

Automatisierung von Weingärungen mittels On-Line Enzymanalyser zur Bestimmung von Glucose und Fructose



Rheinland-Pfalz

Dienstleistungszentrum
Ländlicher Raum
Rheinpfalz

Matthias Kowalczyk¹, Dominik Durner¹, Michael Hartlep²

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland-Pfalz, Institut für Weinbau und Oenologie, Breitenweg 71, 67435 Neustadt/Weinstraße, Deutschland

² Trace Analytics GmbH, Richard Wagner Str. 1, 38106 Braunschweig, Deutschland

Kontrollierte Gärung in der Weinbereitung

Die Optimierung der alkoholischen Gärungen in der Weinbereitung stellt keine einfache Aufgabe dar. Im Vergleich zu industriellen Fermentationen, bei denen vor allem eine maximale Ausbeute von Stoffwechselmetaboliten im Vordergrund steht, wird bei der Weinbereitung vor allem auf höchste Qualität des Endprodukts gelegt [1]. Um eine sichere Vergärung von Most zu Wein gewährleisten zu können, ist eine kontinuierliche Überwachung der Gärung Voraussetzung für die qualitätsorientierte Produktion von Wein. Auf dem Markt existieren zahlreiche Produkte, mit denen die alkoholische Gärung überwacht werden kann.

Off-Line vs. On-Line Analysen

Off-Line Analysen mittels Mostwaage oder Biegeschwinger stoßen aufgrund des hohen Arbeitsaufwands durch regelmäßige Probenentnahme an die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit. Die limitierte Anzahl an Messwerten erlaubt keine Anpassung der Solltemperatur an die Gärgeschwindigkeit. Zudem gibt die relative Dichte die Substratsatzrate der Hefe nur indirekt wieder. Um alkoholische Gärungen kontinuierlich überwachen und automatisieren zu können ist eine on-Line Analyse notwendig. Die Messung der CO₂-Bildung bildet die Substratsatzrate der Hefe ab. Das Prinzip der Staudruckmessung oder Kalorimetrie profitiert durch einen hohen Messbereich und hohe Genauigkeit. In kleineren Tankvolumina kommt es allerdings zu Messungenauigkeiten, zudem enthält die Gärbluft nicht nur CO₂ sondern auch Ethanol und H₂O. Abhängig von der Temperatur, der Dichte und dem pH-Wert verändert sich die Löslichkeit von CO₂ im Wein.



Abb. 1: Die CO₂-Konzentration während der Gärung kann durch verschiedene Verfahren ermittelt werden. Sensoren die mit dem Messprinzip der Staudruckmessung (links) oder der Kalorimetrie (rechts) arbeiten, finden in der Weinbereitung bereits Verwendung. Aufgrund von Schaum oder Kondensat an/in der Sonde kann es zu Messfehlern kommen.

Enzymatisch-amperometrisches Messprinzip

Um exakte Aussagen über die Substratsatzrate der Hefen machen zu können müssen die direkten Stoffwechselfparameter Glucose und Fructose gemessen werden. Eine zuverlässige Möglichkeit ist die enzymatische Umsetzung der Zucker.

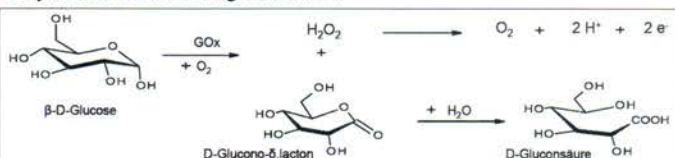


Abb. 2: Einstufige Umsetzung von Glucose durch Glucoseoxidase (GOx) (EC 1.1.3.4), das entstehende H₂O₂ wird an der Platinelektrode anodisch oxidiert, die dabei frei werdenden Elektronen ermöglichen eine amperometrische Messung.

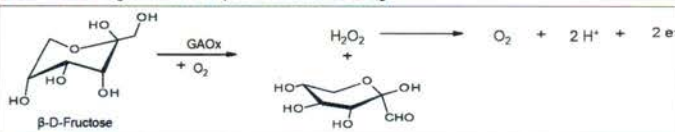


Abb. 3: Einstufige Umsetzung von Fructose durch Galactoseoxidase (GAOx) (EC 1.1.3.9) [2], das entstehende H₂O₂ wird an der Platinelektrode anodisch oxidiert, die dabei frei werdenden Elektronen ermöglichen eine amperometrische Messung.

Die Oxidasen sind auf jeweils einer Platinelektrode in einem Sensor immobilisiert und durch eine Katalaseschicht von einander getrennt.

Dieser 2-Kanal-Enzymsensor ist in ein Fließdiffusionssystem integriert, bei dem ein konstanter Pufferstrom herrscht. Glucose und Fructose diffundieren durch eine Dialysemembran und werden über die stop-flow-Methode angereichert. Die Analyten werden über den Pufferstrom zum Biosensor weitergeleitet.

Automatisierte Weingärung mittels On-Line Enzymanalyser



Abb. 4: Automatisierte enzymatische Messung von Glucose und Fructose während der Vergärung von Most

Die autoklavierbare Dialysesonde ist dauerhaft im Gärbehälter installiert. Dadurch werden die Analyten selektiv vom gärenden Most getrennt, pH neutral gelöst und verdünnt. Eine automatisierte Probenentnahme (3 min) erfolgt ohne Probenverlust. Die Messwerte werden on-Line angezeigt. Bei bisherige Versuchen konnte keine Anlagerung von Weinstein an der Edelstahlsonde festgestellt werden.

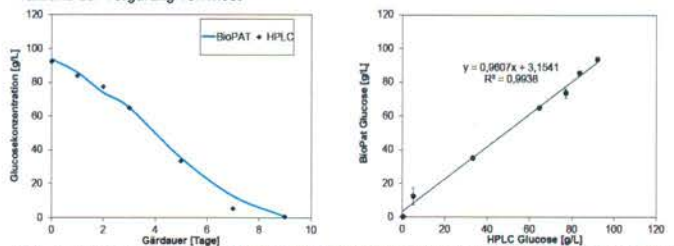


Abb. 5: Anwendung der enzymatisch-amperometrischen Zuckermessung während der Gärung von Most. On-Line Glucosemessung (3-min Intervalle) während der Gärung eines 2015er Riesling im Vgl. zur HPLC-Analytik

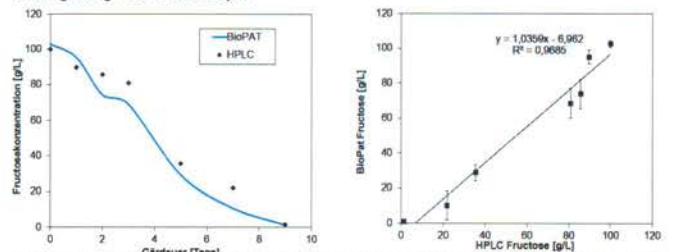


Abb. 6: Anwendung der enzymatisch-amperometrischen Zuckermessung während der Gärung von Most. On-Line Fructosemessung (3-min Intervalle) während der Gärung eines 2015er Riesling im Vgl. zur HPLC-Analytik

Während der Gärung entstehendes Ethanol hat eine hemmende Wirkung auf Glucose- und Galactoseoxidase. Aufgrund dieser Repression wurde ein 15 % geringeres Signal für Glucose und 40 % geringeres Signal für Fructose gemessen. Eine Rekalibration könnte diesem Problem entgegen wirken.

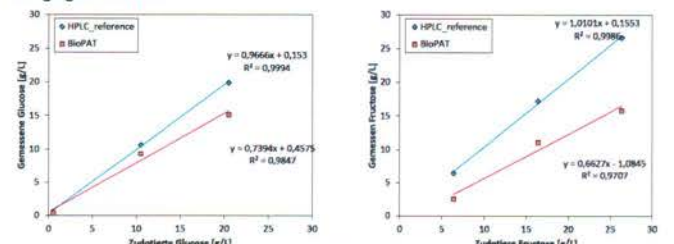


Abb. 7: Glucose- und Fructosemessung in 2014er Rivaner (103 g/L Ethanol). Aufdotiert mit jeweils 10 und 20 g/L Glucose und Fructose.

Quellen

- [1] J.M. Sablayrolles, Food Research International. 2008, 42, 418 – 424
- [2] V. Leskovac, S. Trivic, G. Wohlfahrt, J. Kandrac, D. Pericin, Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2004, 37, 731 – 750