

Oenologische Enzyme

Produktion, Funktion und der Einfluss der Enzyme auf die Weinbereitung

Céline BAJARD SPARROW, Céline FAUVEAU, Catherin GRASSIN,
Patrice PELLERIN, DSM Food Specialties
Übersetzung : Dipl.-Ing. (FH) Peter Früh, Max F. Keller GmbH

Das erste industriell hergestellte Enzym (eine Amylase) wurde von der Firma Rapidase 1922 in Seclin in Nordfrankreich hergestellt. Dieses Unternehmen gehört heute zu DSM Food Specialties, dem niederländischen Weltmarktführer für Enzympräparate und Trockenreinzuchthefer für die Getränkeindustrie.

In diesem Artikel wird sowohl die Herstellung als auch die Anwendung oenologischer Enzyme beschrieben.



Abb. 1: Produktionsstätte für DSM-Enzyme in Seclin/Nordfrankreich

1.1 Selektive Produktionsmethoden führen zum gewünschten Enzym:

Für die Produktion von oenologischen Enzymen kultiviert DSM Food Specialties speziell selektionierte Mikroorganismen (*Aspergillus niger* oder *Trichoderma*) unter aeroben Bedingungen. Die spezifische Zusammensetzung des pflanzlichen Nährsubstrats bestimmt das Ergebnis des Produktionsprozesses sowie die angestrebte enzymatische Aktivität des Endproduktes. Wenn zum Beispiel ein sehr pektinhaltiges Substrat gewählt wird scheiden die Mikroorganismen als Enzyme Pektinasen aus. Diese so gewonnenen Enzyme werden durch Zentrifugieren und Ultrafiltration vom Substrat getrennt und aufkonzentriert. Nach diesem Schritt sind alle Mikroorganismen eliminiert und man erhält ein hochreines Produkt mit einer bestimmten Hauptaktivität und einer Reihe von Nebenaktivitäten. Die optimale Ausrichtung und Kombination dieser Aktivitäten auf die speziellen Anforderungen des Weinbaus sind dabei von entscheidender Bedeutung.

Anschließend wird das Endprodukt das entweder als Flüssigprodukt oder als Mikrogranulat vorliegen kann, konfektioniert.

DSM ist zertifiziert nach ISO 9002 und produziert gemäß den Hygienerichtlinien des HACCP-Konzeptes sowie GMO-frei. Dadurch wird sichergestellt, dass das gewonnene Produkt mit den geforderten Spezifikationen übereinstimmt.

Enzymatische, chemische, mikrobiologische Analysenzertifikate sowie eine Konformitätserklärung entsprechend gültigem Recht vervollständigen die Produktdokumentation für jedes ausgelieferte Produkt.

1.2. Struktur und Zusammensetzung der Traubenbeeren

Enzyme spielen eine wichtige Rolle bei der Aufspaltung des Fruchtfleisches der Trauben sowie der Beerenhaut. Die Zusammensetzung der Beeren ist zwar stark abhängig von der Rebsorte, der Lage und den klimatischen Verhältnissen, die Struktur von pflanzlichen Zellwänden variiert jedoch nur leicht.

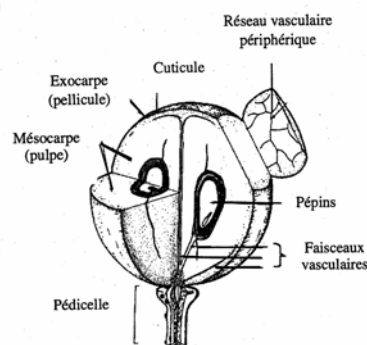


Abb.2: Zusammensetzung der Traubenbeere

Beim Weinausbau spielt die Beerenhaut die entscheidende Rolle. Sie macht je nach Rebsorte zwischen 6 und 9% der Beerenmasse aus. In ihr befinden sich Anthocyane, Tannine und Aromavorstufen. Die dicken Zellwände aus Pectocellulose sichern zwar die Festigkeit der Traubenbeeren, verhindern aber die Diffusion der Zellinhaltsstoffe in den Most während des Weinausbaus.

Das Fruchtfleisch macht in einer reifen Beere ca. 75 bis 85% von der Gesamtmasse aus. Es setzt sich aus großen Zellen mit sehr feinen Zellwänden zusammen, die durch die mechanische Traubenverarbeitung aufgebrochen werden. Diese Zellen sind die Quelle für Polysaccharide wie Pektin im Most. Die Vakuolen der Fruchtfleischzellen enthalten eine konzentrierte Lösung aus organischen Säuren und vergärbarem Zucker (Glukose und Fructose zwischen 150 und 300g/l). Das Pektin befindet sich in der Zellwand und in der Mittellamelle der Fruchtfleisch- und Beerenhautzellen. Die Zellwände selbst besitzen eine sehr komplexe Struktur. Sie bestehen aus Zellulose-Mikrofasern, die untereinander durch eine Matrix aus Xyloglucanen, Mannanen, Xylanen (allgemein als Hemicellulose bezeichnet) und Pektinen verbunden sind. Dies alles wird stabilisiert durch ein Netz aus sekundären Eiweißen. Galaktose und Arabinose lagern sich seitlich an die Pektinstruktur an und formen mit Eiweißen Makromoleküle, die die Vorklärung der Moste massiv behindern.

Während der Beerenreife können traubeneigene Pektinasen hochpolymerisierte Pektine langsam in niedermolekulares Pektin spalten und diese dadurch löslich machen. Diese partielle Hydrolyse trägt zum „Weichwerden“ der Beeren bei. Diese löslichen Pektine, deren Gehalt von Rebsorte zu Rebsorte variiert (Abb. 3), gelangen beim Pressen in den Most, wirken viskositätserhöhend und behindern eine effektive Ausnutzung der Presskapazitäten

Rebsorte	Pectine			
	Beerenhaut	Fruchtfleisch	Most	Ges. g/kg Trauben
	%			
Carignan	64	19	17	1,86
Grenache	66	25	9	2,01
Syrah	65	25	10	2,19
Alicante	68	20	12	2,61

Abb. 3: Gehalt an Pektinen und neutralen Polysacchariden in verschiedenen Rebsorten

1.3. Pektin, ein komplexes Molekül

Pektin ist eines der kompliziertesten Makromoleküle in der Natur. Es besteht im wesentlichen aus 3 Hauptkomponenten.

- a.) **Homogalakturonane (HG)** sind nichtverzweigte Moleküle, die sich aus einer Kette von Galakturonsäuren zusammensetzt. Die Enden der Moleküle können mit Methanol verestert sein. Aus ihnen besteht die sog. „glatte Region“ der Pektine.
- b.) **Rhamnogalakturonan I (RG-I)**. Die aus Rhamnose und Galakturonsäure bestehende Hauptkette trägt seitlich Arabane und Arabinogalaktane. Diese Region wird „haarige“ Region genannt.
- c.) **Rhamnogalakturonan II (RG-II)** besitzt eine sehr komplexe Struktur und kann von Enzymen nicht gespalten werden.

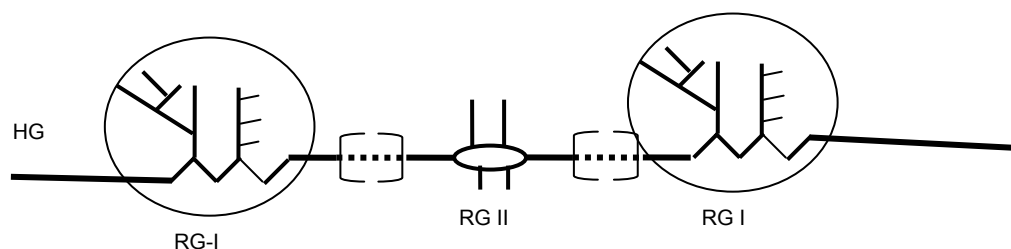


Abb. 4: Schematische Darstellung der Pektinstruktur

Es gibt die verschiedensten Hypothesen über den Zeitpunkt an dem sich diese drei Bestandteile in der Zellwand organisieren. Sicher ist aber, dass sie untereinander covalent verbunden sind und so das Pektin formen (Abb. 4). Die kreuzweise verbundenen verschiedenen Pektinketten (Ionenbindungen, elektrostatische Bindungen und Wasserstoffbrückenbindungen) bestimmen dabei die Porösität der Zellwand.

Durch die hohe Viskosität der von der Traubenmühle gelösten Pektine wird einerseits die Vorklärung und die Filtration des Saftes stark behindert, andererseits aber wird auch die Extraktion von wertgebenden phenolischen Verbindungen und Aromen vor und während der Gärung stark eingeschränkt.

1.4. Zugelassene Enzymaktivitäten für die Weinbereitung

Die für den Weinausbau zugelassenen Enzyme sind von der europäischen Union im Artikel EU1493/1999 festgelegt. In den Resolutionen 11 bis 18/2004 werden die wichtigsten Enzyme für die Weinbereitung vom OIV beschrieben: Pektinlyase, Pektinmethylesterase, Polygalakturonase, Glucosidase, Hemicellulase und β -Glukanase. In diesem Artikel konzentrieren wir uns ausschließlich auf die Enzyme, die eine besondere Wirkung auf die Zusammensetzung der Traubenbeere haben. Die am häufigsten verwendeten oenologischen Enzyme gehören zur Gruppe der Pektinasen. Diese sind Pektinlyasen (PL), Pektinmethylesterasen (PME) und Polygalakturonasen (PG). Pektinlyasen (PL) schneiden die Pektinketten zwischen zwei methylierten Galakturonsäuren. Polygalakturonase (PG) bevorzugt ein nicht methyliertes Substrat. Die Pektinmethylesterase (PME) depolymerisiert zwar nicht das Pektin unterstützt aber die PG.

Der Pektinabbau durch Pektinasen bietet einige bedeutende technologische Vorteile. So wird die Vorklärung und die Pressung beschleunigt und die Ausbeute erhöht, was zu einer Verbesserung der Mostqualität beiträgt.

2. Anwendung und Vorteil von oenologischen Enzymen

Im Folgendem wird nun an je einem Praxisbeispiel die Bedeutung des Enzymeinsatzes bei der Weinbereitung vorgestellt:

- Pressergebnisses und Freilaufsaft
- Verbesserung der Vorklärung
- Extraktion und Stabilisierung der Farbstoffe
- Freisetzung der Aromavorstufen

2.1 Pressergebnisses und „Freilaufsaft“

Durch die Schwächung der Zellwände des Fruchtfleisches und die Hydrolysierung der Pektine erhöhen Weißwein-Mazerationsenzyme den Anteil des Freilaufsaftes und die Ausbeute der Kelter. Bei gleicher Ausbeute kann die Presszeit verkürzt und der Pressdruck gesenkt werden. Dies führt zu einer qualitativen Verbesserung der Pressgutes und zu einer schnelleren Vorklärung.

Für diese Anwendung werden Pektinasen (PG, PL, PME) sowie gewisse Nebenaktivitäten zur Hydrolysierung der „haarigen Region“ des Pektins benötigt.

Versuch mit Rapidase® X-Press

Gesamtmenge: 35 000 hl
Versuchsmenge: 10 to pro Variante
Rebsorte: Sauvignon blanc (gesundes Lesegut)

Die Privatkellerei in Aude (Frankreich) verwendet für den Ausbau von Sauvignon blanc ein pektolytisches Enzym auf der Maische mit anschließender Pressung (ohne Standzeit). Es wurde die Effizienz von Rapidase®X-Press im Vergleich zum Referenzenzym der Kellerei getestet. Beim Referenzenzym wurden 132kg Maische für einen hl Most gebraucht (76% Ausbeute), bei Rapidase®X-Press dagegen nur 124kg (80,5% Ausbeute). Diese Steigerung wurde hauptsächlich durch die Pressfraktion erreicht (+15%).

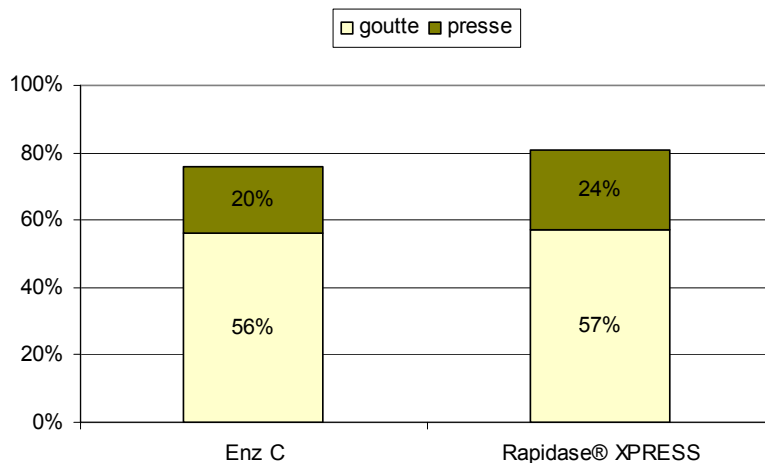


Abb.5: Privatkellerei, Aude – Aufteilung des Pressergebnisses in Feilauflaufsaft und Pressfraktion (Enzymanwendung auf die Maische: 1g/hl)

2.2 Verbesserung der Vorklärung

Die Vorklärung ist das Ergebnis verschiedener Prozesse:

- Herabsetzung der Viskosität durch Hydrolyse des Pektins durch verschiedene Enzymaktivitäten (PG, PL, PME)
- Elektrostatische Destabilisierung des Trubs während der Sedimentation. Eine partielle Demethylierung durch PME gibt dem Pektin eine elektrostatisch negative Ladung. Dadurch kann Pektin mit positiv geladenen Bestandteilen wie Eiweißen und Phenolen reagieren und die Sedimentation beschleunigen.

Es ist sehr wichtig, dass das für die Vorklärung verwendete Enzym einen ausreichend großen Gehalt an PG/PL besitzt um die löslichen Pektine zu hydrolysieren.



Versuch mit Rapidase® CB

Ort: Versuchskellerei Aude
Versuchsmenge: 10 to pro Variante
Rebsorte: Muscat (gesundes Lesegut)

Bei einer Anwendung von 1g/hl Rapidase® CB konnte nach einer 24stündigen Kontaktzeit ein Vorklärgrad von 7NTU erreicht werden. Die Nullvariante zeigte einen Vorklärgrad von 208NTU (s. Abb. 6).

Es ist bekannt, dass die Sedimentation von sehr konzentrierten Mosten, wie die von Muscat, länger dauert. Dies hängt hauptsächlich mit der höheren Viskosität durch eine höhere Zuckerkonzentration zusammen.

Abb. 6: Vorklärung von 2005er Muscat
Nullvariante / Rapidase® CB

2.3 Extraktion und Stabilisierung der Farbe

Wie oben schon beschrieben stellt die Beerenhaut der Trauben eine physikalische Barriere für die Diffusion von Anthocyanen, Tanninen und Aromastoffen in den Most dar.

Um den Zellinhalt der Beerenhaut frei zu setzen, müssen die neutralen und saueren Polysaccharide der Zellwand und der Mittelalmellen der Zellen hydrolysiert werden. Die typischen Rotweinbestandteile werden bei der Rotweinbereitung während der Gärung durch thermische, alkoholische und mechanische (z.B. Überswallen, Tauchen, Délestage) Extraktion bestimmt. Bestimmte physikalische Verfahren, wie zum Beispiel die Kurzzeithocherhitzung oder flash-détente, erlauben eine Steigerung der Extraktionseffektes.

Kommerzielle Rotweinextraktionsenzyme unterstützen dabei diese physikalischen Methoden. Um die Zellwände zu schwächen und um die Diffusion des Vakuoleninhaltes zu erleichtern, sollten diese Enzyme folgende Aktivitäten besitzen: Hemicellulase und Pektinase.

Neueste Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass die Diffusion der Tannine sehr selektive vonstatten geht. Durch die oben beschriebenen Enzymaktivitäten werden nur Tannine aus den Vakuolen und die in der Zellwand enthaltenen Tannine freigesetzt. Dies beeinflusst die Struktur der Weine dahin gehend, dass diese Tannine im Allgemeinen stabiler und weicher sind.

Versuch mit Rapidase® ExColor

Die in Abbildung 7-8 gezeigten Ergebnisse stammen aus einem Enzym-Vergleichsversuch der Universität von Talca (Chile) auf Cabernet Sauvignon: 3g/hl Enzym, 15 Tage Maischegärung bei 21°C.

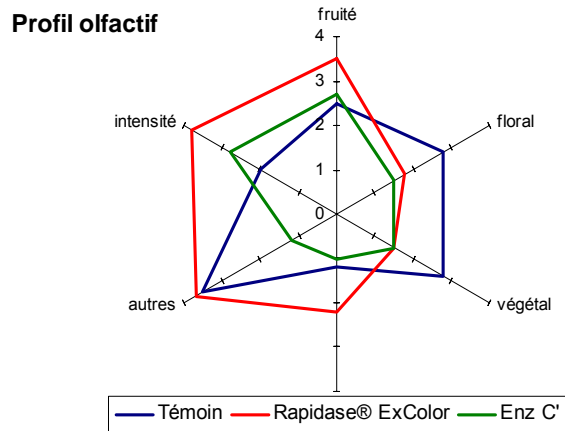


Abb. 7: Geruchsprofil bei Cabernet Sauvignon – Chile

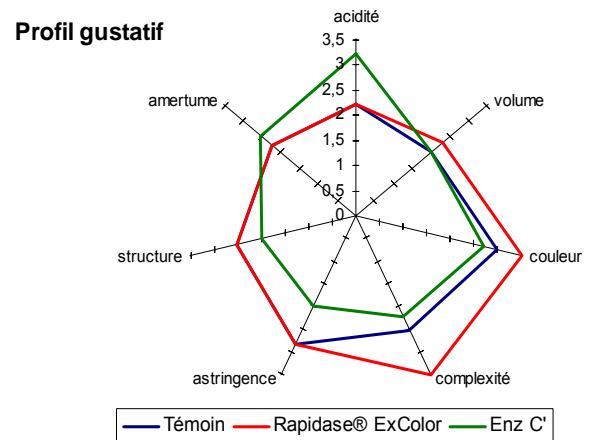


Abb. 8: Geschmacksprofil von Cabernet Sauvignon

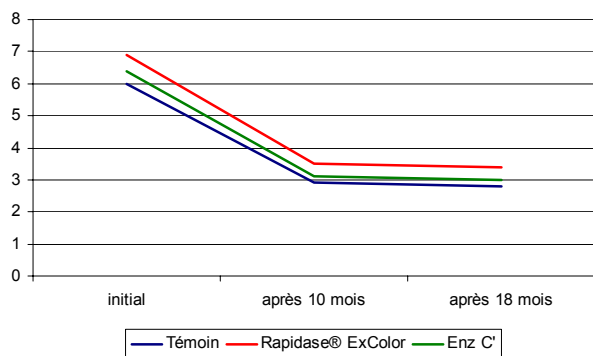


Abb. 9: Die Entwicklung der Farbintensität bei Syrah während 18 Monaten. Vergleich mit Rapidase® ExColor 3g/hl und einer Variante ohne Enzym – Frankreich

2.4 Freisetzung von Aromavorstufen

Die geruchsneutralen Aromavorstufen liegen in gebundener Form in der Beerenhaut vor. Ihre Zusammensetzung und ihr Gehalt hängt stark von der jeweiligen Rebsorte ab. Die Terpene sind die wichtigsten Bestandteilen des Weißweinaromas speziell von Bukettsorten. Die am häufigsten vorkommenden Aromavorstufen bei Rebsorten wie Muscat und Riesling sind glukosidisch gebundenes Linalol, Nerol und Geraniol, deren Zuckerrest aus Rutinosid (Rhamnose - Glukose), Arabinosid (Arabinose - Glukose) oder Apiosid (Apiose - Glukose) besteht. Eine sequentielle Hydrolyse dieser Zucker erlaubt die Freisetzung der sehr aromatischen Terpene. Zuerst werden die „Endzucker“ durch eine Rhamnosidase, eine Arabinosidase oder eine Apiosidase abgespalten. In einem zweiten Schritt werden die Terpene durch eine β -Glukosidase freigesetzt (Abb. 10). Man kann also nicht die Enzymaktivität auf die β -Glukosidase reduzieren, da diese nur Terpene freisetzen kann die ausschließlich an eine Glukose gebunden sind.

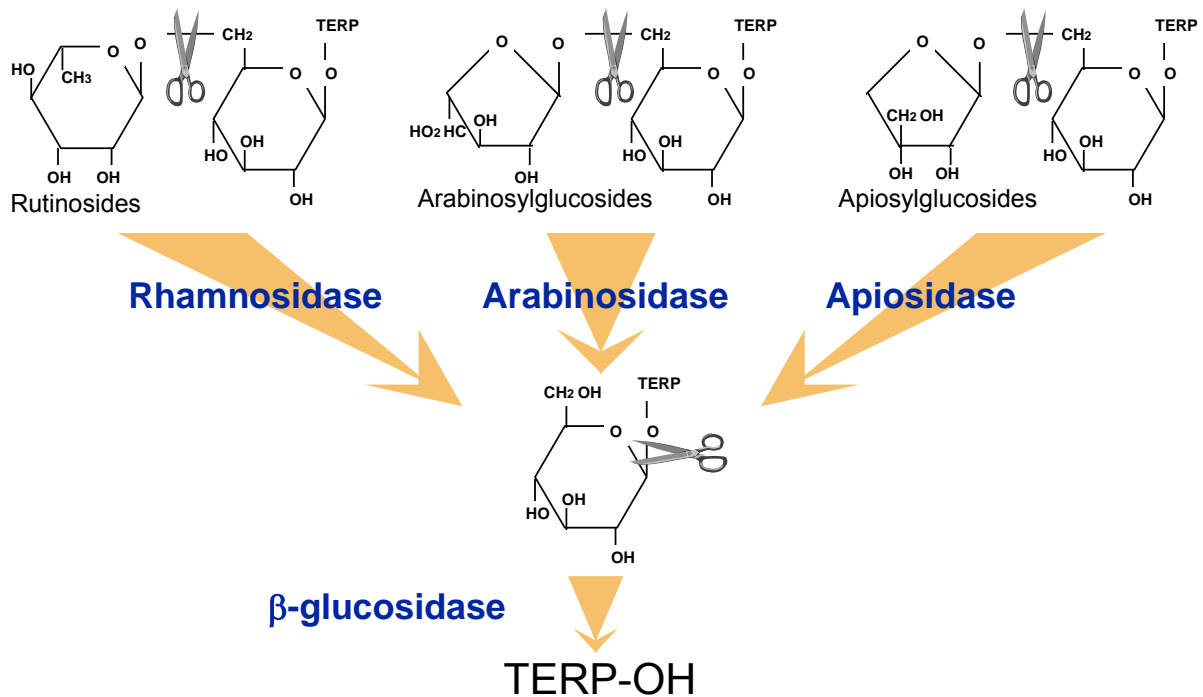


Abb. 10: Sequentielle Hydrolyse der Glucoside

Diese Enzyme können also glukosidisch gebundene Aromavorstufen freisetzen. Dies gilt nicht nur für Terpene sondern auch für gewisse Ester und C13-Norisoprenoide.

Versuch mit dem Aromaenzym AR 2000

AR 2000 ist ein pektolytisches Enzym, das von einem *Aspergillus niger* Stamm produziert wird. Dieser Stamm bringt auf natürliche Weise folgende Nebenaktivitäten: β -Glucosidase, Arabinosidase, Rhamnosidase und Apiosidase. Diese Aktivitäten sind in einem, für die Aromafreisetzung, optimalen Verhältnis vorhanden. Das von DSM hergestellte AR 2000 ist das einzige am Markt erhältliche Aromaenzym, das diese vier Aktivitäten in einer effizienten Konzentration anbietet.

Einem Riesling wurden 3g/hl AR 2000 zugesetzt. Die Abb. 11 zeigt den Gehalt an Aromakomponenten in diesem Wein im Vergleich zur Nullvariante ohne Enzym.

Inhaltsstoffe in mg/L	Riesling 0-Variante	Riesling mit AR2000
Terpene	0,31	0,63
Ester	0,12	0,15
Norisoprenoides	0,05	0,16
Gesamtgehalt an flüchtigen Aromen	104,3	116,5

Abb. 11: Effekt von AR 2000 auf die Freisetzung von Aromakomponenten

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Verwendung oenologischer Pektinasen eine Vielzahl von Vorteilen für den Weinerzeuger bringt: Beschleunigung der Vorklärung, Steigerung der Pressausbeute, Verbesserung der Diffusion phenolischer Komponenten und Aromavorstufen, Verbesserung der Farbstabilität, Verbesserung der Weinstruktur, Erhöhung des Gehaltes an Aromastoffen und die Verbesserung der Filtrierbarkeit.

DSM Enzyme sind unter oenologischen Bedingungen (pH-Wert, SO₂, Alkohol) besonders effizient. Sie haben keinen Einfluss auf den pH-Wert oder die Gesamtsäure. Sie besitzen vernachlässigbar geringe unerwünschte Nebenaktivitäten, wie Cinnamylesterase oder Anthocyanase, sodass diese Enzyme keinerlei negative geschmackliche Effekte auf den behandelten Wein haben.