Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 58 (1967)

Heft: 1

Artikel: Neue fluorometrische Methode zur Malvin-Bestimmung in Wein

Autor: Hadorn, H. / Zürcher, K. / Ragnarson, Valdemar

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982932

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

MITTEILUNGEN
AUS DEM GEBIETE DER
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE
VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN
Offizielles Organ der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE
ET D'HYGIÈNE
PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE
Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT:
Schweiz Fr. 22.— per Jahrgang (Ausland Fr. 27.—) Preis einzelner Hefte Fr. 4.— (Ausland Fr. 5.—)
Suisse fr. 22.— par année (étranger fr. 27.—) Prix des fascicules fr. 4.— (étranger fr. 5.—)

Band — Vol. 58 1967 Heft — Fasc. 1

Neue fluorometrische Methode zur Malvin-Bestimmung in Wein

H. Hadorn, K. Zürcher und *Valdemar Ragnarson*
Aus dem Laboratorium des Verbandes schweiz. Konsumvereine (VSK), Basel

1. Einleitung

Dem Malvin-Nachweis in Getränken kommt seit einigen Jahren eine beträchtliche Bedeutung zu, da die einzige einigermaßen zuverlässige Methode zum Nachweis eines eventuellen Zusatzes von Hybridenwein nur über das Malvin möglich ist. Die Prüfung erfolgt meistens nach einer papierchromatographischen Trennung der Weinfarbstoffe. Die Malvin-Flecken leuchten unter der Quarzlampe (kurzwelliges UV) intensiv ziegelrot.

Ribéreau-Gayon hat sich in grundlegenden Arbeiten (1, 2) eingehend mit der papierchromatographischen Trennung und Identifizierung von Anthocyanfarbstoffen der Traubenbeeren beschäftigt. In einer zusammenfassenden Arbeit (3) gibt er seine Befunde bekannt, die später von zahlreichen anderen Autoren bestätigt worden sind.

In den Beeren der europäischen Rebe Vitis vinifera kommen zahlreiche Anthocyan-Monoglucoside, aber keine Anthocyan-Diglucoside vor. In den Beeren einiger amerikanischer Arten (V. riparia und V. rupestris, sowie in Kreuzungen

(Hybriden) mit V. vinifera findet man Anthocyan-Diglucoside. Das wichtigste ist das Malvin (Malvidin-Diglucosid).

Diemair und Mitarbeiter (4) haben sich ebenfalls ausgiebig mit der papierchromatographischen Trennung der Anthocyane befaßt. Sie geben eine brauchbare Arbeitsvorschrift zum Malvin-Nachweis in Wein. Diese ist vom Bundesausschuß für Weinforschung überprüft und etwas abgeändert (5) worden. Die vom Deutschen Bundesgesundheitsamt veröffentlichte Modifikation (5) ist von *Rentschler* und *Tanner* (6) nochmals geringfügig modifiziert und schließlich in das neue Schweiz. Lebensmittelbuch (7) aufgenommen worden.

Die papierchromatographische Methode beansprucht vor allem bei Serienuntersuchungen viel Zeit. *Eisenbrand* und Mitarbeiter (8) haben aus diesem Grund eine viel einfachere fluorometrische Methode entwickelt. Sie beruht auf der Fluoreszenzmessung von Rotwein-Verdünnungen in Eisessig. Die Methode ist wegen der großen natürlichen Streuung der Fluoreszenzwerte nicht genau. Sie eignet sich aber, um eine rasche Vorauswahl zu treffen. *Eisenbrand* empfiehlt deshalb, die fraglichen Weine anschließend rundfilterchromatographisch zu prüfen.

Kürzlich haben *Dorier* und *Verelle* (9) eine ganz neue Methode zum Malvin-Nachweis in Wein beschrieben. Sie beruht auf folgender Reaktion: Der zu prüfende Wein wird zunächst in saurer Lösung oxydiert, entweder mit Wasserstoffperoxyd, oder besser mit Natriumnitrit. Anschließend wird Alkohol, der 5 % Ammoniak enthält, zugegeben und das Reaktionsgemisch unter der Quarzlampe beobachtet. Bei Anwesenheit von Malvin entsteht eine charakteristische grüne Fluoreszenz. Versuche an Papierchromatogrammen, die mit Alkohol, Natriumnitrit und Salzsäure besprüht und anschließend Ammoniak-Dämpfen ausgesetzt wurden, zeigten, daß die grüne Fluoreszenz für Malvin spezifisch ist. Die grün fluoreszierende Verbindung über deren Konstitution noch nichts bekannt ist, soll nach *Dorier* und *Verelle* sehr beständig sein.

Wir haben die Versuche von *Dorier* und *Verelle* wiederholt und können ihre Befunde bestätigen. Bei hohem Malvin-Gehalt des Weins (über 5 mg/l) entsteht in der Regel eine deutliche grüne Fuoreszenz. Die Beurteilung der im Reagenzglas ausgeführten Versuche ist oft, besonders bei niedrigeren Malvin-Gehalten schwierig, weil alle Weine, auch die malvin-freien, eine schmutzige, bläuliche Fluoreszenz geben. Eine schwach grünliche Fluoreszenz, die vom Malvin herrührt ist dann schwer erkennbar, die Beurteilung erfordert große Uebung. Versetzt man den zu prüfenden Wein vorher mit Bleiacetat und zentrifugiert den Niederschlag ab, so wird der Malvin-Nachweis in der geklärten überstehenden Lösung etwas schärfer. Ein Teil der störenden, schmutzig-blau fluoreszierenden Begleitstoffe wird anscheinend durch die Beifällung entfernt. Eine einigermaßen zuverlässige Schätzung des Malvin-Gehaltes der Weine auf Grund der Fluoreszenz im Reagenzglasversuch ist kaum möglich.

Wir haben zunächst einige papierchromatographische Versuche zum Nachweis und zur annähernden Bestimmung des Malvins ausgeführt, um die Unzulänglichkeiten dieser Methode zu zeigen. Anschließend wurde versucht, die bei der Reaktion von *Dorier* und *Verelle* entstehende grüne Fluoreszenz mit Hilfe

eines Fluorometers auszumessen. Es ist uns gelungen eine einfache quantitative Methode zur Malvin-Bestimmung auszuarbeiten. Nachdem die optimalen Versuchsbedingungen für die fluorometrische Methode festgelegt waren, haben wir zahlreiche Weine des Handels untersucht. Die Resultate wurden mit den papierchromatographisch ermittelten Werten verglichen. In einigen authentischen Hybridenweinen haben wir den Malvin-Gehalt bestimmt.

2. Ueber Unzulänglichkeiten der chromatographischen Malvin-Bestimmung

Der qualitative Nachweis des Malvins nach der papierchromatographischen Methode bietet in der Regel keine Schwierigkeit. Problematisch wird die Sache, wenn der Malvin-Gehalt des Weines ungefähr abgeschätzt werden sollte.

Nach der Vorschrift des Schweiz. Lebensmittlbuches (7) trägt man neben der zu prüfenden Weinprobe 20 µl einer Malvin-Lösung auf, die 2,5 mg Malvin in 100 ml enthält. Im Vergleichsfleck (20 µl) sind somit 0,5 µg Malvin enthalten. Die Auswertung geschieht folgendermaßen: «Uebersteigt die Fluoreszenzintensität des der untersuchten Substanz zugehörigen Fleckens, jene der Malvin-Vergleichsflecken, so ist das untersuchte Getränk als mit Hybridentraubensäften oder -weinen verschnitten zu betrachten.» 20 µl der aufgetragenen, an Farbstoffen angereichterten Lösung entsprechen 0,2 ml Originalgetränk. Hieraus ergibt sich, daß die Beanstandungsgrenze bei 2,5 mg/l Malvin liegt.

In der Praxis sind die Werte schlecht reproduzierbar. Malvin ist in Lösung wenig beständig und verändert sich gelegentlich schon während der Aufarbeitung. *Eisenbrand* (8) hat in seiner zweiten Publikation auf S. 179 gezeigt, daß Malvin in saurer Lösung ziemlich rasch hydrolysiert wird. Die Fluoreszenz-Intensität ändert sich und auf dem Papierchromatogramm treten neue Flecken auf. Die gleiche Beobachtung haben wir wiederholt mit der im Lebensmittelbuch vorgeschriebenen Vergleichslösung von reinem Malvin in Methanol gemacht. Diese zersetzte sich innerhalb weniger Tage und es entstand auf dem Chromatogramm ein zweiter rot fluoreszierender Fleck mit größerem Rf-Wert. Auf Grund dieser Beobachtung ist es ohne weiteres verständlich, daß die in verschiedenen Laboratorien ausgeführten Analysen am gleichen Weinmuster oft ganz unterschiedliche Resultate geben.

a) Zusatz bekannter Mengen Malvin zu Wein

Um die papierchromatographische Methode zu überprüfen, haben wir verschiedenen Weinen bekannte Mengen reinsten Malvins in Form einer frisch hergestellten methanolischen Malvin-Lösung zugesetzt und die Weinproben sofort nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen papierchromatograhpischen Methode aufgearbeitet (siehe Abschnitt 7). Auf dem Chromatogramm wurden die Malvin-Flecken mit Flecken von reinem Malvin verglichen und aus der Fleckengröße und -intensität die Malvin-Menge abgeschätzt.

Die Vergleichsflecken erhielten wir durch Auftragen bekannter Mengen Malvin-Lösung auf den Startpunkt eines anderen Sektors des gleichen Sternfilterchromatogramms nach *Potterat*. In den Chromatogrammen der Getränke fanden wir durchwegs zu niedrige Malvin-Gehalte, wie aus den Resultaten der Tabelle 1 hervorgeht. Die Malvin-Ausbeute schwankte zwischen 20 und 60 %.

Tabelle 1
Approximative papierchromatographische Malvin-Bestimmung in Wein mit Zusatz bekannter Mengen Malvin

Weinsorte	Malvin-Zusatz in mg/l	Papierchromatogramm (Sterntechnik): Malvin-Menge pro Flecken		
		Sollwert µg	Gefunden (Schätzung) µg	Ausbeute in %
Kapwein rot	0	0	0	—
	1,0	0,2	Spur	—
	1,0	0,2	Spur	—
	2,5	0,5	0,1	20
	2,5	0,5	0,2—0,3	40—60
Côtes du Rhône (rot)	1,0	0,2	Spur	—
	1,0	0,2	Spur	—
	2,5	0,5	0,2	40
	2,5	0,5	0,3	60
Weißwein Pouilly Fuissé	1,0	0,2	Spur	—
	1,0	0,2	Spur	—
	2,5	0,5	0,3	60
	2,5	0,5	0,2	40

b) Zusatz von Hybridenwein zu verschiedenen Weinen

Anstatt dem Wein bekannte Mengen einer reinen Malvin-Lösung zuzusetzen, kann man den Wein auch mit einem Hybridenwein verschneiden. Wir setzten einem Weißwein und 3 Rotweinen steigende Mengen (1—3 %) eines Hybridenweines zu, dessen Malvin-Gehalt fluorometrisch bestimmt worden war. (Malvin-Gehalt des Hybridenweines = 200 mg/l). Auch in diesen Weinproben fanden wir papierchromatographisch durchwegs zu niedrige Malvin-Gehalte. Wie aus den Resultaten der Tabelle 2 hervorgeht, variierte die Ausbeute bei diesen Versuchen zwischen 20 und 50 %.

Tabelle 2

Approximative papierchromatographische Malvin-Bestimmung in Weinen mit Zusatz bekannter Mengen eines Hybridenweins mit 200 mg/l Malvin

Weinsorte	Zusatz von Hybridenwein %	Malvin-Gehalt der Probe mg/l	Papierchromatogramm (Sterntechnik): Malvin-Menge pro Flecken		
			Sollwert µg	Gefunden (Schätzung) µg	Ausbeute
Weißwein Pouilly Fuissé	0	0	0	0	—
	1	2	0,4	0,2	50
	2	4	0,8	0,3	40
	3	6	1,2	0,5	40
Kapwein rot	0	—	—	0	—
	3	6	1,2	0,2	20
Côtes du Rhône (rot)	0	—	—	Spur	—
	3	6	1,2	0,5	40
Beaujolais (rot)	0	—	—	Spur	—
	2	4	0,8	< 0,5	50

Die papierchromatische Methode eignet sich nur zum qualitativen Nachweis. Einigermaßen zuverlässige Schätzungen des Malvin-Gehaltes sind nicht möglich, weil man auf den Flecken der Chromatogramme in der Regel nur etwa die Hälfte des zugesetzten Malvins wiederfindet. Oft sind die Verluste, vor allem bei Rotwein noch größer als 50 %. Wir vermuteten zunächst, daß bei der Vorreinigung mit neutralem Bleiacetat ein Teil des Malvins in den Bleiniederschlag gelangt und verloren geht. Dies ist nicht der Fall. Mit Hilfe von später ausgeführten Fluoreszenzmessungen konnten wir beweisen, daß bei dieser 1. Fällung keine meßbaren Malvin-Verluste auftreten. Schon *Diemair* und Mitarbeiter (4) hatten gezeigt, daß durch neutrales Bleiacetat bei pH = 4,6 kein Malvin ausgefällt wird.

Bei den weiteren Operationen für die chromatographische Methode gehen jedoch beträchtliche Mengen Malvin vermutlich zufolge Zersetzung verloren. Möglicherweise befinden sich auf dem Chromatogramm in der Zone der Malvin-Flecken auch noch Stoffe, welche die rote Fluoreszenz des Malvins abschwächen, indem sie das Fluoreszenzlicht teilweise absorbieren. All diese Punkte, wie Unbeständigkeit des Malvins in Lösung, gelegentliche Verluste während der Aufarbeitung, das Abschätzen der Malvin-Menge auf Grund der Fleckengröße und der Fluoreszenz-Intensität, führen zu unterschiedlicher Beurteilung in verschiedenen Laboratorien.

3. Optimale Versuchsbedingungen für die fluorometrische Methode

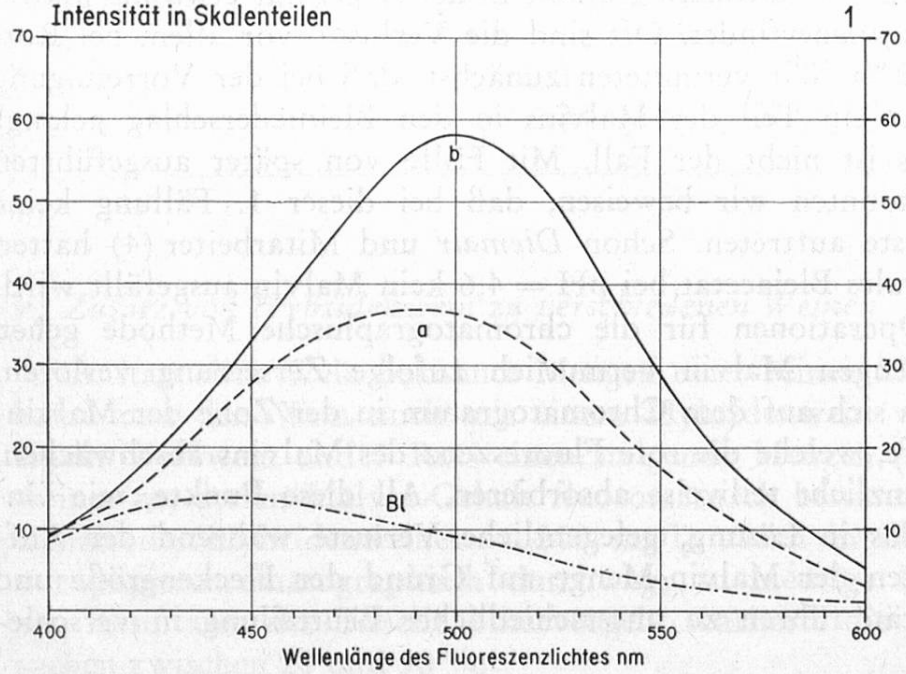
Wie bereits erwähnt, ist das Abschätzen der ungefähren Malvin-Menge in den Reagenzglasversuchen nach *Dorier* und *Verelle* (9) recht schwierig. Wir haben versucht, die Fluoreszenzintensität quantitativ zu messen. Zur Verfügung stand uns ein Turner-Fluorometer, mit welchem sich bereits sehr schwache Fluoreszenzen ausmessen lassen. Um die günstigsten Versuchsbedingungen für eine quantitative Bestimmung zu finden, mußten zahlreiche Versuche angestellt werden.

a) Spektrum des Fluoreszenzlichtes und Wahl der Filter

Das Turner-Fluorometer ist ein Filter-Gerät. Um die optimalen Primär- und Sekundärfilter wählen zu können, haben wir das Spektrum der nach *Dorier* und *Verelle* erhaltenen grün fluoreszierenden Verbindung in einem Zeiß-Spektralphotometer PMQ mit Fluoreszenzzusatz gemessen. Wie aus Figur 1 ersichtlich ist, zeigt das grüne Fluoreszenzlicht eine ziemlich breite Bande mit einem Intensitätsmaximum bei ca. 500 nm. Wir wählten als Sekundärfilter das Grünfilter Kodak-Wratten 58 mit einer Durchlässigkeit über 1 % zwischen 480 und 600 nm.

Die Fluoreszenz wird durch längerwelliges UV angeregt. Als Primärfilter bewährte sich das Filter Corning 7—60 mit einer Durchlässigkeit über 1 % zwischen 320 und 390 nm.

Wie sich später herausstellte, zeigen alle Weine, auch absolut malvinfreie eine gewisse Nebenfluoreszenz, die sich nicht restlos beseitigen läßt.



Figur 1
Spektrum des Fluoreszenzlichtes

Bl Blindversuch mit den Reagenzien

a) Rotwein Beaujolais
b) gleicher Wein mit Zusatz von Malvin

Der Beaujolais ohne Zusatz (Kurve a) zeigt eine ähnliche, aber schwächer ausgebildete Bande als der Wein mit Zusatz von 2,5 mg/l Malvin. (Kurve b). Dies deutet auf die Anwesenheit von Spuren Malvin (Hybridenwein) hin.

b) Geeignete Konzentration

Das Turner-Fluorometer ist ein sehr empfindliches Meßgerät, das bereits minimalste Intensitäten von Fluoreszenzlicht erfaßt. Lösungen im Konzentrationsbereich, wie sie von *Dorier* und *Verelle* angegeben werden, sind für quantitative Messungen viel zu konzentriert. Die Intensität des Fluoreszenzlichtes steigt in diesem Bereich nicht mehr proportional mit dem Malvin-Gehalt an, die Kurve biegt ab. Als optimale Konzentration erwies sich der Bereich zwischen 3 und 8 µg Malvin in 13 ml Meßlösung. Nach der endgültigen Arbeitsvorschrift gelangt man in diesen optimalen Meßbereich mit Weinen, deren Malvin-Gehalt 3—8 mg/l beträgt.

c) Lösungsmittel

Nach der Oxydation des Malvins mit Natriumnitrit wird das Reaktionsgemisch mit einem organischen, mit Wasser mischbaren Lösungsmittel, das Ammoniak enthält, verdünnt. Erst jetzt entsteht die grüne Fluoreszenz. *Dorier* und *Verelle* benützen Aethylalkohol. Da das käufliche Aethanol oft eine starke Eigen-Fluoreszenz im UV zeigt, haben wir Versuche mit anderen Lösungsmitteln, wie Wasser, Dioxan, Dimethylformamid, Isopropanol und Methanol angestellt. Für unsere Zwecke erwies sich Methanol als besonders günstig. Die Fluoreszenz ist intensiv und die Stabilität der Lösungen befriedigend, wenn innert 15 Minuten nach dem Vermischen der Reagenzien ausgemessen wird.

d) Schwefelsäure-Konzentration

Dorier und *Verelle* versetzen den zu prüfenden Wein mit Natriumnitrit und Salzsäure, lassen 2 Minuten reagieren, geben Ammoniak und Alkohol zu, worauf die grüne Fluoreszenz entsteht. Da wir eine Reinigung des Weines mit neutralem Bleiacetat durchführen, verwenden wir Schwefelsäure zum Ansäuern. Dabei wird im gleichen Arbeitsgang der Bleiüberschuß als Sulfat ausgefällt.

Variierte man in der endgültigen Arbeitsvorschrift die Säuremenge zwischen 0,5 und 1,5 ml 1-n Schwefelsäure, so konnte nur ein unbedeutender Einfluß auf die Fluoreszenz beobachtet werden. Mit steigender Schwefelsäure-Menge nimmt die Fluoreszenz minim zu. 1 ml 1-n Schwefelsäure pro Versuch dürfte somit optimal sein. Diese Menge genügt, um den Bleiüberschuß auszufällen und aus dem Natriumnitrit die salpetrige Säure in Freiheit zu setzen.

e) Ammoniak-Konzentration

Systematische Versuche zeigten, daß die Ammoniak-Konzentration in der Meßlösung innerhalb weiter Grenzen variiert werden kann, ohne daß sich die Fluoreszenz ändert. Wichtig ist nur, daß die Lösung deutlich ammoniakalisch reagiert. Das Reaktionsgemisch wird in der Regel mit 10 ml ammoniakhaltigem Methanol versetzt. Ob diese 10 ml Methanol 0,4 ml oder 1,2 ml 25 %iges Ammoniak enthalten, hat keinen Einfluß auf die Fluoreszenz des Reaktionsgemisches.

Wir wählten in unserer Vorschrift für alle weiteren Versuche ein Methanol-Ammoniak-Gemisch, das aus 100 ml Methanol wasserfrei + 4 ml 25 % wässerigem Ammoniak bestand.

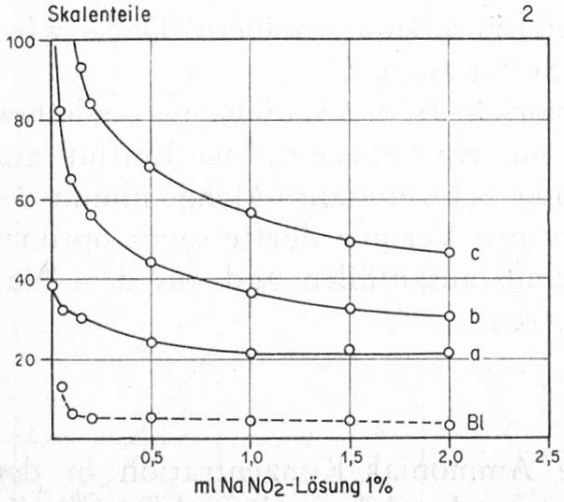
f) Methanol-Wasser-Verhältnis

Die Intensität der Fluoreszenz nimmt mit steigender Methanol-Konzentration zu. Bei Konzentrationen zwischen 20 und 60 Vol.% des zum Verdünnen verwendeten Methanols (je 10 ml) stieg die Intensität der Fluoreszenz mit der Alkohol-Konzentration an. Bei höheren Konzentrationen zwischen 60 und 95 Vol.% blieb sie jedoch konstant.

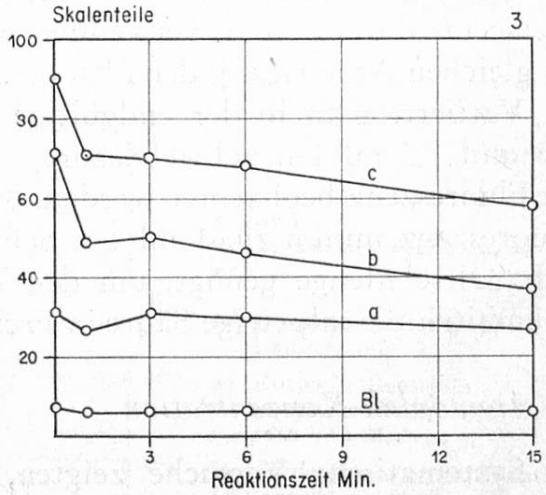
Für unsere weiteren Versuche verwendeten wir je 10 ml des üblichen Methanols p. a. dem auf 100 ml je 4 ml 25 %iges Ammoniak zugesetzt wurden. (Methanolkonzentration = 96 Vol.%.) Da die Meßlösung 3 ml wässerige Reagenzien und 10 ml der Methanol-Ammoniak-Mischung enthält, beträgt die Methanol-Konzentration der Meßlösung ca. 74 Vol.%.

g) Einfluß der Nitrit-Konzentration

Versuche ergaben die überraschende Tatsache, daß mit steigender Nitrit-Konzentration die Intensität der Fluoreszenz aus noch unabgeklärten Gründen abnimmt (Siehe Figur 2.) Vermutlich werden durch das Natriumnitrit gewisse fluoreszierende Stoffe des Weines oxydiert oder zerstört. Je höher die Nitritmenge umso niedriger wird auch die durch das Malvin verursachte Fluoreszenz. Die Differnz zwischen Kurve c (Rotwein mit Malvin-Zusatz) und Kurve b (Rotwein ohne Malvin) wird immer geringer. Um reproduzierbare Resultate zu erhalten,



Figur 2
Einfluß der Nitritmengen



Figur 3
Einfluß der Reaktionszeit der salpetrigen Säure

Bl Blindversuch der Reagenzien mit Wasser
a) Weißwein
b) Rotwein Beaujolais
c) Rotwein Beaujolais + 2 % Hybridenwein

muß daher eine definierte Nitrit-Konzentration festgelegt und möglichst genau eingehalten werden. Wir wählten pro Versuche je 1,0 ml 1 %iger Natriumnitrit-Lösung. Wie aus der Figur 2 ersichtlich ist, beeinflußt eine Abweichung der Nitritmenge um ca. 5 % die Fluoreszenz nur unbedeutend. Sie beträgt etwa 1 Teilstrich und liegt innerhalb des üblichen Meßfehlers. Wir haben auch versucht, den Ueberschuß an salpetriger Säure mit Sulfaminsäure zu entfernen, um den störenden Einfluß der Nitrit-Menge auf die Fuoreszenzintensität zu eliminieren. Die Versuche blieben erfolglos, es konnte keine wesentliche Verbesserung erzielt werden.

h) Einfluß der Reaktionszeit der salpetrigen Säure

Dorier und *Verelle* lassen das Natriumnitrit während 2 Minuten auf den Wein einwirken, bevor sie das Aethanol-Ammoniak-Gemisch zugeben. Eigene Versuche zeigten, daß bei längerer Einwirkungszeit der salpetrigen Säure die Intensität der Fluoreszenz abnimmt. Bei einer Reaktionszeit zwischen 1 und 6 Minuten ist dieser Effekt minim (Siehe Figur 3). Wir wählten für alle weiteren Versuche eine Reaktionszeit von genau 3 Minuten.

i) Vorreinigung durch eine Klärung mit Bleiacetat

In Vorversuchen wurde gefunden, daß durch eine Klärung mit Bleiacetat, wie diese auch beim papierchromatographischen Malvin-Nachweis vorgeschrieben ist, beträchtliche Mengen von fluoreszierenden Stoffen entfernt werden. Durch neutrales Bleiacetat wird nach *Diemair* und Mitarb. (4) kein Malvin ausgefällt. Nach dem Abzentrifugieren erhält man meist eine blaß-rosarote vollständig klare Lösung. Das darin noch enthaltene Blei kann in einfacher Weise durch einen Zusatz von Schwefelsäure ausgefällt werden. Mit Natriumnitrit und Methanol-Ammoniak entsteht die von *Dorier* und *Verelle* (9) beschriebene, grün fluoreszierende Verbindung.

Um zu prüfen, ob durch die Bleifällung kein Malvin verloren geht, haben wir die Versuche in Tabelle 3 angesetzt. In verschiedenen Weinen wurde zunächst die Nebenfluoreszenz mit und ohne Bleifällung bestimmt. Je 5 ml Wein haben wir, wie in der endgültigen Arbeitsvorschrift mit 2 ml 10 %iger neutraler Bleiacetatlösung versetzt und zentrifugriert. 1 ml der klaren überstehenden Lösung diente zur fluorometrischen Bestimmung. Im Parallelversuch ohne Bleifällung wurden 5 ml Wein mit 2 ml Wasser versetzt und je 1 ml dieser Mischung verwendet. Die Nebenfluoreszenz wurde durch die Bleifällung bei allen Weinen beträchtlich vermindert. Die gleichen Weine wurden nun mit bekannten Mengen eines Hybridenweines verschnitten. In diesen malvinhaltigen Weinen haben wir, in der oben beschriebenen Art, die Fluoreszenz vor und nach der Bleifällung bestimmt. Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß die Differenz der Fluoreszenz zwischen malvinhaltigem und malvinfreiem Wein in beiden Fällen, d. h. mit und ohne Bleifällung, gleich ist. Durch den Bleiniederschlag werden somit nur störende Stoffe entfernt, es geht aber kein Malvin verloren.

Tabelle 3 Vorreinigung durch eine Klärung mit Bleiacetat

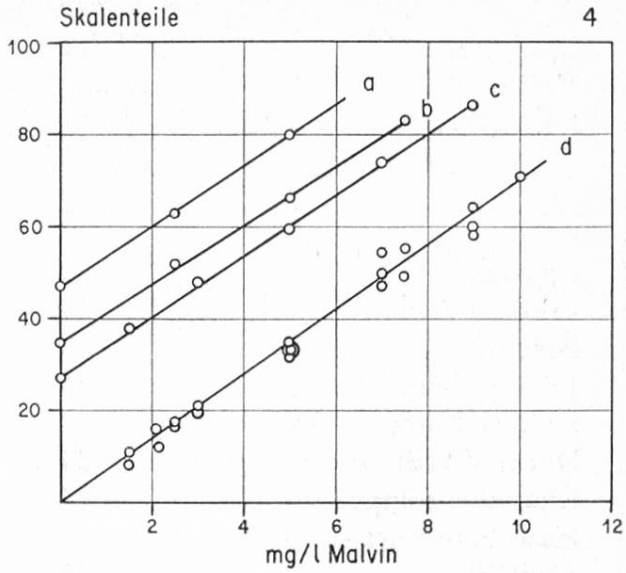
	Fluoreszenz (Skalenteile)	
	ohne Bleifällung	mit Bleifällung
Weißwein Epesse + 0,5 % Hybridenwein I	61	44
Weißwein Epesse allein	41	25
Differenz = Fluoreszenz des Malvins	20	19
Weißwein Epesse + 0,7 % Hybridenwein I	68	55
Weißwein Epesse allein	41	25
Differenz = Fluoreszenz des Malvins	27	30
Valpolicella + 0,5 % Hybridenwein I	65	51
Valpolicella allein	43	32
Differenz = Fluoreszenz des Malvins	22	19
Beaujolais + 0,6 % Hybridenwein II	71	59
Beaujolais allein	54	44
Differenz = Fluoreszenz des Malvins	17	15
Beaujolais + 1,2 % Hybridenwein II	81	72
Beaujolais allein	50	42
Differenz = Fluoreszenz des Malvins	31	30

Es muß bemerkt werden, daß bei einigen nicht vollständig klaren Rotweinen, (z. B. Bourgogne) Störungen auftraten, wenn sie mit Malvin oder mit einem Hybridenwein versetzt wurden. Ein Teil des Malvins ging verloren. Möglicherweise wird es beim Mischen dieser Weine mit Gerbstoff- oder Eiweißtrübungen ausgefällt und entzieht sich so der Bestimmung.

k) Eichkurve

Versuche mit reinen Malvin-Lösungen, die man mit dest. Wasser verdünnte, ergaben, daß die Fluoreszenzreaktion nach *Dorier* und *Verelle* bei Abwesenheit von Wein sehr unbeständig ist. Fügt man das Malvin zu einem malvinfreien Rotwein, einem mit Aktivkohle entfärbten Rotwein, oder zu einem Weißwein, so ist die Fluoreszenz recht beständig.

Für die Eichkurven benutzten wir daher entweder einen Weißwein, oder einen mit Aktivkohle entfärbten Rotwein. Letzterer ist besonders geeignet, weil die Nebenfluoreszenz gering ist. Nun setzten wir steigende, genau bekannte Mengen Malvin zu. Diese Mischungen wurden nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Methode weiter verarbeitet und die auftretende grüne Fluoreszenz gemessen. Auf diese Weise erhielten wir die in Figur 4 dargestellten, linear verlaufenden Eichkurven (a, b, c).



Figur 4
Eichkurven mit reinen Malvin-Lösungen

a) in Rotwein Beaujolais
b) in Weißwein Chablis
c) in Weißwein Fendant
d) Meßpunkte nach Abzug der Nebenfluoreszenz und Regressionsgerade

Da jeder Wein, sowie auch die Reagenzien eine sogenannte Nebenfluoreszenz zeigen, muß dieselbe ebenfalls bestimmt und von der Fluoreszenz der malvinhaltigen Probe abgezogen werden. Die derart korrigierte Eichkurve (d) geht durch den Nullpunkt.

In der Figur 4 sind zahlreiche Punkte, die mit verschiedenen Malvin-Lösungen und in verschiedenen Weinen gefunden wurden, dargestellt. An diesen Versuchen beteiligten sich mehrere Personen. Die zum Teil recht große Streuung einzelner Meßpunkte, dürfte hauptsächlich auf die Instabilität der reinen Malvin-Lösungen zurückzuführen sein. Aus der Steigung dieser Kurve ergibt sich, daß 1 Skalenteil Fluoreszenz 0,14 mg/l Malvin entspricht.

4. Ueberprüfung der fluorometrischen Methode

Nachdem die annähernd optimalen Versuchsbedingungen ermittelt waren, haben wir die am Schluß dieser Arbeit angegebene Arbeitsvorschrift ausgearbeitet und dieselbe bei allen weiteren Versuchen eingehalten.

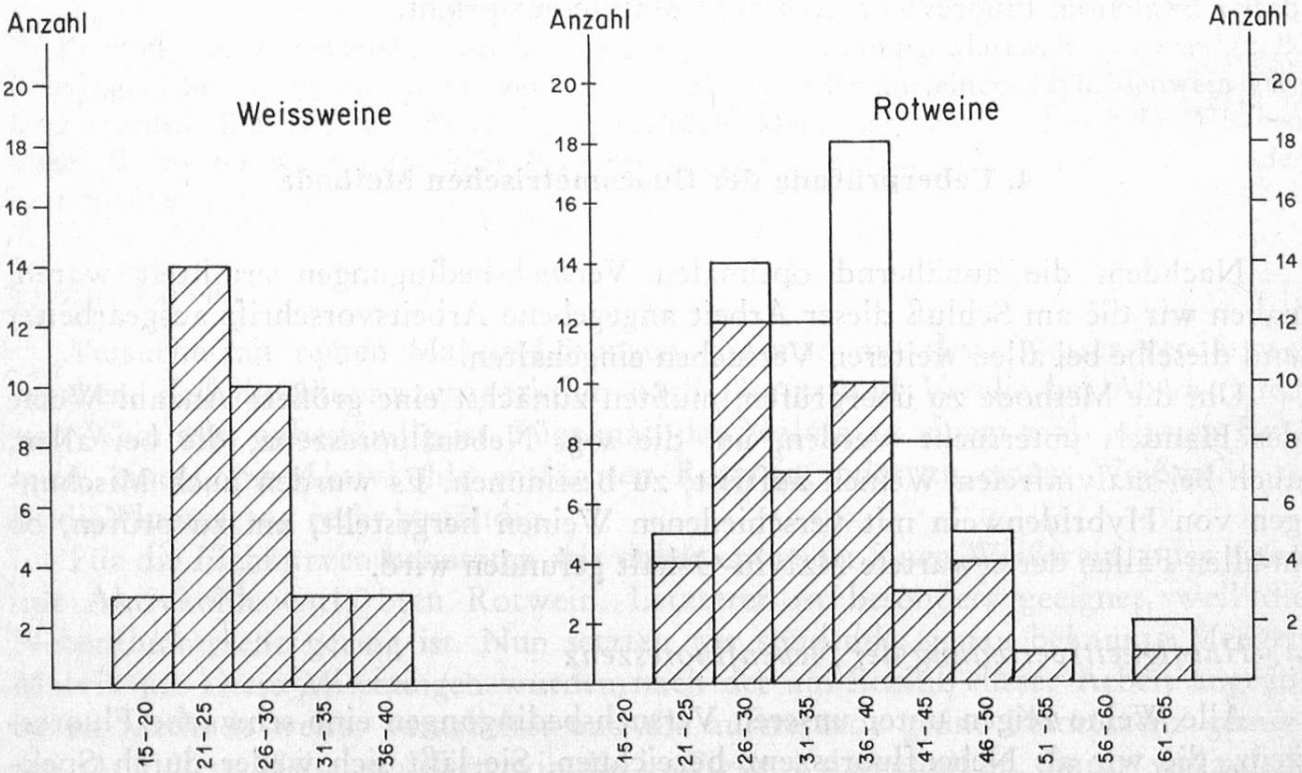
Um die Methode zu überprüfen, mußten zunächst eine größere Anzahl Weine des Handels untersucht werden, um die sog. Nebenfluoreszenz, die bei allen, auch bei malvinfreien Weinen auftritt, zu bestimmen. Es wurden auch Mischungen von Hybridenwein mit verschiedenen Weinen hergestellt, um zu prüfen, ob in allen Fällen der erwartete Malvin-Gehalt gefunden wird.

a) Häufigkeitsverteilung der Nebenfluoreszenz

Alle Weine zeigen unter unseren Versuchsbedingungen eine schwache Fluoreszenz, die wir als Nebenfluoreszenz bezeichnen. Sie läßt sich weder durch Spektralfilter noch durch eine Klärung des Weines mit Bleiacetat oder mit Carrez-

Tabelle 4 Fluoreszenz von Weißweinen

Bezeichnung des Weines	Fluoreszenz Skalenteile nach Abzug des Blindwertes	Bezeichnung des Weines	Fluoreszenz Skalenteile nach Abzug des Blindwertes
Chasselas	20	Pouilly Fuissé	29
Fendant Ardon	24	La Côte	28
Fendant	23	Johannisberg Provins	31
Johannisberg	36	Johannisberg Ardon	40
Lavaux Lutry	22	Château de Bursinel	26
Dorin Waadt	24	Féchy	30
Chasselas romand	24	Dorin Villneuve	24
Haut Sauternes (France)	30	Aigle	26
Trois Plants	25	Dorin Yvorne	26
Sauternes (France)	37	Bovard	26
Cérons 1962	34	Château Auvernir	21
Cérons 1964	34	Cressier	20
Chablis	29	Twanner	25
Pouilly	27	Chasselas	18
Epesse	23	Epesse	25
Lavaux Lutry	21	Chasselas	25



Figur 5 Häufigkeitsverteilung der Fluoreszenz von Weiß- und Rotwein

Lösung vollständig ausschalten. Bei der Berechnung des Malvin-Gehaltes muß diese Nebenfluoreszenz berücksichtigt werden. Um einen einigermaßen zuverlässigen Mittelwert zu erhalten, haben wir an zahlreichen Weißweinen, die sicher kein Malvin enthalten, die Fluoreszenz gemessen (siehe Tabelle 4). Dabei wurden die Weinproben genau nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Vorschrift zur fluorometrischen Bestimmung des Malvins aufgearbeitet.

Aus der Häufigkeitsverteilung in Figur 5, erkennt man, daß ein großer Teil der Weißweine ($^3/_4$ aller untersuchten Proben) eine Fluoreszenz zwischen 21 und 30 Skalenteilen aufweist. Das arithmetische Mittel liegt bei 27. Die Verteilung entspricht einer Normalverteilung (Gaussche Glockenkurve).

Analoge Versuche an Rotweinen gaben ein etwas anderes Bild. Neben Weinen mit niedrigen Fluoreszenzen (20—30 Skalenteile) findet man eine recht große Zahl von Rotweinen, deren Fluoreszenz über 35 Skalenteile beträgt. Es scheint hier eine zweigipflige Verteilung vorzuliegen. Bei einem ersten Kollektiv von 41 Weinen, war dies sehr ausgeprägt. (Schraffierte Fläche in Figur 5). Im Kollektiv von 66 Weinen ist der erste Gipfel mit 26—30 Skalenteilen Fluoreszenz schwach angedeutet. Derselbe entspricht ungefähr der Fluoreszenz malvinfreier Weine, (wie beispielsweise Weißweine). Ein zweites Maximum findet man bei 36—40 Skalenteilen. Eine papierchromatographische Prüfung ergab, daß eine große Anzahl dieser Rotweine mit erhöhter Fluoreszenz Spuren von Malvin enthielten. Bei einigen Weinen mit deutlich erhöhter Fluoreszenz verlief die papierchromatographische Prüfung auf Malvin zunächst negativ. Wurden jedoch größere Mengen der Prüflösung auf das Papier aufgetragen (60 µl Prüflösung entsprechend 0,6 ml Wein, statt 0,2 ml) fanden wir in allen Fällen Spuren von Malvin.

Für die Berechnung des Malvin-Gehaltes haben wir bei allen Weinen einheitlich 30 Skalenteile für die Nebenfluoreszenz subtrahiert. Die Differenz wurde in Malvin umgerechnet. Nach der Eichkurve in Figur 4 berechnet sich aus der Regressionsgeraden für 1 Skalenteil Fluoreszenz ein Malvin-Gehalt von 0,14 mg/l.

In der Tabelle 5 haben wir die ungefähren Malvin-Gehalte, wie sie sich aus der Fluoreszenz berechnen lassen, angegeben. Die Werte sind bei der großen Mehrzahl der Weine niedrig. Sie bewegen sich zwischen 0 und 2 mg Malvin pro Liter Wein. Nur 9 von 66 untersuchten Weinen enthielten mehr als 2 mg Malvin pro Liter. Bei der papierchromatogaphischen Prüfung wurde in diesen 9 Weinen ausnahmslos Malvin nachgewiesen.

b) Zusatz von reinem Malvin zu verschiedenen Weinen

Zur weiteren Kontrolle haben wir von einigen Rot- und Weißweinen zunächst die Nebenfluoreszenz gemessen. Jedem dieser Weine haben wir 5 mg/l reinstes Malvin zugegeben und hierauf die Fluoreszenz erneut gemessen. Die Differenz, d. h. die durch je 5,0 mg/l Malvin verursachte Zunahme der Fluoreszenz schwankte bei 7 verschiedenen Weinen (2 Weißweine, 5 Rotweine) zwischen 28 und 42 Skalenteilen. Der Mittelwert betrug 35 Skalenteile, und liegt genau auf

Tabelle 5 Fluoreszenz von Rotweinen

Herkunft und Bezeichnung	Fluoreszenz		Papierchromatographische Prüfung	
	Skalenteile minus Blind	Malvin ber. mg/l	20 µl aufgetragen entspricht 0,2 ml Wein	60 µl aufgetragen entspricht 0,6 ml Wein
Schweiz				
Pinot noir du Valais	47	2,4	Spur	—
Dôle du Valais	22	0	Spur?	—
Dôle du Valais	42	1,7	Spur	—
Gamay de Romandie (Vaud)	30	0	negativ	—
Salvagnin Gamay (Vaud)	37	1,0	Spur?	—
Frankreich				
Beaujolais	37	1,0	Spur	—
Côtes du Rhône	48	2,6	Spur	—
Beaujolais	32	0,3	Spur	—
Beaujolais	40	1,4	Spur	—
Mercurey	41	1,6	Spur	—
Côtes du Rhône	48	2,6	Spur	positiv
Bourgogne	40	1,4	—	—
Beaujolais	33	0,4	—	—
Beaujolais	37	1,0	Spur	—
Vin rouge du midi	38	1,1	Spur	—
Moulin à vent	49	2,7	negativ	Spur
Italien (und Tirol)				
Magdalener	37	1,0	—	—
Kalterer	34	0,4	—	—
Magdalener	32	0,3	—	—
Magdalener	30	0	negativ	Spur
Kalterer	29	0	Spur	—
Magdalener	35	0,7	negativ	Spur
Kalterer	29	0	—	—
Magdalener	33	0,4	—	—
Magdalener	29	0	—	—
Magdalener	31	0,1	—	—
Magdalener	37	1,0	negativ	Spur
Kalterer	28	0	—	—
Valpolicella	32	0,3	—	—
Mischungen				
Montagne	41	1,0	positiv	—
Montagne	39	1,3	Spur	—

Tabelle 5a Fluoreszenz von Rotweinen

Herkunft und Bezeichnung	Fluoreszenz		Papierchromatographische Prüfung	
	Skalenteile minus Blind	Malvin ber. mg/l	20 µl aufgetragen entspricht 0,2 ml Wein	60 µl aufgetragen entspricht 0,6 ml Wein
Spanien				
Rioja	40	1,4	—	—
Rosé Utiel	22	0	negativ	—
Rioja Rosé	27	0	negativ	Spur
Rosé Utiel	22	0	negativ	—
Montagne Utiel	28	0	negativ	—
Montagne	27	0	Spur	—
Rosé	21	0	negativ	—
Rancio Solera	36	0,9	Spur	—
Rioja	33	0,4	negativ	—
Montagne Utiel	35	0,7	—	—
Rioja	42	1,7	negativ	—
Rioja	38	1,1	—	—
Portugal				
Estramadura	26	0	Spur	—
Rotwein	30	0	negativ	Spur
Estramadura	32	0,3	—	—
Rotwein	37	1,0	—	—
Rosé Estramadura	19	0	—	—
Rosé Estramadura	31	0,1	—	—
Osteuropa				
Kadarka	27	0	Spur	—
Vippacher Rosé	30	0	Spur	—
Vippacher Rosé	28	0	—	Spur?
Pinot noir	39	1,3	—	—
Pinot noir	44	2,0	Spur	positiv
Gamza Kramolin	32	0,3	Spur	—
Ueberseeische				
Oran (Algerien)	65	7,1	stark positiv	—
Vin rouge de Tunésie	46	2,3	Spur	—
Vin rouge de Tunésie	45	2,1	Spur	—
Vin rouge de Tunésie	51	3,0	Spur	positiv
Vin rouge d'Algérie	61	4,4	positiv	positiv
Pinot noir Chilé	38	1,1	—	—
Kapwein (Südafrika)	41	1,6	negativ	Spur
Cabernet Chilé	34	0,6	—	—

der Regressionsgeraden in Figur 4. Einzelne Weine scheinen die grüne Fluoreszenz etwas zu verstärken, andere wiederum abzuschwächen. Umgerechnet auf Malvin fanden wir Werte zwischen 4,0 und 6,0 mg/l, statt theoretisch 5,0. Wegen dieser vorläufig nicht erklärbaren Streuung ist die Methode mit einer gewissen Unsicherheit behaftet.

c) Zusatz bekannter Mengen eines Hybridenweines zu verschiedenen Weinen

Um zu prüfen, ob die ausgearbeitete fluorometrische Methode in allen Fällen ohne Störungen durchführbar ist, haben wir Weine verschiedenster Sorten und Herkunft mit bekannten Mengen eines Hybridenweins des Handels versetzt. Hierauf wurde die Analyse ausgeführt und die Fluoreszenz gemessen.

In der Tabbelle 6 sind die Resultate aufgeführt. Die verschiedenen Weine ohne Zusatz zeigten ziemlich stark voneinander abweichende Nebenfluoreszenzen. Durch Zusatz von Hybridenwein stieg die Fluoreszenz jeweils an. Wir berechneten zunächst die Differenz (in Skalenteilen) und hieraus den Malvin-Gehalt der Weinmischung, unter der Annahme, daß der unverschnittene Wein frei von Malvin sei. (Dies dürfte beim Beaujolais, dem Côtes du Rhône und beim Kapwein nicht zutreffen).

Da für jede Weinmischung der Hybridenwein-Zusatz bekannt war, haben wir in der letzten Kolonne den Malvin-Gehalt des reinen Hybridenweins berechnet. Die Werte stimmen durchwegs recht gut überein (0,18—0,22 g/l). Hieraus folgt, daß die Fluoreszenzreaktion von keinem der 9 geprüften Weine gestört wurde.

Weil die Nebenfluoreszenz der verschiedenen Weine innerhalb ziemlich weiter Grenzen variieren kann, sind die fluorometrisch ermittelten Werte stets mit einer gewissen Unsicherheit von ca. ± 0,5 mg/l Malvin behaftet.

Da über die Chemie der grün fluoreszierenden Verbindung noch nichts bekannt ist, verzichteten wir auf ausgedehntere Versuche zur Verbesserung der fluorometrischen Methode.

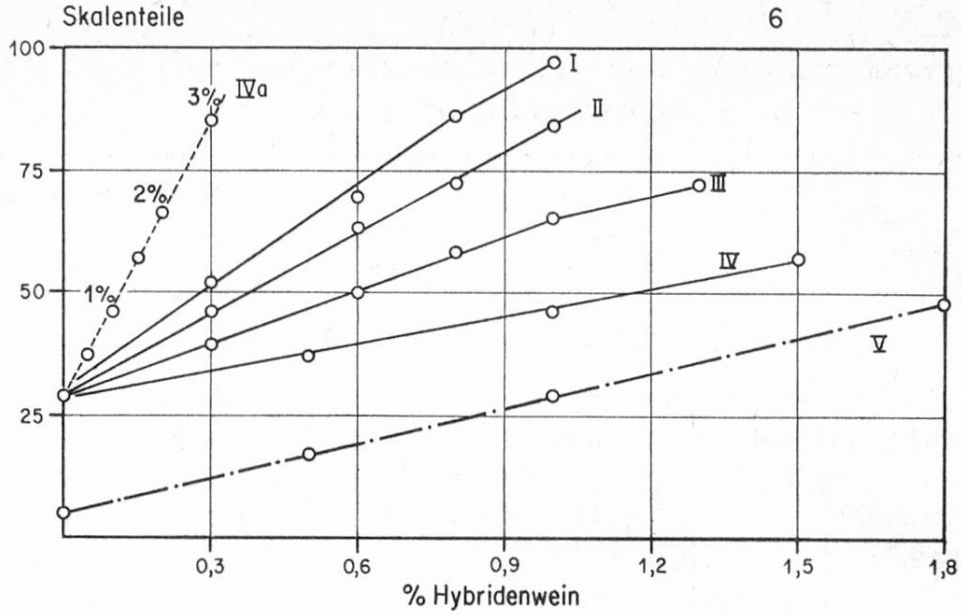
5. Malvin-Bestimmung in reinen Hybridenweinen

Nachdem wir eine fluorometrische Methode zur Malvin-Bestimmung ausgearbeitet hatten, war es von Interesse, den Malvin-Gehalt in verschiedenen authentischen Hybridenweinen zu bestimmen. Eine Anzahl vergorener Hybridenweine haben wir von der Station fédérale d'essais agricoles, Lausanne und von Weinhandelsfirmen erhalten. Andere Proben haben wir im Laboratorium hergestellt, indem wir frische Hybridentrauben verschiedener Sorten (Ernte 1966) auf den Trestern vergoren haben. Je 1—2 kg Traubenbeeren wurden zerquetscht, mit 3 g Bäckerhefe pro kg Trauben geimpft und im Dunkeln bei 20—25 ° C während 3—5 Tagen vergoren. Anschließend wurde der Saft abgepreßt und fertig vergären gelassen. Unmittelbar vor der Untersuchung haben wir die Saftproben zentrifugiert und den überstehenden, meist vollständig klaren Wein ohne zu fil-

Tabelle 6
Zusatz bekannter Mengen eines Hybridenweines zu verschiedenen Weinen fluorometrische Malvin-Bestimmung

Wein	Fluoreszenz Skalenteile	Differenz Skalenteile	Berechnete Malvin-Gehalte	
			in der Wein-Mischung mg/l	im zugesetzten Hybridenwein g/l
Beaujolais	47	—	—	—
Beaujolais + 3 % Hybrid.	88/88	41	5,86	0,20
Weißwein Lutry	31	—	—	—
Weißwein + 3 % Hybrid.	80/81	49	—	—
Span. Rosé	31	—	—	—
Span. Rosé + 3 % Hybrid.	78/76	46	6,57	0,22
Gamay	40	—	—	—
Gamay + 3 % Hybrid.	86	46	6,57	0,22
Salvagnin	47	—	—	—
Salvagnin + 3 % Hybrid.	94	47	6,70	0,23
Pouilly Fuissé	39	—	—	—
Pouilly Fuissé + 1 % Hybrid.	52	13	1,86	0,19
Pouilly Fuissé + 2 % Hybrid.	68	29	4,14	0,21
Pouilly Fuissé + 3 % Hybrid.	82	43	6,15	0,20
Côtes du Rhône	58	—	—	—
Côtes du Rhône + 3 % Hybr.	97	39	5,57	0,19
Kapwein	51	—	—	—
Kapwein + 3 % Hybrid.	89	38	5,43	0,18
St. Magdalener	45	—	—	—
St. Magdalener + 3 % Hybr.	85	40	5,71	0,19

trieren analysiert. Hybridenweine, die sehr viel Malvin enthalten, müssen vor der fluorometrischen Bestimmung verdünnt werden. Zum Verdünnen benutzten wir einen malvinfreien Weißwein, dem wir steigende Mengen, in der Regel (0,3 bis 1,5 %), in einzelnen Fällen bis zu 10 % des zu untersuchenden Hybridenweins zusetzten. Trägt man in einem Diagramm die gemessene Fluoreszenz (Skalenteile) gegen den Hybridengehalt der Weinprobe auf, so erhält man in den meisten Fällen eine Gerade. In der Figur 6 sind die Kurven, für 5 verschiedene Hybriden-



Figur 6 Mischungen von Weißwein (Twanner) mit verschiedenen Hybridenweinen

I Hybridenwein aus Traubensorte Seibel 7053 (Malvin-Gehalt 945 mg/l)
II Hybridenwein des Handels (Malvin-Gehalt 770 mg/l)
III Hybridenwein des Handels (Malvin-Gehalt 515 mg/l)
IV Hybridenwein aus Traubensorte Seibel 1000 (Malvin-Gehalt 270 mg/l)
IVa Gleicher Hybridenwein wie IV in höherer Konzentration
V Mischungen von Hybridenwein Seibel 7053 mit entfärbtem Rotwein. (Malvin-Gehalt = 336 mg/l)

weine dargestellt. Der Hybridenwein Seibel 1000 besitzt den niedrigsten Malvin-Gehalt, die Kurve IV verläuft am wenigsten steil. Die gestrichelte Kurve IVa wurde für einen höheren Konzentrationsbereich (bis 3 % Hybridenwein) aufgenommen und in einem anderen Maßstab aufgetragen. Als besonders günstig erwies sich zum Verdünnen ein Rotwein, der vorher mit Aktivkohle entfärbt wurde. In diesem Fall ist die Nebenfluoreszenz gering. (Siehe Figur 6, Kurve V).

Da wir unter den genau gleichen Bedingungen mit Weißwein, dem wir bekannte Mengen von reinstem Malvin zugesetzt hatten, eine Eichkurve aufnahmen, lassen sich die Malvin-Gehalte der Hybridenweine aus der Steigung der betreffenden Regressionsgeraden berechnen.

In der Tabelle 7 sind die Malvin-Gehalte einiger Hybridenweine zusammengestellt. Die Werte variieren innerhalb weiter Grenzen. Die weißen Hybridenweine sind frei von Malvin, was nicht verwunderlich ist, da sie überhaupt keine roten Weinfarbstoffe enthalten. Aber auch verschiedene, intensiv dunkelrot gefärbte Hybridenweine enthalten nur Spuren von Malvin. Solche Sorten sind Weine aus Hybridentrauben Landot 244, Seibel 5455 und Gros Framboise. Diese Hybridenweine, in denen fluorometrisch nur niedrige Malvin-Gehalte gefunden werden, haben wir noch papierchromatographisch geprüft und fast überall geringe Mengen Malvin nachgewiesen. Hier sind vielleicht einige Hinweise auf die Genetik am Platze.

Nach *Ribéreau-Gayon* (3, 9) findet man in den Beeren der Europäer-Rebe Vitis vinifera Anthocyan-Monoglucoside, aber niemals Anthocyan-Diglucoside.

Tabelle 7 Malvin-Gehalt von authentischen Hybridenweinen

Herkunft	Bezeichnung	Malvin-Gehalt mg/l	Papierchromatographische Prüfung
	Aus Hybridentrauben selber gekelterte Weine (Laborversuche Ernte 1966)		
L	Weiße Hybridentrauben Seyve Villard 5—276	0	negativ
L	Weiße Hybridentrauben Excelsior	0	negativ
L	Blaue Hybridentrauben Landolt 244	18	positiv
L	Blaue Hybridentrauben Gros Framboise	30	positiv
G	Blaue Hybridentrauben aus Genf	770	—
L	Blaue Hybridentrauben Seibel 5455	1,5	negativ
D	Blaue Hybridentrauben Seibel 5455	3	Spur
L	Blaue Hybridentrauben Seibel 1000	270	—
L	Blaue Hybridentrauben Seibel 7053	800	—
D	Blaue Hybridentrauben Seibel 7053	945	—
	Rote Hybridenweine des Handels		
L	Hybridenwein Seibel 7053 (Ernte 1966)	490	—
D	Hybridenwein rot, Französisch Dep. Vaucluse (Ernte 1966)	515	—
G	Hybridenwein rot (ohne nähere Bezeichnung)	200	—
	Alte, in Flaschen gelagerte rote Hybridenweine		
L	Landot 244 Pully (Ernte 1949)	7	positiv
L	Seyve Villard 34—211 Pully (Ernte 1950)	53	—
L	Seyve Villard 19—275 Pully (Ernte 1958)	550	—
L	Seibel 1000 Pully (Ernte 1949)	39	—
L	Seibel 8355 Pully (Ernte 1949)	29	—
L	Seibel 7053 Pully (Ernte 1950)	370	—
L	Seibel 7053 Pully (Ernte 1961)	336	—
L	Seibel 5455 Pully (Ernte 1961)	1,7	Spur

Herkunft der Trauben und Weine

D Grand Chais de Dijon
G Vin union de Genève
L Station fédérale d'essais agricoles, Lausanne

Die Anwesenheit von Anthocyan-Diglucosiden, beispielsweise Malvin (= Malvidin-Diglucosid) ist eine charakteristische Eigenschaft gewisser Amerikaner Reben (V. riparia und V. rupestris). Bei Kreuzungen verhält sich der Erbfaktor «Anwesenheit von Anthocyan-Diglucosiden» dominant. Die Eigenschaft «Abwesen-

heit von Anthocyan-Diglucosiden» der Vitis vinifera ist jedoch rezessiv. Infolge dessen liefert eine Kreuzung zwischen V. riparia und V. vinifera eine Hybridenpopulation F_1, die alle die Eigenschaft «Anwesenheit von Diglucosiden» haben. Sie enthalten alle Malvin. Kreuzt man eine dieser F_1-Hybriden mit V. vinifera zurück, so erhält man eine neue Hybriden-Population F_2, deren eine Hälfte die Eigenschaft «Anwesenheit von Diglucosiden» deren andere Hälfte die Eigenschaft «Abwesenheit von Diglucosiden» hat. In den Früchten der letzteren ist somit kein Malvin zu erwarten. Bei der Hybridentraube Seibel 5455 scheint eine solche Rückkreuzung vorzuliegen, die theoretisch kein Malvin enthalten sollte. Wir fanden in einem Muster Seibel 5455 (Trauben aus Dijon) nach der papierchromatischen Methode Spuren Malvin. In einem anderen Muster (Trauben aus Lausanne) dagegen, konnte keine Spur Malvin nachgewiesen werden.

Auch *Rentschler* und *Tanner* (6) fanden in einem Muster eines authentischen Hybridenweins Seibel 5455 Spuren Malvin, in einem anderen Weinmuster der gleichen Sorte dagegen kein Malvin.

Besonders hohe Malvin-Gehalte zeigen Hybridenweine der Sorte Seibel 7053. Sowohl aus Trauben dieser Sorte, die in der Schweiz gewachsen waren, als auch aus den Trauben aus Burgund (Ernte 1966) erhielten wir Hybridenweine mit hohen und recht gut übereinstimmenden Malvin-Gehalten (800 bzw. 945 mg/l). Ein Hybridenwein, gleicher Sorte des Handels enthielt 490 mg/l Malvin.

Alte Hybridenweine. Wir haben auch eine Anzahl alter, zum Teil 16- bis 17jähriger, in Flaschen gelagerter Hybridenweine untersucht, die uns von der Station fédérale d'essais agricoles Lausanne in freundlicher Weise überlassen wurden. Die Weine wiesen alle eine bräunliche Farbe auf, was auf eine Veränderung z. B. eine Polymerisation der Weinfarbstoffe hindeutet. Die Malvin-Gehalte waren durchwegs viel niedriger als in frischen Hybridenweinen gleicher Sorten. Durch Salzsäure läßt sich in diesen braunen Hybridenweinen ein Teil des chemisch gebundenen oder polymerisierten Malvins abspalten. Versetzt man 10 ml Wein mit 1 Tropfen konz. Salzsäure und läßt über Nacht stehen, so findet man viel höhere Malvin-Gehalte. Beim Hybridenwein Seibel 1000 stieg dabei der Malvin-Gehalt von ursprünglich 39 mg/l im braunen Wein auf ca. 140 mg/l.

6. Vergleich der papierchromatographischen mit der fluorometrischen Methode

Nach der papierchromatographischen Methode des Schweiz. Lebensmittelbuches, die wir geringfügig modifiziert haben, ist ein Wein zu beanstanden, wenn die Fluoreszenz des Malvin-Fleckens gleich, oder intensiver ist, als die Fluoreszenz eines Vergleichsfleckens von 0,5 µg reinem Malvin. Dies entspricht theoretisch einem Malvin-Gehalt des Weines von 2,5 mg/l. Da unsere Versuche in den Tabellen 1 und 2 ergaben, daß nur rund die Hälfte des Malvins, das einem Wein zugesetzt wurde, auf dem Chromatogramm wieder gefunden wird, liegt der wahre Malvin-Gehalt von Weinen, die nach der papierchromatographischen Me-

Tabelle 8
Papierchromatographische und fluorometrische Malvin-Bestimmung (Mischungen von Hybridenweinen und Weißwein)

Bezeichnung der Mischung	Malvin-Gehalt des Hybridenweines	Hybridenwein in der Mischung theoret. %	Papierchromatographische Prüfung auf Malvin	Fluorometrische Bestimmung		
				Skalenteile	Malvin gefunden mg/l	Malvin theoret. ber. mg/l
Weißwein Trois Plants rein	0	0	0	29	0	—
Weißwein + Hybridenwein-Mischungen:						
Seibel 7053 aus Burgund	945	0,54	~ Ko	67/70	5,5	5,1
Seibel 7053 aus Burgund	800	0,64	~ Ko	65	5,0	5,1
Seibel 7053 aus Burgund	800	0,62	~ Ko	58	4,0	5,0
Seibel 7053 aus Burgund	370	1,36	~ Ko	56	3,7	5,0
Hybridenwein (Genève)	770	0,70	~ Ko	65/70	5,5	5,4
Hybridenwein (Genève)	515	1,16	~ Ko	74/75	6,4	6,0
Seibel 1000	270	1,92	~ Ko	67/67	5,3	5,2
Gros Framboise	30	16,6	> Ko	74/75	6,4	5,0
Landot 244	18	29,4	Spur	59	4,1	5,3

Ko = Kontrolle, d. h. Vergleichsfleck von 0,5 µg Malvin entspricht der höchst zulässigen Malvin-Menge in Wein, nach der Vorschrift des LB.

thode beanstandet werden, bei ca. 5 mg/l oder darüber. Wir haben nun von verschiedenen reinen Hybridenweinen, deren Malvin-Gehalt wir fluorometrisch ermittelt hatten, jeweils solche Mengen zu einem Weißwein zugesetzt, daß die Mischung ca. 5 mg/l Malvin enthielt. Diese Mischungen wurden nach der am Schluß dieser Arbeit beschriebenen papierchromatographischen Methode auf Malvin geprüft. In allen Chromatogrammen wiesen die Malvin-Flecken nahezu die gleiche Intensität auf wie der Vergleichsfleck mit 0,5 µg reinem Malvin. In den gleichen Weinmischungen haben wir den Malvin-Gehalt nach unserer fluorometrischen Methode bestimmt und fanden in allen Fällen annähernd die erwartete Menge von 5 mg/l Malvin wieder. (Siehe Tabelle 8.) Damit ist die Brauchbarkeit der beiden Methoden bewiesen. Die fluorometrische Methode ist den papierchromatographischen Verfahren überlegen. Sie ist viel einfacher und liefert recht gut reproduzierbare Zahlenwerte. Wegen der relativ hohen und schwankenden

Nebenfluoreszenzen darf ihre Genauigkeit aber nicht überschätzt werden. Die Resultate sind auf halbe Milligramme (mg/l auf- oder abzurunden). Die Grenze für den höchst zulässigen Malvin-Gehalt eines Weines ist für die fluorometrische Methode bei 5 mg/l festzulegen, damit die Resultate mit der papierchromatographischen Beurteilung nach dem Lebensmittelbuch übereinstimmen. Eine Berechnung der zugesetzten Menge Hybridenwein auf Grund des ermittelten Malvin-Gehaltes wäre problematisch da der Malvin-Gehalt der Hybridenweine sehr stark variiert. Gewisse Hybridentrauben enthalten überhaupt kein, oder nur Spuren von Malvin.

In den aus malvinhaltigen Trauben gekelterten Weinen kann übrigens der Malvin-Gehalt je nach Art der Kelterung ganz unterschiedlich ausfallen, da die Anthocyane erst während der Gärung enzymatisch aus den Häuten der Traubenbeeren abgespalten werden.

7. Arbeitsvorschrift für den papierchromatographischen Malvin-Nachweis

(Abgekürzte VSK-Methode)

Die Methode unterscheidet sich durch einige Abänderungen und Vereinfachungen von der Lebensmittelbuch-Methode (7).

a) Vorreinigung. 5 ml Wein werden mit 2 ml neutraler 10 %iger Bleiacetatlösung versetzt. Im Gegensatz zur LB-Methode wird kein Ammoniak zugefügt, weil die Gefahr besteht, daß bei Gegenwart von Ammoniak der Niederschlag etwas Malvin mitreißt, was zu Verlusten führt. Der Bleiniederschlag wird scharf abzentrifugiert und die überstehende klare Lösung, die das Malvin enthält, in ein zweites graduiertes 10 ml-Zentrifugenglas abgegossen. (Der Bleiniederschlag wird im Gegensatz zur LB-Methode nicht ausgewaschen, die dadurch bedingten geringen Verluste sind tragbar).

b) Fällung. Die klare Lösung im zweiten Zentrifugenglas wird mit 2 Tropfen 25 %igem Ammoniak versetzt, durch Umkippen gemischt und zentrifugiert und die überstehende Lösung verworfen.

c) Auswaschen. Der Bleiniederschlag, der das Malvin enthält, wird mit 2 ml Methanol gut verrührt, dann zentrifugiert und das Methanol weggegossen. Das Auswaschen wird mit 2 ml Methanol wiederholt. (Auf das Auswaschen mit Aceton und das Trocknen des Rückstandes wie es die LB-Methode vorschreibt wird verzichtet). Der scharf abzentrifugierte Bleiniederschlag hat meistens ein Volumen unter 0,5 ml. Der Rückstand wird mit 2 Tropfen konz. Salzsäure 37 % versetzt, mit einem dünnen Glasstab gerührt bis der gesamte Niederschlag zersetzt, d. h. der rote Farbstoff freigelegt ist. Mit Methanol wird auf 0,55 ml, falls das Volumen bereits größer ist, auf 0,80 ml verdünnt. Es wird erneut zentrifugiert, wobei sich

das Bleichlorid mit einem Volumen von ca. 0,05 ml am Boden absetzt. Die überstehende salzsaure, methanolische Lösung (0,50 bzw. 0,75 ml) dient zur chromatographischen Prüfung.

d) Chromatographie. Zur Chromatographie dienen sternförmig gestanzte Rundfilter aus Filterpapier Schleicher und Schüll 2043b für die Sterntechnik nach *Potterat* (11). Die Trennung ist gut, es können 8 Chromatogramme gleichzeitig entwickelt werden. Auf einem Sektor trägt man normalerweise 20 µl der methanolischen Lösung auf, oder 30 µl wenn die methanolische Lösung auf 0,80 ml verdünnt wurde. (Beides entspricht 0,20 ml Originalwein). Als Vergleichsfleck trägt man 10 µl einer frisch bereiteten Malvin-Lösung auf, die 5 mg Malvin in 100 ml 1 %iger Salzsäure enthält. (10 µl entsprechen 0,5 µg Malvin). Um das Abschätzen der Malvin-Menge zu erleichtern, kann man verschiedene Vergleichsflecken mit steigenden Mengen (0,1—0,5 µg Malvin) auftragen. Als Laufmittel, das man durch einen Docht aus Filterpapier aufsteigen läßt, dient das im Lebensmittelbuch (7) angegebene Gemisch. (10 Vol.-Teile n-Butanol und 10 Vol.-Teile 2-n Salzsäure im Scheidetrichter schütteln, die klare obere Phase abtrennen und mit 0,5 Vol.-Teilen n-Butanol versetzen).

Die Laufzeit beträgt 8—14 Stunden.

e) Auswertung. Nach dem Trocknen des Chromatogramms (im Halbdunkeln) mittels eines Föhns wird es im langwelligen UV betrachtet. Die Malvin-Flecken erkennt man an der intensiven ziegelroten Fluoreszenz. Aus der Fleckengröße und deren Intensität kann man durch Vergleichen mit den Vergleichsflecken den Malvin-Gehalt einigermaßen abschätzen.

9. Arbeitsvorschrift für die fluorometrische Malvin-Bestimmung

Prinzip

Durch eine Fällung mit Bleiacetat werden störende Begleitstoffe des Weins ausgefällt. Das Malvin bleibt in der klaren, überstehenden Lösung. Ein aliquoter Teil dieser geklärten Lösung wird mit Schwefelsäure und Natriumnitrit versetzt. Nach Zusatz von Methanol und Ammoniak entsteht eine im UV-Licht grün fluoreszierende Verbindung. Die Intensität der Grünfluoreszenz wird in einem Fluorometer ausgemessen. Sie ist dem Malvin-Gehalt proportional.

Reagenzien

Bleiacetatlösung, 10 %. 10,0 g krist. Bleiacetat, $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ werden mit 90 ml Wasser gelöst.

Schwefelsäure, 1-n.

Natriumnitrit, 1 %. 1 g Natriumnitrit p. a. wird in Wasser gelöst und auf 100 ml verdünnt. Die Lösung soll frisch zubereitet oder höchstens wenige Tage alt sein.

Methanol-Ammoniak-Mischung. Zu je 100 ml reinem Methanol werden 4 ml Ammoniaklösung (25 %) zugesetzt. Die Mischung wird in einer Glasflasche mit Schliffstopfen aufbewahrt.

Malvin-Eichlösung. 5,00 mg Malvin in 20,0 ml Methanol-Salzsäure. Da es schwierig ist genau 5,00 mg Malvin abzuwägen verfährt man wie folgt: 5—6 mg chromatographisch reines Malvin werden auf der Halbmikrowaage in ein 50 ml-Erlenmeyerkölbchen auf ± 0,02 mg genau abgewogen. Nun berechnet man das Flüssigkeitsvolumen, auf welches verdünnt werden muß, damit in 20,00 ml genau 5,00 mg Malvin enthalten sind. Das Malvin wird zunächst in 4,00 ml Methanol gelöst. Anschließend gibt man die berechnete Menge 1 %iger Salzsäure zu und mischt.

1 ml der Malvin-Lösung enthält 0,25 mg Malvin. Die Eichkurve soll mit einer frisch zubereiteten Malvin-Lösung aufgenommen werden.

Apparate, Geräte

Zentrifugengläser, 15—18 ml Inhalt, zylindrische Form mit rundem Boden; (konische Gläser sind weniger geeignet, weil sich darin die Reagenzien nicht gut mischen lassen).

Zentrifuge, ca. 3000 Touren pro Minute.

Meßgefäß, sog. Kippautomat (10 ml Inhalt) mit Schliffstopfen, passend auf eine Glasflasche für die Methanol-Ammoniak-Mischung.

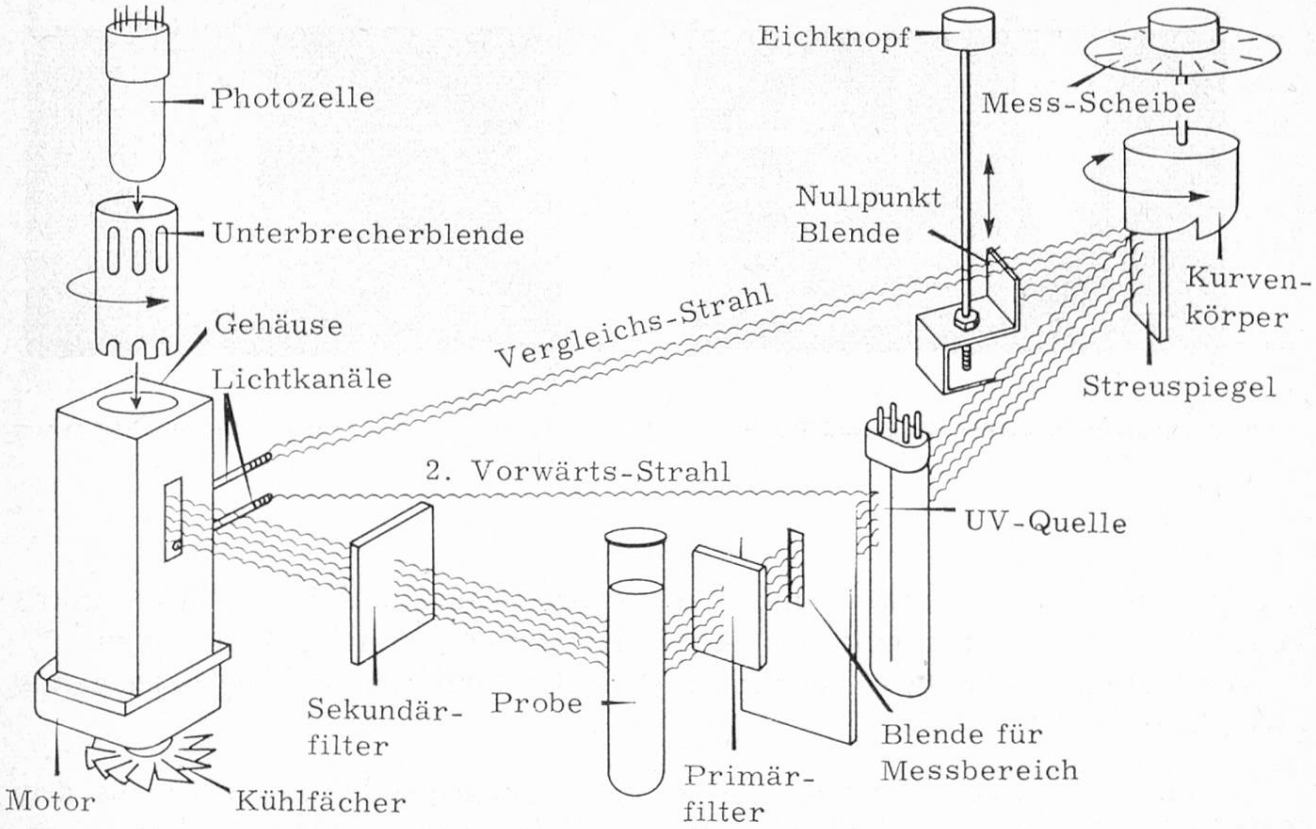
Fluorometer, mit genügend hoher Empfindlichkeit. Gut bewährt hat sich das Turner-Fluorometer. Vertretung der G. K. Turner Ass. Palo Alto, California USA, für die Schweiz und Deutschland: Camag, Muttenz, Basel-Land. In der Figur 7 sind der Strahlengang und das Meßprinzip des Turner-Fluorometers dargestellt.

Ausführung der Bestimmung

a) *Reinigung der Geräte.* Alle Glasgefäße müssen tadellos sauber sein, weil schon kleinste Spuren von fluoreszierenden Stoffen die Resultate verfälschen. Die mechanisch gereinigten und gut ausgespülten Zentrifugengläser und Meßröhrchen werden einige Minuten in eine 2 %ige Lösung von RBS* eingelegt, mit Leitungswasser und schließlich mit dest. Wasser gespült und getrocknet. Die gereinigten Meßröhrchen zum Fluorometer sollen im untern Teil, der in den Strahlengang kommt, nicht mehr berührt werden.

b) Vorbereitung der Lösungen. 5,0 ml Wein werden in ein Zentrifugenglas abpipettiert, mit 2,0 ml Bleiacetat-Lösung versetzt, die Lösungen gut gemischt und anschließend während 5 Minuten zentrifugiert. (Gleichzeitig wird ein Blindversuch ausgeführt). Von der überstehenden klaren Lösung, welche das gesamte

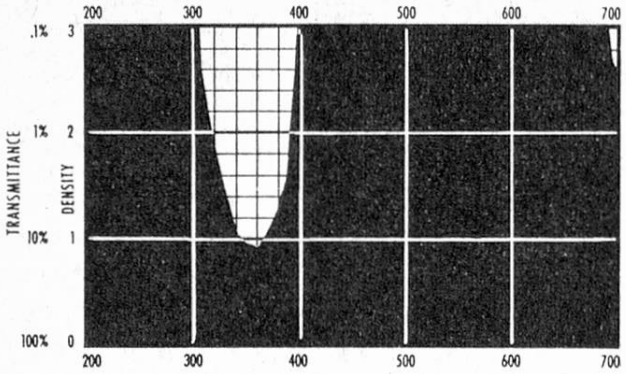
* Reinigungsmittel: RBS 25-Konzentrat, Fluka A. G., Buchs SG (Schweiz).



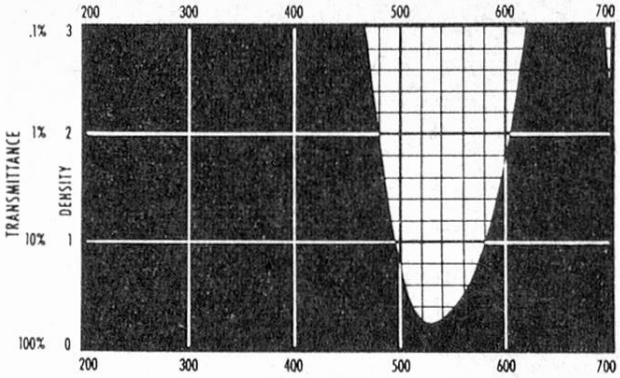
Figur 7 Meßprinzip des Turner-Fluorometers. Das Licht einer UV-Lampe wird durch Streuspiegel und Blenden in einen Vergleichsstrahl und in einen Meß-Strahl zerlegt.
Mittels optischer Brückenschaltung, analog einer Wheatstone-Brücke, wird über ein Null-Instrument der Vergleichs-Strahl auf die Intensität des Meß-Strahls abgeglichen. Eine einzige, hochempfindliche Photozelle tastet abwechselnd Meß- und Vergleichs-Strahl ab, und zwar durch eine rotierende, mechanisch angetriebene Unterbrecherblende. Die Photozelle gibt an den Verstärker verzerrungsfreien Wechselstrom ab. Die zweite Verstärkerstufe arbeitet auf dem Prinzip eines Phasen-Detectors. Das Null-Instrument erhält von dort ein positives oder negatives Signal, je nachdem, ob Meß-Strahl oder Vergleichs-Strahl lichtstärker ist. Durch Drehen der Meß-Scheibe und damit eines Kurvenkörpers wird der Streuspiegel teilweise abgedeckt und damit die Intensität des Vergleichs-Strahls verändert. Wenn das Anzeige-Instrument auf Null abgeglichen ist, kann aus der Stellung der Meß-Scheibe, die in 100 Teilstriche eingeteilt ist, die Fluoreszenz abgelesen werden.
Unterschiede in der Lichtausbeute der UV-Quelle, hervorgerufen z. B. durch Alterung der Röhre, Spannungsschwankungen, Frequenz-Schwankungen beeinflussen das Meßergebnis nicht, da der Vergleichs-Strahl in gleicher Weise geändert wird. Da nur eine Photozelle beide Strahlen abwechselnd abtastet, wird auch durch sie kein Fehler hervorgerufen.

Malvin enthält, wird 1 ml in ein Zentrifugenglas abpipettiert. Man setzt genau 1,0 ml 1-n Schwefelsäure zu, schüttelt, gibt 1,0 ml Natriumnitritlösung 1 % zu, schüttelt nochmals und läßt genau 3 Minuten reagieren. Nun verdünnt man mit 10 ml Methanol-Ammoniak-Mischung, verschließt das Zentrifugenglas mit sauber gewaschenem Daumen, mischt gut und zentrifugiert während 5 Minuten bei ca. 3000 Touren pro Minute. Bleisulfat und meistens auch ein brauner Niederschlag setzen sich ab. Die überstehende klare Lösung wird sofort im Fluorometer nach c ausgemessen. Innert 15 Minuten sollten die Messungen beendet sein, weil die Fluoreszenz bei längerem Stehen oft in unkontrollierbarer Weise ansteigt.

c) Blindversuch. In gleicher Weise wird ein Blindversuch mit sämtlichen Reagenzien ausgeführt. An Stelle von 5 ml Wein werden 5 ml Wasser abpipettiert, mit 2 ml Bleiacetat vermischt und zentrifugiert. 1 ml der überstehenden Lösung



Figur 8
Absorptionsspektrum des Primärfilters
(Corning 7—60)



Figur 9
Absorptionsspektrum des Sekundärfilters
(Kodak-Wratten 58)

wird wie unter b) beschrieben mit 1 ml Schwefelsäure und 1 ml Natriumnitrit versetzt, nach 3 Minuten gibt man 10 ml Methanol-Ammoniak-Mischung zu.

Arbeitet man mit reinen Chemikalien, so ist der Blindwert der Reagenzien gering (4—6 Skalenteile).

d) Fluorometrische Messung. Die klare überstehende Lösung wird aus dem Zentrifugenglas in ein zum Fluorometer passendes gut gereinigtes Probenglas gegossen und die Intensität des Fluoreszenzlichtes gemessen.

Beim Turner-Fluorometer erwiesen sich folgende Bedingungen als optimal:

Fluoreszenzröhre Nr. 110—850; Hauptabstrahlung bei 360 nm und alle längerwelligen Hg-Linien. (Röhre der General Electric F 4 T 4 / BL).

Primärfilter mit einer Durchlässigkeit > 1 % zwischen 320 und 390 nm. (Z. B. Camag Nr. 110—811, Corning 7—60). Siehe Figur 8.

Sekundärfilter mit einer Durchlässigkeit > 1 % zwischen 480 und 600 nm (Z. B. Grünfilter Camag Nr. 110—822, Kodak-Wratten 58). Siehe Figur 9.

Empfindlichkeit. 3.

Tabelle 9 Schema für die Eichkurve (Beispiel)

Entfärbter Wein ml	Malvin-Eichlösung ml	Malvin-Gehalt der Mischung mg/l	Fluoreszenz abgelesene Skalenteile	Fluoreszenz minus Blindversuch
5 ml Wasser	0	0	4	—
5,00	0	0	4	0
4,98	0,02	1,0	11	7
4,95	0,05	2,5	22	18
4,90	0,10	5,0	39	35
4,86	0,14	7,0	55	51
4,82	0,18	9,0	68	64

e) Eichkurve. Die Eichkurve wird mit einem malvinfreien Wein, am zweckmäßigsten mit einem mit Aktivkohle entfärbten und filtrierten Rotwein, dem man steigende Mengen der Malvin-Eichlösung zusetzt, aufgenommen. In Zentrifugengläser pipettiert man die entsprechende Menge Wein und gibt mittels Präzisionspipette die Malvin-Eichlösung nach dem Schema in Tabelle 9 zu. Nun wird gemischt und nach b) weitergearbeitet.

Von den gemessenen Fluoreszenz-Intensitäten wird zunächst die Fluoreszenz der Blindprobe (mit 5 ml Wein) abgezogen. Die korrigierten Fluoreszenz-Intensitäten der einzelnen Proben werden gegen den entsprechenden Malvin-Gehalt (in mg/l) aufgetragen. Die derart erhaltene Eichgerade geht durch den Nullpunkt.

Arbeitsschema

	Hauptversuch	Blindversuch
	In Zentrifugengläser pipettieren, gut mischen	
	5,00 ml Wein 2,00 ml Bleiacetatlösung	5,00 ml Wasser 2,00 ml Bleiacetat
	Mischung zentrifugieren, von der überstehenden Lösung 1 ml in Zentrifugengläser abpipettieren	
Geklärte überstehende Lösung H_2SO_4 1-n $NaNO_2$ 1 %	1,0 ml 1,0 ml 1,0 ml	1,0 ml 1,0 ml 1,0 ml
	Genau 3 Minuten reagieren lassen	
Methanol-Ammoniak-Mischung	+ 10 ml	+ 10 ml
	Mischen, zentrifugieren und sofort Fluoreszenz messen	

Berechnung

Von der abgelesenen Fluoreszenz des Hauptversuches (Skalenteile) subtrahiert man zunächst die Fluoreszenz des Blindversuches für die Reagenzien (ohne Wein) und anschließend noch 30 Skalenteile für die Nebenfluoreszenz. Die Differenz, multipliziert mit 0,14 gibt den Malvin-Gehalt des Weines in mg/l. Es gilt somit folgende Formel:

$$\textit{Malvin-Gehalt} \text{ in mg/l} = 0{,}14\ (H - B - 30)$$

wobei

H = Fluoreszenz des Hauptversuches in Skalenteilen
B = Fluoreszenz des Blindversuches in Skalenteilen
30 = Mittelwert der Nebenfluoreszenz.

Die Resultate werden in mg/l Malvin angegeben, wobei auf halbe Milligramme auf- oder abgerundet wird. Die Unsicherheit, verursacht durch die von Wein zu Wein schwankende Nebenfluoreszenz verbietet genauere Angaben.

Bemerkung

Weine mit hohem Malvin-Gehalt, die im Hauptversuch eine Fluoreszenz über 100 Teilstriche ergeben, werden vor der Analyse mit Wasser oder mit einem mit Aktivkohle entfärbten Wein im Verhältnis 1 : 1 verdünnt. Bei der Berechnung sind in diesem Fall nur 15 Teilstriche für die Nebenfluoreszenz zu subtrahieren. Das gefundene Resultat wird entsprechend der Verdünnung verdoppelt.

Zusammenfassung

1. Es wird über die Unzulänglichkeiten des papierchromatographischen Malvin-Nachweises berichtet. Die Methode eignet sich gut zum qualitativen Nachweis, quantitative Schätzungen sind unsicher.

2. Eine neue fluorometrische Methode zur quantitativen Malvin-Bestimmung wurde ausgearbeitet. Sie beruht auf der von *Dorier* und *Verelle* angegebenen Reaktion mit salpetriger Säure, Alkohol und Ammoniak, wobei das Malvin in eine im UV-Licht grün fluoreszierende Verbindung übergeführt wird.

3. Die störend wirkende sogenannte Nebenfluoreszenz zahlreicher Weiß- und Rotweine des Handels wurde bestimmt und graphisch in Form von Häufigkeitsdiagrammen dargestellt. Ein großer Teil der im Handel befindlichen Rotweine enthält Spuren von Malvin.

4. In authentischen Hybridenweinen bestimmten wir den Malvin-Gehalt. Die Werte schwanken je nach Sorte von null bis 950 mg/l.

5. Zahlreiche Weine wurden mit bekannten Mengen Malvin oder Hybridenwein versetzt und anschließend fluorometrisch und papierchromatographisch untersucht. Bei einem Malvin-Gehalt von 5 mg/l entspricht die Intensität des Malvinflecks auf dem Chromatogramm ungefähr derjenigen eines Vergleichsflecks mit 0,5 µg reinem Malvin. Nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches liegt hier die Beanstandungsgrenze.

6. Eine genaue Arbeitsvorschrift zur fluorometrischen Malvin-Bestimmung in Wein wird beschrieben. Die in einem Rotwein höchst zulässige Malvin-Menge sollte bei 5 mg/l festgelegt werden.

Résumé

1. On y parle des insuffisances de la méthode chromatographique sur papier pour la recherche de la malvine. La méthode convient pour les recherches qualitatives mais les estimations quantitatives restent peu sûres.

2. Une nouvelle méthode fluorométrique pour la détermination de la quantité de malvine a été élaborée. Elle repose sur la réaction decrite par *Dorier* et *Verelle* avec le nitrite de soude, l'alcool et l'ammoniaque. La malvine se transforme en une substance fluorescente verte à la lumière ultra-violette.

3. On a remarqué une fluorescence secondaire et génante, dans de nombreux vins blancs et rouges du commerce. Cette fluorescence a été représentée graphiquement sous forme de diagrammes. Une grande partie de vins rouges contient des traces de malvine.

4. Dans les vins hybrides authentiques, nous avons déterminé la teneur en malvine. Suivant les sortes, les chiffres varient entre 0 et 950 mg par litre.

5. Des quantités précises de malvine ou de vin d'hybrides ont été ajoutées à de nombreux vins que nous avons ensuite analysés d'après les méthodes fluorométrique et chromatographique. Avec une teneur de 5 mg/l l'intensité de la tache de malvine sur le chromatogramme correspond à peu près à celle de la tache comparative fait avec 0,5 µg de malvine pure. D'après les prescriptions du manuel sur les denrées alimentaires, c'est là que réside la limite de la contestation.

6. Une méthode pour la détermination fluorométrique de la malvine dans le vin est décrite. La quantité maximale de malvine tolérée dans un vin rouge devrait être fixée à 5 mg/l.

Summary

1. The inadequacies of the paper chromatographic determination of malvine are discussed. While the method is good for qualitative determinations, quantitative estimates are uncertain.

2. A new fluorometric method of determining quantitatively malvine has been developed. It is based on a reaction reported by *Dorier* and *Verelle* using nitrous acid, alcohol and ammonia; malvine is converted into a compound which fluoresces green under ultra-violet light.

3. Interfering background fluorescence of numerous white and red commercial wines was measured and presented in graphical form. Most red commercial wines contain traces of malvine.

4. Malvine in authentic hybrid wines was determined. Figures vary from 0 to 950 mg/l according to kind.

5. Numerous wines were mixed with known omounts of malvine or hybrid wine and analyzed thereafter by fluorimetry of paper chromatography. At a concentration of 5 mg/l, the intensity of the malvine chromatogram spot is roughly equal to that of a control spot with 0,5 µg of pure malvine. According to «Schweiz. Lebensmittelbuch» this is the tolerance limit.

6. Detailed working instructions for the fluorimetric determination of malvine in wine are given. Maximum admissible concentration of malvine in a red wine should be fixed at 5 mg/l.

Anmerkung

Als diese am 6. Januar 1967 eingereichte Arbeit bereits im Druck war, ist von *H. Bieber* (12) eine Publikation,

«Die fluorometrische Bestimmung von Malvin im Traubenmost und Wein»,

erschienen.

Bieber arbeitet genau nach der Originalvorschrift von *Dorier* und *Verelle* und mißt die Fluoreszenz der Reaktionslösungen mit dem Spektralphotometer Zeiß PMQ II.

Nach unseren Erfahrungen zeigen derartige Lösungen (ohne vorherige Klärung mit Bleiessig) ziemlich hohe und oft schwankende Nebenfluoreszenzen. Letztere stören vor allem bei Weinen, mit geringen Malvin-Gehalten.

Literatur

1. *Ribéreau-Gayon P.:* C. R. Acad. Agric. **39**, 800 (1953).
   Ribéreau-Gayon J. und *P.:* Comtes-rendus **238**, 2114 und 2188 (1954).
2. *Ribéreau-Gayon P.:* Recherches sur les anthocyannes des végétaux. Application au genre Vitis. Thèse Sciences Physiques, Paris (1959).
3. *Ribéreau-Gayon P.:* Dtsch. Lebensmitt.-Rundsch. **56**, 217 (1960).
4. *Diemair W., Postel W.* und *Sengewald W.:* ZUL **120**, 173 (1963).
5. Bundesgesundheits-Blatt Nr. 2 v. 27. 1. 1961.
6. *Rentschler H.* und *Tanner H.:* diese Mitt. **52**, 312 (1961).
7. Schweizerisches Lebensmittelbuch 2. Band (provisorisches Ringbuch Kapitel 30 «Wein») zu beziehen beim Eidg. Gesundheitsamt Bern oder bei der Eidg. Versuchsanstalt Wädenswil.
8. *Eisenbrand J., Hett O.* und *Becker G.:* Dtsch. Lebensmitt.-Rundsch. **61**, 8 und 177 (1965).
9. *Dorier P.* und *Verelle L. P.:* Ann. fals Exp. chim. **59**, 1 (1966).
10. *Ribéreau-Gayon P.:* C. R. Acad. Sci. (Paris) **250**, 591 (1960). Referat in ZUL. **113**, 93 (1960).
11. *Potterat M.:* diese Mitt. **47**, 66 (1956). Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 1. Band, S. 162, Bern, Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale (1964).
12. *Bieber H.:* Dtsch. Lebensmitt.-Rundsch. **63**, 44 (1967).