

Mit Lysozym den BSA im Griff?

Zur besseren Kontrolle des biologischen Säureabbaus (BSA) sowohl in der Rot- als auch in der Weissweinbereitung wäre ein Regulationsinstrument neben der Cross-Flow- und Membranfiltration wünschenswert. Unerwünschter spontaner BSA in Weinen mit günstigem pH-Niveau, im Fass wie auf der Flasche, und die Einschränkung der Verschnittmöglichkeit von Weinen mit und ohne BSA stellen sich als wesentlichste Probleme dar. Mit Lysozym steht nun ein weiteres Kontrollinstrument zur Verfügung.

Der vorliegende Artikel bezieht sich auf die Verhältnisse in Deutschland. In der Schweiz steht der Entscheid des Bundesamtes für Gesundheit über die Zulassung von Lysozym zur Zeit noch aus. (Anmerkung der Redaktion)

JÖRG WEIAND, STAATLICHE LEHR- UND VERSUCHSANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT, WEINBAU UND GARTENBAU, OPPENHEIM

Lysozym wurde bereits in der VO 1493/99 vom 17.5.99 zur Zulassung vorgesehen. Durch die Festlegung der zulässigen Höchstmenge in der VO 2066/01 vom 23.10.01 kann Lysozym nun in der EU für die Weinbereitung bis zu maximal 500 mg/l in Traubenmost, teilweise gegorenem Traubenmost und Wein eingesetzt werden.

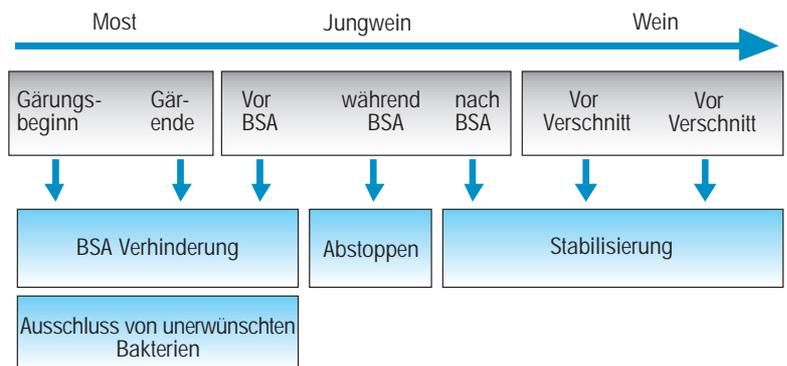
Lysozym ist ein aus Hühnereiweiss gewonnenes Enzym, welches auch in der Tränenflüssigkeit des Menschen zu finden ist. Es wird bereits in der Milchindustrie zur Vermeidung von Fehlgärungen bei der Herstellung von Käse eingesetzt (E1105). 1922 von Fleming entdeckt, besteht das Enzym aus 129 Aminosäuren bei einem Molekulargewicht von 14'400 Dalton.

Lysozym wirkt auf gram-positive Bakterien der meisten Gattungen von *Lactobacillus*, *Pediococcus* und *Oenococcus*. Dabei wird die Zellwand durch Auflösung der Mureinbestandteile zerstört. Hefen und auch Essigsäurebakterien werden allerdings nicht angegriffen. Daher kann der Einsatz von Lysozym auch keine generelle mikrobielle Sterilität garantieren.

Mögliche Einsatzbereiche

Aufgrund der bakteriziden Wirkung von Lysozym sind nachfolgende Einsatzbereiche in der Weinbereitung denkbar (Abb.1):

- Die Verhinderung von spontanem BSA durch Einsatz im Most vor Gärbeginn und Einsatz zum Gären (Steckenbleiber).
- Der Ausschluss von spontaner Bakterienflora durch Einsatz im Most vor Gärbeginn oder zum Gären, anschliessender Inaktivierung des Lysozyms durch Bentonitzusatz und Beimpfung mit gewünschter Bakterienkultur zur Einleitung des kontrollierten BSA.



- Abstoppen während des laufenden BSA zum Erreichen des erwünschten Säureniveaus.
- Die Stabilisierung von Weinen nach BSA durch Abtöten von *Leptococcon*, *Pediococcon* u. a.
- Die Stabilisierung der Cuvée von Weinen mit und ohne BSA (auch bei Süßreservezusatz).
- Die Stabilisierung von Weinen mit unvollständigem BSA (noch Äpfelsäure vorhanden).

Abb.1: Einsatzalternativen für Lysozym.

Kosten und Verfügbarkeit

Lysozym wird mittlerweile von mehreren Firmen vertrieben und kostet je nach Anbieter zwischen 150 bis 165 Euro/kg. Bei Anwendungsdosagen von 25 g/hl ergeben sich damit Kosten von etwa 3,8 Euro/hl beziehungsweise 7,7 Euro/hl bei einer Dosage von 50 g/hl. Diese durchaus hohen Kosten für ein Weinbehandlungsmittel sprechen neben den önologischen Gründen gegen eine grundsätzliche, prophylaktische Anwendung von Lysozym. Lediglich bei hohem Bakteriendruck im ganzen Keller ist ein vorbeugender Einsatz in Erwägung zu ziehen. Und dennoch sollten dann vor dem Herbst Massnahmen zur Sterilisierung von Gebinden, Leitungen und Pumpen sowie einer

Trennung von Rot- und Weissweinproduktion vor dem Lysozymeinsetz im Vordergrund stehen. Über einen weiteren Einsatz ist im Einzelfall zu entscheiden.

Stoppen des BSA mit Lysozym?

Die Untersuchungen an der SLVA Oppenheim im Jahr 1998, 1999 und 2001 beschäftigten sich vor allem mit der Frage der Vermeidung des Biologischen Säureabbaus im Weisswein durch Einsatz im Most vor Gärbeginn und Einsatz zum Gärende.

Die Unterbrechung des BSA auf gewünschtem Säureniveau ist mit dem Einsatz von Lysozym in hoher Dosis (50 g/hl) durchaus möglich, erscheint aber wenig sinnvoll, da in diesem Fall bei hoher Bakterienpopulation eingegriffen werden muss. Da die Gesamtpartie behandelt wird, entstehen hohe Kosten. Vorteilhafter und sicherer ist vielmehr die Einstellung des gewünschten Säureniveaus durch Verschnitt von Weinen mit vollständigem BSA und ohne BSA. Dadurch muss nur die Teilmenge, in welcher kein BSA durchgeführt werden soll, mit Lysozym bei niedriger Bakterienpopulation behandelt werden, bei gleichzeitig niedrigeren Kosten. Dennoch haben die Untersuchungen auch anderer Autoren die Wirksamkeit von Lysozym zum Stoppen des BSA bei hoher Bakterien-dichte gezeigt.

Im Rahmen der nachfolgend dargestellten Versuche sollten notwendige Einsatzmengen in Verbin-

g/l (99er Müller-Thurgau, Lysozymzugabe 28.9., Daten v.4.11.)

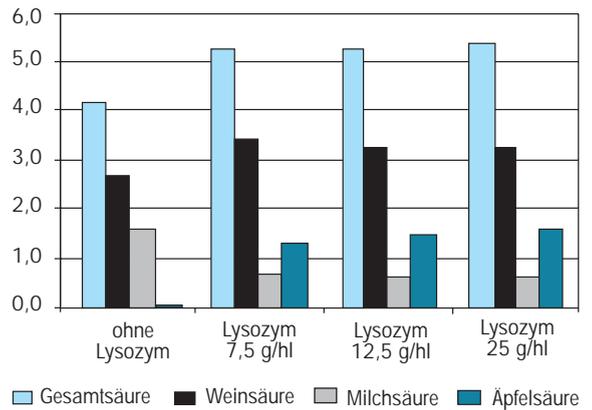


Abb. 4: Einfluss der Lysozymzugabe zum Most ohne Beimpfung (Spontaner BSA).

dung mit dem Einsatzzeitpunkt und die Wirkungs-dauer von Lysozym untersucht werden.

Durch Zugabe zum Most konnte sowohl mit 25 g/hl als auch mit 50 g/hl Lysozym ein Säureabbau bei einem Müller-Thurgau (pH 3,6; 12,2 Vol.-% Gesamtkohol) nach Mostbeimpfung mit Milchsäurebakterien (*Viniflora oenos*) verhindert werden (Abb. 2). In beiden Lysozymvarianten war keine Milchsäure zu finden. Lysozym konnte die Bakterienflora über rund 40 Tage kontrollieren (Abb. 3).

Im Jahr 1999 wurde wiederum bei einem Müller-Thurgau (pH 3,5; 12,6% Gesamtkohol) die Einsatzmenge von Lysozym im Most variiert. Ohne Beimpfung mit Milchsäurebakterien war in der Kontrollvariante die Äpfelsäure aufgrund der vorhandenen Bakterien vollständig abgebaut. Bei 7,5 g/hl Lysozymzusatz war noch 1,3 g/l Äpfelsäure vorhanden und 0,7 g/l Milchsäure zu finden (Abb. 4). Die malolaktische Fermentation konnte also nicht vollständig vermieden werden. Auch bei 25 g/hl konnte nach 35 Tagen die Gesamtsäure nicht auf dem Ausgangsniveau von 5,9 g/l gehalten werden, wie bei allen Lysozymvarianten fand sich Milchsäure. Nach entsprechendem Abstich und einer Schwefelung mit 80 mg/l SO₂ konnte aber das Säureniveau nach Lysozymeinsatz von etwa 5,2 g/l Gesamtsäure auf der Flasche stabilisiert werden.

Ohne Abschweifung war nach rund 50 Tagen allerdings bei allen Lysozymdosagen nahezu keine Äpfelsäure mehr zu finden und bei allen Varianten die Gesamtsäure auf etwa 4,3 g/l (Abb.5) reduziert. Die Wirkung des Lysozyms war zu diesem Zeitpunkt also nicht mehr ausreichend.

Die zeitlich begrenzte Wirksamkeit des Lysozyms hängt unter anderem von den auftretenden Bakterienstämmen und deren Populationsstärke ab. Weine mit günstigen Wachstumsbedingungen für die Bakterien (höhere Temperatur, höhere pH-Werte, niedrige Alkoholgehalte) benötigen höhere Lysozymdosagen zur Stabilisierung. Die Bakterienstämme kann der Winzer in der Regel gar nicht erkennen, um dies bei seiner Dosage zu berücksichtigen. Dies ist nur in entsprechenden Labors festzustellen. Die Bakterien des

Abb. 2: Einfluss der Lysozymzugabe zum Most nach Beimpfung mit Milchsäurebakterien.

g/l (98er Müller-Thurgau, Lysozymzugabe 7.10., Daten v. 16.11.)

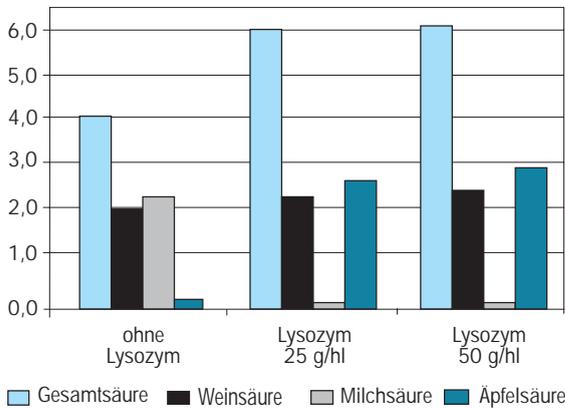
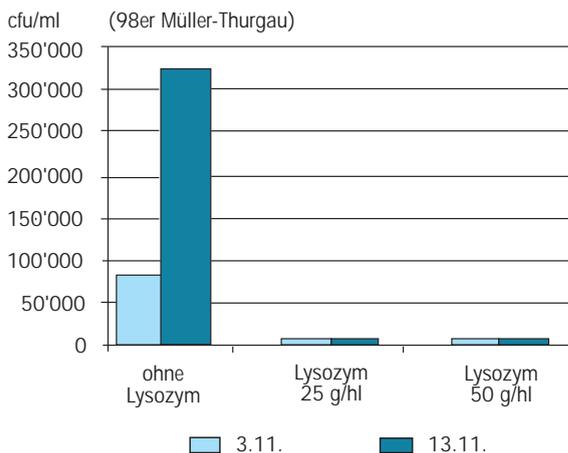


Abb. 3: Einfluss der Lysozymzugabe auf die Bakterienpopulation nach Beimpfung mit Milchsäurebakterien.



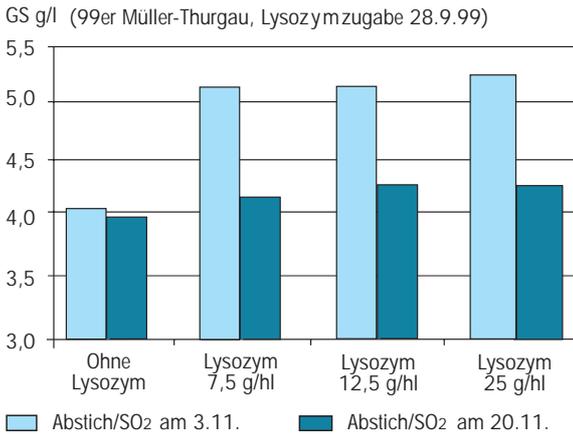


Abb. 5: Einfluss der Abstichzeitpunkts und der Lysozymzugabe auf die Gesamtsäure.

Stamms von Viniflora CH 35 (kommerziell erhältliches Präparat) haben z.B. so dicke Zellwände, dass sie auch bei 50 g/hl Lysozymzusatz weiter kräftig Äpfelsäure abbauen!

Des Weiteren kann die Aktivität des Lysozyms auch durch Bindung an Gerbstoffe (Rotwein), Zucker oder durch SO₂ reduziert werden, was auch die Wirksamkeit reduziert. In Rotweinen ist mitunter von einem höheren Bedarf für die gleiche Wirkung wie in einem Weisswein auszugehen, da dort auch noch höhere pH-Werte vorliegen.

Zeitpunkt der Lysozymzugabe

Neben der Dosagemenge ist auch der Einsatzzeitpunkt von Interesse. In einem weiteren Versuch wurde im Jahr 2001 bei gleichzeitiger Mostbeimpfung mit dem Präparat «Anastart Alpha» Lysozym zum Most beziehungsweise gegen Gärnde (0 °Oe) zugegeben.

Mit einem Mostzusatz von 25 g/hl konnte die Säure stabilisiert werden (Abb. 6). Beim Einsatzzeitpunkt 0 °Oe waren allerdings schon Bakterien aktiv und hatten bereits 0,3 g/l Milchsäure gebildet. Mit beiden Lysozymdosagen konnten die Bakterien nach Zusatz inhibiert und die Gesamtsäure gehalten werden.

Durch einen späteren Einsatz zum Gärnde (ca. zehn Tage) konnte die Stabilitätsphase nicht verlängert werden. Am 13.11. begann sogar wiederum eine merkliche Abnahme der Gesamtsäure. In diesem Versuch konnte die Säure durch Zusatz des Lysozyms zum Gärnde nur um rund 30 Tage gehalten werden. Der Mostzusatz erfolgte bei einer deutlich geringeren Bakteriendichte und war voll wirksam.

Beim Zusatz zum Gärnde war bereits eine deutlich höhere Bakteriendichte vorhanden. Der Lysozymzusatz konnte nicht alle Bakterien beseitigen. Verbliebene Bakterien konnten sich nach rund 30 Tagen wieder vermehren und die Äpfelsäure weiter abbauen.

Nach Lysozymeinsatz in der Gärphase kann also nicht von einer generellen Stabilität ausgegangen werden, sondern von einem Zeitgewinn für weitere

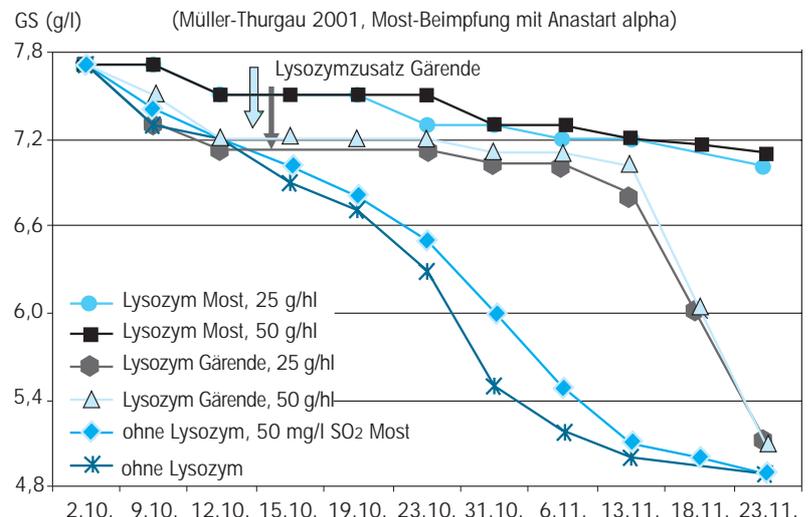
stabilisierende Massnahmen wie Abstich, Schwefelung und Filtration, die dann zielgerichtet zur Säurestabilisierung erfolgen müssen. Um eine ausreichende Wirkung des Lysozyms sicherzustellen sollte die Dosage in und nach der Gärphase nach den vorliegenden Erfahrungen bei mindestens 25 g/hl liegen.

Nach Lysozymeinsatz konnte keine negative sensorische Beeinflussung durch den Einsatz festgestellt werden. In den dargestellten Untersuchungen wurden keine Trübungen auf der Flasche beobachtet, wengleich andere Autoren vor allem bei Rotwein davon berichten. Lysozym ist wasserlöslich und nach Einsatz konnten bis zu 40% des eingesetzten Lysozyms noch auf der Flasche gefunden werden. Im Vergleich mit anderen Enzymen werden bei Lysozym deutlich höhere Mengen (bis zum Faktor 50) verwendet. Bei Vorliegen entsprechender Bindungspartner (Gerbstoffe, Metalle) sind solche Trübungen durchaus plausibel. Dies zeigen auch die erhöhten Werte an Bentonitbedarf nach Überprüfung durch den Bentotest. Bis zu 300 g/hl Bentonitbedarf im Weisswein wurde bei voller Dosage von 50 g/hl ermittelt.

Aufgrund dieser Beobachtungen ist der Einsatz von Lysozym zur Stabilisierung vor der Flaschenfüllung durchaus kritisch zu sehen. Vor allem im Rotweinebereich ist aber der Einsatz bei nicht vollständigem Abbau der Äpfelsäure und früher Flaschenfüllung naheliegend. Auch bei einer Cuvée zwischen Weinen mit BSA und Weinen oder Süßreserve ohne BSA (noch Äpfelsäure vorhanden) ist die stabilisierende Wirkung des Lysozymeinsatzes willkommen.

In einem Versuch hierzu mit unterschiedlichen Einsatzzeitpunkten von Lysozym konnten allerdings zur bakteriziden Wirkung keine eindeutigen Erkenntnisse gewonnen werden, da in der Kontrollvariante ohne Lysozym trotz Beimpfung (mit *Leuconostoc oenos*) auf der Flasche kein Äpfelsäureabbau mehr zu beobachten war. Alle Varianten blieben nach der Füllung in der Säure stabil. Bei Lysozymeinsatz kurz vor der Füllung waren leichte Farbverluste zu beobachten. Nach Lysozymeinsatz direkt nach dem BSA und einer Schwefelung erst kurz vor der

Abb. 6: Einfluss des Lysozymeinsatzes zum Most und zum Gärnde auf die Gesamtsäure.



Füllung war die gleiche Farbintensität (E420, E520) wie ohne Lysozymeinsatz zu messen. Bei Anwendung von genügend hohen Bentonitmengen nach dem Lysozymeinsatz (bis zu 300 g/hl) wurden auch nach zwei Jahren Lagerung bei zirka 20 °C keine Trübungen beobachtet.

Zur umfassenden Beurteilung des Lysozymeinsatzes kurz vor der Füllung sind noch weitere Untersuchungen, vor allem bei Rotwein notwendig.

Fazit

Lysozym kann ab einer Dosage von 25 g/hl den biologischen Säureabbau wirksam verhindern. Niedrigere Dosagen reduzieren die Kosten, können aber je nach pH-Wert und Bakteriendichte mitunter nicht ausreichend sein. Die mikrobielle Stabilität ist zeitlich begrenzt. Durch Lysozymeinsatz kann eine Verzögerung des BSA von mindestens 30 Tagen erreicht werden. Weitere stabilisierende Massnahmen wie Abstich und Schwefelung müssen in dieser Zeit ergriffen werden.

Literatur:

Amati A., Arfelli G., Riponi C., Piva A. und Chinnici F.: Emploi du lysozyme pour le controle de la fermentation malolactique des vins, OIV-Berichte, 1996.

Amati A., Chinnici F., Piva A., Arfelli G. und Riponi C.: Influence of enological operations on lysozyme activity in winemaking, Vitic. Enol. Sci. 51, (2), 59-62, 1996.

Bamberger U.: Lysozym zur Steuerung des Bakteriellen Säureabbaues, Das deutsche Weinmagazin 12, 32 - 35, 2000.

Bamberger U.: Lysozym im Versuch, Das deutsche Weinmagazin 8, 28 - 31, 2001.

Gerbeaux V. und Berger JL.: Utilisation du lysozyme pour inhiber la fermentation malolactique et pour stabiliser les vins apres fermentation malolactique, OIV-Berichte, 1996.

Villa A.: Lysozyme in wine production, Fordras S.A., Lugano.

RÉSUMÉ

Le lysozyme pour maîtriser la FML?

Pour mieux contrôler la fermentation malolactique (FML) dans la vinification du vin rouge et du vin blanc, il serait souhaitable de disposer d'un instrument régulateur autre que la filtration tangentielle ou par membranes. Le lysozyme (protéine de poule) est une substance qui dissout par hydrolyse les bactéries gram positives et dont l'utilisation est désormais autorisée dans l'Union européenne.

Le présent article traite avant tout de l'utilisation du lysozyme pour stabiliser le vin blanc.

A partir d'un dosage de 25 g/hl, le lysozyme peut bloquer la fermentation malolactique efficacement. Les dosages plus faibles sont moins coûteux, mais selon la valeur pH et la densité de bactéries, ils s'avèrent parfois insuffisants. La stabilité microbienne est limitée dans le temps. En faisant appel au lysozyme, on peut retarder la FML d'au moins 30 jours. D'autres mesures de stabilisation telles que le soutirage et le sulfitage doivent être prises durant ce même laps de temps.