

## Reduktion des Gehaltes allergener Weinbehandlungsmittel im Endprodukt Wein durch technologische Verarbeitung

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Universität Hamburg Hamburg School of Food Science Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Markus Fischer/Dr. A. Paschke-Kratzin
<b>Forschungsstelle II:</b>	Forschungsanstalt Geisenheim Institut für Weinbau und Rebenzüchtung FG Kellerwirtschaft Prof. Dr. Monika Christmann
<b>Forschungsstelle III:</b>	Technische Universität München Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein Prof. Dr. Dr. Johannes Ring/PD Dr. Knut Brockow
<b>Industriegruppe:</b>	Deutscher Weinbauverband e.V., Bonn  Projektkoordinatoren: Dr. Jürgen Meindl Erbslöh Geisenheim AG, Geisenheim
<b>Laufzeit:</b>	2010 - 2012
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 414.450,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

In der Herstellung von Weinen wird traditionell die sogenannte Weinschönung durchgeführt. Bei diesem Prozessschritt werden dem Wein zur Geschmacksharmonisierung polyphenolische Substanzen entzogen. Zudem erfolgt eine Abtrennung unlöslicher und kolloidaler Substanzen zur Verhinderung von Trübungen. Hierfür werden neben anorganischen Materialien, wie Bentonit oder Kieselöl, bevorzugt tierische Proteine eingesetzt. Von hoher Bedeutung sind hierbei die Kasein-Fraktion aus Kuhmilch und die Albumine aus Hühnerei-Eiweiß. Daneben wird auch das aus Hühnerei-Eiweiß gewonnene Lysozym eingesetzt, um den Wein in den verschiedenen Prozessschritten gegen einen unerwünschten biologischen Säureabbau zu schützen. Milch- und Hühnerei-Proteine sind seit langem als Lebensmittelallergene bekannt und können schwere allergische Reaktionen (Anaphylaxien) auslösen. Bereits wenige Milligramm bis hin zu Mikrogramm an Proteinen aus Milch und Ei können in

Erwachsenen bzw. Kindern zu allergischen Reaktionen führen. Untere Schwellenwerte zur Auslösung von Symptomen durch Milch- und Eiallergene bei allergischen Patienten sind nicht definiert. Da eventuell vorhandene Schönungsmittelrückstände im Wein für den allergischen Verbraucher nicht ersichtlich sind, stellen sie eine potentielle Gefährdung dar.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Entwicklung von technologischen Verfahren, die den Gehalt an allergenen Weinbehandlungsmitteln im Wein absenken bzw. Stoffe zu ermitteln, die diese allergenen Weinbehandlungsmittel ersetzen können.

### Forschungsergebnis:

Zur Entwicklung technologischer Verfahren zur Vermeidung allergener Rückstände in Wein zählt u. a. der Einsatz weiterer Behandlungsmittel/Fällungshilfen, neuer Filtrationstechniken/Membrantechnologien oder der Flash-Pasteurisation.

Zu diesen zu entwickelnden technologischen Verfahren gehört ebenfalls der Einsatz alternativer Schönungsmittel, die nicht kennzeichnungspflichtig sind. Hierzu war im Rahmen des Forschungsvorhabens eine systematische Untersuchung ihrer Schönungserfolge und der Beeinflussung der Sensorik des Weines im Vergleich zu den traditionell eingesetzten allergenen Schönungsmitteln durchzuführen. Die analytische Kontrolle des Erfolgs der getesteten Verfahren erfolgte mittels immunologischer Nachweisverfahren sowie klinischer Absicherung.

Die Immunisierung von Wirtstieren mit den im Weinkeller zum Einsatz kommenden Schönungsmitteln führte zu polyklonalen Antikörpern, die zur Entwicklung verschiedener ELISA-Methoden genutzt wurden: Indirekter ELISA für Kasein (NWG 0,1 ppm) und Ovalbumin (NWG 0,006 ppm) einsetzbar für Weißwein und gerbstoffarme Rotweine; indirekter ELISA für Lysozym (NWG 0,006 ppm) für Weiß- und Rotwein, direkter Sandwich-ELISA für Ovalbumin in Weiß- und Rotweinen (NWG 0,005 ppm); indirekter Sandwich-ELISA für Kasein in Weißwein (NWG 0,01 ppm) und Rotwein (NWG 0,1 - 0,3 ppm).

Aus den ermittelten Daten des indirekten ELISA gegen Ovalbumin wird ersichtlich, dass Allergene in detektierbaren Mengen im Weißwein enthalten sein können. Allerdings sind deutliche Unterschiede im Einfluss der unterschiedlichen Herstellungsverfahren auf den Gehalt an Ovalbumin erkennbar. Bei Anwendung der K100-Filtration in Verbindung mit einer Entkeimungsfiltration konnte kein Ovalbumin mehr nachgewiesen werden. Nach der Behandlung mit Bentonit war kein Ovalbumingehalt oberhalb der Bestimmungsgrenze detektierbar, lediglich der qualitative Nachweis war möglich. Die geringsten Gehalte wurden für die Behandlung mit Kieselgur ermittelt.

In keinem Rotwein konnte mit dem direkten Sandwich-ELISA ein Allergengehalt von Ovalbumin detektiert werden. In mit Lysozym behandelten Weinen konnten auch nach erfolgter Abreicherung fast durchgängig noch sehr hohe Lysozym-Gehalte gemessen werden. Die Gehalte lagen dabei so hoch, dass eine Verdünnung der Probenweine im Verhältnis 1:10.000 notwendig war, um Konzentrationen innerhalb des Arbeitsbereiches des ELISA zu erhalten. Einzig die Behandlung mit Metaweinsäure sowie Bentonit und eine anschließende Entkeimungsfiltration vermochten die Gehalte soweit zu reduzieren, dass der Lysozym-Gehalt unterhalb der Nachweis-

grenze lag. Im Gegensatz zu den für Ovalbumin-Rückstände ermittelten Ergebnissen konnten in den meisten Abreicherungsstufen der Kasein-geschönten Weißweine keine Allergene mittels indirektem ELISA nachgewiesen werden. Auch für Kasein konnte bei Anwendung der Flash-Pasteurisation ein erhöhtes Messsignal beobachtet werden, allerdings lagen die Gehalte nach anschließender Entkeimungsfiltration unterhalb der Nachweisgrenze. In keinem der untersuchten Kasein-geschönten Rotweine konnte mittels des indirekten Sandwich-ELISA ein Kaseingehalt nachgewiesen werden.

Keiner der zehn getesteten Patienten, die oral provoziert wurden, zeigte eine Reaktion im Sinne einer allergischen Sofortreaktion, weder auf den geschönten noch auf den ungeschönten Wein, die im ELISA unterhalb der Nachweisgrenzen lagen. Alle Patienten tolerierten jeweils die Gesamtdosis von 200 mL (Frauen) bzw. 300 mL (Männer) des Verum- und Kontroll-Weines.

#### **Wirtschaftliche Bedeutung:**

Im Rahmen des Vorhabens wurden Verfahren zur Schönung und Behandlung von Wein mit anschließender technologischer Abreicherung entwickelt, die die Gehalte an allergenen Weinbehandlungsmitteln mit – parallel hierzu entwickelten – empfindlichen immunologischen ELISA-Nachweismethoden für Kasein, Ovalbumin und Lysozym nicht mehr detektierbar machen. Durch klinische Untersuchungen, wie Pricktest und doppelblind placebo-kontrollierter Lebensmitteltestung (DBPCFC) mit Milch- und Eiallergikern, wurde die Unbedenklichkeit der Weine nach den entwickelten Verfahren nachgewiesen.

Filtrationstechniken mit Porendurchmessern von  $\leq 45 \mu\text{m}$  sowie Sterilfiltrationen führen zu nicht nachweisbaren Gehalten von Kasein und Ovalbumin in bei üblicher Dosis behandelten Weinen. Lysozym-behandelte Weine müssen einer zusätzlichen Metaweinsäure- und Bentonitbehandlung unterzogen werden.

Im Ergebnis des Vorhabens sind damit den weinherstellenden Betrieben Methoden guter Herstellungspraxis sowie chemisch-analytische ELISA-Nachweismethoden an die Hand gegeben worden, bei deren Einhaltung und Einsatz in Zukunft keine Kennzeichnung der bei der Weinherstellung verwendeten kennzeichnungspflichtigen Allergene notwendig sein wird.

In Deutschland gibt es ca. 70.000 Trauben- und Weinproduzenten, bei denen es sich überwiegend um kleinere Winzerbetriebe (Familienbetriebe mit wenigen Mitarbeitern) oder mittelständische Weinhersteller handelt.

Der Stil- und Schaumweinverbrauch liegt in Deutschland bei rund 20 Mio. hL. Der deutsche Weinmarkt ist damit weltweit der viertgrößte Verbrauchermarkt für Wein (Frankreich ca. 33 Mio. hL, Italien ca. 28 Mio. hL, USA ca. 24 Mio. hL).

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht (2012).
2. Carstens, C., Deckwart, M., Webber-Witt, M., Schäfer, V., Eichhorn, L., Brockow, K., Fischer, M., Christmann, M. und Paschke-Kratzin, A.: Evaluation of the Efficiency of Enological Procedures on Lysozyme Depletion in Wine by an Indirect ELISA Method. *J. Agric. Food Chem.* 26, 6247–6253, DOI 10.1021/jf405319j (2014).
3. Carstens, C., Deckwart, M., Webber-Witt, M., Schäfer, V., Eichhorn, L., Brockow, K., Fischer, M., Christmann, M. und Paschke-Kratzin, A.: Development of a sensitive ELISA for detection of casein containing fining agents in red and white wines. *J. Agric. Food Chem.* 28, 6803–6812, DOI 10.1021/jf5006098 (2014).
4. Carstens, C., Deckwart, M., Webber-Witt, M., Schäfer, V., Eichhorn, L., Brockow, K., Fischer, M., Christmann, M. und Paschke-Kratzin, A.: Impact of wine manufacturing practice on the occurrence of fining agents with allergenic potential. *Food Additives & Contam.* DOI 10.1080/19440049.2014.963700 (2014).

5. Christmann, M. und Webber-Witt, M.: Kennzeichnungspflicht: Allergene Rückstände. *Der Dt. Weinbau* 8, 34-35 (2012).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Universität Hamburg  
Hamburg School of Food Science  
Institut für Lebensmittelchemie  
Grindelallee 117, 20146 Hamburg  
Tel.: +49 40 42838-4359  
Fax: +49 40 42838-4342  
E-Mail: markus.fischer@uni-hamburg.de

Forschungsanstalt Geisenheim  
Institut für Weinbau und Rebenzüchtung  
FG Kellerwirtschaft  
Blaubachstr. 19, 65366 Geisenheim  
Tel.: +49 6722 502-171  
Fax: +49 6722 502-170  
E-Mail: M.Christmann@fa-gm.de

Technische Universität München  
Klinik und Poliklinik für Dermatologie  
und Allergologie am Biederstein  
Biedersteiner Str. 29, 80802 München  
Tel.: +49 89 4140-3170  
Fax: +49 89 4140-3171  
E-Mail: johannes.ring@lrz.tu-muenchen.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 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:

