

## UV-C-Behandlung von Most und Wein zur Inaktivierung von Mikroorganismen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz - Institut für Weinbau und Oenologie Prof. Dr. Ulrich Fischer/Prof. Dr. Maren Scharfenberger-Schmeer/ Prof. Dr. Dominik Durner  Max-Rubner-Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik (Karlsruhe) Dr. Ralf Greiner/Dr. Mario Stahl/PD Dr. Karlis Briviba
<b>Industriegruppe(n):</b>	Deutscher Weinbauverband e.V., Bonn  Projektkoordinator: Johannes Grobeis Weinkellerei Reh Kendermann GmbH, Bingen
<b>Laufzeit:</b>	2015 - 2018
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 429.810,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Die Haltbarmachung ist ein wichtiger Prozess in der lebensmittelverarbeitenden Industrie, damit der Transport, die Lagerung und damit auch die Warenverfügbarkeit ohne nennenswerte Veränderung der wertgebenden Inhaltsstoffe der Lebensmittel erfolgen kann. Die Haltbarmachung von Wein beruht primär auf der Membranfiltration (0,45 µm) und der chemischen Konservierung durch die Kombination der nativen Säuren und des Gäralkohols mit der schwefeligen Säure.

Der Klimawandel führt zu immer säureärmeren Mosten und Weinen und durch das Verbot oder die Einschränkung der Säuerung fehlt der deutschen Weinwirtschaft die Möglichkeit, den pH-Wert durch Zusatz von Wein-, Äpfel- oder Milchsäure abzusenken. Gleichzeitig schränken erhöhte pH-Werte die mikrobiozide Wirkung von SO<sub>2</sub> stark ein und verbessern gleichzeitig die Lebensbedingungen der Schadorganismen in Trauben, Most und Wein. Eine selektive Lese oder der

Einsatz automatisierter Sortieranlagen sind sehr arbeits- und kostenintensiv.

Die Vergärung von Most zu Wein durch Hefen und je nach Weinstilistik auch durch Milchsäurebakterien ist der wichtigste Prozessschritt bei der Weinbereitung, der in den allermeisten Fällen durch Starterkulturen initiiert wird. Die erwünschten Mikroorganismen können allein durch die natürliche Mikroflora des Lesegutes bereitgestellt oder in Form von Trockenpräparaten dem Gäransatz zugesetzt werden, wobei letzteres Vorgehen am weitesten verbreitet ist. In diesem Fall ist das Inhibieren der natürlichen Mikroflora bereits im Moststadium üblich. Dadurch kann die Bildung unerwünschter Metabolite, wie Acetaldehyd und Essigsäure, reduziert werden. Mittel der Wahl ist die Zugabe eines SO<sub>2</sub>-Präparates, dessen reduzierende Eigenschaft sowohl bereits gebildetes Acetaldehyd abbindet als auch die Mikroorganismen inhibiert und zudem dem Most einen Schutz gegenüber oxidativen Einflüssen bietet. Eine starke Infektion von Lesegut durch wilde

Hefen, Essigsäurebakterien oder Schimmelpilze beeinflusst die Most- und spätere Weinqualität negativ und führt im schlimmsten Fall zur Nichtverkehrsfähigkeit der Weine. Der theoretische SO<sub>2</sub>-Bedarf ist gerade dann enorm hoch. Allerdings wurden die Höchstgrenzen der zulässigen Gesamtschwefelgehalte in den letzten Jahren schrittweise reduziert, auch stoßen Sulfite in Lebensmitteln bei den Verbrauchern auf zunehmende Ablehnung. Zudem ist bei deutlicher Botrytis-Belastung die Aroma- und Farbstabilität des Weines gefährdet, da die Polyphenoloxidase-Laccase nicht durch SO<sub>2</sub> inaktivierbar ist.

Der in der Lebensmittelindustrie weit verbreitete Einsatz von Hitze bleibt aus apparativen Gründen Großbetrieben vorbehalten. Im Unterschied zur Mostpasteurisierung ist die Maischeerhitzung von roten Trauben ein gängiges Verfahren in Deutschland und zunehmend in Frankreich (Flash-Detente). Gleichwohl nimmt aber auch dieses Verfahren starken Einfluss auf die Sensorik der Weine, die zu einer fruchtigen und tanninarmen Stilistik neigen und primär für den Preiseinstiegsbereich geeignet sind.

Eine UV-C-Behandlung könnte eine Alternative zur Pasteurisierung und eine sinnvolle Ergänzung zu bisher gängigen Maßnahmen bei fäulnisbelastetem Lesegut sein und sensorische und energetische Vorteile bringen. Man kann davon ausgehen, dass die UV-C-Behandlung weiterer Lebensmittel zugelassen werden kann, wenn hinreichende Daten zur Effizienz einer Mikroorganismen-Inaktivierung und zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit vorliegen. Letztere ist eine zwingende Voraussetzung für die Zulassung der UV-C-Behandlung durch die Internationale Organisation für Rebe und Wein (OIV), welche wiederum Vorbedingung für eine Berücksichtigung in der EU-Weingesetzgebung ist. In der Literatur und in Vorversuchen der Forschungsstelle konnte gezeigt werden, dass eine starke Reduzierung der Mikroorganismen durch eine UV-C-Behandlung erreicht werden kann.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Erzeugung und Analyse aussagekräftiger und verlässlicher Daten einer UV-C-Behandlung von Most und Wein. Im Rahmen des Projektes sollte untersucht werden, ob die UV-C-Behandlung eine ausreichende Inaktivierung von Schadorganismen bei unveränderten

sensorischen Eigenschaften von Weinen erreichen kann bzw. geklärt werden, welchen Beitrag die UV-C-Technologie in einem Hürdenkonzept zusammen mit anderen keimreduzierenden Maßnahmen leisten kann. Um Hinweise zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit zu erhalten, sollten mögliche Veränderungen der Genotoxizität und Bioaktivität ausgewählter Mikroorganismen ermittelt werden. Zudem sollte untersucht werden, ob die ausgewählten Mikroorganismen im Laufe der UV-C-Behandlung UV-C-Resistenzen ausbilden können.

#### Forschungsergebnis:

Die Abtötungskinetiken most- und weinrelevanter Hefen und Bakterien wurden ermittelt und die Entkeimungseffizienz der UV-C-Technologie mit der Kurzzeiterhitzung verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass Bakterien je nach Gattung, Spezies und Keimgehalt um den Faktor 2 bis 5 sensibler auf eine UV-C-Behandlung reagieren als Hefen. Die Photosensibilität der sieben untersuchten Hefen sowie der sechs untersuchten Milch- und Essigsäurebakterien unterschied sich auch innerhalb der Bakteriengattungen deutlich. Grundsätzlich waren zur Aggregatbildung neigende Organismen photostabiler als vereinzelt vorliegende Organismen. Anhand von drei morphologisch unterschiedlichen *Brettanomyces*-Stämmen konnte demonstriert werden, dass stammspezifische Varianzen existieren. Im Vergleich zur Hitze wirkte die UV-C-Anwendung deutlich differenzierter in Mischkulturen, was auf den Wirkmechanismus des Verfahrens zurückzuführen ist.

Mittels Aktinometrie und Biodosimetrie wurde die Menge an wirksamer UV-C-Energie in Dünnschicht-, Quarzglaswendel- und Serpentinreaktoren quantifiziert. Auf Grundlage der Ergebnisse ist es möglich, die UV-C-Behandlung an verschiedenen Reaktoren unabhängig von Bauweise und -größe der UV-C-Reaktoren über die Angabe der wirksamen spezifischen Energie (kJ/L) zu vergleichen. Anders als bei der Kurzzeiterhitzung ist die Effizienz der UV-C-Behandlung deutlich stärker von Most- und Weinparametern, wie der Trübung und der optischen Dichte, abhängig. Es konnte gezeigt werden, dass mit steigender optischer Dichte und einer höheren Trübung die Effizienz der UV-C-Behandlung v.a. in

Dünnschichtreaktoren stark abnimmt und Wendel- bzw. Trubulenzströmungsreaktoren unumgänglich werden. Ein gleicher Zusammenhang besteht für steigende Keimzahlen in Most und Wein.

Die Untersuchung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit wurde anhand verschiedener In-vitro-Verfahren durchgeführt (Mikrokerntest, Comet-Assay und AMES-Test gemäß OECD-Richtlinien) (EFSA Scientific Committee, 2011, 2017; OECD, 1997, 2014, 2016). Des Weiteren wurde die Zytotoxizität (in vitro) in Caco-2-Zellen, einer humanen Darmepithelzelllinie, bestimmt. Es liegen keine Hinweise auf eine gesundheitliche Bedenklichkeit vor. Zudem wurde untersucht, ob durch UV-C-Behandlung Resistenzen auftreten können. Hierzu wurde *Saccharomyces cerevisiae* wiederholten UV-C-Behandlungen unterzogen. Es konnte gezeigt werden, dass keine Resistenzen durch UV-C-Behandlung entstehen.

Nach der UV-C-Behandlung von Traubenmost und gärendem Wein können UV-induzierte Farbveränderungen auftreten, die von der eingesetzten Dosis und vom behandelten Produkt abhängig sind. Die UV-C-Behandlung von klarem, pasteurisiertem Traubenmost führte zu einer Aufhellung der Farbe, die auf den photochemischen Abbau von Pigmenten zurückgeführt wird. Im klaren Frischmost war dieser Effekt jedoch erst bei 10-fach erhöhten Behandlungsdosen sichtbar, da hier Effekte der enzymatischen Bräunung der UV-C-induzierten Verblassung der Farbe gegenüberstehen. Die Farbe von Weinen, die aus Traubenmost nach UV-C-Behandlung mit 2-fach erhöhten Dosen hergestellt wurden, zeigte eine stärkere Gelbfärbung. Es wird vermutet, dass die UV-C-Behandlung neben dem Abbau von Farbpigmenten, Reaktionen initiiert, die zur Bildung neuer Pigmente führen. Diese Hypothese konnte im Modellsystem bestätigt und die Farbveränderung auf die Bildung von Xanthylumkation zurückgeführt werden.

Neben der Farbe wurden olfaktorische Veränderungen und Aromastoffgehalte von Weinen untersucht, die aus UV-C-behandeltem Traubenmost hergestellt wurden. Es wurde deutlich, dass eine UV-C-Behandlung von klarem Traubenmost ab 10-fach erhöhter Behandlungsdosis zu sensorisch wahrnehmbaren, qualitätsmindernden Unterschieden im späteren Wein führt. Der Abbau positiver Aroma-

stoffe, wie  $\beta$ -Damascenon, und die Bildung von 2-Aminoacetophenon steht in Zusammenhang mit den sensorischen Veränderungen. Die Photooxidation der Aminosäure Tryptophan konnte als Edukt der Bildung von 2-Aminoacetophenon identifiziert werden. Die Bildung S-haltiger Fehl aromen, z.B. aus Methionin oder Cystein, spielt nach aktueller Erkenntnislage weder bei der UV-C-Behandlung von Traubenmost noch beim Abstoppen der Gärung eine Rolle.

Beim Abstoppen der alkoholischen Gärung traten sensorische Beeinträchtigungen bei deutlich geringeren Behandlungsstärken im Bereich der mikrobiologisch relevanten Behandlungsdosis auf. Als ursächlich hierfür wurde der Photosensibilisator Riboflavin identifiziert, der durch die Hefe gebildet wird und photochemische Reaktionen katalysiert. Verschiedene oenologische Maßnahmen (z.B. eine Bentonit-Schönung oder die Zugabe von Ascorbinsäure) wurden untersucht, um der Bildung UV-C-induzierter Fehl aromen entgegenzuwirken. Sowohl UV-C-induzierte Farbveränderungen als auch Aromabeeinträchtigungen konnten durch eine Zugabe von Ascorbinsäure minimiert werden.

Die in *Botrytis cinerea* gebildete Polyphenoloxidase Laccase führt u.a. zu qualitätsmindernden Farbveränderungen. Es konnte nachgewiesen werden, dass die negativen Folgen der enzymatischen Aktivität in Botrytis-belastetem Mosten mittels UV-C-Behandlung deutlich reduziert oder komplett verhindert werden können. Die UV-C-Behandlung von Botrytis-belastetem Traubenmost erweist sich für die späteren sensorischen Eigenschaften der Weine als vorteilhaft. Es wird vermutet, dass die UV-C-Behandlung der negativen Beeinflussung durch *Botrytis cinerea* entgegenwirkt. Im Unterschied zur Kurzzeithocherhitzung und zur Kontrolle schneiden Botrytis-Weine aus UV-C-behandelten Mosten sowohl farblich als auch geruchlich besser ab.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die knapp 20.000 weinerzeugenden Betriebe, die zur deutschen Weinwirtschaft zählen, sind kleine und mittelständische Unternehmen (KMU) und verfügen über keine eigenen Forschungsressourcen. Der Gesamtumsatz der Branche liegt bei über 3 Mrd. €.

In der weinverarbeitenden Industrie prägen innovative Verfahren bzw. Produkte den Wettbewerb. Aufgrund der Struktur vieler kleiner Betriebe und aufgrund der hohen Produktions- und Produktvielfalt in der Weinbranche ist es entscheidend, dass Verfahren flexibel einsetzbar und einfach anwendbar sind. Weiterhin sind aus Sicht der Ressourcenschonung ein geringer apparativer Aufwand und geringe Betriebskosten von größtem Interesse. Die UV-C-Technologie liefert all diese Argumente. UV-C-Reaktoren werden im Durchflussverfahren betrieben und können einfach in den Prozessablauf integriert werden. In Jahrgängen mit hohem Fäulnisdruck stellt die UV-C-Technologie eine einfache und saubere technische Möglichkeit dar, die Bildung von Fehleraromen in der Weißweinabereitung zu vermeiden. Gleichzeitig besteht die Möglichkeit, das Angären von Most gezielt zu verzögern bzw. gärende Moste abzustoppen. Letzteres bedarf einer exakten Festlegung der Dosis, um einerseits die Gärhefen abzutöten und andererseits die Bildung von Fehltonen zu vermeiden. Durch Parallelschaltungen mehrerer kleiner Anlagen lässt sich die UV-C-Technologie in die industrielle Produktion gut umsetzen und sie lässt sich je nach Betriebsgröße hervorragend skalieren. Die Anlagentechnik ist einfach, robust und benötigt wenig Platz.

Das Risiko von Ausschussmengen sinkt durch die gezielte Inaktivierung von Mikroorganismen in Most und Wein mittels UV-C-Technologie. Außerdem können die Grenzwerte von SO<sub>2</sub> auch in schwierigen Jahrgängen eingehalten werden. Durch den Einsatz der UV-C-Technologie entfallen die Kosten, die durch die Flash-Pasteurisierung resultieren. Sowohl die Investitionskosten als auch die Betriebskosten liegen bei der Flash-Pasteurisierung deutlich über den Kosten der UV-C-Technologie.

Mit den erzielten Ergebnissen wurde die Grundlage geschaffen, ein Zulassungsverfahren für die UV-C-Technologie zur Behandlung von Most und Wein anzustrengen. Erstmals wurden mikrobiologische Effekte in Kombination mit chemischen und sensorischen Veränderungen untersucht. Zudem

wurden toxikologische Untersuchungen angestellt und die Resistenzbildung untersucht.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2018.
2. Kromm, L. A.: Untersuchungen zur UV-C-Behandlung von polyphenolreichen Lebensmitteln am Beispiel Traubenmost und Wein mittels in vitro-toxikologischer Methoden. Dissertation DLR Rheinland (2019).
3. Golombek, P. A.: Untersuchungen zum Einfluss der UV-C-Behandlung auf Weinhaltstoffe und sensorische Eigenschaften von Traubenmost und Weißwein. Dissertation DLR Rheinland (2019).
4. Golombek, P., Gaiser D., Schmezer G. & Durner D.: Viel Licht, viel Schatten. Dt. Weinbau 19, 28-31 (2018).
5. Diesler, K. M.: UV-C-Behandlung von Traubenmost zur Inaktivierung von Mikroorganismen. Dissertation DLR Rheinland (2018).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR)  
Rheinland  
Institut für Weinbau und Oenologie  
Breitenweg 71, 67435 Neustadt/Weinstraße  
Tel.: +49 6321 671-227  
Fax: +49 6321 671-222  
E-Mail: dominik.durner@dlr.rlp.de

Max-Rubner-Institut (MRI)  
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und  
Lebensmittel  
Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrens-  
technik (Karlsruhe)  
Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe  
Tel.: +49 721 6625336  
Fax: +49 721 6625303  
E-Mail: mario.stahl@mri.bund.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.