



Synergistische Effekte zwischen SO₂ und Ethanol sind der größte Feind der Hefen zu Beginn der zweiten Gärung von Schaumweinen

**Bruno Cisilotto^{1,2}, Fernando Joel Scariot¹,
Luisa Vivian Schwarz¹, Ronaldo Kauê Mattos
Rocha¹, Ana Paula Longaray Delamare¹, Sergio
Echeverrigaray¹**

¹ Laboratory of Enology and Applied Microbiology, Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, Brazil.

² Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio Grande do Sul (IFRS), Campus Bento Gonçalves, Brazil.

In dieser Studie zeigen wir, dass bei einem in Schaumweinen üblichen pH-Wert (d. h. 2,8-3,3), synergistische Effekte zwischen dem als Konservierungsmittel zugesetzten SO₂ und dem im Grundwein vorhandenen Ethanol auftreten. Diese hohe Belastung führt zu einer Reduktion an lebensfähigen Hefezellen. Infolgedessen kommt es zu einer Verlängerung der Latenzphase, einer Verlangsamung der Gärung und Schwierigkeiten bei der Kohlensäureproduktion.

Hypothese und experimentelles Design

Zu Beginn der zweiten Gärung von Schaumweinen sind synergistische Effekte zwischen SO₂ und Ethanol der Hauptstressfaktor für Hefen. Diese Hypothese entwickelte sich aus der Beobachtung, dass innerhalb der ersten Woche nach der „Pied-de-Cuve“-Animpfung die Anzahl lebender Zellen in Hefepopulationen abnahm, und die Länge der Latenzphasen bei den Gärungen unterschiedlich lang war.

Wie in unserer Publikation beschrieben¹, werden die negativen Auswirkungen durch Ethanol und SO₂ auch an anderer Stelle in der önologischen Chemieliteratur durch Formeln, die den Anteil an molekularem SO₂ unter Berücksichtigung der Ethanolkonzentration berechnen, theoretisiert². Weitere Studien befassen sich mit dem Synergismus von SO₂ und Ethanol in „fertigen“ Weinen in der Gegenwart von Schadhefen. Generell wird empfohlen, die freie SO₂-Konzentration vor der zweiten Gärung in Grundweinen, die für die Schaumweinherstellung vorgesehen sind, unter 10 mg/ L zu halten³. In der wissenschaftlichen Literatur haben wir jedoch keine Studie gefunden, die den Synergismus zwischen SO₂ und Ethanol beschreibt, sowie dessen Auswirkung auf Hefestämme, die üblicherweise für die zweite Gärung von Schaumweinen verwendet werden.

Vor diesem Hintergrund haben wir ein experimentelles Fermentationsmodell erstellt, um das Verhalten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* EC-1118[®] (ein Stamm, der speziell zur Herstellung von Schaumweinen vermarktet wird) unter verschiedenen Bedingungen zu testen. In den Versuchen wurde ein synthetisches Medium verwendet mit i) der Zugabe von SO₂, ii) der Zugabe von Ethanol, iii) der Zugabe von SO₂ und Ethanol, und iv) einer Kontrolle ohne Zugabe von SO₂ und Ethanol. Auf diese Weise war es möglich, unter den verschiedenen Gärbedingungen Marker, die im Zusammenhang mit Stress, Zellvitalität und der Überlebensfähigkeit der Hefe stehen, zu analysieren. Zudem war es möglich, die Expression von mit SO₂-Stress in Verbindung stehenden Genen zu messen und zu vergleichen.

Interpretation der Ergebnisse

Die in unseren Experimenten erzielten Ergebnisse zeigten, dass die Anwesenheit von SO₂ und Ethanol den Stress der Hefepopulationen signifikant erhöht. Dies zeigte sich durch eine Abnahme der Vitalität und Überlebensfähigkeit, einer erhöhten Produktion von ROS und von Acetaldehyd, einem verringerten intrazellulären pH-Wert, und einer stärkeren Expression von Genen, die im Zusammenhang mit SO₂-Stress stehen¹. Der gleiche Effekt einer Verringerung der Vitalität und

Synergismus zwischen SO₂ und Ethanol während der zweiten Gärung von Schaumweinen

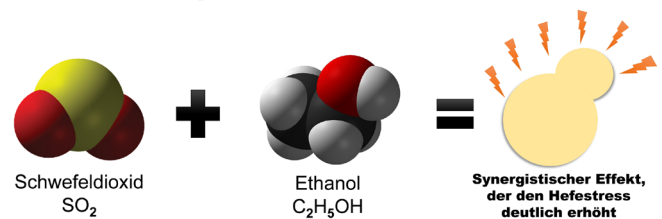


ABBILDUNG 1. Grafische Zusammenfassung der synergistischen Wirkung von SO₂ und Ethanol.

Überlebensfähigkeit der Hefe wurde bei einer industriell durchgeführten zweiten Gärung mit echtem Wein beobachtet¹.

Die Versuche wurden bei 20 °C durchgeführt und die Ergebnisse in Bezug auf Viabilität und Fermentationskinetik sind in Abbildung 2 dargestellt. Der Prozentsatz an toten Zellen wurde mithilfe der Durchflusszytometrie unter Verwendung des DNA-Interkalationsfarbstoffes Propidiumiodid (PI) (Abbildung 2A) bestimmt. Die 3,5-Dinitrosalicylsäure (DNS)-Methode wurde zur Messung von reduzierenden Zuckern angewandt, und die Absorption bei 595 nm mithilfe eines Mikroplatten-Lesegerätes bestimmt (Abbildung 2B) (weitere Informationen finden Sie in der Publikation).

Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse der verschiedenen Versuche, wobei die zweite Fermentation mit der Inokulation von an Ethanol angepassten Hefekulturen simuliert wird. Bei der Zugabe von SO₂ allein kam es anfänglich zu einer geringfügigen Verringerung der Viabilität bei dem verwendeten Hefestamm, danach ähneln die Daten denen der Kontrolle. In der Gegenwart von Ethanol allein kam es zu keinem Verlust der Viabilität. Allerdings führte eine Wachstumshemmung der Population zu einer Abnahme der Fermentationsgeschwindigkeit und des Zuckerverbrauchs¹. Die Zugabe von 5 % Ethanol und 20 mg/ L SO₂ verursachte anfangs einen etwas stärkeren Verlust an lebensfähigen Hefezellen und mehr Stress¹. Die Gärkinetik nahm jedoch nach 48 h an Geschwindigkeit zu und der Prozentsatz an lebenden Hefezellen erhöhte sich rasant. Dies zeigt, dass die Konzentration an Ethanol eine wichtige Rolle in der Gegenwart von SO₂ spielt. Versuche mit 10 % oder mehr an Ethanol und einer Menge von mehr als 10 mg/ L an SO₂ verursachten eine deutliche Verringerung der Viabilität der Hefepopulationen, und folglich eine Verringerung in der Geschwindigkeit des Zuckerabbaus. Dies verlangsamte die Gärung und bewirkte schließlich deren Abbruch.

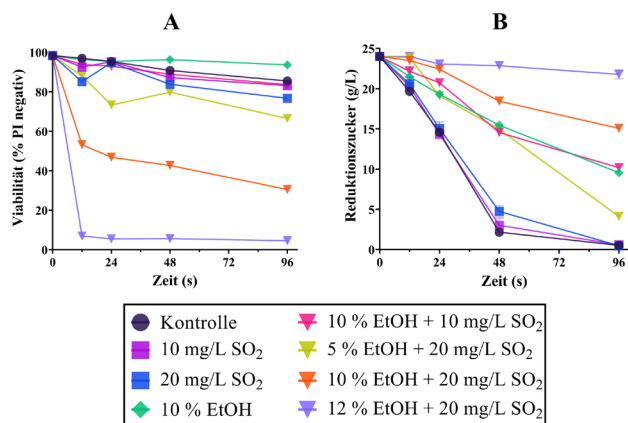


ABBILDUNG 2. Dargestellt sind die Ergebnisse der verschiedenen Versuche in Hinsicht auf die Viabilität der Hefezellpopulationen und die Gärkinetik. Nach Cisolotto *et al.* (2021)¹.

Fazit

Trotz einer intensiven Suche nach Alternativen für die Verwendung von SO₂ in der Weinherstellung⁴ gibt es zurzeit noch keine kostengünstige Lösung mit ebenso umfassender Wirkung (antioxidative und antimikrobielle Aktivität), die für den menschlichen Verzehr geeignet ist. Dies bedeutet, dass uns SO₂ als Weinkonservierungsmittel noch eine Weile begleiten wird. Bei Grundweinen für die Schaumweinproduktion muss die Dosierung von freiem SO₂ sehr genau und individuell eingestellt werden. Dafür ist es notwendig, neben der Konzentration an freiem SO₂ und dem pH-Wert, die Ethanolkonzentration, die Lagertemperatur, die Weintrübung und die Ionenstärke des jeweiligen Weines zu berücksichtigen. Die Menge an Hefezellinokulat für die zweite Gärung von Schaumweinen spielt eine wichtige Rolle für die Qualität des Produktes, da eine übermäßige Anzahl an Hefezellen zu sensorischen Störungen führen kann. Je niedriger die Ethanolkonzentration und die Menge an freiem

SO₂ im Grundwein, desto schneller kann sich die Hefe anpassen und desto besser ist die Gärkinetik. Ein Überschuss an Zellen bei der Inokulation sollte daher vermieden werden, da es nur zu einer geringen anfänglichen Reduktion im Prozentsatz an lebensfähigen Zellen kommt. Die Durchführung einer linearen und standardisierten Gärung kann eine Reihe logistischer Komplikationen und unnötiger Kosten vermeiden. Dies gilt insbesondere für Schaumweine, die nach der traditionellen Methode hergestellt werden, bei welcher die Animpfung unter Verwendung des „Pied-de-Cuve“ das Öffnen der Flaschen erfordert. Eine ausgewogene Konzentration an SO₂ und Ethanol minimiert daher nicht nur den Stress, dem Hefepopulationen zu Beginn der zweiten Gärung von Schaumweinen ausgesetzt sind, sondern auch den „Stress“ bei dem Önologen, der für die Durchführung dieses Prozesses verantwortlich ist. ■

Basiert auf dem wissenschaftlichen Artikel *“Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO₂ during the second fermentation of sparkling wines”* (OENO One, 2021).

- 1 Cisolotto, B., Scariot, F. J., Vivian Schwarz, L., Mattos Rocha, R. K., Longaray Delamare, A. P., & Echeverrigaray, S. (2021). Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO₂ during the second fermentation of sparkling wines. *OENO One*, 55(4), 49–69. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.4.4809>
- 2 Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding Wine Chemistry* (first edit). Wiley.
- 3 Alexandre, H. (2019). Yeasts and Sparkling Wine Production. In P. Romano, M. Ciani, & G. H. Fleet (Eds.), *Yeasts in the Production of Wine* (pp. 395–432). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4_13
- 4 Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 455–479. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12422>