

High-Resolution Respirometry



OROBOROS
INSTRUMENTS
www.Oroboros.at

Weinatmung

Erich Gnaiger
Oroboros Instruments
High-Resolution Respirometry
Schöpfstr 18
A-6020 Innsbruck, Austria
Email: erich.gnaiger@orooboros.at

Summary: Respiration of wine is a widely considered process for quality improvement upon opening the bottle, yet any scientific approach towards experimental determination of the corresponding oxygen consumption is lacking. High-resolution respirometry was applied for the first time to quantify the rate of respiration in wine, combined with a test for antioxidative capacity upon addition of ascorbic acid. Respiration ranged from 1 to 7 pmol O₂·s⁻¹·mL⁻¹ in various wines, which is far below the limit of detection in conventional respirometers. Respiration was lowest in a white wine and highest in high-quality red wines. Low respiration of low-quality red wines was stimulated by ascorbate, whereas the antioxidative capacity of high-quality red wines prevented stimulation of respiration by ascorbate. High-resolution respirometry provides a sensitive tool for the quantitative determination of wine respiration as a basis for quality control of wine.

WEinführung

Wein kommt nach dem Öffnen der Flasche in Kontakt mit Luftsauerstoff, was durch Dekantieren in breitbauchige, halbgefüllte Karaffen verstärkt wird. Das Belüften ist eine Begleiterscheinung des Dekantierens, wenn alter Wein vom Depot (Bodensatz) getrennt wird. Doch werden besonders jüngere Weine zur Reifung der Tannine gezielt belüftet. Die Entwicklung von Aromen durch Luftatmung ist als "Öffnen" des Weins bekannt. Ausmaß und Dauer der Belüftung sind umstritten und müssen spezifisch auf jeden Wein abgestimmt werden. Weine verlieren bei zu ausgiebiger Berührung mit Luft ihre Frische und Fruchtigkeit.

Während der Monate oder Jahre der Lagerung nach der Füllung zehrt der Wein den in der Flasche befindlichen Sauerstoff auf. Im Augenblick des Entkorkens können Oxidationsprozesse besonders aktiv verlaufen. Die Quantifizierung der Luftatmung frisch geöffneten Weines ist unseres Wissens - nach bis Bordeaux ausgedehnten Recherchen - bis heute noch nicht erfolgt. Generell gilt, dass die

"*chemischen Reaktionen des Weins nach dem Ausschneiden aus der Flasche von der Wissenschaft bislang nicht detailliert erforscht*" wurden (1). Die Bestimmung der Atmung des Weines stellt deshalb eine Herausforderung für die High-Resolution Respirometry mit dem OROBOROS Oxygraphen dar.

Drei Fragen sollen geklärt werden: (1) Ist die Atmung des Weines mit der hochauflösenden Respirometrie meßbar oder liegt die Atmungsintensität unter der Nachweisbarkeitsgrenze? (2) Ist die Atmungsintensität ausgewählter Weinsorten unterschiedlich ausgeprägt? (3) Was ist die autokatalytische Atmungskapazität des Weines? Mit dieser Frage wird ein generell für Wein neues, in der Literatur bisher nicht beschriebenes Konzept eingeführt. Die autokatalytische Kapazität der Weinatmung soll nach Zugabe eines oxidierbaren Inhaltsstoffes ermittelt werden. Können aus diesen quantitativen Bestimmungen für den Wein charakteristische Informationen abgeleitet werden?

Material und Methoden

Als Rotweine wurden Grave Cabernet (2000, 12% Vol., Il Primo, San Simone, Friuli), Blaufränkisch und Cabernet Sauvignon (1996, 13.5% Vol., Julia, Arkadenhof Wachter, Deutschschützen), sowie Alter Knabe (12% Vol.) und „Landwein“ (11.5% Vol.) getestet. Zum Vergleich wurde ein trockener Weisswein herangezogen, Bouvier (2000, 11.5% Vol., Primus, Terra Galos, Gols).

Das Versuchsprotokoll basiert auf unserer Erfahrung der Messung der Autooxidation reduzierter Substanzen in Lösungen, die klinisch für die Organpräservierung herangezogen werden (2). Unmittelbar nach Entkorken wurden die Weinproben aus den Flaschen pipettiert, in die Oxygraph-Meßkammer eingebracht und nach Verschuß im Kontakt mit Luft gerührt, bis sich die Temperatur stabilisierte und eine ausreichend hohe Anreicherung mit Luftsauerstoff stattgefunden hat (>50% Luftsättigung; O₂-Konzentrationsbereich von 155 bis 165 µM). Danach wurde die Meßkammer unter Luftausschluß verschlossen und die Atmung des Weines gemessen. Eine für Wein überhöhte Standardtemperatur von 25 °C wurde gewählt, da die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Temperatur ansteigt. Die autokatalytische Kapazität des Weines wurde durch die Atmungsmessung nach Zugabe von Ascorbat (2 mmol/L) bestimmt.

Die Sauerstofflöslichkeit von Wasser bei 25 °C (12.56 µM·kPa⁻¹) wurde für die Sauerstoffkalibrierung herangezogen. Für die Korrektur des instrumentellen Sauerstoffverbrauchs wurden Standardwerte der linearen Beziehung zwischen instrumentellem Nullwert und Sauerstoffkonzentration benützt (Schnittpunkt, $a^0 = -2.0 \text{ pmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-3}$; Steigung, $b^0 = 0.020\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; cf. Ref. 3,4). Für die graphische Darstellung wurden die Daten (1 Wert pro Sekunde) geglättet (100-Punkte Moving Average).

Ergebnisse

Die Resultate der Weinatmung und der Stimulation durch Ascorbatzugabe sind in Tabelle 1 und Abbildung 1 zusammengestellt. Die hohe Reproduzierbarkeit (Abb. 1) weist auf signifikante Unterschiede zwischen Rot- und Weisswein (Abb. 2), und zwischen Rotweinen verschiedener Qualität (Abb. 1 und 2 gegenüber Abb.3).

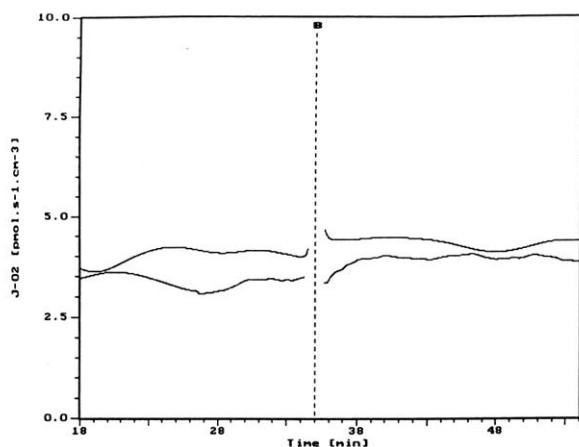


Abb. 1. Atmung des Rotweins Julia 1996 (13.5% Vol). Hohe Reproduzierbarkeit der Messung in zwei verschiedenen Oxygraph-Kammern. Kein Effekt durch Zugabe von Vitamin C (Markierung B).

Fig. 1. Respiration of red wine Julia 1996 (13.5% vol). High reproducibility of measurement in two different Oxygraph chambers. No effect of added ascorbate (indicated by B).

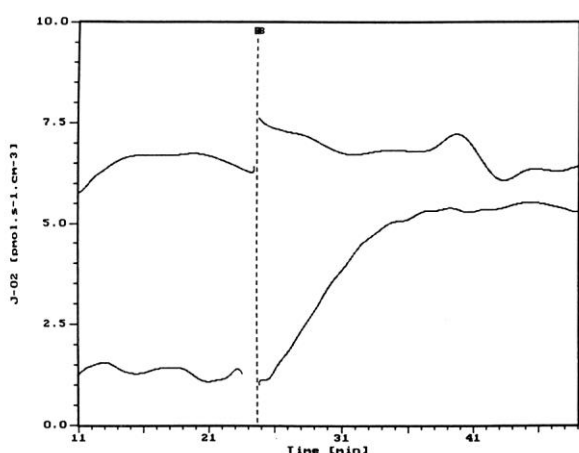


Abb. 2. Vergleich der Atmung des Rotweines Grave Cabernet 2000, 12% Vol. (obere Kurve: hohe Atmung, kein Effekt von Vitamin C) und Weisswein Bouvier 2000, 11.5% Vol. (untere Kurve: niedrigere Atmung, starker Effekt von Vitamin C).

Fig. 2. Comparison of respiration of red wine Grave Cabernet 2000, 12% vol. (top: high respiration, no effect of ascorbate) and white wine Bouvier 2000, 11.5% vol. (bottom: low respiration, large effect of ascorbate).

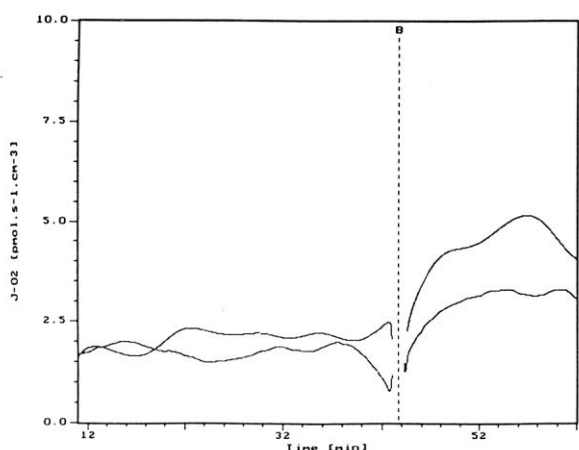


Abb. 3. Atmung vergleichbar billiger Rotweine: Alter Knabe (12% Vol.) und Landwein (11.5% Vol.). Niedere Atmung und signifikante Stimulation nach Zugabe von Vitamin C.

Fig. 3. Respiration of two similarly cheap red wines: Alter Knabe (12% vol.) and Landwein (11.5% vol.). Low respiration and significant stimulatory effect of added ascorbate.

Diskussion

Die Höhe der Atmungsintensität des Weines war ohne experimentelle Bestimmung nicht vorhersagbar. Mit der Methode der hochauflösenden Respirometrie gelang erstmals der Nachweis, dass die Weinatmung unmittelbar nach Öffnen der Flasche quantitativ bestimmbar ist und dass sich Weine verschiedener Qualität in der Intensität der Weinatmung signifikant unterscheiden. Die Weinatmung lag unterhalb der Nachweisbarkeitsgrenze jedes kommerziellen, außerhalb der

Tabelle 1. Weinatmung bei 25 °C

Wine	Oxygraph chamber	Respiration [$\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-3}$]	Respiration + 2 mM ascorbate [$\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-3}$]	Stimulation by 2 mM ascorbate [$\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-3}$]
Bouvier 2000 Primus Terra Galos. White, 11.5% vol.	A2	1.4 ± 0.9	5.3 ± 0.9	3.9
Grave Cabernet 2000 Friuli. Red, 12% vol.	B2	6.6 ± 0.8	6.7 ± 1.1	0.1
Julia 1996 Blaifränkisch und Cabernet Sauvignon. Red, 13.5% vol.	A3	3.4 ± 0.9	4.0 ± 1.0	0.6
	B3	4.2 ± 0.9	4.3 ± 1.0	0.1
Landwein. Red, 11.5% vol.	A4	2.2 ± 1.3	4.5 ± 1.4	2.3
Alter Knabe. Red, 12% vol.	B4	1.7 ± 0.8	3.1 ± 1.0	1.4

Spezifikation der hochauflösenden Respirometrie bewerteten Oxygraphen. Mit dem OROBOROS Oxygraphen kann die Weinatmung jedoch im Routinebetrieb und mit den durch DatLab unterstützten Analyseverfahren exakt bestimmt werden.

Erwartungsgemäß lag die Weinatmung der guten Rotweine über der eines trockenen Weissweines (Abb. 2). Ein schon etwas gereifter Rotwein (Julia, 1996) mag gegenüber einem ganz jungen (Grave Cabernet, 2000) bereits etwas an Atmungsintensität abgebaut haben, ohne jedoch die antioxidative Kapazität einzubüßen (Abb. 1 und 2).

Die Weinatmung wird von vielen Faktoren bestimmt. Einerseits beeinflussen Zusammensetzung und Konzentration der oxidierbaren Inhaltsstoffe die Atmung, andererseits wird diese durch die autokatalytische Kapazität des Weines bestimmt. Letztere wurde nach Zugabe einer hohen Ascorbatkonzentration quantifiziert und war bei dem getesteten Weisswein maximal, während die qualitativ hochstehenden Rotweine innerhalb der Nachweisbarkeitsgrenze die Autoxidation von Ascorbat durch ihre hohe Antioxidantienkapazität auf ein Minimum reduzierten. Die billigen Rotweine zeigten nicht nur eine reduzierte Atmungsintensität, sondern waren durch Ascorbatzugabe signifikant stimulierbar. Neben dem Mineralstoffgehalt beeinflusst besonders der Alkoholgehalt (11.5-13.5% Vol.) die Sauerstofflöslichkeit des Weines, was für eine detailliertere Studie bei der Kalibrierung des Sauerstoffsensors im Oxygraphen zu berücksichtigen ist.

Von den mehr als 1000, teils bis heute noch nicht genau analysierten Inhaltsstoffen des Weines reagieren viele mit Sauerstoff, wobei die Veresterung von Säuren und Alkoholen zu aromatischen und geschmacklichen Veränderungen führt. Bereits bei der Gärung und Reifung werden etliche oxidierbare Bestandteile völlig abgebaut. Dies gilt etwa für Ascorbinsäure (Vitamin C), welche im Most mit 38-95

mg/L (0.2-0.5 mmol/L) enthalten ist. Die Autooxidation organischer Bestandteile kann durch Mineralstoffe (Eisen: 2-20 mg/L) beschleunigt werden. Tannine hingegen (Gerbstoffe; Polyphenole, 0.1-5 g/L), die entweder aus den Schalen, dem Fruchtfleisch und den Stielen der Traube oder dem Holz der Fässer stammen, wirken als Antioxidantien stabilisierend. Deshalb sollten sehr alte Rotweine, deren Tannine weitgehend polymerisiert und als Sediment auf den Flaschenboden gesunken sind, niemals Stunden sondern erst unmittelbar vor Genuss vorsichtig in eine kleinvolumige Karaffe dekantiert werden. Junge Rotweine und im Holzfaß vergorene und ausgebaute Weissweine mit reichem Tanningehalt sollten jedoch mehrere Stunden nach dem Öffnen atmen können (1). Polyphenole sind als effektive Peroxylradikalfänger bekannt, welche durch ihre antioxidative Kapazität zur wirksamen Milderung des Ischaemie-Reperfusionsschadens des Herzens beitragen (5). Die wissenschaftliche Basis der von Weinkennern bezeugten Zusammenhänge zwischen Weinatmung und Weinqualität kann mittels der hochauflösenden Respirometrie erarbeitet werden, was einen Beitrag zur quantitativen Qualitätskontrolle des Weines liefern kann.

Literatur

1. Dominé A (2000) *Wein*. Könemann Verlagsgesellschaft, Köln. 960 Seiten.
2. Gnaiger E, Kuznetsov AV, Königsrainer A, Margreiter R (2000) Autooxidation of glutathione in organ preservation solutions. *Transplant Proc* 32:14.
3. Gnaiger E, Méndez G, Hand SC (2000) High phosphorylation efficiency and depression of uncoupled respiration in mitochondria under hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:11080-5.
4. Gnaiger E (2001) Bioenergetics at low oxygen: dependence of respiration and phosphorylation on oxygen and adenosine diphosphate supply. *Respir Physiol* 128:277-97.
5. Ray PS, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Bertelli A, Das DK (1999) The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 27:160-69.
6. Für die gastronomische Beratung bedanken wir uns bei Herrn Georg Bliem, Restaurant Rififi, Innsbruck.