IVES Technical Reviews
rebe & wein

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2024.8095

Die Verwendung von Weißweinhefesatz zur Förderung des Wachstums von Milchsäurebakterien und der malolaktischen Gärung in Wein

Aitor Balmaseda[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Georgia Lytra[1], Benjamin Poulain[1], Cristina Reguant[2], Patrick Lucas[1], Claudia Nioi[1]

[1] Univ. Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, UMR 1366 OENO, ISVV, F-33882 Villenave d'Ornon, France
[2] Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Enològica, C/ Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

Die Nutzung von Weinnebenprodukten für industrielle Anwendungen ist im Kontext des ökologischen Wandels eine große Herausforderung. Hefesatz (Weintrub) ist mengenmäßig das zweitgrößte Nebenprodukt in der Weinherstellung und kann als Nährstoffquelle zur Stimulierung des Wachstums von Mikroorganismen genutzt werden. In diesem Artikel wird die Verwendung von Hefesatz aus der Weißweinherstellung zur Förderung des Wachstums von Milchsäurebakterien (MSB) und der malolaktischen Fermentation (MLF) in Rotwein vorgestellt.

Kontext

Mit 10 % Anteil an der bei der Weinherstellung erzeugten Gesamtmasse ist Weintrub, nach Traubentrester mit 21 %, mengenmäßig das zweitwichtigste Nebenprodukt. Die Hauptbestandteile von Weintrub sind Hefebiomasse aus der alkoholischen Fermentation (AF), organische Säuren, Kohlenhydrate, anorganische Salze, Proteine, phenolische Verbindungen, sowie pflanzliche Rückstände von den Trauben.

Die komplexe chemische Zusammensetzung von Hefesatz ist eine Quelle zahlreicher Verbindungen, die für die Entwicklung neuer Verwertungsstrategien von Interesse sind. Im Rahmen der Weinproduktion ist Hefesatz eine potenzielle Quelle von Nähr- und Schutzstoffen für Milchsäurebakterien während der malolaktischen Gärung[1]. Das wichtigste MSB der MLF ist *Oenococcus oeni*, welches sich häufig spontan im Wein während oder nach der AF entwickelt[2]. In geringerem Maße findet man auch *Lactiplantibacillus plantarum*. Aufgrund der unwirtlichen Bedingungen im Wein (niedriger pH-Wert, mäßiger bis hoher Alkoholgehalt, manchmal niedriger Gehalt an L-Äpfelsäure) und des komplexen Nährstoffbedarfs von MSB kann der Erfolg der MLF beeinträchtigen werden. Für eine bessere Kontrolle ist die Verwendung ausgewählter Starterkulturen eine gängige Praxis. Die Beimpfung des Weins kann deren Lebensfähigkeit jedoch herabsetzen, womit der Erfolg der MLF geschmälert wird.

Ziel dieser Studie war es, das Potenzial von Weißweinhefesatz zur Stimulierung des Wachstums von MSB und im Hinblick auf den Erfolg der MLF zu bewerten. Zudem wurde das Risiko des Auftretens von Mängeln im Zusammenhang mit der Zugabe von Hefesatz bewertet, insbesondere durch eine Analyse der Auswirkungen auf das Wachstum von *Brettanomyces bruxellensis*. Abschließend untersuchten wir die Auswirkungen auf aromatische Verbindungen.

Versuchsaufbau

In dieser Studie wurden vier kommerzielle *O. oeni*-Stämme (VF, VP41, IOEB-SARCO 277 und IOEB-SARCO 450) und drei *B. bruxellensis*-Stämme (CRBO L0611, CRBO L0422, CRBO L0424) aus der CRBO-Sammlung verwendet.

In dieser Studie wurden drei Chargen gefriergetrockneter Hefesätze (als Trub 1, 2 und 3 bezeichnet) von Weißweinen aus dem Jahrgang 2021, welche mit *Saccharomyces cerevisiae* Zymaflore® CH9 beimpft worden waren, und eine weitere Charge (Trub 4) aus dem Jahrgang 2022 verwendet. Alle Trauben stammten aus Bordeaux-Weinbergen in Frankreich.

Die Studien wurden in unterschiedlichen Medien durchgeführt: Traubenmost-Wachstumsmedium, weinähnliches Medium (wine-like medium, WLM) und natürliche Rotweine.

Einzelheiten zum vollständigen Versuchsaufbau finden sich in der ursprünglichen Publikation[3].

Stimulation von Milchsäurebakterien (LAB)

Die Verwendung von Hefesatz als Nährstoffzugabe, um die Entwicklung mikrobieller Biomasse zu fördern, ist eine potenzielle Verwertungsmöglichkeit für dieses Nebenprodukt. Von besonderem Interesse sind dabei freigesetzte, stickstoffhaltige Verbindungen, die im Traubenmost selbst eher selten vorkommen.

Gefriergetrockneter Weißweinhefesatz wurde als einzige Nährstoffquelle (abgesehen von rotem Traubensaft) in einem neuartigen, kostengünstigen Medium getestet. Dabei zeigte sich, dass das Wachstum von *O. oeni*-Populationen in Gegenwart von Hefesatz zunahm, unabhängig von dessen Herkunft (Abbildung 1).

Durch die die Autolyse der Hefe werden Nähr- und Schutzstoffe, und insbesondere lösliche Proteine, freigesetzt, welche eine Erklärung für diese Ergebnisse sein könnten[4].

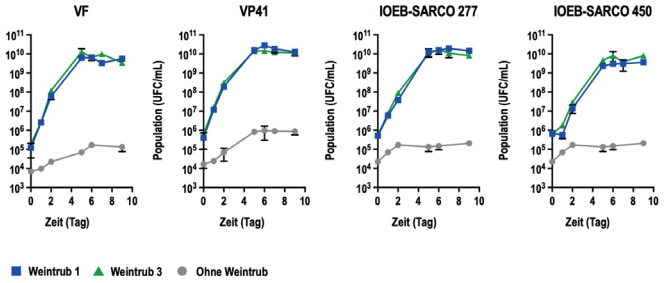


ABBILDUNG 1. Das Wachstum unterschiedlicher *O. oeni*-Stämme unter Verwendung von Hefesatz als Nährstoffzugabe im Kulturmedium ist dargestellt. Quadrate und Dreiecke beziehen sich auf 10 g/L Trub 1 bzw. Trub 3, Kreise beziehen sich auf Kontrollen ohne Hefesatz.

Weintrub verbessert die Entwicklung von MSB und die MLF

In dieser Studie wurde erstmals gefriergetrockneter Weißweinhefesatz zur Verbesserung der MLF verwendet. WLM wurde mit unterschiedlichen *O. oeni*-Stämmen und einer Konzentration von 10^6 Zellen/mL beimpft (Abbildung 2A). Alle Stämme führten die MLF sowohl in der Gegenwart als auch in der Abwesenheit von Trub 1 erfolgreich durch, wobei in der Gegenwart von Hefesatz eine bessere Fermentationskinetik beobachtet wurde.

Die Auswirkungen der Verwendung von Weintrub in WLM wurde bei Beimpfung mit niedrigeren *O. oeni* Konzentrationen getestet, bei 10^2 und 10^4 Zellen/mL. Insbesondere bei Hefesatzkonzentrationen von 0,5 g/L zeigte sich, dass es möglich ist, die Konzentration an Starterkultur vor der MLF zu reduzieren. Dies ist eine vielversprechende Anwendung für Fälle von langsam voranschreitenden Gärungen.

Als nächstes untersuchten wir die Auswirkungen der Zugabe von Hefesatz zu Fermentationen von normalem Rotwein. Ähnlich wie in WLM wurde auch hier eine Steigerung der MLF-Leistung beobachtet. In Weinen, welche mit 10^6 Zellen/mL beimpft worden waren, wurde die MLF, selbst unter den Kontrollbedingungen ohne Zugabe von Hefesatz, stets abgeschlossen (Abbildung 2B). Dies war bei allen getesteten Proben mit Hefesatz nach ca. 10 Tagen der Fall. Die einzige Ausnahme war dabei die Probe Trub 2 bei 0,25 g/L, welche erst nach 15 Tagen die MLF beendete. Weine,

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

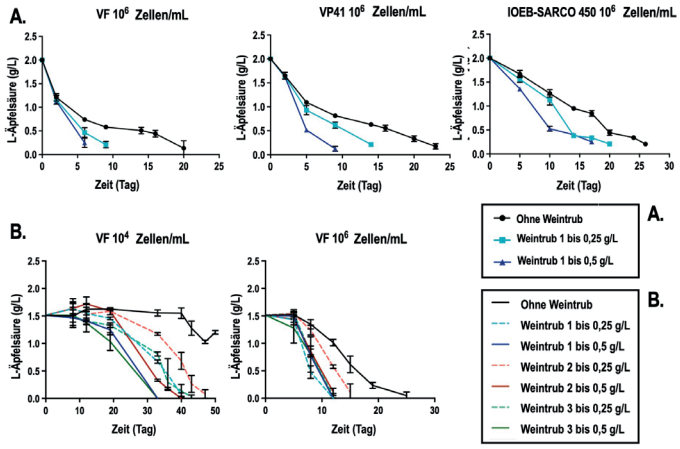


ABBILDUNG 2. Der Verlauf der MLF unter Verwendung von Hefesatz. A) WLM beimpft mit verschiedenen *O. oeni*-Stämmen. B) Natürlicher Rotwein mit oder ohne Animpfung.

welche mit 10^4 *O. oeni* Zellen/mL beimpft worden waren, zeigten eine ähnliche Tendenz (Abbildung 2B), wobei Proben ohne Hefesatz keine MLF-Leistung erbrachten. Unter beiden Beimpfungsbedingungen wurde nach Verwendung von Hefesatz übereinstimmend eine Verkürzung der MLF-Dauer beobachtet. Dies stützt die Hypothese, dass der beobachtete Effekt im Wein, wie im WLM, dosisabhängig ist, und von der Menge des zugesetzten Hefesatzes abhängt.

Bei einer Zugabe von 0,5 g/L verkürzte Trub 1 die MLF stärker als Trub 2 (Abbildung 2B), während bei 0,25 g/L die MLF in Gegenwart von Trub 2 nicht einmal vollständig ablief. Trub 1 und 2 stammten von demselben Wein, und eine mögliche Erklärung dieses Unterschieds könnte in den Entnahmezeitpunkten liegen, welche drei Monate voneinander entfernt waren. Dies deutet darauf hin, dass sich sowohl die Zusammensetzung des Hefesatzes als auch seine Wirkung auf die MLF im Zeitverlauf verändert. Dies ist nicht sehr überraschend, da Hefezellen einen autolytischen Prozess durchlaufen, bei dem intrazelluläre, sowie membran- und zellwandbezogene Verbindungen, freigesetzt werden[4]. Eine Hypothese ist deshalb, dass während der Autolyse eine Reihe von Verbindungen mit positiver Wirkung auf die Entwicklung von *O. oeni* in den Wein freigesetzt werden und somit nicht mehr im Weintrub vorhanden sind. Eine andere Hypothese ist, dass die von MSB verwendeten Nährstoffverbindungen abgebaut werden und auf diese Weise nicht mehr zur Verfügung stehen. Diese Ergebnisse weisen daher darauf hin, dass autolytische Prozesse die ernährungsphysiologischen Eigenschaften von Weintrub beeinflussen, und damit auch dessen potentiellen Einsatz als MLF-Booster.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Weintrub das Wachstum von *O. oeni* und die MLF-Leistung sowohl in WLM (Abbildung 2A), als auch in normalem Wein (Abbildung 2B) steigerten. Darüber hinaus ermöglichte der Einsatz von Weintrub im Vergleich zu Kontrollen den vollständigen Ablauf der MLF, selbst wenn die bakterielle Population im Wein niedrig ist. Die Gefriertrocknung könnte ein geeignetes Mittel zur Konservierung und Lagerung von Hefesatz sein. Zudem ist er gefroren, im Vergleich zu frischem, flüssigem Weintrub, leichter zu dosieren. Die Dosierung in dieser Studie betrug 0,25 g/L und 0,5 g/L, was 25 g/hL bzw. 50 g/hL entspricht. Ähnliche Konzentrationen (20 – 50 g/hL) werden für andere, auch in Pulverform erhältliche, Aktivatoren der AF oder MLF in der Önologie verwendet. Der Verwendung von Weintrub bei den in dieser Studie getesteten Konzentrationen kann daher problemlos an eine industrielle Anwendung angepasst werden.

Die Auswirkungen von Weintrub auf flüchtige Verbindungen des Weins

Bis zum Ende der MLF (in Weinproben mit oder ohne Hefesatzbehandlung) waren die Konzentrationen bestimmter Ester in Abhängigkeit von der Probenzusammensetzung deutlich angestiegen. Die Konzentrationen einiger Ester stiegen nach MLF aufgrund des MSB-Metabolismus[5]. Außerdem stieg die Menge anderer flüchtiger Verbindungen in behandelten Weinen deutlich im Vergleich zu denjenigen, die ohne Hefesatz hergestellt wurden. Dazu zählen zum Beispiel Ethyl-2-methylpropanoat, Ethyl-2-methylbutanoat und Ethyl-3-methylbutanoat in Merlot, und 2-Methylpropylacetat in Petit Verdot. Diese kurz- und verzweigtkettigen Alkylfettsäureester tragen in hohem Maße zu einer gesteigerten Wahrnehmung fruchtiger Aromen bei, ein positiver Effekt beim Einsatz von Weißweinhefesatz.

Die Auswirkungen von Weintrub auf die Entwicklung von *Brettanomyces bruxellensis*

Die Entwicklung von *B. bruxellensis* im Wein kann die Weinqualität aufgrund der daraus resultierenden Produktion flüchtiger Phenole beeinträchtigen[6]. Es war daher wichtig, die Wirkung von Weintrub auf *B. bruxellensis* zu untersuchen. Zwei verschiedene pasteurisierte Weine mit und ohne Zusatz von Trub 1 und 4 wurden mit etwa 10^2–10^3 KBE/mL mit drei *B. bruxellensis*-Stämmen beimpft. Die Ergebnisse zeigten, dass sie die Entwicklung von *B. bruxellensis* im Wein nicht förderten (Abbildung 3).

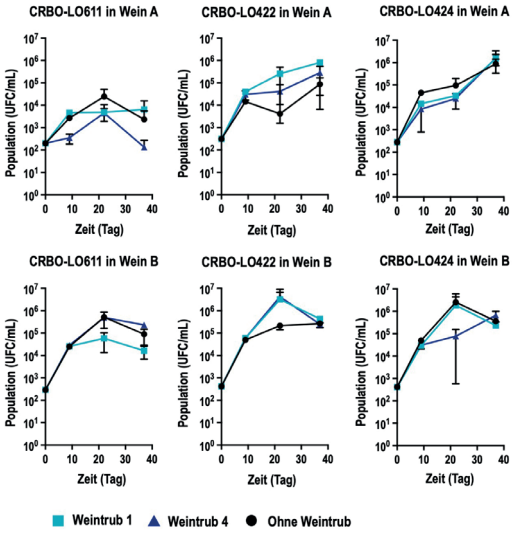


ABBILDUNG 3. Das Wachstum verschiedener *B. bruxellensis*-Stämme in zwei Weinen, A und B, ohne Hefesatz (Kreis) und in Gegenwart von 0,5 g/L Trub 1 (Quadrat) bzw. Trub 4 (Dreieck).

Fazit

In dieser integrativen Studie zeigten wir, dass Hefesatz als Aktivator sowohl die Entwicklung von MSB fördert als auch die MLF in Wein unterstützt. Er stellt kein potenzielles mikrobielles Risiko dar und die aromatische Qualität des Weins wird durch seine Verwendung nicht beeinträchtigt. Diese Ergebnisse bilden eine Grundlage für die Prüfung einer zukünftigen Anwendung dieser Praxis durch eine Genehmigung der OIV, die ihre Entscheidung auf wissenschaftliche Untersuchungen stützt, und für Weine, welche geschützten Ursprungsbezeichnungen unterliegen. ■

Danksagung: *Die Autoren danken den Weingütern, die die in dieser Studie verwendeten Hefesätze und Weine zur Verfügung gestellt haben. Die Autoren danken der ANR (Projektnummer: ANR-21-CE43-0003) für die Finanzierung.*

Basiert auf dem wissenschaftlichen Artikel Application of white wine lees for promoting lactic acid bacteria growth and malolactic fermentation in wine" (International Journal Of Food Microbiology, 2024).

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C. (2021). Simulated lees of different yeast species modify the performance of malolactic fermentation by Oenococcus oeni in wine-like medium. *Food Microbiology, 99*, 103839. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103839

2 Lerm, E., Engelbrecht, L., & Du Toit, M. (2016). Malolactic Fermentation : The ABC's of MLF. *South African Journal Of Enology And Viticulture, 31*(2). https://doi.org/10.21548/31-2-1417

3 Balmaseda, A., Miot-Sertier, C., Lytra, G., Poulain, B., Reguant, C., Lucas, P., & Nioi, C. (2024). Application of white wine lees for promoting lactic acid bacteria growth and malolactic fermentation in wine. *International Journal Of Food Microbiology, 413*, 110583. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110583

4 Alexandre, H., & Guilloux-Bénatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine – a review. *Australian Journal Of Grape And Wine Research, 12*(2), 119127. https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00051.x

5 Lytra, G., Miot-Sertier, C., Moine, V., Coulon, J., & Barbe, J. (2020). Influence of must yeast-assimilable nitrogen content on fruity aroma variation during malolactic fermentation in red wine. *Food Research International, 135*, 109294. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109294

6 Lleixà, J., Martínez-Safont, M., Masneuf-Pomarède, I., Magani, M., Albertin, W., Mas, A., & Del Carmen Portillo Guisado, M. (2021). Genetic and phenotypic diversity of Brettanomyces bruxellensis isolates from ageing wines. *Food Bioscience, 40*, 100900. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100900