IVES Technical Reviews
rebe & wein

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2021.4661

Nicht-*Saccharomyces*-Hefen verbessern die Weinqualität und fördern die malolaktische Gärung

Basiert auf dem wissenschaftlichen Artikel "Impact of changes in wine composition produced by non-*Saccharomyces* on malolactic fermentation" (International Journal of Food Microbiology, 2021)[1].

>>> Neuere Studien zu nicht-*Saccharomyces*-Hefen befürworten deren Verwendung als Starterkulturen bei der alkoholischen Gärung von Wein zusammen mit *S. cerevisiae*. Die Verwendung dieser nicht-konventionellen Hefen kann das organoleptische Profil von Weinen beeinflussen. Es ist jedoch unklar, wie sich die Anwesenheit dieser Hefen in der Gegenwart von *Oenococcus oeni* auf Weine nach der malolaktischen Gärung auswirkt. In diesem Artikel diskutieren wir die wichtigsten önologischen Konsequenzen dieser Wechselwirkungen, und wie die malolaktische Fermentation mit bestimmten nicht-*Saccharomyces*-Hefen stimuliert werden kann. <<<

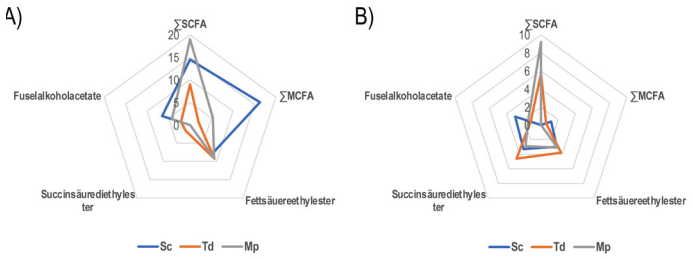


Abbildung 1. Die Konzentrationen von Familien flüchtiger Verbindungen (mg/ L) in Weinen nach der AF. A) Macabeo Weine. B) Cabernet Sauvignon Weine. ∑, Summe; SCFA (Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure); MCFA (Hexansäure, Octansäure und Decansäure); Fettsäuereethylester (Ethylhexanoat, Ethyloctanoat, Ethyldodecanoat); Fuselalkohole (Isobutanol, 1-Butanol, 3-Methyl-1-Butanol, 1-Hexanol, cis-3-Hexen-1-ol, 2-Phenylethanol, Benzylalkohol); Fuselalkoholacetate (Isobutyl-, Isoamyl-, Hexyl- und 2-Phenylethanolacetat). Sc, Td und Mp entsprechen *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii* - *S. cerevisiae* und *M. pulcherrima* - *S. cerevisiae* fermentierter Weine. Angegeben sind die Mittelwerte von drei Experimenten mit statistischen Unterschieden.

■ Aktueller önologischer Kontext

Heutzutage fordern Verbraucher Weine mit verbesserter Aromakomplexität, um deren Unterschiede deutlicher hervorzuheben, ein Trend, auf den die Weinindustrie reagieren muss. In diesem Sinne ist die Verwendung nicht-konventioneller Hefen während der alkoholischen Fermentation (AF) ein möglicher Ansatz zur Differenzierung von Weinen. Hefen, die an Frühstadien der AF beteiligt sind (d. h. nicht-*Saccharomyces*-Hefen), können das organoleptische Profil von Weinen verändern.

Die Verwendung von nicht-*Saccharomyces*-Hefen konzentriert sich hauptsächlich auf einige wenige Arten wie *Torulaspora delbrueckii* oder *Metschnikowia pulcherrima*, die von Herstellern önologischer Produkte in Form von Starterkulturen bereitgestellt werden. Diese Hefen stehen im Zusammenhang mit chemischen Veränderungen im Wein, insbesondere hinsichtlich der Freisetzung von Aromen, der Verringerung der Ethanolkonzentration und der Erhöhung der Glycerin- und der Mannoproteinkonzentration. Ähnliche Korrelationen wurden für kommerzielle Stämme anderer Arten (insbesondere: *Lachancea thermotolerans*, *Pichia kluyveri* und *Schizosaccharomyces pombe*) beschrieben. Darüber hinaus können einige nicht-*Saccharomyces*-Arten bzw. Stämme eine bioprotektive Rolle gegenüber unerwünschten Mikroorganismen spielen[2].

Interessanterweise führen einige chemische Veränderungen, die durch diese nicht-*Saccharomyces*-Hefen hervorgerufen werden, zur Abmilderung der rauen Bedingungen im Wein und wirken sich zudem förderlich auf die malolaktische Fermentation (MLF) aus[3, 4].

Die MLF ist die Dekarboxylierung von L-Äpfelsäure (malic acid) zu L-Milchsäure (lactic acid). Die Spezies, die hauptsächlich an diesem Prozess beteiligt ist, ist das Milchsäurebakterium *Oenococcus oeni*. Die MLF hat einen positiven Einfluss auf die Weinqualität, da dieser Prozess zu einem Anstieg des pH-Wertes, einer Verbesserung der organoleptischen Eigenschaften, sowie einer mikrobiellen Stabilisierung führt[5]. Die MLF findet normalerweise nach AF statt und wird daher stark vom Metabolismus der fermentierenden Hefen beeinflusst. Somit kann man davon ausgehen, dass die Inokulation mit bestimmten Hefearten oder -stämmen einen beträchtlichen Einfluss auf die Entwicklung der MLF haben kann[6].

Für die Durchführung der AF werden normalerweise Starterkulturen von *S. cerevisiae* benutzt. Man kann sich daher leicht vorstellen, dass sich unterschiedliche Hefen auch unterschiedlich auf die Leistung der MLF auswirken. Das heißt, selbst wenn sich das organoleptische Profil eines Weines nach der AF verbessern würde, muss man berücksichtigen, wie sich andere Eigenschaften der Hefe auf die MLF auswirken könnten. Unter den verschiedenen nicht-*Saccharomyces*-Arten zeigen *T. delbrueckii* und *M. pulcherrima* die vielversprechendsten Ergebnisse in Bezug auf die Gesamtqualität der Weine[4].

In der hier vorgestellten Studie untersuchten wir[1], wie sich die Verwendung von *T. delbrueckii*- und *M. pulcherrima*-Stämmen auf die MLF bei der Herstellung von Weißweinen (Macabeo) und Rotweinen (Cabernet Sauvignon) auswirkt. Die nicht-*Saccharomyces*-Hefen wurden dabei 48 h vor *S. cerevisiae* angeimpft. Die Gründe dafür basieren auf den Ergebnissen einer früheren Studie[6]. Diese zeigte, dass bei Verwendung dieser Methode die Weinzusammensetzung aufgrund der Anwesenheit von nicht-*Saccharomyces*-Stämmen mehr wesentliche Änderungen aufwies.

■ Was können *T. delbrueckii* und *M. pulcherrima* für *O. oeni* tun?

Grundsätzlich können diese Hefen die Konzentrationen von Verbindungen verringern, die eine hemmende

LabEx COTE unterstützt die Gründung und Einrichtung der IVES Technical Reviews im Rahmen seines Aufrufs zur Einreichung von Projekten mit dem Ziel von Transfer und Valorisierung.

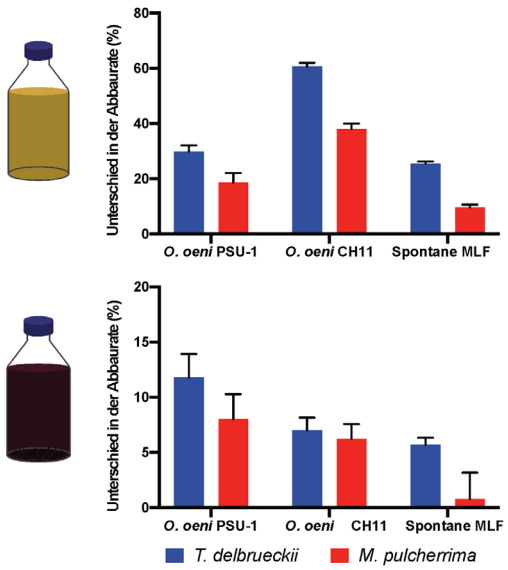


Abbildung 2. Der prozentuale Anstieg der Abbaurate von L-Äpfelsäure während der MLF. A) Maccabeo Weine. B) Cabernet Sauvignon Weine. Die Werte geben den Anstieg (%) der Abbaurate der jeweiligen MLF in nicht-*Saccharomyces*-Weinen in Bezug auf einen *S. cerevisiae*-Kontrollwein an.

Wirkung auf *O. oeni* ausüben. Dazu gehören z. B. mittelkettige Fettsäuren (medium-chain fatty acids, MCFA). Deren Menge war in Weinen, die durch Zugabe von nicht-*Saccharomyces*-Hefen hergestellt wurden, niedriger (Abb. 1). Diese Verbindungen können sich negativ auf das Wachstum von *O. oeni* auswirken und sogar den Abbau von L-Äpfelsäure verringern[3]. Darüber hinaus wurde bei mit *M. pulcherrima* fermentierten Cabernet Sauvignon Weinen eine signifikante Verringerung des Ethanolgehalts (0,5 % v/v) festgestellt.

Für *O. oeni* gehören MCFA und Ethanol zusammen mit Schwefeldioxid zu den giftigsten im Wein enthaltenen Verbindungen. Schwefeldioxid wird dem Wein während der Herstellung entweder extern zugeführt, kann aber auch von bestimmten *S. cerevisiae*-Stämmen während der AF produziert werden. In diesem Zusammenhang hatten *T. delbrueckii*-Weine eine um mehr als 50 % niedrigere SO_2-Gesamtkonzentration als diejenigen, die nur mit *S. cerevisiae* fermentiert wurden. Nicht unter allen untersuchten Bedingungen wurden allerdings die Toleranzgrenzen für die inokulierten *O. oeni*-Stämme erreicht.

■ Was ist mit dem organoleptischen Profil?

Das Aroma von Weinen nach der AF wurde stark durch die Verwendung von nicht-*Saccharomyces*-Hefen beeinflusst. Abhängig von der Inokulationsstrategie änderte sich das Profil flüchtiger Verbindungen, wobei die Verwendung von nicht-*Saccharomyces*-Hefen die Konzentration und Art der Aromen erhöhte (Abb. 1). Nach der MLF wurden die Weine hinsichtlich der MLF-Strategie homogenisiert. In der Weißweinherstellung führte spontane MLF zu dem niedrigsten Aromaprofil, während aus der Rotweinproduktion die aromatischsten Weine hervorgingen.
Darüber hinaus förderte die Verwendung von nicht-*Saccharomyces*-Hefen die Extraktion polyphenolischer Verbindungen. Die Anthozyankonzentration in Rotweinen stieg von zirka 388 mg/ L in *S. cerevisiae*-Weinen auf 451 bzw. 426 mg/ L in *T. delbrueckii*- und *M. pulcherrima*-Weinen.

■ Kann die MLF durch die Verwendung von nicht-*Saccharomyces*-Hefen verbessert werden?

Wein stellt eine komplexe mikrobielle Umgebung dar, in der Nährstoffe sehr begrenzt sind. Unter diesen eher stressigen Bedingungen kann eine Minderung in der Konzentration von inhibierenden Substanzen die MLF durch *O. oeni* stimulieren. In diesem Zusammenhang zeigten Weine, die mit nicht-*Saccharomyces*-Hefen fermentiert wurden, eine höhere Abbaurate von L-Äpfelsäure (in g/ L pro Tag) als diejenigen Weine die nur mit *S. cerevisiae* hergestellt wurden (Abb. 2). Vor allem die Anwesenheit von *T. delbrueckii* wirkte sich positiv auf die Leistung der MLF aus, was dazu führte, dass die MLF relativ schnell vonstatten ging. Darüber hinaus wirkten sich nicht-*Saccharomyces*-Hefen positiv auf die genetische Diversität von *O. oeni*-Stämmen in Weinen aus, ein nützlicher Aspekt, wenn eine spontane MLF erwünscht ist.
Wir kommen daher zu dem Schluss, dass sich *M. pulcherrima* und insbesondere *T. delbrueckii* förderlich auf die MLF auszuwirken scheinen. Viele Verbindungen sind mit dieser stimulierenden Wirkung verbunden. Obwohl einige davon bekannt sind, gibt es auf diesem Gebiet noch viel zu tun, um ein Gesamtbild der Wechselwirkungen zwischen Weinhefen und *O. oeni* zu erhalten. Da viele der Stoffwechselveränderungen stammabhängig sind, ist die Kompatibilität zwischen Hefe- und Bakterien-Stämmen ein Schlüsselfaktor, um gute Ergebnisse zu erzielen. ■

Danksagung. *Diese Arbeit wurde durch die folgenden Fördermittel der spanischen Forschungsgesellschaft unterstützt: AGL2015-70378-R und PGC2018-101852-B-I00. Aitor Balmaseda ist dankbar für das Promotionsstipendium der katalanischen Regierung (2018FI_B 00501).*

Aitor Balmaseda[1], Alba Martín-García[1], Miguel Ángel Leal[1], Nicolas Rozès[2], Albert Bordons[1], Cristina Reguant[1]
1 Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Enològica, C/ Marcel.lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
2 Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, C/ Marcel.lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Leal, M.A., Bordons, A., & Reguant, C. (2021). Impact of changes in wine composition produced by non-*Saccharomyces* on malolactic fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 337. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108954

2 Jolly, N., Augustyn, O., & Pretorius, I. (2006). The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27(1), 15–38.

3 Balmaseda, A., Bordons, A., Reguant, C., & Bautista-Gallego, J. (2018). Non-*Saccharomyces* in Wine: Effect Upon *Oenococcus oeni* and Malolactic Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 9(March), 534. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00534

4 Ferrando, N., Araque, I., Ortís, A., Thornes, G., Bautista-Gallego, J., Bordons, A., & Reguant, C. (2020) Evaluating the effect of using non-*Saccharomyces* on *Oenococcus oeni* and wine malolactic fermentation. *Food Research International*, 138. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108954

5 Lonvaud-Funel, A. (1999). Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76(1–4), 317–331. https://doi.org/10.1023/A:1002088931106

6 Martín-García, A., Balmaseda, A., Bordons, A., & Reguant, C. (2020) Effect of the inoculation strategy of non-*Saccharomyces* yeasts on wine malolactic fermentation. *Oeno One* 54, 1, 101-108. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.1.2906