

Preventie en vermindering van vluchtig zuur in wijngaard en kelder

DLR Rheinland, Wijnbouw en Oenologie, Prof. Dr. Ulrich Fischer

In het verleden waren wijnen met vluchtig zuur een teken van onhygiënisch en onzorgvuldig kelderwerk, meestal veroorzaakt door ambachtelijke fouten zoals het te laat bijvullen van vaten en tanks. Dit is inmiddels wezenlijk veranderd. In 2000, 2006 en 2014, de laatste drie jaargangen met opvallend hoog vluchtig zuur, werd deze verhoging veroorzaakt door ongewone weersgesteldheden, en kwam het vluchtig zuur door besmette druiven in de kelder. Over de hele wereld is vluchtig zuur kenmerkend voor de wijnbouw in met name warme klimaten, vooral wanneer een hoge neerslag daarbij de gevoeligheid van de druiven nog verder verhoogt.

Een deur gaat open in de wijngaard

In het jaar 2014 kwam daar in Duitsland, met de suzukii-fruitvlieg (in het Duits "kers-azijnvlieg", kortweg KEF) een nieuwe parameter bij. Deze fruitvlieg zette in feite de deur wijd open voor de bacteriële veroorzaker van vluchtig zuur. Zoals bekend beschadigt *Drosophila suzukii* met haar gekartelde 'legboor' actief de schil van de druif, om zo eieren in te brengen in de bes. Dit heeft tot gevolg dat ook micro-organismen een onbelemmerde toegang tot de bes krijgen. Wilde gisten beginnen al in de wijngaard, in reeds afgevalen bessen met de fermentatie van suikers, en produceren daarbij fruitige esters, de bekende gistingsaroma's. De daardoor aangetrokken fruitvliegen infecteren de gistende bessen nog sterker, en zo kan een ongelofelijk snelle verspreiding van wilde gisten en ook van azijnzuur-bacteriën in de wijngaard zijn beslag krijgen.

Producenten van vluchtig zuur in de trossen

Bij azijnzuur-bacteriën onderscheidt men de soorten *Gluconobacter* en *Acetobacter*. De *Gluconobacters* zijn in staat glucose direct te oxideren en - na meerdere tussenstadia - azijnzuur te maken. Dit azijnzuur kan niet verder worden geoxideerd, zodat het zich in de bes ophoopt. De *Acetobacters* hebben echter een alcoholische gisting nodig, aangezien ze alleen de daaruit ontstane ethanol tot acetaldehyd en azijnzuur kunnen oxideren. Sommige wilde gisten, zoals

Hansenula uvarum, vroeger wel *Kloeckera apiculatus* genoemd, produceren ook tot wel 2 gr / l azijnzuur.

Als wijnproducenten denken we binnen de grenzen van de verhandelbaarheid van wijnen. Die grens ligt voor witte wijnen bij 1,08 gr / l vluchtig zuur, en voor rode wijn bij 1,2 gr / l. Hoe krachtig azijnzuurbacteriën eigenlijk kunnen zijn, blijkt uit de aanwezigheid van 5 en 6 % azijnzuur in spijs-azijnen, wat neerkomt op 50 tot 60 gr / l. Het record voor de hoeveelheid azijnzuur in druiven was dit jaar voor een volkstunder, wiens sterk aangetaste trossen het tot een indrukwekkende 30 gr / l brachten. Wat elke wijngaardenier verraste, was de extreem snelle stijging van vluchtig zuur in de door de suzukii-fruitvlieg geteisterde wijngaarden. Ten eerste bevorderden de warme temperaturen eind augustus en begin september, met dagelijkse gemiddelden van 23° C de microbiologische activiteit. Maar ook kwamen uit de wijngaard meegevoerde azijnzuur-bacteriën dit keer in verse druivenmost terecht. Bij normale azijnsteek komen de azijnzuur-bacteriën eerst dan in het spel, wanneer de druiven door *Botrytis cinerea* zijn aangetast, en wilde gisten ook reeds ethanol geproduceerd hebben. Deze pré-infecties, al meerdere dagen aan de gang, hebben dan al belangrijke voedingsstoffen en vitaminen uit de most verbruikt, zodat de daaropvolgende azijnzuur-bacteriën bij hun groei genoeg moeten nemen met wat er overbleef. Azijnbacteriën in verse most zijn echter een ander verhaal.

Preventie in de wijngaard

Door de snelle formatie van azijnzuur in de wijngaard was de eerste en belangrijkste taak in het kritieke jaar 2014, om steeds goed en up-to-date geïnformeerd te zijn, alsook om zeer snel de nodige oogst-beslissingen te nemen. Naast een vroege oogst was de meest effectieve, maar ook tijdrovende manier om vluchtig zuur te reduceren: een negatieve selectie in de wijngaard. In tegenstelling tot een specifieke azijnzuur-rotting (oftewel "Essigfäule") is de aantasting door de suzukii-fruitvlieg en het insluipen van micro-organismen niet te herkennen aan een verandering in de kleur van blauwe druiven. Het inzicht dat met name trossen in de schaduw sterker aangetast waren dan zonovergoten trossen, hielp bij het zoeken naar en wegnemen van trossen met verhoogd vluchtig zuur, naast ook de toepassing van de menselijke reukzin.

Maatregelen bij de oogstverwerking

Omdat azijnzuur-bacteriën, en ook de *Hansenia uvarum*-gisten gevoelig reageren op SO₂, is een sulfiet-gift van 50 mg / l SO₂ - het best direct op de geoogste druiven in hun verzamelbak - de eerste maatregel om een verdere groei van azijn-bacteriën te verhinderen. Bij pH-waarden boven 3,3 is het raadzaam om met de voor 2014 toegestane toevoeging van wijnsteenzuur, de pH tot 3,2 te verlagen en aldus de effectiviteit van het SO₂ te vergroten en zo ook pH-waarden te voorkómen waarop melkzuurbacteriën eveneens vluchtig zuur kunnen maken.

Bij het controleren van het gehalte aan azijnzuur is het belangrijk om de staal voor de analyse niet al te trekken uit de oogstbakken, maar alleen uit de geperste most, of minstens uit pulp die reeds ontsteeld en gekneusd is. Zoals ook in de wijngaard al makkelijk te zien was, neigen de aangetaste bessen naar een ongewoon sterk lekken van sap. Daarom zou de vloeistof in de oogstbakken, relatief teveel azijnzuur laten zien, omdat het aandeel sap van de gezonde en onbeschadigde bessen pas na het kneuzen en/of persen aan de most wordt toegevoegd, en pas daar de totale hoeveelheid azijnzuur naar beneden zou corrigeren.

De analyse van vluchtig zuur gebeurt meestal met behulp van de FT-MIR spectrometer (GrapeScan). De meeste analysecentra in de Pfalz hebben ook dit jaar deelgenomen aan de door DLR Rheinland-Pfalz aangeboden en uitgevoerde ringtest. Daarbij werden aan de hand van 14 mosten de actuele FT-MIR calibraties van de apparatuur gecheckt en vergeleken met de exacte referentie-metingen in het geaccrediteerde laboratorium van het DLR Rheinland-Pfalz. De calibraties worden vervolgens aangepast aan de jaargang, en meer in het bijzonder geoptimaliseerd voor een goede overeenstemming van de parameters voor vluchtig zuur en gluconzuur.

Van fundamenteel belang is een snelle verwerking en een goede hygiënische staat van de oogstmachines en apparatuur voor de verwerking van druiven. Voor de rode wijn-bereiding is ook pulpverhitting aan te bevelen, aan de ene kant om de schadelijke organismen uit de wijngaard volledig te elimineren, en ten tweede om de extractie van groene tannines en onrijpe aromastoffen bij de pulpvergisting straks te voorkomen. Ook bij witte druiven met azijnzuur, is een warmtebehandeling van de voorgeklaarde most bij 70-74 ° C gedurende 40 seconden aan te bevelen, om schadelijke organismen zeker buiten te sluiten. .

Strategie bij de vergisting

Gist is in staat azijnzuur op te nemen. Hoe lager de pH, des te lager de dissociatie-graad van de zuren - d.w.z. hoe minder snel ze uiteenvallen in ionen - en hoe beter die zuren kunnen worden opgenomen door de gist, omdat ze, zolang hun moleculen intact zijn, geen lading hebben. Aangezien azijnzuur vergeleken met wijnzuur, appelzuur en melkzuur veel zwakker is en pas bij een hoge pH van 4,75 voor de helft gedissocieerd, kan het relatief gemakkelijk in de gistcel doordringen. Met toenemend alcoholgehalte neemt deze opname van azijnzuur exponentieel toe. De gistcel zelf, heeft echter een hoge pH-waarde van 6,5, waardoor het azijnzuur direct dissocieert en een H⁺ ion afgeeft, wat leidt tot een verlaging van de pH-waarde in de gistcel. Deze verzuring van de gist vertraagt de stofwisseling, tot de vergisting zelfs voortijdig kan stilvallen. Tegelijkertijd kan de gist echter ook actief, onder inbreng van energie, via verschillende transportwegen het azijnzuur in de cel insluiten. Deze 'dragers' worden door glucose en ethanol geremd, waardoor de grootste absorptie van het azijnzuur in het midden van de vergisting plaatsvindt, wanneer de meeste, verdragende glucose reeds vergist is, en tegelijkertijd het alcoholpercentage nog beperkt.

Aangezien azijnzuur een remmende werking heeft op de vergisting, is het raadzaam om krachtige gisten te gebruiken, in de iets hogere doseringen van 20 tot 40 gr / hl om een vlot doorgisten te waarborgen. Hierbij is ook een goede, complexe gistvoeding van belang, waar ook gistcelwanden en een gistcellenextract deel van uitmaken, die korte ketens van vetzuren kunnen absorberen, en zo het remmend effect van deze vetzuren op de vergisting kunnen tegengaan.

Het verrassende aan het verloop van de vergistingen van jaargang 2014 was ten eerste, dat er weinig verstoringen van de vergisting waren, en in de tweede plaats dat het vluchtig zuur, al naar gelang de uitgangswaarde, tijdens vergisting met 0,2 tot 0,3 gr / l afnam. Het goede verloop van de gisting is zeker te danken aan de warme kelders, omdat het pas in november koud werd en de wijnen al waren doorgegist, lang voordat de kelders konden afkoelen. Een antwoord op het verschijnsel azijnzuur-reductie is iets gecompliceerder, want tot nu toe in de praktijk nog maar zelden waargenomen. In principe vormen de *Saccharomyces cerevisiae*-gisten in suikerrijke mosten van zgn. "Beeren-" en "Troockenbeerenauslesen" zelf azijnzuur om de osmotische stress van het hoge suikergehalte te kunnen pareren. Op een vergelijkbare manier is er ook een verhoogde vorming van vluchtig zuur bij bepaalde koud vergistende gisten, veroorzaakt door de stress van lage vergistings-temperaturen bij toenemend alcoholgehalte. Ook een tekort aan pantotheenzuur kan de vorming van azijnzuur door de gist vergroten. (Vilela-Moura *et al.*, 2011).

De literatuur beschrijft echter ook de uitputting van het azijnzuur door gisten in de tweede fase van de exponentiële celgroei tijdens het eerste derde deel van de vergisting, omdat de gist het geactiveerde azijnzuur gebruikt als 'bouwelement' van de vetzuren voor zijn celmembranen. Al in de 30er jaren van de vorige eeuw werd de wijnmaker aanbevolen om wijn met azijnsteek, samen met twee keer zoveel verse most en een krachtige gist opnieuw te vergisten. Deze menging van 1/3 aangetaste wijn met 2/3 verse most optimaliseerde de opname en vertering van het azijnzuur door de gist. Een recent experiment gebruikte voor dit zelfde doel een wijn met 1,1 gr / l vluchtig zuur, en gedurende de vergisting daalde het vluchtig zuur in het most-wijn-mengsel inderdaad: van 0,73 gr / l tot een aanvaardbare 0,37 gr / l (Vilela-Moura *et al.*, 2011). Een Franse werkgroep behandelde een most met 0,25, 0,5, 0,75, 1 en 2 gr / l azijnzuur, en stelde na de alcoholische vergisting een afbraak vast van steeds ongeveer 50% van het toegevoegde zuur. Daarbij verlengde de toevoeging van azijnzuur de beginfase van de vergisting, de celgroei en vooral het aantal gistcellen en de biomassa (Vasserot *et al.* 2010). Deze publicaties laten dus zien dat sommige giststammen in staat zijn azijnzuur af te bouwen, in het bijzonder wanneer - zoals in de herfst van 2014 - het azijnzuur aan het begin van de vergisting in hogere concentraties aanwezig is.

De technische verwijdering van vluchtig zuur

Sinds meer dan 20 jaren gebruiken wijnproducenten in overzeese, warme klimaatzones een proces-in-twee-stappen om vluchtig zuur aan een wijn te onttrekken. Daartoe worden gefilterde wijnen door een omkeer-osmose- of een nanofiltratie-module geleid. Moleculair gezien kleine en ongeladen stoffen als water, alcohol en het niet-gedissocieerde azijnzuur passeren een membraan, terwijl de meeste 'grovere' wijn-ingrediënten als wijnzuur, appelzuur, kleurpigmenten, bitter- en aromastoffen, het membraan niet doorkomen, en in de 'wijn' achterblijven. Het waterige en alcoholhoudende permeaat wordt vervolgens door een an-ionen-wisselaar geleid, waarin bij een pH van 11-13, het azijnzuur geheel wordt gedissocieerd en wordt ingewisseld voor eveneens negatief geladen OH-ionen. Gelukkig splitst ook het geur-actieve, naar oplosmiddel ruikende ethylacetaat bij deze hoge pH waarden, en wordt eveneens verwijderd. Het selectieve, alleen qua azijnzuur verarmde permeaat gaat terug in de wijn.

Het membraan van de nanofiltratie heeft grotere poriën, zodat het debiet, de doorgang van wijn hier groter is, en ook de overgang van het azijnzuur in het permeaat veel sneller verloopt, wat de duur van de behandeling aanzienlijk verkort. Na verloop van tijd raakt de anionenwisselaar uitgeput, herkenbaar aan een dalende pH-waarde. Door de toevoeging van een sterke kali- of

natriumloog wordt de wisselaar gereset, waarbij de OH- ionen van het loog het azijnzuur verdringen.

Voor deze behandeling loopt op dit moment een proces van goedkeuring bij de Internationale Organisatie voor Wijn (OIV), de behandeling is nog niet toegestaan in de EU. Voor de jaargang 2014 kunnen echter bij de ADD in Trier vergunningen voor proefnemingen worden aangevraagd, die het mogelijk maken voor bedrijven om de dienstverlening van het verwijderen van vluchtig zuur legaal ter hand te nemen, net als de bijbehorende adviezen en analyses van de DLR Rheinlandpfalz. Afhankelijk van het volume van de wijnen en de marge van de vermindering van het vluchtige zuur kost deze dienstverlening tussen de 20 en 30 eurocent per liter wijn. Uitgezonderd zijn wijnen die vóór de behandeling niet meer verhandelbaar waren, omdat ze de wereldwijd geldende maxima overschreden, van 1,08 gr / l vluchtig zuur voor witte wijnen en 1,2 gr / l voor rode wijnen. Experimenten met de jaargangen 2000 en 2006 bij het DLR Rheinlandpfalz toonden het analytische succes van de behandeling aan, maar lieten ook zien dat met een duidelijke sensorische vermindering van de invloed van vluchtig zuur, andere rot-gerelateerde wijnfouten gingen domineren. Gezien de zeer snelle vorming van vluchtig zuur in op zich nauwelijks door rot aangetaste rode wijndruiven van jaargang 2014, hoort er bij de behandelde wijnen van 2014 een aanzienlijke sensorische verbetering mogelijk te zijn.

Conclusie

Gezien de huidige klimaatverandering en de althans niet op korte termijn voorzienbare, volledige uitroeijing van de suzikii fruitvlieg in Duitsland met biotechnologische methoden, kunnen verhoogde niveaus van vluchtig zuur frequente begeleiders worden van onze druiven en wijnen. Zowel technologische als microbiologische methoden voor het verminderen van het vluchtig zuur moeten verder wetenschappelijk worden bestudeerd, en hun algemene toelating binnen de EU zal serieus moeten worden onderzocht.

Literatuur

Vilela-Moura, A. Schuller, D., Mendes-Faia, A., Silva, RD, Chaves, SR, Sousa, MJ, Corte-Real, M. (2011), *The impact of acetate metabolism on yeast fermentative performance and wine quality: reduction of volatile acidity of grape musts and wines*. In: Appl. Microbio. Biotechnol., 89:271-280.

Vasserot, Y., Mornet, F., Jeandet, P. (2010), *Acetic acid removal by Saccharomyces cerevisiae during fermentation in oenological conditions. Metabolic consequences.*
In: Food Chemistry, 119:1220-1223.

Verdere vragen? Ulrich Fischer, tel. 0046 - 63 21/6 71-2 94. E-mail: ulrich.fischer@dir.rlp.de