

4. Sitzung der BfR-Kommission für Wein- und Fruchtsaftanalysen (WUFAK)

Protokoll vom 05./06. Mai 2011

Die BfR-Kommission für Wein- und Fruchtsaftanalysen wurde 2008 neu gegründet. Sie berät das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) insbesondere bei Fragestellungen zur Harmonisierung der Analysenvorschriften zur Lebensmittelüberwachung in Bezug auf Wein und Fruchtsaft und zur Entwicklung, Prüfung und Validierung von Analysemethoden für Erzeugnisse des Weingesetzes sowie Fruchtsaft. In die Kommission wurden 12 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus Landesuntersuchungsämtern, der Industrie und privaten Laboratorien berufen. Die 4. Sitzung fand vom 05./06. Mai 2011 am BfR in Berlin statt.

TOP 1 – Begrüßung und Vorstellung des BfR durch die Leitung

Der Geschäftsführer, Herr Dr. Fauhl-Hassek, begrüßt die Teilnehmer und eröffnet die vierte Sitzung der BfR-Kommission für Wein- und Fruchtsaftanalysen. Die Leiterin der Abteilung für Sicherheit in der Nahrungskette, Fr. Dr. Lahrssen-Wiederholt, begrüßt die Kommissionsmitglieder im Namen der Leitung und stellt das BfR vor.

TOP 2 – Vorstellungsrunde der Mitglieder der Kommission und aller Teilnehmer

Alle Mitglieder der Kommission und Teilnehmer der Kommissionssitzung stellen sich und ihre Arbeitsgebiete kurz vor.

TOP 3 – Vorstellung der Aufgaben der Kommission

Der Geschäftsführer der Kommission erläutert die Aufgaben der BfR-Kommission für Wein- und Fruchtsaftanalysen. Die Wein- und Fruchtsaftanalysenkommission berät das Bundesinstitut für Risikobewertung im Rahmen seiner Verpflichtungen nach § 35 der Wein-Überwachungs-Verordnung vom 14. Mai 2002. Dabei werden Fragen der Harmonisierung der Analysenvorschriften zur Überwachung von Wein und Fruchtsaft erörtert und Stellungnahmen für die Internationale Organisation für Rebe und Wein (OIV) und EU-Kommissionen vorbereitet. Außerdem ist die Entwicklung, Prüfung und Validierung von Analysemethoden für Erzeugnisse des Weingesetzes und der Fruchtsaftverordnung sowie die Entwicklung und Prüfung neuer Isotopen-Analysemethoden zur Erweiterung der EU-Weindatenbank ein Tätigkeitsfeld der Kommission. Auch die Interpretation von Analysendaten und Datensätzen zum Zwecke der Beurteilung sowie deren Weiterentwicklung gehört zu den Aufgaben der Kommission.

TOP 4 - Unterzeichnung der Erklärung zu eventuellen Interessenkonflikten

Die Mitglieder werden über das Vorgehen bei Interessenskonflikten informiert. Eventuelle Interessenkonflikte in Bezug auf einzelne Themen, die in der 4. Sitzung der BfR-Kommission für Wein- und Fruchtsaftanalysen behandelt werden sollten, werden mit negativem Ergebnis abgefragt.

TOP 5 – Wahl des Vorsitzenden und seiner Stellvertreterin

Herr Dr. Scholten wird einstimmig per Handzeichen zum Vorsitzenden der Kommission gewählt. Frau Dr. Koswig wird einstimmig per Handzeichen zur stellvertretenden Vorsitzenden der Kommission ernannt und nimmt das Amt an. Sie leitet den folgenden Teil der Sitzung.

Folgende Themen werden in die Tagesordnung nachträglich aufgenommen (unter TOP 10 Sonstiges): im Ausland zugelassene Weinbehandlungsmittel, Diammoniumsulfat in Wein, Pflanzenschutzmittelrückstände in (Bio-)Wein, Zugang zu Datenbanken.

TOP 6 - Granatapfelsaft / Granatapfelwein

Das BfR fragt den Sachstand der Kommissionsmitglieder über Kenntnisse zur Analytik und Beurteilung von Granatapfelprodukten ab, die für die Überwachung relevant sein könnten. Granatapfelprodukte sind zunehmend gefragt und im BfR wurden Isotopendaten für Granatapfelwein angefragt. Die Nachfrage nach Granatapfelprodukten besteht hauptsächlich aufgrund der gesundheitsfördernden Wirkung, die Granatapfelprodukten zugesprochen wird. Granatapfelsäfte und -konzentrate werden meist über das Internet, Spezialitätenläden und Apotheken vertrieben. Die Mitglieder der Kommission berichten von teilweise hochgradigen Verfälschungen von Granatapfelsaft. Es werden Fremdfrüchte wie z.B. Trauben, Kirschen und Apfel eingesetzt sowie künstlicher Farbstoff, Zucker und Säuren. Außerdem wurde die Auslobung von rückverdünntem Konzentrat als Direktsaft beobachtet. Der Nachweis von Verfälschungen ist teilweise schwierig, da die natürliche Variation vieler Parameter (z.B. organischer Säuren) groß ist. Es werden einige Möglichkeiten des Nachweises von Verfälschungen diskutiert (NMR, ¹⁸O von Ethanol nach der Vergärung).

Eine Publikation von Fischer-Zorn und Ara [Fruit Processing, July/August 2007, S.204-213] ist die Basis für eine provisorische Referenz-Guideline der AIJN (European Fruit Juice Association).

TOP 7 – Natamycin in Wein

Der Geschäftsführer der Kommission, Dr. Fahl-Hassek, berichtet über die Diskussion in der Internationalen Organisation für Rebe und Wein (OIV) bezüglich des Eingreifwertes von Natamycin in Wein. In der OIV wurde ein Engreifwert für die Handhabung in der Überwachung von 5 µg/l diskutiert. Der von Deutschland und Großbritannien erarbeitete Resolutionsentwurf mit einem Eingreifwert von 5 µg/l befindet sich im Stufenverfahren der OIV. In dem Entwurf werden als Beispielmethode HPLC-DAD und HPLC-MS/MS genannt.

Es wird die Frage aufgeworfen, ob die Bestimmung des Aminosüßers Mykosamin als Metabolit von Natamycin in Wein möglich ist und so der Nachweis eines Zusatzes von Natamycin geführt werden könnte. Den Kommissionsmitgliedern lagen hierüber keine weiteren Erkenntnisse vor.

TOP 7a – Im Ausland zugelassene Weinbehandlungsmittel

Es wird diskutiert, inwiefern eine systematische Aufstellung aller im Ausland zugelassenen Weinbehandlungsmittel sinnvoll ist. Dies würde der Identifizierung möglicher Analyten dienen und der Überwachung und privaten Laboratorien die Möglichkeit geben, gegebenenfalls ziel-

gerichtet tätig zu werden. Es stellt sich allerdings die Frage, auf welcher Ebene (z.B. über die OIV) die jeweiligen nationalen Gesetzgebungen erhalten bzw. abgefragt werden könnten. Für die Mitgliedstaaten der OIV gilt der *Internationale Kodex der Önologie*. Darüber hinaus existieren Handelsabkommen zwischen der EU und Drittländern ¹.

Österreich hat bereits eine Liste mit 1500 verschiedenen, dort vertriebenen und zulässigen, Weinbehandlungsmitteln erstellt.

Es wird angemerkt, dass viele Zusatzstoffe und Behandlungsmittel aus Drittländern wie z.B. China stammen und somit ein potenzielles Risiko bergen. Dennoch sei die Beanstandungsquote für Reinheitskriterien von Zusatzstoffe bei insgesamt seltener Bewertung relativ gering. Dieser Punkt wird auf die Tagesordnung der nächsten Sitzung gesetzt.

TOP 8 – Gesamtphenol in Fruchtsäften

Die Internationale Fruchtsaftunion (IFU) plant einen Ringversuch zur Analytik des Gesamtphenols in Fruchtsaft, der parallel zu einem Ascorbinsäure-Ringversuch stattfinden soll. Die von der IFU-Analysenkommission vorgeschlagene Methode basiert auf der Folin-Ciocalteu-Methode mit der Angabe des Gesamtphenols als Gallussäure-Äquivalent unter Einbeziehung der ISO14502-1 für die Gesamtphenolbestimmung in Tee.

Es wird festgestellt, dass die Bestimmung des Gesamtphenols auch beim Granatapfel interessant ist, da hier ein hoher Phenolgehalt erwünscht ist.

Dieser Punkt wird wieder auf die Tagesordnung gesetzt, sobald die Ergebnisse vom IFU-Ringversuch vorliegen.

TOP 9 – Allergenkennzeichnung von Wein

Es erfolgt eine Sachstandabfrage zu den Entwicklungen in der Allergenkennzeichnung von Wein. Ende 2010 wurde die Erweiterung der Kennzeichnungspflicht für Allergene in Wein ab dem 1. Juli 2012 beschlossen. Derzeit prüft die EFSA ein Dossier zur permanenten Ausnahme von der Kennzeichnungspflicht für Eierzeugnisse und Casein. Das Ergebnis der Prüfung wird 2012 erwartet. Weiterhin von der Kennzeichnungspflicht ausgenommen bleiben Fischgelatine und Hausenblasenprodukte.

In der OIV wurde eine Resolution zu den Kriterien für Methoden zum Nachweis von Proteinen in Wein verabschiedet, deren Prinzip auf den ELISA Techniken beruht. Es stellt sich die Frage nach der Validierung und der wertfreien Beschreibung von sogenannten herstellerebenen Analysenmethoden (proprietary methods), die auf Testkits basieren und deren Aufnahme als Standardverfahren. Es wird angemerkt, dass in den offiziellen Verfahren der Fruchtsaftanalytik keine herstellerbezogenen Methoden wie ELISA gelistet sind.

¹ http://ec.europa.eu/agriculture/markets/wine/third/index_de.htm

TOP 10 – Sonstiges, Termin der nächsten Sitzung

Folgende Punkte werden zusätzlich zu der vorgesehenen Tagesordnung diskutiert:

- Diammoniumsulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ist in der EU als Zusatzstoff als Hefenährmittel in der Weinbereitung zugelassen. Der erlaubte Einsatz von 1g/l $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ führt zu einem Sulfat-Wert von 1,37 g/l als Kaliumsulfat. Der derzeit zulässige Sulfat-Grenzwert liegt bei 1000 mg/l und wäre somit überschritten. Dieses Thema wird auch in der OIV und der Überwachung diskutiert. Eine Harmonisierung durch den Gesetzgeber scheint deshalb nötig.
- Es wird die Frage aufgeworfen, wie mit Pflanzenschutzmittelrückständen wie z.B. Methalaxyl-M und Ethephon in Biowein zu verfahren ist. Das BfR stellt seit 2007 über das Internet eine Datensammlung für Verarbeitungsfaktoren für Pflanzenschutzmittelrückstände zu Verfügung. Unter Berücksichtigung der Verarbeitungsfaktoren, die die An- oder Abreicherung einer Substanz im Lebensmittel abbilden, lassen sich die für Trauben geltenden Grenzwerte grundsätzlich auf den Wein übertragen. Dieses Verfahren halten die Kommissionsmitglieder für Wein aus konventionellem Anbau für anwendbar. In Biowein sollten allerdings generell keine Pflanzenschutzmittelrückstände vorhanden sein. In diesem Zusammenhang wird darauf hingewiesen, dass die Verarbeitungsfaktoren aus Literaturdaten stammen, die teilweise nur einen begrenzten Umfang aufweisen. Es wird vorgeschlagen, dieses Thema in die nächste Tagesordnung aufzunehmen und die BfR-Datensammlung für Verarbeitungsfaktoren auf der nächsten Sitzung vorzustellen.
- Derzeit prüft die EU-Kommission den Nutzen der Datenbank nach Verordnung (EG) Nr. 555/2008. Im Hinblick auf die Frage nach der Nutzung der EU-Weindatenbank für private Analysenlabore wird auf Artikel 90 der Verordnung (EG) Nr. 555/2008 verwiesen, der den Zugang zu der Datenbank eindeutig regelt. Um einen Zugang für private Labore zu ermöglichen, müsste die Verordnung geändert werden.
- Von der Geschäftsführung wird auf das Portal FIS-VL (Fachinformationssystem Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) des BVL hingewiesen. Alle angemeldeten Kommissionsmitglieder können auf diese Plattform zugreifen. Von der Geschäftsführung werden alle relevanten Unterlagen wie Sitzungsprotokolle und Literatur ins FIS-VL geladen.

Fachvorträge

TOP 11 – ¹H-NMR-Analytik von Wein: Rebsortendifferenzierung, Nachweis von Herkunft, Jahrgang etc., quantitative Weinanalytik

Herr Dr. Godelmann vom CVUA Karlsruhe stellt Ergebnisse zur ¹H-NMR-Analytik von Wein vor.

600 authentische rebsortenreine Weine der Anbauggebiete Baden, Württemberg, Mosel, Rheinhessen und Pfalz aus den Jahren 2004 bis 2009 wurden mittels ¹H-NMR untersucht und eine multivariate Datenauswertung durchgeführt. Mit den erstellten Modellen konnten die Rebsorten und eine Vermischung der Rebsorten vorhergesagt werden. Auch die Zuordnung zu den untersuchten Weinbaugebieten ist möglich, sowie teilweise auch eine Jahrgangszuordnung. Neben der Non-targeted-Analyse ist mit der ¹H-NMR-Analytik auch eine targeted-

Analyse vieler Analyten (Zucker, organische Säuren, Aminosäuren, Phenole, etc.) möglich. Mit der Non-targeted-Analyse lassen sich Verfälschung und Manipulationen sowie Weinfehler erkennen. Ziel ist der Aufbau einer Weindatenbank und eines Weinscreeners.

Es folgt eine Diskussion darüber, inwieweit eine Beanstandung aufgrund dieser Analytik möglich ist und ob eine Vergleichbarkeit der Werte gegeben ist. Screening-Methoden sind dazu geeignet, Abweichungen zu detektieren, die anschließend über konventionelle Methoden bestätigt werden müssen. Es ist aber wahrscheinlich, dass die $^1\text{H-NMR}$ -Analytik langfristig auch für Beanstandungen genutzt werden wird.

Dieses Thema wird wieder auf die Tagesordnung der nächsten Sitzung gesetzt.

TOP 12 – Analytische Unterscheidung zwischen Chipsbehandlung und Barriquefasslagerung – Stand der Dinge

Herr Dr. Wachter vom LGL Würzburg präsentiert eine Arbeit zum Thema „Analytische Unterscheidung zwischen Chipsbehandlung und Barriquefasslagerung“. Das vorgestellte Modell ermöglicht eine Unterscheidung von Barriquefasslagerung und Chipsbehandlung von deutschen Weinen. Unterschiedliche Toastungsarten der Hölzer, Oberflächenverhältnisse und Kontaktzeiten führen zu großen Streuungen innerhalb einer Gruppe. Einzelne mittels HPLC-DAD, GC/MS und $^1\text{H-NMR}$ gemessene Daten sind nicht für eine Differenzierung geeignet. Die Auswertung erfolgt multivariat mit einer Kombination aus PCA und LDA. Das Modell soll zukünftig um ausländische Weine und flüssige Holzaromen erweitert, sowie weitere statistische Verfahren (SIMCA, Mahalanobisdistanz) erprobt werden.

In der Diskussion stellt sich vor allem die Frage nach einer gemeinsamen Beurteilungsgrundlage. Diese macht eine gute Vernetzung und Koordination der beurteilenden Behörden nötig. Als Beispiel wird die Auslandsweinkontrolle genannt, bei der nach dem Erstgutachten möglicherweise ein zweites und gegebenenfalls ein Obergutachten erstellt werden.

TOP 13 – Non-targeted Analytik zur Authentizitäts- und Identitätsprüfung von Wein

Frau Springer vom BfR stellt ihr Promotions-Projekt zum Thema „Non-targeted Analytik zur Authentizitäts- und Identitätsprüfung von Wein“ vor. Im Bereich der "Metabolomics" sind Strategien und Techniken, bekannt als "Profiling" und "Fingerprint" Methoden, die sich durch ein nicht zielgerichtetes Produktscreening ("non-targeted" screening) auszeichnen, etabliert. Ihre Anwendung auf die Authentizitäts- und Identitätsprüfung von Lebensmitteln, wie sie bislang nur teilweise erfolgt, könnte für die amtliche Lebensmittelkontrolle wegweisend sein.

Ziel des hier vorgestellten Food-Fingerprint-Projektes ist es u.a. ein Verfahren zur Differenzierung von Wein hinsichtlich seiner Identität (z. B. Herkunft oder Rebsorte) zu entwickeln. Basis hierfür ist zunächst die Erstellung von Aromaprofilen (bspw. mittels Fest-Phasen-Microextraktion (SPME)-Headspace (HS)-GC-MS) in Anlehnung an die in den "Metabolomics" etablierten Verfahren, einschließlich der Datenvorbereitung, Basislinien- und Retentionszeitenkorrektur, Variablenauswahl und Datenextraktion. Durch Anwendung dieser sowie weiterer Analysentechniken, wie hochauflösende massenspektrometrische Verfahren, soll eine Analysenstrategie zur Detektion und Auswertung diskriminierender Signale und ggfs. auch Inhaltsstoffe entwickelt werden, die eine umfassende Charakterisierung diverser Lebensmittelmatrizes, wie bspw. Wein zulässt.

TOP 14 – Aromastoffe in Wein

Herr Brzezina vom Landesuntersuchungsamt für Lebensmittel und Arzneimittel in Mainz stellt Weinanalyse-Verfahren zum Nachweis des Zusatzes von Aromen vor. Mit Ausnahme der Aromatisierung durch Extraktion von Aromastoffen aus Eichenholz (durch Fasslagerung oder Verwendung von Holzchips) ist ein Zusatz von Aromen zu Wein nicht erlaubt. Herr Brzezina stellt eine chirostereospezifische multidimensionale GC-Methode vor, mit der über den Nachweis von Gamma-Lactonen der Zusatz von Pfirsich-Aroma detektiert werden kann. In jüngster Zeit wurden einzelne Fälle von Weinverfälschungen durch den Zusatz von natürlichen oder naturidentischen Aromastoffen (z.B. Erdbeeraroma und Pfirsicharoma) in inländischen und ausländischen Weinen aufgedeckt. Die betreffenden Weine sind nicht verkehrsfähig und müssen vernichtet werden bzw. können mit Ausnahmegenehmigung zu aromatisierten weinhaltigen Getränken verarbeitet werden. Als Gegenmaßnahmen zur Verfälschung von Wein durch Aromazusatz nennt Herr Brzezina die Weiterentwicklung der Aromastoffanalytik, Sensorikschulungen für Weinkontrolleure, die Sensibilisierung von Qualitätsweinprüfern und die Teilnahme von Weinkontrolleuren an der Qualitätsweinprüfung.

TOP 15 – Bestimmung von Kork- und Schimmelaromen

Herr Dr. Eder vom Lehr- und Forschungszentrum Obst und Weinbau Klosterneuburg referiert über die Analyse und Interpretation dumpf-muffiger Aromen in Wein. Es wird eine HS-SPME-GC-MS zur routinemäßigen Kontrolle von kork- bzw. schimmelassoziierten Aromastoffen vorgestellt. Infektionen der Trauben mit Schimmelpilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Botrytis* können zu erdig-muffigen Fehltonen im Wein führen. Neben anderen Substanzen ist Geosmin (2,6-Dimethylbicyclo[4.4.0]decan-1-ol) für diesen Fehler hauptverantwortlich. Eine selektive und sensitive HS-SPME-GC-MS zum Nachweis von Geosmin und anderen Schimmelaromen (z.B. 1-Octen-3-ol, 1-Octen-3-on) wird vorgestellt. Die Nachweisgrenze liegt im Bereich von 0,5 ng/l und somit unterhalb der sensorischen Wahrnehmungsschwellenwerte.

In einem GC-Lauf können auch andere muffige Aromen, die beispielsweise von Korkfehlern oder anderen Kontamination stammen, bestimmt werden.

Offen bleibt noch, wie die Analysenwerte bei der Beurteilung der Weinprobe verwendet werden können, da keine Grenz- beziehungsweise Richtwerte bekannt sind und die Schwellenwerte in der Literatur stark schwanken (z.B. TCA 1-50 ng/l).