

Bestimmung der Enzymaktivität von handelsüblichen Enzympräparaten

ELSA PATZL-FISCHERLEITNER und REINHARD EDER

Lehr- und Forschungszentrum für Wein- und Obstbau
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: Elsa.Fischerleitner@weinobst.at

Seit einigen Jahren müssen alle im österreichischen Handel verfügbaren Weinbehandlungsmittel, unter anderem auch Enzyme, bei den zuständigen Bundesämtern gemeldet und zugelassen werden. In Österreich existiert eine Liste aller offiziell gemeldeten Weinbehandlungsmittel. Diese umfasst mit Stand Mai 2009 insgesamt 1370 Einträge, von denen sich 179 auf Enzyme beziehen. Im Rahmen der Qualitätssicherung wird durch die Organe der Weinkontrolle stichprobenartig analytisch überprüft, ob diese Produkte den nationalen bzw. international vorgegebenen Spezifikationen entsprechen.

Der Zweck dieser Arbeit war, die Enzymaktivität der Polygalacturonase, der Pektinlyase, der Pektinmethylesterase, der Glycosidase und der Cinnamoylsterase von 56 in Österreich gemeldeten Enzympräparaten zu bestimmen. Die Analyse erfolgte mit den offiziellen spektroskopischen Verfahren nach O.I.V. und mit einigen Vergleichsmethoden. Es konnten teilweise Unterschiede zwischen den einzelnen Präparaten in der Aktivität der Polygalacturonase, der Pektinlyase und der Pektinmethylesterase festgestellt werden. Darüber hinaus ist bei einigen Produkten auch die aromafreisetzende Glycosidase wirksam. In Bezug auf die Cinnamoylsterase lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass diese in allen untersuchten Proben entweder nur äußerst gering oder gar nicht aktiv ist.

Schlagwörter: Pektolytische Enzymaktivität, Polygalacturonase, Pektinlyase, Pektinmethylesterase, Glycosidase, Cinnamoylsterase

Determination of enzymatic activities of commercial enzyme preparations. For a few years the registration of all agents used for wine treatment, including enzyme preparations, has been obligatory in Austria. According to the national legislation of Austria all official products are listed in a register. At the moment (May 2009) 1370 wine treating agents are registered in total, 179 of which are enzymatic preparations. Within the framework of quality management, the specifications, required by national legislation and the International Organisation of Vine and Wine, are randomly controlled analytically. The objective of this investigation was to determine and compare the activity of polygalacturonase, pectinlyase, pectinmethylesterase, glycosidase and cinnamoylsterase of 56 registered enzyme preparations. Experiments were carried out by means of the official spectroscopic methods of the O.I.V. and with some alternative methods. Differences in activity of polygalacturonase, pectinlyase, pectinmethylesterase were found between the commercial enzyme preparations. Furthermore in some products the glycosidase, which is known for releasing aromatic compounds, was effective. The results lead to the interpretation that cinnamoylsterase is only slightly or not active at all in all the tested preparations.

Key words: pectolytic enzymes, enzymatic activity, polygalacturonase, pectinlyase, pectinmethylesterase, glycosidase, cinnamoylsterase

Détermination de l'activité enzymatique de préparations enzymatiques en vente dans le commerce. Depuis quelques années, tous les produits de traitement du vin en vente dans le commerce autrichien, entre autres également les enzymes, doivent être déclarés auprès des offices fédéraux compétents et autorisés par ces derniers. Il existe en Autriche une liste de tous les produits de traitement du vin déclarés officiellement. En mai 2009, cette liste comprend au total 1370 entrées, dont 179 ont trait aux enzymes. Dans le cadre de l'assurance de la qualité, les organes de contrôle

du vin effectuent des contrôles analytiques par prélèvement d'échantillons afin de vérifier si ces produits sont conformes aux spécifications nationales et/ou internationales.

Le présent travail avait pour but de déterminer l'activité enzymatique de la polygalacturonase, de la pectine lyase, de la pectine-méthylestérase, de la glycosidase et de la cinnamoyl estérase dans 56 préparations enzymatiques déclarées en Autriche. L'analyse a été effectuée à l'aide des procédés spectroscopiques officiels, conformément aux méthodes d'analyse de l'O.I.V., et à l'aide de quelques méthodes comparatives. Dans certains cas, on a pu constater des divergences entre les différentes préparations, en ce qui concerne l'activité de la polygalacturonase, de la pectine lyase et de la pectine-méthylestérase. En outre, la glycosidase libérant les arômes agit également dans quelques produits. Quant à la cinnamoyl estérase, les résultats laissent supposer que l'activité de celle-ci est extrêmement faible ou même inexistante dans l'ensemble des échantillons examinés.

Mots clés: enzymes pectolytiques, activité enzymatique, polygalacturonase, pectine lyase, pectine-méthylestérase, glycosidase, cinnamoyl estérase

Schon seit sehr langer Zeit ist es in der Praxis üblich, während der Weinbereitung verschiedene Enzympräparate einzusetzen, um die Ausbeute beim Pressen zu erhöhen, Klär- und Filtrationsproblemen entgegenzuwirken, den Geschmack des Weines positiv zu beeinflussen, die Weine zu konservieren oder um das Entstehen kanzerogener Stoffe zu verhindern. Zu diesem Zweck gibt es eine Vielzahl von zugelassenen Enzympräparaten am Markt.

Zugelassen sind in der EU-Weinmarktverordnung 1493/99 zur Behandlung von Traubenmost pektolytische Enzympräparate mit allfälligen Nebenaktivitäten (z. B.: β -Glucosidase), enzymatische Zubereitungen von β -Glucanasen und der Zusatz von Lysozym. Im nationalen Weinrecht werden mit der Weinverordnung die Reinheitsanforderungen an die Enzympräparate geregelt. Seit einigen Jahren müssen alle im österreichischen Handel befindlichen Weinbehandlungsmittel bei den zuständigen Bundesämtern gemeldet und zugelassen werden. In Österreich existiert entsprechend dem österreichischen Weingesetz 1999 (§ 3, Abs. 4) eine Liste aller offiziell gemeldeten Weinbehandlungsmittel. Diese umfasst mit Stand Mai 2009 insgesamt 1370 Einträge, von denen sich 179 auf Enzyme beziehen.

Zur Ausbeutesteigerung beim Pressen werden häufig pektolytische Enzympräparate, wie Polygalacturonase, Pektinmethylesterase und Pektinlyase, entweder einzeln oder als Kombinationspräparate, verwendet. Pektine sind hochmolekulare Pflanzenstoffe, die aus glycosidisch verbundenen Galacturonsäureeinheiten bestehen. Diese sind zu 20 bis 80 % mit Methanol verestert (RÖMPP, 1995). Trauben haben einen sehr hohen Pektingehalt, aber nur eine geringe Aktivität an eigenen pektolytischen Enzymen. Zum Problem wird das, wenn in der Maische zu hohe Pektingehalte vorliegen. Dies ist oft der Fall, wenn unreifes oder teilweise ange-

faultes Lesegut verwendet wird. Außerdem kommt es, hauptsächlich bei der Vinifikation von Weißwein, durch zu schnelles und/oder zu kaltes Abpressen der Maische zu einer geringen Saftausbeute, da den traubeneigenen Enzymen die Zeit zum Pektinabbau fehlt. In solchen Fällen kann durch den Zusatz handelsüblicher Enzympräparate der Abbau des Pektins unterstützt und beschleunigt werden (TROOST, 1988).

Das Enzym Polygalacturonase (EC 3.2.1.15) spaltet Pektin in Galacturonsäure auf.

Die Pektinmethylesterase (EC 3.1.1.11) entfernt die Methylgruppen vom Pektin und ist daher verantwortlich für das Vorkommen von Methanol im Wein.

Die Pektinlyase (EC 4.2.2.10) baut hochmethyliertes Pektin durch β -Elimination methylierter Galacturonsäure ab.

Den Glucosidasen wird die Eigenschaft zugeschrieben, das Geschmacksbild des Weines positiv zu beeinflussen. In der Traube liegen die meisten sortencharakteristischen Aromastoffe (Terpenalkohole) als Glycoside gebunden vor. Durch die β -Glucosidaseaktivität der Hefe werden diese Aromastoffe während der Gärung vom Zuckerrest abgespalten. Erst in der ungebundenen Form kann das Aroma der Terpene wahrgenommen werden (GÜNATA et al., 1988; GROSSMANN et al., 1987).

Die β -Glucosidase (EC 3.2.1.21) ist manchmal in pektolytischen Enzympräparaten vorhanden, und ihre Wirkungsweise wird von den Herstellern als positive Nebenwirkung beworben („Aroma-Enzyme“). Hohe β -Glucosidaseaktivitäten in Hefen sind bei Weißweinen aus Aromasorten durchaus erwünscht, bei Rotweinausbeute hingegen auf Grund der Farbstoff spaltenden Wirkung unerwünscht (EDER et al., 1992). In der EU-Weinmarktverordnung 1493/99 sind β -Glucosidasepräparate in reiner Form für die Weinbereitung nicht zugelassen,

sondern nur als Nebenaktivität in pektolytischen Enzympräparaten.

Als negative Begleitenzyme der Pektinasen können in handelsüblichen Enzympräparaten Cinnamoylsterasen (EC 3.1.1.42), früher auch als Depsidasen bezeichnet, vorkommen. Diese führen im Most zur Freisetzung von para-Cumarsäure und Ferulasäure, die wiederum durch Mikroorganismen decarboxyliert und zu flüchtigen Phenolen reduziert werden können, was zur Bildung von Fehlparfums im Wein beiträgt (HERRAIZ et al., 1990).

Die Wirksamkeit von Enzymen ist im Allgemeinen stark abhängig von Temperatur, pH-Wert des Weines, Einwirkzeit und Menge des eingesetzten Enzympräparats, wobei jedes Enzym auf Umwelteinflüsse individuell reagiert. Das Temperaturoptimum pektolytischer Enzympräparate liegt bei 35 bis 50 °C, als Mindesttemperatur wird üblicherweise 15 °C angegeben. Temperaturen, die 55 bis 60 °C übersteigen, sollten vermieden werden, da die Enzyme bei zu hohen Temperaturen denaturiert werden und dann nicht mehr wirksam sind (TROOST, 1988). Einen negativen Einfluss auf die Aktivität der pektolytischen Enzympräparate können auch hohe Gerbstoffgehalte und schweflige Säure haben (TROOST, 1988).

Das pH-Optimum der pektolytischen Enzympräparate, Glucanasen und von Lysozym liegt zwischen 3 und 4, was mit den üblichen pH-Werten im Most gut übereinstimmt. Die Glucosidase hat ihre größte Aktivität bei pH-Werten von 5,0 bis 5,5, daher ist ihr Beitrag zur Aromafreisetzung umso geringer, je tiefer der pH-Wert des Mostes liegt (GÜNATA, et al., 1990).

Material und Methoden

Untersucht wurden 56 im Handel befindliche Enzympräparate auf ihre Aktivität der Polygalacturonase, der Pektinlyase, der Pektinmethylesterase, der Glucosidase und der Cinnamoylsterase. Von den acht unterschiedlichen Herstellern wurden 41 Proben als pektolytisches Enzym oder Pektinase und 15 als Enzympräparat bezeichnet. Auf den Verpackungen von vier Proben war eine Glucosidasenebenaktivität vermerkt. Zwei Drittel der Proben waren mit der Angabe „depsidasefrei“, „ohne Cinnamoylsteraseaktivität“ oder „frei von unerwünschten Aktivitäten“ versehen.

Die Analyse erfolgte anhand spektroskopischer Verfahren mittels Photometer, nach modifizierter Vorschrift der Analysenmethoden der Internationalen Or-

ganisation für Rebe und Wein (O.I.V.) und einiger Vergleichsmethoden.

Bestimmung der Polygalacturonaseaktivität

Die Bestimmung der Aktivität der Polygalacturonase erfolgte mit der Analysenvorschrift der O.I.V. nach der modifizierten Methode von NELSON (1944). Zur Auswertung wurden die nach der Reaktionszeit von 5 Minuten ermittelten Ergebnisse herangezogen.

Außerdem wurde die Aktivität mit der geringfügig veränderten Bestimmungsmethode mit 2-Cyanoacetamid von BACH und SCHOLLMAYER (1992) analysiert. Für die enzymatische Hydrolyse wurden 10 ml Polygalacturonsäurelösung (5 g/l Polygalacturonsäure in Na-Citrat/HCl-Puffer (pH 4)) auf 40 °C erwärmt. Anschließend wurden 0,01 g Probe zugesetzt, gemischt und bei 40 °C inkubiert. Nach exakt 5 und 10 Minuten wurden 500 µl des Reaktionsgemischs entnommen und sofort in vorgewärmten Eprövetten 10 Minuten bei 100 °C erhitzt, um die Reaktion zu stoppen. Danach wurden 250 µl dieser Lösung mit Wasser auf ein Gesamtvolumen von 25 ml verdünnt. Zur Ermittlung des Blindwertes wurde nach gleichem Schema vorgegangen, mit dem Unterschied, dass die Enzymprobe vor der Analyse durch Erhitzen (10 Minuten bei 100 °C) denaturiert wurde. Die Ergebnisse wurden wie folgt berechnet:

$$\text{Aktivität (U/g)} = q/t/v/c;$$

$$\text{Aktivität (nkat/g)} = q/t/v/c * 1000/60$$

q = Menge an Galacturonsäure in µmol

t = Zeit in min

v = Menge der zugesetzten Enzymlösung in ml

c = Konzentration der Enzymlösung in g/l

Bestimmung der Pektinmethylesteraseaktivität

Die Bestimmung der Aktivität der Pektinmethylesterase erfolgte mit der Analysenvorschrift der O.I.V. nach der modifizierten Methode von KLAVONS und BENNET (1986). Zur Auswertung wurden die nach der Reaktionszeit von 5 Minuten ermittelten Ergebnisse herangezogen.

Darüber hinaus wurde die Aktivität durch Titration der durch Methanolabspaltung am Pektin freigegebenen Carboxylgruppen mit Natronlauge ermittelt. Dazu wurden 20 ml Substratlösung (1 % Pektin in 100 mM NaCl; pH 4,1) auf 40 °C erhitzt. Danach wurden 0,1 ml Enzymlösung (ca. 0,5 g/l Enzympräparat in H₂O) zugesetzt und die Reaktion gestartet. Während der Reaktionszeit von exakt 10 Minuten wurde das Reaktions-

gemischt mit 0,01 M NaOH auf pH-Wert 4,1 titriert. Die Ergebnisse wurden wie folgt berechnet:

$$\text{Aktivität (U/g)} = n/t \cdot v \cdot c;$$

$$\text{Aktivität (nkat/g)} = \text{Aktivität (U/g)} \cdot 1000/60$$

n = Verbrauch an 0,01 M NaOH in μmol

t = Zeit in Minuten

v = Menge der zugesetzten Enzymlösung in ml

c = Konzentration der Enzymlösung in g/l

Bestimmung der Pektinlyaseaktivität

Die Aktivität der Pektinlyase wurde mit der Analysenvorschrift der O.I.V. nach der modifizierten Methode von DE VRIES et al (1982) bestimmt. Zur Auswertung wurden die nach der Reaktionszeit von 5 Minuten ermittelten Ergebnisse herangezogen.

Bestimmung der Glucosidaseaktivität

Die Bestimmung der Aktivität der β -D-Glucosidase erfolgte nach der offiziellen Analysenvorschrift der O.I.V. Zur Auswertung wurden die nach der Reaktionszeit von 5 Minuten ermittelten Ergebnisse herangezogen.

Bestimmung Cinnamoylsteraseaktivität

Die Aktivität der Cinnamoylsterase wurde mit der offiziellen Analysenvorschrift der O.I.V. bestimmt. Zur Auswertung wurden die nach der Reaktionszeit von 1 Stunde ermittelten Ergebnisse herangezogen.

Alle Methoden der O.I.V. schreiben eine Analyse der Aktivität in verschiedenen Zeitabständen vor. Die Bestimmung der Aktivitäten der Polygalacturonase, der Pektinlyase, der Pektinmethylesterase und der Glucosidase erfolgt demnach nach 1, 2, 5, 10 und 15 Minuten. Da die Intervalle am Anfang sehr eng sind und die Reaktion sich möglicherweise noch stabilisiert hat (1 bzw. 2 Minuten), wurden in dieser Arbeit die Analyseergebnisse nach 5 bzw. 10 Minuten zur Auswertung herangezogen. Nach dieser Zeit hat sich das chemische Gleichgewicht eingestellt, und sowohl Enzym als auch Substrat waren ausreichend vorhanden.

Ergebnisse und Diskussion

Methodenvergleich

Aktivität der Polygalacturonase

Als Alternativbestimmung wurde die Cyanoacetamidmethode, die auf der Knoevenagel-Kondensation basiert, geringfügig modifiziert (BACH und SCHOLLMAYER,

1992). Im Gegensatz zur modifizierten Methode nach NELSON (1944) ist diese zeitsparend und kostengünstig und verwendet wenig giftige Chemikalien. Um einen besseren Überblick über die Genauigkeit dieser Methoden zu erhalten, sind die Ergebnisse beider Methoden in den Tabellen 1 und 2 einander gegenübergestellt.

Tab. 1: Verlauf der Polygalacturonase-Aktivität mit der Zeit in 15 Enzympräparaten bestimmt mit der OIV-Methode (modifizierte Methode nach NELSON, 1944)

	Polygalacturonase-Aktivität (nkat/g)				
	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min
s	720	304	157	103	87
Mittelwert	1261	966	1149	1213	1089
min	605	485	951	1081	949
max	2770	1841	1517	1392	1231
VarK %	57,1	31,5	13,6	8,5	8,0

s = Standardabweichung

VarK = Variationskoeffizienz

Tab. 2: Verlauf der Polygalacturonase-Aktivität mit der Zeit in 15 Enzympräparaten bestimmt mit der Cyanoacetamidmethode (Methode nach BACH und SCHOLLMAYER, 1992)

	Polygalacturonase-Aktivität (nkat/g)				
	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min
s	3183	1405	556	384	251
Mittelwert	22447	15046	13599	11757	9983
min	18233	13067	12950	11100	9617
max	26717	17450	14800	12350	10350
VarK %	14,2	9,3	4,1	3,3	2,5

s = Standardabweichung

VarK = Variationskoeffizienz

Es ist deutlich zu sehen, dass der Variationskoeffizient in beiden Fällen mit zunehmender Analysenzeit abnimmt. Verantwortlich dafür sind wahrscheinlich die kurzen Zeitintervalle am Beginn der Bestimmung. Das Gleichgewicht der enzymatischen Reaktion hat sich in diesem Fall noch nicht eingestellt. Da bei der Aktivitätsbestimmung weder die Menge an Enzym, noch die Menge an Substrat beschränkt sein darf, ist es notwendig, zur Auswertung der korrekten Enzymaktivität jene Werte anzugeben, bei denen diese Voraussetzungen zutreffend sind. Besonders bei der Verwendung der modifizierten Methode nach NELSON (1944) zeigen die Ergebnisse nach einer Reaktionszeit von 1 Minute eine auffällig hohe Analysenschwankung. Es ist anzumerken, dass die mit der Cyanoacetamidmethode ermittelten Werte in allen Fällen einen

vergleichsweise niedrigeren Variationskoeffizienten aufweisen. Auch BACH und SCHOLLMAYER (1992) haben festgestellt, dass die von ihnen entwickelte Arbeitsanweisung weniger zeitraubend, genauer und reproduzierbarer ist und generell niedrigere Variationskoeffizienten aufweist als die Vergleichsmethode nach NELSON (1944). Der Vorteil der Vergleichsmethode liegt aber in der höheren Stabilität der Werte im Laufe der Zeit. In Tabelle 3 sind die mit beiden Methoden ermittelten Analysenergebnisse von zehn verschiedenen Enzympräparaten dargestellt. Hier wird ersichtlich, dass vor allem bei durchschnittlich hohen Werten eine akzeptable Übereinstimmung der beiden Analysenvorschriften vorliegt.

Tab. 3: Vergleich der Ergebnisse der beiden Methoden zur Bestimmung der Polygalacturonase-Aktivität

Enzympräparat Nr.	Bestimmung in nkat/g nach 5 min	
	O.I.V.- Methode	Cyanoacetamid- Methode
1	52143	70827
2	16067	13683
3	6001	4528
4	45058	46188
5	46528	34035
6	29105	34893
7	25191	27128
8	8718	9202
9	3138	3115
10	13119	12250

Aktivität der Pektinmethylesterase

Da die modifizierte Methode nach KLAVONS und BENNET (1986) zeitaufwändig ist und teure Chemikalien benötigt, wurde eine Alternativbestimmung gewählt, die auf der Titration der nach Abspaltung von Methanol freigewordenen Carboxylgruppen mit Natronlauge basiert.

Auch im Fall der Pektinmethylesterase empfiehlt es sich, das Hauptaugenmerk auf die Ergebnisse zu richten, die nach 5 bzw. 10 Minuten analysiert wurden. Der Variationskoeffizient ist im Vergleich zu dem der kurzen Zeitintervalle niedrig, und das Reaktionsgleichgewicht hat sich schon eingestellt (Tab. 4).

Die Vergleichsmethode weist mit 5,5 % einen niedrigen Variationskoeffizienten auf (Tab. 5). Die Genauigkeit der Titrationsmethode ist also geringfügig besser als die der Vergleichsmethode. Tabelle 6 zeigt nach Bestimmung von 15 unterschiedlichen Enzympräparaten den direkten Vergleich beider Analysenvorschriften.

Tab. 4: Verlauf der Pektinmethylesterase-Aktivität mit der Zeit in 15 Enzympräparaten bestimmt mit der O.I.V.-Methode (Methode nach KLAVONS und BENNET, 1986)

	Pektinmethylesterase-Aktivität (nkat/g)				
	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min
s	12777	4466	1559	1319	1690
Mittelwert	25581	16357	20938	18049	15830
min	8150	9683	18100	15517	13400
max	46383	24233	23433	20450	18917
VarK %	49,9	27,3	7,4	7,3	10,7

s = Standardabweichung
VarK = Variationskoeffizient

Tab. 5: Ergebnisse der Pektinmethylesterase-Aktivität in 15 Enzympräparaten bestimmt mit der Titrationsmethode

Pektinmethylesterase-Aktivität (nkat/g); 10 min	
s	944
Mittelwert	17042
min	15717
max	18817
VarK %	5,5

s = Standardabweichung
VarK = Variationskoeffizient

Tab. 6: Vergleich der Ergebnisse der beiden Methoden zur Bestimmung der Pektinmethylesterase-Aktivität

Enzympräparat Nr.	Bestimmung in nkat/g nach 10 min	
	O.I.V.- Methode	Titration- Methode
1	n.n.	n.n.
2	n.n.	n.n.
3	n.n.	n.n.
4	n.n.	n.n.
5	13165	16000
6	14901	22667
7	18115	16167
8	12262	13067
9	n.n.	n.n.
10	24355	23100
11	18615	16333
12	43560	112333
13	18441	17667
14	n.n.	n.n.
15	n.n.	n.n.

n.n. : nicht nachweisbar

Bestimmung der Enzymaktivität handelsüblicher Enzympräparate

In den Abbildungen 1 und 2 sind die Mediane, die Maximal- und Minimalwerte und die als Ausreißer ermittelten Werte in Box- und Whiskers-Plots dargestellt.

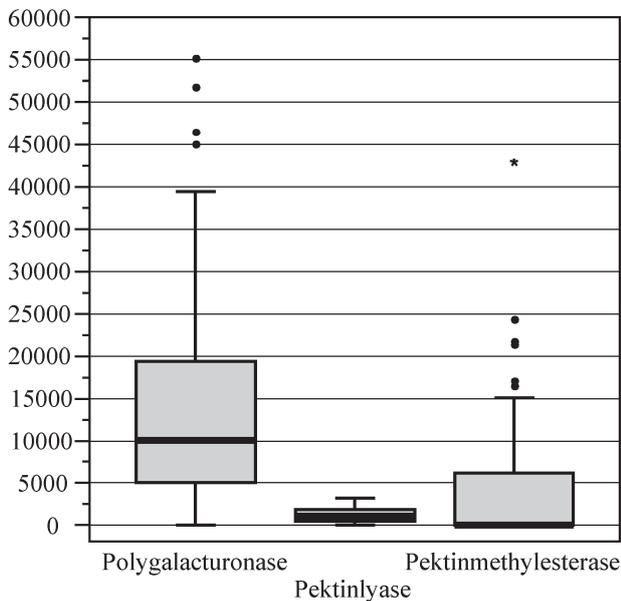


Abb.1: Box- und Whiskers-Plot, Ergebnisse in nkat/g

In Bezug auf die Polygalacturonase-Aktivität wurde ermittelt, dass 7,1 % der Enzympräparate keine Aktivität aufwiesen. Der Höchstwert lag bei 55.215 nkat/g. Der Mittelwert der 56 Proben betrug 14.869 nkat/g.

Die größte Aktivität der Pektinmethylesterase lag bei 42.901 nkat/g und der Mittelwert bei 4.745 nkat/g. 60,4 % der Proben wiesen keine Pektinmethylesterase-Aktivität auf.

Die Durchschnittsaktivität der Pektinlyase betrug 1.212 nkat/g. Die Ergebnisse vieler Präparate lagen unter 1.000 nkat/g; bei 1,8 % konnte keine Aktivität festgestellt werden.

Der Mittelwert der Glucosidase-Aktivität lag bei 51 nkat/g. Die Untersuchungen zeigten, dass die pektolytischen Enzympräparate, die mit der Zusatzbezeichnung „Glucosidase-Aktivität“ gekennzeichnet waren, im Durchschnitt höhere Werte an β -Glucosidase-Aktivität erzielt haben. Die höchste Aktivität wurde zwar bei einem Präparat ohne Zusatzbezeichnung festgestellt, da es sich bei der Glucosidase aber um eine teilweise gewünschte Nebenaktivität handelt, bleibt es dem Hersteller überlassen, ob er diese am pektolytischen Enzympräparat vermerkt oder nicht. Deshalb ist auch bei 62,5 % der untersuchten Proben eine zum Teil geringe Glucosidase-Aktivität vorhanden, obwohl nur vier Präparate damit gekennzeichnet waren.

Die Untersuchung der Nebenaktivität der Cinnamoyl-esterase ergab einen Mittelwert von lediglich 23 nkat/g.

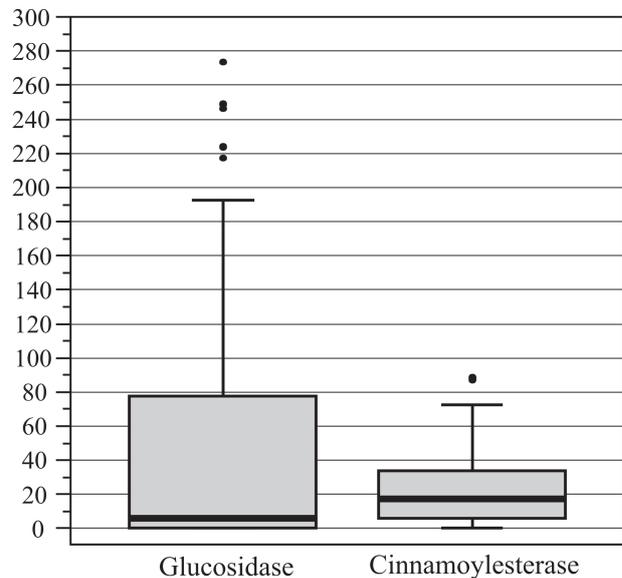


Abb.2: Box- und Whiskers-Plot, Ergebnisse in nkat/g

Bei 85,7 % der analysierten Proben wurde zwar eine Aktivität der Cinnamoyl-esterase festgestellt, aber die meisten Werte waren vernachlässigbar gering (< 40 nkat/g). Nur acht der untersuchten Proben waren analytisch depepsidasefrei. Aus diesem Grund muss der oft auf der Verpackung angegebene Begriff „depepsidasefrei“ überdacht werden. Besser geeignet wären in diesem Fall Bezeichnungen wie „depepsidasearm“ oder „gering an Cinnamoyl-esterase-Aktivität oder unerwünschten Enzymaktivitäten“.

Der Handlungsbedarf in Bezug auf die Aktivitätsanalytik der zugelassenen Weinbehandlungsmittel auf Enzymbasis ist groß, um in Zukunft die Qualität der am Markt befindlichen Enzympräparate zu überprüfen und zu garantieren.

Literatur

- BACH, E. and SCHOLLMAYER, E. 1992: An ultraviolet-spectrophotometric method with 2-cyanoacetamide for the determination of the enzymatic degradation of reducing polysaccharides. *Anal. Biochem.* 203: 335-339
- DE VRIES, J.A., ROMBOUTS, F.M., VORAGEN, A.G.J. and PILNIK, W. 1982: Enzymic degradation of apple pectins. *Carbohydrate Polymers* 2: 25-33
- EDER, R., WENDELIN, S., KALCHGRUBER, R., ROSENTHAL, F. und BARNA, J. 1992: Untersuchungen über den Einfluss von Hefe- und Enzympräparaten auf die Rotweinfarbe. *Mitt. Klosterneuburg* 42: 148-157

- GROSSMANN, M., RAPP, A. und RIETH, W. 1987: Enzymatische Freisetzung gebundener Aromastoffe in Wein. Dt. Lebensm.-Rundsch. 83(1): 7-12
- GÜNATA, Y.Z., BITTEUR, S., BRILLOUET, J.M., BAYONOVE, C.L. and CORDONNIER, R.É. 1988: Sequential enzymic hydrolysis of potentially aromatic glycoside from grapes. Carbohydrate Res. (134): 139-149
- GÜNATA, Y.Z., BAYONOVE, C.L., TAPIERO, C. and CORDONNIER, R.É. 1990: Hydrolysis of grape monoterpenyl β -d-glucosides by various β -glucosidases. J. Agric. Food Chem. 38: 1232-1236
- HERRAIZ, T., REGLERO, G., HERRAIZ, M., MARTIN-ALVAREZ, P.J. and CABEZUDOS, M.D. 1990: The influence of the yeast and type of culture on the volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. Am. J. Enol. Vitic. 41(4): 313-318
- KLAVONS, J.A. and BENNET, R. D.1986: Determination of methanol using alcohol oxydase and its application to methyl ester content of pectins. J. Agr. Food. Chem. 34: 597-599
- NELSON, N.A. 1944: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. (153): 375-380
- RÖMPP (1995): Römpp-Chemielexikon (hrsg. von Falbe, J. und Regitz, M.), 9. Aufl. - Stuttgart: Thieme, 1995
- TROOST, G. (1988): Technologie des Weines.6. Aufl. - Stuttgart: Ulmer, 1988

Manuskript eingelangt am 29. Mai 2009