

Einfluss der mikrobiologischen Biodiversität und Populationsdynamik von Hefen auf die Weinqualität - ein Überblick

JÜRIG GAFNER

Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil
CH-8820 Wädenswil, Müller-Thurgau-Straße
E-Mail: juerg.gafner@acw.admin.ch

Seit 20 Jahren beschäftigen wir uns mit der Ökologie der Mikroorganismen in der Weinbereitung. In unseren Studien haben wir uns auf die Biodiversität und die Populationsdynamik der Hefearten und der Hefestämme in der Weinbereitung konzentriert. Wir haben Erkenntnisse gewonnen zur Zusammensetzung und zur Dynamik der Hefepopulation auf den Reben und während der Weinbereitung. Schließlich ist es gelungen, aus der großen Biodiversität Hefen zu isolieren, die erfolgreich Gärstockungen verhindern und kurieren.

Schlagwörter: Hefepopulation, Spontangärung, Mischkulturen, Gärstockung

Influence of microbiological biodiversity and population dynamics of yeasts on wine quality - an overview. For more than 20 years we have studied the ecology of microorganisms in wine-making. We have concentrated our studies on the biodiversity and population dynamics of yeast types and different yeast strains. Insight has been gained concerning the makeup and dynamics of yeast populations on the vine and during wine production. From the large biodiversity present in nature, we were successful in isolating yeasts capable of curing or preventing stuck fermentations.

Keywords: Yeast population, spontaneous fermentation, mixed cultures, stuck fermentation

Ökologie der Hefeflora auf Reben

Die Hefen auf den Reben wurden in Form von „Clustern“ (Zellhaufen) gefunden. In unseren Studien wurde deutlich, dass die verschiedenen Hefearten unterschiedliche Orte auf den Reben bevorzugen. Die Hefeart *Metschnikowia pulcherima* bevorzugt zum Beispiel die Blätter als Standort. Die Präferenzen hinsichtlich des Vorkommens der Hefearten können auch von der jeweiligen Vegetationsphase der Standorte abhängen. In diesem Zusammenhang haben wir beobachtet, dass auf Reben *Metschnikowia pulcherima* bevorzugt auf älteren Blättern zu finden ist, während junge Blätter vor allem von der Hefeart *Rhodotorula glutinis* besiedelt werden. Am Rebstock selbst finden wir hauptsächlich Schimmelpilze aller Arten. Die Rinde des Rebstocks ist der favorisierte Aufenthaltsort der Hefe *Rhodotorula fujisanensis*. Die physiologischen Hintergründe für die Ver-

teilung der Hefen in „Clustern“ und die jeweilige Bevorzugung der Standorte sind uns bis heute unklar. Die Studie zeigt bereits den hohen Grad der vorhandenen natürlichen Biodiversität der Hefen im Rebberg.

Die Hefeflora im Traubensaft - morphologische Bestimmung

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen wollten wir wissen, wie sich die Hefeflora aus dem Rebberg während der Weinbereitung weiter entwickelt. Der nächste Schritt war die qualitative und quantitative Bestimmung der Zusammensetzung der Hefen im Traubensaft. Diese Studien wurden im Jahr 1994 in drei Weinkellern in der Schweiz durchgeführt, die alle an Seen gelegen, aber geographisch und klimatisch gesehen sehr unterschiedlich sind: am Bielersee (Betrieb 1), am Zürichsee (Betrieb 2) und am Thunersee (Betrieb 3). Gemeinsam waren den drei Betrieben, neben der See-

Tab. 1: Hefebestimmung mit morphologischen Methoden

Probe	% der ausgezählten Kolonien					
	HMA	HMB	HMA	HMB	HMA	HMB
Betrieb	Betrieb 1		Betrieb 2		Betrieb 3	
<i>Hanseniasporum uvarum</i>	56,8	59,6	59,5	46,7	89,7	50,7
<i>Rhodotorula</i>	16,2	20,0	23,6	24,0	0,0*	25,0
andere Hefen	25,2	15,8	11,6	24,0	10,8	20,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,5	0,3	2,5	3,0	0,4	1,3
<i>Metschnikowia pulcherima</i>	0,9	2,0	0,7	0,5	1,7	1,7
<i>Pichia</i>	0,3	0,2	1,4	1,2	0,2	0,9

lage, die Rebsorte ('Blauburgunder') und die Versuchsdurchführung. Aus dem Traubenmost wurde von den drei Kellermeistern ein spontan vergorener Wein der Sorte 'Blauburgunder' produziert. Diese Spontangärung wurde allerdings nach der Technologie eines „pieds de cuve“ mit einem Anstellmost (angegärte, mikrobiologisch kontrollierte Vorkultur), der 10 % der Haupternte ausmacht und aus gesundem Traubengut besteht, beimpft.

Zuerst wurden die Traubenmostmuster von den drei Betrieben hundertfach verdünnt, um nach dem Ausplattieren auf den Agarplatten eine vernünftige Anzahl von Hefekolonien vorzufinden. In diesem Versuch wurde ein Medium verwendet, welches in dieser frühen Phase des Wachstums hauptsächlich das Hefewachstum fördert. Eine erste Schätzung auf Grund der Morphologie der Hefekolonien auf den Agarplatten ergab, dass mindestens sechs verschiedene Hefearten in den untersuchten Traubenmosten unterschieden werden können (Tab 1). Die gefundenen Hefearten, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherima* und *Pichia* konnten morphologisch recht eindeutig bestimmt werden. Eine sechste Klasse konnte nicht eindeutig klassifiziert werden und wurde deshalb zusammenfassend als „andere Hefen“ bezeichnet. Die Verteilung der sechs verschiedenen Hefeklassen nach prozentualen Anteilen in den Maischen war in den drei Betrieben ähnlich. Die Hefeart *Hanseniaspora uvarum* war in allen drei Betrieben im Traubenmost prozentual gesehen am häufigsten vorhanden (50 bis 90 %). Aus Tabelle 1 wird ersichtlich, dass eine weitere Klassifizierung hinsichtlich einer genauen Zuordnung eher schwierig wird, weil die beiden Parallelproben HMA und HMB (Hauptmaische A und B) jeweils recht stark variierten. Wir konnten aber feststellen, dass die Hefeart *Rhodotorula* im Traubenmost prozentual häufiger vorkam als *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherima* und *Pichia*. Die Klasse „andere Hefen“ war in

diesem Zusammenhang schwierig zuzuordnen, weil von der Morphologie her nicht erkennbar war, welche Hefearten darin enthalten waren. In allen Proben fanden wir *Saccharomyces cerevisiae* in eher geringen Mengen (0,3 bis 3 %). Eine Erklärung, weshalb die Hefearten in den parallel angesetzten Doppelproben unterschiedlich auftraten (vor allem Betrieb 3), findet sich möglicherweise in den unterschiedlich langen Transportwegen bis zur Bearbeitung im Labor. Die Mikroorganismen waren dadurch verschiedenen langen Standzeiten ausgesetzt und konnten sich folglich unterschiedlich lang entwickeln. Es ist daher nicht erstaunlich, dass beim Betrieb 2, mit dem kürzesten Transportweg, die Unterschiede zwischen Parallelproben am geringsten ausfielen. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit basiert auf der oben besprochenen starken Tendenz der Hefen, „Clusters“ zu bilden, was eine weitere Bearbeitung der Proben im Labor in Bezug auf die Homogenität der zu untersuchenden Muster sicherlich beeinflusste.

Die Hefeflora im Traubensaft - Versuch einer quantitativen Bestimmung

Im weiteren Verlauf dieses Experiments haben wir versucht, die Zusammensetzung der Hefen auch quantitativ zu erfassen. Wir haben dazu die beiden Doppelproben (HMA und HMB) vom Betrieb 3 ausgewählt. Die Originalsaftproben wurden in 0,1-prozentiger Kochsalzlösung zehnmal verdünnt. Je 0,1 ml der verdünnten Mikroorganismensuspension haben wir auf zirka hundert Agarplatten ausplattiert. Durch die Wahl des Nährmediums wurde das Wachstum von Hefen auf den Platten selektiv gefördert. Die gewachsenen Hefekolonien wurden innerhalb von 48 bis 96 Stunden auf neue Platten überimpft (Ausschalten von Schimmelpilzwachstum) und dann mit einer Reihe physiologischer Tests (insgesamt 25) nach BARNETT et al. (1990) charakterisiert. Wir konnten auf diese Weise achtzehn verschiedene Hefearten identifizieren (Tab. 2).

Tab. 2: Hefebestimmung mit physiologischen Methoden

Hefearten	HMA		HMB	
	Ausgezählte-Kolonien	%	Ausgezählte-Kolonien	%
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	6398	89.1	1877	50.9
<i>Candida glabrata</i>	284	4.0	264	7.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21	0.3	86	2.3
andere <i>Saccharomyces</i>	4	0.1	4	0.1
<i>Zygosaccharomyces</i>	73	1.0	143	3.9
<i>Debaryomyces</i>	46	0.6	76	2.1
<i>Kluyveromyces</i>	14	0.2	6	0.2
<i>Candida zeylanoides</i>	162	2.3	36	1.0
<i>Candida</i>	67	0.9	19	0.5
<i>Rhodotorula</i>			961	26.1
<i>Metschnikowia pulcherima</i>	67	0.9	100	2.7
<i>Pichia kluyveri</i>	31	0.4	51	1.4
<i>Hyphopichia bottonii</i>			10	0.3
<i>Dekkera</i>	1.0	0.0	13	0.4
<i>Williopsis sat.</i>			7	0.2
<i>Lipomyces</i>			19	0.5
<i>Kryptococcus</i>			8	0.2
nicht identifizierte Hefen	14	0.2	5	0.1
Total	7182	100.0	3685	100.0

Die Quantifizierung der fünf Hefearten nach morphologischen Bestimmungen korreliert einigermaßen mit den Werten der physiologischen Bestimmungen (Tab. 1 und 2). Mit der physiologischen Methode konnte der Prozentsatz der nicht bestimmbar Hefen stark verringert werden. Die am häufigsten gefundenen Hefearten im Traubensaft waren: *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula*, *Candida glabrata*, *Zygosaccharomyces*, *Metschnikowia pulcherima*, *Saccharomyces cerevisiae* und *Debaryomyces*. Alle anderen wurden mit einem Anteil von weniger als 2 % gefunden. Von den vier Hefen, die in früheren Untersuchungen während des ganzen Verlaufs einer alkoholischen Gärung isoliert werden konnten, identifizierten wir in diesem Versuch nur drei. Die Hefeart *Torulaspora delbrueckii* wurde nicht gefunden. Diese Hefe wird häufig aus Traubensäften der interspezifischen Rebsorten isoliert (Viviani-Nauer et al., 1995). In unseren Untersuchungen hat sich gezeigt, dass die Hefeart *Saccharomyces cerevisiae* zu Beginn der alkoholischen Gärung nur bis zu einem Anteil von 3 % vorhanden ist. Im weiteren Verlauf der Gärung haben sich die Hefestämme dieser Art hundertprozentig durchgesetzt, vor allem, sobald 10 % des Zuckers vergoren waren.

Hefeökologie während der Spontangärung

In den letzten Jahren haben wir die Hefedynamik im Verlauf mehrerer Spontangärungen bei Rot- und Weiß-

weinen aus geographisch und klimatisch unterschiedlichen Weinbauregionen verfolgt (SCHÜTZ und GAFNER, 1993a; GAFNER, 1994; SCHÜTZ et al., 1995). Die Hefestämme der Art *Hanseniaspora uvarum* konnten in all unseren Versuchen am Anfang der alkoholischen Gärung in hohen Konzentrationen von bis zu 90 % vor allem bei Traubengut mit einem schlechten Gesundheitszustand und zu 50 % bei gesundem Traubengut festgestellt werden. Die Hefeart *Metschnikowia pulcherima* wurde bei Gärbeginn gefunden, im weiteren Verlauf der Gärung verschwand diese Hefe wegen ihrer Alkoholintoleranz. Die Hefeart *Saccharomyces cerevisiae* war zu Gärbeginn von allen im Traubensaft gefundenen Hefen prozentual deutlich in der Unterzahl. In den meisten Fällen setzten sich die Hefestämme der Art *Saccharomyces cerevisiae* mehr oder weniger rasch durch. So wurde aus Proben von der Gärmitte in der Regel nur noch diese Hefeart isoliert (Tab. 3). Die Qualität von Weinen ist nur garantiert, wenn es gelingt, das Durchsetzungsvermögen von *Saccharomyces cerevisiae* von Gärbeginn an zu fördern. Die Zusammensetzung und die Dynamik der Hefearten und der Hefestämme ist in allen von uns untersuchten Weinbaugebieten ähnlich (SCHÜTZ und GAFNER, 1993a; GAFNER, 1994; SCHÜTZ, 2001). Weinbaugebiete in wärmeren und kühleren Klimazonen zeigen eine ähnliche Hefeökologie, das heißt, die mikrobiologischen Populationen in spontangärenden Traubensäften sind sowohl in Griechenland als auch in Italien oder in der Schweiz vergleichbar. Wir konnten zeigen, dass Hefestämme von *Saccharomyces cerevisiae* eine ausgeprägte Dynamik im Verlauf der alkoholischen Gärung auf pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Traubensaft zeigen (SCHÜTZ und GAFNER, 1994a). In Tabelle 3 ist die Hefeökologie im Verlauf einer Spontangärung eines Nebbiolo-Weines aus dem Piemont wiedergegeben. Die Nicht-*Saccharomyces ce-*

Tab. 3: Hefedynamik eines Nebbiolo-Weines aus dem Piemont

Hefestämme	% Anteil der verschiedenen Hefestämme bzw. Hefearten		
	Gärbeginn	Gärmitte	Gärende
<i>Metschnikowia pulcherima</i> 1	30		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 1	20		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 2	12		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 3	20		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1	9	19	52
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2	9	30	24
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 3		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 5		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 6			24

revisiae-Hefen *Hanseniaspora uvarum* und *Metschnikowia pulcherima* sind am Anfang der Gärung dominant. Im weiteren Verlauf der Gärung werden in der Hefepopulation ausschließlich *Saccharomyces cerevisiae* gefunden. Aus Tabelle 3 wird die Dynamik dieser Hefestämme ersichtlich.

Hefeökologie in Mischkulturen

Seit einigen Jahren ist bekannt, dass Weine aus demselben Traubensaft, aber mit verschiedenen Reinzuchthefen vergoren, zu unterschiedlichen Weinen führen (PULVER et al., 1991). Jede Hefe erzeugt ein anderes Spektrum von Metaboliten, welche sich im Wein sensorisch auswirken (TEMPERLI et al., 2010). Es wäre nun denkbar, zur Gärung verschiedene Hefestämme von *Saccharomyces cerevisiae* einzusetzen, um komplexere Weine zu erhalten. Dazu müsste jedoch eine optimale Mischkultur, bestehend aus verschiedenen Hefen, hergestellt werden. Die Wiederholbarkeit der Produktion solcher Mischkulturen im großen Maßstab ist extrem schwierig, weil eine optimale Zusammensetzung nicht garantiert ist. Nun wissen wir aber, dass gerade Spontangärungen solche Arten von Mischkulturen auf natürliche Art und Weise produzieren (SCHÜTZ und GAFNER, 1993a). Diese spontanen Mischkulturen enthalten jedoch nicht definierte, nicht reproduzierbar herstellbare Hefezusammensetzungen. In einigen wenigen Praxisversuchen konnten wir zeigen, dass „gezielte Spontangärungen“, an denen mehrere Hefestämme beteiligt waren, in Bezug auf die Komplexität der Aromen sehr schöne Weine hervorbrachten (SCHÜTZ et al., 1995). „Gezielt spontan“ vergorene Weine werden aus Traubensäften erzeugt, welche mit einem Anstellmost beimpft werden. Dieser Anstellmost besteht aus einer zehnpromzentigen Vorlese aus gesundem Traubengut, das zum Gären gebracht wird. Die Mikroflora in diesem Gäransatz wurde mikroskopisch bezüglich der erwünschten Hefezusammensetzung kontrolliert. Sobald die Gärungsrate und die Hefezusammensetzung des Ansatzes optimal waren, wurde der Rest der Trauben geerntet und der gewonnene Traubensaft mit dem gärenden Ansatz beimpft. Parallel zu diesem Spontanansatz wurde derselbe Traubensaft mit Reinzuchthefen vergoren. Es zeigt sich, dass die beschriebenen „gezielt spontanvergorenen“ Weine bezüglich Aromakomplexität und Alterung den mit Reinzuchthefen zubereiteten Weinen aus dem gleichen Ausgangsmaterial qualitativ überlegen sind. Solche Versuche wurden bisher nur mit roten Traubensäften und mikrobiologisch gut kontrollierten Anstellmosten durchgeführt.

Zur industriellen Herstellung von Mischkulturen sind zwei weitere wichtige Beobachtungen zu berücksichtigen: das Durchsetzungsvermögen der Hefen und die Bevorzugung der Medien, auf denen die Hefen optimal wachsen. Hefen haben eine Art Gedächtnis: Sie fühlen sich in der Gärphase und auf den Medien am wohlsten, aus denen sie ursprünglich isoliert wurden. Alle Reinzuchthefen wurden aus Spontangärungen selektioniert. Dies hat Folgen für das Verhalten von einzelnen Hefestämmen in Mischkulturen (Tab. 4). Ein Hefestamm setzt sich im Allgemeinen in der Gärphase und in der Traubensaftsorte durch, aus der er isoliert wurde (SCHÜTZ und GAFNER, 1994b; ISELIN, 1996). Zum Beispiel setzte sich ein Hefestamm, der aus gärendem Traubensaft der Sorte 'Müller-Thurgau' isoliert wurde, in pasteurisiertem Traubensaft der Sorte 'Müller-Thurgau' klar gegen alle anderen Hefen durch (Tab. 4).

Tab. 4: Das Verhalten von Mischkulturen aus verschiedenen Hefestämmen in Traubenmosten

Ansätze	Gär-Anfang	Gär-Mitte	Gär-Ende
15B:S6U	15B:S6U	15B:S6U	15B:S6U
Riesling - Silvaner			
1. Ansatz 50:50	49:51	100:0	100:0
2. Ansatz 30:70	34:66	100:0	100:0
3. Ansatz 10:90	4:96	52:48	84:16
Blauburgunder			
1. Ansatz 50:50	67:33	87:13	98:2
2. Ansatz 30:70	48:52	80:20	100:0
3. Ansatz 10:90	41:59	39:61	100:0
Synthetisches Medium			
1. Ansatz 50:50	50:50	65:35	82:18
2. Ansatz 30:70	25:75	43:57	80:20
3. Ansatz 10:90	14:86	22:78	51:49

Ausschöpfen der Hefe-Biodiversität zur Verhinderung von unerwünschtem Restzucker im Wein

Durch die starke Temperaturerhöhung in unseren Weinbauregionen seit den letzten zwanzig Jahren ist eine deutliche Zunahme von Weinen mit unerwünschter Restsüße am Ende der alkoholischen Gärung zu beobachten. Das Problem der Gärstockungen wird heute in der Weinbereitung als eines der häufigsten genannt. In der Weinforschung werden verschiedene Ursachen für das Auftreten von Gärstockungen untersucht. Wir haben unsere Untersuchungen auf die Tatsache abgestützt, dass die meisten Weinhefen glucophil sind, das heißt Glucose viel besser verwerten können als Fruc-

tose. Deshalb wurde in eingesandten Weinen mit Restzucker das Verhältnis von Glucose zu Fructose bestimmt. Die Untersuchungen ergaben, dass das Verhältnis in den Weinen mit Gärstockungen sehr niedrig war, ungefähr 0,1 oder noch niedriger. Wir konnten zeigen, dass durch die Erhöhung des Glucose/Fructose-Verhältnisses (GFV) die Gärstockung aufgehoben und die Gärung ohne weitere Maßnahmen zu Ende geführt werden konnte. Das GFV könnte am einfachsten durch die Zugabe von Glucose erhöht werden. Leider ist die Zugabe von Glucose weltweit verboten, und zudem werden die heute schon hohen Alkoholkonzentrationen durch das Vergären der Glucose noch weiter erhöht. Weitere Studien ergaben, dass durch die Absenkung des GFV in einer normal verlaufenden Gärung eine Gärstockung induziert werden konnte. Diese Absenkung des GFV konnte durch Fructose-Zugabe oder enzymatisches Entfernen der Glucose erreicht werden (SCHÜTZ und GAFNER, 1993b).

Isolierung fructophiler Weinhefen zur Verhinderung und zum Kurieren von Gärstockungen - Nicht-*Saccharomyces cerevisiae*-Hefestämme

Wir haben uns auf Hefearten wie *Candida stellata* und *Zygosaccharomyces bailii* konzentriert, die in der Literatur als fructophil beschrieben werden. Diese Hefearten kommen in der Natur vor, gelten aber bei der Weinbereitung als verderbniserregend. Wir haben Stämme isoliert, die Fructose effizient abbauen und keine unerwünschten Faktoren in den Wein bringen. Nach dieser Selektion blieben ein *Candida stellata*-Stamm und zwei *Zygosaccharomyces bailii*-Stämme übrig. Es hat sich sehr schnell gezeigt, dass *Zygosaccharomyces bailii* unseren Bedürfnissen viel besser gerecht wird als *Candida stellata*. Am Schluss haben wir mit einem Stamm weitergearbeitet. Dieser wurde 2006 als kommerzieller Hefestamm mit dem Namen Fructoferm W3 in der Weinbereitung angeboten. Im Frühling 2007 erhielt diese Hefe auf der Intervitis Interfructa in Stuttgart den Innovationspreis für Kellerwirtschaft. Wir konnten zeigen, dass mit der Reinzuchtheffe Fructoferm W3 in der Praxis Gärstockungen aufgehoben oder kuriert werden können. Leider sind die gewählten fructophilen Hefearten nicht gärfähig, das heißt, in den behandelten Weinen musste noch eine gärfähige Weinhefe vorhanden sein: Entweder war die ursprüngliche Hefe noch aktiv genug, oder eine Weinhefe musste nachgeimpft werden. Auf jeden Fall bauten die fructophilen Weinhe-

fen die Fructose bei unveränderter Glucose-Konzentration ab, und somit stieg das GFV an. Sobald es größer als 0,1 war, konnte die gärfähige Weinhefe den Zucker zu Ende vergären. Auf diese Weise konnten im Jahr 2003 ca. 50.000 Liter Wein und im Jahr 2004 ca. 130.000 Liter erfolgreich zu Ende vergoren werden. Wir konnten auch zeigen, dass durch diese Maßnahmen zur Behandlung von Gärstockungen keine negativen Effekte, wie zum Beispiel erhöhte Essigsäure, im Wein auftraten.

Neben dem offensichtlichen Erfolg beim Beheben von Gärstockungen mit Fructoferm W3 waren wir uns auch der Probleme bewusst, die bei den vorgeschlagenen Behandlungen auftreten. Ein sehr gewichtiges Problem ist die Tatsache, dass die Behandlungen sehr lange dauern können, und zwar Wochen bis sogar Monate. Es ist klar, dass ein solches Vorgehen die Nerven eines jeden Kellermeisters strapazieren kann. Die Weine müssen ja für eine erfolgreiche Behandlung über die ganze Zeit bei 22 °C gehalten werden. Das Risiko eines Verderbs der Weine wird dadurch noch erhöht, weil die ganze Zeit Restzucker vorhanden ist. Ein weiterer negativer Punkt bei dieser Behandlung ist die Tatsache, dass die fructophilen Hefestämme nicht gärfähig sind und deshalb kontrolliert werden muss, dass immer noch eine gärfähige Hefe im behandelten Wein aktiv ist. Wir wollten diese negativen Parameter zur Behandlung von Gärstockungen ausschalten und suchten daher nach einer Hefe, die den Restzucker schneller abbaut und möglichst selbst gärfähig ist. Wir wussten, dass Hefestämme der Art *Saccharomyces cerevisiae* diese Bedingungen erfüllen könnten. Leider war bis 2008 kein *Saccharomyces cerevisiae*-Hefestamm bekannt, der diese Eigenschaften besitzt. Wir haben nicht aufgegeben und weiter gesucht.

Isolierung fructophiler Weinhefen zur Verhinderung und zum Kurieren von Gärstockungen - *Saccharomyces cerevisiae*-Hefestämme

Wir hatten den Traum, einen fructophilen *Saccharomyces cerevisiae*-Hefestamm zu finden, schon fast ausgeträumt, als wir im Herbst 2007 durch Zufall unseren Wunschkandidaten doch noch fanden. Diese Hefe wird als Fructoferm W33 auf dem Markt angeboten. Leider wird diese Hefe erst im Verlauf der Gärung, sobald die Fructose gegenüber der Glucose überwiegt, fructophil. Diesen Befund haben wir erst kürzlich auf molekularer Ebene nachgewiesen. Sie ist aber gärfähig

und kann deshalb schon im Traubensaft zur Gärung und Verhinderung von Gärstockungen eingesetzt werden. Im Sommer 2008 haben wir nach einer Degustation fructophile *Saccharomyces cerevisiae* aus alten Räuschling-Weinen isoliert. Diese Hefen zeigen bis jetzt gute Eigenschaften zum Verhindern und Beheben von Gärstockungen. Wir untersuchen bis jetzt sechs vielversprechende Hefestämme, wobei wir von einem Hefestamm schon viele positive Resultate gewonnen haben. Beispielsweise haben Untersuchungen an einem Wein mit Gärstockung (Glucose 2,7 g/l und Fructose 16,7 g/l, d. h. ein GFV von 0,11) gezeigt, dass die gluco-phile Lalvin W15 63 Tage benötigt, um die Glucose und die Fructose vollständig abzubauen. Die fructophile Hefe Fructoferm W3 (*Zygosaccharomyces bailii*) sowie die fructophile Fructoferm W33 (*Saccharomyces cerevisiae*) benötigen 30 Tage (Fructoferm W33 braucht ungefähr 14 Tage, bis sie den fructophilen Charakter annimmt). Am schnellsten war die Hefe Räuschling 1895 mit zwölf Tagen. Der Hefestamm 1895 wurde auch schon erfolgreich in der Praxis zum Beheben von Gärstockungen eingesetzt (Tab. 5). Die Qualität der resultierenden Weine war gut. Die Hefe 1895 ist somit nicht nur als Reparaturhefe zum Beheben von Gärstockungen gut geeignet, sondern auch zum Vergären von Traubensäften ohne Restzucker (VOLKAN et al., 2009).

Tab. 5: Kurieren von Gärstockungen mit der Hefe 1895

	12. Januar 2009	21. Januar 2009
Glucose g/l	1,3	0,0
Fructose g/l	23,3	0,1
Essigsäure g/l	0,5	0,4
pH-Wert	3,4	3,7
Gesamtsäure g/l	10,2	6,1
Äpfelsäure g/l	5,8	0,1
Milchsäure g/l	1,0	3,4
Weinsäure g/l	5,9	3,6

Schlussfolgerungen

Die Hefen sind auf den Reben in Clustern zu finden, so ist das Holz der Rebstöcke vor allem mit der Hefe *Rhodotorula* besiedelt. Auf gesundem Traubengut mit ganzen Beeren finden wir weniger Hefezellen (bis 10^4 Zellen/ml) als auf Traubengut mit verletzten Beeren (bis 10^6 Zellen/ml). Wir finden bis zu 16 verschiedene Hefearten. Ungünstigerweise macht die erwünschte Hefeart für die Weinbereitung *Saccharomyces cerevisiae* nur gerade 3 % der Gesamthefepopulation aus. Zum Glück sind nicht alle Hefen gärfähig

und werden durch den steigenden Alkoholgehalt im Wachstum gehemmt. Viele Hefen bilden unerwünschte Substanzen, wie Essigsäure und Bildungspartner für die schwefelige Säure. Leider bildet die Hefe *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*) diese Substanzen, sie ist mit dem größten Anteil (50 % bis 90%) an der Gesamtpopulation beteiligt und gärfähig. Hefearten und Hefestämme zeigen auf Grund ihrer physiologischen Eigenschaften eine sehr starke Populationsdynamik im Verlauf der alkoholischen Gärung. Wir konnten Hefestämme der Art *Saccharomyces cerevisiae* charakterisieren, die die Bedingungen am Anfang der alkoholischen Gärung im Traubensaft, in der Mitte der Gärung oder am Ende optimal gefunden haben. Die Unerschöpflichkeit der Biodiversität zeigt sich auch in der Tatsache, dass es gelungen ist, fructophile *Saccharomyces cerevisiae*-Hefestämme zum Beheben von Gärstockungen zu isolieren. Es war schon lang bekannt, dass es fructophile Hefestämme der Arten *Candida stellata*, *Zygosaccharomyces bailii* und *Zygosaccharomyces rouxii* gibt diese Hefen sind aber nicht gärfähig.

Literatur

- BARNETT, J.A., PAYNE, R. W. and YARROW, D. 1990: Yeast: Characteristics and Identification. (2nd ed.). Cambridge University Press, Cambridge.
- GAFNER, J. 1994: Angewandte Forschung in der Getränke-mikrobiologie - ein Beitrag zur Weinforschung. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 129, 66-68
- ISELIN, F. 1996: Dynamik und Durchsetzungsvermögen zweier Hefestämme in Mischkulturen im Verlauf der alkoholischen Gärung. Diplomarbeit. Universität Zürich.
- PULVER, D., PAUSE, G. und GAFNER, J. 1991: Praxisversuche mit Trockenhefen. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 127, 503-512.
- SCHÜTZ, M. and GAFNER, J. 1993a: Analysis of yeast diversity during spontaneous and induced alcoholic fermentations. Journal of Applied Bacteriology, 75, 551-558.
- SCHÜTZ, M. and GAFNER, J. 1993b: Sluggish alcoholic fermentation in relation of the glucose-fructose ratio. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 15, 73-78.
- SCHÜTZ, M. and GAFNER, J. 1994a: Dynamics of the yeast strain population during spontaneous alcoholic fermentation determined by CHEF gel electrophoresis. Letters in Applied Microbiology, 19, 253-257
- SCHÜTZ, M. and GAFNER, J. 1994b: Population dynamics of a mixed yeast culture during fermentation. ECB6: Proceedings of the 6th European Congress Biotechnology, 1107-1110.
- SCHÜTZ, M., BARBIC, I., MARUGG, D., HOFFMANN, P. und GAFNER, J. 1995: Mikrobiologische Aspekte der Weinqualität: eine Pilotstudie. Schweizerische Zeitschrift für Obst und Weinbau, 131, 119-123.
- SCHÜTZ, M. 2001: Weinhefe-Mischkulturen: Ein Projekt in der Toscana. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 137, 474-475.

- TEMPERLI, T., BAUMGARTNER, D., TSCHUDI, C., ARRIBAS, T., PULVER, D. und GAFNER, J. 2010: Einfluss der Hefen auf die Weinaromen. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 146, 5-8.
- VIVIANI-NAUER, A., HOFFMANN-BOLLER, P., BASLER, P. und GAFNER, J. 1995: Zusammensetzung und Dynamik der Hefeflora auf Trauben von pilzresistenten Rebsorten. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 131, 390-393.
- VIVIANI-NAUER, A., HOFFMANN-BOLLER, P. und GAFNER, J. 1996: Hefecharakterisierung und Hefeidentifizierung. Agrarforschung, 3, 8, 377-380.
- VOLKAN, M., LATTMANN, S. und GAFNER, J. 2009. Hefen gegen Weinfehler. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 145, 4-7.