

Mit Lysozym den BSA im Griff ?

- Jörg Weiland, SLVA Oppenheim -

Mit dem verstärkten Einsatz des biologischen Säureabbaus (BSA) vor allem in der Rot- als auch in der Weißweinbereitung wurde der Wunsch nach einem Regulationsinstrument neben der Cross-Flow und Membranfiltration immer stärker. 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.

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 Weinbereitung bis zu maximal 500 mg/l in Traubenmost, teilweise gegorenem Traubenmost und Wein eingesetzt werden.

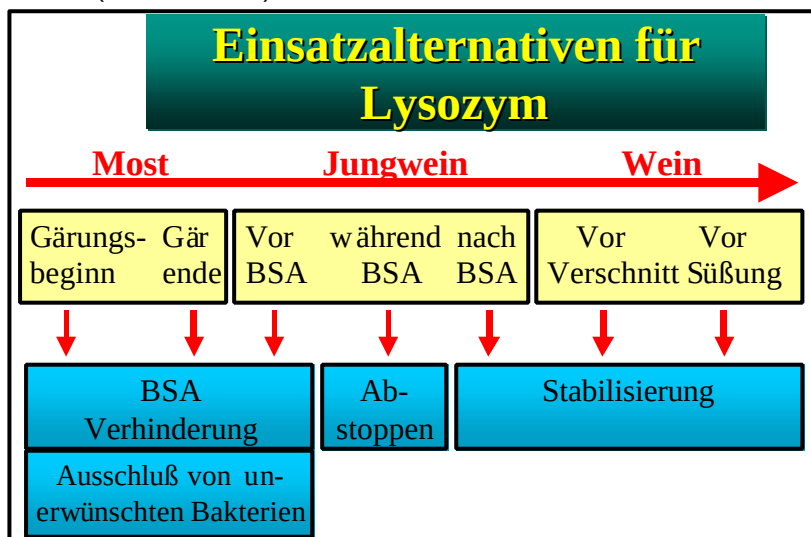
Lysozym ist ein aus Hühnereiweiß gewonnenes Enzym, welches auch in der Tränenflüssigkeit des Menschen zu finden ist. Es wird bereits in der Milchindustrie zur Vermeidung von Fehlgärungen bei der Herstellung von Käse eingesetzt (E1105). 1922 von Fleming entdeckt, besteht das Enzym aus 129 Aminosäuren 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 (s.Abb.1) denkbar:

- Die Verhinderung von spontanem BSA durch Einsatz im Most vor Gärbeginn und Einsatz zum Gärende (Steckenbleiber).



- Der Ausschluß von spontaner Bakterienflora durch Einsatz im Most vor Gärbeginn oder zum Gärende, anschließender Inaktivierung des Lysozym durch Bentonitzusatz und Beimpfung mit gewünschter Bakterienkultur zur Einleitung des kontrollierten BSA
- Abstoppen während laufendem BSA zum Erreichen des erwünschten Säureniveaus
- Die Stabilisierung von Weinen nach BSA durch Abtöten von Lactobacillus, Pediococcus 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)

Kosten und Verfügbarkeit

Lysozym wird mittlerweile von mehreren Firmen vertrieben (Siha-Lysozym, BactiCare Erbslöh, Lyso-Lallzyme, Lallemand u.a.) und kostet je nach Anbieter zwischen 150 – 165 €/kg. Bei Anwendungsdosagen von 25 g/hl ergeben sich damit Kosten von etwa 3,8 €/hl bzw. 7,7 €/hl bei einer Dosage von 50 g/hl.

Diese durchaus hohen Kosten für ein Weinbehandlungsmittel sprechen neben den oenologischen 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 Lysozymeinsatz im Vordergrund stehen. Über weiteren Einsatz ist im Einzelfall zu entscheiden.

V Versuchsergebnisse

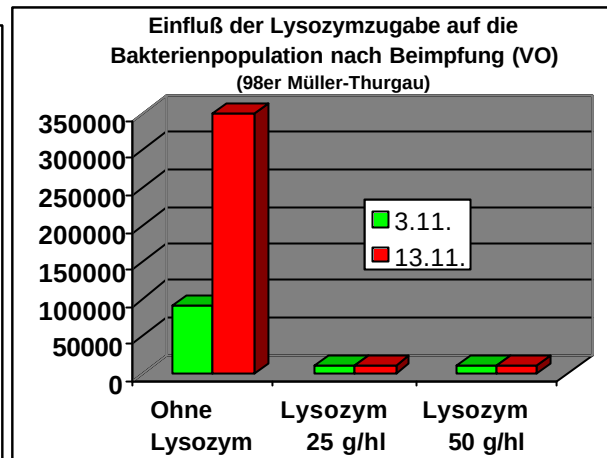
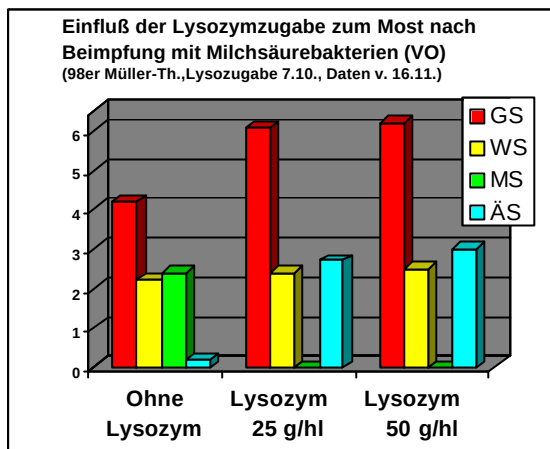
Die Untersuchungen an der SLVA Oppenheim im Jahr 1998,1999 und 2001 beschäftigten sich vor allem mit der Frage der Vermeidung des Biologischen Säureabbaus im Weißwein durch Einsatz im Most vor Gärbeginn und Einsatz zum Gärende.

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 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 Bakteriendichte gezeigt.

Im Rahmen der nachfolgenden dargestellten Versuche sollten notwendige Einsatzmengen in Verbindung mit dem Einsatzzeitpunkt und die Wirkungsdauer 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

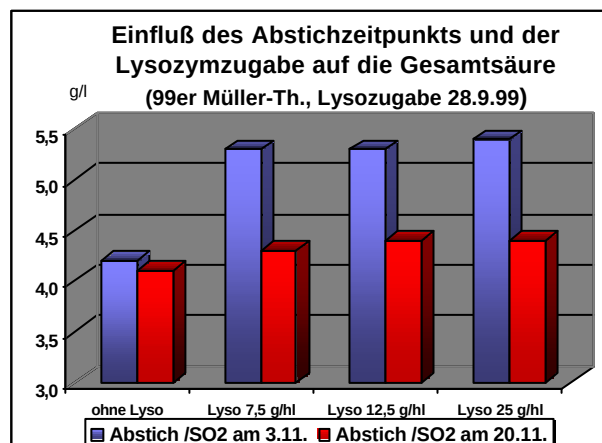
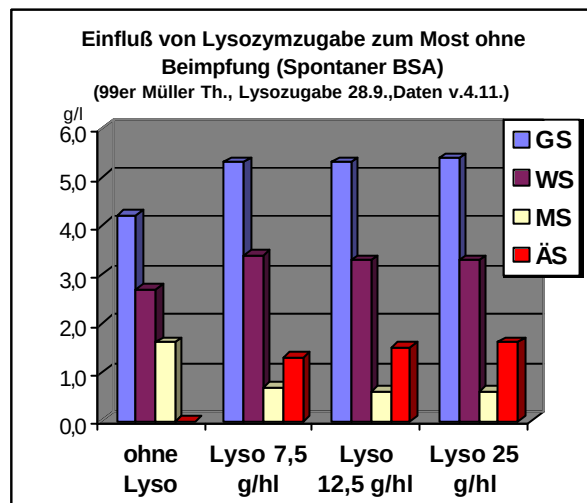


Müller-Thurgau (pH 3,6, 12,2 % Vol. Gesamtalkohol) nach Mostbeimpfung mit Milchsäurebakterien (Viniflora oenos) verhindert werden (s. Abb. 2). In beiden Lysozymvarianten war keine Milchsäure zu finden. Lysozym konnte die Bakterienflora über rund 40 Tage kontrollieren (s. Abb.3).

Im Jahr 1999 wurde wiederum bei einem Müller-Thurgau (pH 3,5, 12,6 % Gesamtalkohol) die Einsatzmenge von Lysozym im Most variiert und 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 (s. 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 GS auf der Flasche stabilisiert werden.

Ohne Abschwefelung 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 (s. Abb.5) reduziert. Die Wirkung des Lysozym 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 Stamms von Viniflora CH 35 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 zusätzlich auch noch höhere pH-Werte vorliegen.

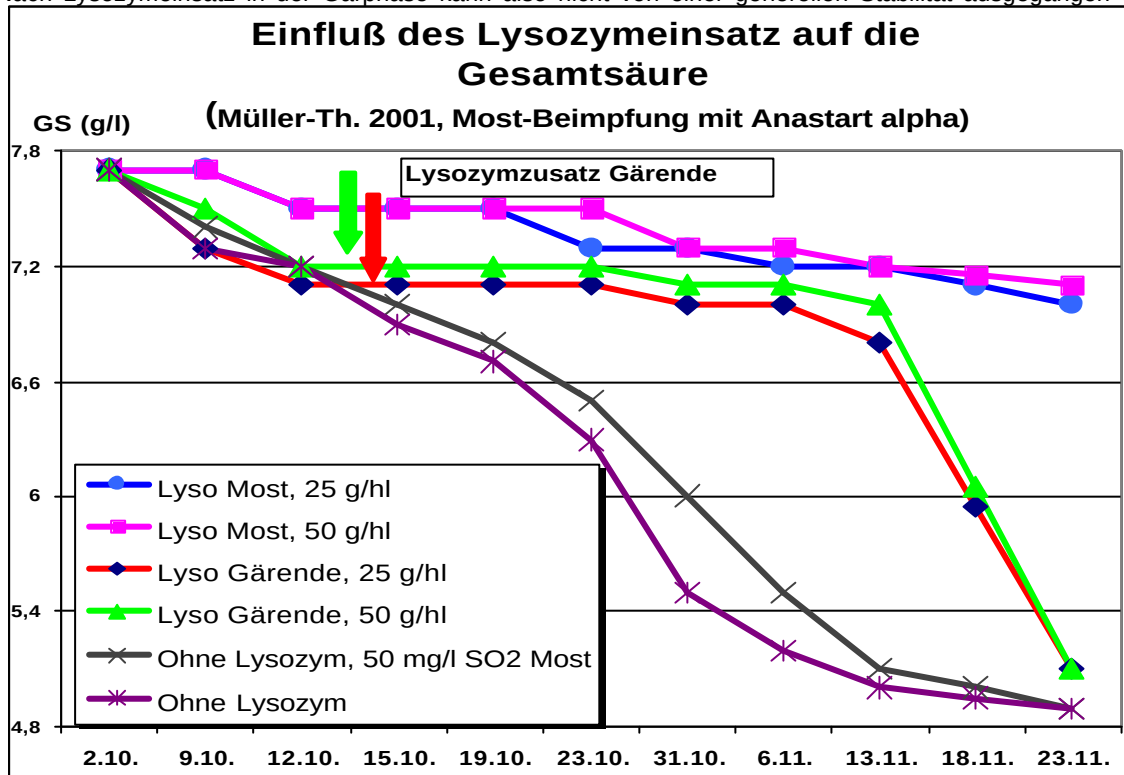
Neben der Dosagemenge ist auch der Einsatzzeitpunkt von Interesse. In einem weiteren Versuch wurde im Jahr 2001 bei gleichzeitiger Mostbeimpfung mit dem Präparat Anastart Alpha Lysozym zum Most bzw. gegen Gärnde (0° Oe) zugegeben.

Mit einem Mostzusatz von 25 g/hl konnte die Säure stabilisiert werden (s. 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. 10 Tage) konnte die Stabilitätsphase nicht verlängert werden. Am 13.11. begann 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 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 Lysozym erfolgte 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.

Flaschenstabilisierung

Vor allem im Rotweinbereich ist der Einsatz bei nicht vollständigem Abbau der Äpfelsäure und früher Flaschenfüllung ohne Membranfiltration naheliegend. Auch bei einer Cuvée zwischen Weinen mit BSA und Weinen oder Süßreserve ohne BSA (noch Äpfelsäure vorhanden) ist die stabilisierende Wirkung des Lysozymeinsatz willkommen.

In einem Versuch hierzu mit unterschiedlichen Einsatzzeitpunkten von Lysozym bei einem Portugieser Rotwein konnten allerdings zur bakteriziden Wirkung keine eindeutigen Erkenntnisse gewonnen werden, da in der Kontrollvariante ohne Lysozym trotz Beimpfung (mit *Leuconostoc oenos*) und EK-Filtration 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 beim gefüllten Wein zu beobachten. Wurde Lysozym direkt im Anschluß an den BSA eingesetzt und die Schwefelung erst kurz vor der Füllung durchgeführt war die gleiche Farbintensität (E420, E520) wie ohne Lysozymeinsatz zu messen.

Flaschentrübungen durch Lysozym ohne Bentonitschönung

In den dargestellten Untersuchungen wurden bei Füllungen mit Schraubverschluß ohne Bentonitschönung erst nach 2,5 Jahren Lagerzeit Trübungen durch Eiweißverbindungen auf der Flasche beobachtet. Nach Füllungen

ohne Bentonitschönung mit Naturkorken zeigten sich aber sehr bald Trübungen die vom Kork ausgingen und sich weiter in der Flasche ablagerten. Offensichtlich dienen geringe Mengen von Gerbstoffen die aus dem Korkmaterial abgesondert werden als Bindungspartner für das Eiweiß.

Lysozym ist wasserlöslich und nach Einsatz konnten bis zu 40 % des eingesetzten Lysozym 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 400 g/hl Bentonitbedarf im Weißwein wurden bei voller Dosage von 50 g/hl ermittelt. Der Wärmetest zeigt in diesem Zusammenhang oft geringeren Schönungsbedarf an.

Aufgrund dieser Beobachtungen ist der Einsatz von Lysozym zur Stabilisierung vor der Flaschenfüllung durchaus kritisch zu sehen. Eine Eiweißstabilisierung durch höhere Bentonitdosagen kurz vor der Flaschenfüllung greift stark in das Weingefüge ein und reduziert beim Rotwein nochmals die Farbe. Eine weitere Filtration ist zusätzlich notwendig, wenngleich sich das Risiko eines BSA auf der Flasche nach Reinfektionen durch Leitungen, Füller und Korkschloß weiterhin nicht ausschließen läßt. Wird auf die Eiweißstabilisierung verzichtet, bleibt das Risiko der Trübung.

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 zum Most kann eine Verzögerung des BSA von rund 30 Tagen erreicht werden. Weitere stabilisierende Maßnahmen wie Abstich und Schwefelung müssen in dieser Zeit ergriffen werden.

Nach Lysozymeinsatz muß die Eiweißstabilität überprüft und bei Bedarf durch Bentoniteinsatz auf jeden Fall hergestellt werden.