

# Claristar™

Ein neu entwickeltes, innovatives Mannoprotein-Präparat zur sicheren Weinstabilisierung.

Von Delphine BOUISSOU, Alain SAMSON, Bernard SAINT-PIERRE

**INRA Unité expérimentale in Pech Rouge**

Céline BAJARD-SPARROW, Mylène CAUSSETTE, Céline FAUVEAU, Phil LATHAM,  
Patrice PELLERIN, Peter LANKHORST

**DSM Food Specialties**

## **Einführung**

*Die internationale Weinindustrie zeigt ein stetig wachsendes Interesse an den weinsteinstabilisierenden Eigenschaften von Mannoproteinen. Bisher wurden jedoch weder die unterschiedlichen Mannoproteinfraktionen noch deren Effekte auf die Weinstabilisierung erforscht. Mannoproteine aus Hefe enthalten ein großes Spektrum von Molekülen unterschiedlichster Zusammensetzung. Jedoch nur eines dieser Moleküle besitzt eine spezifische Funktionalität für die Stabilisierung von Weinen gegen Weinsteinausfall. Mit ihrer mehr als hundertjährigen Erfahrung in Hefetechnologie und bei Produkten für die Weinbehandlung konnte DSM nunmehr mittels einer innovativen Technologie aus der Vielzahl der Mannoproteine genau diejenige Mannoproteinfraktion selektionieren, die die optimale Wirkung gegen Weinsteinausfall aufweist.*

*Dieses Präparat wird unter dem Namen Claristar™ angeboten.*

*In Zeiten, in denen Umweltschutz einen zunehmend größeren Stellenwert einnimmt, bietet Claristar™ eine echte und vor allem auch eine natürliche Alternative zu den herkömmlichen physikalischen Verfahren, die durch einen hohen Energiebedarf und hohen Wasserverbrauch gekennzeichnet sind. Claristar™ ist ein flüssiges Produkt, das direkt vor der Füllung - so wie es ist - in den Wein zudosiert wird. Claristar™ bietet also ein Maximum an Effizienz und eine Minimierung arbeits- und energieaufwendiger Verfahren.*

*Die Wirkung von Claristar™ wurde von Experten für Weinstabilisierung an der „Station Experimentale d'Oenologie INRA“ in Pech Rouge, Frankreich intensiv getestet. Dieser Artikel präsentiert einige Ergebnisse dieser Forschungsarbeit.*

## **Claristar™ - eine natürliche Lösung zur Weinsteinstabilisierung**

Verschiedene Studien zeigen, dass bei einer Lagerung der Weine auf der Hefe nach der alkoholischen Gärung, eine ganze Anzahl verschiedener Stoffe freigesetzt werden. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Mannoproteine, Peptide sowie um Amino- und Nukleinsäuren. Lubbers *et al.* zeigen, dass Mannoproteine einen positiven Effekt auf die Weinstabilität haben. Weitere Studien bestätigen, dass Weine, die einige Monate auf der Hefe gelagert werden,

relativ stabil gegen Weinsteinausfall sind und daher keine weitere Kältestabilisierung benötigen (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000b). Nach mehreren Jahren intensiver Forschung und Entwicklung konnten Wissenschaftler und Oenologen von DSM auf diesen Erkenntnissen aufbauend ein neues Produkt zur Weinstabilisierung entwickeln. Durch die enge Zusammenarbeit konnte das Wissen um die Biochemie von Mannoproteinen sowie deren stabilisierende Effekte auf Wein vertieft werden.

Eine ebenso große Herausforderung war die Entwicklung eines effizienten Verfahrens, um die

als die wirksamste identifizierte Mannoproteinfraktion aus Hefen zu selektionieren.

In der Vergangenheit wurden Mannoproteine für die oenologische Anwendung hauptsächlich mittels zweier unterschiedlicher Verfahren gewonnen:

■ **Physikalisches Verfahren:** Hierbei wurden Hefezellwände durch sehr hohe Temperaturen aufgeschlossen (z.B. 120°C).

■ **Enzymatisches Verfahren:** Hierbei werden  $\beta$ -Glucanasen benutzt, um die Hefezellwände zu hydrolysieren und Mannoproteine freizusetzen.

Beide Verfahren liefern nur unbefriedigende Ergebnisse. Die so isolierten Mannoproteine sind teilweise unlöslich und/oder enthalten unlösliche Verunreinigungen. Durch eine Filtration müssen dann diese unlöslichen Stoffe aus dem Wein wieder entfernt werden, mit dem Risiko, dass man die wirksamen Fraktionen der Mannoproteine ebenso mit herausfiltriert, wie die Verunreinigungen. Dadurch haben die mittels des enzymatischen Verfahrens gewonnenen Mannoproteine nur eine sehr eingeschränkte Wirkung auf die Weinstein-Stabilität.

Die von DSM entwickelte Technik erlaubt es jetzt, eine perfekt lösliche Mannoproteinfraktion zu isolieren, die eine hohe weinsteinstabilisierende Wirkung besitzt. Bei diesem Prozess wird die gesamte Hefezelle hydrolysiert, sodass man einen Hefeextrakt und unlösliche Stoffe erhält. Durch eine Ultrafiltration werden die Mannoproteine selektioniert. In einem abschließenden Schritt werden die Mannoproteine weiter gereinigt, um die Löslichkeit und die Funktionalität zu verbessern. Um ihre einzigartigen Eigenschaften zu erhalten, werden die DSM Mannoproteine in ihrer flüssigen Form erhalten, was die Anwendung in den Betrieben deutlich erleichtert.

## Weinsteinstabilität – Mechanismus und bereits vorhandene Verfahren

**Kaliumhydrogentartrat** ist unter bestimmten Temperatur- und Druckbedingungen löslich. Im Wein liegt dieses Salz als instabile Übersättigung vor, was unter bestimmten Bedingungen (z. B. niedrige Temperaturen) zur Kristallbildung führt. Dieses Phänomen wird als Weinstein ausfall bzw. -kristallisation bezeichnet.

Die Weinsteinstabilität ist von verschiedenen Faktoren abhängig: Weinsäuregehalt, Gehalt an Kalium- und Calciumionen, pH-Wert, Alkoholgehalt, Temperatur und der Anwesenheit von Kolloiden. Heute finden verschiedene Stabilisierungsverfahren in den Betrieben Anwendung. Das älteste Verfahren ist die von E. Scazzola (1956) beschriebene Stabilisierung mit

**Metaweinsäure.** Die Metaweinsäure verhindert das Kristallwachstum. Die Wirkung ist jedoch zeitlich stark begrenzt, da die Metaweinsäure hydrolysiert wird und sich in ihre Bestandteile auflöst. Durch diese Hydrolysierung steigt sogar noch die Übersättigung und der Weinstein ausfall wird gefördert (Carafa, 1958).

Ein weiteres, oft angewandtes Verfahren ist die **Kaltstabilisierung.** Hierbei wird der Wein über eine längere Zeit (mehrere Wochen) auf niedrige Temperaturen herabgekühlt. Die Kälte setzt die Löslichkeit des Weinstein herab und fördert so seinen Ausfall. Dieses Verfahren kann durch die Zugabe von Kontaktweinstein beschleunigt werden. Mit einer Filtration können die entstandenen Kristalle vom Wein abgetrennt werden.

Ein noch sehr junges Verfahren ist die **Elektrodialyse.** Hierbei wird der Wein zwischen zwei Platten umgewälzt, an denen ein elektrisches Feld angelegt ist. Durch dieses elektrische Feld werden Ionen durch eine selektive Membran gezogen. So werden  $K^+$ -Ionen abgereichert und eine Stabilität herbeigeführt (Saint Pierre *et al.*, 1995).

## Mannoproteine – Definition und Eigenschaften

Mannoproteine sind natürliche Bausteine der Hefezellwand (Abb.1). Die Hefezellwand besteht zu 90% aus Polysacchariden (Glucane und Mannane), aber auch aus Eiweißen, Lipiden, Phosphaten, Chitin und Mineralien. Der Ausbau der Hefezellwände ist von Kapteyn *et al.* (1999) und Lipke *et al.* (1998) umfassend erforscht worden. Mannoproteine werden vor allem während der alkoholischen Gärung und der Hefeautolyse während der Feinhefelagerung freigesetzt und stellen die zweitgrößte Gruppe von Polysacchariden im Wein dar (Vidal *et al.*, 2003).

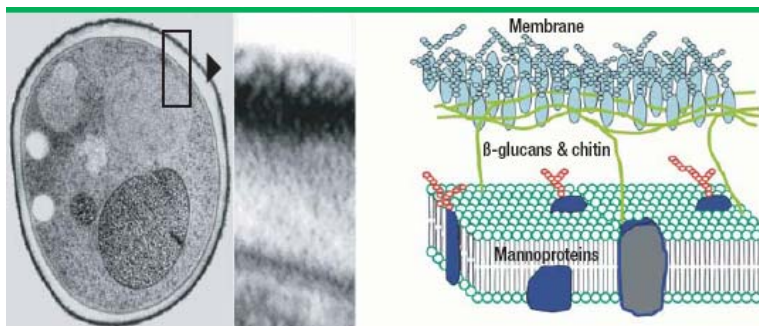
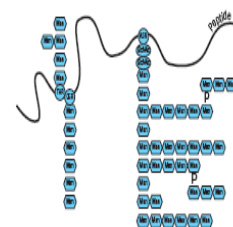


Abb1.:

Hefezelle unter dem Elektronenmikroskop und schematische Darstellung der Hefezellwand

Mannoproteine sind stark verzweigte Strukturen aus Mannose-Resten, die durch verschiedene glucosidische Bindungen und Peptidketten miteinander verbunden sind.



■ Mannopy residue  
■ N-Acetyl-glucosamine  
■ Laminaric acid  
■ P Phosphatidyl ethanol

Abb2:  
Struktur von Mannoproteinen

Ihr Molekulargewicht kann bis zu 800 kDa betragen. Obwohl alle Mannoproteine dieselbe Struktur haben (Abb. 2), unterscheiden sie sich jedoch deutlich in ihrer Zusammensetzung, in der Art der glucosidischen Bindungen und in ihrem Aufbau. Diese Unterschiede sind verantwortlich für die funktionalen Eigenschaften und Wirkung im Wein, von der Verbesserung des „mouth feel“ bis zur Weinsteinstabilisierung.

Der schützende Effekt von kolloidalen Mannoproteinen ist in der Weinwirtschaft schon seit Jahren bekannt. So wurde beobachtet, dass Weine, die auf der Hefe gereift sind, stabiler gegen Weinsteinausfall sind (Lubbers *et al.*, 1992; Moine-Ladoux und Dubourdiu, 1997, Moine-Ladoux und Dubourdiu, 1999). Darüber hinaus wurden eiweißstabilisierende Eigenschaften von Mannoproteinen beschrieben (Ledoux *et al.*, 1992; Waters *et al.*, 1994). Mannoproteine scheinen die Bildung von Kristallen zu verhindern (Moutounet *et al.*, 1999). Es konnte beobachtet werden, dass ein partielles oder komplettes Entfernen von schützenden Kolloiden während der Weinherstellung zu einem schnellen Weinsteinausfall führt. Grundsätzlich ist es so, dass Mannoproteine die „Nukleation“, also die Bildung von Ausgangskeimen, verhindern, während der Einfluss auf das Kristallwachstum zu vernachlässigen ist. Daraus folgt, dass eine Weinsteinstabilität nur erreicht werden kann, wenn keine Kristalle im Wein vorhanden sind. (Moutounet *et al.*, 1999).

## Material und Methoden

Die in diesem Artikel beschriebenen Versuche wurden in Kooperation mit der „Station Experimentale d’Œnologie INRA“ in Pech Rouge, mit Weinen aus den Jahrgängen 2004 und 2005 durchgeführt.

### Material

#### Wein

- Verschnitt aus Grenache blanc und Viognier 2004, mit einem DIT von 18% (Partie A) und 22,5% (Partie B).
- Sauvignon blanc 2005 mit einem DIT von 22%

#### Mannoprotein

*Claristar*<sup>TM</sup> von DSM. Dieses Produkt entspricht dem oenologischen Codex des OIV und ist zugelassen zur Weinsteinstabilisierung nach der EU-Verordnung Nr. 2165/2005 vom 20.12.2005.

#### Methoden

Die Weine wurden in zwei Partien aufgeteilt: Jeweils 10 Liter beim Grenache blanc / Viognier-Verschnitt und 3.500 Liter beim Sauvignon blanc.

Die erste Partie war die unbehandelte Kontrolle, die zweite Partie war die mit *Claristar*<sup>TM</sup> behandelte Variante (Dosage: 30g/hl Trockensubstanz). Alle Weine wurden vorsorglich mit 30 g/hl Bentonit behandelt und mit Kieselgur filtriert.

### Methoden zur Weincharakterisierung

Die folgenden Analysen wurden bei der Kontrolle und bei der mit *Claristar*<sup>TM</sup> behandelten Variante durchgeführt:

- Kaliumgehalt (photometrisch)
- Weinsäuregehalt (HPLC)
- Trubgehalt (Nephelometry)
- Leitfähigkeit
- pH-Wert
- Vmax (Fluxrate bei 1 bar auf einer Membran mit einem Durchmesser von 250 mm und einer Filtrationsschärfe von 0,65 µm).
- Coating Index (Fluxrate bei 2 bar auf einer Membran mit einem Durchmesser von 250 mm und einer Filtrationsschärfe von 0,65 µm).
- DIT: 4 g/l Kontaktweinstein wurden bei -4° C zugegeben und ständig mit 500 U/min gerührt. (Dieses Modell ist an das Kontaktverfahren aus der Praxis angelehnt.) Während 4 Tagen wurde die Leitfähigkeit gemessen und die Daten auf den Ladungsausgleich hochgerechnet. Die Instabilität wird ausgedrückt in %-Leitfähigkeitsverlust. Kommerzielle Weine besitzen einen DIT von 20 – 25 % bei der Füllung.

### Methoden zur Messung der Weinsteinstabilität

- *Kältestabilisierungstest*: Der Wein wird bei -4° C gelagert und täglich visuell überprüft (0 = keine Kristalle, \* = Verdacht auf Kristalle, \*\* = sichtbare Kristalle). Ein kommerzieller Wein wird allgemein als stabil angesehen, wenn sich nach 6 Tagen keine Kristalle gebildet haben.
- *ISTC50*: 50 mg Kalium werden in 100 ml Wein gelöst. Dieser wird auf -4° C abgekühlt und mit 500 U/min gleichmäßig gerührt und die Leitfähigkeit gemessen. Das Ergebnis wird in Zeit (min) ausgedrückt, die gebraucht wird, um eine Verringerung der Leitfähigkeit zu erreichen. Dieser Test ist vergleichbar mit dem Kältestabilisierungstest, liefert aber schnellere Ergebnisse. Kommerzielle Weine werden im Allgemeinen als stabil bezeichnet, wenn sich bei Rot- und Roséwein nach 180 min und bei Weißweinen nach 120 min keine Kristalle gebildet haben.

	Grenache - Viognier 2004 Lot A		Grenache - Viognier 2004 Lot B		Sauvignon 2005	
	Before	After	Before	After	Before	After
Alcoholic degree	13.08	13.06	12.59	12.61	-	-
pH	3.43	3.43	3.42	3.42	3.39	3.37
Turbidity (NTU)	0.8	0.9	2	3.6	0.5	0.7
Conductivity $\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C	1638	1645	1836	1843	1708	1725
Tartric acid (g/l)	-	-	-	-	1.85	1.7
K+ (mg/l)	-	-	-	-	753	768
V max	-	-	-	-	4872	1044
Coating index	-	-	-	-	8	36
DIT	18 %	18.6 %	22.5 %	20 %	22 %	20.4 %

**Abb.3:** Weinzusammensetzung vor und nach der Behandlung mit Claristar™

## Ergebnisse und Diskussion

### Effekt auf die Weinbeschaffenheit

Alkoholgehalt, pH-Wert, Trubgehalt, Leitfähigkeit, Weinsäuregehalt, Vmax, Coating Index und DIT wurden in drei verschiedenen Weinen jeweils vor und nach der Claristar™-Behandlung gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb.3 und 4 dargestellt.

■ Die Verwendung von Claristar™ hat weder Einfluss auf die Zusammensetzung des Weines noch auf den Trubgehalt (Abb. 3). Der Einfluss auf den Vmax und den Coating Index liegt in einem akzeptablen Rahmen für eine kommerzielle Abfüllung.

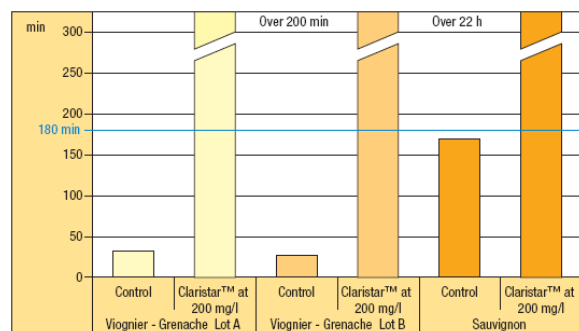
### Effekt auf das Aromaprofil des Weines

Bei einer Verkostung wurden ein Chardonnay und ein Sauvignon blanc, die mit 20 g/hl (Trockenmasse) behandelt wurden, gegen die Kontrolle probiert.

■ In einem Dreieckstest (n=42) stellte sich heraus, dass Claristar™ keinen Effekt auf die Sensorik der beiden Weine hatte.

### Effekt auf die Stabilität

Die Stabilitätstests -4° C und ISTC50 wurden bei allen Weinen vor und nach der Behandlung mit Claristar™ durchgeführt (T0 = direkt nach der Behandlung, T12 = 12 Monate nach der Behandlung) Die Analyse nach 12 Monaten wurde nur bei Sauvignon blanc durchgeführt.



**Abb.4:** ISTC50 (durchgeführt von der INRA). Zeit (min) bei Beginn der Leitfähigkeitsabnahme

■ Abb.3 zeigt den Effekt von Claristar™ im ISTC50-Test bei Grenach / Viognier und Sauvignon blanc. Das Ergebnis ist in der Anzahl der Minuten angegeben, die gebraucht wird, um die Leitfähigkeit zu senken. Im Allgemeinen wird ein Wein als stabil bezeichnet, wenn es länger als 180 min dauert, bis die Leitfähigkeit sinkt.

■ Abb.4 zeigt auch, dass alle unbehandelten Weine instabil waren (Grenache-Viognier 25 min und Sauvignon blanc 160 min). Alle Weine, die mit Claristar™ behandelt wurden, waren stabil (weit über 180 min).

0: no crystal *: suspicion of cristal **: visible crystals	Grenache - Viognier Lot A		Grenache - Viognier Lot B		Sauvignon	
	Control	Claristar™ at 200 mg/l	Control	Claristar™ at 200 mg/l	Control	Claristar™ at 200 mg/l
Day 1	*	0	*	0	0	0
Day 2	**	0	**	0	*	0
Day 3	-	-	-	-	**	0
Day 4	-	-	-	-	**	0
Day 5	**	0	**	0	**	0
Day 6	**	0	**	0	**	0
Day 7	**	0	**	0	**	0
Day 8	**	0	**	0	**	0
Day 9	**	0	**	0	**	0
Day 10	**	0	**	0	-	-
Day 16	-	-	-	-	-	-
Day 29	**	0	**	0	**	0
Day 33	**	0	**	*	-	-
Day 34	**	0	**	**	-	-
Day 36	**	0	**	**	-	-
Day 37	**	0	**	**	-	-

Abb.5: Effekt von Claristar™ auf die Kristallausscheidungskinetik

■ Abb.5 zeigt die Effektivität von Claristar™ im Kältestabilisationstest bei -4°C.

■ Abb.5 zeigt, dass in den Kontrollweinen schon nach zwei bis drei Tagen Weinsteinkristalle zu sehen waren. Alle mit Claristar™ behandelten Weine waren noch nach 29 Tagen bei -4°C stabil. Also hat Claristar™ die Stabilität sehr unstabiler Weine verbessert.

Signifikante Leitfähigkeitsabnahmen konnten innerhalb von drei Tagen in der unbehandelten Variante gemessen werden. In den mit Claristar™ behandelten Varianten konnten selbst nach 16 Tagen bei -4°C keine Leitfähigkeitsabnahme gemessen werden. Diese Ergebnis entspricht den visuellen Tests und bestätigt die schützende Wirkung von Claristar™.

### Effekt auf die Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit des 2005er Sauvignon blanc wurde über einen Zeitraum von 16 Tagen gemessen. Die Ergebnisse werden in Abb. 6 gezeigt.

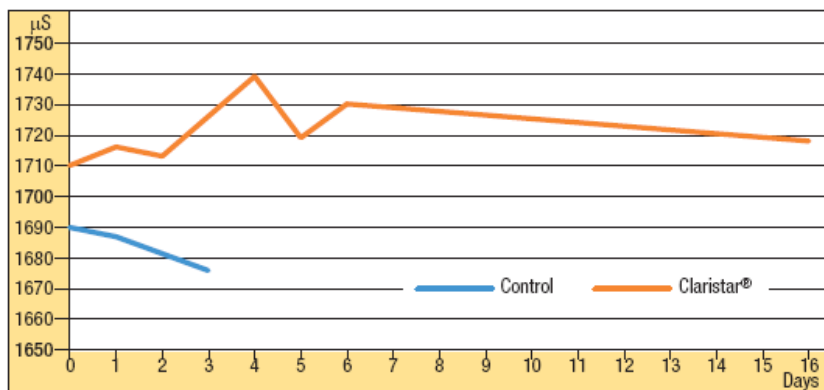


Abb.6: Leitfähigkeitsmessung

		Control		Claristar™ at 200 mg/hl	
		Conductivity	Visual	Conductivity	Visual
ISTC 50 min		110		>300	
Conductivity $\mu\text{S/cm } 20^\circ\text{C}$	Day 0	1702	-	1718	-
	Day 1	1717	0	1735	0
	Day 2	1719	0	1737	0
	Day 3	1702	*	1761	0
	Day 4	1654	**	1746	0
	Day 5	1620	**	1738	0
	Day 6			1734	0
	Day 7			1724	0
	Day 8			1739	0
	Day 9			1739	0
Day 16			1719	0	

**Abb.7:**  
Leitfähigkeitsmessung und visuelle Kontrolle bei  $-4^\circ\text{C}$  und ISTC50 nach 12 Monaten Lagerung bei  $18^\circ\text{C}$

## Langzeitstabilität

Die Stabilität des Sauvignon blanc wurde nach 12 Monaten Lagerung bei  $18^\circ\text{C}$  überprüft. Die Ergebnisse sind in Abb. 7 dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen, dass auch nach einer Lagerung von 12 Monaten der mit *Claristar™* behandelte Wein noch stabil war (ISTC >300 min und keine sichtbaren Kristalle selbst nach 16 Tagen bei  $-4^\circ\text{C}$ ). Zusammenfassend ist *Claristar™* sehr effektiv gegen Weinsteinausfall beim Langzeitversuch.

## Zusammenfassung

Die vorgestellten Studien beweisen die hervorragenden Eigenschaften des neuen Mannoproteinproduktes *Claristar™*. Diese spezielle Mannoproteinfraktion war bei allen Versuchsweinen, auch beim Langzeittest, bei der Weinstein stabilisierung sehr effektiv. Außerdem beeinflusst *Claristar™* weder die Zusammensetzung noch den Geschmack des Weines. Die Studie an der INRA wird fortgesetzt. Dort wird *Claristar™* mit bereits existierenden Produkten und Techniken verglichen. Die Ergebnisse zum jetzigen Zeitpunkt zeigen, dass *Claristar™* ein sehr effektives und leicht anwendbares Mittel zur Weinstein stabilisierung ist. Weitere Ergebnisse werden im Laufe des Jahres veröffentlicht.

- SCAZZOLA E., 1956. *Sur un produit inhibiteur de la cristallisation du tartre dans les vins*. Ann. Falsif., Fraudes, 49, 159.
- CARAFA P., 1958. *L'acido metatartarico in enologia*. Rivista Vitic. Enol., 11, 363.
- KAPTEYN J.C., VAN DEN ENDE H., KLIS F.C., 1999. "The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall", *Biochim. Biophys. Acta* 1426, 373-383.
- LIPKE P.N. and OVALLE R., 1998. "Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges", *J. Bacteriol.* 180 (15), 3735-3740.
- LEDOUX V., DULAU L., DUBOURDIEU D., 1992. "Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies." *J. Int. Sci. Vigne et Vin* 26: 239-251.
- LUBBERS S., LEGER B., CHARPENTIER C., FEUILLAT M., 1993. *Effet colloïde-protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'une solution hydro-alcoolique modèle*. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 27, 13-22, 65-66.
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1997. "Interprétation moléculaire de l'amélioration de la stabilité protéique des vins blancs au cours de leur élevage sur lies."
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1999. *An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines*. *J. Sci. Food Agric* 79 :537-543.
- MOUTOUNET M., BATTLE J. L., SAINT PIERRE B., ESCUDIER J. L., 1999. *Stabilisation tartrique. Détermination du degré d'instabilité des vins. Mesure de l'efficacité des inhibiteurs de cristallisation*. *OEnologie* 99. 6e symp. int. d'OEnologie.
- RIBEREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A., DUBOURDIEU D., 1998. *Traité d'oenologie. Tome I : Microbiologie du vin. Vinifications. Traité d'oenologie*. Dunod. Bordeaux.
- SAINT PIERRE B., BATTLE J., ESCUDIER JL., MOUTOUNET M., 1995. *Symposium International d'oenologie de Bordeaux*.
- VIDAL S., WILLIAMS P., DOCO T., MOUTOUNET M. et PELLERIN P., 2003. *The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterisation*. *Carbohydrate Polymers*, 54, 439-447.
- WATERS E., PELLERIN P., BRILLOUET J.-M., 1994. *A Saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze*. *Carbohydrate Polymers* 23, 185-191.
- *Vmax and coating index: web reference: [www.matevifrance.com/visualisation.asp?rub=7&ch=75&pg=130](http://www.matevifrance.com/visualisation.asp?rub=7&ch=75&pg=130)*.