geschmacksstoffen, Steroiden, Alkaloiden und Antibiotika. Zu der Gruppe der Phenole gehören verschiedene Farbstoffe wie beispielsweise Anthocyane (orangerot, rot, violett, blau) und andere Flavonoide (gelb, orange, braun, schwarz), die Trauben, Früchten und Blüten ihre attraktive Farbe verleihen und somit Insekten und Vögel anlocken, wodurch eine Verteilung der Samen gewährleistet wird.

Sie sind in Wasser mit saurer Reaktion gut löslich, haben bitter-herb-adstringierenden Geschmack, fällen Eiweiß-Lösungen (=gerbender Effekt) und bilden mit Metallen dunkelblaue bis grüne Komplexe. Phenole sind sehr oxidationsanfällig und bilden braungefärbte Polymere, braune Niederschläge und die Produkte weisen dann einen schalen, breiten Geschmack auf. In der Traube werden im Zuge der enzymatischen Bräunung mit den Enzymen para-Diphenoloxidase (*Laccase*) und ortho-Diphenoloxidase (*Tyrosinase*) Monophenol zu Diphenolen und weiter zu Chinonen und

Phlobaphene oxidiert. In gewissem Ausmaß findet auch eine nicht-enzymatische (direkte) Oxidation statt. Entsprechende Gegenmaßnahmen sind die SO₂-Gabe und ein Sauerstoffausschluß.

Phenolische Inhaltsstoffe in Früchten

Grundsätzlich können monomere Phenole und polymere Phenole unterschieden werden.

Monomere Phenole

Flavonoide

Ihr Grundgerüst besteht aus 15 C-Atomen, die in der charakteristischen C6-C3-C6-Konfiguration angeordnet sind. Die Biosynthese aller Flavonoide erfolgt über den „Shikimisäure-Weg“ und „Acetat-Malonat-Weg“. Sie kommen hpts. in den festen Bestandteilen der Früchte und Trauben (Schalen, Samen, Rappen) und kaum im Saft, Fruchtfleisch und Pulpe vor. Daher ist der Flavonoidgehalt in Verarbeitungsprodukten sehr variabel und hängt von der applizierten Technologie ab. Flavonoide Phenole haben eine positive Bedeutung als Antioxidantien (Radikalfänger) und für die Sortentypizität. Als Nachteile sind deren Oxidationsanfälligkeit und der herb-bittere Geschmack anzuführen. Die Gehalte liegen in Weißweinen zwischen 60-200 mg/l und in Rotweinen zwischen 300–5000 mg/l.

Flavan-3-ole

Es handelt sich hierbei um farblose Verbindungen mit gesättigter Bindung zwischen C2 und C3 (=> hydrierte Flavone bzw. Anthocyane). Sie haben Bedeutung als Grundkörper der Proanthocyanidine (= kondensierte Tannine) und als Radikalfänger. Sie weisen einen adstringierenden und bitteren Geschmack auf. Formen: (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, (+)-Gallocatechin und (-)-Epigallocatechin

sowie nur in der Rebe (-)-Epicatechin-3-O-gallat.

In der Natur kommen sie hpts. als freie Form (nicht glykosyliert bzw. verestert) vor. Der Gehalt in Beeren liegt zwischen 20-100 mg/kg.

Flavan-3,4-diole (*Leucoanthocyanidine*)

Ebenfalls farblose Substanzen, die aber beim Erhitzen im sauren Milieu rote Farbstoffe (=Anthocyanidine) bilden. Sie haben Bedeutung als Vorstufen gewisser Proanthocyanidine (= kondensierte Tannine). Gehalt in Beeren: 2-3 mg/kg

Flavonole (*flavus* = gelb)

Diese Substanzen sind gelbe Farbstoffe und weisen eine ungesättigte Bindung zwischen C2 und C3 auf. In Früchten wurden Glykoside von 4 Substanzen gefunden: Kämpferol, Quercetin, Myricetin und Isorhamnetin. In Rotweinsorten sind Derivate aller vier Flavonole nachweisbar, während in Weißweinsorten bisher nur Derivate von Quercetin und Kämpferol detektiert wurden. Die Gesamtkonzentration in Beeren liegt zwischen 20-40 mg/kg, in Rotweinen kommt Myricetin (2-6 mg/L) und Quercetin (7-14 mg/L) vor.

Anthocyanidine (= *Blau der Blumen*)

Dies sind rote, violette, blaue Farbstoffe mit einem C6-C3-C6-Ringsystem und konjugierten Doppelbindungen. Die Farbausprägung ist abhängig von pH-Wert. Anthocyanidine kommen nur in rot (blau) gefärbten Trauben vor. In Trauben konnten bisher 5 Grundformen detektiert werden: Delphinidin, Cyanidin, Petunidin, Peonidin und Malvidin, das Glucosid des letzteren ist üblicherweise der Hauptfarbstoff von Trauben („Oenin“). Grundsätzlich liegen die Farbstoffe in glykosilierter Form vor, teilweise sind sie mit Säuren (Essig-, Cumar- oder Kaffeesäure) acyliert. Die

Autoren: Dr. Reinhard EDER und Ing. Silvia WENDELIN, Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau, Wienerstraße 74, A-3400 KLOSTERNEUBURG



Anthocyane sind i.d.R. in der Schale akkumuliert. Sowohl Anthocyanengehalt wie auch Anthocyanzusammensetzung zeigen starke Sortenabhängigkeit.

Chalone und Dihydrochalone

Diese Phenole mit offenem Ringsystem sind für die Gattung *Malus* (z.B. Apfel) spezifisch.

Phenolcarbonsäuren (Nichtflavonoide)

In Früchten und Weintrauben sind Derivate der Benzoe- und der Zimtsäure enthalten. Die Phenolcarbonsäuren sind gut wasserlöslich und hauptsächlich im Saft der Früchte und Weinbeeren enthalten. Die Gehalte sind daher eher konstant und wenig von der Verarbeitungstechnologie abhängig. Phenolcarbonsäuren sind sehr stark oxidationsanfällig und daher effiziente Antioxidantien.

Hydroxybenzoesäuren (HBA)

Die chemische Struktur lautet C6-C1, allgemein sind sie sehr oxidationsanfällig und weisen i.d.R. einen herb-säuerlichen Geschmack auf. Sie sind weitverbreitet in Pflanzen z.B. als Bestandteil des Lignins. In Trauben sind die Gehalte eher gering, es kommen hauptsächlich Gallussäure, Vanillinsäure, Salicylsäure, p-Hydroxybenzoesäure und Protocatechussäure vor.

Hydroxymzimtsäuren (HCA)

In Trauben kommen hauptsächlich Derivate der Kaffeesäure, para-Cumarsäure und Ferulasäure vor, die allesamt zumeist mit Weinsäure verestert sind. Aufgrund der Doppelbindung gibt es in der Natur zwei optisch aktive Formen: *trans*- und *cis*-HCA's. Üblicherweise überwiegt die *trans*-Form, die Umwandlung erfolgt sehr leicht z.B. durch Licht. Die Gehalte (mg/l) gebundener HCA's in Traubensaft sind abhängig von Sorte und Reife (Tab. 1).

Stilbene

Es handelt sich hierbei um Phytoalexine mit fungistatischer bzw. fungizider Wir-

kung und hoher antioxidativer Wirkung. Die Grundstruktur ist C6-C2-C6. Bekannteste Stilbene in der Rebe sind die Resveratrole, es gibt 4 monomere Formen (frei bzw. gebunden; *trans*- bzw. *cis*-Form), sowie mehrere Dimere und Oligomere z.B. Viniferin. Diese Substanzen weisen eine positive gesundheitliche Wirkung auf. Im Rahmen von *in vitro* Tests wurde mehrfach eine Verringerung des negativen LDL-Cholesterins und eine Erhöhung des positiven HDL-Cholesterins nachgewiesen. Infolge kommt es zu einer verringerten Verklumpung der Blutgefäße und zu einem geringeren Herzinfarktrisiko = „Französisches Paradoxon“. Die Gesamt-Resveratrolgehalte liegen im Weißwein i.d.R. unter 1mg/l und im Rotwein zwischen 4 - 12 mg/l.

Flüchtige Phenole

Es ist dies eine Gruppe aromawirksamer Substanzen, die zum Teil aus dem mikrobiologischen Abbau von Hydroxymzimtsäuren (Ethylphenole, Vinylphenole) sowie andererseits aus dem thermischen Abbau von Lignin (z.B. Vanillin, Eugenol, Syringaldehyd) stammen. Während die erste Gruppe bei Überschreitung von Schwellenwertkonzentrationen als unangenehm und fehlerhaft (Pferdeschweißton) angesehen wird, verleihen Vertreter der zweiten Gruppe, insbesondere Barriqueweinen, zusätzliche erwünschte Aromen.

Polymere phenole

Polymerisierte Phenole sind größere, höhermolekulare Verbindungen, die durch Kondensation mehrerer, einzelner Phenole entstanden sind.

Sie haben insbesondere eine sauerstoff-einfangende Wirkung (Radikalfänger). Dies ist positiv für die menschliche Gesundheit, da u.a. das Herzinfarktrisiko verringert wird. Weiters wirken sie eiweißdenaturierend (= gerbend) und können daher zum Verheilen von Wundflächen eingesetzt werden. Aufgrund der adstringierenden Wirkung wirken sie auf Schleimhäute oder Wunden zusammen-

ziehend und werden als blutstillende Mittel verwendet. Ernährungsphysiologisch weisen sie einen bitteren Geschmack und eine antinutritive Wirkung auf. (z.B. beeinträchtigte Verwendung von Sorghum als Futtermittel durch Proteinfällung).

Kondensierte Tannine = Proanthocyanidine

Die nichthydrolysierbaren Tannine sind unterschiedlich polymerisierte Flavan-3-ole bzw. Flavan-3,4-diole (Leukoanthocyanidine). Grundbausteine sind zumeist (+)-Catechin und (-)-Epicatechin, gelegentlich (+)-Gallocatechin und (-)-Epigallocatechin. Ausschließlich in der Rebe kommt (-)-Epicatechin-3-O-gallat vor, dies hat keine gerbende Wirkung. Sie sind hauptverantwortlich für den bitteren, adstringierenden Geschmack von Wein, Säften und Obstwein. Die Gehalte in Wein liegen zwischen 50-100 mg/l. Größtenteils kommen sie in Samen und Kernen vor, geringe Gehalte findet man in den Schalen und etwas im Saft.

Hydrolysierbare Tannine

Dies sind komplexe Polyphenole, die zumeist durch Veresterung von Gallussäure und/oder Hexahydroxydiphensäure (Vorstufe der Ellagsäure) mit Glukose entstanden sind. Unter hydrolytischen Bedingungen (sauer, alkalisch oder enzymatisch) können sie wiederum abgebaut werden. Wenn Gallussäure freigesetzt wird, spricht man von Gallotannin, wenn Ellagsäure freigesetzt wird, von Ellagtannin. Hydrolysierbare Tannine kommen lediglich in Baumgewebe (z.B. Eiche, Kastanien) und einigen Früchten (Himbeere, Brombeere) vor, in der Rebe hingegen fehlen sie. Hydrolysierbare Tannine im Wein stammen daher entweder vom Holzfass oder durch Zusatz von Präparaten (z.B. Tannine, Chips).

Analytik der Phenole

Die gebräuchlichste Methode ist die photometrische Bestimmung nach Folin-Ciocalteu mit oder ohne Probenvorbereitung. Der ebenfalls photometrisch ermittelte Vanillin-Index ist nur für Flavonoide spezifisch. Durch verschiedene Vorfraktionierungen können diese beiden Analysen spezifischer gestaltet werden (z.B. polymere Farbstoffe, Gelatinindex).

Tabelle 1: Gehaltegebundener HCA's in Traubensaft (mg/l)

	Weißweinsorten	Rotweinsorten
Caffeoyl-Weinsäure	16 - 299	50 - 435
Cumaroyl-Weinsäure	1 - 25	7 - 42
Feruoyl-Weinsäure	1 - 16	2 - 30

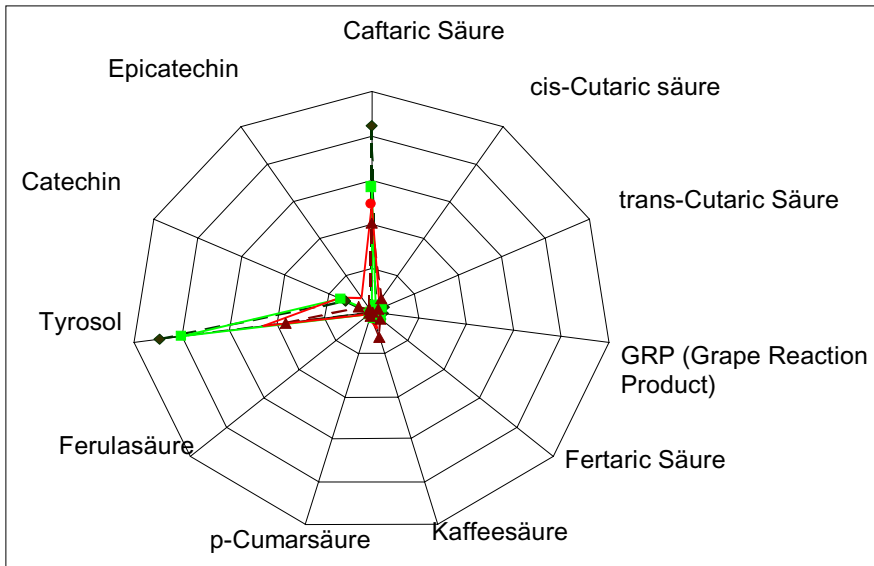


Abbildung 1: Mittels HPLC ermittelte Phenolzusammensetzung von Weinen der Sorte Weissburgunder

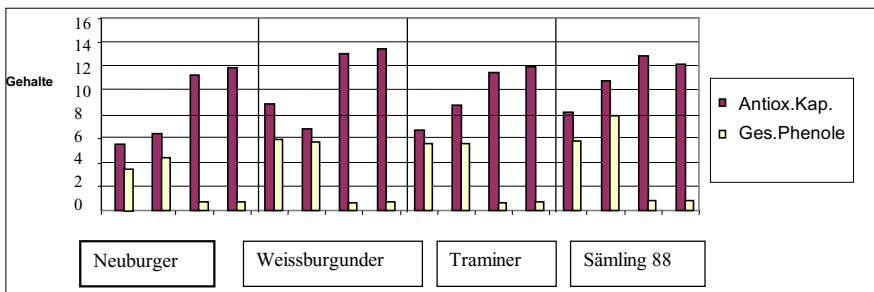


Abbildung 2: Antioxidative Kapazität (mmol Troloxäquivalent) und Gesamtphenolgehalt (Folin-Ciocalteu) von Weinen verschiedener Sorten. Pro Sorte: 1. Wert = frühe Ernte, entblättert, 2. Wert = frühe Ernte, nicht entblättert, 3. Wert = späte Ernte, entblättert, 4. Wert = späte Ernte, nicht entblättert

Um detaillierte Erkenntnisse über die Gehalte an Phenolcarbonsäuren und Flavonoide zu erhalten, sind HPLC-Methoden erforderlich. Bewährt hat sich eine Direkteinspritzung (0,45 µm) auf zwei Narrow Bore Säulen (HP ODS Hypersil RP C18 (200x2,1), 5µ + (100x2,1), 5µ), mit einer Säulenofentemperatur von 40°C und einem Laufmittelgradienten aus 0,5 %iger Ameisensäure (pH=2,3) und Methanol. Die Flussrate beträgt 0,2 ml/min, die Detektion erfolgt bei 320 nm. Die Bestimmung der Anthocyane erfolgt aus SPE vorgereinigten Proben mittels RP-HPLC (LiChrospher RP-C18), einem sauren Laufmittelgradienten und Detektion bei 520 nm.

Phenolzusammensetzung von Weinen

Die phenolische Zusammensetzung von vier Weinen der Sorte Weissburgunder, Jahrgang 2000, Standort Klosterneuburg, die sich nur hinsichtlich Lesezeit-

punkt und Stockbelastung unterschieden haben, wird in *Abbildung 1* dargestellt. Es ist ersichtlich, dass mengenmäßig Caftaric Säure und Tyrosol die Hauptphenole sind, alle anderen sind untergeordnet. Mit späterem Lesetermin nimmt der Gehalt an den beiden Hauptphenolen ab, während die freie Kaffeesäure zunimmt.

Gesundheitliche Bedeutung

Schon seit längerem ist bekannt, dass Phenole positive Effekte auf die Gesundheit haben. Insbesondere weisen sie eine antioxidative Wirkung als Radikalfänger auf und verringern die Oxidation von LDL-Cholesterin, wodurch das Arteriosklerose-Risiko reduziert wird. Sie wirken krebsvorbeugend, insbesondere gegen Hautkrebs und sind antihepatotoxisch, antitumorigen und antiinflammatorisch. Nicht umsonst wurden die Phe-

nole früher als „Vitamin P“ (Permeabilität oder Phenol) bezeichnet. Aber auch negative Effekte z.B. die antinutritative (Ballaststoff) und möglicherweise karzinogene (Magenkrebs) Wirkung werden beschrieben.

Die gesundheitliche Bedeutung der Phenole wurde insbesondere im Zusammenhang mit dem sogenannten „Französischen Paradoxen“ evident. Medizinisch-statistische Untersuchungen der Bevölkerungen verschiedener Länder ergaben, dass grundsätzlich zwischen (Milch)-Fettkonsum und der Häufigkeit von Herzerkrankungen ein linearer Zusammenhang besteht, wobei jedoch Frankreich (und die Schweiz) auffällige Ausnahmen darstellen. Die von der linearen Korrelation abweichende geringere Herzerkrankungsrate wird überwiegend den spezifischen Ernährungsgewohnheiten (z.B. mediterrane Diät, moderater Weinkonsum) zugeschrieben.

Als Hauptursache für Herzerkrankungen wird die Reizung und Beschädigung von Blutgefäßmembranen durch reaktive Sauerstoffspezies und Radikale angesehen. Der menschliche Körper verfügt nun über verschiedene antioxidative Strategien zur Zerstörung der aggressiven Oxidantien. Einerseits sind dies antioxidativ wirkende Enzyme wie z.B. Superoxiddismutase, Katalasen, Peroxidasen, Glutathionperoxidase und andererseits antioxidativ wirkende Substanzen, wie beispielsweise β-Carotin, L-Ascorbinsäure, Tocopherol, Flavonoide, Phenolcarbonsäuren, Glutathion und Chlorophylle.

Die als Vitamine wirkenden Substanzen sowie die phenolischen Inhaltsstoffe können dem menschlichen Organismus in Form von Nahrung zugeführt werden, wodurch das antioxidative Abwehrsystem des Körpers unterstützt wird.

Trauben und Weine enthalten i.d.R. hohe Gehalte phenolischer Inhaltsstoffe, sodass diese Produkte eine hohe antioxidative Wirkungskapazität aufweisen. Die Bedeutung von L-Ascorbinsäure (Vitamin C) für die antioxidative Kapazität ist relativ gering. Untersuchungen der antioxidativen Aktivität haben gezeigt, dass sowohl Weiß- wie auch Rotweine effizienter sind als die Vergleichssubstanz Tocopherol (Vitamin E). Weiters kann festgestellt werden, dass die in Weißwein

vorliegenden (phenolischen) Substanzen grundsätzlich eine höhere Wirksamkeit aufweisen, als jene von Rotweinen. Dies kann auf den geringeren Polymerisationsgrad der Phenole und den somit höheren Anteil freier, reaktiver Seitenketten in Weißweinen zurückgeführt werden. Da jedoch die Phenolkonzentration in Rotweinen i.d.R. 10 mal so hoch ist wie in Weißweinen (Weißwein ca. 1 µmol/l, Rotwein ca. 10 µmol/l), ist insgesamt gesehen die antioxidative Wirkung von Rotweinen größer als die von Weißweinen.

Bestimmung der anti-oxidativen Kapazität in Weinen

Für die Untersuchungen wurde ein Testset der Firma Randox verwendet, bei dem ABTS durch Peroxidase (=Metmyoglobin) und H₂O₂ in das radikale Kation ABTS^{•+} umgewandelt wird, welches eine stabile blau-grüne Farbe (600 nm) hat. Antioxidativ wirkende Substanzen in der Probe unterdrücken die Farbauscheidung direkt proportional. Das Ergebnis wird in mmol/l TROLOX-Äquivalent angege-

ben. Ein Kontrollstandard ist in dem Testset inkludiert. Die Analyse erfolgt mittels Pipettierschema analog zu einem Boehringer Enzymatik Set. Die Dauer einer Analyse beträgt ca. 10 min, der Nettopreis ca. 15 Euro pro Analyse.

Die in *Abbildung 2* beispielhaft dargestellten Ergebnisse, zeigen deutlich, dass bei späterer Ernte höhere Werte an antioxidativer Kapazität in den Weinen vorhanden sind. Auch ist erkennbar, dass eine spätere Lese eine Verringerung der mittels Folin Ciocalteu Reagenz bestimmbaren Phenole bewirkt.