

5. Klosterneuburger  
Hefetagung

29.08.2012

# Eine neue Weinhefe: *Candida zemplinina*

Matthias Sipiczki

Universität Debrecen, Ungarn

# Inhalt:

- **Geschichte**
- **Eigenschaften**
- **Gärversuchen mit Mischkulturen**
- **?Abbau der biogenen Amine??**

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013



# TOKAY

Superioris HUNGARIÆ  
natura loci munitissimum pro:  
pugnaculum.

TURRIS QVÆ FLV VVLGO TEYSA.





# Botrytisierte Weine

Saturnes (F)

Rheingau und Mosel-Saar-Ruwer (D)

Rust (A)

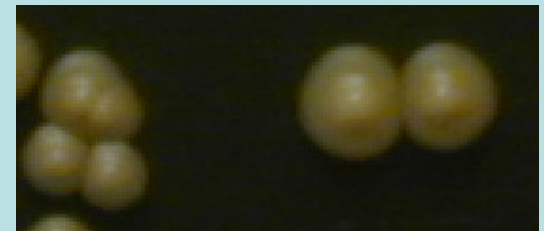
Tokaj (H-SK)





**neue Hefeart?**

**Saccharomyces**

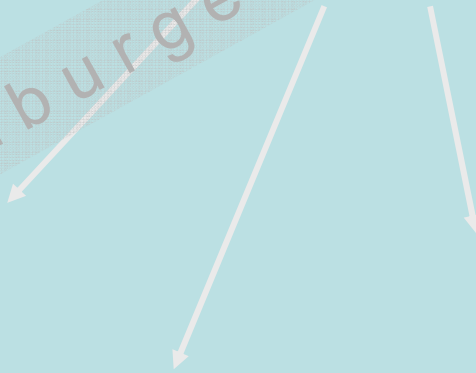


5. Klosterneuburger Hefetagung 2013

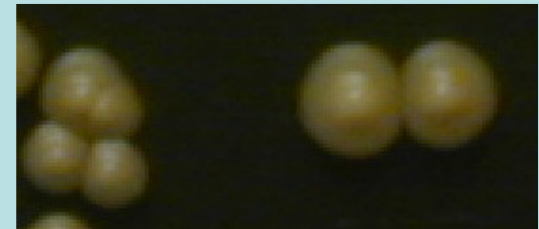
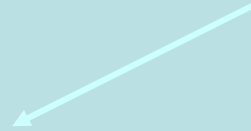
5. Klosterneuburger Hefetagung 2013



neue Hefeart?



Saccharomyces



Candida stellata

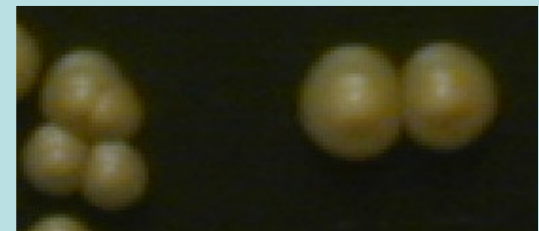
?



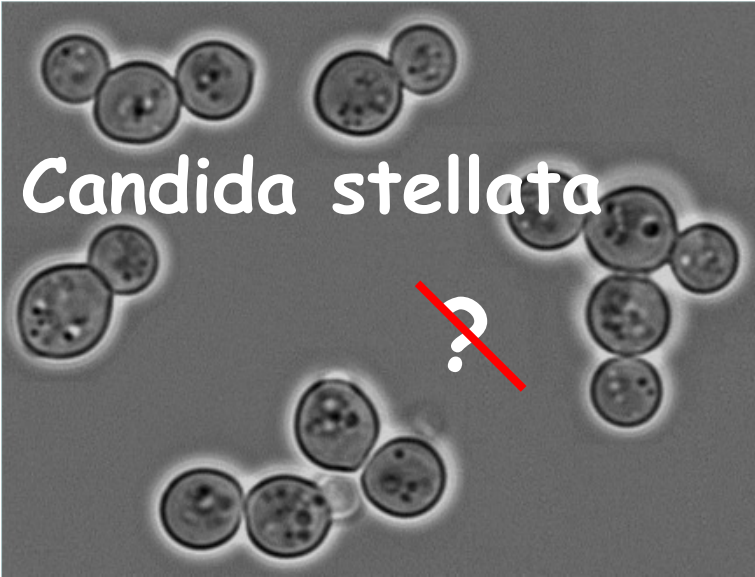
neue Hefeart?

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013

Saccharomyces



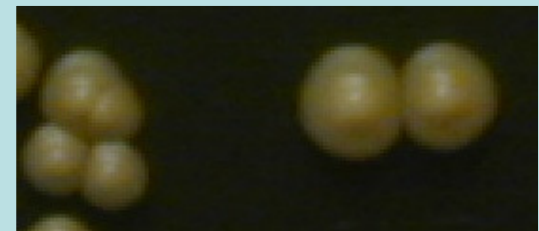
Candida stellata



neue Hefeart?

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013

Saccharomyces





# Sequenzierung (von rRNA-Genen)

Sequenzen unterschiedlich von

*Candida stellata*

allen bekannten Hefearten



Wir haben eine neue Hefeart gefunden!!

*Candida zemplinina* sp. nov., an osmotolerant and psychrotolerant yeast that ferments sweet botrytized wines

Matthias Sipiczki

Department of Genetics, University of Debrecen, Debrecen and Research Group of Microbial Developmental Genetics, Hungarian Academy of Sciences, Debrecen, Hungary

Correspondence

Matthias Sipiczki

lipovy@tigris.klte.hu

5. Klosterneuburger Hefeforschung 2013

# *Candida zemplinina* ist weltweit verbreitet

Frankreich	(Wein)
Ghana	(Kakaobohne)
Griechenland	(Wein)
Italien	(Wein)
Kanada	(Wein)
Neuseeland	(Wein)
Österreich	(Wein)
Philippinen	(Blume, Nektar)
Schweiz	(Wein)
Slowakei	(Wein)
Slowenien	(Wein)
Spanien	(Wein)
Ungarn	(Wein)
USA	(Wein)

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013

## Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig
- fructophil

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013



## Die wichtigsten Eigenschaften

### -„**Begleithefe**“

-osmotolerant

-psychrotolerant

-leicht alkoholempfindlich

-gärfähig

-fructophil

**Selten dominiert** (spielt eine untergeordnete Rolle)

aber

**kann bis zum Ende der Gärung überleben**

5. Klosterneuburger Heferetagung 2013

# Die wichtigsten Eigenschaften

-„Begleithefe“

**-osmotolerant**

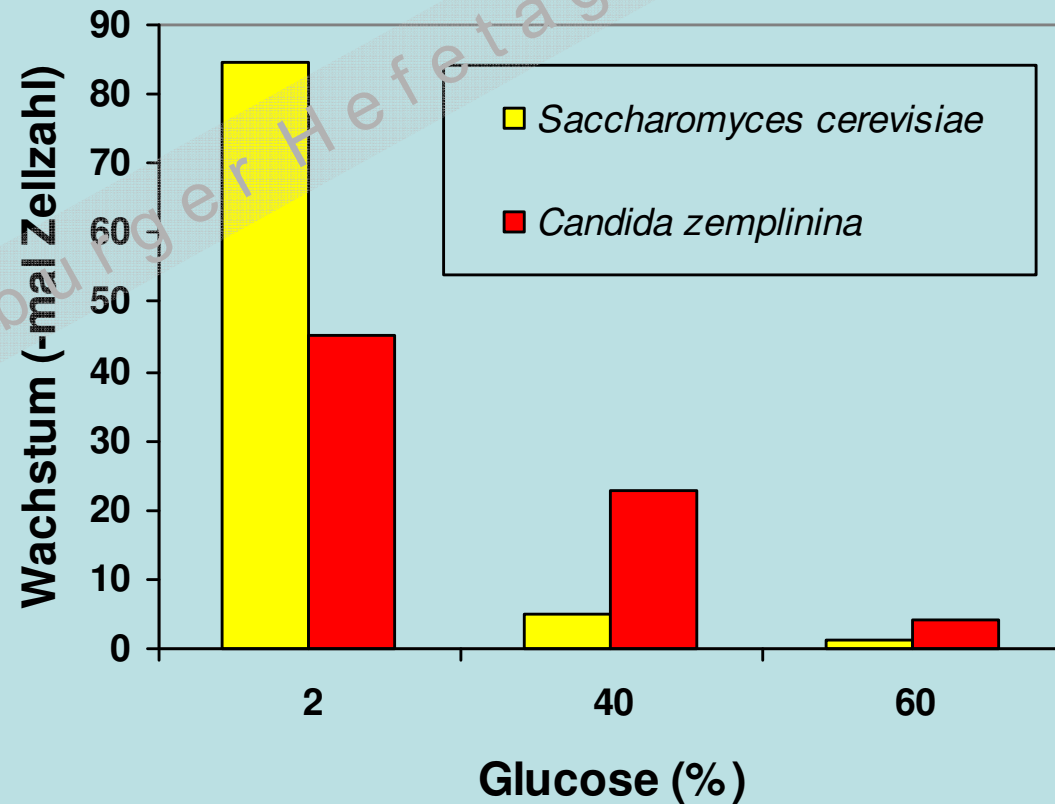
-psychrotolerant

-leicht alkoholempfindlich

-gärfähig

-fructophil

7 Tage,  
25 °C



# Die wichtigsten Eigenschaften

-„Begleithefe“

-osmotolerant

**-psychrotolerant**

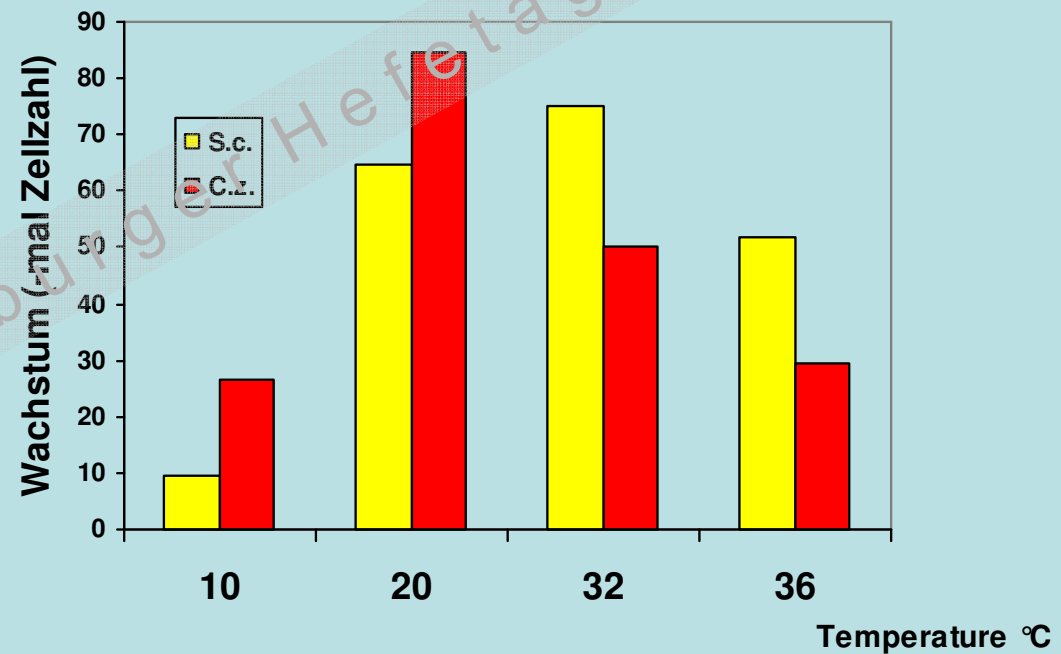
-leicht alkoholempfindlich

-gärfähig

-fructophil

3 Tage,

2 % Glucose



# Die wichtigsten Eigenschaften

-„Begleithefe“

-osmotolerant

-psychrotolerant

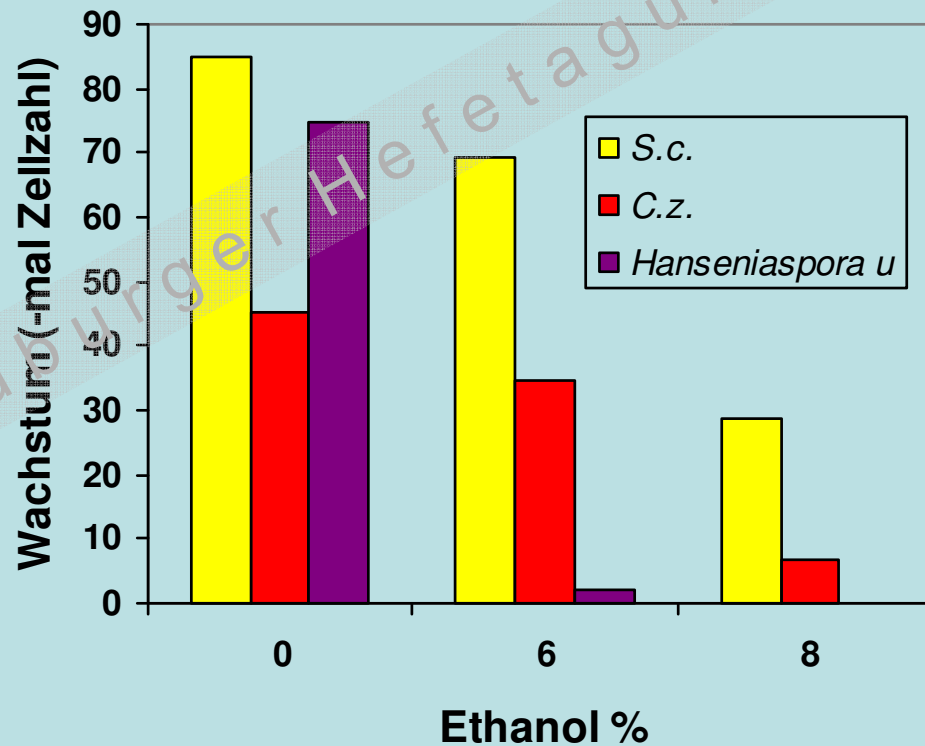
**-leicht alkoholempfindlich**

-gärfähig

-fructophil

3 Tage,

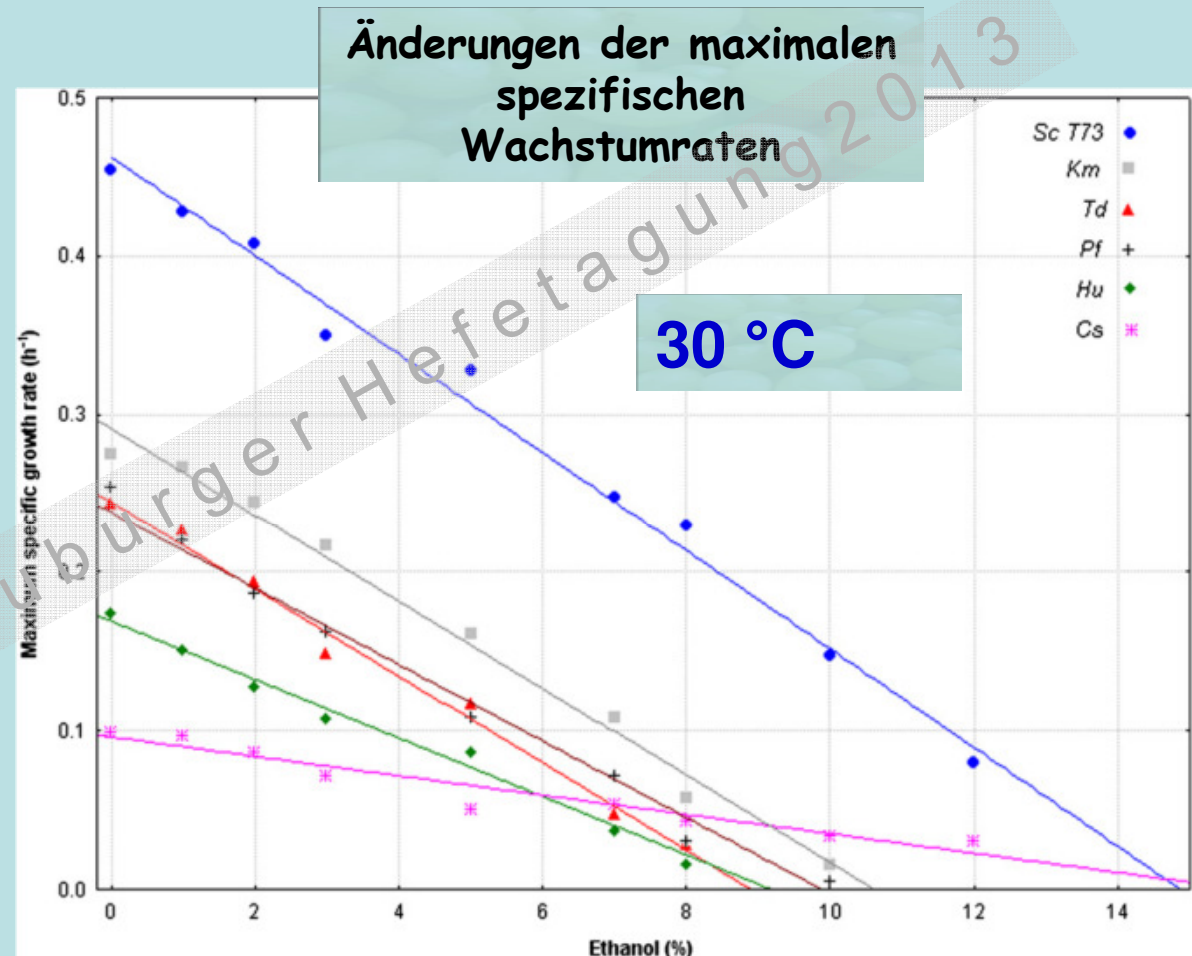
2 % Glucose





# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich**
- gärfähig
- fructophil



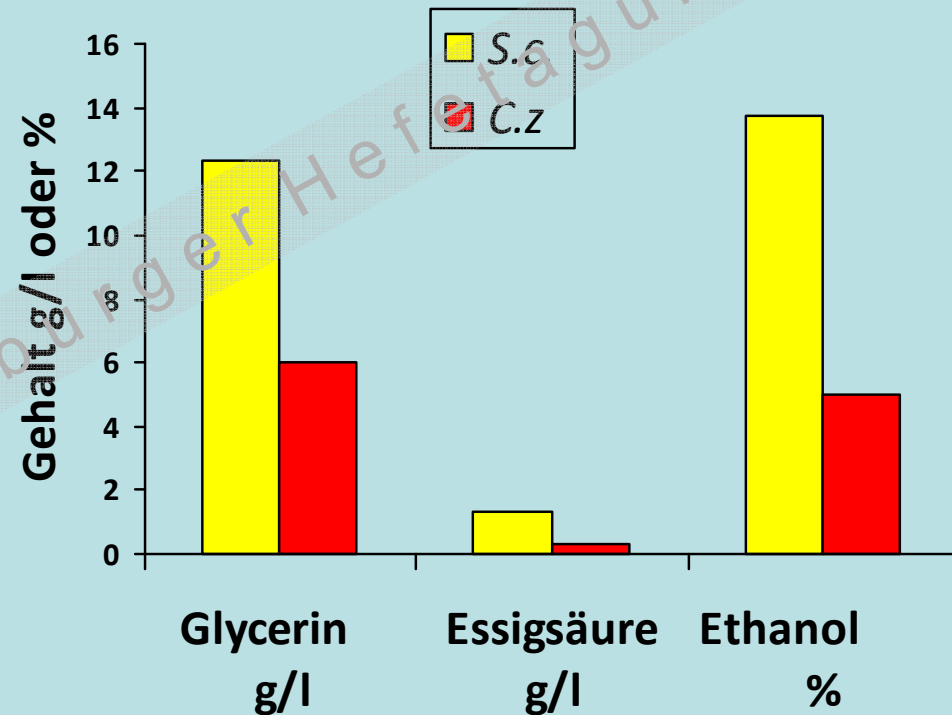
Salvado et al.: Food Microbiology 28:1155-1161, 2011

# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig**
- fructophil

25 °C

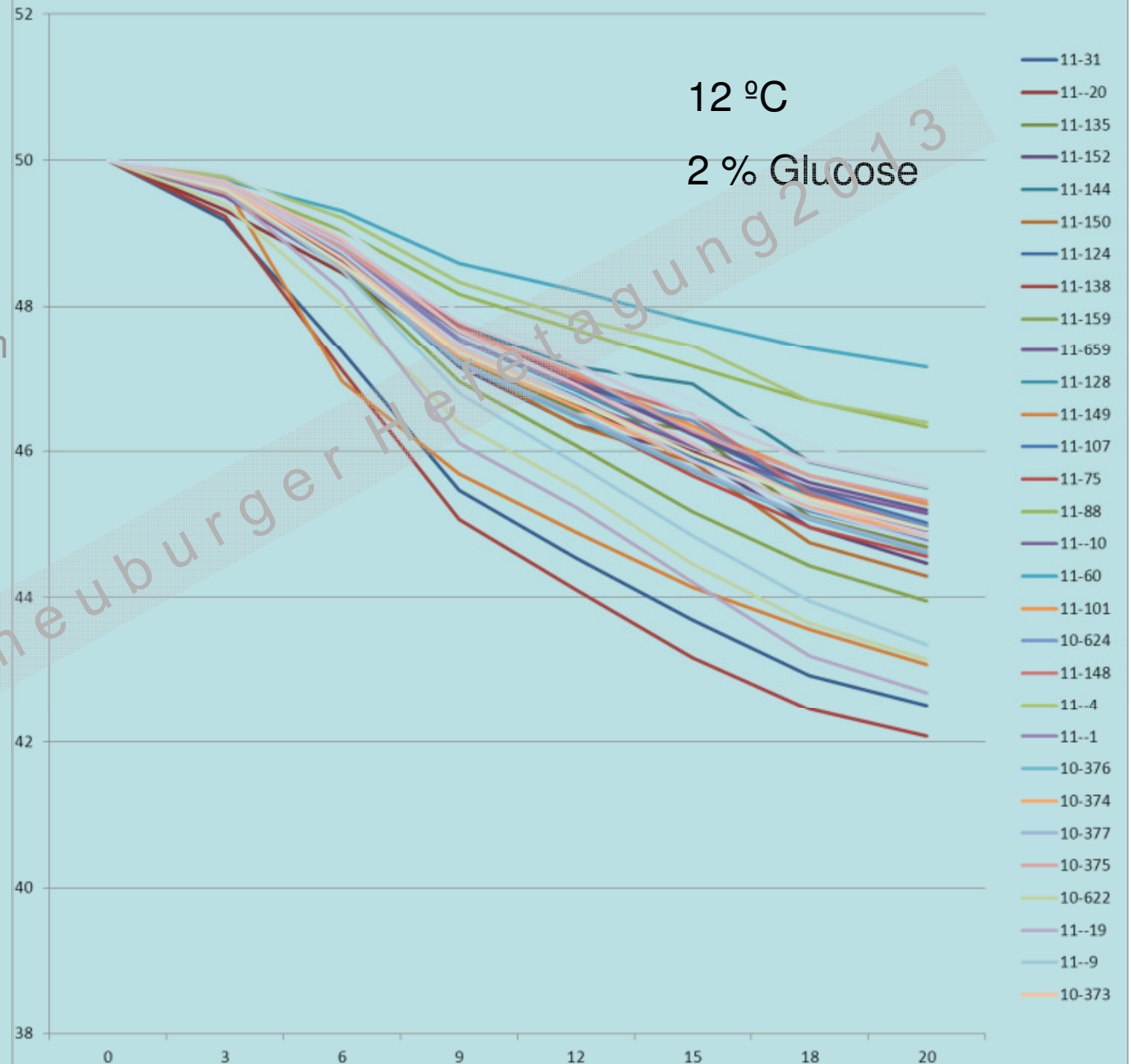
200g/l Zucker



(14 Tage)

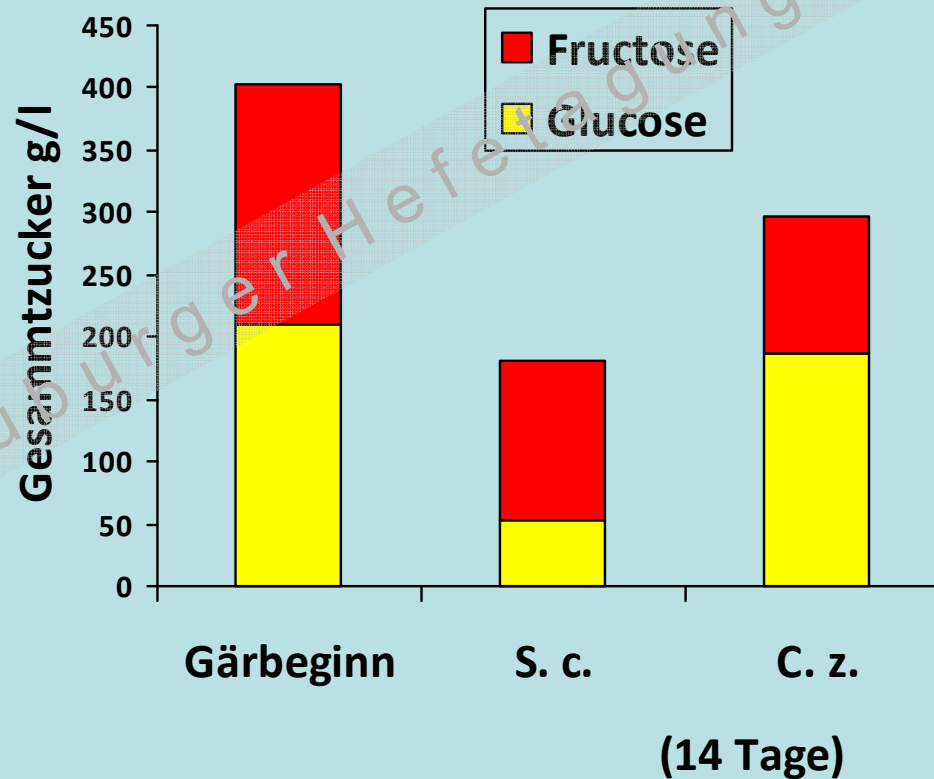
# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig**
- fructophil



# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig
- fructophil**

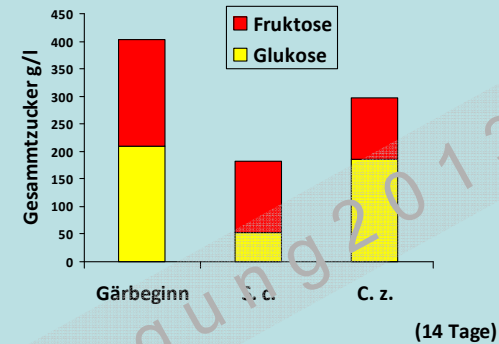




# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig

**-fructophil**



## Süßereduktion

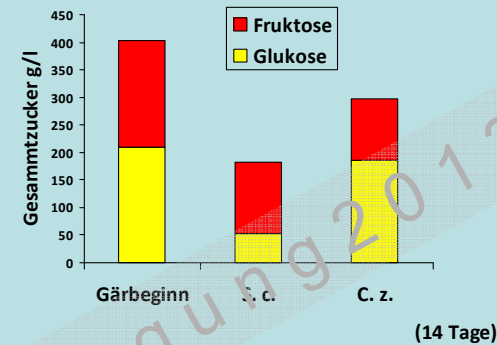
Negativ in Süßweinen (reduziert die Süße)

Positiv in trockenen Weinen (reduziert die Süße des Restzuckers)

# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig

**-fructophil**



## Süßereduktion

Negativ in Süßweinen

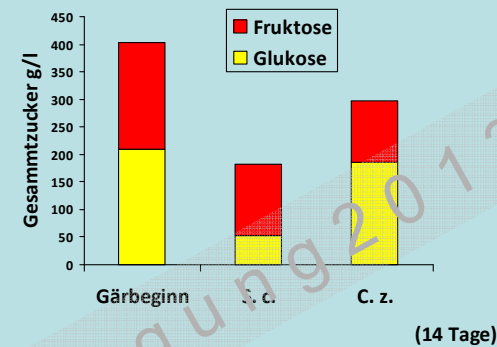
Positiv in trockenen Weinen

## Ausgleich des Glucose/Fructose-Verhältnisses

(„Normalisierung“ des Zuckerumsatzes der glucophilen *Saccharomyces cerevisiae*-Hefen)

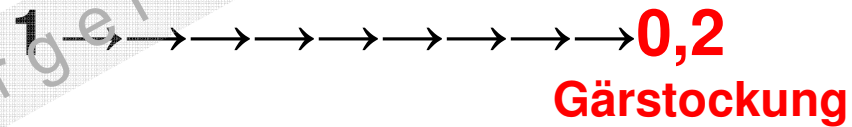
# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig
- fructophil**



## Ausgleich des Glucose/Fruktose-Verhältnisses

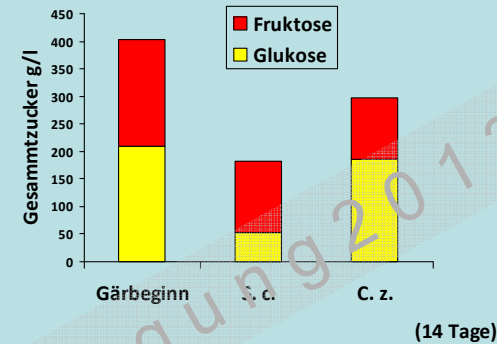
Glucose/Fruktose-Verhältnis:



# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig

**-fructophil**



## Ausgleich des Glucose/Fructose-Verhältnisses

Glucose/Fructose-Verhältnis:

**1** → → → → → → → → → → **0,2**  
**Gärstockung**

Behebung von Gärstockungen

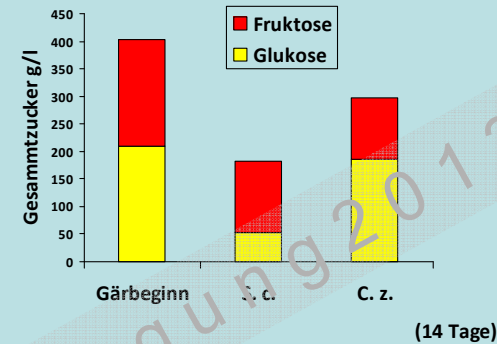
Zugabe von Glucose **(!!verboten!!)**



# Die wichtigsten Eigenschaften

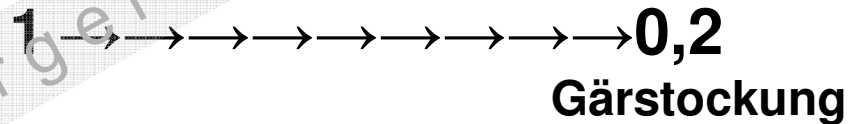
- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig

**-fructophil**



## Ausgleich des Glucose/Fruktose-Verhältnisses

Glucose/Fruktose-Verhältnis:



Behebung von Gärstockungen

Zugabe von Glucose **(!!verboten!!)**

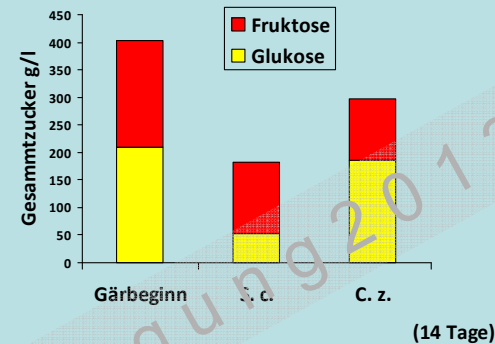
**Beimpfung mit einer fructophilen Hefe**

z.B. W3: *Zygosaccharomyces bailii*

# Die wichtigsten Eigenschaften

- „Begleithefe“
- osmotolerant
- psychrotolerant
- leicht alkoholempfindlich
- gärfähig

**-fructophil**



## Ausgleich des Glucose/Fruktose-Verhältnisses

Glucose/Fruktose-Verhältnis:

1 → → → → → → → → → → → 0,2

**Gärstockung**

Behebung von Gärstockungen

Zugabe von Glucose (**!!verboten!!**)

**Beimpfung mit einer fructophilen Hefe**

z.B. W3: *Zygosaccharomyces bailii*

Nachteile von *Zygosaccharomyces*:

- nicht gärfähig
- kann nicht mit Weinhefen im Traubensaft eingesetzt werden,
- Prozedere dauert mehrere Wochen

# «Reparaturhefen» zur Behebung von Gärstockungen

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

SCHWEIZ. Z. OBST-WEINBAU Nr. 22/03

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.

**Tab. 2: Inhaltsstoffe der Weine vor und nach der Beimpfung mit *C. stellata* zur Behebung der Gärstockungen. A: Gutedel und B: Oeil de Perdrix.**

	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

FAW: Forschungsanstalt Wädenswil, Schweiz

## Taxonomic reclassification of *Candida stellata* strains reveals frequent occurrence of *Candida zemplinina* in wine fermentation

Hajnalka Csoma &amp; Matthias Sipiczki

Department of Genetics and Applied Microbiology, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

Strain	RFLP patterns												LSU rRNA gene sequence		Similarity (%)
	Mbol					DraI				HaeIII			Accession number	Most similar type strain	
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	I	II	III			
FAW 3	+					+				+			EF452220	<i>C. zemplinina</i> CBS 9494 <sup>T</sup> (AY160761)	99
FAW 70				+					+		+		EF452223	<i>C. bombi</i> CBS 5836 <sup>T</sup> (U45706)	98

Tab. 2: Inhaltsstoffe der Weine vor und nach der Beimpfung mit *C. stellata* zur Behebung der Gärstockungen. A: Gutedel und B: Oeil de Perdrix.

	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

FAW: Forschungsanstalt Wädenswil, Schweiz

## Versuche mit Mischkulturen

### *C. zemplinina*

- bleibt im Hintergrund
- allein kann nicht den Most vollständig durchgären,
- kann in Mischkulturen für Beimpfung des Mostes verwendet werden



### Versuche mit Mischkulturen

von *C. zemplinina*, *S. cerevisiae* und *S. uvarum*

# Versuche mit Mischkulturen

## Wachstum

(im sterilen Most; Schüttelkulturen)



Kombination

Mischverhältnis bei  
Beimpfung

*C. zemplinina*

*S. cerevisiae*

*S. uvarum*

*C. zemplinina* + *S. cerevisiae*

1:1, 1:4, 4:1

*C. zemplinina* + *S. uvarum*

1:1, 1:4, 4:1

*C. zemplinina* + *S. cerevisiae* + *S. uvarum*

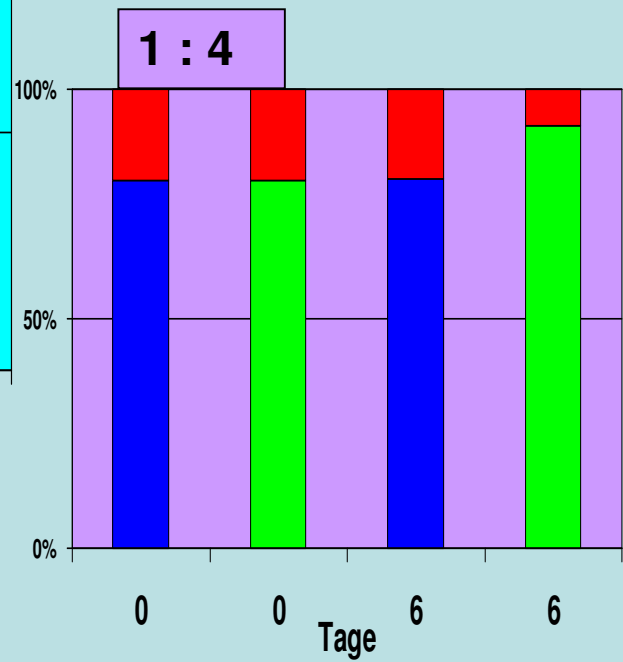
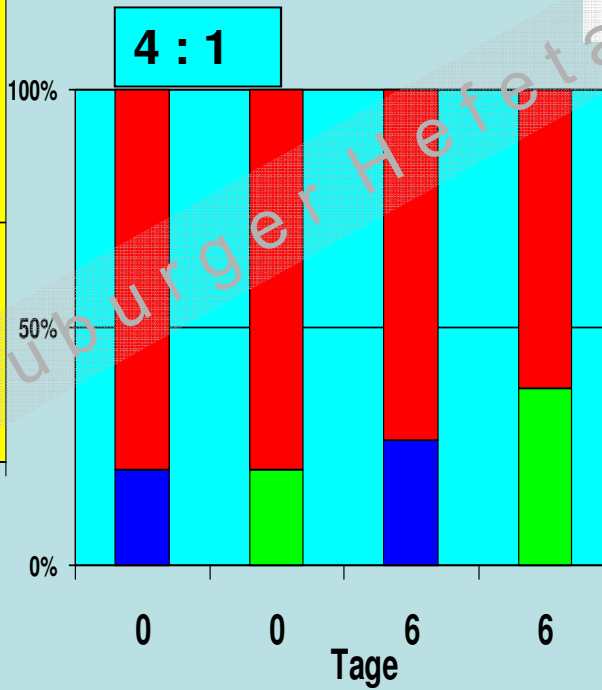
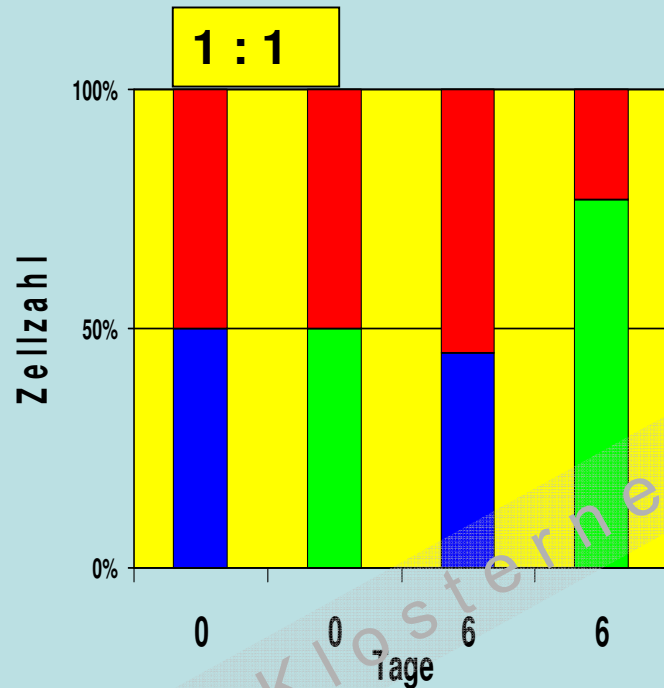
1:1:1



# Versuche mit Mischkulturen

## Wachstum

18 °C



- *C. zemplinina*
- *S. cerevisiae*
- *S. uvarum*

# Versuche mit Mischkulturen

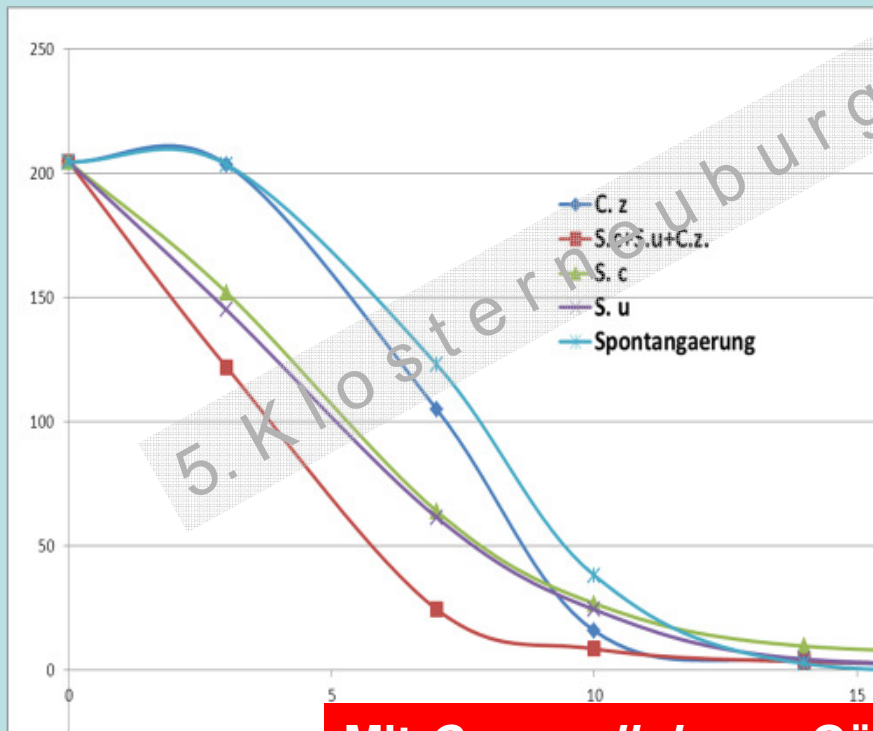
## Gärung (in Technologie)

Mischverhältnis:

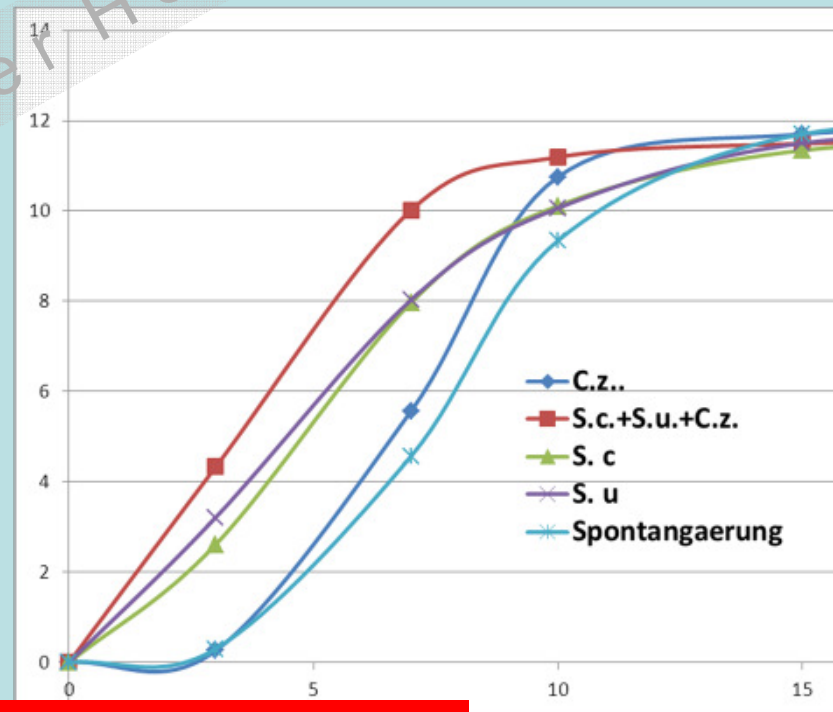
S.c.	3
S.u.	3
C.z.	3
S.c+S.u,+C.z.	1+1+1



### Zucker



### Ethanol



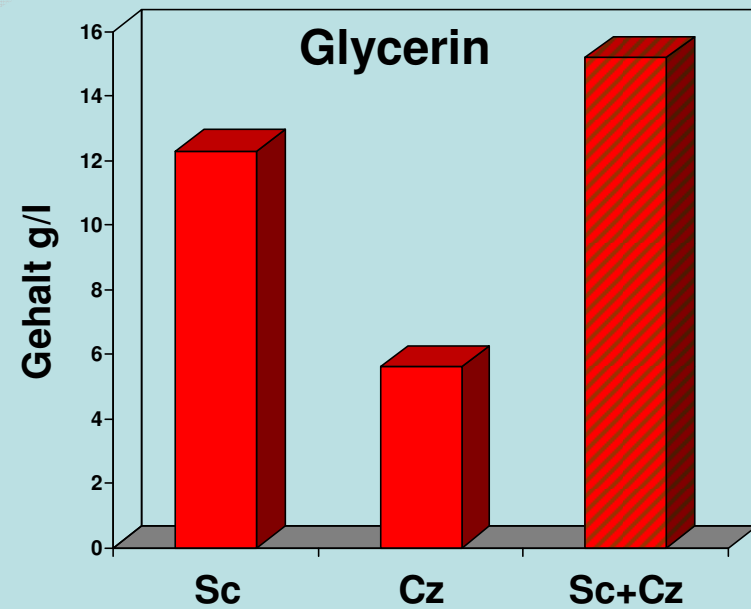
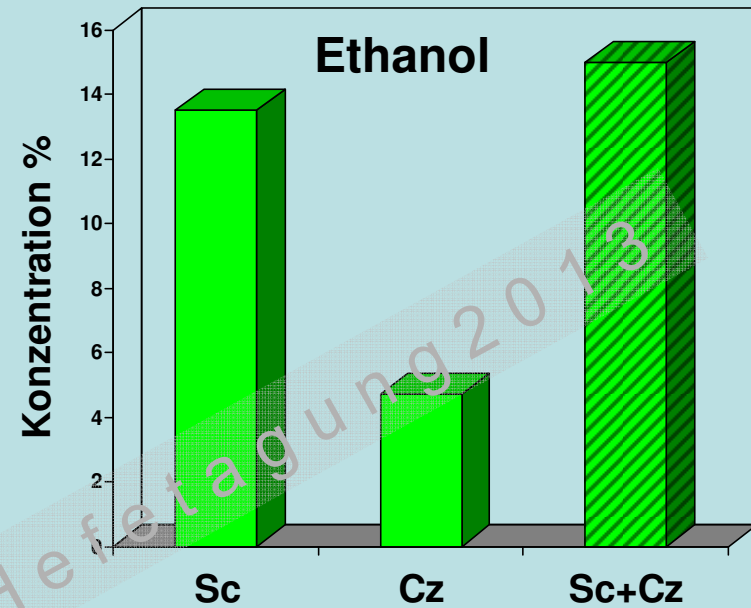
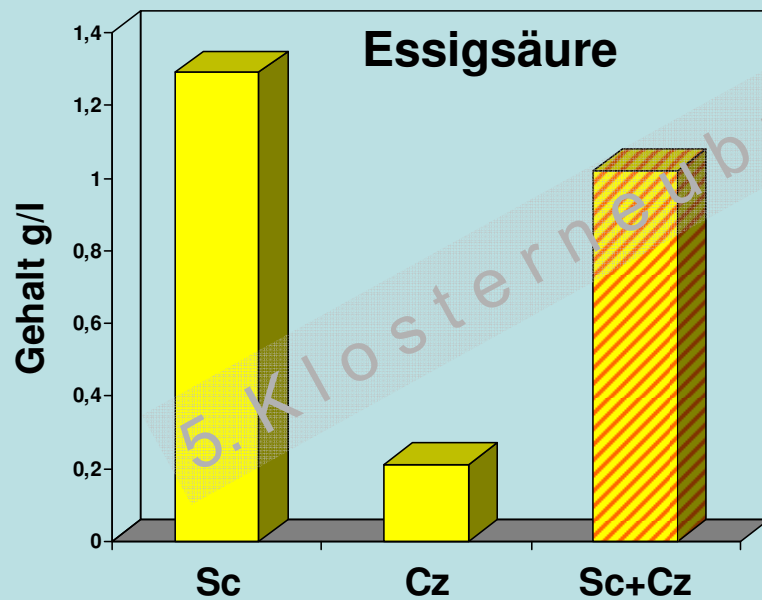
Mit *C. zemplinina* → Gärung ist schneller

# Versuche mit Mischkulturen

## Gärung

14 Tage

25 °C



Mit *C. zemplinina* → weniger Säure, mehr Glycerin

## Versuche mit Mischkulturen

Group	Compound	S	mg/l	CS
Higher Alcohols	1-Propanol	9.55 ± 1.26	30.58 ± 0.96*	16.94 ± 4.38
	2-Methyl-1-propanol	24.51 ± 1.53	468.86 ± 7.48*	93.46 ± 0.73
	Isoamyl alcohol	167.52 ± 4.33	334.63 ± 29.45*	213.13 ± 17.41
	β-Phenylethanol	30.63 ± 4.91	227.9 ± 15.26*	118.15 ± 3.00*

Andorra et al.: Eur Food Res Technol 231:215-224, 2010

# Biogene Amine

organische Basen, die durch Decarboxylierung von Aminosäuren gebildet werden

Tab. 1: Aus Aminosäuren durch Decarboxylierung entstehende Biogene Amine

Aminosäure	Amine
Histidin	Histamin
Alanin	Ethylamin
Phenylalanin	Phenylethylamin
Ornithin	Putrescin
Lysin	Cadaverin
Tyrosin	Tyramin
Ornithin	Spermidin
Ornithin	Spermin

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013

# Biogene Amine

organische Basen, die durch Decarboxylierung von Aminosäuren gebildet werden

Tab. 1: Aus Aminosäuren durch Decarboxylierung entstehende Biogene Amine

Aminosäure	Amine
Histidin	Histamin
Alanin	Ethylamin
Phenylalanin	Phenylethylamin
Ornithin	Putrescin
Lysin	Cadaverin
Tyrosin	Tyramin
Ornithin	Spermidin
Ornithin	Spermin

Einige, wie z.B. Spermidin, können krebserregende Nitrosamine bilden



# Biogene Amine

organische Basen, die durch Decarboxylierung von Aminosäuren gebildet werden

Tab. 1: Aus Aminosäuren durch Decarboxylierung entstehende Biogene Amine

Aminosäure	Amine
Histidin	Histamin
Alanin	Ethylamin
Phenylalanin	Phenylethylamin
Ornithin	Putrescin
Lysin	Cadaverin
Tyrosin	Tyramin
Ornithin	Spermidin
Ornithin	Spermin

Einige, wie z.B. Spermidin, können krebserregende Nitrosamine bilden

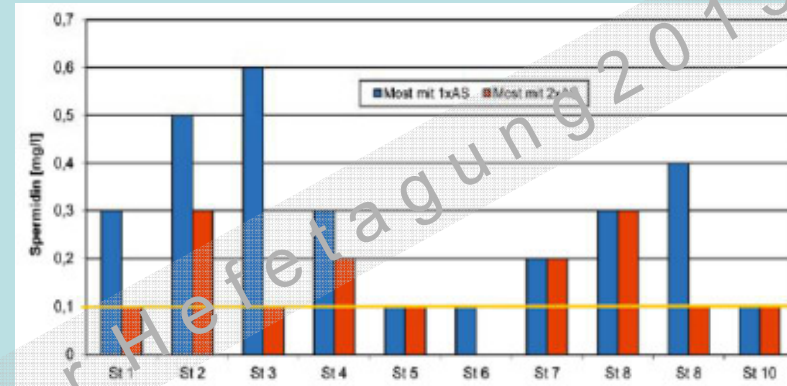
*C. zemplinina* kann Spermidin abbauen

# Biogene Amine

# Spermidin

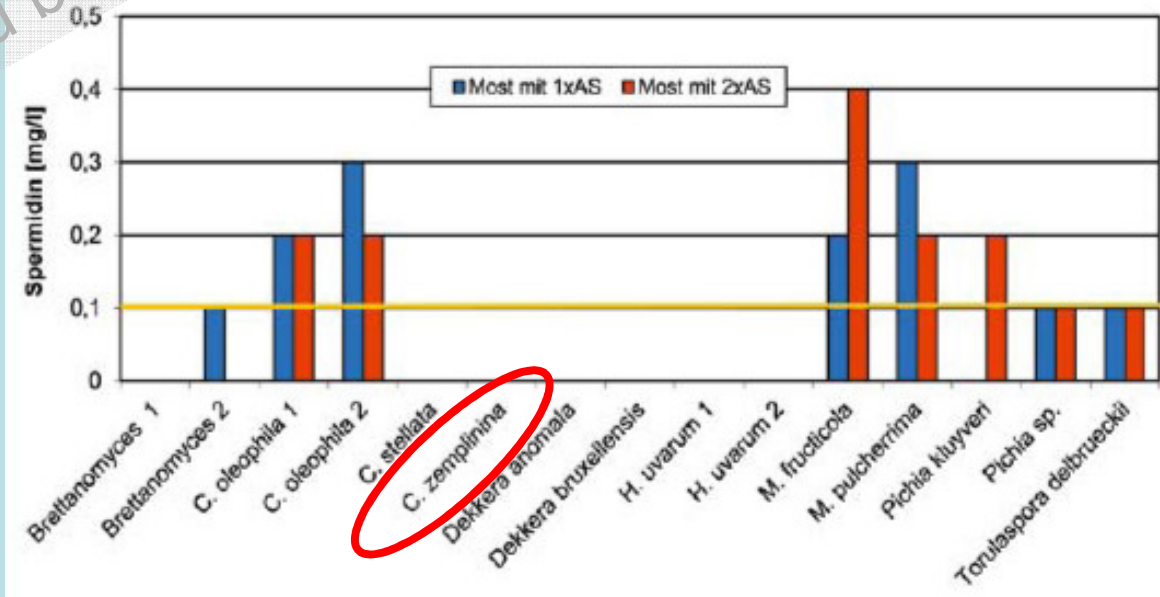
(E. Begerow GmbH & Co.)

*Saccharomyces* Reinzuchthefen



Gelbe Linie: Ausgangswert im Most

Nicht-*Saccharomyces*  
Stämme



Zusammenfassung:

## *Candida zemplinina*

- ist eine weltweit verbreitete, stark fructiophile Weinhefe
- häufig begleitet *Saccharomyces* bis zum Ende der Gärung
- kann für die
  - Behebung von Gärstockungen
  - Reduktion vom Restzucker-, Essigsäure- und Spermidingehalt
  - Erhöhung des Glyzeringehaltsverwendet werden

**Vielen Dank**

**für**

**Ihre Aufmerksamkeit**

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013