

## ERGEBNISSE EINER UNTERSUCHUNG ÜBER “BRETT” IN PINOT NOIR AUS FINGER LAKE

Lorenza Conterno, Thomas Henick-Kling

Cornell University, Department of Food Science and Technology, New York State Agricultural Experiment Station

### Einleitung

*Brettanomyces bruxellensis* wurde mit Weinen in Verbindung gebracht, die Gerüche nach “verbranntem Plastik”, “nasser Wolle”, “Pferdeschweiß” und “Stall” haben. Die Hefe kann im Wein auch wachsen, wenn die Zellenanzahl gering ist und kann den kombinierten Stress von Essigsäure, freiem Schwefeldioxid, Weinsäure und Ethanol aushalten. *Brettanomyces bruxellensis* tendiert dazu, große Mengen Essigsäure zu produzieren und die fruchtigen phenolischen Verbindungen in nicht gewünschte Aromen umzuwandeln, wie 4-Ethylphenol und 4-Ethylguaicol, die dem Wein den Geruch von verbranntem Plastik, Bandaid®-Plastik und Stall verleihen (Chatonnet *et al.*, 1992, 1997; Licker, 1998; Arvik, 2002).

Diese Gerüche sind schlechtriachend, jedoch können geringe Konzentrationen von „Bretty-Aromen“ die Aromakomplexität des Weins erhöhen, wenn sie nah an der Konzentration der Wahrnehmungsschwelle gehalten werden. Einige Önologen sind überzeugt, dass allein die Präsenz von *Brettanomyces* negativ für die Kellerei ist. Anderen gefällt der Charakter, den einige Stämme von *Brettanomyces bruxellensis* nicht reifen Weinen mit wenig fruchtigem Aroma verleihen können.

Die ubiquitäre Präsenz von *Brettanomyces* (Fugelsang, 1997) betrachtend, wurde eine Studie Seitens der Forscher besonders vorrangig. Wir haben *Brettanomyces* in zahlreichen Weinen aus NY und in abgefüllten Weinen aus anderen Regionen der USA sowie Europa isoliert (Arvik, 2002). Ein weites Panorama über das Phänomen „Brett“ wurde auf dem 31. Annual NY Wine Industry Workshop (Arvik and Henick-Kling, 2002) präsentiert.

In dieser Untersuchung wurde eine Bewertung der Wiederkehr von *Brettanomyces bruxellensis* in 28 Proben von Pinot Nero aus Finger Lake durchgeführt. Diese Weine wurden in Kellereien produziert, die Teil der Pinot Noir Alliance waren, die auch das Projekt 2002 unterstützt haben. Die Ergebnisse wurden mit den vorangehenden Untersuchungen über Cabernet verglichen (Arvik and Henick-Kling in progress).

### Materialien und Methoden

28 Proben von Pinot Noir aus Finger Lake, produziert in 15 Kellerein der Pinot Noir Alliance, wurden zur Bewertung der 4-Ethylphenol- und 4-Ethylguaicol-Konzentration analysiert. 100 Milliliter der Stichproben wurden auf einer Membran Millipore 0,45 Mikron unter sterilen Bedingungen steril gefiltert. Die Membran wurde auf ein Agarmedium YMC in Petrischalen eingepflegt. Die Ergebnisse wurden nach einer Woche registriert. Wenn eine Kolonie beobachtet wurde, wurde die Inkubation um 15 Tage verlängert.

19 Wein-Stichproben wurden analysiert. Es wurden 500 ml aus jeder Flasche entnommen und in einem sterilen Behälter zentrifugiert (7.000 Umdrehungen/min x 15 min). Die Pellets wurden in Reagenzgläsern mittels einer sterilen Reinigungsmaschine PBS gesammelt. Folglich wurden sie zweimal mit derselben Reinigungsmaschine gewaschen. Die Suspension wurde unter dem Mikroskop beobachtet (Phasenkontrast, 400x); darauf folgte der Brett-Bestätigungs-Test (Identifizierung über Fluoreszenz in situ Hybridisierung unter Verwendung einer PNA-Sonde in jenen Stichproben, in denen ein Vorkommen von *Brettanomyces bruxellensis*-Zellen ermittelt wurde (auf Basis ihrer Morphologie).

## Ergebnisse und Diskussion

Die Konzentrierung der Stichprobe mittels Zentrifugierung diente dem Ermitteln des Vorkommens von *Brettanomyces bruxellensis*-Zellen durch mikroskopische Beobachtung. Diese Lösung erlaubt uns, Zellen mit Brett-Morphologie zu sehen, auch wenn keine Kolonien über Membranfiltration ermittelt wurden (Tabelle 1). Die in den zentrifugierten Stichproben präsenten festen Partikel interferierten mit dem Bestätigungstest für *Brettanomyces*. Aus diesem Grund gab uns die Analyse der Stichprobe nach der Zentrifugierung die Möglichkeit, das Vorkommen von *Brettanomyces* ohne Informationen über seinen physiologischen Zustand (lebendig oder tot) zu vermuten.

Tabelle 1: Vorkommen von Zellen mit Brett-Morphologie in Stichproben, die nach der Membranfiltrierung oder Zentrifugierung analysiert wurden.

Stichprobe	Membranfiltrierung	Zentrifugierung
	CFU/100 mL	Si (1) o No (0)
PN01	0	1
PN02	0	0
PN04	1	1
PN05	0	1
PN06	0	0
PN08	0	1
PN09	0	1
PN10	0	1
PN12	0	0
PN13	0	0
PN14	0	0
PN16	0	0
PN18	0	1
PN20	0	1
PN22	0	0
PN24	116	1
PN25	0	0
PN26	0	0
PN28	0	1

Es wurden weitere Untersuchungen verfolgt, um eine Bewertungsmethode für den physiologischen Zustand der Zellen (lebendig oder tot) zu finden.

Das 4-Ethylphenol und das 4-Ethylguaiacol wurden in zahlreichen Stichproben gefunden (Tabelle 2) und in vier von diesen lag die Konzentration über 500 ng/ml.

Tabelle 2: 4-Ethylguaiacol- und 4-Ethylphenol-Gehalt in Pinot Noir aus Finger Lake

	4-Ethylguaiacol	4-Ethylphenol
	ng/mL	ng/mL
PN01	<4	<4
PN02	<4	<4
PN03	23	74
PN04	<4	23
PN05	<4	<4
PN06	<4	<4
PN07	344	1193
PN08	19	174
PN09	20	173
PN11	<4	<4
PN10	20	176
PN12	<4	<4
PN13	24	60
PN14	<4	<4
PN15	311	468
PN16	53	271
PN17	<4	<4
PN18	5	6
PN19	<4	7
PN20	139	689
PN21	88	301
PN22	50	221
PN23	203	236
PN24	403	570
PN25	<4	<4
PN26	<4	<4
PN27	<4	<4
PN28	<4	<4

Die Stichproben mit mehr als 50 ng/ml 4-Ethylguaiacol und/oder mehr als 300 ng/ml 4-Ethylphenol wurden chemisch als „Bretty“ klassifiziert (Cavin, 1993; Chatonnet, 1995). Der „Bretty-Charakter“ wurde mit sensorischem Test in sieben Weinen festgestellt. Das Vorkommen des Mikroorganismus wurde über Petrischale (lebende Zellen) nur in zwei Stichproben ermittelt, aber die Brett-Morphologie wurde unter dem Mikroskop in zehn Stichproben beobachtet.

Tabelle 3: Erforschung von *Brettanomyces bruxellensis* in Stichproben aus Finger Lake, Pinot Noir, über mikrobiologische, chemische und sensorische Analysen

	Chemische Klassifizierung	Sensorischer Test	Auszählung	Mikroskoptest	Gesamtzahl
PN01	0	1	0	1	2
PN02	0	0	0	0	0
PN03	0		0		0
PN04	0	1	1	1	3
PN05	0	0.5	0	1	1.5
PN06	0	1	0	0	1
PN07	1		0		1
PN08	0	0	0	1	1
PN09	0	0	0	1	1
PN11	0		0		0
PN10	0	1	0	1	2
PN12	0	0	0	0	0
PN13	0	0.5	0	0	0.5
PN14	0	0.5	0	0	0.5
PN15	1		0		1
PN16	1	0.5	0	0	1.5
PN17	0		0		0
PN18	0	0.5	0	1	1.5
PN19	0		0		0
PN20	1	1	0	1	3
PN21	1		0		1
PN22	1	0.5	0	0	1.5
PN23	1		0		1
PN24	1	1	1	1	4
PN25	0	0.5	0	0	0.5
PN26	0	1	0	0	1
PN27	0		0		0
PN28	0	0.5	0	1	1.5

Legende: 0: nein; 0.5: vielleicht; 1: ja

**Wertung** : kein sensorischer Test und keine mikroskopische Erhebung

Ein Bild des Pinot Noir-Survey kann in Abbildung 1 und Tabelle 4 betrachtet werden, wo die Stichproben auf Basis der beschriebenen Parameter klassifiziert wurden. In der Abbildung kann man sehen, für wie viele Parameter die Stichproben positiv bei der *Brettanomyces*-Analyse waren.

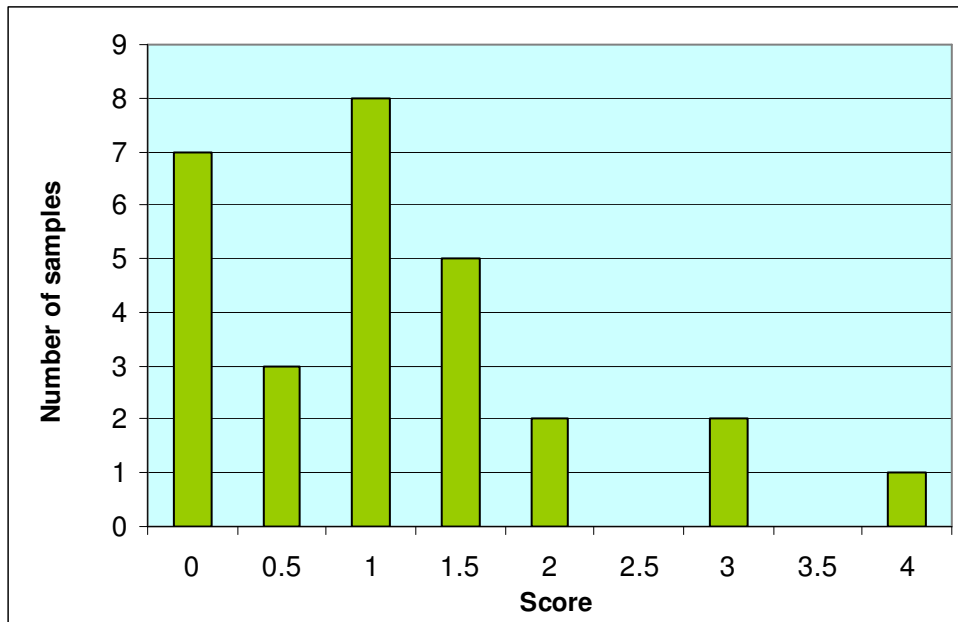


Abbildung 1: Erforschung von *Brettanomyces bruxellensis* in den Stichproben aus Finger Lake, Pinot Noir, bewertet mit mikrobiologischen, chemischen und sensorischen Analysen

Nach diesem Parameter haben weniger als 50% der analysierten Stichproben ein positives Ergebnis bei einem Großteil der Analysen. Nur in sieben Stichproben wurden die schlechten Gerüche von allen Degustatoren wahrgenommen. In fünf Stichproben, in denen ein falscher Geruch wahrgenommen wurde, wurde kein chemischer Marker gefunden. Es ist möglich, daraus den Schluss zu ziehen, dass der Pinot Noir in der Region Finger Lake nicht evident von *Brettanomyces* beeinflusst wird. Trotzdem dürfen die wenigen beobachteten Fälle nicht ignoriert werden. Tatsächlich haben, wie schon beim Cabernet Franc beobachtet, nur 36% der Stichproben bei allen für die Bewertung verwendeten analytischen Parametern negativ abgeschlossen (Abbildung 2).

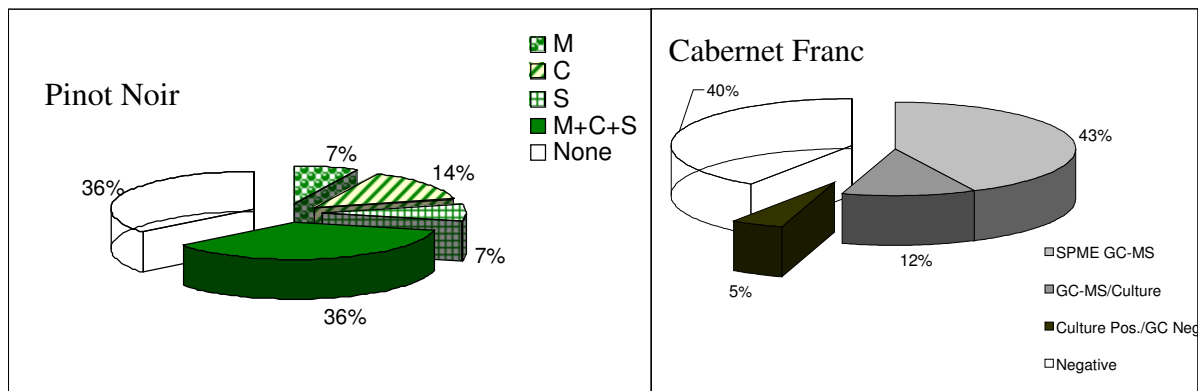


Abbildung 2: Erforschung von *Brettanomyces bruxellensis* in Stichproben von Finger Lake, Pinot Noir, bewertet mit mikrobiologischen (M), chemischen (C) und sensorischen (S) Analysen, verglichen mit Cabernet Franc Survey (von T. Arvik, personal communication)

In sechs Stichproben wurden lediglich Hefen (2 Stichproben) oder chemische Marker (4 Stichproben) gefunden, aber die „Brett-Gerüche“ wurden von dem Panel der Weinprüfer nicht ermittelt. Dies belegt, dass man das Vorkommen von *Brettanomyces*-Aktivitäten erheben kann, bevor schlechte Gerüche entstehen.

In 36% der Stichproben wird die Aktivität von *Brettanomyces bruxellensis* über die sensorische Analyse kombiniert mit der Präsenz mikrobieller Zellen und/oder chemischer Marker ermittelt. Die sensorische Analyse scheint manchmal der einzige Parameter zu sein, der in der Lage ist, die Veränderungen (7% der Stichproben) festzustellen. Die Abwesenheit der Zellen könnte erklärt werden durch ein nicht nachweisbare Kondition ihrerseits (lebendig, aber nicht kultivierbar in einer Kultur oder tot).

Studie präsentiert auf dem 32<sup>nd</sup> Annual New York Wine Industry Workshop, 2003.

### Bibliographie

ARVIK T.J., CONTERNO L., HENICK-KLING T., (2002) *Brettanomyces bruxellensis* in New York State wines: a global issue. Proceeding of 31<sup>st</sup> Annual New York Wine Industry Workshop. April 3-5. 124-125.

ARVIK T.J., HENICK-KLING T., (2002) Overview of *Brettanomyces*, its occurrence growth and effect on wine flavors. Proceeding of 31<sup>st</sup> Annual New York Wine Industry Workshop. April 3-5. 117-123. Reprint with permission from Practical Winery and Vineyard, May/June 2002.

CAVIN J.F., ANDIOC V., ETIEVANT P.X., DIVIES C. (1993) Ability of wine lactic acid bacteria to metabolize phenol carboxylic acids. American Journal of Enology and Viticulture. 44: 76-80.

CHATONNET P., DUBOURDIEU D., BOIDRON J.N., PONS M. (1992) The origin of ethylphenols in wines. Journal of the Science of Food and Agriculture. 60: 165- 178.

CHATONNET P., DUBOURDIEU D., BOIDRON J.N. (1995) The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp. Yeast and lactic acid bacteria on the ethyl phenol content of red wines. American Journal of Enology and Viticulture, 46: 463-468.

CHATONNET P., VIALA C., DUBOURDIEU D. (1997) Influence of polyphenolic components of red wines on the microbial synthesis of volatile phenols. American Journal of Enology and Viticulture. 48: 443- 448.

FUGELSANG K.C. (1997) Wine Microbiology. Chapman & Hall. New York

LICKER J.L. (1998) The sensory analysis and Gas Chromatography-Olfactometry (GCO) of wines with “Brett” flavor. Master’s thesis. Cornell University Department of Food Science and Technology. May 1998.