

# Einfluss verschiedener Parameter während der Einmischung und Gärung auf die Methanolgehalte in Obstmaischen

MANFRED GÖSSINGER, GOTTFRIED KRAPPENBAUER, HEINZ SÄMANN, STEFAN HICK und MARIO KARNER

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau  
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74  
E-mail: Manfred.Gössinger@hblawo.bmlfuw.gv.at

*Untersucht wurde der Einfluss von Sorte, pH-Wert der Maische, Zugabe verschiedener Enzympräparate, Gärtemperatur und Maischelagerung auf den resultierenden Methanolgehalt (mg/100 ml r.A.) von Marillen-, 'Williams Christ'- und Quittenmaischen. Weiters wurde das maximale Methanolfreisetzungspotenzial von Marillen- und Quittensorten bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, dass durch Zugabe von Pektin-Lyase die resultierenden Methanolgehalte in der Maische bei Marille und Quitte signifikant ( $\alpha = 0,01$ ) reduziert werden konnten. Die Absenkung des pH-Wertes von 3,0 auf 2,4 bzw. der Gärtemperatur von 20 auf 12 °C führten ebenfalls zur signifikanten Reduzierung des Methanolgehaltes in der Maische nach der Gärung. Bei Quitte wurden die niedrigsten Methanolgehalte bei den mit 33% Wasser versetzten Maischen gemessen. Der Einsatz handelsüblicher Maischeenzyme führte immer zu sehr hohen Methanolgehalten. Während der Maischelagerung von vier Wochen stiegen die Methanolgehalte zum Teil stark an. Durch Pektin-Lyase-Zusatz und pH-Wertabsenkung auf 2,4 konnte die Methanolfreisetzung deutlich vermindert werden. Das maximale Methanolfreisetzungspotenzial lag bei Marille zwischen 1165 und 2638 mg/100 ml r.A. und bei Quitte zwischen 1413 und 4739 mg/100 ml r.A.. Die Werte sind stark von Sorte und Jahrgang abhängig.*

**Schlagwörter:** Obstbrand, Einmischung, Maischebehandlung, Enzympräparate, Gärtemperatur, Methanolgehalt

*Influence of different mash and fermentation parameters on the resulting methanol contents in fruit mashes. Investigations were made in order to determine the effects of variety, pH-value of the mash, addition of different enzymes, fermentation temperature and mash storage in regard of the reduction of the resulting methanol content in fruit mashes. For the tests several varieties of apricot, quince and 'Bartlett' pear from the 2003 and 2004 harvest were used. The maximum methanol release-potential of these fruit was measured as well. The results show that the reduction of the pH-value from 3,0 to 2,4 as well as the addition of a special enzyme (Pektin-Lyase) and the reduction of the fermentation temperature from 20 to 12 °C could decrease the methanol content of the fermented mash significantly ( $\alpha = 0,01$ ). The addition of common mash enzymes caused high methanol contents in the mash. Best results were achieved by adding 33% of water to quince-mash. During mash storage of four weeks the methanol contents generally increased. The maximum release-potential of apricots was between 1165 and 2638 mg/100 ml of pure alcohol and of quince between 1413 and 4739 mg/100 ml of pure alcohol. The variety and year of harvest affected the results significantly.*

**Key words:** Fruit spirits, mashing, mash treatment, enzyme preparation, fermentation temperature, methanol content

*L'influence de différents paramètres sur les teneurs en méthanol des vendanges de fruits au cours du foulage et de la fermentation. L'influence de la variété, du pH de la vendange, de l'ajout de différentes préparations d'enzymes, de la température de fermentation et du stockage de la vendange sur la teneur en méthanol (mg/100 ml ap) obtenue des vendanges d'abricots, de poires 'Williams Christ' et de coings a été étudiée. En outre, le potentiel maximal de li-*

*bération de méthanol des variétés d'abricots et de coings a été déterminé. Les résultats montrent que les teneurs en méthanol obtenues de la vendange d'abricots et de coings ont pu être réduites de manière significative ( $\alpha = 0,01$ ) suite à l'ajout de pectine-lyase. La réduction du pH, passant de 3,0 à 2,4, et de la température de fermentation, passant de 20 à 12 °C, a également eu pour résultat une réduction significative de la teneur en méthanol de la vendange après la fermentation. Pour le coing, les teneurs les plus basses en méthanol ont été mesurées dans les vendanges mélangées à 33% d'eau. L'ajout à la vendange d'enzymes en vente dans le commerce conduit toujours à des teneurs très élevées en méthanol. En partie, les teneurs en méthanol ont très fortement augmenté au cours du stockage de la vendange qui a duré quatre semaines. La libération du méthanol a pu être sensiblement diminuée grâce à l'ajout de pectine-lyase et à la réduction du pH à 2,4. Pour l'abricot, le potentiel maximal de libération de méthanol se situait entre 1165 et 2638 mg/100 ml ap et pour le coing entre 1413 et 4739 mg/100 ml ap. Les valeurs sont fortement dépendantes de la variété et de l'année.*

**Mots clés :** eau-de-vie de fruits, foulage, traitement de la vendange, préparations d'enzymes, température de fermentation, teneur en méthanol

Der Methanolgehalt ist ein wichtiges Identitätskriterium für Obstdestillate. Es sind sowohl Mindest- als auch Maximalwerte für die verschiedenen Obstarten gesetzlich festgelegt (CAA, 2003). In der Praxis kommt es immer wieder zu Überschreitungen dieser maximal erlaubten Methanolgehalte. Obwohl die gesundheitlichen Aspekte von Methanol unterschiedlich diskutiert werden (MACHOLZ und LEWERENZ, 1989; PAINE and DAYAN, 2001; KINOSHITA et al., 1998), ist nicht auszuschließen, dass die erlaubten Höchstgrenzen an Methanol in Obstdestillaten weiter herabgesetzt werden. Geringere Methanolgehalte sind auch für viele Exporte in Drittländer erforderlich.

Methanol wird durch enzymatische Abspaltung durch die Pektinmethylesterase vom Pektin freigesetzt. Je nach Pektingehalt, Veresterungsgrad des Pektins, pH-Wert der Maische, Einsatz pektolytischer Enzyme, Maischelagerung und Destillation ergeben sich in den Destillaten unterschiedliche Methanolgehalte (PIEPER et al., 1993).

Methanol wird bereits zum Teil während der Reifung der Früchte freigesetzt. Die Methanolfreisetzung in der Frucht ist von der Obstart und der Reife abhängig. Bei 'Williams Christ'-Birnen wurden - bezogen auf den Gehalt der vergorenen Maische - bei der unvergorenen Maische schon 46% des Methanolgehaltes nachgewiesen (BELITZ und GROSCH, 1987; BINDLER et al., 1988). Während der Gärung wurde eine Freisetzung von Methanol von 41 bis 83% (bezogen auf den Gehalt der vergorenen Maische) innerhalb von drei Tagen beobachtet (KAISER, 1985).

Die Freisetzung von Methanol durch Pektinmethylesterase ist auch wesentlich vom pH-Wert und von der Temperatur der Maische abhängig. Das pH-Optimum von Pektinmethylesterase liegt je nach Obstart zwischen 5,0 und 7,5, das Temperaturoptimum zwischen

40 und 60 °C (MARTEAU et al., 1961; SEGAL et al., 1966; TUSZYNSKI, 1990).

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss von Birnen-, Marillen- und Quittensorten, pH-Wert der Maische, Einsatz verschiedener pektolytischer Enzyme, unterschiedlicher Gärtemperatur und Maischelagerung auf den resultierenden Methanolgehalt von Obstmaischen zu bestimmen. Weiters soll das maximale Methanolfreisetzungspotenzial von Marillen- und Quittensorten bestimmt werden.

## Material und Methoden

Für die Versuche standen Marillen der Sorten 'Ungarische Beste', 'Bergeron', 'Goldrich' und 'Rouge de Fournes' der Ernte 2003 sowie die oben genannten und 'Hargrand' der Ernte 2004, bei Quitte die Sorten 'Angers', 'Levkovac' und 'Mammut' der Ernten 2003 und 2004 zur Verfügung. Das Obst stammte vom Versuchsgut Haschhof der Höheren Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg.

Folgende Enzyme wurden verwendet:

Novoshape (10 ml/hl) = Pektinmethylesterase (PME)

Panzym Smash XXL (10 ml/hl) = Pektin-Lyase 1

Pectinex Smash XXL, (10 ml/hl) E = Pektin-Lyase 2

Sihazym Supra mash, (10 g/hl) = Brennerenzyme 1

Panzym Supra mash, (10 g/hl) = Brennerenzyme 2

(alle Begerow GmbH & Co., Langenlonsheim, D).

Die Ansäuerung erfolgte ausschließlich mit ortho-Phosphorsäure (84%, 160 bis 650 ml/hl Maische, VWR International, Darmstadt). Das Gärende wurde mit Clinitest-Tabletten (Bayer Diagnostics) bestimmt. Der Methanolgehalt wurde nach der Gärung bzw. nach vier Wochen Lagerzeit mittels GC bestimmt (KLAUSHOFER und BANDION, 1968). Alle Versuche wurden in zweifacher Wiederholung durchgeführt. Die

statistische Auswertung erfolgte mit SPSS Version 12.0.

### Maximales Methanolfreisetzungspotenzial

Für die Bestimmung des maximalen Methanolfreisetzungspotenzials wurden 2 bis 40 kg der jeweiligen Sorte verwendet. Die Früchte wurden zerkleinert, mit PME und einem handelsüblichen pektolytischen Enzym versetzt und mittels Zusatz (20 g/hl) von Reinzuchthefer Oenoferm Klosterneuburg bzw. Oenoferm Freddo, Erbslöh) vergoren. Nach Gärende wurden 100 g der Maische überdestilliert und der Methanolgehalt bestimmt. Die Gärtemperatur lag zwischen 20 und 22 °C. Es wurde keine Säure zugesetzt.

### Maische und Gärversuche

**Versuch 1.** Marillen der Sorten 'Ungarische Beste' (2003; pH-Wert: 4,0; 75 °Oe), 'Bergeron' (pH-Wert: 3,5; 68 °Oe) und 'Goldrich' (pH-Wert: 3,3; 66 °Oe) wurden auf 30 kg-Chargen aufgeteilt. Sofort nach der Zerkleinerung mittels Walzenmühle erfolgte die Säure- und Enzymzugabe (Tab. 1).

Die Maischen wurden mit Reinzuchthefer (Oenoferm Klosterneuburg (20g/hl), Erbslöh) bei 20 bis 22 °C vergoren. Die Probenahme (vergorene Maische) für die Methanolbestimmung erfolgte eine Woche nach dem Einmaischen.

Tab. 1: Versuchsplan für Versuch 1 (Marillen 2003)

Versuchsnummer	Sorte	Enzymzusatz	Säurezugabe
1.1.1	Ungarische	PME	-
1.1.2	Beste	Lyase 1	+
1.1.3		Brennereienzym 1	+
1.1.4		-	+
1.2.1	Bergeron	PME	
1.2.2		Lyase 1	+
1.2.3		Brennereienzym 2	+
1.2.4		-	+
1.3.1	Goldrich	PME	
1.3.2		Lyase 1	+
1.3.3		-	+

**Versuch 2.** Im zweiten Versuch wurden die Quittensorten 'Levkovac' (2003; pH-Wert: 3,2; 64 °Oe) und 'Mammut' (2003; pH-Wert: 3,1; 65 °Oe) (25 kg pro Variante) wie in Tabelle 2 ersichtlich verarbeitet (Gärtemperatur: 20 °C; 20 g/hl Oenoferm Klosterneuburg). Die Enzyme wurden in der zuzusetzenden Wassermenge vorher eingebracht. Die Vergleichsvariante ohne Enzymzusatz wurde - wie in der Praxis üblich - mit einem Drittel Wasserzusatz versetzt.

Tab. 2: Versuchsplan für Versuch 2 (Quitten 2003)

Versuchsnummer	Sorte	Enzymzusatz	Wasserzusatz (l)
2.1.1	Levkovac	PME	5
2.1.2		Lyase 1	2,5
2.1.3		Brennereienzym 1	2,5
2.1.4		-	8
2.2.1	Mammut	PME	5
2.2.2		Lyase 1	2,5
2.2.3		Brennereienzym 1	2,5
2.2.4		-	8

**Versuch 3.** Im dritten Maische- und Gärversuch wurden Marillen ('Ungarische Beste'; 2004; pH-Wert: 3,8; 49 °Oe) eingemaischt, der pH-Wert wie in Tabelle 3 ersichtlich verändert, und vergoren. Die Varianten (je 40 kg) wurden mit Reinzuchthefer (Oenoferm Freddo (20g/hl)) vergoren. Nach Gärende erfolgte die erste Probenahme. Vier Wochen nach Gärende wurden noch eine Probe gezogen und der Methanol- und Alkoholgehalt bestimmt, um den Einfluss der Maischelagerung auf die Methanolfreisetzung zu bestimmen.

Tab. 3: Versuchsplan für Versuch 3 (Ungarische Beste 2004)

Versuchsnummer	pH-Wert	Enzymzusatz	Gärtemperatur (°C)
3.1	3,0	Lyase 2	12
3.2	3,0	Lyase 2	20
3.3	3,0	-	12
3.4	3,0	-	20
3.5	2,4	Lyase 2	12
3.6	2,4	Lyase 2	20
3.7	2,4	-	12
3.8	2,4	-	20

**Versuch 4.** Im vierten Versuch wurden Quitten der Sorte 'Angers' (2003; pH-Wert: 3,1; 70 °Oe) zu Varianten von je 25 kg aufgeteilt und wie in Tabelle 4 ersichtlich verarbeitet, indem Säure bzw. Wasser zugesetzt wurde. Die Vergärung erfolgte mit einer Kaltgärhefe (Oenoferm Freddo (20 g/hl)) bei zwei Temperaturen (12 und 20 °C). Es wurden die Enzyme Pektin-Lyase 2 und Sihazym Supra mash (5 g/hl) verwendet. Die Maischeprobeahme für die Methanolbestimmung erfolgte nach Gärende.

**Versuch 5.** Im fünften Versuch wurden Birnen der Sorte 'Williams Christ' (2003; pH-Wert: 3,8; 64 °Oe) zu Varianten mit je 30 kg aufgeteilt und wie in Tabelle 5 ersichtlich verarbeitet. Die Maischen wurden mit den Enzymen PME (33 ml/hl) bzw. Pektin-Lyase 2 (33 ml/hl)

Tab. 4: Versuchsplan für Versuch 4 (Quitte Angers 2003)

Versuchsnummer	pH-Wert	Enzymzusatz	Gärtemp. (°C)	Wasserzusatz (l)
4.1	3,0	Lyase 2	12	2,5
4.2	3,0	Lyase 2	20	2,5
4.3	3,0	Brennereizym 1	12	2,5
4.4	3,0	Brennereizym 1	20	2,5
4.5	2,4	Lyase 2	12	2,5
4.6	2,4	Lyase 2	20	2,5
4.7	2,4	Brennereizym 1	12	2,5
4.8	2,4	Brennereizym 1	20	2,5
4.9	3,1	PME	20	5,0
4.10	3,0	-	20	8,0

Tab. 5: Versuchsplan für Versuch 5 (Williams Christ Birnen 2003)

Versuchsnummer	pH-Wert	Enzymzusatz	Gärtemperatur (°C)
5.1	3,0	Lyase 2	12
5.2	3,0	Lyase 2	20
5.3	3,0	PME	12
5.4	3,0	PME	20
5.5	2,4	Lyase 2	12
5.6	2,4	Lyase 2	20
5.7	2,4	PME	12
5.8	2,4	PME	20
5.9	2,7	PME und Lyase 2	16

versetzt und mit Kaltgärhefe (Oenoferm Freddo (30g/hl)) vergoren. Die Maischeprobeaufnahme für die Methanolbestimmung erfolgte nach Gärende bzw. nach vier Wochen Lagerung.

## Ergebnisse

### Maximales Methanolfreisetzungspotenzial

Die Ergebnisse der Bestimmung des maximalen Methanolfreisetzungspotenzials von Marillen- und Quittensorten (Tab. 6) zeigen, dass es starke Jahrgangs- und Sortenunterschiede gibt.

Das maximale Methanolfreisetzungspotenzial wird auf 100 ml Reinalkohol berechnet und ist damit sehr stark vom Alkoholgehalt der Maische abhängig. Der Alkoholgehalt der Maische hängt wiederum vom Reife- und Zuckergehalt der Frucht ab. Bei den Marillen lagen die Methanolgehalte im Jahr 2003 zwischen 1165 und 1864 mg/100 ml r.A., 2004 zwischen 1499 und 2638 mg/100 ml r.A.. Bei der Quitte lagen die Werte 2003 zwischen 1413 und 2230 mg/100 ml r.A., 2004 zwischen 3210 und 4739 mg/100 ml r.A..

Tab. 6: Maximale Methanolfreisetzungspotenziale von Marillen- und Quittensorten der Ernten 2003 und 2004

Obstart	Sorte	Jahr	Methanolgeh. (mg/100 ml r.A.)	Ethanolgeh. Maische (%vo)			
Marille	Ungarische Beste	2003	1165	7,4			
			Goldrich	1239	5,9		
			Bergeron	1267	6,7		
			Rouge de Fournese	1864	4,4		
			Quitte	Angers	1413	5,0	
					Levkovac	1660	5,2
Mammut	2230	5,0					
Marille	Ungarische Beste <sup>1)</sup>	2004	1913	4,1			
			Ungarische Beste <sup>2)</sup>	2461	3,3		
			Goldrich	1607	4,0		
			Bergeron	1499	4,7		
			Rouge de Fournese	2638	2,9		
			Hargrand	2241	3,3		
			Quitte	Angers	4049	3,3	
					Levkovac	3210	3,8
					Mammut	4739	2,9

<sup>1)</sup> Hohlkrone, <sup>2)</sup> Spindel

Die errechneten Methanolgehalte pro 100 ml r.A. lagen 2003 generell auf niedrigerem Niveau als 2004. Der Grund dafür findet sich im geringeren Alkoholgehalt der Maischen im Jahr 2004 (durchschnittlich 5,66%vol) als im Jahr 2003 (3,58%vol). Reife, zuckerreiche Früchte sind daher für die Herstellung von Destillaten mit reduziertem Methanolgehalt besser geeignet als unreife zuckerarme Sorten.

**Versuch 1.** Die Ergebnisse von Versuch 1 (Abb. 1) zeigen, dass durch Zugabe von Pektin-Lyase die Methanolgehalte der vergorenen Maischen signifikant reduziert werden konnten - bezogen auf den maximal freigesetzten Methanolgehalt (Tab. 6) um 49 bis 71%, bezogen auf die Methanolgehalte der nicht enzymbehandelten Varianten um 40 bis 47%. Die Zugabe handelsüblicher Brennereizympräparate führte in beiden Fällen zu maximaler Freisetzung von Methanol. Ohne Enzymzugabe wurde bis Gärende nur ein Teil des Methanols (50 bis 85%) freigesetzt.

**Versuch 2.** Die Ergebnisse von Versuch 2 (Abb. 2) zeigen ein ähnliches Bild wie in Versuch 1. Auch bei Quitte wurde durch die Zugabe von Brennereizymen der Methanolgehalt am stärksten erhöht. Die alleinige Zugabe von PME hatte eine um 3 bis 6% geringere Methanolfreisetzung zur Folge. Der Methanolgehalt

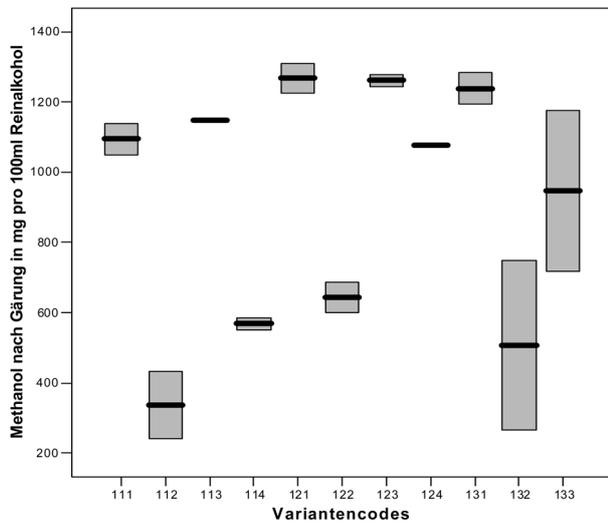


Abb. 1: Methanolgehalte von Marillenmaischen 2003 (Versuch 1)

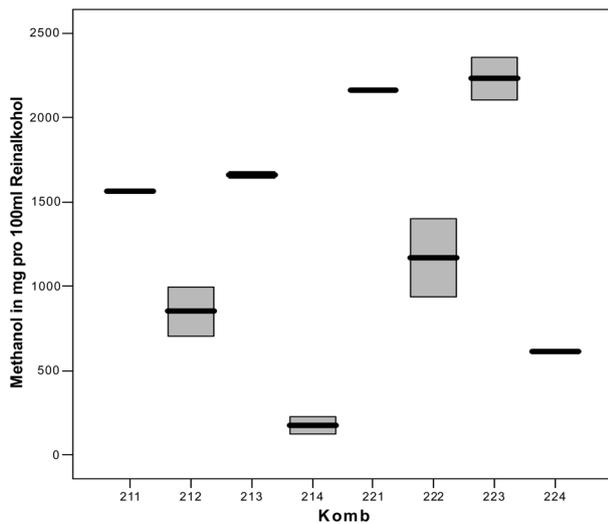


Abb. 2: Methanolgehalte von Quittenmaischen 2003 (Versuch 2)

konnte (gegenüber den Varianten mit Brennerenzym) durch Zugabe von Pektin-Lyase um ca. 48% und durch den Zusatz von 33% Wasser um 72 bis 89% signifikant reduziert werden. Der Alkoholgehalt der Varianten mit Enzymzusatz lag durchschnittlich bei 5,0%vol, der der gewässerten Varianten bei 4,2%vol. Der Alkoholgehalt der mit 33% Wasser versetzten Varianten lag somit nur um 16% niedriger als der der mit 10% Wasser versetzten Varianten. Dies deutet darauf hin, dass der in der Praxis übliche Wasserzusatz von ca. 33% - vermutlich

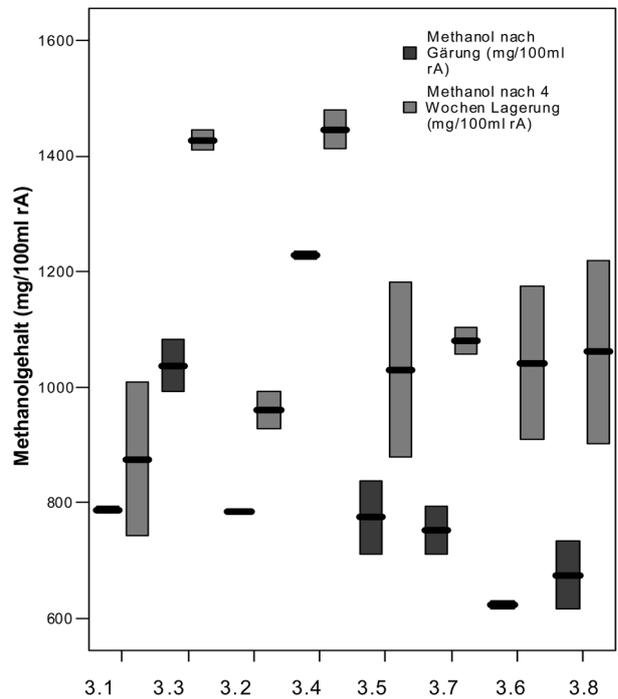


Abb. 3: Methanolgehalte von Ungarische Beste 2004 (Versuch 3)

auf Grund der flüssigeren Maische - zu einer besseren Alkoholausbeute führte als die enzymierten Varianten.

**Versuch 3.** Im dritten Versuch (Abb. 3) konnte die angestrebte Gärtemperatur von 12 °C bzw. 20 °C nicht gehalten werden. Die Gärtemperatur der Maische lag in der Hauptgärphase um 3 bis 4 °C über der Solltemperatur. Die Gärung war bei allen Varianten (Ausnahme: Varianten mit 12 °C; pH-Wert: 2,4; mit und ohne Pektin-Lyase-Zusatz) nach neun Tagen abgeschlossen. Mit Ausnahme der Variante 3.5 (12 °C; pH-Wert: 2,4; mit Pektin-Lyase-Zusatz), bei der nur ein Alkoholgehalt von 3,5%vol erzielt wurde, goren alle Maischen durch. Der Alkoholgehalt der vergorenen Maischen lag bei 4,7 bis 4,8%vol. Tabelle 7 zeigt die Effekte der Haupt- und Wechselwirkungen mit den Signifikanzgrenzen nach der Gärung bzw. nach vier Wochen Maischelagerung.

Auf den Methanolgehalt der Maische nach der Gärung hatten sowohl der eingestellte pH-Wert als auch die Pektin-Lyase-Zugabe einen signifikanten Effekt ( $\alpha = 0,01$ ) (um 31 bzw. 20% reduzierter Methanolgehalt). Auch die Wechselwirkungen der Versuchsparameter waren signifikant („Temp-Enzym“ ( $\alpha = 0,05$ ), „pH-Wert-Enzym“ ( $\alpha = 0,01$ ) und „pH-Wert-Temperatur“ ( $\alpha = 0,01$ )). Die Gärtemperatur zeigte in diesem Versuch

Tab. 7: Antwortmatrix Versuch 3, Effekte und Signifikanzgrenzen. Antwortgröße: Methanolgehalt (mg/l). Faktoren: A: pH-Wert: 2,4/3,0, B: Pektinlyasezugabe: Ja/Nein, C: Gärtemperatur: 12°C/20 °C, Signifikanzgrenze bei Effekte nach Gärung:  $\alpha = 0,05$ : 60,  $\alpha = 0,01$ : 88,  $\alpha = 0,001$ : 132, Signifikanzgrenzen für Effekte nach 4 Wochen Lagerung:  $\alpha = 0,05$ : 159,  $\alpha = 0,01$ : 232,  $\alpha = 0,001$ : 348

Total	Total	pH-Wert (A)	Enzym (B)	Gärtemperatur (C)	A-B	A-C	B-C	A-B-C
Effekt nach Gärung	913	253	180	-10	165	104	66	30
Effekt nach vier Wochen Lagerung	1171	123	276	23	242	27	-24	-8

(vermutlich auf Grund der nicht geplanten Temperaturerhöhung während der Gärung) keinen signifikanten Effekt auf den resultierenden Methanolgehalt.

Hinsichtlich des Methanolgehalts der Maische nach vier Wochen Maischelagerung konnte nur noch bei der Pektin-Lyase-Zugabe ( $\alpha = 0,01$ ) (um 22% reduzierter Methanolgehalt) und bei der Wechselwirkung „pH-Wert-Enzym“ ( $\alpha = 0,05$ ) ein signifikanter Effekt errechnet werden. Durch die pH-Wert-Absenkung konnte der Methanolgehalt um durchschnittlich 15% reduziert werden.

Diese Ergebnisse stimmen grundsätzlich mit denen von GLATTHAR et al. (2001) überein, die berichten, dass durch eine pH-Wert-Absenkung von 4,0 auf 2,5 der Methanolgehalt in der Maische nach 13 Wochen (Alkoholverlust von 13%) um 50% reduziert werden kann. Nach 27 Wochen wurden geringere Unterschiede gemessen. Der geringere Effekt bei Versuch 3 ist vermutlich auf die geringere pH-Wert-Differenz der Varianten (0,6 vs. 1,5 pH-Einheiten bei GLATTHAR et al., 2001) sowie auf die kürzere Lagerzeit (4 vs. 13 Wochen bei GLATTHAR et al., 2001) zurückzuführen. Alkoholverluste während der Maischelagerung von vier Wochen konnten nicht festgestellt werden.

**Versuch 4.** Die Gärtemperatur lag bei den 12 °C-Varianten bei 11 bis 14 °C und bei den 20 °C-Varianten bei 18 bis 20 °C. Der Alkoholgehalt der Maischen lag bei den Varianten 4.1 bis 4.8 bei durchschnittlich 5,4% vol, bei der Variante 4.10 (33% Wasserzusatz) bei durchschnittlich 4,2% vol. Die Gärung war bei allen Va-

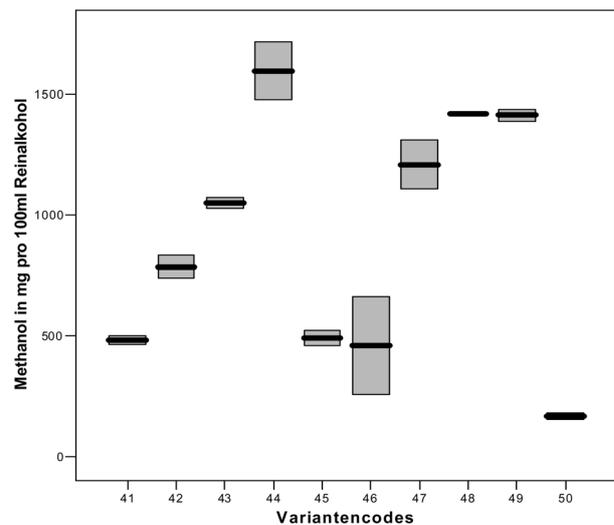


Abb. 4: Methanolgehalte von Quittenmaische 2003 (Versuch 4)

rianten nach 14 Tagen abgeschlossen.

Die Ergebnisse von Versuch 4 (Abb. 4, Tab. 8) zeigen, dass sowohl der Enzymzusatz ( $\alpha = 0,01$ ), die Gärtemperatur ( $\alpha = 0,01$ ) als auch die Wechselwirkung Temperatur-pH-Wert ( $\alpha = 0,05$ ) einen signifikanten Effekt auf den resultierenden Methanolgehalt der vergorenen Quittenmaischen hatten. Die Varianten mit Pektin-Lyase-Zusatz wiesen um durchschnittlich 58% geringere Methanolgehalte auf als die Varianten mit Brennerenzym 1-Zusatz, die Varianten mit 12 °C Gärtempe-

Tab. 8: Antwortmatrix Versuch 4, Effekte und Signifikanzgrenzen von Versuch 3. Antwortgröße: Methanolgehalt (mg/l). Faktoren: A: pH-Wert: 2,4/3,0, B: Enzym: Lyase/Sihazym, C: Gärtemperatur: 12/20 °C Signifikanzgrenze bei Effekte nach Gärung:  $\alpha = 0,05$ : 144,  $\alpha = 0,01$ : 210,  $\alpha = 0,001$ : 315

Total	Total	pH-Wert (A)	Enzym (B)	Gärtemperatur (C)	A-B	A-C	B-C	A-B-C
Effekt nach Gärung	991	80	766	259	-77	165	123	-2

Tab. 9: Effekte und Signifikanzgrenzen von Versuch 5: A: pH-Wert: 2,4/3,0, B: Enzym: Lyase/PME, C: Gärtemperatur: 12/20 °C Signifikanzgrenze bei Effekte nach Gärung:  $\alpha = 0,05$ : 58,  $\alpha = 0,01$ : 84,  $\alpha = 0,001$ : 127, Signifikanzgrenzen für Effekte nach 4 Wochen Lagerung:  $\alpha = 0,05$ : 89,  $\alpha = 0,01$ : 130,  $\alpha = 0,001$ : 196

Total	Total	pH-Wert (A)	Enzym (B)	Gärtemperatur (C)	A-B	A-C	B-C	A-B-C
Effekt nach Gärung	955	145	88	105	-16	40	58	-50
Effekt nach vier Wochen Lagerung	995	199	93	120	23	7	-1	-30

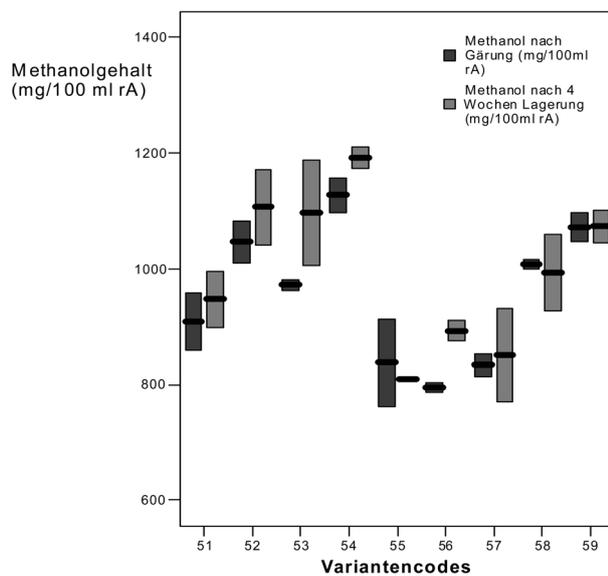


Abb. 5: Methanolgehalte von Williams Christ Maische 2003 (Versuch 5)

ratur um durchschnittlich 24% geringere Werte als die bei 20 °C vergorenen Maischen. Die Varianten mit pH-Wert 2,4 wiesen um nur durchschnittlich 8% geringere Methanolgehalte auf als die Varianten mit pH-Wert 3,0. Die Gärtemperatur (12 vs. 20 °C) hatte auf das Brennerenzym 1 einen größeren Effekt als auf die Pektin-Lyase. Der niedrigste Methanolgehalt wurde in Variante 4.10 erreicht, die mit dem größten Wasserzusatz (33%) ohne Enzymzusatz und bei einer Gärtemperatur von 20°C hergestellt wurde.

**Versuch 5.** Die Ergebnisse von Versuch 5 (Abb. 5, Tab. 9) zeigen, dass sowohl der pH-Wert ( $\alpha = 0,01$ ) als auch der Enzymzusatz ( $\alpha = 0,01$ ) und die Gärtemperatur ( $\alpha = 0,01$ ) einen signifikanten Effekt auf den resultierenden Methanolgehalt in der Maische nach der Gärung und nach vier Wochen Lagerung (pH-Wert: ( $\alpha = 0,01$ ), Enzymzusatz ( $\alpha = 0,05$ ) und Gärtemperatur ( $\alpha = 0,05$ )) hatten. Die Wechselwirkung Enzym-Temperatur wies nach der Gärung ebenfalls einen signifikanten Ef-

fekt ( $\alpha = 0,05$ ) auf. Während sich der Methanolgehalt bei den Pektin-Lyase-Varianten nicht signifikant veränderte, stieg bei den PME-Varianten bei höherer Lager-temperatur der Methanolgehalt an. Die Gärung war in sechs (20 °C) bzw. elf (12 °C) Tagen abgeschlossen. Nach der Gärung lag der Methanolgehalt der pH-Wert 2,4-Varianten um durchschnittlich 14% unter dem der pH-Wert 3,0-Varianten, nach der Lagerung um durchschnittlich 18%. Der Zusatz von Pektin-Lyase führte gegenüber der PME-Zugabe sowohl nach der Gärung als auch nach der Lagerung zu um durchschnittlich 9% geringeren Methanolgehalten. Die 12 °C-Varianten hatten nach der Gärung gegenüber den 20 °C-Varianten um durchschnittlich 10% geringere Methanolgehalte. Nach der Lagerung lagen die Werte um durchschnittlich 12% unter denen der 20 °C-Varianten.

Die Ergebnisse zeigen, dass bei einer längeren Maischelagerung niedrige pH-Werte und Gärtemperaturen (Lagertemperaturen) sich positiv hinsichtlich niedriger Methanolgehalte in der Maische auswirkten.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte anhand der Bestimmung des maximalen Methanolfreisetzungspotenzials gezeigt werden, dass die Auswahl der Rohware einen wichtigen Schritt zu Destillaten mit reduziertem Methanolgehalt darstellt. Die Verwendung von zuckerreichen Früchten führt zu geringeren Methanolgehalten (bezogen auf 100 ml r.A.). Sowohl die Sorte als auch der Jahrgang spielen hier eine entscheidende Rolle.

Aber auch pH-Wert der Maische, Einsatz verschiedener Enzympräparate, Gärtemperatur und Maischelagerung hatten einen signifikanten Effekt auf den resultierenden Methanolgehalt von Marillen-, Quitten- und 'Williams Christ'-Maischen (Tab. 7 bis 9). Die Ergebnisse zeigen, dass durch eine Absenkung des pH-Wertes der Maische auf 2,4 sowie Absenkung der Gärtemperatur auf 12 °C der resultierende Methanolgehalt in der Maische nach der Gärung bzw. nach vier Wochen Lagerung signifikant verringert werden konnte.

Die pH-Wert- und Gärtemperaturabsenkung führten zu keiner signifikanten Änderung der Alkoholgehalte

in der Maische und (mit einer Ausnahme) nur zu einer geringfügigen Verlängerung der Gärdauer (Gärdauer: max. 14 Tage). Der Einsatz von Kaltgärhefen ist jedoch erforderlich. Der Zusatz von Brennerenzymen führte jeweils zu sehr hohen Methanolgehalten, während der Zusatz von Pektin-Lyase zu sehr niedrigen Methanolgehalten führte. Die Werte der Pektin-Lyase-Varianten lagen zum Teil unter den Werten der nicht enzymierten Maischen. Der Ursache für die geringen Methanolgehalte bei den Pektin-Lyase-Varianten wurde nicht weiter nachgegangen. Vermutlich kommt es durch die Spaltung der Pektinkette bei benachbarten veresterten Galacturonsäuren zu einer Beeinträchtigung der Wirkung fruchteigener Pektinmethylesterasen und damit zu einer verringerten Freisetzung von Methanol. Die niedrigsten Methanolgehalte bei Quittenmaischen wurde durch 33% Wasserzusatz zur Maische erreicht. Es konnte dabei auch eine etwas verbesserte Alkoholausbeute festgestellt werden. Während der Maischelagerung stiegen die Methanolgehalte mit unterschiedlicher Intensität an. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass auch nach vier Wochen Lagerzeit die Pektin-Lyase-Varianten niedrigere Methanolgehalte aufwiesen als die Vergleichsproben. Auch der niedrige pH-Wert und die Lagertemperatur wirkten gegen eine Freisetzung von Methanol bei der Lagerung. Wenn von einem durchschnittlichen Rektifikationseffekt im Zuge der Destillation von ca. 25% ausgegangen wird (SÄMANN et al., 2002), dann liegt der maximal erlaubte Methanolgehalt in der Maische bei 'Williams Christ' bei 1680 mg/100 ml r.A., bei Marille und Quitte bei 1250 mg/100 ml r.A.. Wurden ein Brennerenzym zugesetzt und der pH-Wert auf 3,0 eingestellt sowie die Gärtemperatur auf 20 °C gehalten, so konnten diese Grenzwerte zum Teil nicht eingehalten werden. Werden jedoch die in dieser Arbeit angeführten Parameter (Pektin-Lyase-Zusatz; Gärtemperatur 12 °C; pH-Wert: 2,4; 33% Wasserzusatz zur Quittenmaische; keine Maischelagerung) ausgenutzt, so sind auch Methanolgehalte erreichbar, die weit unter den derzeit gültigen gesetzlichen Grenzwerten liegen.

## Literatur

- BELITZ, H.-D. und GROSCH, W. (1987): Lehrbuch der Lebensmittelchemie. - Berlin: Springer, 1987
- BINDLER, F., VOGES, E. and LAUGEL, P. 1988: The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits. *Food Additives and Contaminants* 5(3): 343-351
- CAA (2003): Codex alimentarius austriacus. Kapitel B 23. Spirituosen. - Wien: Hollinek, 2003
- GLATTHAR, J., SENN, T. and PIEPER, H.J. 2001: Investigations on reducing the methanol content in distilled spirits made of Bartlett pears. *Dt. Lebensmittelrundschau* 97(6): 209-216
- KAISER, W. (1985): Die Vergärung von Obstmaischen : Gärungstechnologisch bedeutsame chemisch-physikalische Parameter und ihre Beeinflussung durch technologische Maßnahmen. - Diss. Univ. Hohenheim, 1985
- KINOSHITA, H., IJIRI, I., AMENO, S., TAKANA, N., KUBOTA, T., TSUJIANKA, M. and WATANABE, R. 1998: Combined toxicity of methanol and formic acid : two cases of methanol poisoning. *Int. J. Legal Med.* 111: 334-335
- KLAUSHOFER, H. und BANDION, F. 1968: Gaschromatographische Methode zur Bestimmung des Äthylacetat-, Methanol-, n-Propanol-, i-Butanol- und i-Amylalkoholgehaltes in Spirituosen. *Mitt. Klosterneuburg* 18: 443-448
- MACHOLZ, R. und LEWERENZ, H. (1989): *Lebensmitteltoxikologie*. - Berlin: Springer, 1989
- MARTEAU, G., SCHEUR, J. et OLIVIERI, C. 1961: Cinétique de la libération enzymatique du méthanol au cours des transformations pectolytiques du raisin. *Ann. Technol. Agric.* 10: 161-183
- PAINE, A.J. and DAYAN, A.D. 2001: Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Human Exp. Toxicol.* 20: 563-568
- PIEPER, H.J., BRUCHMANN, E.-E. und KOLB, E. (1993): *Technologie der Obstbrennerei*. 2. Aufl. - Stuttgart: Ulmer, 1993
- SÄMANN, H., BAUMANN, R. und VOGL, K. 2002: Methanolgehalte in Maischen und Destillaten im Blickpunkt. *Bess. Obst* (8): 18-23
- SEGAL, B., SEGAL, R. und GRAGER, W. 1966: Studium der Faktoren, die die Bildung des Methylalkohols bei der Behandlung mit pektolytischen Enzymen beeinflussen. *Flüss. Obst* 33: 151-154
- TUSZYNSKI, T. 1990: Pectinesterase activity in some fruits. *Acta Alim. Polonica* 16: 17-26

Manuskript eingelangt am 17. Oktober 2005