



Das Management des mit mikrobiellem Verderb verbundenen Risikos ist ein wichtiger Punkt während der gesamten Lebensdauer eines Weins. Das am häufigsten verwendete Produkt zur Begrenzung mikrobieller Verunreinigungen, die mit sensorischen Abweichungen verbunden sind, ist SO<sub>2</sub>, obwohl der Markt nach Weinen mit niedrigeren Gehalten sucht. Eine Möglichkeit, die Verderbnismikroben zu kontrollieren, besteht darin, ihre Entwicklung durch Bioprotektion (ausgewählte Hefe, Co-Inokulation mit ausgewählten Bakterien (siehe UI Bacteria #1 und #4)). Unsere Forschung hat zu sicheren und effektiven biologischen Alternativen gegen Verunreinigungen, insbesondere *Brettanomyces* und Milch- und Essigsäurebakterien geführt. Es handelt sich um Chitinderivate auf Pilzbasis: reines Chitosan (No Brett Inside™) und Chitosan in Verbindung mit Chitin-Glucan (Bactiless™). Beide dieser auf Chitosan basierenden Präparate stammen zu 100% aus *Aspergillus niger* und entsprechen den strengen Spezifikationen der OIV, auf die sich die EU-Verordnung bezieht, und werden von Winzern seit 10 Jahren erfolgreich eingesetzt. Diese Untersuchung wird ihre Wirkungsweise und die Effizienz dieser reinen Formen (100%-natürlich, biologisch abbaubar, nicht gentechnisch verändert und nicht allergen) zeigen.

## WAS SIND CHITOSAN UND CHITIN-GLUCAN?

*Aspergillus niger* ist ein Pilz, aus dem Chitin und Chitin-Glucan extrahiert werden. Chitosan wird durch Deacetylierung aus Chitin gewonnen. In der Weinindustrie sind nur Chitosan und Chitin-Glucan zugelassen, die aus dem Mycel von *Aspergillus niger* gewonnen werden. Wenn Chitosan aus tierischen (Krustentieren) oder anderen Pilzquellen stammt, ist es nicht für die Verwendung in Wein zugelassen.

In Zusammenarbeit mit unserem Partner Kitozyme haben wir seit 2003 die besten Rohstoffe als reine Verbindungen auf Basis der physikalisch-**chemischen Vielfalt der Chitosane und Chitin-Glucane** gescreent und ausgewählt. Die Vielfalt der verschiedenen Chitosane beruht auf physikalisch-chemischen Merkmalen wie z.B. dem Deacetylierungsgrad, dem Polymerisationsgrad, der Granulometrie.

Die antibakteriellen und antimykotischen Eigenschaften unserer chitosanbasierten Präparate (**No Brett Inside™** oder **NBI** und **Bactiless™**) wurden eingehend untersucht und ihre antimikrobielle Effizienz wurde nachgewiesen: starke

Hemmung von *Brettanomyces* (besonders für NBI) und Essig- und Milchsäurebakterien (besonders für Bactiless™). Letzteres besteht aus reinem Chitosan in Verbindung mit spezifischem Chitin-Glucan, das in Synergie wirkt. Chitosan spielt die antimikrobielle Rolle und der Chitin-Glucan-Teil hilft, die physikalische Wirkung zu maximieren (Eliminierung durch Ausflockung mit den beschädigten Zellen und deren Sedimentation).

Als Beispiel zeigt Abbildung 1 eine lichtmikroskopische Beobachtung von *Brettanomyces*-Zellen, die mit Chitosan (NBI) behandelt wurden, aus Taillandier et al, 2012, wo wir sehen können:

- Physikalischer Effekt: Aggregation aufgrund der Ladungswechselwirkung zwischen **NBI** und den Hefezellen
- Biologische Wirkung: Absterben von *Brettanomyces*-Zellen



Abbildung 1. Optische Mikroskopie von *Brettanomyces*-Zellen mit **No Brett Inside™**

## DIE EFFIZIENZ DER REINEN FORMEN VON CHITOSAN UND CHITIN-GLUCAN?

*Brettanomyces* stellen eine permanente Bedrohung für die Qualität von Weinen dar, da sie flüchtige Phenole produzieren (Aromen von Stall, Pflaster, Medizin), die die sensorische Reinheit des Weins denaturieren. Diese alterationsfähigen Hefen können sich in schwierigen Umgebungen zu jeder Zeit während der Lebensdauer eines Weins entwickeln, besonders aber während der Alterungsphase. SO<sub>2</sub> ist die am häufigsten verwendete Methode zur Kontrolle von *Brettanomyces*, aber einige Stämme dieser Verunreinigungen sind resistent gegen SO<sub>2</sub>.

Auf dem Markt sind auch andere Produkte auf Chitosan-Basis zur Kontrolle von Verunreinigungen erhältlich, die mit organischen Säuren und/oder Hefe-Derivaten gemischt sind. Unsere F&E-Gruppe verglich das reine Chitosan (**No Brett Inside™**) oder Chitosan kombiniert mit Chitin-Glucan (**Bactiless™**) mit einem dieser Mischprodukte.

**No Brett Inside™**, mit 100% *Aspergillus niger* reinem Chitosan, wurde gegen ein Mischprodukt mit der RT-PMAX-PCR-Methode untersucht, die eine genauere Bewertung der lebenden *Brettanomyces*-Zellen ermöglicht (kein Risiko falsch positiver Zählungen). Abbildung 2 zeigt, wie effizient NBI bei einer viel geringeren Dosierung als die «sogenannten aktivierten Chitosane» ist. Es ist genauso schnell und effizient wie eine viel höhere Dosierung des gemischten Produkts, bereits 5 Tage nach Zugabe.

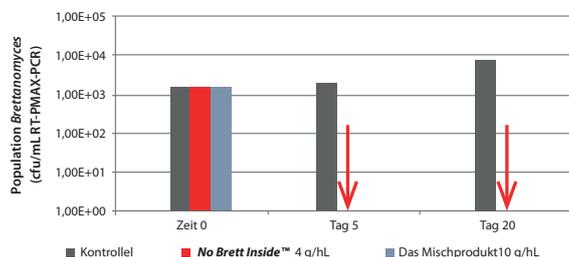


Abbildung 2. *Brettanomyces*-Tod gemessen durch Real-Time PMAX-PCR für Wein ohne antimikrobielles Mittel, Wein mit NBI bei 4 g/hL und einem Wein mit dem Mischprodukt 10 g/hL (Kollaboration mit Excell Iberica 2017).

Außerdem hat sich gezeigt, dass Bactiless™ seit seiner Entwicklung im Jahr 2016 die Population unerwünschter Milchsäure- und Essigsäurebakterien in Weiß- und Roséweinen, in schäumendem Grundwein, Cognac oder Spirituosen zuverlässig verringert oder zur Verzögerung oder Vermeidung der malolaktischen Gärung eingesetzt wird. Um unsere Erfahrungen zu vervollständigen und zu erweitern, verglich unser F&E-Team die Verwendung von **Bactiless™** mit dem Mischprodukt in Bezug auf die antibakterielle Wirkung. In einem durchgeführten Versuch (Abbildung 3) in Weißweinen.

In Fällen, in denen die malolaktische Gärung gestoppt werden musste, konnten Bactiless™ und das Mischprodukt die MLG stoppen. **Bactiless™** zeigte jedoch die gleiche Leistung bei einer niedrigeren Dosierung, aufgrund seiner höheren Reinheit im Vergleich zu einem anderen Mischpräparat (dieselben positiven Trends der Ergebnisse wurden bei Rotweinen beobachtet)

Ähnliche Ergebnisse werden erzielt, wenn die mikrobielle Stabilität nach der malolaktischen Gärung erforderlich ist, wie in Abbildung 4 dargestellt. Sowohl **Bactiless™** als auch das Mischprodukt zeigten ihre Fähigkeit, die Anzahl der Milchsäurebakterien zu reduzieren, jedoch benötigte Bactiless™ eine geringere Konzentration (20 g/hL) im Vergleich zum Mischprodukt (25 g/hL), da die Qualität des Chitosans in **Bactiless™** effizienter ist, selbst bei einer geringeren Dosis.

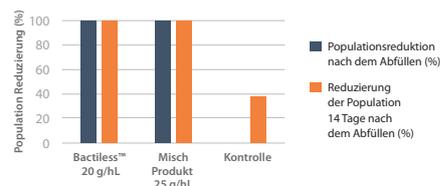


Abbildung 3. Verringerung der Population von Milchsäurebakterien in Weißwein mit **Bactiless™** im Vergleich zu einem Mischprodukt zur Verhinderung des Beginns der malolaktischen Gärung

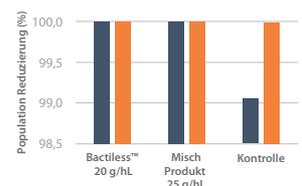


Abbildung 4. Abnahme der Population von *O. oeni* nach malolaktischer Gärung mit **Bactiless™** und einem Mischprodukt.

## ZUSAMMENFASSEND

- Das Chitosan von **No Brett Inside™** und das Chitosan und Chitin-Glucan von **Bactiless™** verhindern das Wachsen von Verunreinigungen effizienter als ein Mischpräparat, da es konzentrierter ist und eine höhere Chitosan-Reinheit besitzt, und eine geringere Dosierung für eine sehr gute Effizienz benötigt wird.
- **No Brett Inside™** und **Bactiless™** sind einzigartig entwickelt aus 100% *Aspergillus niger* mit der reinsten und zertifizierten Form von Chitosan, die die einzige von der OIV zugelassene Form ist.
- **No Brett Inside™** und **Bactiless™** kann Teil einer Strategie zur Reduzierung der Verwendung von SO<sub>2</sub> in Weinen sein.
- Nach mehr als 15 Jahren zahlreicher Versuche können wir bestätigen, dass **No Brett Inside™** und **Bactiless™** pure Präparate keinen negativen Einfluss auf die sensorische Qualität des Weins haben. Im Gegenteil, sie tragen zu seiner höheren Konservierung bei, indem sie das mikrobielle Verderbnisrisiko reduzieren.

