

# Kurzmitteilung: Nachweis von Eiklar- und Caseinrückständen im Wein mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) unmittelbar nach der Schönung und im Laufe der Lagerung

ELSA PATZL-FISCHERLEITNER und REINHARD EDER

Lehr- und Forschungszentrum für Wein- und Obstbau  
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74  
E-Mail: Elsa.Fischerleitner@weinobst.at

*Untersucht wurden mit hühnereiklar- und caseinhaltigen Schönungsmitteln behandelte Weiß- und Rotweine. Rückstände von Ovalbumin, deren Menge und Vorkommen sowohl von der verwendeten Konzentration des Mittels als auch von der Dauer der Weinlagerung abhängig ist, wurden in den geschönten Weinen gefunden. Bei den caseingeschönten Weinen konnten keine Reste der Schönung nachgewiesen werden. Mit diesen Methoden ist es möglich, quantitativ Eiklarproteine (Ovalbumin, Lysozym) und Casein im Wein nachzuweisen. Weiters eignen sich ELISA-Tests auch bei größerem Probenaufkommen und sind somit nach Einführung der Allergenkennzeichnungspflicht das Mittel der Wahl.*  
**Schlagwörter:** Allergen, Eiklar, Casein, Nachweismethoden, ELISA, Weinlagerung

**Detection of residues of chicken ovalbumin and casein in wine by means of Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) immediately after fining and during storage.** Experiments were carried out with red and white wines, which were treated with fining agents containing albumin or casein. Some protein residues of egg were detected in fined wines, depending on the concentration of the fining agent and time of storage. With the casein-fined wines no residues were found at all. It is possible to quantify egg white proteins and casein in wine using ELISA-tests. Furthermore these methods are suited for rapid analysis of samples in plenty supply and are thus the method of choice after the implementation of compulsory allergen labelling.

**Keywords:** allergen, egg white, casein, detection methods, ELISA, wine storage

**Flash d'information : La détection de résidus de blanc d'œuf et de caséine dans le vin au moyen de l'Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) immédiatement après le collage et au cours du stockage.** Des vins blancs et rouges traités aux agents de collage contenant du blanc d'œuf de poule et de la caséine ont été examinés. Dans les vins collés, on a trouvé des résidus d'ovalbumine dont la quantité et la présence dépendent tant de la concentration de l'agent utilisé que de la durée du stockage du vin. Aucun résidu du collage n'a pu être détecté dans les vins collés à la caséine. Ces méthodes permettent de détecter les quantités des protéines provenant du blanc d'œuf (ovalbumine, lysozyme) et de caséine présentes dans le vin. En outre, les tests ELISA conviennent également à de plus grandes quantités d'échantillons et sont donc la méthode de choix, notamment après l'introduction de l'obligation d'identification des allergènes.

**Mots clés :** allergène, blanc d'œuf, caséine, méthodes de détection, ELISA, stockage du vin

Vor über zehn Jahren begannen mit Erlass der Richtlinie 2000/13/EG heftige Diskussionen über die Deklarationspflicht bei Verwendung von tierischen Proteinen bei der Weinbereitung. In dieser Zeit wurde der Kennzeichnungspflicht beim Wein durch verschiedene Richtlinien und Verordnungen (RL 2005/26/

EG, VO (EG) Nr. 415/2009 und VO (EG) Nr. 1266/2010) zur Durchführung wissenschaftlicher Projekte mehrmals Aufschub gewährt. Da die Unbedenklichkeit der Verwendung tierischer Eiweißstoffe als Weinbehandlungsmittel mit Hilfe zahlreicher Untersuchungen nicht eindeutig festgestellt werden

konnte, endet die Ausnahme von der Kennzeichnungspflicht bei Wein mit 30. Juni 2012. Nach RL 2007/68/EG geht es um jene Weine, die mit den Behandlungsmitteln Lysozym und Albumin aus Eiklar, sowie mit Casein behandelt wurden. Die Verwendung dieser Produkte muss ab 1. Juli 2012 zur Information für Milch- und Eiallergiker auf dem Weinetikett deklariert werden.

Beim Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) handelt es sich um eine genaue und effiziente Analyse-methode zum Nachweis dieser Stoffe. Mit dieser Methode können auch größere Mengen an Proben quantitativ auf Rückstände analysiert und deren Gesetzeskonformität überprüft werden.

Gerade in Bezug auf diese neuen gesetzlichen Regelungen ist es interessant, wie sich die Schönungsmittel im Laufe der Lagerung im Wein verhalten. Die Behandlungsmittel hinterlassen nämlich eventuell kurz nach der Schönung noch Rückstände, die dann im Laufe der Zeit abgebaut werden.

## Material und Methoden

Zur Überprüfung von Schönungsmittelrückständen und deren Abbau wurden Weine der Sorten 'Grüner Veltliner' und 'Zweigelt' mit folgenden Behandlungsmitteln versetzt.

Frisches Hühnereiklar (Fa. Toni's Freiland Eier, Knittelfeld, Österreich, Größe M) in der Menge von 1 bis 5 Eier/hl, getrocknetes Hühnereiklar (Fa. Erbslöh, Geisenheim, Deutschland, AlbuVin) in der Menge von 4 g/hl und 16 g/hl und pasteurisiertes Eiklar (Fa. Thonhauser, Perchtoldsdorf, Österreich, AlbuColl) in der Menge von 30 ml/hl und 60 ml/hl. Vom getrockneten Präparat wurde vorher eine 10%ige Lösung hergestellt, alle anderen wurden pur dem Wein zugesetzt.

Weiters wurden ein Kaliumcaseinat (Kal-Casein Leicht löslich, Fa. Erbslöh, Geisenheim, Deutschland), makroporöse Caseinpräparate (Vinpur Spezial®, Fa. Erbslöh, Geisenheim, Deutschland und Keller-Pur®, Fa. Keller, Mannheim, Deutschland), ein Kombinationspräparat aus Kaliumcaseinat, Polyvinylpolypyrrolidon und silikatischen Wirkstoffen (Senso-Vin®, Fa. Erbslöh, Geisenheim, Deutschland) und ein reines Casein (Casein-Bovine Milk, Nr. 218680, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) in den Mengen von 5 g/hl und 10 g/hl bei einem Wein der Sorte 'Zweigelt' verwendet. Alle Behandlungsmittel wurden dem Wein pur zugesetzt. Die Umgebungstemperatur und die Temperatur der Weine betragen zum Zeitpunkt der Schönung 20 °C.

Diese wurden sofort nach der Behandlung, nach einem Monat Lagerung, nach drei Monaten Lagerung und nach neun Monaten Lagerung mittels ELISA-Test auf Rückstände analysiert. Die Lagerung der Weinproben erfolgte im Dunkeln bei ca. 10 °C.

Die ELISA-Tests auf Eiklar- und Caseinrückstände im Wein wurden mittels Test Kits Ridascreen® Fast Ei (Art. Nr. R6402) und Ridascreen® Fast Casein (Art. Nr. R4602) der Firma R-Biopharm aus Darmstadt und nach Analysenvorschriften R-BIOPHARM (2008) und R-BIOPHARM (2010) durchgeführt.

## Ergebnisse

Wie auch von FISCHERLEITNER und EDER (2006) bestätigt, konnten nach der Verwendung von eiklarhaltigen Behandlungsmitteln direkt nach der Schönung Rückstände im Wein gefunden werden. Tabelle 1 zeigt, dass deren Menge sowohl von der Konzentra-

Tab. 1: Eiklarrückstände (Eiprotein, ppm) im Wein im Laufe der Lagerung

Proben	Grüner Veltliner				Zweigelt			
	Frisch geschönt	1 Monat gelagert	3 Monate gelagert	9 Monate gelagert	Frisch geschönt	1 Monat gelagert	3 Monate gelagert	9 Monate gelagert
Unbehandelt	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
1 Ei/hl	6,9	2,6	3,1	1,6	2,8	1,4	1,4	< 1
3 Eier/hl	15,9	4,9	3,8	2,0	4,9	2,3	1,5	< 1
5 Eier/hl	19,0	16,5	4,9	2,1	10,7	2,4	1,8	< 1
AlbuColl 30ml/hl	3,7	1,9	2,0	1,1	1,6	< 1	< 1	< 1
AlbuColl 60 ml/hl	3,3	2,1	1,9	1,1	2,2	< 1	< 1	< 1
Albuvin4 g/hl	7,2	4,6	4,9	2,6	5,1	1,3	< 1	< 1
Albuvin 16 g/hl	10,2	9,9	9,1	4,1	8,4	1,3	< 1	< 1

tion des verwendeten Schönungsmittels als auch von der Dauer der Lagerung der Weine abhängt. Bei 'Zweigelt' liegen die Werte der detektierten Eiklarproteine bereits nach neun Monaten Lagerungszeit unter der Bestimmungsgrenze des verwendeten ELISA-Tests (1 ppm). Bei 'Grüner Veltliner' sind auch nach diesem Zeitraum noch geringe quantifizierbare Mengen enthalten.

Allerdings haben Weißweine generell niedrigere Gehalte an Gesamtphenolen und können aus diesem Grund den Behandlungsmitteln keine ausreichende Menge an Reaktionspartnern zur Verfügung stellen, was zu größeren Proteinrückständen im Wein führen kann.

Bezugnehmend auf die caseinhaltigen Schönungsmittel, deren Ergebnisse in Tabelle 2 dargestellt sind, ist anzumerken, dass auch unmittelbar nach der Behandlung des Weines mit unterschiedlichen Caseinmengen und -produkten keine Reste der Behandlungsmittel gefunden werden konnten. Diese Beobachtungen decken sich auch mit den Ergebnissen von FISCHERLEITNER und EDER (2007), wo ebenfalls keine Rückstände von Casein im Wein (in diesem Fall mittels Western Blot-Technik) entdeckt wurden.

LACORN et al. (2011) konnten Casein nach Zusatz zum Wein wiederfinden. Allerdings wurde in diesem Fall das Casein vor der Zugabe zum Wein in harnstoffhaltigem PBS-Puffer gelöst. Nach direkter Zugabe von Casein oder Magermilchpulver beobachteten LACORN et al. (2011) Niederschläge im Wein und fanden auch keine nennenswerten Rückstände.

Diese Ergebnisse lassen die Interpretation zu, dass sich die Schönungsmittel im Wein schlecht lösen und die Wirkungsweise als Feststoffreaktion, beispielsweise als Adsorption von Phenolen an Caseine und Kaliumcaseinate, abläuft. Untersuchungen von WENINGER und GÖRTGES (2005) zeigten ebenfalls, dass mit Kaliumcaseinat geschönte Weine keine Reaktion im Blut von kuhmilchsensiblen Allergikern aufwiesen.

Da ein unbedenklicher Konsum von eiklargeschönten Weinen für spezifische Allergiker nicht garantiert werden kann, gilt ab Juli 2012 die Deklarationspflicht für Weinbehandlungsmittel auf Basis von Kuhmilch und Hühnereiern, eingeschlossen Lysozym.

Tab. 2: Caseinrückstände im Wein der Sorte 'Zweigelt' im Laufe der Lagerung

Proben	g/hl	Frisch geschönt	1 Monat gelagert
Unbehandelt	-	n.n.	n.n.
Casein	5	< 0,2	n.n.
Casein	10	< 0,2	< 0,2
Keller Pur	5	< 0,2	n.n.
Keller Pur	10	< 0,2	n.n.
Vinpur Spezial	5	n.n.	n.n.
Vinpur Spezial	10	n.n.	n.n.
Kal Casein	5	< 0,2	n.n.
Kal Casein	10	< 0,2	< 0,2
Senso Vin	5	< 0,2	n.n.
Senso Vin	10	< 0,2	n.n.

Die ELISA-Technik eignet sich sehr gut, um allfällige Rückstände oben besprochener Behandlungsmittel nachzuweisen. Sie ist schnell und einfach in der Handhabung und somit auch bei größerem Probenaufkommen geeignet.

## Literatur

- FISCHERLEITNER, E. und EDER, R. 2006: Nachweis von Ovalbuminrückständen im Wein mittels Elektrophorese und Western Blotting. Mitt. Klosterneuburg 56: 94-10
- FISCHERLEITNER, E. und EDER, R. 2007: Nachweis von Caseinrückständen im Wein mittels Elektrophorese und Western Blotting. Mitt. Klosterneuburg 57: 23-28
- LACORN, M., GÖSSWEIN, C. and IMMER, U. 2011: Determination of residual egg white proteins in red wines during and after fining. Am. J. Enol. Vitic. 62(3): 382-385
- R-BIOPHARM (2008): Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Eiklar-Proteinen. Art. No. R6402. – Darmstadt: R-Biopharm, 2008
- R-BIOPHARM (2010): Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Casein. Art. No. R4602. – Darmstadt: R-BIOPHARM, 2010
- WENINGER, H. und GÖRTGES, S. (2005): Allergenität und Rückverfolgbarkeit von Weinbehandlungsmitteln aus Sicht des Produzenten. Bericht 60. ALVA-Tagung, S. 43-46. – Linz, 2005

Eingelangt am 17.3.2012