

# Identifikation von Weißweinen durch ionische Poly(*para*-phenylenethynylene) und ihre Komplexe

Jinsong Han, Markus Bender, Kai Seehafer und Uwe H. F. Bunz\*

**Abstract:** Ein einfaches Sensorfeld aus einem anionischen und einem kationischen Poly(*para*-phenylenethynylene) (PPE) sowie deren elektrostatischem Komplex unterscheidet verschiedene Weißweine. Die PPEs und der Komplex wurden bei pH 13 verwendet. Der Komplex wurde auch bei pH 3 eingesetzt. Diese aus vier Sensorelementen bestehende „chemische Zunge“, unterscheidet 13 verschiedene Weißweine. Grundlage der sensorischen Erkennung ist die Fluoreszenzlöschung der konjugierten Polymere. Die Fluoreszenzlöschung wird nicht durch die Hauptkomponenten des Weines induziert, denn Säuren, Zucker, Alkohole usw. zeigen keine Fluoreszenzlöschung. Die vorrangigen Löscher sind vielmehr die im Wein befindlichen farbigen Tannine und andere Polyphenole. Die Löschung der PPE-Fluoreszenz durch die Tannine wird allerdings von den Hauptkomponenten des Weines moduliert.

Ein einfaches Sensorfeld, das aus zwei konjugierten Polyelektrolyten (einer polyanionisch, einer polykationisch) und deren elektrostatischem Komplex besteht, wurde entwickelt; diese drei Elemente identifizieren Weißweine in einem auf Fluoreszenzlöschung basierenden Experiment bei pH 13 und pH 3. Wein ist eine komplexe Mischung aus Zuckern, Säuren, Mineralien, Proteinen und natürlichen Farbstoffen in einer variablen Zusammensetzung; annähernd entspricht sie den in Tabelle 1 angegebenen Werten. Alkohol- (10–16.5 Vol.-%) und Zuckergehalt sowie die Menge und Art der im Wein enthaltenen Säuren variieren. Typische Weißweine haben einen pH-Wert von 3.0–3.3, sie sind sauer. Weine sind ein hervorragendes Testsystem für die Leistungsfähigkeit kleiner kolorimetrischer oder fluoreszenzbasierter Sensorfelder, denn:

- Es gibt tausende unterschiedliche Weine.
- Wein als Analyt ist in ausreichender Menge verfügbar.
- Weine können eingeteilt werden nach Rebsorte/Traubenmischung, Herkunftsgebiet, Produzent, verwendeter (Designer-)Hefe, Jahrgang, verwendetem Fass usw.
- Wein ist eine komplexe Mischung verschiedener Verbindungen. Viele davon sind nur in Spuren vorhanden –

**Tabelle 1:** Zusammensetzung des hergestellten künstlichen Weines.

| Typ                        | Ingredienz       | Anteil                 |
|----------------------------|------------------|------------------------|
| Alkohole                   | Ethanol          | 11.5 %                 |
|                            | Methanol         | 0.01 %                 |
| Saccharide                 | Fruktose         | 7 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Glukose          | 3 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Glycerol         | 7 g L <sup>-1</sup>    |
| Säuren                     | Apfelsäure       | 2 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Weinsäure        | 3 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Milchsäure       | 1 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Zitronensäure    | 1 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Essigsäure       | 1 g L <sup>-1</sup>    |
| Vitamine                   | Ascorbinsäure    | 0.05 g L <sup>-1</sup> |
| mineralische Inhaltsstoffe | K <sup>+</sup>   | 1 g L <sup>-1</sup>    |
|                            | Ca <sup>2+</sup> | 0.1 g L <sup>-1</sup>  |
|                            | Mg <sup>2+</sup> | 0.1 g L <sup>-1</sup>  |

eventuell auch unbekannt. Diese sind Metaboliten der Hefe, verantwortlich für den spezifischen Charakter, Geschmack und Geruch eines jeden Weines. Ihre Zahl geht in die Tausende.

Diese Komplexität unterscheidet Weine voneinander. Infolgedessen sollte es möglich sein, Weine anhand eines sensorischen „Fingerabdrucks“ in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung zu identifizieren.

Hochpreisige Weine werden gerne gefälscht und umetikettiert, ein lästiges Problem, gerade für „Kultweine“, deren Flaschenpreis im fünfstelligen Eurobereich liegen kann. Ein Beispiel für Fälschungen sind die Jefferson-Flaschen (Bordeaux), angeblich produziert für den dritten Präsidenten der Vereinigten Staaten.<sup>[1]</sup> Das Verschneiden mit billigeren Weinen oder auch die Zugabe des Saftes von nicht zulässigen Rebsorten zu gärenden Weinen, z.B. der Brunello- oder Burgundertraube, sind die Tricks des Handels, um den Profit der Produzenten zu steigern (Brunello-Skandal oder Brunello-Skandal)<sup>[2]</sup> und ahnungslose Verbraucher hinter das Licht zu führen; folglich sind einfache „Fingerabdruck“-Vergleiche, die nur kleine Mengen an Wein zu seiner Identifikation benötigen (weniger als 5 mL), sehr wünschenswert.

Anslyn et al.<sup>[3]</sup> haben ein ternäres kolorimetrisches Weinsensorfeld entwickelt, das aus einem Kupfer(II)-Salz und Pyrocatechol-Violett (CPV) in Gegenwart verschiedener Oligopeptide besteht. Die Zugabe von Flavonoiden zu diesen ternären Komplexen führt zu einer Änderung der Absorption bei  $\lambda = 444$  nm; eine Handvoll histidinreicher CPV/Peptid-Komplexe genügt zur Differenzierung der Flavonoide. Diese

[\*] J. Han, M. Bender, Dr. K. Seehafer, Prof. U. H. F. Bunz  
Organisch-Chemisches Institut  
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
Im Neuenheimer Feld 270, 69120 Heidelberg (Deutschland)  
E-Mail: uwe.bunz@oci.uni-heidelberg.de

Prof. U. H. F. Bunz  
Center of Advanced Materials  
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
Im Neuenheimer Feld 225, 69120 Heidelberg (Deutschland)

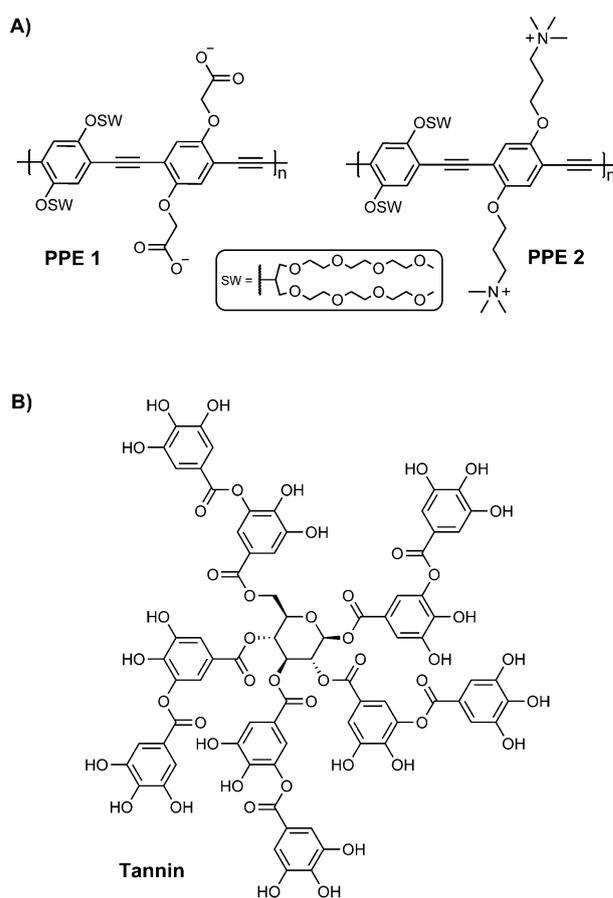
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:  
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201602385> zu finden.

Komplexe unterscheiden Rotweine abhängig von deren Rebsorte. In einer neueren Arbeit haben Anslын et al. darüber hinaus eine Vorschrift entwickelt, um Vorhersagen über die Zusammensetzung binärer Mischungen von Rebsorten in spezifischen Weinen treffen zu können.<sup>[4]</sup>

Wir interessieren uns für konjugierte, geladene, wasserlösliche Polymere des Poly(*para*-phenylenethinylen)(PPE)-Typs<sup>[5]</sup> und deren Anwendung in der Sensorik biologischer Spezies, Metallionen und anderer Analyten.<sup>[6]</sup> Unlängst zeigten wir, dass mithilfe einfacher, aus einem kationischen und einem anionischen PPE gebildeter Polyelektrolytkomplexe die Anionen von Carbonsäuren, Dicarbonsäuren und Hydroxysäuren identifiziert werden können.<sup>[7]</sup> Die getesteten Carbonsäuren sind auch Bestandteile der in Weißwein vorkommenden Säuren. Als Konsequenz prüfen wir, ob mit PPEs oder deren Komplexen die Unterscheidung verschiedener Weißweine möglich ist. In einem ersten Experiment wurde das gleiche Set an Komplexen wie bereits für die Carbonsäuren zugrunde gelegt, aber es zeigten ausschließlich die in Abbildung 1A dargestellten PPEs eine Reaktivität gegenüber dem Wein 3 (Tabelle 2), der als Testanalyt diente. Wir überprüften die pH-Abhängigkeit der Fluoreszenzantwort aller drei Sensoren. Dabei stellte sich heraus, dass PPE 1 und PPE2 bei pH 13 am besten nutzbar sind, während der Komplex beider sowohl bei pH 3 als auch bei pH 13 über eine ausreichende Reaktivität verfügt. Daraus ergibt sich ein kleines Sensorfeld aus vier Elementen (Abbildung 2). Nach Weinzugabe wurde immer eine Löschung der Fluoreszenz beobachtet. Eine Erhöhung der Fluoreszenz durch zugesetzten Weißwein wurde nicht beobachtet, im Unterschied zu unseren Experimenten mit Carbonsäuren.<sup>[7]</sup>

Mit den vier Sensorelementen wurden 13 verschiedene Weine untersucht (Abbildung 3). Wein 1 ist ein Rotwein, während es sich bei allen anderen um Weißweine handelt. Die Weine 7 und 9–13 sind Riesling-Weine (entsprechend ihrer Etikettierung); die restlichen Proben wurden aus Weinen verschiedener Rebsorten ausgewählt. Eine Schwierigkeit ist die Verwendung verschiedener Stämme von *S. cerevisiae* bei der Weinherstellung, deren Metaboliten einen Einfluss auf die sensorischen und analytischen Eigenschaften der Weine haben.

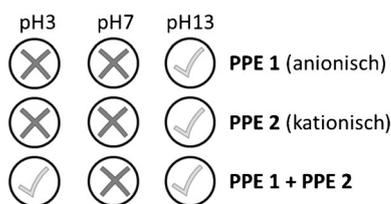
In Abbildung 3 sind die Ergebnisse der Fluoreszenzlöschung der Weine 1–13 dargestellt. Darüber hinaus wurden sechs verschiedene Flaschen desselben Weines (Wein 10) erfolgreich getestet, um sicherzustellen, dass etwaige Artefakte keinen Einfluss auf das Lösungsverhalten haben (siehe Hintergrundinformationen). Die Fluoreszenz der Sensorelemente wird am stärksten durch den



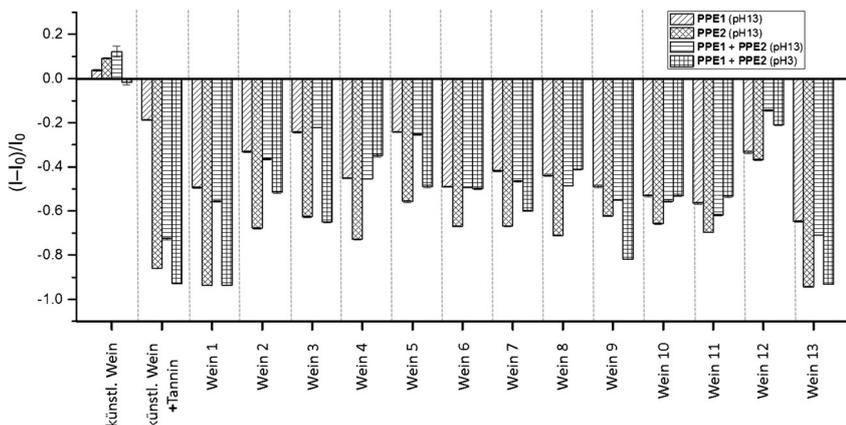
**Abbildung 1.** A) Struktur des für die Erkennung von Weißweinen eingesetzten, negativ geladenen PPE 1 und positiv geladenen PPE 2. B) Struktur des eingesetzten Tannins.

**Tabelle 2:** Detaillierte Informationen über die 13 Weißweine in dieser Studie.

| Wein | Rebsorte         | Herkunft                 | Jahrgang | pH  | Zucker      | EtOH-Gehalt [%] |
|------|------------------|--------------------------|----------|-----|-------------|-----------------|
| 1    | Spätburgunder    | Baden, Deutschland       | 2014     | 3.3 | halbtrocken | 11.5            |
| 2    | Pinot Grigio     | Valdadige, Italien       | 2014     | 3.2 | trocken     | 12.0            |
| 3    | Müller-Thurgau   | Baden, Deutschland       | 2014     | 3.3 | halbtrocken | 11.0            |
| 4    | Sauvignon blanc  | Western Cape, Südafrika  | 2015     | 3.1 | trocken     | 12.5            |
| 5    | Chardonnay       | Valdadige, Italien       | 2014     | 3.0 | trocken     | 12.0            |
| 6    | Grüner Veltliner | Burgenland, Österreich   | 2015     | 3.1 | trocken     | 11.5            |
| 7    | Riesling         | Pfalz, Deutschland       | 2014     | 3.0 | trocken     | 11.5            |
| 8    | Weißburgunder    | Baden, Deutschland       | 2014     | 3.2 | trocken     | 12.5            |
| 9    | Riesling         | Rheinhessen, Deutschland | 2014     | 3.0 | trocken     | 11.5            |
| 10   | Riesling         | Pfalz, Deutschland       | 2014     | 3.1 | halbtrocken | 11.5            |
| 11   | Riesling         | Baden, Deutschland       | 2014     | 3.2 | trocken     | 12.0            |
| 12   | Riesling         | Baden, Deutschland       | 2014     | 3.1 | trocken     | 11.5            |
| 13   | Riesling         | Pfalz, Deutschland       | 2012     | 3.1 | lieblich    | 10.0            |



**Abbildung 2.** Überprüfung der ausgewählten PPEs bei verschiedenen pH-Werten. Die individuellen PPEs (PPE 1 und PPE 2) zeigen die größte Reaktivität bei pH 13, während sich der elektrostatische Komplex (PPE 1 + PPE 2) für pH 3 und pH 13 eignet.



**Abbildung 3.** A) Fluoreszenzantwortmuster  $[(I-I_0)/I_0]$ , erhalten durch PPE 1, PPE 2 ( $2 \mu\text{M}$ , pH 13, gepuffert) und deren Komplex (jedes PPE  $2 \mu\text{M}$ , bei pH 3 und 13, gepuffert), versetzt mit künstlichem (künstl.) Wein (7 Vol.-% für PPE 2, 33 Vol.-% für die anderen; siehe Tabelle 1), künstlichem Wein plus Tannin ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) und dreizehn verschiedenen kommerziell erhältlichen Weißweinen (7 Vol.-% für PPE 2, 33 Vol.-% für die anderen; siehe Tabelle 2). Jeder Wert ist der Mittelwert aus sechs unabhängigen Messungen; jeder Fehlerbalken entspricht der Standardabweichung.

Rotwein 1 gelöscht, aber die Weißweine zeigen ebenfalls Fluoreszenzlöschung. Im Falle der Anionen von Milchsäure, Mandelsäure und Weinsäure (Hauptbestandteile von Wein) wurde eine Verstärkung der Fluoreszenz fast aller Sensorelemente beobachtet. Infolgedessen waren wir überrascht, dass in keinem der Weißweine eine Verstärkung der Fluoreszenz auftrat. Um herauszufinden, ob die Hauptkomponenten der Weißweine eine Reaktion der Sensorelemente auslösen würden, kreierte wir einen künstlichen, farblosen Testwein entsprechend der Zusammensetzung aus Tabelle 1. Setzen wir diesen Testwein unseren Sensorelementen aus (Abbildung 3), zeigt eine Kombination der Hauptkomponenten eine schwache Fluoreszenzerhöhung für drei der vier Sensorelemente.

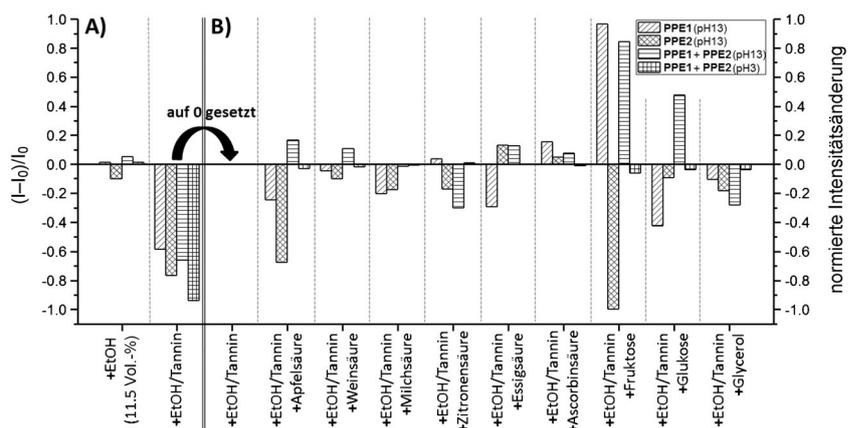
Künstliche Weinfarbstoffe sind kommerziell erhältlich. Nachdem wir unseren „Kunstwein“ mit kommerziellem Tannin (Gerbsäure,  $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) versetzt hatten, zeigte dieser eine Fluoreszenzlöschung, ähnlich den Beobachtungen am zuvor getesteten Rotwein (Wein 1; Abbildung 3). Sobald das Tannin hinzugefügt wurde,

glich unser künstlicher Wein hinsichtlich der Sensorfeldreaktion natürlichem Wein. Folglich waren wir daran interessiert, ob die Hauptkomponenten des Weines (Tabelle 1) das Fluoreszenzverhalten des tanninhalten künstlichen Weines modulieren. Die Fluoreszenzlöschung der PPEs durch die Gerbsäure in einer Wasser/Ethanol/Gerbsäure-Mischung wird durch die zugesetzten, in Weißwein enthaltenen Verbindungen verändert (Abbildung 4). Ein Blick auf Abbildung 3 offenbart ähnliche Muster in den handelsüblichen Weißweinen. Selbst unter der Annahme, dass die Tannine und

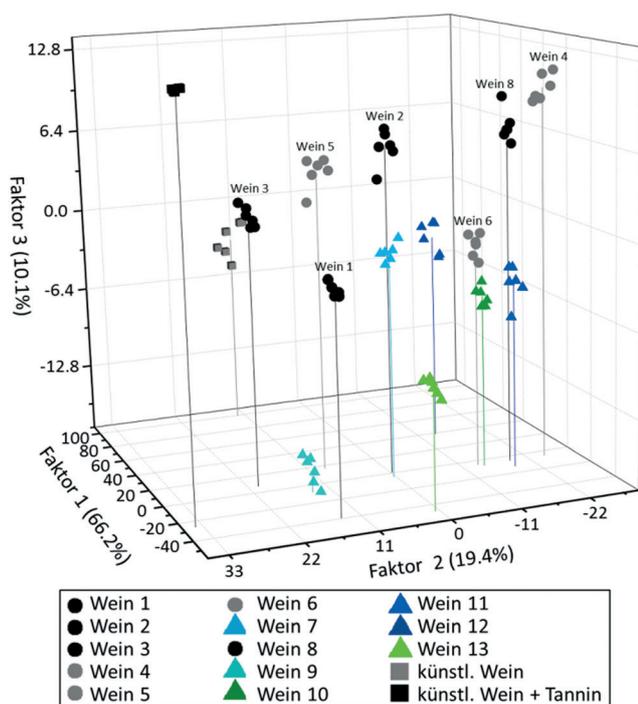
ihre verwandten Flavone usw. alle zu einer ähnlichen Löschung führen, sind es die Unterschiede der Hauptverbindungen, welche die Änderungen der Löschungseigenschaften innerhalb der Weißweine hervorrufen. Glukose, Fruktose und Apfelsäure sind potente Modifikatoren der Fluoreszenzlöschungseigenschaften der Wasser/Ethanol/Gerbsäure-Lösung in Gegenwart der PPEs.

Abbildung 5 zeigt die lineare Diskriminanzanalyse (LDA) aller untersuchten Weine 1–13; LDA transformiert die Trainingsmatrix ( $4 \text{ Sensorelemente} \times 13 \text{ Weine} \times 6 \text{ Replikate}$ ) in kanonische Faktoren, abhängig von ihrer Mahalanobis-Distanz (siehe Hintergrundinformationen). Die geschnittene (jackknifed) Klassifikationsmatrix mit Kreuzvalidierung zeigt eine Genauigkeit von 100%. Demzufolge unterscheidet dieses einfache Sensorfeld alle Weine zuverlässig.

Um die Effizienz unseres Sensorsystems zu bestätigen, wurden Tests mit zufällig ausgewählten Weißweinen aus dem Trainingsset durchgeführt. Die Weine wurden anhand der Trainingsmatrix in Gruppen klassifiziert, und zwar auf Basis der kürzesten Mahalanobis-Distanz zur



**Abbildung 4.** A) Fluoreszenzantwortmuster  $[(I-I_0)/I_0]$ , erhalten durch PPE 1, PPE 2 ( $2 \mu\text{M}$ , pH 13, gepuffert) und deren Komplex (jedes PPE  $2 \mu\text{M}$ , bei pH 3 und 13, gepuffert), versetzt mit EtOH (11.5 Vol.-%; erstes Sensorelement). Diese Lösung wurde mit Tannin ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ; zweites Sensorelement) versetzt. B) Erstes Sensorelement: Die Resultate von (A), zweites Sensorelement, wurden auf 0 gesetzt. Restliche Sensorelemente: Angegebene Bestandteile (endgültige Konzentration siehe Tabelle 1) wurden zugesetzt, und die gezeigten (normierten) Daten sind die Rohdaten minus die Resultate von (A), zweites Sensorelement. Jeder Wert ist der Mittelwert aus drei individuellen Messungen.



**Abbildung 5.** 3D-kanonisches Diagramm der ersten drei Faktoren vereinfachter Fluoreszenzantwortmuster, erhalten durch ein Sensorfeld von PPE 1, PPE 2 (pH 13, gepuffert) und deren Komplex (pH 3 und pH 13, gepuffert). Jeder Punkt zeigt das Antwortmuster eines einzelnen Weines gegenüber dem Sensorfeld. Rieslinge sind durch blaue/grüne Dreiecke dargestellt, Kreise entsprechen den übrigen Weinen, und Quadrate repräsentieren den künstlichen Wein (mit oder ohne Tannin).

der entsprechenden Gruppe. Lediglich eine von 52 unbekanntenen Proben wurde fehlerhaft zugeordnet, was einer Genauigkeit von 98% entspricht (siehe Hintergrundinformationen). Die 3D-LDA-Resultate von Weinen, die aus identischen Rebsorten gekellert wurden (in diesem Fall Riesling) gruppieren schwach zusammen, erkennbar an Faktor 2 und insbesondere Faktor 3 (Abbildung 5). Dies ist in Einklang mit den Ergebnissen von Anslyn et al., die zeigen konnten, dass LDA-Faktoren für die Unterscheidung von Rotweinen in Abhängigkeit von deren Rebsorte geeignet sind.<sup>[8]</sup>

In unserem Fall gruppieren sich die Rebsorten aber nur lose (Wein 6 ist ähnlich den Rieslingen). Dies könnte mehrere Ursachen haben; die wahrscheinlichste ist, dass die Metaboliten der verwendeten Hefen und die Beschaffenheit der Fässer die Zusammensetzung der Weißweine so verändern, dass die Natur der Rebsorte an Bedeutung verliert und in den Sensorresultaten „ausgewaschen“ wird.

Fazit: Anhand eines kleinen Sensorfeldes (zwei ionische PPEs, ein Komplex derselben) lassen sich Weißweine voneinander unterscheiden und identifizieren. Die PPEs haben die größte Empfindlichkeit bei pH 13, während der Komplex sowohl bei pH 3 als auch bei pH 13 auf die Weißweine anspricht. Die Fluoreszenzantwort der Sensorelemente gegenüber den Weinen ist in erster Linie abhängig von den Weinfarbstoffen, wie anhand des Lösungsverhaltens einer Wasser/Ethanol/Gerbsäure-Mischung gezeigt wurde. Die Mischung löscht die Fluoreszenz der Sensorelemente genauso

wie ein natürlicher Wein. Die Fluoreszenzlöschung wird durch die Gegenwart der Hauptkomponenten der Weine, wie Zucker und Säuren, moduliert. Insbesondere Fruktose und Apfelsäure sind aktiv, obwohl sie individuell betrachtet die Fluoreszenz der PPEs nicht in erheblicher Weise beeinflussen.

Unser anhaltendes Interesse an wasserlöslichen konjugierten Polymeren und deren elektrostatischen Komplexen als Sensormaterialien fußt auf ihren leistungsstarken Sensoranwendungen, ihrer einfachen, höchst modulierbaren und skalierbaren Synthese sowie ihrer hervorragenden Stabilität und ihren geringen Kosten.

## Danksagung

J. H. dankt dem CSC (Chinese Scholarship Council) für ein Stipendium.

**Stichwörter:** Fluoreszenz · Lineare Diskriminanzanalyse · Poly(*para*-phenylenethinylene) · Sensoren · Weißwein

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 7689–7692  
*Angew. Chem.* **2016**, *128*, 7820–7823

- [1] a) L. Holmberg, *Int. J. Wine Res.* **2010**, *2*, 105–113; b) [https://en.wikipedia.org/wiki/Wine\\_fraud](https://en.wikipedia.org/wiki/Wine_fraud).
- [2] a) A. Cavicchi, C. Santini, *Tour. Rev. Int.* **2011**, *15*, 253–267; b) <https://en.wikipedia.org/wiki/Brunellopoli>.
- [3] A. P. Umali, S. E. LeBoeuf, R. W. Newberry, S. Kim, L. Tran, W. A. Rome, T. Tian, D. Taing, J. Hong, M. Kwan, H. Heymann, E. V. Anslyn, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 439–445.
- [4] E. Ghanem, H. Hopfer, A. Navarro, M. S. Ritzer, L. Mahmood, M. Fredell, A. Cubley, J. Bolen, R. Fattah, K. Teasdale, L. Lieu, T. Chua, F. Marini, H. Heymann, E. V. Anslyn, *Molecules* **2015**, *20*, 9170–9182.
- [5] a) U. H. F. Bunz, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1605–1644; b) U. H. F. Bunz, *Adv. Polym. Sci.* **2005**, *177*, 1–52; c) U. H. F. Bunz, *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 772–805.
- [6] a) M. Bender, K. Seehafer, M. Findt, U. H. F. Bunz, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 96189–96193; b) U. H. F. Bunz, K. Seehafer, M. Bender, M. Porz, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 4322–4336; c) I.-B. Kim, U. H. F. Bunz, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2818–2819; d) U. H. F. Bunz, V. M. Rotello, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3268–3279; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3338–3350; e) A. Bajaj, O. R. Miranda, R. Phillips, I.-B. Kim, D. J. Jerry, U. H. F. Bunz, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1018–1022; f) I.-B. Kim, H. S. Shin, A. J. Garcia, U. H. F. Bunz, *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 815–820; g) R. L. Phillips, I.-B. Kim, L. M. Tolbert, U. H. F. Bunz, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6952–6955; h) J. N. Wilson, Y. Q. Wang, J. J. Lavigne, U. H. F. Bunz, *Chem. Commun.* **2003**, 1626–1627; i) I.-B. Kim, M. H. Han, R. L. Phillips, B. Samanta, V. M. Rotello, Z. J. Zhang, U. H. F. Bunz, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 449–456.
- [7] J. Han, M. Bender, S. Hahn, K. Seehafer, U. H. F. Bunz, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 3230–3233.
- [8] L. T. Gallagher, J. Seak Heo, M. A. Lopez, B. M. Ray, J. Xiao, A. P. Umali, A. Zhang, S. Dharmarajan, H. Heymann, E. V. Anslyn, *Supramol. Chem.* **2011**, *23*, 143–148.

Eingegangen am 8. März 2016,  
veränderte Fassung am 7. April 2016  
Online veröffentlicht am 3. Juni 2016