IVES Technical Reviews
rebe & wein

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2025.9402

Die Verwendung von *Torulaspora delbrueckii* in Weinen mit Kohlensäuremazeration moduliert deren organoleptische Eigenschaften und begünstigt die malolaktische Gärung

Candela Ruiz-de-Villa[1], Jordi Gombau[2], Montse Poblet[1], Albert Bordons[3], Joan Miquel Canals[2], Fernando Zamora[2], Cristina Reguant[3], Nicolas Rozès[1*]

[1] Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[2] Grup de Tecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, c/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[3] Grup de Biotecnologia Enològica, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

In jüngster Zeit ist das Interesse an der Untersuchung von Hefen, die nicht zu den *Saccharomyces* gehören, aufgrund ihrer Vorteile für den Weinherstellungsprozess und ihrer organoleptischen Eigenschaften gestiegen. Die Verwendung der Spezies T*orulaspora delbrueckii* bei der alkoholischen Gärung (AF) zusammen mit *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) hat sich ebenfalls positiv auf die malolaktische Gärung (MLF)[1] ausgewirkt. Dieser Effekt wurde bei der speziellen Weinbereitung, wie z. B. bei der Kohlensäuremazeration (CM), die darin besteht, die alkoholische Gärung (FAL) in den ungepressten Trauben in einer anaeroben Atmosphäre zu entwickeln und so sehr aromatische Weine zu erzeugen, wenig untersucht[2]. Ziel dieser Studie ist es, die önologischen Auswirkungen der Inokulation von *T. delbrueckii* während der ersten Phase der Weinbereitung durch CM zu untersuchen, um den Gärungsprozess und die organoleptischen Eigenschaften dieser Weine zu verbessern.

Materialien und Methoden

Die Gärung erfolgte in kleinen Mengen in 15-Liter-Plastikbehältern unter Verwendung der Rebsorte Red Garnacha aus dem Weingut Mas dels Frares (Universität Rovira i Virgili, DO Tarragona). Zur Durchführung der Kohlensäuremazeration (CM) wurden die Trauben von Hand entrappt und ganze, nicht gequetschte Beeren in die Behälter gegeben, wobei CO2zugeführt wurde, um ein anaerobes Milieu zu schaffen (Abbildung 1). Die Bedingungen waren wie folgt: zwei aufeinanderfolgende Behandlungen, bei denen zwei Stämme von *T. delbrueckii* mit Viniflora Prelude (Chr. Hansen Holding AS, Hoersholm, Dänemark) und Viniferm NS Td (Agrovin, Alcázar de San Juan, Spanien) beimpft wurden, und die Kontrolle ohne Beimpfung. Nach 5 Tagen CM bei 20°C wurden die Trauben gepresst und die Mostfraktionen gemischt. Der vergorene Most jeder Bedingung wurde abgefüllt und mit *S. cerevisiae* CLOS (Lallemand Inc., Montreal, QC, Kanada) geimpft, um die alkoholische Gärung abzuschließen. Schließlich wurden drei malolaktische Gärungen (MLF) durchgeführt, wobei zwei verschiedene Stämme von *Oenococcus oeni* (Lalvin VP41 von Lallemand Inc. und Viniflora CH11 von Chr. Hansen Holding AS) zur Beimpfung verwendet wurden, sowie natürlich vorkommende Milchsäurebakterien (LAB) in einer spontanen MLF (Sp) (Abbildung 1). Alle Fermentationen (AF und MLF) wurden in biologischen Triplikaten durchgeführt. Die statistische Analyse der Daten wurde mittels ANOVA und Tukey-Test mit der Software XLSTAT Version 2022.5.1 durchgeführt. Ein p-Wert von weniger als 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

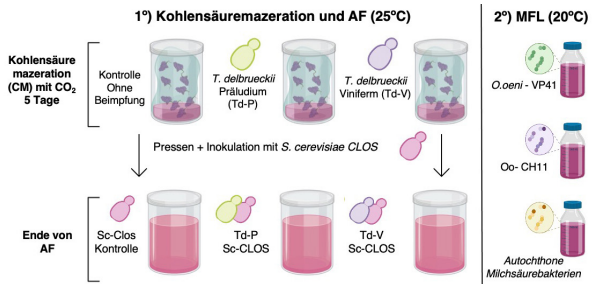


ABBILDUNG 1. Versuchsaufbau.

Ergebnisse

Wirkung von *T. delbrueckii* auf die Weinfarbe

Interessante Ergebnisse wurden hinsichtlich der Farbe und der phenolischen Zusammensetzung der Weine erzielt, die aus der Beimpfung mit *T. delbrueckii* zu Beginn der Kohlensäuremazeration stammten. Das Vorhandensein von *T. delbrueckii* führte zu einem deutlichen Anstieg der Anthocyan-Konzentration in den fertigen Weinen, insbesondere beim TdV-Stamm (Abbildung 2A). Diese höhere Konzentration kann mehrere Ursachen haben, wie z. B. die stärkere Oxidation von Anthocyanen in den Kontrollweinen, die länger brauchten, um mit der FAL zu beginnen. Andererseits kann dieser Effekt auch mit einer hohen pektolytischen Aktivität zusammenhängen, die bei bestimmten Nicht-*Saccharomyces*-Hefen beobachtet wurde; für *T. delbrueckii* wurde diese Aktivität jedoch noch nicht nachgewiesen. Unterschiede wurden auch bei den Pyranoanthocyanen, Vitisin A und Vitisin B, festgestellt (Abbildung 2B). Diese Pigmente spielen eine wichtige Rolle bei der Verbesserung der Farbstabilität von Weinen, da sie weniger empfindlich auf pH-Änderungen reagieren und widerstandsfähiger gegen Verfärbungen durch Schwefeldioxid sind[3]. Die Kontrollproben am Ende der CM unterschieden sich signifikant von den mit *T. delbrueckii* geimpften Proben, da keine Pyranoanthocyanine nachgewiesen wurden. Im Gegensatz dazu wiesen sowohl die TdP- als auch die TdV-Proben nach dem CM das Vorhandensein dieser Pigmente auf. Nach der AF-Phase wurden jedoch in allen Weinen Pyranoanthocyanine nachgewiesen, wobei die Konzentrationen in den Weinen mit *T. delbrueckii* höher waren als in den Kontrollweinen. Während der CM-Phase gab es keine signifikanten Unterschiede in der Farbintensität (CI) zwischen den verschiedenen Bedingungen. Nach der AF-Phase zeigten die Kontrollweine jedoch eine signifikante Verringerung der CI, und es war möglich, die Kontrollweine visuell von den mit *T. delbrueckii* geimpften Weinen zu unterscheiden (Abbildung 2C).

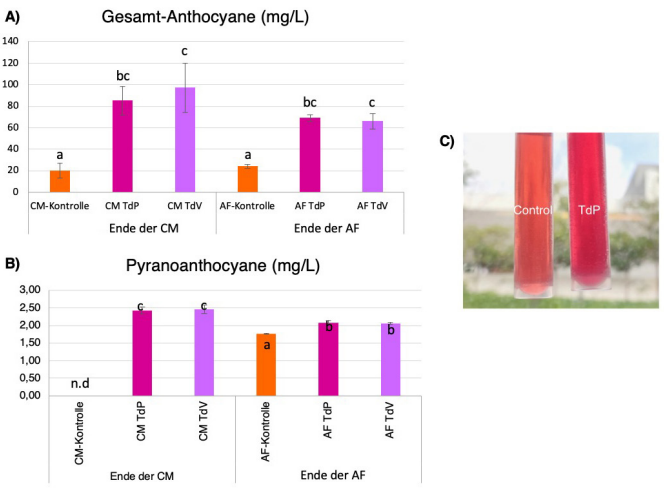


ABBILDUNG 2. Analysierte phenolische Verbindungen. A) Freie Anthocyane, analysiert mittels HPLC; B) Pyranoanthocyanine (Vitisine A und B). C) Unterscheidung der Weine mit dem bloßen Auge: Kontrolle (links) und mit *T. delbrueckii* Prelude beimpfter Wein (rechts). Das Ende von MC entspricht der Probenahme nach der Kohlensäuremazeration vor der Inokulation von *S. cerevisiae*, das Ende von FAL entspricht der Probenahme nach der alkoholischen Gärung (FAL). Kontrolle entspricht der Kontrollfermentation; TdP und TdV entsprechen den Fermentationen mit *T. delbrueckii* Prelude bzw. *T. delbrueckii* Viniferm. Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$). Alle Daten sind als arithmetisches Mittel von drei biologischen Replikaten ± Standardabweichung (n = 3) angegeben.

Wirkung von *T. delbrueckii* auf das Aroma und die organoleptischen Eigenschaften von Weinen

Die Beimpfung mit den beiden Stämmen von *T. delbrueckii* beeinflusste das Profil der flüchtigen Bestandteile und die allgemeinen organoleptischen Eigenschaften der Weine erheblich. Die Unterschiede wurden hauptsächlich nach der Beimpfung mit T. delbrueckii beobachtet, wobei die Familien der Ethylester, der höheren Alkohole, der kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) und der höheren

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

Alkoholacetate zunahmen. Die Verbindungen, die am stärksten zunahmen, waren 1-Propanol, 2-Methylpropanol, Isoamylacetat, 2-Phenylethanolacetat, Ethyldecanoat, Ethyldodecanoat und Isopropanol; diese wurden durch die Deskriptoren Alkohol, Wein, Banane, Rose, Traube und Blätter charakterisiert. Der TdP-Stamm zeigte einen signifikant größeren Anstieg der Konzentrationen von 2-Phenylethanol, 2-Methylpropanol und Isoamylacetat als der TdV-Stamm. Isoamylacetat ist eine charakteristische Verbindung der CM-Weine[2], deren Deskriptor Banane ist. Diese Verbindung erreichte Konzentrationen von 0,62 mg/L (Kontrolle), 0,63 mg/L (TdP) und 0,47 mg/L (TdV) nach CM ohne signifikante Unterschiede. Die TdP- und TdV-Weine wiesen jedoch einen signifikanten Anstieg der Isoamylacetat-Konzentration nach AF auf und erreichten Konzentrationen von 3,37 mg/L bzw. 1,32 mg/L im Vergleich zum AF-Kontrollwein mit 0,58 mg/L (Abbildung 3A).
Um schließlich die Auswirkungen der Inokulation mit *T. delbrueckii* während der MC umfassend zu verstehen, wurde nach der AF eine sensorische Analyse durchgeführt. Ein Dreieckstest wurde von 15 geschulten Prüfern durchgeführt, die schwarze Brillen verwendeten, um visuelle Befangenheiten zu minimieren. Die Ergebnisse zeigten signifikante Unterschiede zwischen Kontrolle und TdP sowie zwischen Kontrolle und TdV, aber keinen Unterschied zwischen TdP und TdV. Anschließend wurde eine deskriptive Verkostung der Weine nach der AF durchgeführt: Der TdV-Wein zeigte intensive Aromen von roten Früchten, Gras und Banane sowie höhere Gesamtwahrnehmungswerte, während sich im Falle des TdP-Weins das Bananenaroma und die allgemeine Wahrnehmung im Vergleich zum Kontrollwein verbesserten. Überraschenderweise war das Bananenaroma der einzige Deskriptor, der für einen signifikanten Unterschied zwischen den Weinen mit *T. delbrueckii* und dem Kontrollwein verantwortlich war (Abbildung 3B). Dies deutet darauf hin, dass die Verbraucher ein ausgeprägteres Bananenaroma mit dem Vorhandensein von *T. delbrueckii* während des CM assoziierten.

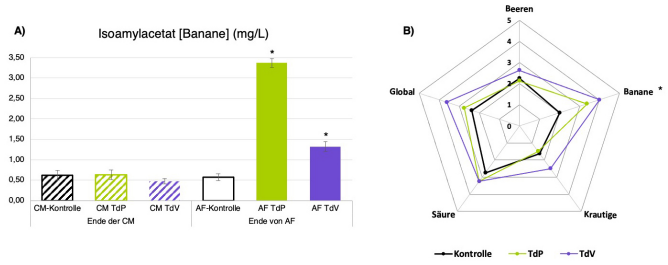


ABBILDUNG 3. Isoamylacetat-Konzentration (mg/L) (A). Spinnwebdiagramm der sensorischen Analyse der Weine nach FAL (B). Sternchen (*) kennzeichnen Attribute, die signifikante Unterschiede aufweisen (P < 0,05). Kontrolle entspricht der Kontrollbedingung, die nur mit Sc vergoren wurde; TdP und TdV entsprechen den Gärungen mit *T. delbrueckii* Prelude bzw. Viniferm. Alle Daten sind als arithmetisches Mittel von drei biologischen Replikaten ± Standardabweichung (n = 3) angegeben.

Wirkung von *T. delbrueckii* auf die Leistung der malolaktischen Gärung

Nach Abschluss der AF wurden drei MLF-Strategien angewandt: Inokulation mit den *O. oeni*-Stämmen OoVP41 und OoCH11 sowie Spontangärung. Die Beimpfung mit *O. oeni*-Starterkulturen wurde durchgeführt, um deren Potenzial unter dem Konkurrenzdruck der endogenen BAL zu bewerten.
Abbildung 4 zeigt die MLF-Kinetik der drei Weinbedingungen mit ihren jeweiligen MLF-Strategien. Die Beimpfung mit OoVP41 führte zu einer kürzeren malolaktischen Gärung als die Beimpfung mit OoCH11 und als die spontane Belebung. Die TdP- und TdV-Weine, die mit OoVP41 geimpft wurden, beendeten die MLF zwei Tage früher (d. h. innerhalb von 8 Tagen) als die Kontrollweine mit demselben Stamm (innerhalb von 10 Tagen). Frühere

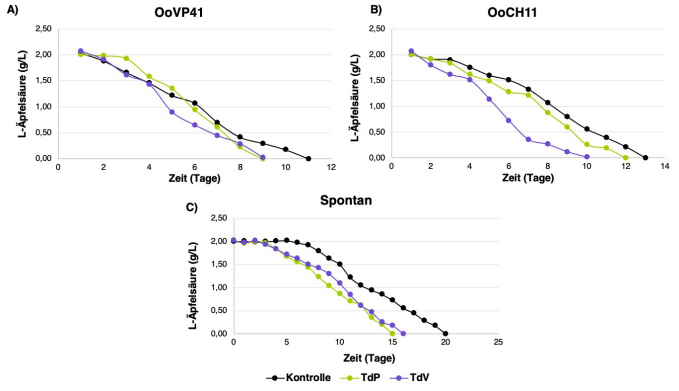


ABBILDUNG 4. Verbrauch von L-Äpfelsäure durch *Oenococcus oeni*-Stämme während der malolaktischen Gärung: (A) entspricht der MLF OoVP41, (B) entspricht der MLF OoCH11 und (C) entspricht der spontanen MLF. Die Kontrolle entspricht der Kontrollbedingung, bei der nur mit Sc fermentiert wurde; TdP und TdV entsprechen den Fermentationen mit *T. delbrueckii* Prelude bzw. Viniferm. Alle Daten sind als arithmetisches Mittel von drei biologischen Replikaten ± Standardabweichung (n = 3) angegeben.

Studien unter Laborbedingungen[4] haben den Stamm OoVP41 ebenfalls als hocheffizienten Fermentationsstamm charakterisiert, was dieses Ergebnis unter diesen Konkurrenzbedingungen bestätigt. Der Einfluss von *T. delbrueckii* auf die MLF wurde auch bei Verwendung des Stammes OoCH11 beobachtet. Signifikant größere Unterschiede wurden bei der spontanen MLF beobachtet. Die Kontrollweine brauchten 7 Tage, um die MLF zu initiieren, während TdP 4 Tage und TdV nur 3 Tage brauchte. Was die Gesamtdauer der MLF betrifft, so waren TdP und TdV ebenfalls kürzer: TdP benötigte 15 Tage und TdV 16 Tage, also deutlich weniger als die Kontrolle, die 20 Tage benötigte (Abbildung 4). Die Wirkung von *T. delbrueckii* auf MLF wird mit verschiedenen Faktoren in Verbindung gebracht, die zur Verbesserung der Effizienz von *O.oeni*[1] beitragen. Obwohl in der vorliegenden Studie keine Unterschiede bei den Ethanol- oder pH-Werten festgestellt wurden, kann die bessere Leistung der MLF auf eine Verringerung der MCFAs (mittel-kettige Fettsäuren), die als toxisch für *O. oeni*[5] bekannt sind, oder auf eine Zunahme von Ammonium und Mannoproteinen zurückgeführt werden. Neben ernährungsphysiologischen Aspekten könnte der Anstieg der Mannoproteine mit der Verringerung der MCFA zusammenhängen, da sie diese Lipide absorbieren können und das Fermentationsmilieu entgiften[6].

Schlussfolgerungen

Obwohl in der vorliegenden Studie die allgemeinen physikalisch-chemischen Parameter konstant gehalten wurden, beeinflusste die Anwesenheit von T. delbrueckii die Farb- und Aromaparameter erheblich, indem sie den Anthocyan-Gehalt und den Isoamylacetat-Gehalt erhöhte, insbesondere bei der Sorte TdP. Darüber hinaus erhöhte *T. delbrueckii* signifikant andere Verbindungen, die mit blumigen und fruchtigen Aromen assoziiert werden.
Die sensorische Bewertung ergab eine Tendenz zu verstärkten Aromen von roten Früchten, Banane und frischem Gras bei TdV-Weinen und eine verbesserte Wahrnehmung des Bananenaromas und der allgemeinen sensorischen Eigenschaften bei TdP-Weinen. Von diesen Deskriptoren war das Bananenaroma der einzige, der bei der sensorischen Analyse einen statistisch signifikanten Unterschied aufwies.
Bei der MLF verbesserte *T. delbrueckii* die Leistung, insbesondere bei der spontanen MLF, die früher begann und weniger Zeit in Anspruch nahm. Die Inokulation mit OoVP41 führte zu einer deutlichen Verkürzung der Dauer der MLF um zwei Tage. Diese Ergebnisse unterstreichen die potenziellen Vorteile der Verwendung von *T. delbrueckii*-Stämmen zur Verbesserung der Wirksamkeit der MLF und der sensorischen Eigenschaften von Weinen mit Kohlensäuremazeration.
Der hier angewandte Ansatz könnte insbesondere in Weinregionen in nördlichen Breitengraden von Nutzen sein, die durch kälteres Klima und einen höheren Säuregehalt gekennzeichnet sind. Die MLF könnte in diesen Regionen notwendig werden, um die gewünschten Eigenschaften ihrer Weine zu erreichen. Darüber hinaus würde die Beimpfung mit *T. delbrueckii* dazu beitragen, das sensorische Profil dieser Weine zu bereichern und eine hohe Qualität und unverwechselbare Eigenschaften zu gewährleisten. ■

Finanzierung: *Diese Arbeit wurde durch das Stipendium PGC2018-503 101852-B-I00 der spanischen Forschungsagentur unterstützt. CRV ist dankbar für das Stipendium der katalanischen Regierung (2020FI) für Promovierende.*

Basiert auf dem wissenschaftlichen Artikel "Torulaspora delbrueckii Improves Organoleptic Properties and Promotes Malolactic Fermentation in Carbonic Maceration Wines" (Fermentation, 2023).

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C (2023). The Use of *Torulaspora delbrueckii* to Improve Malolactic Fermentation. *Microb Biotechnol*, https://doi.org/10.1111/1751-7915.14302

2 Tesniere, C.; Flanzy, & C. Carbonic (2011). Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press Inc., Vol. 63, pp. 1–15.

3 Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, R., & Moljtounet, M. A (1997). New Class of Wine Pigments Generated by Reaction between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401–1407.

4 Ruiz-de-Villa, C., Poblet, M., Bordons, A., Reguant, C., & Rozès. N. (2023). Comparative Study of Inoculation Strategies of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on the Performance of Alcoholic and Malolactic Fermentations. in an Optimized Synthetic Grape Must. *Int J Food Microbiol*, 404, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110367

5 Capucho, I. and San Romão, M.V (1994). Effect of Ethanol and Fatty Acids on Malolactic Activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 42, 391–395.

6 Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., & Ribéreau-Gayon, P. (1984). *Inhibition of Alcoholic Fermentation of Grape Must by Fatty Acids Produced by Yeasts and Their Elimination by Yeast Ghosts*, Vol. 47.