

RESOLUTION OIV-OENO 624-2022

AKTUALISIERUNG DER MONOGRAPHIE ÜBER ÖNOLOGISCHE TANNINE

*HINWEIS: Folgende Resolutionen werden durch die vorliegende Resolution aufgehoben:
OENO 12/2002, OENO 5/2008, OENO 6/2008, OIV/OENO 352/2009, OIV-OENO 574-2017 und OIV-OENO 554-2015*

DIE GENERALVERSAMMLUNG,
GESTÜTZT auf Artikel 2 Absatz 2 iv des Übereinkommens vom 3. April 2001 zur Gründung der Internationalen Organisation für Rebe und Wein,
GESTÜTZT auf die Arbeiten der Sachverständigengruppe „Spezifikationen önologischer Erzeugnisse“,
BESCHLIESST auf Vorschlag der Kommission II „Önologie“, die Monographie COEI-1-TANINS des *Internationalen Önologischen Kodex* durch die folgende Monographie zu ersetzen:

ÖNOLOGISCHE TANNINE

1. ALLGEMEINES

Önologische Tannine enthalten Polyphenole. Ihre komplexe Struktur beruht in der Regel auf einer großen Vielfalt monomerer Einheiten, die kovalent gebunden sind.

Es handelt sich um Tannine für den Lebensmittelgebrauch, die aus Teilen verschiedener Pflanzenarten stammen und mit Lösungsmitteln extrahiert werden, die nach den geltenden Vorschriften zugelassen sind. Sie werden je nach Art der sie charakterisierenden monomeren Einheiten in 2 Klassen eingeteilt: hydrolysierbare Tannine und kondensierte Tannine oder Proanthocyane. Neben diesen beiden Tannin-Klassen kann auch jede monomere Einheit (z.B. Flavan-3-ol-Monomere (Korrektur AB), Gallussäure, Ellagsäure) in Tanninpräparaten vorhanden sein.

Hydrolysierbare Tannine bilden eine heterogene Klasse, die in zwei Unterklassen unterteilt ist:

- Gallotannine bestehen aus einer Glucose- oder Chinasäure-Einheit, die mit einem oder mehreren Gallussäuremolekülen und/oder ihren Depsiden verestert ist,
- Ellagitannine, bestehen aus einer oder mehreren Glucose-Einheiten, die mit einem oder mehreren Ellagsäuremolekülen und verwandten Molekülen verestert ist/sind. Darüber hinaus kann/können die Glucose-Einheit(en) mit Gallussäure und/oder deren Depsiden verestert sein.

Die Struktur hydrolysierbarer Tannine variiert je nach Grad der Veresterung und Polymerisation (1).

Kondensierte Tannine oder Proanthocyanidine (Unterklassen der Procyanidine und Prodelphinidine und Unterklassen der Profisetidine und Prorobinetidine) bestehen aus Polymeren von Flavan-3-olen. Die Flavan-3-ol-Einheiten können sich sowohl stereochemisch als auch durch den Grad der Hydroxylierung unterscheiden und als Gallussäureester vorliegen. Die große Vielfalt an monomeren Einheiten, die unterschiedlichen Interflavanbindungen und der Polymerisationsgrad führen zu einer Vielzahl möglicher Strukturen der Proanthocyanidine. Abhängig von der Molekularstruktur kann die Reaktivität der Proanthocyanidine stark variieren.

Önologische Tannine sind hellbeige, beige oder ziegelrot bis dunkelbraun und in Form von Pulver, Körnern oder Flocken erhältlich.

Sie können in einer Portion Most oder Wein gelöst werden, die dem Most oder Wein wieder zugesetzt wird.

2. KENNZEICHNUNG

Bei der Kennzeichnung önologischer Tannine ist folgendes anzugeben:

- botanischer Ursprung (z.B. Eiche, Quebracho, usw.),
- Klasse (hydrolysierbare oder kondensierte Tannine,
- Unterklasse (z.B. Gallotannine, Prodelphinidine, usw.),
- Partie-Nr. und Mindesthaltbarkeitsdatum
- Mindestgehalt an Gesamtpolyphenolen gemäß der Methode in Anhang 1,
- technologische Funktionen,
- im Falle eines Gemischs von mehreren Tannin-Klassen oder Tannin-Unterklassen die verschiedenen Tannin-Klassen oder Unterklassen und die damit verbundenen

technologischen Funktionen,

- Empfohlene Dosierung, Anwendungsbedingungen,
- Bedingungen der Aufbewahrung, um die Stabilität der Tannine zu erhalten,
- mögliches Vorhandensein von potentiell allergenen Rückständen,
- Wurden die Tannine aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewonnen, ist dies anzugeben.

3. ZUGELASSENE ÖNOLOGISCHE TANNINE

Die in Kapitel 1 beschriebenen önologischen Tannine, die nachweisbare und messbare Eigenschaften aufweisen, von technologischem Interesse sind, das in der Praxis nachgewiesen wurde, und die nachstehend genannten Bedingungen und Kriterien gänzlich erfüllen, sind gemäß den Spezifikationen des Kodex der önologischen Praxis zugelassen.

Die verwendeten önologischen Tannine dürfen

- keine Stoffe in Konzentrationen freisetzen, die gesundheitsschädlich sein könnten,
- keine Täuschung verursachen, die sich aus dem Zusatz von Aromen oder Farbstoffen ergibt,
- der Qualität der hergestellten Erzeugnisse nicht schaden,
- nicht zu einer Veränderung des bekannten sensorischen Profils des Weins (Aromatisierung) führen.

4. REAKTIONSEIGENSCHAFTEN UND FUNKTIONEN ÖNOLOGISCHER TANNINE

4.1. Reaktivität

Tannine sind an vielen Reaktionen im Wein beteiligt. Die Reaktivität önologischer Tannine steht in direktem Zusammenhang mit der Besonderheit ihrer chemischen Strukturen. Sie hängt auch von den Herstellungsverfahren (Extraktions-, Konzentrations- und Trenntechniken) ab, die sich auf ihren Gehalt an Polyphenolen

(und somit auf ihren Reinheitsgrad) und den Anteil der freien funktionellen Gruppen auswirken. Die Art der Pflanze bestimmt die Klasse(n) oder Unterklasse(n), der/denen die Tannine angehören.

4.2. Eigenschaften und Funktionen von Tanninen

Die Funktionen önologischer Tannine stehen in direktem Zusammenhang mit ihren Eigenschaften. Die zur Bestimmung der Funktionen von Tanninen angewendeten Analysemethoden müssen dem neuesten Stand der Analytik entsprechen und nach Möglichkeit nach entsprechenden internationalen Normen validiert werden.

In der folgenden Tabelle sind Eigenschaften und önologische Anwendungen aufgeführt, von denen einige anerkannt sind und andere erst nachgewiesen werden müssen.

Theoretische Eigenschaften	Mögliche önologische Anwendungen
Reaktivität mit Proteinen	Verbesserung der Klärung
Reaktivität mit Sauerstoff	Oxidationsschutz
Chelatbildung mit Eisen	Reduzierung des Eisengehalts
Polymerisation	Stabilisierung der Farbe
Komplexbildung	Stabilisierung der Farbe
Anti-Laccase-Aktivität	Hemmung der Laccase-Aktivität
Mikrobiologische Wirkung	
Antibakterieller Effekt	Mikrobiologische Stabilität, Reduktion der SO ₂ -Gabe

Die Merkmale und technologischen Anwendungen, die sich daraus ergeben, sind Gegenstand spezieller Monographien von Klassen und/oder Unterklassen von Tanninen, in denen die Messmethoden beschrieben werden.

4.3. Bestimmung des Gehalts an Gesamtpolyphenolen

Der Gehalt an Gesamtpolyphenolen von önologischen Tanninpräparaten wird anhand der in Anhang 1 beschriebenen Methode bestimmt.

Der Gehalt an Gesamtpolyphenolen muss mindestens 65 % betragen und eine maximale Konzentration ist nicht erforderlich.

5. PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN

5.1. Unlösliche Stoffe

5 g Tannin in 100 mL bi-distilliertem Wasser bei Raumtemperatur lösen und 15 Minuten schütteln. Die Lösung durch eine zuvor gewogene Membran (0,8 µm) filtrieren. Das Filtrat verdampfen und die Membran bei 100 - 105 °C trocknen. Die Membran wiegen. Der Gehalt an unlöslichen Stoffen darf nicht mehr als 5 % w/w betragen.

Alternativ kann das in der Methode zur Bestimmung des Gesamtpolyphenolgehalts (Anhang 1, Ziffer 4.3) beschriebene Verfahren angewendet werden.

5.2. Trocknungsverlust

Eine Probemenge von 2 g wird 2 Stunden bei 100 - 105 °C bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank getrocknet. Der Trocknungsverlust muss weniger als 10 % betragen.

6. HÖCHSTGEHALTE AN KONTAMINANTEN

Önologische Tannine müssen nach der guten Herstellungspraxis hergestellt werden. Je nach pflanzlichem Ursprung können bestimmte Grenzwerte für Schadstoffe wie Schwermetalle unterschiedlich sein (z. B. der Eisengehalt von Tanninen aus der Kastanie).

Die nachfolgend festgelegten Grenzwerte beziehen sich auf das trockene Produkt.

6.1. Pentachlorphenol

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode der OIV-Sammlung internationaler Analysemethoden für Wein und Most. Der Gehalt muss weniger als 1 µg/kg betragen.

6.2. Gesamt-PAH (polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe)

Summe aus Benzo(a)pyren, Benzo(a)anthracen, Benzo(b)fluoranthen und Chrysen

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex. Der Gehalt muss weniger als 30 µg/kg betragen.

6.3. Benzo(a)pyren

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex.

Der Gehalt muss weniger als 5 µg/kg betragen.

6.4. Asche

Den Rückstand aus dem Versuch zur Bestimmung des Trocknungsverlusts nach und nach veraschen, ohne 550 °C zu überschreiten. Das Aschegewicht muss weniger als 5 % ausmachen. Eine höhere Konzentration könnte darauf hindeuten, dass die Extraktion mit unzulässigen Lösungsmitteln erfolgt ist.

6.5. Herstellung der Versuchslösung

Der aus 2 g Tannin erhaltenen Asche 1 mL verdünnte Salzsäure (R) und einen Tropfen konzentrierte Salpetersäure (R) zugeben, im Wasserbad (100 °C) bis zur Auflösung erhitzen, in einen 50 mL-Messkolben überführen und den Aschebehälter mit destilliertem Wasser spülen, bis zur Marke auffüllen. Die Versuchslösung dient der Bestimmung folgender Elemente:

6.6. Arsen

Die Bestimmung erfolgt mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode anhand von 0,25 g Tannin nach Zerstörung der organischen Substanz durch das Nassverfahren. Der Arsengehalt muss weniger als 0,3 mg/kg betragen.

6.7. Eisen

Anhand von 10 mL Versuchslösung, die entsprechend den Angaben in Ziffer 6.5 hergestellt wurde, wird Eisen mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode bestimmt.

Der Eisengehalt muss weniger als 50 mg/kg betragen, mit Ausnahme des Eisengehalts von Kastanien-Tanninen, der höchstens 200 mg/kg betragen darf. In diesem Fall ist die nach den Angaben in Ziffer 6.5 hergestellte Versuchslösung entsprechend zu verdünnen.

6.8. Kupfer

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode. Der Gehalt muss weniger als 5 mg/kg betragen.

6.9. Blei

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode. Der Gehalt muss weniger als 5 mg/kg betragen.

6.10. Quecksilber

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode. Der Gehalt muss weniger als 0,5 mg/kg betragen.

6.11. Cadmium

Die Bestimmung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex oder mittels ICP-MS nach der in der Sammlung internationaler Analysemethoden beschriebenen Methode. Der Gehalt muss weniger als 0,5 mg/kg betragen.

6.12. Salmonellen

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex.

Der Nachweis des Nichtvorhandenseins von Salmonellen erfolgt an einer Probe von 25 g Trockensubstanz.

6.13. Coliforme Bakterien

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen

Önologischen Kodex. international. Der Gehalt muss weniger als 30 KBE/g Trockensubstanz betragen.

6.14. Escherichia coli

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex.

Der Nachweis des Nichtvorhandenseins von Escherichia Coli erfolgt an einer Probe von 25 g Trockensubstanz.

6.15. Schimmel

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen Önologischen Kodex. international. Der Gehalt muss weniger als 100 KBE/g Trockensubstanz betragen.

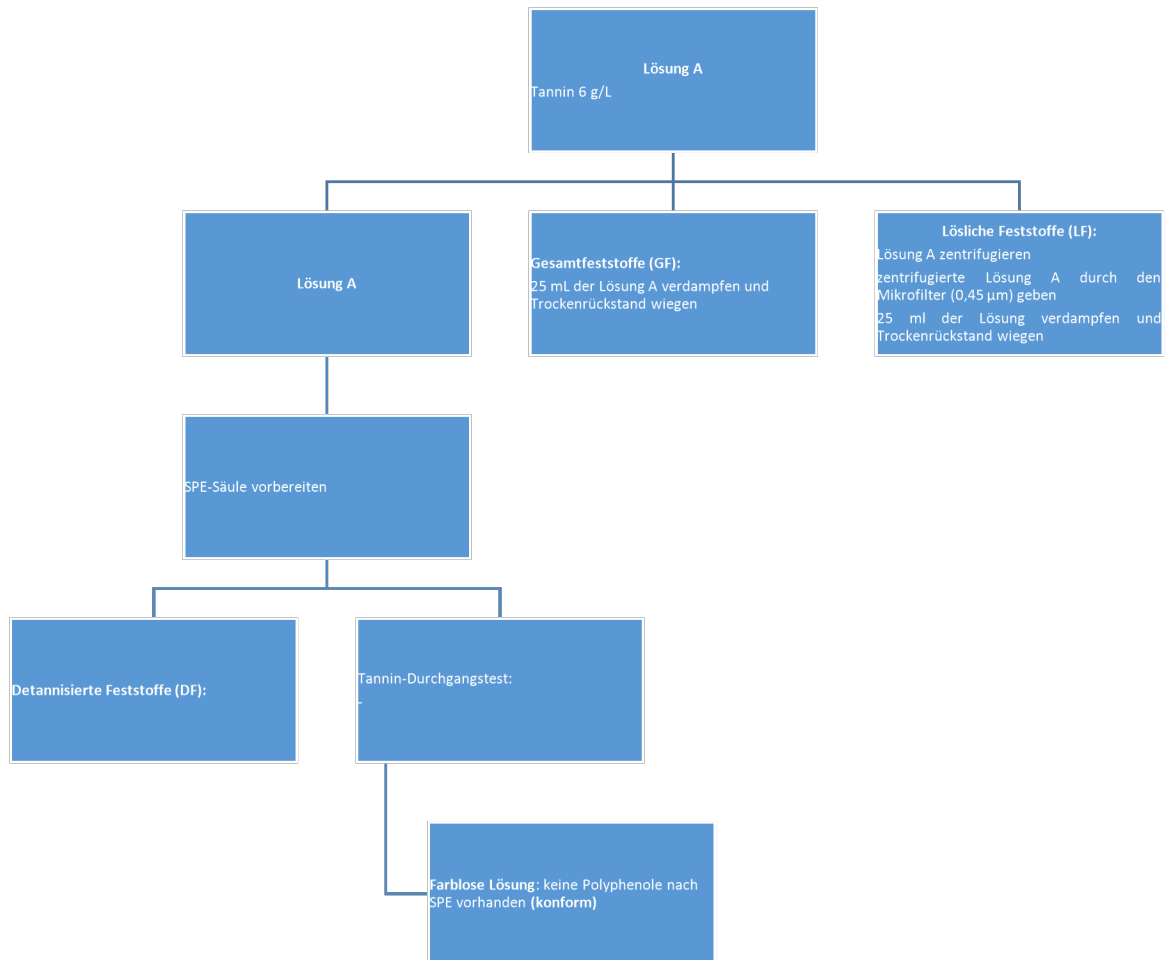
(1) Encyclopeadia health food Pub off 00683

METHODE ZUR BESTIMMUNG DES GESAMTPOLYPHENOLGEHALTS

1. PRINZIP

Die Methode dient zur Bestimmung der Konzentration des Polyphenolgehaltes in Präparaten von önologischem Tannin. Sie beruht auf der gravimetrischen Analyse mit vorangehender Festphasenextraktion (SPE). Dabei werden die in wässriger Lösung befindlichen Tannine von einem Polymer in einer SPE-Säule adsorbiert, in diesem Fall Polyvinylpolypyrrolidon, das die Fähigkeit hat, Polyphenole zurückzuhalten. Bei den nicht durch PVPP zurückgehaltenen Stoffen handelt es sich um die in der Ausgangsprobe vorhandenen nicht phenolischen Verbindungen.

Die Methode ist in folgendem Schema dargestellt:



2. REAGENZIEN, MATERIALIEN UND GERÄTE

2.1. Reagenzien

- 2.1.1. PVPP (Polyvinylpolypyrrolidon, ca. 100 μm [CAS-Nr. 9003-39-8])
- 2.1.2. Wässrige FeCl_3 -Lösung (1g/l)
- 2.1.3. Bidestilliertes Wasser
- 2.1.4. Ethanol (20% v/v)

2.2. Materialien

- 2.2.1. Aluminiumschalen (70ml)
- 2.2.2. Einweg-Pipetten mit Stopfen (50ml)
- 2.2.3. SPE-Säulen (Behälter, 70ml, 150*29,75 mm)
- 2.2.4. SPE-Säulenfritten (Durchmesser 27 mm – 20 μm PE)
- 2.2.5. 1000 mL-Messkolben, Pyrex
- 2.2.6. 50 mL-Messzylinder, Klasse A
- 2.2.7. Membranfilter, 0,45 μm , Celluloseacetat, \varnothing 47 mm
- 2.2.8. Kunststoffspritze, 50 mL
- 2.2.9. Messpipette (2 Marken), 25 mL, Klasse A

2.3. Geräte

- 2.3.1. Thermostat (20 °C)
- 2.3.2. Laborwaage mit einer Genauigkeit von 0,01 g
- 2.3.3. Analysewaage mit einer Genauigkeit von 0,1 mg
- 2.3.4. Trockenschrank, auf 105 °C thermostatisierbar

- 2.3.5. Trockenschrank, auf 80 °C thermostatisierbar oder Thermostat (Wasserbad)
- 2.3.6. Zentrifuge
- 2.3.7. Vacuum Manifold
- 2.3.8. Volumenmessgeräte aus Glas, Klasse A
- 2.3.9. Exsikkator

3. Vorbereitung der Proben

Die Lösung (bezeichnet als Lösung A) wird zur Messung der Gesamtfeststoffe (GF), löslichen Feststoffe (LF) und detannisierten Feststoffe (DF) verwendet.

Ca. 6g Tannin auf einer Analysewaage abwiegen und das Gewicht notieren. Das Tannin in ein 1 L-Messkolben aus Borosilikatglas in ca. 950 mL heißem (60–70 °C) bidestillierten Wasser lösen und gut schütteln. Den Kolben 30 Minuten bei Umgebungstemperatur stehen lassen. Die Lösung im Thermostaten auf 20 – 22 °C abkühlen lassen, mit bidestilliertem Wasser zur Marke auffüllen und gut mischen.

4. VORGEHENSWEISE

4.1. Bestimmung der Gesamtfeststoffe (GF):

- 25 ml Lösung A in eine Aluminiumschale (2.2.1) überführen,
- im Trockenschrank bei 80 °C bis zur Trocknung eindampfen,
- erneut im Trockenschrank bei 105 °C bis zum konstanten Gewicht trocknen und den Rückstand wiegen (die Schale vor dem Wiegen im Exsikkator abkühlen lassen).

Die Berechnung der Gesamtfeststoffe (GF) erfolgt nach der folgenden Formel:

$$GF \% = \frac{\text{Trockenrückstand (g)}}{\text{Tanningewicht (g)}} \cdot \frac{1000}{(\text{ml}) \text{ Lös A}} \cdot 100$$

4.2. Bestimmung der löslichen Feststoffe (LF):

- Lösung A bei 10000g für 5 Minuten zentrifugieren,
- die zentrifugierte Lösung A mikrofiltrieren, um eine klare Lösung zu erhalten; dann 25 mL der Lösung im Trockenschrank bei 80 °C bis zur Trocknung eindampfen,
- erneut im Trockenschrank bei 105 °C bis zum konstanten Gewicht trocknen und den Rückstand wiegen (die Schale vor dem Wiegen im Exsikkator abkühlen lassen).

Die Berechnung der löslichen Feststoffe (LF) erfolgt nach der folgenden Formel:

$$LF \% = \frac{\text{Trockenrückstand (g)}}{\text{Tanningewicht (g)}} \cdot \frac{1000}{(\text{mL}) \text{ Lös A}} \cdot 100$$

4.3. Bestimmung der unlöslichen Feststoffe (UF):

Berechnung der Differenz zwischen Gesamtfeststoffen und löslichen Feststoffen:

$$\% UF = \% GF - \% LF$$

4.4. Bestimmung der detannisierten Feststoffe (DF):

- Vorbereitung der SPE-Säule: Einfügen der ersten Fritte, $7,0 \pm 0,1$ g PVPP, zuvor mit einer Wasser-Alkohol-Lösung (20 %) 15 Minuten rehydrieren, die zweite Fritte einsetzen und die stationäre Phase gut festdrücken,
- die SPE-Säule auf dem Vacuum Manifold anbringen (Beispiel in Abb.1),
- die Säule durch drei Spülungen aktivieren (PVPP nicht trocken laufen lassen und ein Vakuum von ca. 0,2 bar anlegen, um die Verdichtung des Polymers zu vermeiden): erste Spülung mit 50 mL Ethanol (20 % v/v), zweite Spülung mit 50 ml bidestilliertem Wasser, dritte Spülung mit 20 mL der Lösung A, um Wasserrückstände auf PVPP zu entfernen,

- 30 mL der Lösung A in die Säule geben und 30 mL Eluat (detanninierte Feststoffe) in 50 mL Falcon-Röhrchen auffangen. Die Elution beenden, wenn die Flüssigkeit den Stand der oberen Fritte erreicht,
- 25 mL Eluat in eine Aluminiumschale überführen,
- im Trockenschrank bei 80 °C bis zur Trocknung eindampfen,
- erneut im Trockenschrank bei 105 °C bis zum konstanten Gewicht trocknen und den Rückstand wiegen (die Schale vor dem Wiegen im Exsikkator abkühlen lassen).

Die Berechnung der detannisierten Feststoffe (DF) erfolgt nach der folgenden Formel:

$$DF \% = \frac{\text{Trockenrückstand (g)} - BK (g)}{\text{Tanningewicht (g)}} \cdot \frac{1000}{(\text{ml}) \text{ Lös A}} \cdot 100$$

wobei *BK* der nach erfolgter SPE gemessene Blindwert ist (siehe 4.5)



Abbildung 1 – Beispiel einer SPE-Extraktion

Um sicherzustellen, dass im Eluat nach Durchlaufen der Säule keine Polyphenole vorhanden sind, werden zu 3 ml der Lösung der detannisierten Feststoffe (DF) 3 Tropfen wässrige FeCl₃-Lösung gegeben. Nimmt die Lösung einen bläulichen Farbton an, haben die Polyphenole das Polymer durchlaufen, und die Analyse sollte wiederholt

werden, indem das Ausgangsgewicht des Produkts verringert wird. Bleibt die Lösung nach dieser Behandlung farblos, kann die gravimetrische Analyse durchgeführt werden.

4.5. Bestimmung des Blindwerts (BK)

Vor Durchführung der SPE-Elution ist ein Blindversuch erforderlich, um durch das Analyseverfahren bedingte Interferenzen zu ermitteln. Dabei ist folgendermaßen vorzugehen:

- die erste Fritte, $7,0 \pm 0,1$ g PVPP einfügen, zuvor mit einer Wasser-Alkohol-Lösung (20 %) 15 Minuten rehydrieren und mit der zweiten Fritte die stationäre Phase feststopfen,
- die SPE-Säule auf dem Vacuum Manifold anbringen (Beispiel in Abb.1),
- die Säule durch zwei Spülungen aktivieren (PVPP nicht trocknen und ein Vakuum von ca. 0,2 bar anlegen, um die Verdichtung des Polymers zu vermeiden): erste Spülung mit 50 mL Ethanol (20 % v/v), zweite Spülung mit 70 mL bidestilliertem Wasser,
- 30 ml bidestilliertes Wasser in die Säule geben und 30 mL Eluat (Blindprobe für detanninisierte Feststoffe) in 50 mL Falcon-Röhrchen auffangen. Die Elution beenden, wenn die Flüssigkeit den Stand der oberen Fritte erreicht,
- 25 mL Eluat in eine Aluminiumschale überführen und im Trockenschrank bei 80 °C bis zur Trocknung eindampfen,
- erneut im Trockenschrank bei 105 °C bis zum konstanten Gewicht trocknen und den Rückstand wiegen (die Schale vor dem Wiegen im Exsikkator abkühlen lassen).

5. ANGABE DER ERGEBNISSE

Berechnung des Anteils der Gesamtpolyphenole (% Polyphenole):

Der prozentuale Anteil wird nach der folgenden Formel berechnet:

$$\% \text{ Polyphenole} = \frac{LF\% - DF\%}{GF\%} \cdot 100$$



Bestimmung der Eignung von PVPP: Siehe OENO 11/2002 - COEI-1-PVPP: 2007, § 6.