

## Zeitnahe Identifizierung von biogene Amine und Fehlparomen bildenden Bakterien während der Weinbereitung und Prävention ihrer Vermehrung

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum DLR - Rheinpfalz, Neustadt Abt. Weinbau und Önologie Dr. H.-P. Lorenz/Prof. Dr. U. Fischer
<b>Forschungsstelle II:</b>	Universität Mainz Institut für Mikrobiologie und Weinforschung Prof. Dr. H. König
<b>Industriegruppe:</b>	Deutscher Weinbauverband e.V., Bonn
	Projektkoordinator: Dr. K. Rückrich Deutscher Weinbauverband e.V., Bonn
<b>Laufzeit:</b>	2008 – 2010
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 422.500,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Veränderte Verbrauchergewohnheiten führten in den letzten zwei Dekaden zur Verdoppelung des Rotweinanbaus in Deutschland. Mit einer generellen Reifeverfrühung konnten auch besser ausgereifte Trauben geerntet werden. Mit der Traubenreife schreitet der Abbau der Äpfelsäure fort und die pH-Werte steigen an. Gleiches gilt für den mit einer verlängerten Maischestandzeit einhergehenden Weinsteinausfall sowie für den in allen Rotweinen durchgeführten biologischen Säureabbau. Generell begünstigen hohe pH-Werte die Vermehrung von Bakterien, da die mikrobiozide Wirkung der SO<sub>2</sub> exponentiell abnimmt. Während früher die Schwelle von pH 3,4, ab der die Vermehrung der Schadbakterien *Lactobacillus* und *Pediococcus* erst möglich ist, nur selten erreicht wurde, gibt es heute kaum noch Rotweine mit niedrigeren pH-Werten und auch Weißweine liegen häufiger darüber. Diese Schadbakterien sind die Hauptproduzenten der biogenen Amine, sie bilden aber auch flüchtige Säure, medizinisch-schweißig riechende flüchtige Phenole, nach Mäuseurin riechende Pyridin/Pyrrrolin-Derivate und die Viskosität erhöhende Polysaccharide. Weinproduzenten aus heißen Klimazonen in der EU und aus allen außereuropäischen Erzeugerländern können mittels Weinsäure die pH-Werte absenken und einen si-

cheren Schutz gegen Schadbakterien erzielen. Den Produzenten aus den Klimazonen A und B in der EU, und damit der gesamten deutschen Weinwirtschaft, ist dieser Zusatz nicht gestattet. Es bedarf für diese also sowohl präventiver als auch kurativer Maßnahmen, um die Bildung bzw. die sensorische Ausprägung biogener Amine und bakterieller Fehlparome zu vermeiden.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Entwicklung und Etablierung von Methoden, um Grenzwerte für biogene Amine sicher zu unterschreiten, das mit steigenden pH-Werten anwachsende Potenzial der von Schadbakterien verursachten Fehlparomen zu reduzieren und die Entfernung von biogenen Amine zu optimieren.

### Forschungsergebnis:

Die im Rahmen des Projekts erarbeiteten Ergebnisse eröffnen der Weinwirtschaft die Möglichkeit, ihre Vinifikationsprozesse zu optimieren und somit fehlerfreie Weine zu erzeugen, deren Gehalt an biogenen Aminen minimiert ist.

Im Rahmen der Isolierung von Milchsäurebakterien wurde gezeigt, dass ca. 53 % dieser Bakterien in der Lage waren, mindestens ein biogenes Amin zu bilden. Um biogene Amine bildende

Milchsäurebakterien zeitnah und simultan in Most und Wein zu identifizieren, wurde ein Multiplex-PCR-System entwickelt. Dies kann zum schnellen Nachweis von *Pediococcus*, *Lactobacillen* und *Oenococcus oeni* herangezogen werden. Um eine Quantifizierung biogener Aminbildner im Most und Wein zu ermöglichen, stehen spezifische FISH-Sonden für *O. oeni*, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici*, *P. damnosus*, *P. parvulus* und *P. inopinatus* zur Verfügung. Zudem konnten neue lytische Enzyme gereinigt werden, die als Alternative zu Lysozym weiterentwickelt werden, da sie sowohl ein größeres Wirkungsspektrum, als auch einen höheren Wirkungsgrad aufweisen.

Forschungsstelle I gelang es, bei einer umfassenden Untersuchung über zwei Jahrgänge zahlreiche Ursachen für die Bildung biogener Amine und bakterieller Fehlgerüche aufzuklären und daraus präventive und kurative Maßnahmen abzuleiten. So erwiesen sich hohe pH-Werte als förderlich für die Bildung biogener Amine. Auffällig war die Tatsache, dass bei mittleren pH-Werten von 3,4 die Bildung der medizinisch riechenden flüchtigen Phenole oder das Mäuseln häufiger zu beobachten war.

Für die Weinwirtschaft ergeben sich aus den erarbeiteten Ergebnissen konkrete Strategien, wie z.B. der Einsatz von Starterkulturen mit zeitnaher Schwefelung, der Flashpasteurisierung oder der kurativen Entfernung biogener Amine mittels Bentonit oder Hefezellwänden. Die Hitzeeinwirkung durch die Maischeerhitzung oder durch die Flashpasteurisierung wirkte so präventiv, dass die Bildung biogener Amine fast ausgeschlossen werden konnte. Das Lysozym wirkte nur mit einer zeitnahen Schwefelung der Bildung von biogenen Aminen entgegen. Dieses Ergebnis unterstreicht die Notwendigkeit der an Forschungsstelle II isolierten Enzyme. Die präventiven Verfahren wurden in ihrer sensorischen Auswirkung auf die Weinqualität überprüft und zeigten sich als geeignete Strategien, um während der Weinbereitung die mikrobiologische Prozesssicherheit zu erhöhen.

Bei der direkten Abreicherung bereits gebildeter biogener Amine erwies sich das Natriumbentonit als das leistungsfähigste Mittel, insbesondere die hohe Abreicherung des physiologisch bedeutsamsten biogenen Amins, des Histamins, ist hervorzuheben. Eine Hefeschönung mit sauberer Hefe und der Einsatz eines Hefeaautolysats erwiesen sich ebenfalls als hilfreich bei der Abreicherung von biogenen Aminen.

Die sensorische Beurteilung der Versuchsweine zeigte tendenziell eine mit steigenden Gehalten einhergehende Maskierung von fruchtigen und frischen Noten. Bei den Rotweinen lag eine bisher noch unbekannte Förderung der Adstringenz, der grünen Tannine und des Bitteren durch die biogenen Amine Phenylethylamin und Histamin vor.

Als zusätzliches Ergebnis konnten an Forschungsstelle I erste vielversprechende Zusammenhänge und Faktoren beschrieben werden, die die weltweit auftretenden Gärprobleme bei der Rebsorte Chardonnay erklären und somit zur Optimierung der alkoholischen Vergärung dieser Rebsorte beitragen.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die von Forschungsstelle II entwickelten neuen molekularbiologischen Nachweismethoden für biogene Amine und andere Fehlgerüche bildende Milchsäurebakterien sind Verfahren, mit denen frühzeitig das Gefahrenpotential für die Bildung unerwünschter bakterieller Stoffwechselprodukte erkannt werden kann. Diese Verfahren ermöglichen es sowohl den beratenden Weinlaboratorien als auch den Dienstleistungszentren, ihre analytische Kompetenz im Bereich der mikrobiologischen Qualitätskontrolle weiterzuentwickeln.

Die entwickelten molekularbiologischen Verfahren haben inzwischen auch Eingang in die Ausbildung gefunden, so z.B. im Rahmen des dualen Studienganges Weinbau und Oenologie im DLR Rheinpfalz in Neustadt.

Die umfangreiche sensorische Bewertung der Versuchs- und Praxisweine gibt einen breiten Überblick, welcher Prozessschritt welche Auswirkungen auf das Endprodukt hat. Somit ist es weinproduzierenden Unternehmen möglich, anhand des gewünschten Zielprofils die geeigneten Maßnahmen zu ergreifen. Für jeden angestrebten Weinstil steht eine Auswahl präventiver und kurativer Strategien zur Verfügung. Im Falle einer Zulassung von Natriumbentonit und des Enzympräparats würde sich das Spektrum der Möglichkeiten weiter erweitern.

Die Eignung der thermischen Verfahren zur Steigerung der biologischen Sicherheit während der Weinbereitung kann insbesondere kleinen und mittelständischen Unternehmen der Branche helfen, qualitätserhaltend und damit wettbewerbsfähig zu produzieren. Der richtige Einsatz dieser Techniken macht den technologischen Prozess deutlich besser kontrollierbar und das Endpro-



dukt damit beherrschbarer. Die richtige Balance zwischen präventiven und kurativen Strategien, die in diesem Projekt erarbeitet wurden, bietet den Unternehmen die Möglichkeit, zu jedem Zeitpunkt der Weinbereitung regulierend einzugreifen. In Verbindung mit den mikrobiologischen Identifizierungsmethoden kann dadurch die Produktsicherheit und -qualität verbessert werden.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.
2. Herr, P., Sommer, S. und Fischer, U.: Concentration of biogenic amines in lees – absorption by yeast cell walls or amplified bacterial activity? Act. Colloq. 9<sup>e</sup> Symp. Intern. Oenol. Bordeaux, 411-415 (2012).
3. Herr, P.: Biogene Amine. Dt. Weinbau 16 (17), 36-39 (2011).
4. Sebastian, P., Herr, P., Fischer, U. und König, H.: Molecular Identification of Lactic Acid Bacteria Occurring in Must and Wine. S. Afr. J. Enol. Vitic 32, 300-308 (2011).
5. Sommer, S., Herr, P., Wacker, M., Schmarr, H.-G. und Fischer, U.: Einfluss von Mostzusammensetzung und Gärstrategie auf die Bildung bakteriell induzierter Fehltonen in Wein. dwv-Dokumentation Int. IVIF-Kongr. 26.3.2010, Stuttgart (2010).
6. Herr, P.: Betonit im Wandel der Zeiten – Wie stark können biogene Amine entfernt werden? 63. Weinbautage 2010, 42-43 (2010).
7. Herr, P. und Sommer, S.: BSA simultan, spontan und Co. Das Deutsche Weinmagazin 16/17, 18-24 (2010).
8. Kaschak, E., Pfeiffer, P. und König, H.: Verbreitung biogener Amine in deutschen Weinen. Deutsches Weinbau-Jahrbuch 2010, 125-136 (2009).

9. Kaschak, E., Göhring, N., König, H. und Pfeiffer, P.: Biogene Amine in deutschen Weinen: Analyse und Bewertung nach Anwendung verschiedener HPLC-Verfahren. Dt. Lebensmittel Rundsch. 105, 375-385 (2009).
10. Blättel, V., Wirth, K., Claus, H., Schlott, B., Pfeiffer, P. und König, H.: A lytic enzyme cocktail from *Streptomyces* sp. B578 for the control of lactic and acetic acid bacteria in wine. Appl. Microbiol. Biotechnol. 83, 839-848 (2009).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum DLR - Rheinpfalz  
Abt. Weinbau und Önologie  
Breitenweg 71, 67435 Neustadt  
Tel.: 06321/671-294, Fax: 06321/671-222  
E-Mail: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Universität Mainz  
Institut für Mikrobiologie und Weinforschung  
Becherweg 15, 55128 Mainz  
Tel.: 06131/39-24634, Fax: 06131/39-22695  
E-Mail: hkoenig@uni-mainz.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

