

## **Stabiliseren van eiwit**

(Das Deutsche Weinmagazin 1/2 van 19 januari 2021)

### **Klimaatverandering en bentonietklaring.**

Het stabiliseren van eiwit in wijn hoort normaliter bij de basiskennis van het wijn maken. Iedere leerling leert in het beroepsonderwijs en bij de stagebedrijven hoeveel bentoniet de wijn nodig heeft en hoe daarna de klaring moet worden uitgevoerd. En toch zien we nog steeds flessen met troebels die door eiwitten veroorzaakt worden. Ofschoon het probleem voldoende bekend is, treden deze problemen steeds weer op.

De oorzaak van de troebels kan enerzijds door fouten bij de berekening van de benodigde hoeveelheden veroorzaakt zijn; anderzijds ook door de wijziging van het normale kader. Bij dit kader spelen omstandigheden van buitenaf, zoals de weersomstandigheden in het seizoen een niet onbelangrijke rol.

### **Behoeftebepaling.**

Het gehalte aan voor troebels relevante eiwitten verschilt heel sterk van wijn tot wijn en hangt van veel factoren af. Naast de oenologische invloeden, vooral door hulpstoffen, zijn vooral de bovengenoemde weersomstandigheden, stressfactoren voor de druif en de soort druif voor de verschillende gehalten aan voor troebels relevante eiwitten. Rosch (2012) heeft de verschillende methoden voor het vaststellen van deze eiwitten onderzocht. De normale bentotest blijkt vaak een te hoge bentonietbehoefte aan te geven omdat alle eiwitten in het proefstaaltje geklaard worden; ook die, welke niet relevant zijn voor vertroebeling.

De eveneens algemeen gebruikelijke warmtetest geeft hier meer realistische resultaten. Bij de warmtetest spelen de temperatuur en vooral de duur van de verwarming een beslissende rol. Onderzoek van Pocock en Waters (2006) hebben aangetoond, dat alleen een warmhoudperiode van meer dan twee uren betrouwbare uitkomsten oplevert, waarbij de tijd die nodig is om de juiste temperatuur te bereiken ook in aanmerking moet worden genomen. Proeven van Sauvage et al (2010) hebben aangetoond dat de voor troebels relevante eiwitten pas vanaf een temperatuur van 70 graden C gedenatureerd wordt. Proeven aan de LWG Veitshöchheim bevestigen deze verklaring, maar hebben daarnaast aangetoond dat vooral na de toepassing van lysozym de warmtetest pas vanaf een temperatuur van 80 graden C betrouwbaar is, omdat lysozym-eiwit bij 70 graden C vaak niet volledig uitvalt.

Om rekening te houden met het lysozym-eiwit wordt een warmtetest met een warmhoudperiode van 4 uren bij 80 graden C aanbevolen. Voor de toepassing van de warmtetest is niet direct een dure klimaatkast nodig. Hier kan de man uit de praktijk op het wijngoed ook de oven in de keuken gebruiken, wanneer zich daar de temperatuur relatief exact laat instellen. Belangrijk is daarbij dat met een geschikte thermometer (bijvoorbeeld vleesthermometer) gecontroleerd wordt om er zeker van te zijn dat 80 graden C ook bereikt worden.

In de praktijk blijkt dat de warmtetest in de bedrijven heel verschillend wordt uitgevoerd. De methoden variëren van een uur bij 90 graden C tot 72 uren bij 60 graden C.

Uit proeven is echter gebleken dat noch een hogere temperatuur de warmhoudperiode compenseert, noch het omgekeerde. Daarom zouden voor de warmtetest absoluut de voorwaarden van 80 graden C en vier uren aangehouden moeten worden.

Een beoordeling van de vertroebeling mag dan pas na het volledige afkoelen plaatsvinden, omdat het vaak pas hierbij tot het uitvlokken van de eiwitten komt. Voor de beoordeling moet een sterke lichtbron achter de reageerbuisjes of een meetapparaat

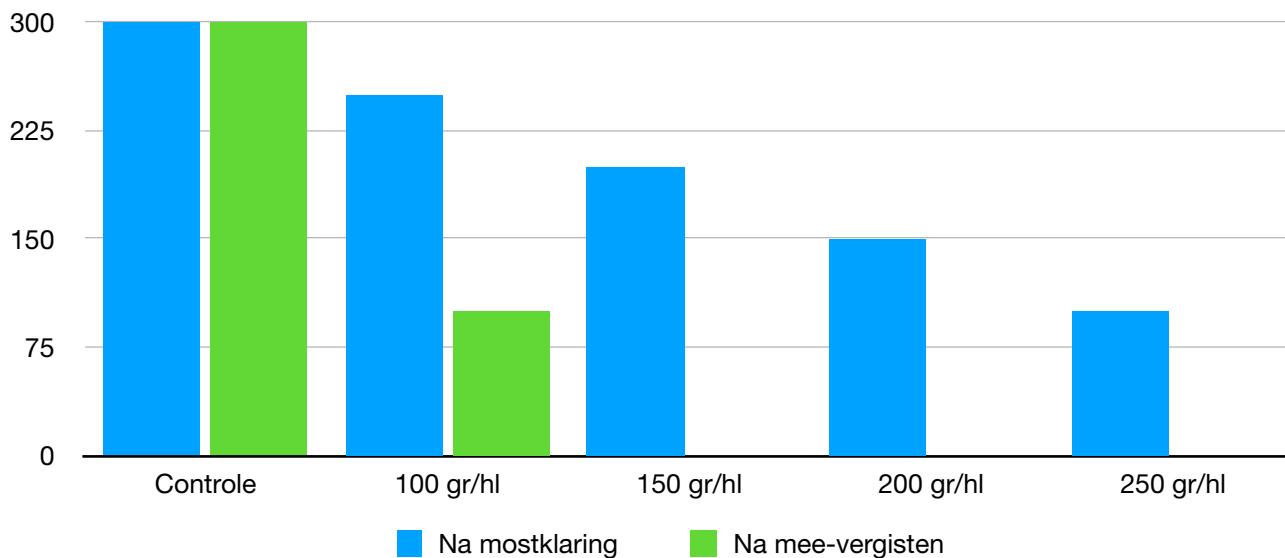
gebruikt worden. Bij de troebelmeting na de warmtetest gaat men van eiwitstabiliteit bij kleiner of gelijk aan 2 NTU (turbidity units) uit. Voorwaarde is natuurlijk dat de proefstalen vóór de warmtetest via een vouwfilter absoluut helder gefilterd werden, anders kan het resultaat na de test niet beoordeeld worden.

### Bentoniëtklaring.

De correcte behoeftebepaling is de basis van elke bentoniëtklaring. Ze wordt echter alleen bij de klaring van wijn toegepast. De dosering van bentoniet bij de mostklaring berust daarentegen in de regel op ervaring. De reden hiervoor vormen vermoedelijk twee punten: in de eerste plaats neemt niemand zich in de drukke herfst de tijd om het eiwitgehalte te bepalen en in de tweede plaats kon de bentonietbehoefte met de tot nu toe gebruikelijke testen in het moststadium niet correct bepaald worden. De bentotest levert in most geen bruikbaar resultaat op en de vaak gebruikelijke warmtetest is bij een voortvarende mostverwerking niet toepasbaar en zou ook geen betrouwbare resultaten geven.

Bij de mostklaring zijn vaak hogere doseringen aan bentoniet nodig, terwijl bij het mee-vergisten van bentoniet meestal reeds kleine doseringen voldoende zijn. Een voorbeeld hiervoor is een proef met Silvaner die zonder voorklaring na de vergisting een bentonietbehoefte liet zien van 250 gram per hectoliter. De varianten van deze proef, die met 200 gram per hectoliter in het moststadium geklaard werden, gaven na de gisting nog steeds een bentonietbehoefte van 150 gram per hectoliter. Dat betekent dat de mostklaring met 350 gram per hectoliter had moeten gebeuren om de wijn later eiwit-stabiel te krijgen. De varianten, waarbij 200 gram bentoniet mee-vergist werden, waren na de gisting allemaal eiwit-stabiel, ongeacht welk bentoniet gebruikt werd.

Diagram 1



Tabel 1

Bentoniëtklaring	Na mostklaring	Na mee-vergisten		
Controle	300	300		
100 gr/hl	250	100		
150 gr/hl	200	0		
200 gr/hl	150	0		
250 gr/hl	100	0		

Diagram 1 toont een Pinot Blanc, die in de controlewijn een volgens de warmtetest vastgestelde bentonietbehoefte van 300 gr/hl heeft. Het mee-vergisten van 150 gr/hl bentoniet volstond echter al om deze variant na de gisting geen bentonietbehoefte meer te laten aangeven. De in de proef bij de varianten hoogste bentoniethoeveelheid bij de mostklaring was bij lange na niet voldoende om een eiwit-stabiele wijn te krijgen. Naast de grote tijdsbesparing tijdens de voorklaring is de duidelijk geringere bentonietbehoefte een belangrijk punt extra, dat voor het mee-vergisten van bentoniet spreekt. Ook de vermindering van de voedingsstoffen door een voorklaring vindt in dermate geringere mate plaats, dat ze voor de voeding van de gist geen rol speelt. Een vermindering van YAN (voor gist assimileerbare stikstof) kon aan de hand van langjarig onderzoek niet bevestigd worden. De ontwikkeling van het gehalte aan NOPA, die informatie verstrekt over de door de gist assimileerbare aminozuren lalswel de ontwikkeling van de ammoniumconcentratie tijdens de vergisting bij een proef met Silvaner, hebben dit resultaat bevestigd.

De invloed van bentoniet op het gehalte aan Thiamine (vitamine B1) daarentegen is al lang bekend. Thiamine is als co-factor voor de beslissende stap bij de stofwisseling van gist nodig waarbij Pyruvaat in Ethanal (Acetaldehyde) en daarna in alcohol omgezet wordt. Daardoor heeft Thiamine vooral invloed op de afbinden van SO<sub>2</sub> na de gisting. Door de toevoeging van bentoniet in het moststadium wordt het gehalte aan thiamine duidelijk verminderd en moet het door het toevoegen van vitamine B1 gecompenseerd worden.

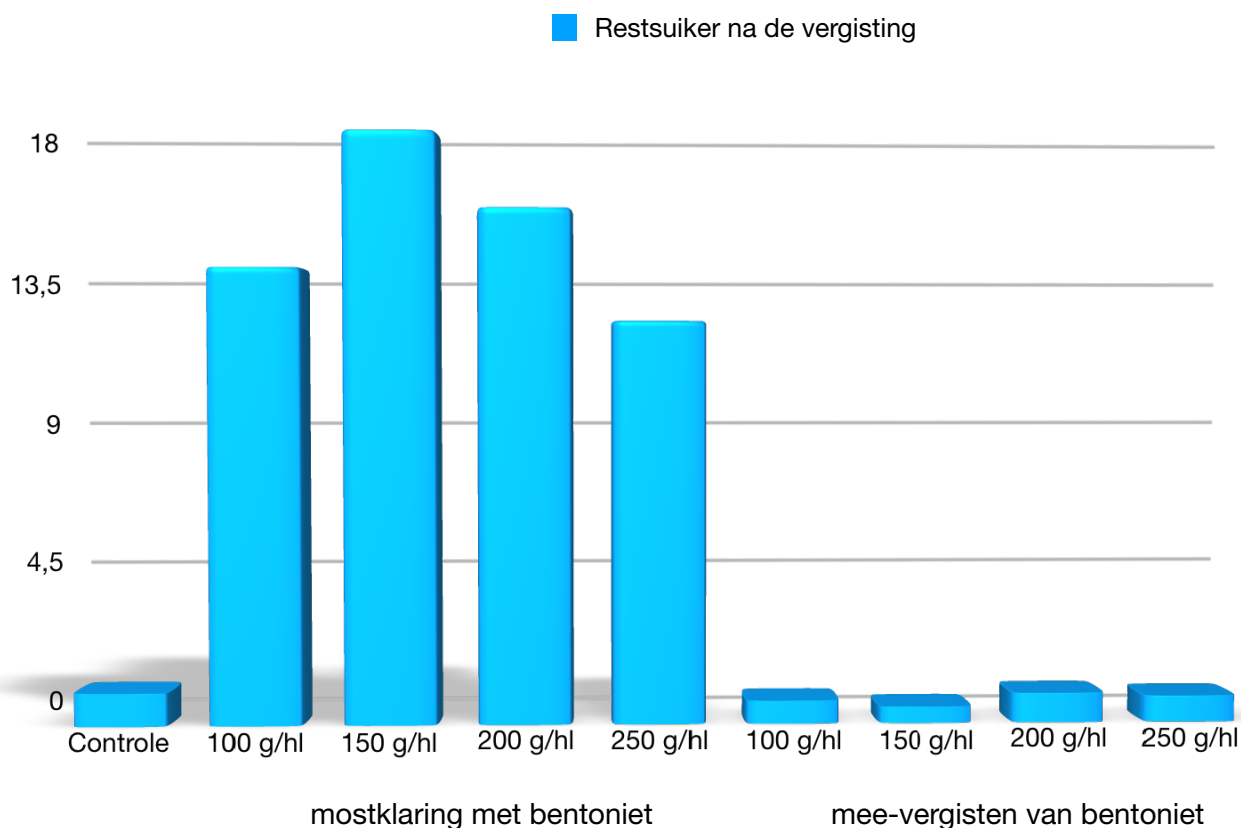
Ondanks de vroege toediening van bentoniet tijdens de vergisting en de vrees dat het gehalte aan extra toegediend Thiamine op dezelfde manier negatief beïnvloed zou kunnen worden als in de mostklaring, kon in de proeven geen negatieve invloed van het mee-vergisten op het Thiamine-gehalte waargenomen worden. Zowel het gehalte aan totaal-SO<sub>2</sub> alsook de onderzochte vergistingsnevenproducten direct na de gisting lieten geen conclusie met betrekking tot het Thiamine-gehalte toe.

### **Problemen bij de eindvergisting.**

Een belangrijk punt dat, wat betreft de mostklaring (bij de voorklaring) als zeer kritiek moet worden gezien, is het steeds weer optreden van problemen in de eindvergisting die duidelijk op de mostklaring met bentoniet terug te voeren zijn. Ofschoon noch de ontwikkeling van troebels in de gistende most, noch de verzorging van de gist met stikstofverbindingen invloed op de gisting konden uitoefenen, kwam het in de afgelopen jaren in sommige proefopstellingen tot stilvallende vergistingen, die uitsluitend bij de varianten met bentonietklaring in het moststadium optraden. Bij een Pinot Blanc zijn bijvoorbeeld de controlestaal en alle varianten, waarbij bentoniet werd mee-vergist, tot op minder dan 1 gram vergistbare suiker uitgegist. De vier varianten, die in het moststadium geklaard werden, hadden allemaal restsuikergehaltes tussen 12 en 18 gram per liter. Een vergelijkbaar beeld toonde in het volgende jaar een proef met Silvaner.

Een wetenschappelijke verklaring hiervoor kan uit de bestaande literatuur en de lopende onderzoeken niet gegeven worden. Een mogelijke verklaring zou kunnen liggen in de adsorptie van essentiële gistvoedingsstoffen, vitamines en sporenelementen, die de vitaliteit van de gist bij mostklaring beïnvloedt. Bij de varianten, waarbij bentoniet mee-vergist werden deze weliswaar evenzeer geadsorbeerd, maar het effect daarvan schijnt de groei van de gistcellen niet te beïnvloeden, omdat de bentoniet zich tijdens de vergisting voortdurend in de vergistende most bevindt.

De proeven tonen aan dat het mee-vergisten van bentoniet in tegenstelling tot de mostklaring een grotere zekerheid biedt met het oog op een storingsvrije eindvergisting.



Restsuikergehalte na de gisting, afhankelijk van de methode van klaring met bentoniet: geen klaring (controle); mostklaring; mee-vergisten bij Pinot Blanc.

### Hoe ontstaan eiwittroebels.

Een eiwittroebel kan door verschillende factoren ontstaan. In de meeste gevallen gaat het om zuivere eiwit-eiwitcomplexen die als thermo-labiel door schommelingen in temperatuur uitvallen. Werde de wijn voor het afvullen met de warmtetest (4 uren bij 80 graden C) onderzocht en stabiel bevonden, dan kan het uitvallen van thermo-labiele proteïnes in de fles uitgesloten worden, als de wijn na het onderzoek onveranderd afgevuld wordt.

Een andere oorzaak kan de reactie van proteïne (eiwit) met polyphenolen zijn. Deze complexen vallen in de regel al tijdens de lagering in tank of vat uit, als ze daar voldoende tijd voor hebben. Dat is ook de reden dat rode wijn (vooral bij pulpgisting) of witte wijn in nieuwe vaten normaliter geen behoefte aan bentoniet voor de klaring vertonen. Het hoge gehalte polyphenolen reageert met de troebel-relevante proteïnen en laat deze uitvallen. Na het bottelen kan deze reactie van polyphenolen uit natuurkurk met nog in de wijn aanwezige proteïnen tot de zogenaamde "kurkvlag"leiden, een tannine-proteïne troebel ter hoogte van de kurk.

Door het toenemende gebruik van alternatieve sluitmiddelen, zoals schroefdoppen, speelt dit fenomeen nog maar een onderschikte rol. Met het afnemend gebruik van de natuurkurk is de warmtetest bij het testen van de bentonietbehoefte voor de klaring de standaard geworden, omdat het testen op thermo-labiele eiwitten voldoende is. De

toepassing van de bentotest, die ook rekening houdt met de mogelijke instabiliteit van proteïne-polyphenol-complexen heeft daarmee aan betekenis verloren en is in theorie alleen nog maar nodig bij met natuurkurk afgesloten wijnen.

### **Nieuwe toestand.**

In de voorbije drie jaargangen (2018 tot 2020) is de toestand veranderd. Door de enorm hete zomers en de extreme hittegolven is de proteïne-synthese gestegen. De anders voor de vergisting in voldoende mate aanwezige stoffen zoals ammonium en door gist assimileerbare aminozuren (NOPA) worden tot proteïnen gesynthetiseerd en zijn nog maar gebrekkig aanwezig. Gelijktijdig stijgt het gehalte aan toebel-relevante proteïnen en daarmee ook de bentonietbehoefte. Terwijl bij druivensoorten met geringe bentonietbehoefte (zoals Müller-Thurgau, Bacchus of Riesling) het mee-vergisten van 100 g/hl, en bij druivensoorten met een hoge bentonietbehoefte (zoals Silvaner, Pinot en Traminer) het mee-vergisten van 150 tot 200 g/hl absoluut voldoende was, om later een eiwitstabele wijn te krijgen, is dit in de afgelopen jaren niet meer het geval. Dat ligt aan de duidelijk verhoogde proteïne-gehalten door de hete zomers. Gelijktijdig is ook nog een verhoogd gehalte aan polyphenolen in de mosten te constateren, hetgeen aan de stress van de druiven door de droogte en de hitte te wijten is. Daardoor neemt tegelijk de kans toe op een proteïne-polyphenol-troebel in de latere wijn, die door een warmtetest wellicht niet geregistreerd wordt.

Een verdere "moderne" oorzaak voor eiwittroetels in de fles kan de in de laatste tijd steeds vaker voorkomende toepassing van tannine bij de fijnafstemming van wijnen vóór het bottelen zijn. Daarbij wordt vaak aan de reeds eiwitstabele wijn alsnog tannine toegevoegd, die dan in de loop van de tijd in de fles alsnog met nog aanwezige proteïnen reageert en tot een troebel voert.

### **Tot slot.**

Zowel het veranderende klimaat met zijn extreme hittegolven tijdens de groeiperiode als de toegenomen toepassing van tannine kort voor het bottelen kunnen mogelijke oorzaken van eiwittroetels zijn die in de afgelopen jaren sporadisch voorkwamen ondanks van tevoren vastgestelde eiwitstabiliteit.

Een verdere belangrijke factor is het juiste onderzoek van de klaringsbehoefte door de warmtetest gedurende 4 uren bij 80 graden C of de bentotest, speciaal wanneer vermeerderd polyphenolen een rol spelen.

Johannes Burkert, Felix Baumann, Markus Hartmann, LWG Veitshöchheim, Institut für Weinbau und Oenologie.

Vertaald door Ed Montforts.

Opmerking: bentoniet dus alleen mee-vergisten; dat is nadat de gisting op gang is gekomen, bentoniet dat van tevoren klaar is gemaakt, toevoegen en pas na de gisting (wanneer de bentoniet helemaal is uitgezakt) door afhevelen verwijderen.