

Hefen gegen Weinfehler

Seit rund 20 Jahren – einhergehend mit der bisher an sich positiven Veränderung unseres Weinbauklimas – verursachen in der Weinbereitung pH-Werte über 3.4 und Gärstockungen Probleme. Beide Erscheinungen begünstigen das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen. An der Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW wurden Weinhefestämme selektiert, die durch ihre Gäreigenschaften den Verderb der Weine verhindern: Hefen, die Weine mit tieferen pH-Werten produzieren (Lalvin W15), fructophile Hefen zur Verhinderung und Behebung von Gärstockungen (*Candida stellata*), Fructoform W3 (*Zygosaccharomyces bailii*) und Fructoform W33 (*Saccharomyces cerevisiae*) sowie die Hefe «Räuschling 1895».

MONIKA VOLKAN, SUSANNA LATTMANN UND JÜRGE GAFNER,
FORSCHUNGSANSTALT AGROSCOPE CHANGINS-WÄDENSWIL ACW
E-Mail: juerg.gafner@acw.admin.ch

Die Weinhefe Lalvin W15 wurde 1993 aus einem spontan gärenden Müller-Thurgau-Most aus der Rebanlage «Schlossberg» in Wädenswil isoliert. Diese kommerziell erhältliche Hefe produziert durchschnittlich gegen dreimal höhere Bernsteinsäurekonzentrationen (bis 2 g/L, Abb. 1) und bis zu 3 g/L mehr Glycerin als andere Weinhefen unter gleichen Gärbedingungen. Die erhöhten Bernsteinsäurewerte führen zu pH-Wert-Senkungen (bis zu 0.2 pH), was unter den heutigen Klimabedingungen positiv zu werten ist. Das Wachstum unerwünschter



Milchsäurebakterien wird damit verhindert (pH < 3.4). An ACW wird der Einsatz von Lalvin W15 der Aufsäuerung mit Weinsäure vorgezogen.

Während der Weinbereitung vermehren sich bei pH-Werten unter 3.4 Milchsäurebakterien der erwünschten Art *Oenococcus oeni*. Steigen die pH-Werte über 3.4, zum Beispiel nach dem biologischen Säureabbau, können sich auch solche der unerwünschten Gattungen *Pediococcus* und *Lactobacillus* vermehren. Das Risiko eines Auftretens unerwünschter Mikroorganismen erhöht sich ebenfalls bei vorhandener Restsüsse. Das Ziel bestand also darin, Hefen zu finden, die Gärstockungen als Verursacher restsüßere Weine verhindern oder beheben können.

Probleme mit restsüßeren Weinen

In Weinen mit Restsüsse sind, wie oben erwähnt, die Milchsäurebakterien *Lactobacillus brevis* oder *Lactobacillus hilgardii* aktiv. Sie bilden erhöhte Mengen Essigsäure (bis 5 g/L), zwei- bis dreimal erhöhte Milchsäurewerte, zum Teil D-Milchsäure und dadurch erhöhte Gesamtsäure, biogene Amine sowie einen Mäuselton

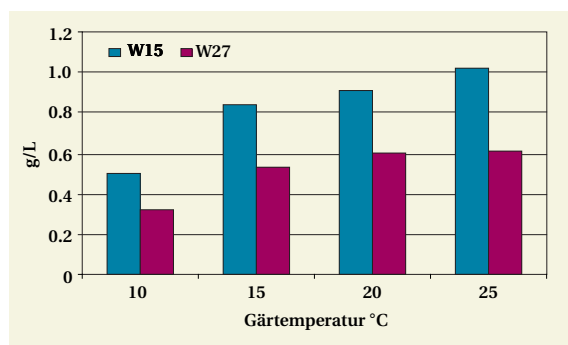


Abb. 1: Temperaturabhängiger Anstieg der Bernsteinsäure: rot für eine in Bezug auf die Bernsteinsäurebildung «normale» Hefe (W27), blau für die Hefe W15.

Tab. 1: Bildung der Leitsubstanzen des Brettanomyces-Fehltons in Weinen mit 2.5 g/L Zucker (gelb hinterlegt) und in trockenen Kontrollweinen, beide Angaben nach Barrique-Ausbau.

4-Ethylphenol (µg/L)	4-Ethylguaiacol (µg/L)	4-Ethylcatechol (µg/L)
127.9	16.3	42.0
240.8	34.1	88.3
770.5	111.3	219.5
1703.4	161.4	493.0
1838.8	209.4	593.0
2053.8	178.2	575.8

und sind damit unerwünscht. In restsüssen Weinen findet man sehr häufig *Pediococcus* (*Pediococcus damnosus*, *Pediococcus parvulus* oder *Pediococcus pentosaceus*). Diese *Pediococcus*-Arten bilden zwar keine hohen Essigsäurewerte, aber ebenfalls zwei- bis dreimal erhöhte Milchsäurewerte – zum Teil D-Milchsäure – und weisen dadurch eine erhöhte Gesamtsäure auf. Sie sind zudem Verursacher von erhöhten Gehalten an biogenen Aminen und des Lindwerdens, was bisher allerdings nur bei Aktivität von *Pediococcus damnosus* beobachtet wurde. Ein weiteres Problem in restsüssen Weinen besteht im vermehrten Auftreten von *Brettanomyces*-Hefen (*Brettanomyces bruxellensis*), die den gleichnamigen *Brettanomyces*-Fehlton (kurz «Brett») erzeugen. Diese Hefe kann sich in Weinen mit Restsüsse sehr gut vermehren und in der Folge höhere Konzentrationen der Leitsubstanzen 4-Ethylphenol, 4-Ethylguaiacol und 4-Ethylcatechol bilden (Tab. 1), die für diesen Fehler charakteristisch sind. Ausserdem kann *Brettanomyces* die Holzzucker von Holzfässern und Barriques verwerten und sich auch dort einnisten. Die meisten anderen Weinhefen sind dazu nicht in der Lage.

Gärstockungen – eine Frage der Verhältnisse

Seit 1990 beschäftigt sich das Team Mikrobiologie von ACW mit Gärstockungen. In jenem Herbst wurden überdurchschnittlich viele Weine mit Gärstockungen eingesandt. Damals mussten Schweizer Weine mit mehr als 4 g/L Zucker nach dem geltenden Lebensmittelgesetz noch deklassiert und als «Wein «Restsüsse» bezeich-

net werden. Die eingesandten Weine wurden auf ihre Glucose- und Fructosekonzentration untersucht. Alle wiesen ein Glucose/Fructose-Verhältnis um 1 : 10 oder weniger auf (also ein GFR = Glucose-to-Fructose-Ratio um 0.1 oder darunter; Tab. 2). In Laborversuchen konnten Gärstockungen durch die Zugabe von Glucose (GFR >> 0.1) aufgehoben werden. Die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* war anschliessend in der Lage, die Gärung zu Ende führen. Eine Zugabe des Zweifachzuckers Saccharose (Rohrzucker oder Rübenzucker = Glucose + Fructose) zur Behebung von Gärstockungen wurde in der Praxis nie ernsthaft in Betracht gezogen, weil dadurch nicht nur die Glucosekonzentration erhöht würde, sondern parallel auch die Fructosemenge. Ausserdem würde diese Behandlung zu einer starken Erhöhung des Alkoholgehalts führen.

In normal verlaufenden Gärungen konnten durch künstliche Erniedrigung der GFR Gärstockungen herbeigeführt werden. Das GFR ist also ein wichtiges Kriterium für die Entstehung von Gärstockungen, was lange nicht sehr ernst genommen wurde. Noch im Lehrbuch «Mikrobiologie des Weines» von H.H. Dittrich und M. Grossmann (Ulmer Verlag, 2005) steht: «Nicht zweifelsfrei geklärt ist die Bedeutung eines Missverhältnisses der Glucose/Fructose-Relation (Schütz und Gafner 1993), die ebenfalls zu Gärstockungen führt».

Die einfachste Massnahme zum Beheben von Gärstockungen wäre die Zugabe von Glucose, bis das GFR höher als 0.1 ist. Dieses Vorgehen funktioniert, aber die Zugabe von Glucose zu gärendem Most ist von Gesetzes wegen nicht zulässig. Also mussten andere Lösungswege gesucht werden.

Gesucht und gefunden: fructophile Hefen!

Hefen, die als fructophil klassifiziert wurden – also Fructose vergären können oder sogar als Nährstoff bevorzugen – wurden auf ihre Fähigkeit untersucht, Weine mit Gärstockungen zu kurieren. Hefestämmen der gängigen Weinhefe *S. cerevisiae* können Fructose normalerweise nicht effizient verwerten beziehungsweise abbauen, *Candida stellata* ist dazu zumindest in beschränktem Ausmass fähig. Der beste bis anhin bekannte Fructoseverwerter ist *Zygosaccharomyces bailii* (Abb. 2). Eine hohe eingimpfte Zelldichte dieser Hefe vermochte diesen Zucker am effektivsten abzubauen.

Tab. 2: Glucose/Fructose-Verhältnis in Weinen mit Gärstockungen.

Glucose (g/L)	Fructose (g/L)	GFR*
3.2	27.9	0.11
3.0	26.9	0.11
1.6	16.8	0.10
1.0	11.4	0.09
0.8	12.5	0.06
0.7	14.3	0.05
0.6	13.6	0.04
0.4	11.9	0.03
0.0	9.4	0.00

*GFR = Glucose/Fructose-Verhältnis

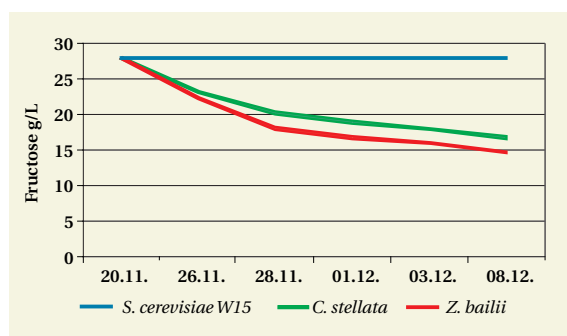


Abb. 2: Fructoseabbau: *Saccharomyces cerevisiae* (blau) zeigt keinen Abbau. *Zygosaccharomyces bailii* (rot) baut Fructose effektiver ab als *Candida stellata* (grün).

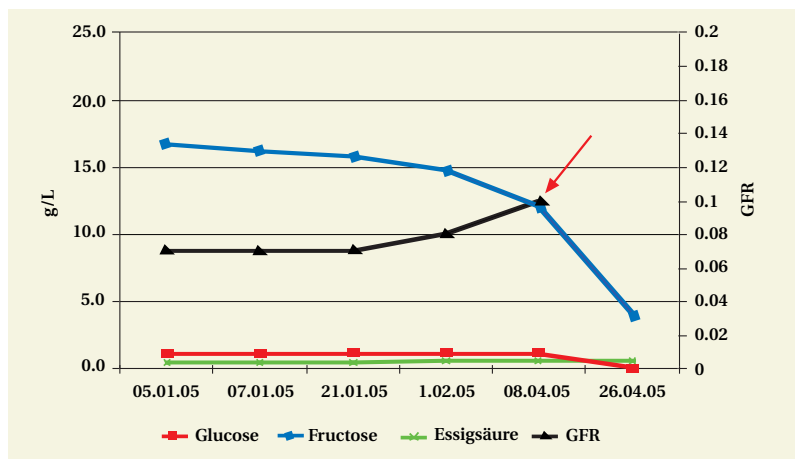


Abb. 3: Beheben einer Gärstockung mit *Z. bailii*: Die Fructose (blau) wird abgebaut, die Glucosekonzentration (rot) bleibt stabil, bis der GFR-Wert (schwarz) 0,1 erreicht ist (Pfeil). Dann vergärt die ebenfalls zugesetzte *S. cerevisiae* (W15) beide Zucker. Keine Veränderung der Essigsäuremenge (grün).

Z. bailii hat sich zur Behebung von Gärstockungen (Reparaturhefe) durchgesetzt und ist seit 2007 als Fructoferm W3 im Handel erhältlich (Innovationspreis Intervitis Kellerwirtschaft, Stuttgart 2007). Nach dem Einsatz von *Z. bailii* muss mit einer gärfähigen Hefe (*S. cerevisiae*) nachgeimpft werden, es sei denn, die bei der Gärung verwendete *S. cerevisiae* ist noch vorhanden und aktiv und kann die Gärung bei einem GFR > 0,1 zu Ende führen. *Z. bailii* besitzt allerdings keine Fähigkeit zur alkoholischen Gärung (Abb. 3) sondern erhöht lediglich das GFR, indem sie Fructose abbaut, während die Glucosekonzentration unverändert bleibt. Sobald das Glucose/Fructose-Verhältnis gleich oder höher als 0,1 ist, kann *S. cerevisiae* die Gärung zu Ende führen.

Inzwischen ist auch das Non-Plus-Ultra gelungen, nämlich eine gärfähige fructophile *S. cerevisiae* aus dem natürlichen Hefevorkommen heraus zu selektieren. Gleich zwei viel versprechende fructophile *S. cerevisiae* Hefe-Stämme konnten isoliert werden. Die Saccharomyces-Hefe Fructoferm W33 (Abb. 4) ist seit diesem Jahr auf dem Markt. Sie kann, da sie ja gärfähig ist, bereits im Traubensaft eingesetzt werden. Das GFR bleibt höher als 0,1, da sie als fructophile Hefe während der alkoholischen Gärung neben Glucose auch Fructose effizient verstoffwechseln kann.

Die «Methusalem-Hefe» vom Zürichsee

Seit 2008 wird eine weitere fructophile *S. cerevisiae* getestet, die aus einer Flasche Räuschling des Jahrgangs 1895 aus Meilen am Zürichsee isoliert wurde. Erste Ergebnisse zeigen, dass diese Hefe aufgrund ihrer Fructophilie ebenfalls Gärstockungen verhindern kann. Die «Räuschling 1895» zeigte 2008 zudem viel versprechende Ergebnisse beim Beheben von Gärstockungen und wird diesen Herbst weiter getestet. Sie ist noch nicht kommerziell erhältlich.

Nach einer Degustation alter Räuschling-Weine im Juni 2008 wurden die 13 Jahrgänge 1895, 1897, 1911, 1927, 1935, 1936, 1940, 1943, 1944, 1945, 1947, 1959 und 1962 auf noch lebende Organismen untersucht. Auf Agar-Platten mit Hefe-Nährsubstrat bildeten sich bei folgenden fünf Proben Zellkolonien: 1895 (13 Kolonien *S. cerevisiae*; vier verschiedene Stämme und drei Kolonien *Candida stellata*), 1897 (17 *C. stellata*), 1911 (14 *C. stellata*; ein Bakterium), 1935 (17 *S. cerevisiae*; zwei verschiedene Hefestämme) und 1962

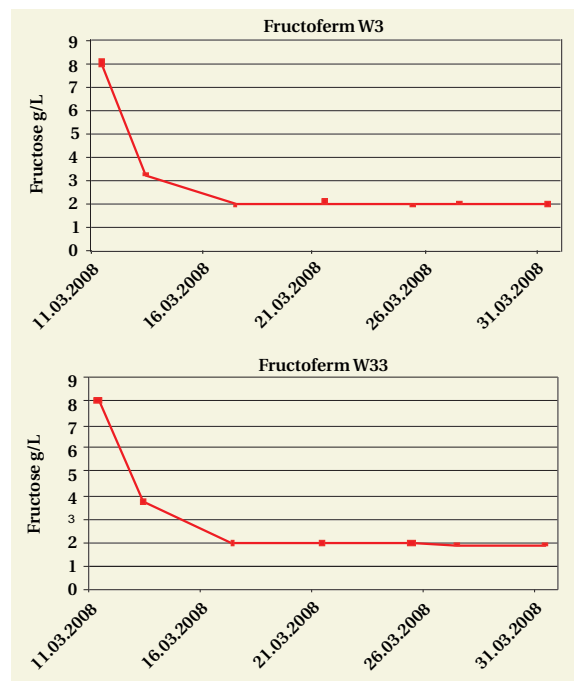


Abb. 4: Vergleich der Fructoseabbaufähigkeit von *Z. bailii* (Fructoferm W3) und *S. cerevisiae* (Fructoferm W33) in einem Wein mit einer Gärstockung. Die beiden Hefarten bauen die Fructose gleich effizient ab.

(17 *S. cerevisiae*; alles derselbe Hefestamm). Es konnten also insgesamt sieben molekularbiologisch unterscheidbare Hefestämme isoliert werden. Der *S. cerevisiae*-Stamm «1895» (Kolonie 6), befindet sich zurzeit mit sehr guten Resultaten in der praktischen Testphase. Zwei wichtige vorläufige Befunde sind, dass es sich um den fructophilsten Hefestamm handelt, der an ACW je selektioniert wurde und dass man mit dieser Hefe gute Weine machen kann.

... und eine Leserfrage

Zur Hefe «Räuschling 1895» erreichte uns folgende Frage aus der Leserschaft: «Habe soeben den R3-Beitrag gelesen auf S. 14 der SZOW Nummer 15/09: Haben Sie einmal beschrieben, wie man aus einem Wein eine Hefe isolieren und dann vermehren kann? Ich war bisher der wohl irrigen Auffassung, dass Hefen die SO₂-Zugabe (bei der Abfüllung) nicht überstehen».

Dazu die Antwort von Jürg Gafner

Die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* ist im Vergleich zu anderen weinrelevanten Mikroorganismen sehr tole-

Zum Schicksal der Hefen W27 und W46

Lalvin W27 (früher HK4) und Lalvin W46 (früher HK8) werden von der Firma Lallemant Inc. nicht mehr produziert. Wir klären zurzeit eine Möglichkeit ab, wie die Produktion dieser beiden Hefestämme für interessierte Betriebe weitergeführt werden kann. Interessierte mögen bitte bis 31. August 2009 mitteilen, wie viele Liter Wein sie 2009 mit W27 beziehungsweise W46 vergären möchten. E-Mail an: juerg.gafner@acw.admin.ch.

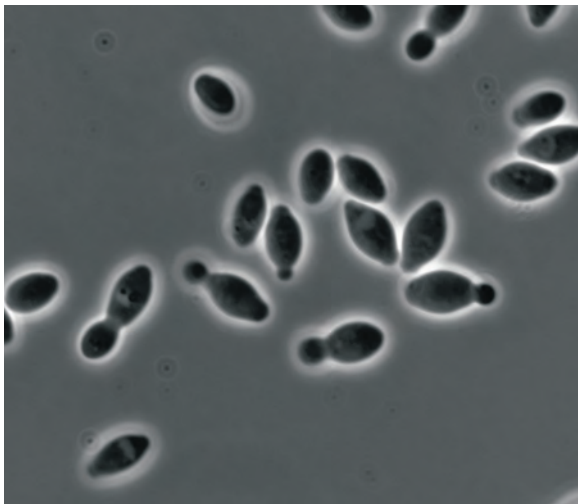


Abb. 5: Sich stark vermehrende Hefekultur – viele sprossende Hefen.

rant gegenüber SO_2 . Ein Anwendungsbeispiel dafür ist die Mostschwefelung. 50 mg SO_2/L verhindern die Vermehrung der – oft als Reinzuchtheife eingepflichten – *S. cerevisiae* nicht. Hingegen werden *Hanseniaspora uvarum* (asexuelle Form: *Kloeckera apiculata*) abgetötet. Sechs Stunden nach der Schwefelung werden keine lebenden Zellen dieser Hefeart mehr gefunden. *S. cerevisiae* kann die SO_2 in unschädliche Schwefelverbindungen umwandeln. So ist denn auch ein biologischer Säureabbau nach einer Mostschwefelung möglich. Die sehr schwefelempfindlichen Milchsäurebakterien *Oenococcus oeni* können sich vermehren, weil am Ende der alkoholischen Gärung die SO_2 -Mengen kleiner als 10 mg/L sind.

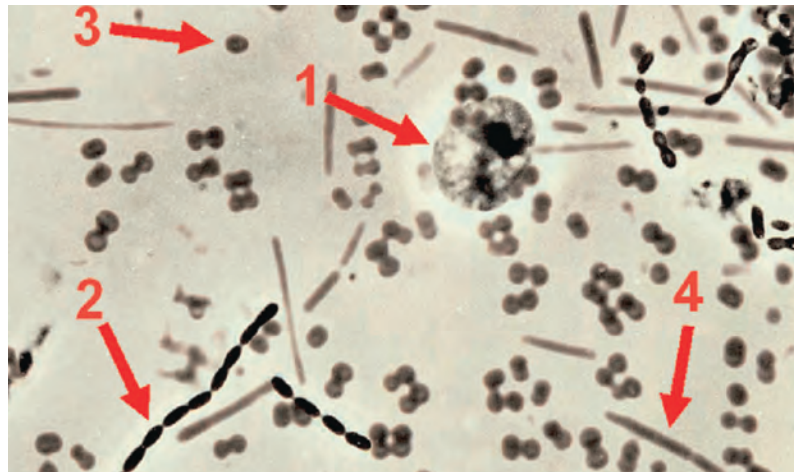


Abb. 6: Erwünschte Mikroorganismen im Wein:

1. *Saccharomyces cerevisiae* 2. *Oenococcus oeni* und unerwünschte Mikroorganismen im Wein: 3. *Pediococcus damnosus* 4. *Lactobacillus brevis*.

Die Hefen in den alten Räuschling-Weinen waren gewissermassen konserviert. Sie präsentierten sich unter dem Mikroskop visuell intakt – die Zellwände waren noch ganz und die Zellen nicht autolysiert, das heisst sie zeigten keine Auflösungserscheinungen. Sie befanden sich in einem «Schlafzustand» (Dormancy). Es ist eigentlich nur der Stoffwechsel «eingeschlafen». Die Hefen können auf Nährmedium und bei optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur) reaktiviert werden. Wir haben Kulturen unter sterilen Bedingungen in flüssigem und festem Vollmedium angesetzt, weil sich die Hefen auf den beiden Medien in Bezug auf das Wachstum unterschiedlich verhalten können. ■

Des levures contre les défauts du vin

R É S U M É

Dans la foulée des changements climatiques (positifs dans l'ensemble) enregistrés dans nos régions viticoles depuis le début des années 90, des nouveaux défis ont apparu dans la vinification sous la forme de valeurs pH supérieures à 3.4 et d'arrêts de fermentation. Les deux phénomènes favorisent la prolifération de micro-organismes indésirables qui provoquent des défauts dans le vin, par exemple des *pédiocoques* et des *lactobacilles*, mais aussi des levures telles que *Brettanomyces bruxelensis*. On sait déjà depuis un certain temps que l'utilisation de levures appropriées telles que Lalvin W15, une levure productrice d'acide succinique, permet de relever légèrement l'acidité du jeune vin pour ainsi obtenir une légère baisse de la valeur pH.

A l'origine, les arrêts de fermentation imputables à un faible ratio glucose/fructose (RGF inférieur ou proche de 0.1) tiennent au fait que la levure *Saccharomyces ce-*

revisiae présente dans le vin ne peut pas transformer le fructose. La législation interdit d'ajouter du fructose pour rétablir un bon ratio et il s'ensuivrait d'ailleurs une augmentation indésirable du taux d'alcool dans le vin. On a donc cherché des levures dites « fructophiles », capables de dégrader le fructose, en vue d'obtenir une modification positive du RGF. La levure *Zygosaccharomyces bailii* (Fructoform W3) introduite sur le marché en 2007 possédait certes la compétence recherchée de transformer le fructose, mais pas celle d'effectuer une fermentation alcoolique. Les travaux de développement ont donc continué et une nouvelle souche de *Saccharomyces* a été isolée. Introduite sur le marché sous la dénomination Fructoform W33, elle est capable d'effectuer les deux réactions et peut donc déjà être ajoutée au moût non fermenté pour prévenir les arrêts de fermentation.