

Wir begleiten
Ihre erfolgreiche
Getränkeherstellung

Fruchtsaft- und
Weintechnologie

**SCHLISSMANN
SCHWÄBISCH HALL**



Tel. 07 91 - 9 71 91-0 • Fax 9 71 91-25
C. Schliessmann Kellerei-Chemie GmbH & Co.KG
Auwiesenstr. 5 • D-74523 Schwäbisch Hall

Die Nährstoffversorgung der Hefe: Detaillierte Betrachtung eines neuen Konzepts bei der Weinbereitung

Seite 1/4

von K. Lourens und G. Reid, erschienen in "OUTLOOK", Nov. 2000, der Informationsbroschüre von ANCHOR-BIOTECHNOLOGIES für die südafrikanische Kellerwirtschaft; auszugsweise übersetzt von Dr. M. Heil, C. SCHLISSMANN, Schwäbisch Hall

Die Hefe: Vermehrung und Gärung:

Die Hauptaufgabe der Hefe bei der Weinbereitung besteht in der Umwandlung von Traubenzucker in Alkohol, der Gärung. Für optimale Leistung und Überlebensfähigkeit während dieses Prozesses benötigt die Hefe verschiedene Nährstoffe. Traubensaft stellt jedoch kein optimales Nährmedium für Hefe dar, zumal sie zusätzlich beträchtlichen Belastungen unterworfen ist. Hefe vermehrt sich nur in Anwesenheit von Luftsauerstoff, einem ausreichenden Nährstoffangebot und bei Temperaturen zwischen 28 und 30 °C optimal.

Neben Glucose und Fructose als Kohlenstoff- und Energiequelle benötigt Hefe folgende Nährstoffe bei der Gärung: Assimilierbaren Stickstoff in Form von Ammonium oder Aminosäuren, Phosphate, Wachstumsfaktoren (Vitamine), Mineralstoffe und "Überlebensfaktoren" (langkettige Fettsäuren und Sterole). Im Folgenden wird die Bedeutung dieser Nährstoffe erörtert. Außerdem wird aufgezeigt, inwiefern eine optimale Nährstoffversorgung der Hefe im Verlauf der Gärung zur Herstellung von Qualitätsweinen beitragen kann.

Assimilierbarer Stickstoff:

Ammonium und Aminosäuren beinhalten Stickstoff in einer von Hefe verwertbaren (assimilierbaren) Form. Dieser assimilierbare Stickstoff (**FAN**) ist bei weitem der wichtigste Nährstoff bei der Weingärung. Ammonium ist dabei aufgrund seiner leichten Assimilierbarkeit die bevorzugte Stickstoffquelle bei der Hefevermehrung.

Stickstoff gelangt aus dem Boden über die Rebe und die Traube in den Most. Seine Konzentration in der Weinbeere nimmt im Verlauf der Traubenreife ab. Sehr reife oder trockenen Standorten (mit 100 °Oe) geerntete Trauben haben erwartungsge-

mäß relativ geringe Stickstoffgehalte. Der Gesamtstickstoffgehalt der Trauben ist abhängig von der Rebsorte, der Unterlage, den klimatischen Verhältnissen, der Bodenzusammensetzung und -bearbeitung, der Düngung und Bewässerung.

Während der Gärung nimmt die Hefezelle Ammonium und Aminosäuren aus dem Traubenmost auf. Dieser Stickstoff wird zunächst gespeichert, um für die spätere Bildung von Eiweißen (**Proteinen**) zur Verfügung zu stehen. Zu diesen Eiweißen zählen Enzyme, die für die alkoholische Gärung benötigt werden, und Membranproteine (Permeasen), die in der Zellmembran der Hefe sitzen und für den Transport von Aminosäuren und Zuckern in die Hefezelle verantwortlich sind. Außerdem sind Proteine als Zellbausteine für die Bildung neuer Hefezellen von Bedeutung.

Stickstoffbedarf der Hefe:

Traubensaft enthält häufig unzureichende Mengen an assimilierbarem Stickstoff, so dass ein Stickstoffzusatz, z.B. Diammoniumphosphat (**DAP**), nötig ist. Die Höhe des Stickstoffbedarfes hängt neben der Gärtemperatur und anderen Einflussfaktoren ganz erheblich vom Hefestamm ab, mit dem die Gärung eingeleitet wird.

Da sich Hefestämme in der Höhe ihres Stickstoffbedarfes erheblich unterscheiden, sollte sich der Kellermeister möglichst umfangreich von seinem Lieferanten über diese Eigenschaft der angebotenen Hefen informieren lassen. Hefestämme mit geringem Stickstoffbedarf erfordern in der Tat möglicherweise keinen Stickstoffzusatz.

Zusammenhang zwischen Stickstoffmangel und Schwefelwasserstoffbildung:

Bei der Gärung besteht eine Beziehung zwischen Stickstoffmangel und der Entstehung von Schwefelwasserstoff (H_2S): Je weniger assimilierbaren Stickstoff die Hefe im Most vorfindet, desto mehr H_2S bildet sie.

Das Auftreten von Fehltonen wie H_2S , Merkaptanen und schwefelhaltigen Essigsäureestern ist das häufigste Resultat von Stickstoffmangel. Diese Fehltonen treten bereits 30min nach dem Eintritt einer Ammoniummangelsituation auf. H_2S und Merkaptane lassen sich zwar mit effizientem Umpumpen und Kupferbehandlungen aus verdorbenen Weinen entfernen, schwefelhaltige Essigsäureester aber werden dabei nicht erfasst und bleiben im fertigen Wein. Dort zerfallen sie eventuell später in H_2S und Merkaptane.

Im schlimmsten Falle kann ein Mangel an assimilierbarem Stickstoff in einer Gärstockung resultieren. Dies beruht auf der Tatsache, dass die für den Zuckertransport verantwortlichen Membranproteine der Hefe einem ständigen Abbau unterliegen und neu gebildet werden müssen. Innerhalb von 6 Stunden wird etwa die Hälfte aller Membranproteine erneuert. Ist kein assimilierbarer Stickstoff mehr für die Proteinsynthese vorhanden, können keine Transportproteine mehr gebildet werden. Dies beeinträchtigt die Zuckeraufnahme in die Hefezelle zunehmend, bis sie schließlich nach etwa zwei Tagen völlig zum Erliegen kommt.

Herkunft des Schwefelwasserstoffs:

Normalerweise entsteht H_2S bei der Reduktion von Sulfat. Die Hefe verwendet dieses H_2S für die Synthese der schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein.

In Ermangelung eines intrazellulären Stickstoffservoirs führt die fortschreitende Sulfat- oder Sulfidreduktion zur Bildung eines Überschusses an H_2S , den die Hefe nicht in Aminosäuren einbauen kann und deshalb in den gärenden Most ausscheidet. Setzt man, sowie H_2S im gärenden Most zu riechen ist, Stickstoff zu, geht die H_2S -Bildung zurück.

H_2S kann auch entstehen, wenn die Hefe schwefelhaltige Aminosäuren zur Gewinnung der Aminogruppe abbaut, wenn elementarer, im Weinberg als Fungizid eingesetzter Schwefel reduziert wird, oder aus schwefelhaltigen Pestiziden. Normalerweise tragen diese Mechanismen jedoch nur wenig zur H_2S -Bildung bei.

Aufnahme und Speicherung von Aminosäuren:

Der Bedarf der Hefe an Aminosäuren während der

Gärung ist von großer Bedeutung. Die wichtigste Rolle spielen Aminosäuren als Eiweißbausteine. Hefe nimmt Aminosäuren aus dem Most auf und lagert sie innerhalb der Zelle für die spätere Verwendung bei der Proteinsynthese. Hefe synthetisiert außerdem ihre eigenen Aminosäuren.

Mechanismus und Zeitablauf der Aminosäureaufnahme:

Die Hefezelle nimmt Aminosäuren aus dem Traubensaft über die Zellmembran in ihr Cytoplasma nach einem Mechanismus auf, der als aktiver Transport bezeichnet wird. Dabei ist von großer Bedeutung, dass die Hefe mit jeder Aminosäure, die sie aufnimmt, auch ein Wasserstoffion (H^+ -Ion) aufnimmt. Ein Maß für die Konzentration an H^+ -Ionen in einem gegebenen Medium ist der pH-Wert: Je höher die Konzentration an H^+ -Ionen, desto kleiner das pH. Traubensaft hat gewöhnlich ein pH von 3 bis 3,5. Im Innern der Hefezelle herrscht dagegen pH 6. Für die Funktionstüchtigkeit der Hefe während der Gärung muss dieser pH-Wert von 6 aufrechterhalten werden, indem aufgenommene H^+ -Ionen unter Energieaufwand ausgeschleust werden. Infolge der anwachsenden Ethanolkonzentration im gärenden Most wird die Hefezellmembran jedoch immer durchlässiger für H^+ -Ionen; sie strömen von allein in die Zelle. Dadurch wird es für die Hefezelle sehr energieaufwendig, den richtigen inneren pH-Wert aufrechtzuerhalten. Dies beeinträchtigt wiederum die Aufnahme von Aminosäuren im Verlauf der Gärung zunehmend, bis sie schließlich völlig unterbleibt. Aminosäuren werden demnach gewöhnlich nur während der frühen Fermentationsphasen von der Hefe aufgenommen, d.h. während der ersten 8-12 $^{\circ}\text{Oe}$.

Der Kellermeister muss also der Hefe Aminosäuren zur Verfügung stellen, bevor zu hohe Ethanolkonzentrationen die Aufnahme von Aminosäuren beeinträchtigen.

Die Zugabe von zuviel anorganischem (Ammonium) Stickstoff, z.B. DAP, im Saftstadium kann die Aminosäuren-Aufnahme bereits zu Beginn der Gärung stören, da die Hefe Ammonium bei Vorliegen in größeren Mengen als Stickstoffquelle gegenüber Aminosäuren bevorzugt.

Schließlich führt eine Bentonitschönung zu Aminosäuremangel: Bentonit bindet ziemlich unspezifisch Eiweiße und Aminosäuren. Ein Bentonitzusatz im Saftstadium kann deshalb zur unnötigen Entfernung der für die Hefezellfunktionen notwendigen Aminosäuren führen. Aus diesem Grunde empfiehlt sich ein Bentonitzusatz (wenn überhaupt) erst 8-12 $^{\circ}\text{Oe}$ nach Gärbeginn.

Konsequenzen des Aminosäuren-Verbrauchs:

Prolin, Arginin und Glutamin sind die vorwiegenden Aminosäuren im Traubensaft. Die Hefe nutzt die zu Gärungsbeginn aufgenommenen und gespeicherten Aminosäuren als Stickstoffquelle, sobald kein anorganischer Stickstoff mehr zur Verfügung steht. Von Bedeutung für die Qualität des späteren Weines ist dabei die Aminosäure Arginin. Sie wird zu Harnstoff und Ammonium abgebaut. Der Harnstoff wird ins Medium ausgeschieden. Er ist an sich kein Problem, kann jedoch im Verlauf der Weinlagerung mit Ethanol zu Ethylcarbamat reagieren, einer Substanz, die zumindest im Tierversuch krebserregend wirkt. Die Ethylcarbamatgehalte in Wein sind gesetzlich geregelt. Mit ausreichenden Mengen assimilierbaren Stickstoffs lässt sich der Argininabbau und folglich die Ethylcarbamatbildung begrenzen.

Die Verstoffwechslung schwefelhaltiger Aminosäuren kann aufgrund der dabei stattfindenden H₂S-Bildung Böckser verursachen.

Werden Aminosäuren desaminiert (Entfernung der Aminogruppe), kann es zur Ausscheidung der verbleibenden Kohlenstoffskelette in Form von höheren Alkoholen (Fuselölen) kommen. Auch sie können in hohen Konzentrationen die Weinqualität beeinträchtigen.

Daraus ist ersichtlich, dass Ammoniummangel über den Abbau gespeicherter Aminosäuren bereits zu Weinfehlern führen kann, bevor er sich durch H₂S-Bildung im Auftreten des Böckers bemerkbar macht.

Die Vermeidung der H₂S-Bildung ist demnach nicht der einzige Zweck, die Gärung mit Stickstoffgaben zu unterstützen. H₂S kann meist entfernt werden, nicht aber Harnstoff und höhere Alkohole, die vor der Bildung von H₂S auftreten. Ammonium muss in der richtigen Konzentration zur richtigen Zeit im Verlauf der Gärung zugesetzt werden, um die optimale Aufnahme sowohl von Aminosäuren als auch Ammonium sicherzustellen: Unter Berücksichtigung von Hefestoffwechsel und Lesegut muss dabei jede Gärung individuell behandelt werden.

Wahl der richtigen der Stickstoffzugabe-Zeitpunkte:

Die Wahl der richtigen Zeitpunkte für die Stickstoffzugabe zum gärenden Most ist äußerst wichtig. Wie bereits erwähnt würde ein Stickstoffzusatz in Form von Ammoniumionen zu Beginn der Gärung die Aufnahme von Aminosäuren beeinträchtigen. Außerdem fördert Stickstoffüberschuss zu Fermentationsbeginn die Vermehrung der Hefe unnötig und steigert dadurch ihren Gesamtstickstoffbedarf im späteren Verlauf der Gärung. Moste aus einwandfreiem Lesegut beinhalten aus-

reichende Mengen an Stickstoff, um die Gärung in Gang zu bringen. Deshalb empfiehlt es sich, mit Stickstoffzugaben bis nach Beginn der Gärung zu warten und weitere Zusätze nach Bedarf während der Gärung zu tätigen. Gegen Gärende (unter 12 °Oe) ist eine zu hohe Konzentration an Stickstoff zu vermeiden, weil er ohnehin nicht mehr aufgenommen werden kann. Hohe Alkoholkonzentrationen begrenzen nämlich neben der Aufnahme von Aminosäuren auch die von Ammonium.

Höhere Gärtemperaturen erhöhen den Stickstoffbedarf, weil sie die Hefevermehrung begünstigen und die Gärung beschleunigen.

Weiterhin ist die Stickstoffaufnahme an die Verfügbarkeit von Sauerstoff gekoppelt. Je intensiver der Luftzutritt, z.B. durch Umpumpen, desto rascher wird der Stickstoff aufgenommen und desto mehr davon wird benötigt, verglichen mit Gärungen, die wie z.B. Weißweingärungen unter völligem Luftabschluss durchgeführt werden.

Je höher das anfängliche Mostgewicht ist, desto höher ist auch der Stickstoffbedarf.

Jedoch ist auch die Zugabe von zuviel Ammonium nachteilig: Unnötig hohe Ammoniumzusätze können zum Verbleiben nicht assimilierten Ammoniums im Jungwein führen, was wiederum die mikrobiologische Stabilität des Weines beeinträchtigt. Im Gegensatz zu etlichen mikrobiellen Weinschädlingen können die am biologischen Säureabbau beteiligten Milchsäurebakterien Ammonium nämlich nicht verstoffwechseln.

Es ist deutlich geworden, dass die Stickstoffzugabe während der Gärung vorsichtig geregelt werden sollte. Ein standardisierter Zusatz von DAP (z.B. 30g/hl) oder auch ein auf einen konstanten FAN-Wert berechneter DAP-Zusatz zu jedem Gäransatz bereits im Saftstadium stellt in der Regel keine zufrieden stellende Lösung dar. Vielmehr muss der jeweilige Stickstoffbedarf der Hefe im Verlauf der Gärung gemessen und mit Hilfe mehrerer Stickstoffgaben gedeckt werden. Dabei leistet das Anchor "NITRO-GENIUS"-Testset hervorragende Dienste.

Wachstumsfaktoren oder Vitamine:

Vitamine sind am Hefestoffwechsel beteiligte Wachstumsfaktoren. Einige Vitamine werden von der Hefe selbst synthetisiert, andere muss sie dem Nährmedium entnehmen. Traubensaft beinhaltet gewöhnlich ausreichend Vitamine, jedoch können Defizite unter bestimmten Bedingungen auftreten. Die wichtigsten Vitamine bei der alkoholischen Gärung sind Thiamin, Biotin und Pantothenensäure. Die Anreicherung von Most mit Biotin und Thiamin verringert die Hefesterblichkeit und erhöht die Gärgeschwindigkeit.

Vitamine werden als Cofaktoren bei enzymatischen Umsetzungen nicht in neue chemische Strukturen eingebaut, sondern immer wieder verwendet. Theoretisch sollte deshalb eine einmalige Zugabe zum gärenden Most genügen.

Zwei Situationen können Vitaminmangel verursachen: Jegliche Art eines Schimmelpilzbefalls (z.B. Botrytis) auf den Traubenbeeren und die Hefevermehrung in Anzuchtanks im eigenen Keller. Schimmelpilzbefall geht mit dem Verbrauch verschiedener Nährstoffe in der Traubenbeere vor der eigentlichen Ernte einher und ist damit einer der Gründe, aus denen die Verarbeitung fauligen Lesegutes fast immer problematisch ist. Die Vergärung von Mosten aus solchem Lesegut sollte immer mit einem vollständigen Hefenährstoffzusatz unterstützt werden.

Die Hefevermehrung im Keller anstelle der abschließlichen Verwendung von Reinzuchthefer führt ebenfalls zu Knappheit an Vitaminen (und anderen Spurenelementen) und liefert nur Hefe mangelhafter Funktionstüchtigkeit.

Unter Thiaminmangel kommt es u. a. zur Anhäufung von Brenztraubensäure. Brenztraubensäure ist als SO_2 -Bindungspartner nach Acetaldehyd der bedeutendste Schwefelfresser. Deshalb fallen Weine aus pilzbefallenem Lesegut häufig durch erhöhte Gehalte an gebundenem SO_2 auf.

Die Vitamine Pantothenensäure und Pyridoxin sind an der Biosynthese der schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin beteiligt. Ein Mangel an diesen Vitaminen kann selbst bei Vorhandensein ausreichender Stickstoffmengen zu gesteigerter H_2S -Bildung führen.

Pantothenensäure ist außerdem in die Bildung von Acetyl Co-A eingebunden, einer Vorstufe von Estern, die ganz wesentlich zum Weinaroma beitragen. Die Bildung dieser Ester setzt ausreichende Mengen an Pantothenensäure voraus.

Schließlich weisen unter Pantothen säuremangel vergorene Weine erhöhte Essigsäure- und Glycerinkonzentrationen auf. In Verbindung mit Aromaschwäche ist dies höchst unerwünscht.

Wenn sich auch aus einem Most mit Vitaminmangel durch Zufall ein fehlerloser Wein herstellen lässt, so sichert doch die Anreicherung mit Vitaminen bei zu erwartendem Vitaminmangel sicher bessere Ergebnisse.

Überlebensfaktoren:

Zu den Überlebensfaktoren gehören hauptsächlich Sterole und langkettige ungesättigte Fettsäuren. Sie sorgen bei der Weingärung für die richtige Permeabilität der Hefezellmembran und damit die vollständige Durchgärung.

Überlebensfaktoren stärken die Hefe gegen Belastungen, die von hohen Ethanolkonzentrationen und Gärtemperaturen, Nährstoffmangel und Nebenprodukten des Hefestoffwechsels, darunter bestimmten mittelkettigen gesättigten Fettsäuren ausgehen.

Überlebensfaktoren werden in Anwesenheit von Sauerstoff gebildet, was den Erfolg der Anwendung von Starterkulturen aktiver Trockenhefe bei der kommerziellen Weinbereitung erklärt. Aktive Trockenhefe wird unter starker Belüftung herangezogen und ist deshalb reich an "Überlebensfaktoren". Zusätzlich ist der Herstellungsprozess so gestaltet, dass die Hefe intrazellulär Vorräte an Trehalose und Glycogen (Stressschutzfaktoren) anlegen kann, die ihre starke Gärkraft sicherstellen. Die Hefevermehrung direkt im Weinkeller geht dagegen üblicherweise in Abwesenheit von Sauerstoff vorstatten. Sie resultiert in einer mangelhaften Bildung von Überlebensfaktoren und folglich in geringerer Gärkraft der herangezogenen Hefe.

Der aus der Presse abfließende Traubenmost enthält gewöhnlich genug gelösten Sauerstoff, um in Kombination mit der Verwendung von aktiver Trockenhefe eine ausreichende Bildung von Überlebensfaktoren zu gewährleisten. Jedoch kann die Hefe im Falle einer Anwendung von Ascorbinsäure, die sauerstoffzehrend wirkt, vor allem in zuckerreichen Mosten keine zusätzlichen Überlebensfaktoren bilden. Dasselbe gilt für Rotweine in der abklingenden Gärung. Obwohl Umpumpen eine Maßnahme sein kann, der gärenden Maische Sauerstoff zuzuführen, so ist dies dennoch für die Bildung von Überlebensfaktoren nicht immer ausreichend.

Eine scharfe Mostklärung führt zu einem Mangel an natürlicherweise vorkommenden Fettsäuren und Sterolen (und anderen Nährstoffen), der einen Nährstoffzusatz empfehlenswert macht. Eine sehr reichhaltige Quelle an Sterolen, Ergosterol und ungesättigten Fettsäuren sind inaktivierte Hefezellen oder Hefezellwände. Sie sind zurzeit die effektivsten die Gärung unterstützenden Hilfsmittel. Inaktivierte Hefen sind darüber hinaus sehr reich an Vitaminen. Neben der Anreicherung des Gärsubstrates mit ungesättigten Fettsäuren und Sterolen vermag inaktivierte Hefe oder ein Hefezellwandpräparat auch bestimmte toxische Fettsäuren zu binden, die während der Gärung gebildet werden, und dadurch den Gärverlauf begünstigen.

Im Verlauf der Gärung empfehlen sich zwei Zugaben inaktivierter Hefezellwände, eine kleine Menge zu Gärbeginn und eine größere Menge gegen Ende der Gärung (20-12 °Oe).