

# Verwendung von hochadsorptiven Hefezellwänden zur Entfernung von Kork- und Mufftönen, sowie zur Verringerung des Ochratoxin A-Wertes.

Olivier FERNANDEZ, Céline FAUVEAU, Patrice PELLERIN, DSM Food Specialties  
Carole PUECH, Patrick VUCHOT, Stéphane VIDAL, INTER RHÔNE  
Übersetzung : Dipl.-Ing. (FH) Peter Früh, Max F. Keller GmbH

## Einleitung

Korkgeschmack und Mufftöne sind Weinfehler, die in jedem Weinanbaugebiet der Welt auftreten können. Schon Georges Jaquemin hat diese Fehler 1903 in seinem „Traité d'œnologie moderne“ beschrieben. Heute weiß man, dass diese Fehler nicht allein durch eine Kontamination des Korkens, sondern auch durch Holzschutzmittel und chlorhaltige Reinigungsmittel verursacht werden können. Für diese Fehler sind halogenisierte Anisole verantwortlich. Halogenisierte Anisole können in chlorierte und bromierte Anisole unterteilt werden. Trotz aller Bemühungen der Korkhersteller und erhöhter Vorsichtsmaßnahmen bei der Reinigung in den Kellereien, können Korkgeschmack und Mufftöne entstehen. Sie stellen ein erhebliches kommerzielles Risiko für die Kellereien dar.

Ochratoxin A (OTA), ein weiteres unerwünschtes Molekül, bereitet vor allem in Südeuropa (7) den Winzern großes Kopfzerbrechen. Es wird bereits in der Traube gebildet und gelangt so in den Wein. Bisher gab es keine effiziente Möglichkeit zur Reduzierung des OTA-Gehaltes. Obwohl die Gehalte an OTA in Wein im Vergleich zu anderen Produkten, z.B. Getreideprodukte, sehr gering sind, birgt OTA dennoch ein gewisses Risiko für die Gesundheit. Daher hat die EU den maximal zulässigen Gehalt an OTA in Wein mit 2µg/Ltr auf ein sehr niedriges Niveau festgelegt.

Die gesetzlich zugelassenen Weinbehandlungsmittel erbrachten bisher keine zufrieden stellenden Ergebnisse bei der Reduzierung von OTA. So hat z.B. eine Gelatineschönung keine Auswirkung auf den OTA-Gehalt und auch eine Filtration entfernt OTA nur unwesentlich. Mit einer Aktivkohle- oder Aktivkohle-Gelatineschönung kann der OTA-Gehalt entscheidend gesenkt werden. Jedoch ist der Farb- und Aromaverlust so erheblich, dass der Wein nachhaltig in seiner Qualität geschädigt wird. Es muss also eine Lösung mit zugelassenen Behandlungsmitteln gefunden werden, die zum einen den OTA-Gehalt effizient senkt und zum anderen Farbe und Aroma des Weines schont.

Neueste Arbeiten berichten über eine OTA-Adsorption (5) (6) durch Hefen (frische Hefe oder Reinzuchthefe). Die Eigenschaften des Hefestamms, die Dosage und die Kontaktzeit beeinflussen maßgeblich den Erfolg dieser Behandlung. Hua (2003), La Penna, Neci, Etcheverry (2004), Petersson, Schnurer (1995) haben das Adsorptionsvermögen von Hefezellwänden nachgewiesen. Diese Entdeckung erleichtert die Behandlung nach der Gärung, da sie wesentlich leichter für den Anwender zu handhaben ist als Kern- oder Reinzuchthefe. Die Effizienz der Hefezellwände beruht auf einem speziellen Adsorptionsmechanismus, der durch hydrophobische Wechselwirkungen spezielle Moleküle bindet. Hefezellwände haben also verschiedene Affinitäten gegenüber diversen Weinhaltstoffen.

Hefezellwände werden aus *Saccharomyces cerevisiae* gewonnen. Das Cytoplasma wird durch Autolyse unter kontrollierten Bedingungen aus den Zellwänden entfernt. Sie werden verwendet, um Most zu „entgiften“ (Larue *et al.*, 1982 und Salmon *et al.*, 1993) und stockende Gärungen wieder in Gang zu bringen (1).

In der vorliegenden Arbeit beschäftigen wir uns mit dem Adsorptionspotential der von DSM Food Specialties entwickelten Hefezellwänden gegenüber Ochratoxin A (OTA) und Chloranisolen (TCA, TeCA und PCA). Während des vom DSM Food Innovation Center neu entwickelten Herstellungsprozesses wird die Adsorptionskapazität von Extraferm® beträchtlich erhöht. Dieser für DSM geschützte Produktionsprozess führt zu sog. „HALO“ (= High Adsorbance Low Odor) Hefezellwänden, das heißt: Extraferm® gibt selbst bei hoher Dosierung keinen Geruch oder Geschmack an den Wein ab!

## 1 Halogenierte Anisole

### 1.1 Chlorierte Anisole (TCA, TeCA, PCA) und bromierte Anisole (TBA)

Halogenierte Anisole werden in chlorierte und bromierte Anisole unterteilt. Chlorierte Anisole sind verantwortlich für den Kork- und Muffton. Dabei handelt es sich um 2,4,6-Trichloranisol (TCA), 2,3,4,6-Tetrachloranisol (TeCA) und Pentachloranisol. Die Anwesenheit von TCA im abgefüllten Wein stammt immer von einer Kontamination durch den Kork, der selbst TCA enthält. Tritt eine Kontamination mit TCA im Gebinde auf, so stammt sie entweder von chlorhaltigen Reinigungsmitteln oder von Luftbefeuchtern, die mit sehr chlorhaltigem Leitungswasser arbeiten. Chlor reagiert sehr schnell mit Phenolen, die in Holz, Weinrückständen (2) oder in Bodenbelägen aus Kunstharz vorhanden sind, zu Trichlorphenol (TCP). Dieses TCP wird von Schimmelpilzen im Weinkeller zu flüchtigem Trichloranisol transformiert. Durch die Luftzirkulation kann so der ganze Keller kontaminiert werden. Außerdem können Reste von Chlor, die durch eine unzureichende Tankreinigung in den Wein verschleppt wurden, mit Phenolen im Wein zu TCP reagieren, das durch Mikroorganismen im Wein oder im Kork zu TCA umgewandelt werden.

Weiterhin sind viele Einrichtungen (Deckenbalken, Holzpaletten, Holztüren, ...) mit Fungiziden und/oder Insektiziden behandelt, die Tetra- und Pentachlorphenole (TeCP, PCP) enthalten. Maujean *et al.* (1985) und Alvarez-Rodriguez *et al.* (2002) konnten nachweisen, dass TeCP und PCP von Schimmelpilzen zu schlecht riechendem und sehr flüchtigem TeCA und PCA umgewandelt werden können. Die Anwesenheit dieser beiden Stoffe im Wein deutet auf eine Luftkontamination hin. Durch Luftkontamination können erheblich größere Weinmengen kontaminiert werden, als durch TCA auf der Flasche.

Andere Moleküle, die für den Muffton verantwortlich gemacht werden, konnten kürzlich bestimmt werden. Dabei handelt es sich um bromierte Anisole und im Speziellen um 2,4,6-Tribromanisole (TBA). Chatonnet *et al.* (2004) konnten nachweisen, daß dieses Produkt, genau wie die Chloranisole, von Schimmelpilzen aus speziellen Precursoren gebildet wird. Meist handelt es sich dabei um bromierte Phenole. Durch Diffusion aus behandeltem Holz (z.B. Paletten) gelangt dieser Stoff in die Kelleratmosphäre und kontaminiert so den Wein. Diese Kontamination kann aber auch von Drehverschlüssen (der Lack besteht zum Teil aus bromiertem Epoxydharz) oder aus Holzspanplatten, oder auch von feuerfestem Isoliermaterial, das mit Flammenhemmstoffen auf Tetrabrombiphenol A-Basis (4) behandelt wurde, stammen.

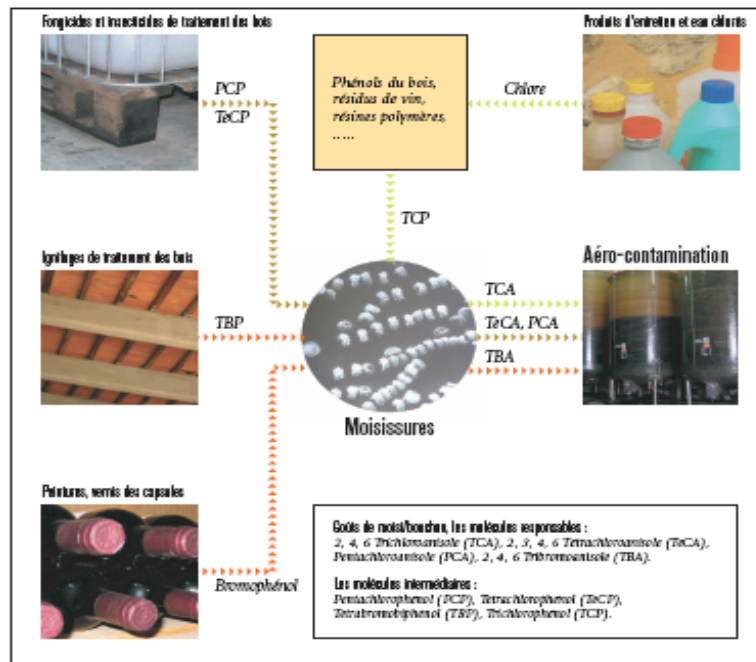


Abb.1: Mechanismen der Luftkontamination

Die Adsorptionsfähigkeit von Extraferm® zur Reduzierung dieser halogenisierten Anisole wurde in zwei Schritten ermittelt. Im ersten Schritt wurden Versuche im Labor durchgeführt, um den Effekt der Extraferm®-Dosierung zu bestimmen. Danach wurde ein Test im Großgebäude vorgenommen um das Laborergebnis in der Praxis zu bestätigen.

## 1.2 Material und Methoden

### 1.2.1 Effizienz der Behandlung

Die Versuche wurden 2004 und 2005 mit kontaminierten Rotweinen und einem Wein mit natürlicher Restsüße durchgeführt. Die Weine hatten einen Gehalt von über 5ng/Ltr. TCA und über 25ng/Ltr. TeCA. Diese Werte stellen die Geschmacksschwelle für Kork- oder Mufftöne dar.

Im Labor wurde Extraferm® in verschiedenen Dosen zugegeben: 0, 100, 200, 400 und 800mg/hl. Die Kontaktzeit betrug 48 Stunden, wobei dreimal pro Tag aufgerührt wurde (morgens, mittags, abends).

Von allen Weinen wurde eine klassische Weinanalyse und chromatographische Analyse erstellt. Die halogenisierten Anisole wurden mit der Methode SBSE/GC/MS bestimmt.

### 1.2.2 Umsetzung im Großgebäude

Die Versuche im Großgebäude wurden entsprechend den Ergebnissen im Labor durchgeführt. Unter den Bedingungen im Großgebäude erwies sich jedoch die optimale Verteilung der Hefezellwände als schwierig.

Für die Studie wurden zwei Betriebe ausgewählt. In jedem dieser Betriebe wurde jeweils ein kontaminierter Wein behandelt. In einem Betrieb handelte es sich um einen 2005er Weißwein in 2 Tanks, der mit TBA und PCA kontaminiert war. Im anderen Betrieb wurde ein 2004er Rotwein behandelt, der mit TeCA und PCA kontaminiert war.

Beide Weine wurden einmalig mit 400mg/Ltr. Extraferm® behandelt. Die Kontaktzeit betrug 48 Stunden mit dreimaligem Vermischen pro Tag mittels einer Pumpe.

### 1.3 Ergebnisse und Diskussion

#### 1.3.1 Auswirkung der Behandlung

Um eine statistisch abgesicherte Studie zu erhalten, werden die Ergebnisse mehrerer mit Extraferm® behandelter Weine vorgestellt.

Tabelle 1: Abnahme chlorierter Anisole. Varianzanalyse mit zwei Faktoren. Ergebnisse von Inter Rhône

	Anzahl der Weine	Nullprobe	Behandelte Weine (+ 400 mg/L)	%	Abweichung
TCA (ng/L)	8	6,05	4,44	- 27 %	0,5 %
TeCA (ng/L)	6	33,98	15,22	- 55 %	0,6 %
PCA (ng/L)	6	25,21	6,94	-72 %	1,1 %

Die statistische Analyse erstreckt sich über 8 Weine. Die Behandlung mit 400mg/Ltr. Hefezellwände reduzierte den Gehalt an TCA um durchschnittlich 27%. Diese Ergebnisse sind signifikant mit einer statistischen Abweichung von 0,5%.

Die Resultate bei TeCA sind sogar noch besser. Die Behandlung mit Hefezellwänden erbrachte eine Reduzierung von 55% (Durchschnitt von 6 behandelten Weinen). Die Differenzen sind signifikant mit einer statistischen Abweichung von 0,6%.

Das markanteste Ergebnis wurde jedoch bei der Adsorption von PCA erzielt. Hier wurden die Gehalte um 72% reduziert. Auch diese Ergebnisse sind signifikant mit einer statistischen Abweichung von 1,1%.

#### 1.3.2 Auswirkung der Dosage bei der Behandlung

Um die Effizienz und Kosten der Behandlung zu optimieren, wurden verschiedene Dosierungen von Extraferm® getestet (Abb.2).

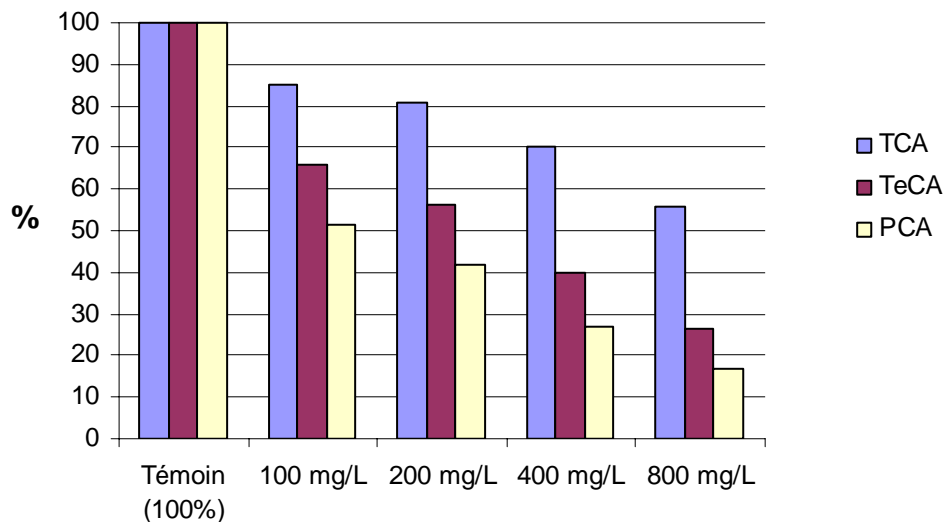


Abb.2: Adsorption von chlorierten Anisolen bei ansteigenden Dosagemengen von Extraferm® (Durchschnitt aus zwei Weinen) ausgedrückt in % vom Ausgangsgehalt. Ergebnisse von Inter Rhône.

Die Entfernung dieser drei chlorierten Anisole ist proportional zur Dosagemenge der verwendeten Hefezellwände.

Eine Behandlung mit Extraferm®, ab einer Dosierung von 100mg/Ltr., konnten die Gehalte an TCA unter die Wahrnehmungsschwelle von 5ng/Ltr. und den Gehalt an TeCA unter die Wahrnehmungsschwelle von 25ng/Ltr. drücken. Diese Wahrnehmungsschwellen sind zwar nur theoretisch, es kann jedoch festgestellt werden, dass mit Hefezellwänden Kork- und Mufftöne effektiv entfernt werden können.

### 1.3.3 Durchführung in der Praxis

Im ersten Betrieb wurden zwei Tanks mit 18 und 3hl eines Weißweins behandelt, der einen erhöhten Gehalt an TBA aufwies (5,5 und 2,8ng/Ltr.). Dieser Wein wurde einmalig mit 40g/hl Extraferm® behandelt. In dem kleinen Tank, wo die Vermischung am effektivsten zu bewerkstelligen ist, konnte eine sehr effiziente Behandlung durchgeführt werden. Nach der Behandlung haben sich die Gehalte an TBA entscheidend verringert und lagen unter der theoretischen Wahrnehmungsschwelle von 5ng/Ltr. (1,2 und 0,6ng/Ltr.). Das entspricht einer Abnahme von 78% in diesen beiden Tanks (Abb.3). In einer Verkostung durch den technischen Service des Institutes Inter Rhône konnte kein Weinfehler mehr festgestellt werden.

Darüber hinaus konnte der Gehalt an TeCA um 23% (von 2,6 auf 2,0ng/Ltr.) und der Gehalt an PCA um 68% (von 21,5 auf 6,8ng/Ltr.) verringert werden. Damit lag die Restkontamination unterhalb der Wahrnehmungsschwelle.

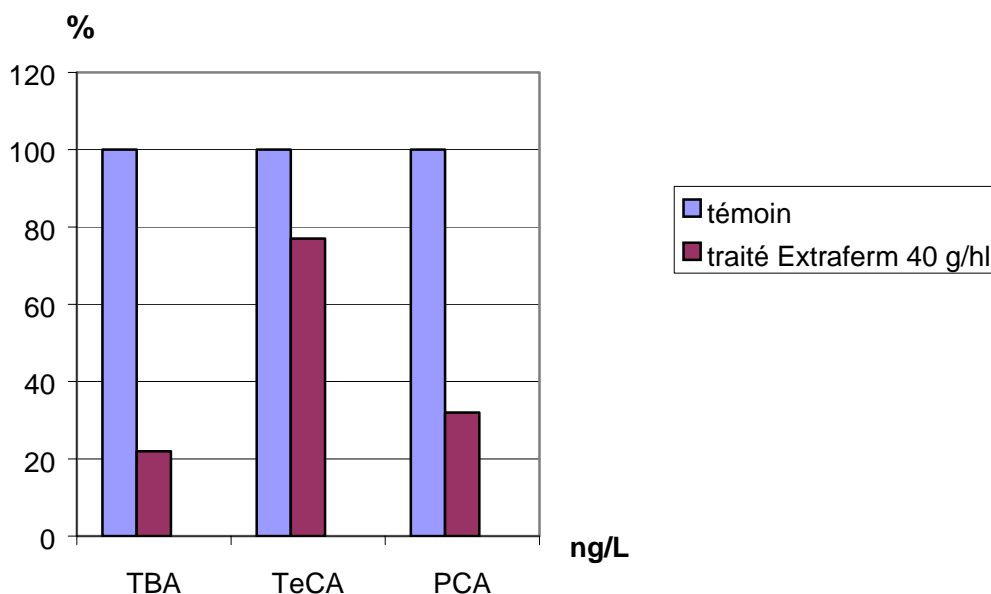


Abb.3: Reduzierung halogenisierter Anisole in einem Weißwein, durch die Behandlung mit Extraferm® im Praxismaßstab.

Im zweiten Betrieb wurde ein Rotwein behandelt, der einen erhöhten Gehalt an TeCA und PCA (60 und 147ng/Ltr.) aufwies. In einem ersten Versuch wurde der Wein in einer Flasche mit Extraferm® behandelt. Bei einer Verkostung mit den Oenologen des technischen Service des Institutes Inter Rhône konnte ein sehr befriedigendes Ergebnis im Vergleich zur Nullprobe festgestellt werden. Es konnte weder der schimmelige Charakter der Nullprobe noch ein hefiger Geschmack festgestellt werden. Die Behandlung mit 40g/hl Extraferm® des Gesamtvolumens fand in der Kellerei selbst statt. Die anschließend durchgeführte Analyse zeigte eine Verringerung des TeCA- und PCA-Gehaltes zwischen 60 und 61%.

Die Praxisversuche konnten die Laborergebnisse zur Dekontaminierung von halogenierten Anisolen mit Hefezellwänden bestätigen.

Mit einer 48 stündigen Kontaktzeit mit zwei- bis dreimaligem Vermischen konnten die Weine erfolgreich dekontaminiert werden und das selbst dann, wenn die Vermischung im großen Gebinde nicht so innig ist wie im Laborversuch.

Es konnte damit zum ersten Mal eine effektive zur Reduzierung von TBA gezeigt werden. Dieser Stoff besitzt dieselbe niedrige Wahrnehmungsschwelle wie TCA und verursacht denselben Weinfehler. Es konnte eine erhebliche Reduzierung um bis zu 78% erreicht werden.

#### 1.4 Zusammenfassung

Durch das „HALO“-Verfahren können Hefezellwände hergestellt werden, die in der Lage sind Weine, die halogenierte Anisole enthalten, effektiv zu dekontaminieren. Die Behandlung ist einfach durchzuführen und basiert auf einem zugelassenen, oenologischen Produkt. Es erhält darüber hinaus den typischen Charakter des Weines.

#### Auswirkungen auf die behandelten Weine

Die klassischen, oenologischen Analyseparameter zeigen, dass es durch die Behandlung zu einer vernachlässigbaren Verschiebung der gemessenen Werte kommt und das selbst bei einer Aufwandsmenge von 800mg/Ltr. Farbmessungen bei

DO 280, 520, 420 und 620 zeigen, dass Extraferm® nur einen sehr geringen Einfluss auf die Farbe hat. Im Durchschnitt von 6 mit 400mg/Ltr. Extraferm® behandelten Weine wurde eine Verringerung der Farbintensität um 1,5% bei DO 280 und 3,1% in der Summe von DO 420, 520 und 620 gemessen. Dieser Farbverlust ist vernachlässigbar wenn man bedenkt, dass durch diese Behandlung verkehrsfähige Weine entstanden sind.

Die Behandlung mit Hefezellwänden ist also dann sehr effektiv, wenn durch Luftkontamination TeCA, PCA und TBA im Weinkeller in den Wein gelangen. Wird eine Kontamination festgestellt, befindet sich der Wein noch im Fass und kann einfach und effektiv behandelt werden. (Im Falle einer Kontamination auf der Flasche durch qualitativ schlechte Korken müssen die Flaschen erst aufgezogen werden, bevor man sie einer Behandlung unterzieht.)

## **2 Ochratoxin A**

### **2.1 Allgemeins zu Ochratoxin A (OTA)**

OTA wird schon in der Traube von Schimmelpilzen gebildet. Meistens handelt es sich dabei um den Pilz *Aspergillus niger* (Arbeit von Lebrhi und Sage, 2002). OTA besitzt, nach dem Wissenschaftlichen Comité für Humanernährung, kanzerogene und teratogene Eigenschaften. Außerdem ist es schädlich für die Nieren und das Immunsystem. In der EU-Richtlinie Nr.:123/2005 wurde für Wein ein Höchstgehalt von 2µg/Ltr. festgelegt. Die Kommission folgte damit dem Vorschlag des OIV. Dieser niedrige Grenzwert wurde festgelegt, obwohl in anderen Lebensmitteln wesentlich höhere Gehalte zu finden sind. Verschiedene große Handelshäuser und wichtige Importländer, wie zum Beispiel Finnland, haben noch niedrigere Grenzwerte festgelegt.

Hinzu kommt, dass die Verordnung über Lebensmittelhygiene (EG VO 852/2004), die am 1. Januar 2006 in Kraft getreten ist, jeden - vom Winzer bis zum Weinhändler - für die gesundheitliche Unbedenklichkeit der Weine verantwortlich macht.

Diese VO schreibt die Bewertung des sanitären Risikos, der Produktsicherheit und der Kontrolle während jedes einzelnen Produktionsschrittes vor. Daher ist es unerlässlich, den Gehalt an OTA im Wein zu bestimmen. In den von OTA besonders gefährdeten Regionen (in mediterranen Anbaugebieten lagen die gemessenen OTA-Werte in den vorangegangenen Jahren bei über 0,5µg/Ltr.) müssen alle Anstrengungen unternommen werden, um die Gesundheit des Lesegutes zu erhalten (Vermeidung von Laubwandverdichtungen, gute Heu- und Sauerwurmbekämpfung, Bekämpfung der üblichen Pilzkrankungen wie Botrytis, Oidium, Peronospora).

Um den Anforderungen des Handels und der Gesetzgebung gerecht zu werden, reichen prophylaktische Maßnahmen im Weinberg oft nicht aus. Außerdem stehen bisher keine effizienten Behandlungsmittel für die Korrektur erhöhter PTA Gehalte zur Verfügung.

DSM hat daher die Möglichkeiten untersucht, OTA aus dem Wein zu entfernen und einen neuen Herstellungsprozess für Hefezellwände entwickelt. Daraufhin wurde die Effektivität von Extraferm® zur Reduzierung des OTA-Gehaltes untersucht.

Um die Effektivität der neuen Hefezellwände Extraferm® zu quantifizieren, wurde eine dreistufige Untersuchung durchgeführt. Zunächst wurde im Labor die nötige Dosage bestimmt. Sodann wurde getestet, ob verschiedene Zugabe-Modalitäten (einmalige, fraktionierte Zugabe) einen besseren Effekt bringen. Zum Schluss wurden Versuche unter Praxisbedingungen durchgeführt.

## **2.2 Material und Methoden**

### **2.2.1 Wirkung der Behandlung**

Die Versuche wurden im Labor mit Rotweinen der Jahrgänge 2004 und 2005 durchgeführt. Alle hatten einen natürlichen Gehalt an OTA, der über dem gesetzlichen Grenzwert von 2µg/Ltr. lag. Das Hefezellwandpräparat Extraferm® wurde in verschiedenen Dosen zugesetzt: 0, 100, 200, 400 und 800mg/Ltr.

Die Kontaktzeit betrug, bei dreimaligem Aufrühren (morgens, mittags, abends) 48 Stunden. Danach wurden die Hefezellwände mit einer Laborzentrifuge entfernt.

Bei allen Weinen wurde eine klassische, oenologische Analyse durchgeführt. Die OTA-Analyse wurde mit der Inter Rhône-eigenen, automatisierten Methode ANFO NF EN 14133 durchgeführt.

### **2.2.2 Effekt einer einmaligen und einer fraktionierten Zugabe**

Die Variante, Zugabe von 800mg/Ltr. Extraferm® in einer Dosage, wurde während einer Kontaktzeit von 48 Stunden bei dreimaligem Vermischen durchgeführt.

Bei den Versuchen mit der fraktionierten Zugabe wurden 100 bzw. 200mg/Ltr. sukzessive auf 800mg/Ltr. während einer Zeitspanne von 48 Stunden zugegeben. Bei der Variante, die mit jeweils 200mg/Ltr. behandelt wurde, wurden die Hefezellwände alle 12 Stunden auf 200ml Wein gegeben. Der Wein wurde vor jeder Zugabe mit der Laborzentrifuge von den Hefezellwänden getrennt. In einer zweiten Reihe wurden die Hefezellwände darin belassen.

Bei der Variante mit 100mg/Ltr. wurden alle drei Stunden die Hefezellwände zugegeben. Jede Fraktion wurde zuvor mit der Laborzentrifuge entfernt und eine Stichprobe analysiert.

### **2.2.3 Versuch unter Praxisbedingungen**

Dieser Versuch wurde in einer Genossenschaftskellerei an einem Weißwein durchgeführt, der mit einem Gehalt von 2,1µg/Ltr. OTA nur knapp über dem gesetzlichen Grenzwert lag.

Der Wein wurde auf drei Tanks zu je 300hl aufgeteilt. Bei jedem wurde eine etwas andere Behandlung durchgeführt: 1. fraktionierte Zugabe von 40g/hl (20g/hl + 20g/hl), 2. einmalige Zugabe von 40g/hl, 3. Fraktionierte Zugabe von 80g/hl (40g/hl + 40g/hl). Bei den Varianten mit fraktionierter Zugabe, wurde die zweite Fraktion nach 36 Stunden ohne die Entfernung der ersten durchgeführt.

Die Kontaktzeit betrug 72 Stunden mit zweimaligem Umpumpen, um die Hefezellwände in Suspension zu halten. Danach wurde die Analyse durchgeführt.

## **2.3 Ergebnisse und Diskussion**

### **2.3.1 Wirksamkeit der Behandlung**

Eine statistische Analyse der Laborversuche (Tab.2) mit Extraferm® zeigte signifikante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Proben bei einer Abweichung von 1,2%. Im Durchschnitt der acht Weine konnte eine Reduzierung des OTA-Gehaltes um 23% erreicht werden.

Tabelle 2: Reduzierung von Ochratoxin A, Varianzanalyse mit zwei Faktoren, Durchschnitt aus 8 Versuchen, Ergebnisse von Inter Rhône.

	Anzahl der Weine	Nullprobe	Behandelte Weine (+ 400 mg/L)	%	Standartabweichung
OTA ( $\mu\text{g/L}$ )	8	3,39	2,59	- 24 %	1,2 %

Der OTA-Gehalt wird umso mehr reduziert, je mehr Hefezellwände eingesetzt werden (Abb.4). Mit einer Dosierung von 800mg/Ltr. konnte der OTA-Gehalt nicht unter die gesetzlich geforderten  $2\mu\text{g/Ltr.}$  reduziert werden. Die Adsorptionswirkung von Hefezellwänden erlaubt also nur eine Korrektur von Weinen, deren OTA-Gehalt leicht über dem gesetzlichen Grenzwert liegt. Oder er kann zumindest soweit gesenkt werden, dass der Wein im Verschnitt das erlaubte Maß erreicht.

Es wurde beobachtet, dass die Zusammensetzung der Weine einen gewissen Einfluss auf den Wirkungsgrad der Hefezellwände hat. Im Gegensatz zu chlorierten Anisolen ist die Wirkungsweise nicht spezifisch auf OTA. Es erscheint möglich, dass es bei der Adsorption eine Art Konkurrenz auftritt. Stoffe, die leichter adsorbiert werden erschöpfen das Adsorptionspotential und verschlechtern somit das Ergebnis der OTA-Reduzierung.

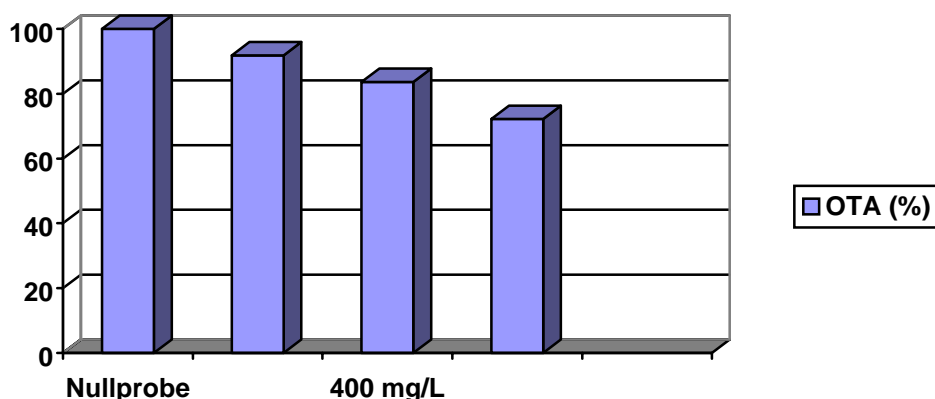


Abb.4: OTA-Reduzierung bei steigender Extraferm®-Menge (Durchschnitt aus zwei Weinen), ausgedrückt in %, Ergebnisse von Inter Rhône.

### 2.3.2 Effekt durch verschiedene Zugabe-Modalitäten

Die einmalige Zugabe wurde verglichen mit der sukzessiven Zugabe von Hefezellwänden.

Bei einer einmaligen Gabe von 800mg/Ltr. Extraferm® konnte die OTA-Konzentration nach 12 Stunden um 23% gesenkt werden und um 36% nach 48 Stunden. Der Gehalt wurde von  $6,1$  auf  $3,9\mu\text{g/Ltr.}$  gesenkt.

Wie aus Abb.5 ersichtlich ist, konnte mit den drei fraktionierten Methoden eine Verringerung von 28 bis 29% erreicht werden (ebenfalls 800mg/Ltr. finale Dosierung).

Die fraktionierte Zugabe von Extraferm® war in diesem Experiment weniger effektiv als die einmalige Gabe. Eine statistische Auswertung ergab jedoch, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Zugabemodalitäten gibt.

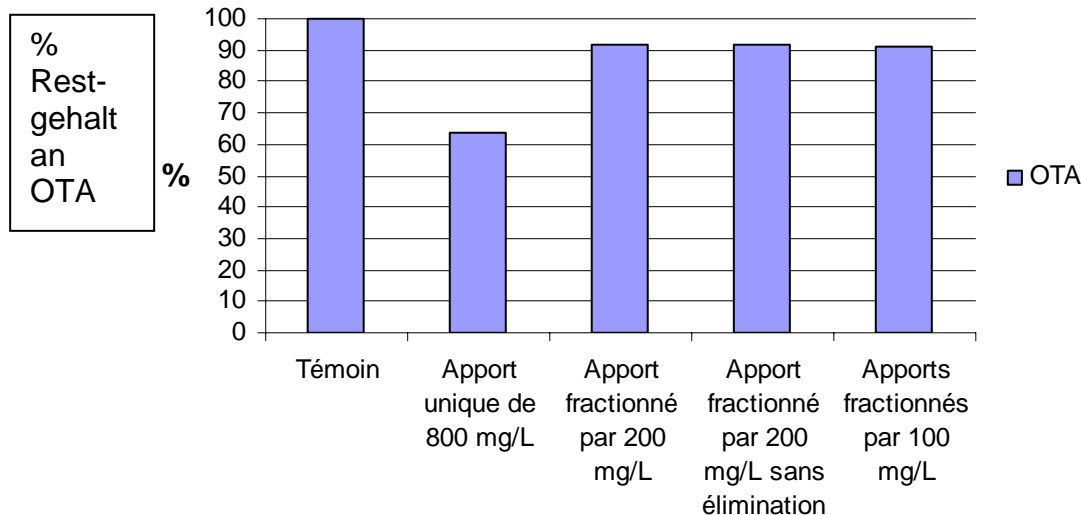


Abb.5: OTA-Abnahme nach verschiedenen Zugabe-Modalitäten, ausgedrückt in % des Gesamtgehalt, Ergebnisse von Inter Rhône.

Im Vergleich zu der einmaligen Extrferm®-Anwendung mit 800mg/Ltr. erbrachte die fraktionierte Zugabe keine bessere Dekontaminierung. Es ist festzustellen, dass die fraktionierte Zugabe mit der Entfernung der vorhergehenden Fraktionen ein sehr aufwendiges und in der Praxis nicht umsetzbares Verfahren ist. Außerdem bringt eine fraktionierte Zugabe keine Vorteile bei der OTA-Reduzierung.

### 2.3.3 Durchführung in der Praxis

Die Ergebnisse aus den Versuchen in der Genossenschaftskellerei decken sich mit den Ergebnissen im Labor. Der Wirkungsgrad erhöht sich mit der Erhöhung der Dosagemenge (Abb.6). Eine einmalige Zugabe von Hefezellwänden bringt vergleichbare Ergebnisse wie eine fraktionierte Arbeitsweise.

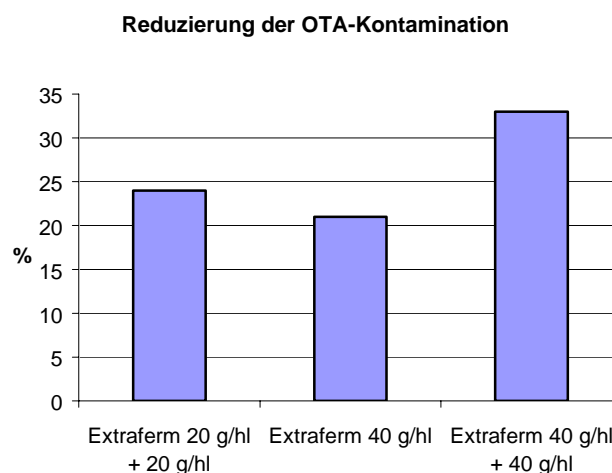


Abb.6: Wirkung von Extraferm® zur Reduzierung des OTA-Gehaltes eines Weißweins (300hl), ausgedrückt in % vom Ausgangsgehalt, Ergebnis von DSM

## 2.4 Zusammenfassung

Die Versuche in der Praxis bestätigen, dass Hefezellwände den OTA-Gehalt in Wein reduzieren können. Diese Behandlung ist im großen Maßstab denkbar einfach durchzuführen.

Die Behandlung mit Extraferm® stellt eine einfache und leicht zu handhabende Möglichkeit zur Reduzierung des OTA-Wertes im Wein dar. Bei hohen Ausgangswerten müssen zusätzliche Maßnahmen getroffen werden, um den gesetzlichen Grenzwert zu unterschreiten. Die klassischen oenologischen Analysemethoden zeigen keine nennenswerten Veränderungen der Farbe oder Zusammensetzung an.

Methode	Dosage (g/hl)	Auswirkung der Behandlung: % maximale Adsorption von OTA	Kosten €/hl Durchschnittliche Dosage	Unerwünschte Effekte
Extraferm	40 - 80	60%	1,2	keine
Tannine + Gelatine	30 – 40 + 2 - 3 cl/hl	30%	1,5	Verfärbungen, Holz- und Röstnoten
Aktivkohle	20 - 40	50%	0,3	Aroma- und Farbverluste (bis zu 25%)
Zellulose + Bentonit	20 – 30 + 10 - 20	15%	0,1	Aromaverluste, Schwermetalbelastung

Tabelle 3: Vergleich der Kosten und der Effizienz verschiedener Behandlungsmittel zur Reduzierung des OTA-Gehaltes.

## Zusammenfassung

Die Versuchsreihen und Analysen haben deutlich gezeigt, dass Hefezellwände in der Lage sind, halogenierte Anisole und Ochratoxin A zu adsorbieren.

In Tabelle 4 sind in abnehmender Reihenfolge die untersuchten Stoffe aufgeführt, die von Extraferm adsorbiert werden können.

Reduzierung der Kontamination (%)	TBA	PCA	TeCA	TCA	OTA
Im Labor	-	-72,5 %	- 55,2 %	- 26,6 %	- 23,6 %
Im Keller	-78 %	-68 %	-23 %	-	- 33 %

Tabelle 4: Ergebnisse zur Reduzierung von halogenierten Anisolen und Ochratoxin A, 400mg/Ltr. für TBA, TeCA, PCA und TCA und 800mg/Ltr. für OTA

Bei den chlorierten Anisolen ist der Wirkungsgrad der Behandlung umso besser, je höher die Anzahl der Chloratome in den Molekülen ist. Je mehr Chloratome an das Anisol gebunden sind, desto mehr nimmt die Polarität des Moleküls ab. Es scheint, als ob der Mechanismus der Adsorption dieser Stoffe - zumindest zum Teil - hydrophobisch ist. Diese wird durch den geringeren Wirkungsgrad gegenüber OTA noch verstärkt, da dieses Molekül wesentlich polarer ist als die chlorierten und bromierten Anisole. Die Versuche im Großgebäude, bei denen sich das Vermischen der Hefezellwände mit dem Wein wesentlich schwieriger gestaltet als im Labormaßstab, zeigten die Praxistauglichkeit von Extraferm®.

Abhängig von der Höhe der Kontamination und der eingesetzten Menge an Extraferm®, ist es möglich die Kontamination so weit zu vermindern, dass der Wein verkehrsfähig wird.

Eine einmalige Gabe von 400mg/Ltr. Extraferm® erscheint sinnvoll, um halogensierte Anisole zu reduzieren. Bei OTA dagegen scheint jedoch eine einmalige Gabe von 800mg/Ltr. Anzeigt zu sein, wobei die gesetzlich zugelassene Höchstmenge jedoch nur bei 400mg/Ltr. liegt.

In der Literatur wird beschrieben, dass der OTA-Gehalt wieder ansteigen kann, wenn der Wein über mehrere Wochen mit den Hefen in Kontakt ist (6). Aus diesem Grund ist es ratsam, um eine Rekontamination zu vermeiden, den Wein nach der Behandlung so schnell wie möglich abzustechen.

Alle Resultate dieser Untersuchung zeigen deutlich, dass die Behandlung mit Extraferm® keine negativen Einflüsse, weder auf die Farbe, noch auf die chemische Zusammensetzung der Weine hat. Darüber hinaus bringt es keinen negativen Geruch oder Geschmack in den Wein.

Diese Studie wurde auf eine große Anzahl von Weinen ausgedehnt: Rotwein, Weißwein und Weine mit natürlicher Restsüße aus zwei Jahrgängen. Die Anzahl der Wiederholungen gestattet eine statistische Validierung. Darüber hinaus konnten alle Ergebnisse aus dem Labor in der Praxis bestätigt werden.

Der „HALO“- Herstellungsprozess von DSM für Extraferm® konnte in dieser Studie seine Leistungsfähigkeit bestätigen.

Die gesteigerte Adsorptionsfähigkeit, die einen Gärungsneustart unterstützt, kann auch für die Reduzierung von Ochratoxin A, also für die „Entgiftung“ von Weinen genutzt werden. Dieser Eigenschaft ist es auch zu verdanken, dass Muff- und Korktöne aus dem Wein entfernt werden können. Die Ergebnisse dieser Studie sind also sehr ermutigend.

## Literaturverweis

(1) FERNANDEZ O., BAJARD-SPARROW C., PELLERIN P., LANKHORST P., 2005. Arrêts de fermentation, une solution efficace. *Revue des Oenologues*, 116.

(3) BONNET M.-L., VUCHOT P., RIOU C., VIDAL S., 2005. Impact des alcalins chlorés sur la teneur en 2,4,6-trichlorophénol des vins. *Revue des Oenologues*, 116.

(4) MICHEL G., 2003. Les goûts de bouchon, mise au point. *Revue Française d'œnologie*, 202, 20-22.

(5) BEJAOUI H., MATHIEU F., TAILLANDIER P., LEBRIHI A., 2004. OTA removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 1038-1044.

(6) BLATEYRON L., GRANES D., JULIEN-ORTIZ A., 2005. Impact d'ajouts contrôlés de biomasse levurienne sur la teneur en ochratoxine A. *Revue Française d'œnologie*, 215, 54-56.

(7) VARGA J., KOZAKIEWICZ Z., 2006. OTA in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 72-81.

- (8) MIRABEL M., BEAUREGARD D., RIQUIER L., BERTRAND A., 2006. Traitement des vins moisis, bouchonnés: le point sur la question. Revue des Œnologues, 119, 31-33.
- (9) BLATEYRON L., MICHEL G., DELTEIL D., 2001. Maîtrise des contaminants dans les vins: cas de l'OTA. 26ème Congrès mondial de la vigne et du vin, OIV, Adélaïde.
- (10) DUMEAU F., TRIONE D., 2000. Influence de différents traitements sur la concentration en ochratoxine A des vins rouges. Revue des Œnologues 95, 37-38.
- (11) CHATONNET P., BONNET S., BOUTOU S., LABADIE M.-D., 2004. Identification and responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine. J. Agric. Food Chem., 52 (5), 1255-1262.