IVES Technical Reviews
rebe & wein

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2023.7868

Nein, *Brettanomyces bruxellensis* ist nicht für alles Schlechte verantwortlich !

Pierre Moulis[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Céline Franc[1], Laurent Riquier[1], Stéphanie Marchand[1], Gilles de Revel[1], Doris Rauhut[2], Patricia Ballestra[1]

[1] Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, UMR 1366, OENO, ISVV, F-33882 Villenave d'Ornon, France

[2] Department of Microbiology and Biochemistry, Hochschule Geisenheim University, 65366 Geisenheim, Germany

In Weinen werden Aromen von Reiskuchen und Wurstschale im Allgemeinen mit dem „Mäuselton" in Verbindung gebracht. Dieser Weinfehler kommt bei bestimmten Weinen wieder häufiger vor. In der hier vorgestellten Studie wurden Mikroorganismen aus 25 veränderten Weinen isoliert. Zu den identifizierten Organismen zählen die Verderbnishefe *Brettanomyces bruxellensis*, sowie Milchsäurebakterien der Arten *Oenococcus oeni* und *Lentilactobacillus hilgardii*. Die identifizierten Mikroorganismen wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit untersucht, die für den Mäuselgeschmack verantwortlichen *N*-Heterozyklen zu produzieren. Dabei wurde festgestellt, dass *B. bruxellensis* nur in einer geringen Anzahl von Weinen vorkam, die durch Mäuselnoten geschädigt waren.

Einleitung

Mit dem „Mäuseln" sind eine Reihe von Aromen assoziiert, die von „Basmatireis" über „Mäuseurin", bis hin zu „Wurstschale" reichen. Die für das Mäuseln verantwortlichen Verbindungen sind nur retronasal wahrnehmbar. Dies liegt an deren geringer Flüchtigkeit bei den niedrigen pH-Werten im Wein[1]. Diese Verbindungen können von Milchsäurebakterien wie *Lentilactobacillus hilgardii* und *Oenococcus oeni*, oder durch die Hefe *Brettanomyces bruxellensis* produziert werden, welche bereits für die Erzeugung phenolischer Verbindungen in Weinen bekannt ist[2 3]. Deshalb wird oft davon ausgegangen, dass diese Hefe auch für das Mäuseln verantwortlich ist. Es gibt allerdings nur sehr wenige Studien, die sich mit dem Mikrobiom von Weinen im Zusammenhang mit dem Mäuseln beschäftigen. In dieser Arbeit wurden deshalb die Mikroorganismen aus 25 durch das Mäuseln geschädigten Weinen identifiziert, und auf ihre Fähigkeit hin untersucht, in einem Modellsystem diesen Weinfehler hervorzurufen.

Ergebnisse

Aus den 25 Weinen, die vom Mäuseln betroffen waren, wurden 353 mikrobielle Isolate gewonnen. Diese verschiedenen Mikroorganismen wurden durch MALDI-TOF Massenspektrometrie identifiziert. Zu den wichtigsten nachgewiesenen Hefearten (101 Isolate) zählten: *B. bruxellensis*, *Pichia manshurica*, *Priceomyces carsonii* und *Saccharomyces cerevisiae*. Unter den 252 Milchsäurebakterien-Isolaten wurden drei Arten identifiziert: *O. oeni*, *L. hilgardii* und *Pediococcus parvulus*. Die Häufigkeiten der einzelnen Arten sind in Abbildung 1 dargestellt.

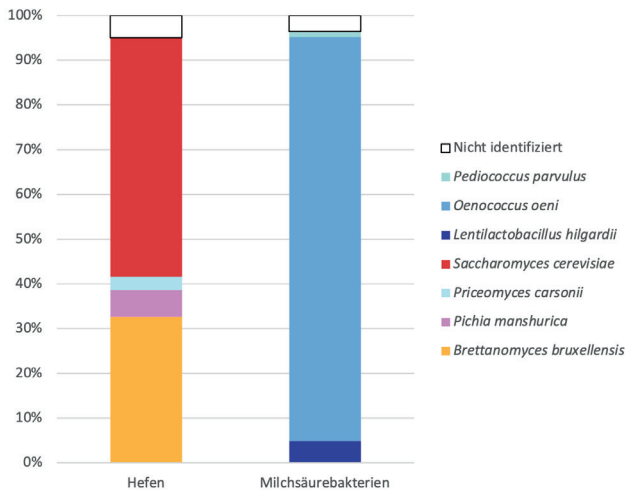


ABBILDUNG 1. Dargestellt sind die Häufigkeiten, mit welchen mikrobielle Arten in den 25 untersuchten Weinen vorkamen[4].

Die verschiedenen, isolierten Mikroorganismen wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit bewertet, „Mäuselnoten" zu erzeugen. Dazu wurde ein Modellmedium verwendet (*N*HAM), welches alle bisher bekannten Vorläufer für die Produktion von *N*-Heterozyklen enthält. Die Produktion dreier dieser *N*-heterozyklischen Verbindungen, die mit dem Mäuseln assoziiert werden, wurde untersucht. Dabei handelte es sich um Acetylpyrrolin (APY), Ethyltetrahydropyridin (ETHP) und Acetyltetrahydropyridin (ATHP)[5]. Nur 53 Isolate waren in der Lage diese Verbindungen zu erzeugen: dabei gehörten 13 der Art *B. bruxellensis* an, 3 *L. hilgardii*, und 37 *O. oeni*. Bei letzteren handelte es sich um 100 % der getesteten Isolate. Um die Variabilität der Produktionsniveaus der drei *N*-heterozyklischen Verbindungen bestimmen zu können, wurde die Studie anschließend auf Proben aus verschiedenen Stammsammlungen erweitert (CRBO Bordeaux, Frankreich; GMGM Straßburg, Frankreich; AWRI Adelaide, Australien; DSM Braunschweig, Deutschland). 22 weitere *B. bruxellensis*, 20 *O. oeni* und 10 *L. hilgardii* Stämme wurden daraufhin untersucht.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt. Alle getesteten Stämme produzierten mindestens zwei der drei getesteten Verbindungen. *B. bruxellensis*-Stämme produzierten ATHP und ETHP; Milchsäurebakterien neigten eher zur Produktion von APY und ATHP. Stammabhängige Unterschiede in den Produktionsniveaus waren evident. Ein Zusammenhang zwischen dem Genotyp der getesteten Stämme und ihrer Fähigkeit, unter standardisierten Bedingungen (*N*HAM Medium) das Mäuseln zu verursachen, konnte nicht hergestellt werden.

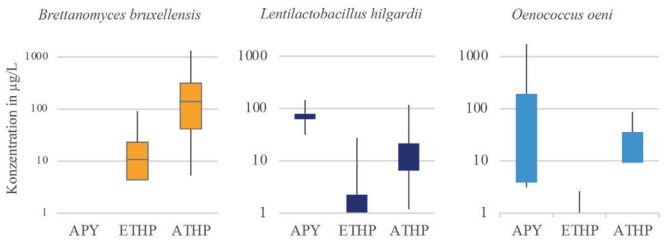


ABBILDUNG 2. Die Produktion N-heterozyklischer Verbindungen (µg/L) in einem Modellmedium durch Mikroorganismen aus Stammsammlungen[4].

Wie in Abbildung 3 dargestellt, wurden diese drei hier identifizierten Arten jedoch nicht in allen untersuchten Weinen nachgewiesen. *O. oeni* war in 84 % der Weine feststellbar, während *B. bruxellensis* und *L. hilgardii* nur in 20 % bzw. 12 % der Weine vorkamen. In einem Wein konnten keinerlei Mikroorgansimen nachgewiesen werden, und in einem weiteren Wein konnten zwar keine der drei untersuchten Arten nachgewiesen werden, jedoch andere Mikroorganismen wie *S. cerevisiae*. Die Möglichkeit, dass das Mäuseln von anderen Hefen oder Bakterien verursacht wird, bleibt eine Arbeitshypothese.

Dieses Werk steht unter der Lizenz Creative Commons Namensnennung 4.0 International.

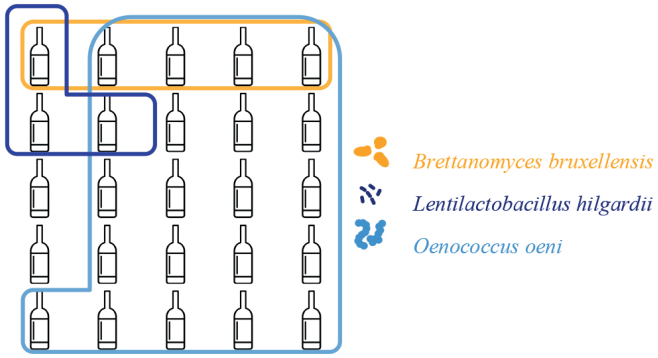


ABBILDUNG 3. Das Vorkommen der isolierten Arten in den 25 untersuchten Weinen[4].

In einer weiteren, am Institut für Reb- und Weinwissenschaften (ISVV, Villenave d'Ornon, Frankreich) durchgeführten Studie, wurden die für das Mäuseln verantwortlichen *N*-Heterozyklen in 62 Weinen gemessen[6]. Das Ziel dieser Studie war die Entwicklung einer Methode zur Quantifizierung dieser Verbindungen. Jeder der analysierten Weine enthielt mindestens eine der drei Verbindungen. Parallel zu den *N*-Heterozyklen wurden 4-Ethylphenol und 4-Ethylguaiacol gemessen, welche für den von *B. bruxellensis* verursachten phenolischen Charakter in Weinen verantwortlich sind. Von den 62 untersuchten Weinen wiesen nur acht signifikante Mengen an flüchtigen Phenolen auf (oberhalb der Bestimmungsgrenze), d. h. 12,9 % der Weine. Das Fehlen phenolischer Verbindungen in den meisten Weinen, die vom Mäuseln betroffen waren, legt nahe, dass zwischen den beiden Veränderungen kein Zusammenhang besteht.

Fazit

Das Ziel dieser Studie war es, in durch „Mäuselnoten" veränderten Weinen, mögliche verantwortliche Mikroorganismen zu identifizieren und deren Produktionskapazität von *N*-heterozyklischen Verbindungen in einem Modellmedium zu bewerten. Zu den am häufigsten isolierten Mikroorganismen aus fehlerhaften Weinen gehörten die Arten *O. oeni*, *B. bruxellensis* und *S. cerevisiae*. Von den vier isolierten Hefearten war nur *B. bruxellensis* in der Lage, in dem Modellmedium Mäuselnoten hervorzurufen. Unter den drei isolierten Milchsäurebakterienarten verfügten nur *O. oeni* und *L. hilgardii* über diese Fähigkeit. Bei der Mehrzahl der Weine (16/25 Weine) war *O. oeni* die einzige vorhandene mikrobielle Art, welche in der Lage war, den Weinfehler hervorzurufen. Andererseits wurde die Schadhefe *B. bruxellensis* in weniger als 20 % der fehlerhaften Weine nachgewiesen.

Danksagung: *Diese Studie wurde im Rahmen der internationalen Projektallianz Bordeaux-Adelaide-Geisenheim (BAG) durch das Deutsch-Französische Doktorandenkolleg CDFA-03-18, die Region Nouvelle-Aquitaine und das Land Hessen gefördert.*

1 Tempère, S., Chatelet, B., de Revel, G., Dufoir, M., Denat, M., Ramonet, P.-Y., Marchand, S., Sadoudi, M., Richard, N., Lucas, P., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Riquier, L., Perello, M.-C., & Ballestra, P. (2019). Comparison between standardized sensory methods used to evaluate the mousy off-flavor in red wine. *OENO One, 53*(2). https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.2.2350

2 Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J., & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 60*(2), 165–178. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205

3 Peynaud, E., & Domercq, S. (1956). *Brettanyomyces* isolated from grapes and wine. *Archiv Fur Mikrobiologie, 24*(3), 266–280. https://doi-org.docelec.u-bordeaux.fr/10.1007/BF00419012

4 Moulis, P., Miot-Sertier, C., Cordazzo, L., Claisse, O., Franc, C., Riquier, L., Albertin, W., Marchand, S., De Revel, G., Rauhut, D., & Ballestra, P. (2023). Which microorganisms contribute to mousy off-flavour in our wines? *OENO One, 57*(2), 177–187. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.2.7481

5 Snowdon, E. M., Bowyer, M. C., Grbin, P., & Bowyer, P. K. (2006). Mousy off-flavor: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(18), 6465–6474. https://doi.org/10.1021/jf0528613

6 Kiyomichi, D., Franc, C., Moulis, P., Riquier, L., Ballestra, P., Marchand, S., Tempère, S., & de Revel, G. (2023). Investigation into mousy off-flavor in wine using gas chromatography-mass spectrometry with stir bar sorptive extraction. *Food Chemistry, 411*, 135454. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135454