

«Reparaturhefen» zur Behebung von Gärstockungen

Ein Grund für das Auftreten von Gärstockungen in der weinbaulichen Praxis kann die Verschiebung des Glucose/Fructose-Verhältnisses (GFV) während der alkoholischen Gärung sein. Im Saft aus reifen Trauben liegt das GFV bei 1. Es ist etwa gleichviel Glucose wie Fructose vorhanden. Die Weinhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) bevorzugt Glucose gegenüber Fructose als Nährstoff: Sie ist glucophil. Damit verschiebt sich der GFV-Wert im Verlauf der Gärung. Wenn rund fünfmal mehr Fructose als Glucose vorliegt, stockt die Gärung. In Versuchen konnte gezeigt werden, dass die Zugabe von fructophilen Hefen zum Beispiel der Art *Candida stellata* zur Endvergärung von Weinen mit Gärstockungen führt.

NAOMI A. PORRET, PATRICK CORETH, PETRA HOFFMANN-BOLLER,
DANIEL BAUMGARTNER UND JÜRGEN GAFNER,
EIDGENÖSSISCHE FORSCHUNGSANSTALT WÄDENSWIL

Gärstörungen und Gärstockungen sind ein häufiges Praxisproblem bei der Weinbereitung. Mögliche Ursachen dafür sind schon oft beschrieben worden: zu hohe oder zu tiefe Gärtemperaturen (optimale Temperaturen für Weisswein zwischen 15 und 20 °C, für Rotwein nicht über 35 °C während längerer Zeit, d.h. nicht über 12 Stunden), Nährstoffmangel für die Hefen (unter 150 mg/L hefeverwertbarer Stickstoff), Fungizidrückstände im Traubensaft (genügend langes Zeitintervall zwischen der letzten Behandlung und der Traubenlese), das Aufkommen von Milchsäurebakterien während der alkoholischen

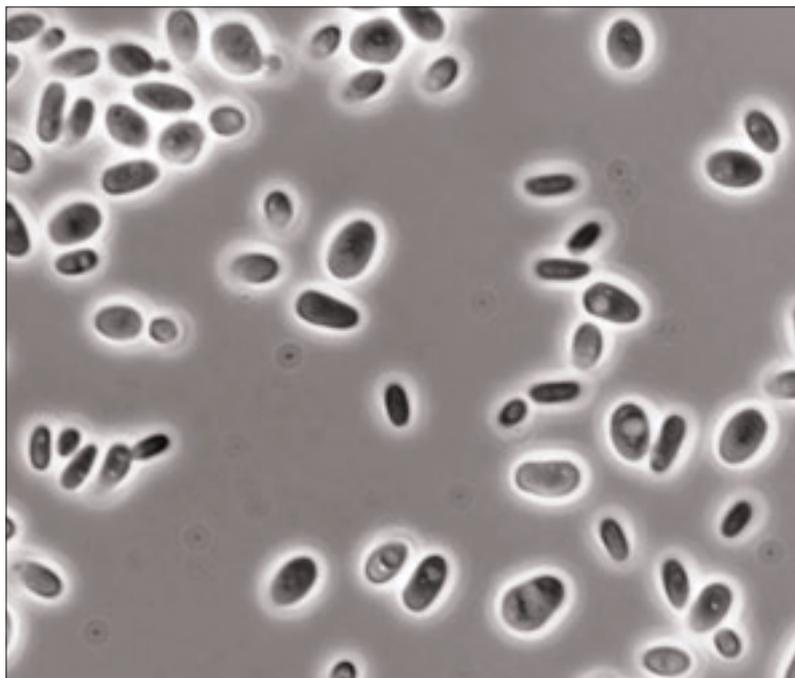
Gärung oder länger andauernde anaerobe Bedingungen während der Gärung. Zur Behebung von Gärstockungen werden deshalb je nach Fall eine Regulierung der Temperatur auf mindestens 22 °C, Belüftung, Nährstoffzusatz oder erneutes Beimpfen mit Reinzuchtheften mit mindestens 50 g/hl empfohlen; diese Massnahmen können auch in Kombination angewendet werden.

Ein anderer wichtiger Auslöser für das Auftreten von Gärstockungen ist das GFV, das sich gegen Ende der Gärung zu Ungunsten der Glucose verschiebt. Vor der Gärung liegt es bei zirka 1, was bedeutet, dass es im Traubensaft genauso viel Glucose wie Fructose gibt. Da die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* glucophil ist, also deutlich besser Glucose als Fructose verwertet, wird der GFV-Wert im Verlauf der Gärung kleiner. Ab einem Wert unter 0,2 kann *S. cerevisiae* die Gärung nicht mehr weiterführen: Sie stockt. Dieses Problem ergibt sich vor allem bei Traubensäften mit hohen Zuckerwerten. In diesem Fall wird relativ schnell ein GFV von 0,2 erreicht, obwohl noch viel Restzucker vorhanden ist. Der einfachste Weg, einen solchen Wein wieder in Gärung zu bringen, wäre die Zugabe von Glucose; die Temperatur sollte bei 22 °C liegen. Aus Laboruntersuchungen wissen wir, dass dadurch die Hefen wieder aktiv werden. Die Zugabe von Glucose ist jedoch (nicht nur in der Schweiz) verboten, weshalb Alternativen entwickelt werden müssen.

Candida stellata

Candida stellata ist eine Fructose bevorzugende (fructophile) Hefe, die zur typischen Pilzflora auf Trauben gehört. Da sie Fructose besser als Glucose verwertet, kann sie das GFV erhöhen. Sie ist in der Lage, einen Traubensaft ohne Restzucker (Fructose) zu vergären. Allgemein wird ihre Gärfähigkeit aber als schwach und schleppend beschrieben: Eine Vergärung ausschliesslich mit *C. stellata* kann Wochen

Die Hefe *Candida stellata* unter dem Lichtmikroskop.



dauern. Diese Hefeart hat sehr vielfältige Eigenschaften. In der Literatur wird häufig auf die Stoffwechsel-Variabilität zwischen verschiedenen Stämmen hingewiesen. Manche produzieren sehr viel Glycerin, andere Essigsäure, Acetaldehyd oder Alditole (Zuckeralkohole). Deshalb war es besonders wichtig, verschiedene Stämme auf ihre physiologischen und sensorischen Eigenschaften zu untersuchen.

Selektion geeigneter Stämme

In einem Experiment wurden 13 *C. stellata* Stämme in einem Gärversuch getestet. Von den resultierenden Weinen wurden mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatografie (HPLC) Alkohol-, Glucose-, Fructose-, Glycerin- und Essigsäuregehalte gemessen. Anschliessend wurden die Weine degustiert. Wichtige Voraussetzungen für die Auswahl als potenzielle Reparaturhefen zur Behebung von Gärstockungen waren: starke Bevorzugung der Fructose gegenüber der Glucose bei der Vergärung, eine gute Gärfähigkeit sowie eine niedrige Essigsäureproduktion. Weine, die jeweils mit einem der dreizehn Hefestämme vergoren wurden, zeigten sensorisch deutliche Unterschiede. Teilweise wiesen sie sehr starke Amyl- oder Essigsäureester-Töne auf, ein Wein hatte einen Mäuselton und ein anderer eine Bockseraromatik. Ein Stamm zeigte eine auffallende exotische Aromatik. Häufig waren auch Bittertöne im Gaumen festzustellen. Aus den dreizehn Stämmen wurden drei für weitere Versuche ausgewählt. Sie überzeugten sensorisch durch eine neutrale, saubere Nase und fehlenden Bitterton. Die Aromatik dieser Weine kommt trotz Verwendung dieser drei Reparaturhefen sehr sortenspezifisch zum Ausdruck. Alle drei Hefestämme wurden an der Eidgenössischen Forschungsanstalt Wädenswil (FAW) isoliert und werden hier als FAW 1, FAW 2 und FAW 3 bezeichnet.

Gärversuche

Die drei oben genannten Stämme der Hefeart *C. stellata* wurden für die Endvergärung von zwei in der alkoholischen Gärung stehen gebliebenen Moste aus der Praxis eingesetzt. Die Moste wurden uns unter Angabe folgender Daten von den Kellermeistern für Experimente zur Verfügung gestellt:

- Ein Gutedel (Chasselas) aus dem Markgräflerland (D) wurde mit 74 °Oe geerntet und um 20 °Oe angereichert. Nachdem der Most Probleme in der

	Gutedel	Oeil de Perdrix
Glucose g/L	0,4	1,5
Fructose g/L	6,7	13,5
GFV	0,06	0,11
Alkohol Vol.-%	10,5	10,2
Glycerin g/L	5,4	4,9
Essigsäure g/L	0,47	0,42
freie schweflige Säure mg/L	2,0	4,1
gesamte schweflige Säure mg/L	40,8	75,5

	Alkohol g/L		Glycerin g/L		Essigsäure g/L		Restzucker g/L	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangslage	10,5	10,2	5,4	4,9	0,47	0,42	7,1	15,0
Kontrolle ohne Zusatz von <i>Candida stellata</i>	10,5	10,2	5,4	4,9	0,47	0,42	7,1	15,0
FAW 1	11,8	11,9	5,7	5,3	0,52	0,57	0,6	0,4
FAW 2	11,6	11,9	5,7	5,4	0,52	0,59	0,0	0,4
FAW 3	12,8	11,7	5,7	5,2	0,47	0,66	0,0	0,5

Endvergärung bekundete, wurde er Crossflow-filtriert und mit 60 mg/L schwefliger Säure versetzt.

- In einem Oeil de Perdrix vom Neuenburgersee baute die eingimpfte Hefe die Glucose fast vollständig ab, bevor die alkoholische Gärung mit Restzucker ins Stocken geriet.

In beiden Weinen wurden mittels HPLC weinrelevante Parameter analysiert. Zusätzlich wurden die gesamte und die freie schweflige Säure bestimmt. Tabelle 1 zeigt die Analysedaten der beiden für die Versuche verwendeten Moste mit Gärstockungen.

Beide Moste wurden in Ansätzen von je 200 ml Volumen mit 10⁸ Zellen/ml der drei *C. stellata* Hefestämme FAW 1, FAW 2 und FAW 3 beimpft. Die Gärtemperatur wurde konstant bei 22 °C gehalten. Allen Proben wurde 40 mg (20 g/hl) Fermaid der Firma Lallemand Inc. zugegeben. Dieses Präparat enthält Heferinde, Thiamin und Diammoniumhydrogenphosphat. Die Zugabe erfolgte, um die Gefahr eines Nährstoffmangels der Hefezellen zu verringern. Der Gärverlauf wurde durch wöchentliche Analyse des Restzuckeranteils sowie der übrigen weinrelevanten Parameter mittels HPLC verfolgt. Tabelle 2 zeigt die Analysewerte vor der Beimpfung mit *C. stellata* respektive nach 30 Tagen Gärdauer am Ende der Versuchsreihe.

Gutedel

Alle drei *C. stellata* Hefestämme haben sofort nach der Beimpfung mit der Vergärung des Restzuckeranteils begonnen. Nach 20 Tagen war bei allen drei Ansätzen der Restzuckeranteil drastisch reduziert (Abb. 1): FAW 1: 1,1 g/L; FAW 2: 0,0 g/L und FAW 3: 0,5 g/L. Nach dreissig Tagen war kein Restzucker mehr für FAW 2 und FAW 3 auffindbar und FAW 1 konnte die verbleibenden 0,6 g/L Restzucker nicht mehr vergären. Der Abbau der Glucose und Fructose durch die Aktivität des *C. stellata* Hefestamms FAW 3 ist in der Abbildung 2 gezeigt; es ist offensichtlich, dass FAW 3 die Fructose sehr effizient verwertet. Die Daten in Tabelle 2 lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Alkoholgehalte sind durch die Aktivität der drei Hefestämme in der Endvergärung unterschiedlich angestiegen: FAW 1 um 1,3%; FAW 2 um 1,1% und FAW 3 um 2,3%.
- Die Glycerinwerte sind bei allen drei Stämmen um 0,3 g/L angestiegen.
- Die Essigsäurewerte sind erfreulicherweise, wenn überhaupt, nur sehr gering angestiegen: Bei FAW 3 kein Anstieg, FAW 1 und FAW 2 sind um 0,05 g/L angestiegen.

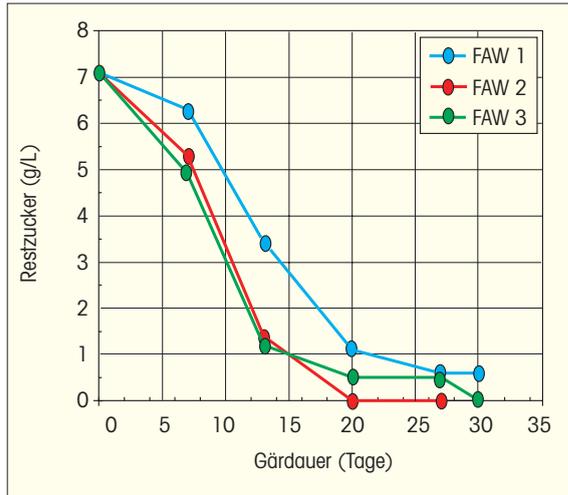


Abb. 1: Endvergärung eines Gutedelmosts nach Beimpfung mit *Candida stellata*. Der Restzuckergehalt wurde mittels HPLC durch Addition der Glucose- und Fructosewerte ermittelt.

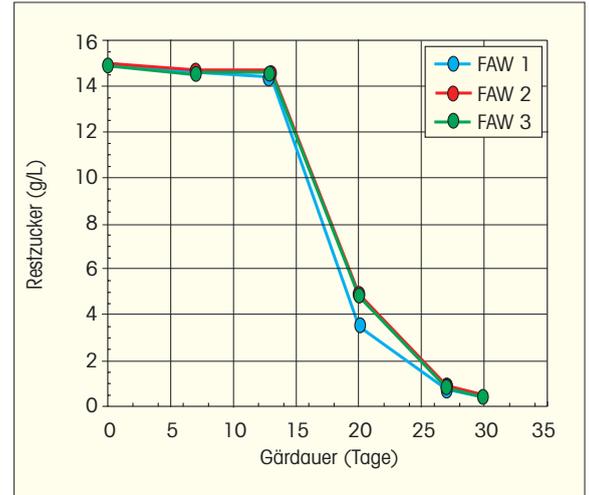


Abb. 3: Endvergärung eines Oeil de Perdrix-Mosts nach Beimpfung mit *Candida stellata*. Der Restzuckergehalt wurde mittels HPLC durch Addition der Glucose- und Fructosewerte ermittelt.

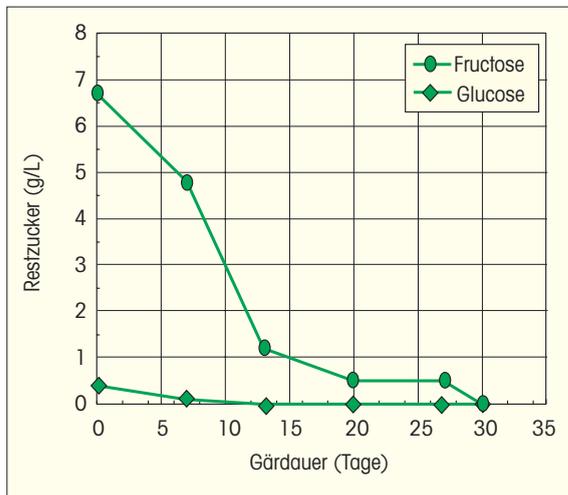


Abb. 2: Glucose-Fructose-Verhältnis (GFV) während der Endvergärung mit *Candida stellata* (Stamm FAW 3) am Beispiel des Gutedelmosts.



Abb. 4: Glucose-Fructose-Verhältnis (GFV) während der Endvergärung mit *Candida stellata* (Stamm FAW 3) am Beispiel des Oeil de Perdrix-Mosts.

Oeil de Perdrix

Alle drei *C. stellata* Hefestämme haben mit der Vergärung des Restzuckergehalts erst 15 Tage nach der Beimpfung begonnen (Abb. 3). Ein Grund für diesen massiv verzögerten Gärtart im Vergleich zum Gutedel (Abb. 1) kann in der hohen Konzentration der gesamten schwefligen Säure (75,5 mg/L) im Oeil de Pedrix liegen (Tab. 1). Nach 27 Tagen, das heisst längstens 12 Tage nach dem Gärtart, war bei allen drei Ansätzen der Restzuckergehalt drastisch reduziert (Abb. 3): FAW 1: 0,7 g/L; FAW 2: 0,9 g/L und FAW 3: 0,8 g/L. Nach dreissig Tagen war der Restzuckergehalt für FAW 1 und FAW 3 bei 0,4 g/L und FAW 2 hatte noch 0,5 g/L. Der Abbau der Glucose und Fructose durch die Aktivität des *C. stellata* Hefestamms FAW 3 ist in der Abbildung 4 gezeigt; es ist offensichtlich, dass FAW 3 die Fructose sehr effizient verwertet. Die Daten in Tabelle 2 lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Alkoholgehalte sind durch die Aktivität der drei Hefestämme in der Endvergärung unterschiedlich angestiegen: FAW 1 und FAW 2 um 1,7% sowie FAW 3 um 1,5%.

- Die Glycerinwerte sind bei allen drei Stämmen unterschiedlich angestiegen: FAW 1 um 0,4 g/L, FAW 2 um 0,5 g/L und FAW 3 um 0,3 g/L.
- Die Essigsäurewerte sind bei allen drei Stämmen unterschiedlich und im Vergleich zum Gutedel stärker angestiegen: FAW 1 um 0,15 g/L, FAW 2 um 0,17 g/L und FAW 3 um 0,24 g/L.

Sowohl der Oeil de Perdrix als auch der Gutedel konnten bis zu einem Restzuckergehalt unter 1 g/L vergoren werden (Tab. 2). Das GFV war für beide Moste unter 0,2 (Tab. 1). Moste mit Restzucker und einem GFV unter 0,2 können mit normalen glucophilen Weinhefen nicht zu Ende vergoren werden ohne einen unerlaubten Zusatz von Glucose, um das GFV auf mindestens 0,2 zu erhöhen. Wir konnten zeigen, dass Moste mit Restzucker und einem GFV unter 0,2 mit fructophilen Hefen wie *Candida stellata* zu Ende vergoren werden können. Die Alkoholgehalte der stecken gebliebenen Moste kommen als Ursache für die Gärtstockung nicht in Frage; sie sind mit 10,5% für den Gutedel und 10,2% für den Oeil de Perdrix eher tief.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Unsere Versuche haben gezeigt, dass eine Behandlung von Weinen, die während der Gärung stecken geblieben sind, mit *C. stellata* möglich ist. Die Vergärung des Restzuckers ist nur erfolgreich, wenn *C. stellata* zugegeben wird. Ohne diesen Hefezusatz verändern sich die weinrelevanten Parameter selbst nach dreissig Tagen nicht (Tab. 2).

In klar filtrierten Mosten zeigt sich *C. stellata* relativ unempfindlich gegenüber hohen Gehalten an gesamter schwefeliger Säure und hohen Alkoholgehalten. In weiteren, hier nicht aufgeführten Versuchen wurde jedoch gezeigt, dass sich *C. stellata* gegenüber anderen im Most vorhandenen Hefen nicht genügend durchzusetzen vermag. Einen stockenden Gäransatz mit *C. stellata* wieder in Gärung zu bringen muss als letzte Massnahme angesehen werden. Erst wenn ein Ansteller mit *S. cerevisiae* und das Schaffen von optimalen Gärbedingungen (Temperatur, Sauerstoff, Nährstoffe, CO₂) keinen Erfolg bringen, sollte mit *C. stellata* nachgeholfen werden. *C. stellata* kann in diesem Sinne als «Reparaturhefe» bezeichnet werden. Durch eine vorgängige Crossflow-Filtration der Moste können andere noch aktive Mikroorganismen aus dem Most entfernt und eine unerwünschte Entwicklung von Fehltonen verhindert werden. Im Praxiseinsatz haben wir den stecken gebliebenen Oeil de Perdrix-Most (insgesamt 45'000 Liter) von 15 g/L Restzucker auf gewünschte 3 g/L vergoren.



Degustative Beurteilung der Gärung. (Foto: Daniel Baumgartner, FAW)

Versuche mit weiteren fructophilen Hefearten wie zum Beispiel *Zygosaccharomyces* ssp. haben zu ähnlichen Resultaten geführt. Viel versprechende Versuche mit *Zygosaccharomyces bailii* haben gezeigt, dass auch diese Hefeart auf Grund ihrer fructophilen Eigenschaft ähnliche Resultate liefert wie *C. stellata*. Unser nächstes Ziel ist es, das aktive Prinzip zur Behebung von Gärstockungen aus Hefen zu isolieren und der Weinbaupraxis in Form eines «Pulvers» zur Verfügung zu stellen.

RÉSUMÉ

«Réparation» d'arrêts de fermentation par des levures

Le changement du rapport glucose/fructose (RGF) est souvent la cause d'arrêts de la fermentation dans les exploitations viticoles. Dans le jus de raisins, avant le début de la fermentation, le RGF est de env. 1, il y a donc à peu près la même quantité de glucose que de fructose dans le raisin mûr. Comme la levure Saccharomyces cerevisiae consomme plus de glucose que de fructose (elle est donc glucophile), le RGF baisse au courant de la fermentation. En dessous d'une valeur de 0,2, S. cerevisiae ne peut plus continuer la fermentation dans des conditions optimales. Nous avons montré avec nos expériences que la levure fructophile Candida stellata peut reprendre une fermentation arrêtée. Car cette levure consomme plus de fructose que de glucose, elle est donc fructophile.