



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

„Ist Hefeernährung eine absolute Notwendigkeit für eine optimale Weinqualität? “

Prof. Dr. Jürg Gafner
Agroscope in Wädenswil
Schloss, Postfach 185
CH-8820 Wädenswil, Schweiz
E-Mail: juerg.gafner@agroscope.admin.ch

Agroscope

20. August 2014

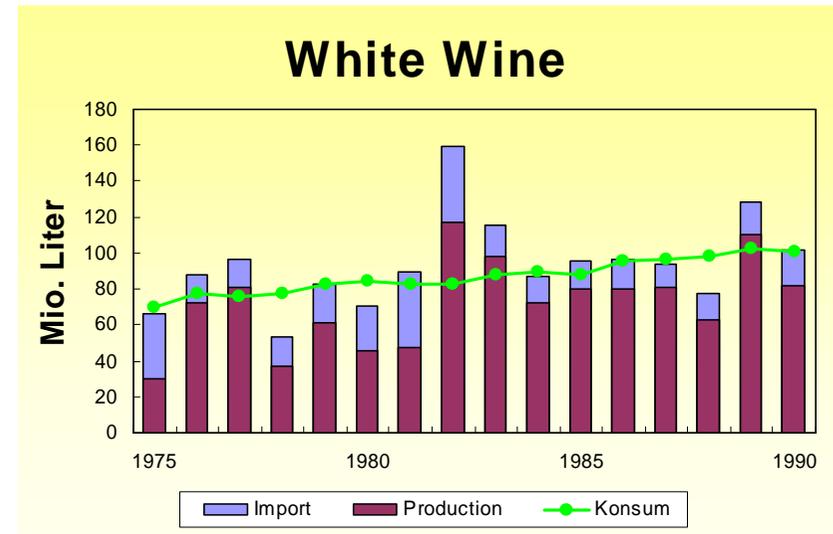
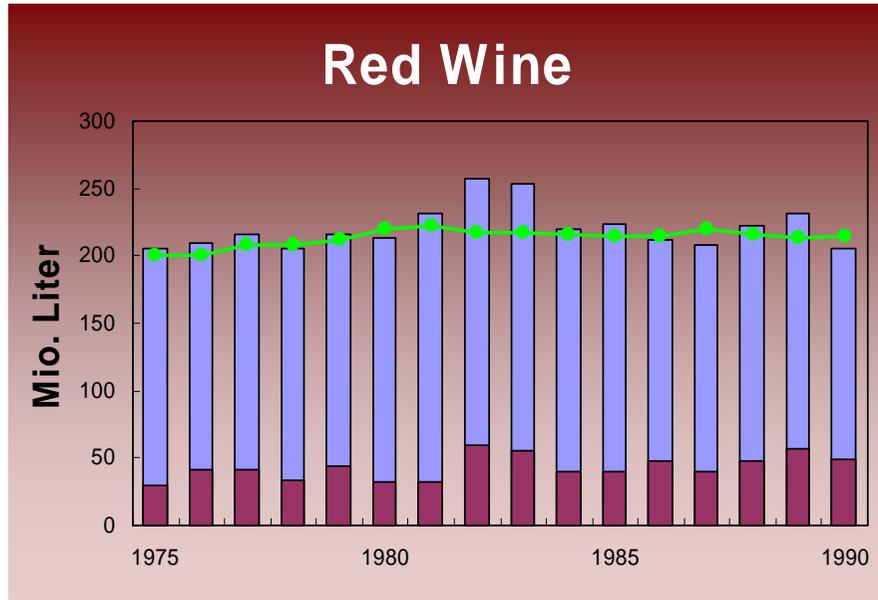
www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt



Ist Hefeernährung eine absolute Notwendigkeit für eine optimale Weinqualität?
Jürg Gafner



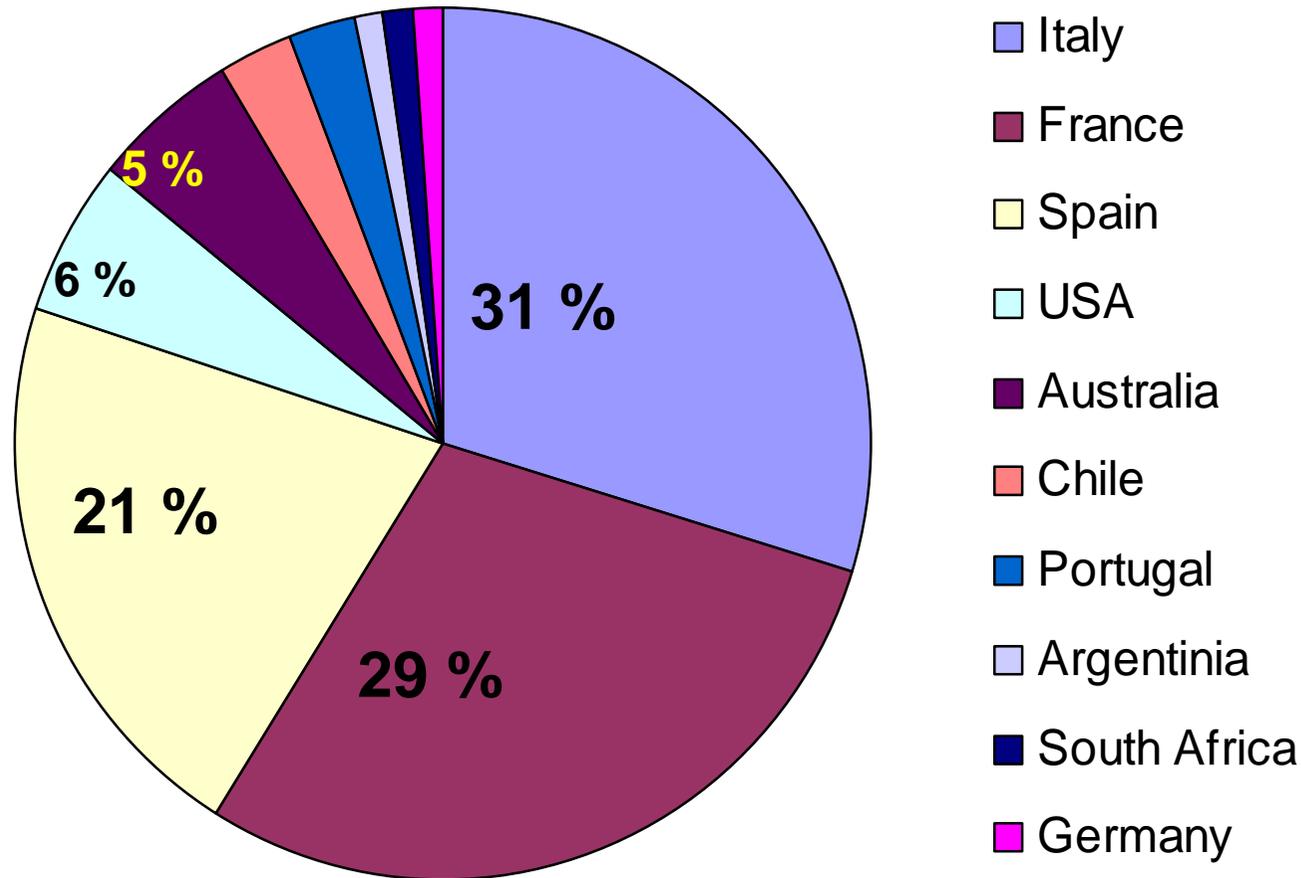
Produktion, Import und Konsum von Wein in der Schweiz



Durchschnitt des Weinkonsums in der Schweiz in Hektoliter von 2005 bis 2010: 2'747'649,67 hl



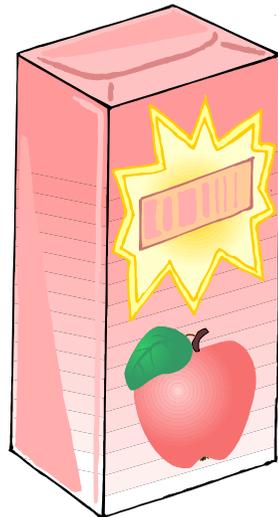
Import von abgefülltem Rotwein(2002) in die Schweiz





Weinkonsum in der Schweiz

42 L / Person / Jahr
und dann.... 38.?? L / Person /
Jahr



Fruchtsaftkonsum in der Schweiz

25 L / Person / Jahr



Weinkonsum pro Kopf in Liter

Land	2008	2009	2010
Frankreich	49.7	48.0	47.2
Portugal	42.5	42.2	41.5
Italien	43.9	40.9	40.9
Schweiz	38.6	38.1	38.3
Dänemark	33.7	32.0	35.3
Slowenien	27.5	29.4	31.5
Kroatien	31.4	31.3	30.9
Österreich	28.8	28.7	28.7
Ungarn	27.9	27.8	27.8
Belgien	28.2	26.8	26.6

Der Weinkonsum weltweit in Hektolitern schwankte von 1995 bis 2010 zwischen 222'000'000 hl (1996) und 249'000'000 hl (2007)



Mikroorganismen aus dem Keller oder Rebberg?





Mikroorganismen von der „wilden“ Rebe





Hefen und Schimmelpilze kommen in Clusters vor





Zuordnung der Clusters



A: *Metschnikowia pulcherrima*: alte Blätter

B: *Rhodotorula fujisanensis*: Holz der Rebe

C: *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckere apiculata*): Traubenbeeren

B: *Rhodotorula glutinis*: junge Blätter



Argumente für den Ursprung der Hefen aus dem Rebberg

Selektion von Hefen von einer „isolierten“ Rebe

Änderung der Mikroorganismen Population mit der Klimaerwärmung:

Brettanomyces bruxellensis, Pediococcus parvulus

Mikronischen für Hefen: man findet die gleichen Hefestämme gehäuft in einer Region

Hefen können auf Trauben isoliert werden, ohne dass sie in einem Weinkeller waren

Spontangärungen sind möglich ohne, dass die Trauben in den Keller gebracht wurden.



Hefepopulation im Traubensaft (%) – eine Herausforderung für alle Kellermeister

***Saccharomyces cerevisiae* (0.3 – 3.0)**

***Hanseniaspora uvarum* (50.9 – 89.1)**

***Metschnikowia pulcherima* (0.5 – 2.7)**

***Rhodotorula* (0 – 26.1)**

***Candida glabrata* (4.0 – 7.2)**

***Zygosaccharomyces bailii* (1.0 – 3.9)**

***Candida zeylanoides* (1.0 – 2.3)**

***Debaryomyces* (0.6 – 2.1)**

***Pichia kluveri* (0.4 – 1.4)**

***Candida stellata* (0.5 – 0.9)**

***Lipomyces* (0 – 0.5)**

***Brettanomyces bruxellensis* (0 – 0.4)**

***Hyphopichia butonii* (0 – 0.3)**

***Kluyveromyces* (0.2 – 0.2)**

***Williopsis* sat. (0 – 0.2)**

***Kryptocokkus* (0 – 0.2)**

andere *Saccharomyceten* (0.1 – 0.1)

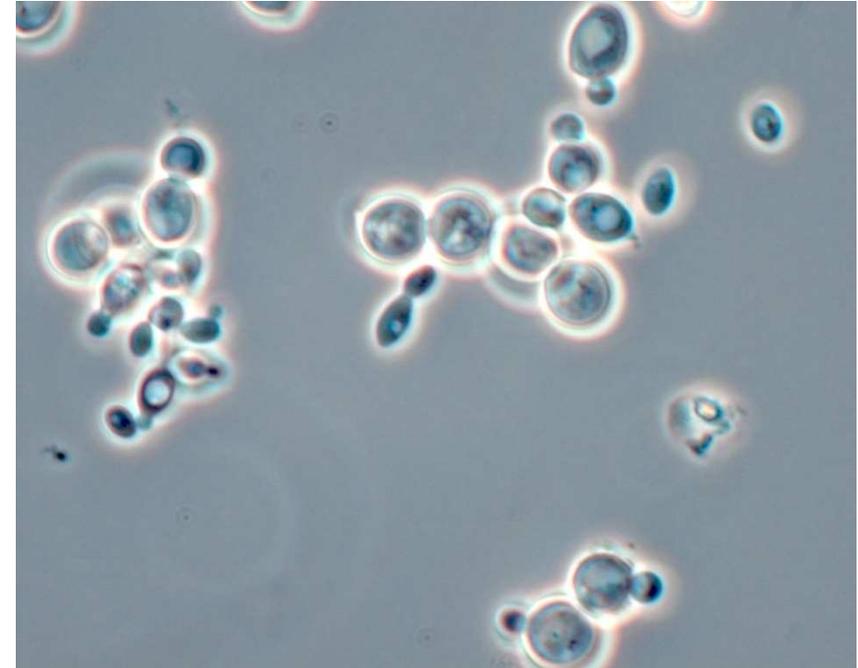
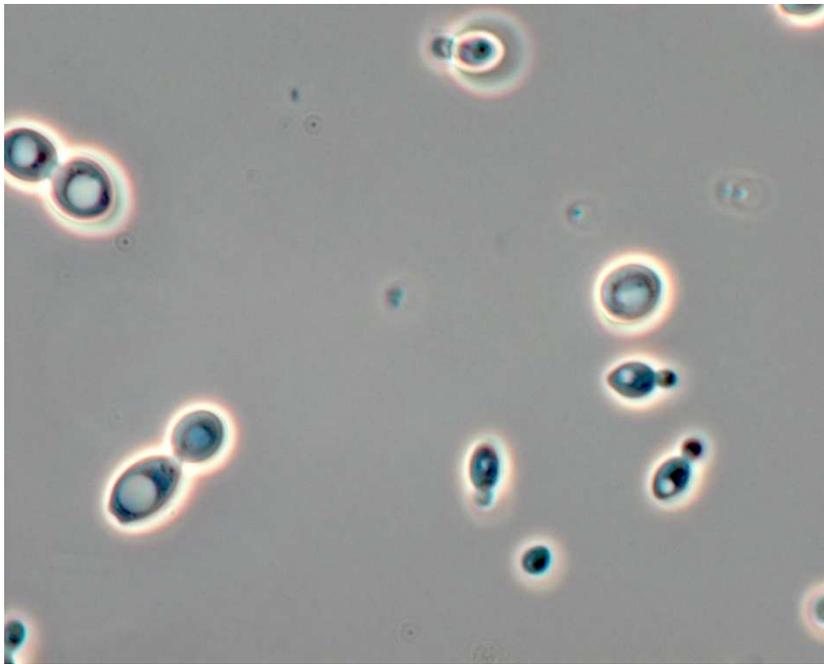
unidentifizierte Hefen (0.1 – 0.2)



Durch die Zugabe von Nährstoff ernähren wir alle Hefenarten 😊



Angärphase eines Müller-Thurgau Traubensafts:
knospende *Saccharomyces cerevisiae* (grosse, runde Zellen) und *Hanseniaspora uvarum* (kleine, ovale Zellen)
Asexuelle Form *Kloeckera apiculata*.



Bilder: Monika Volkan 2011



**Gärprodukte der unerwünschten Hefe *Hanseniaspora uvarum*
(*Kloeckera apiculata*) und
der erwünschten Hefe
*Saccharomyces cerevisiae***

	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Essigsäure (g/L)	0.50	0.03
Glycerin (g/L)	5.47	5.07
Alkohol (g/L; %)	78.3 ; 10.2	79.3 ; 10.3

Diese Experimente wurden in pasteurisiertem Traubensaft durchgeführt.



Bildung von Essigsäure

Hanseniaspora uvarum

oder

Kloeckera apiculata

kann bis zu **2 g/L Essigsäure** bilden!!!

Die Bildung der Essigsäure ist Stamm spezifisch

Essigsäure und Äthylalkohol ergibt Essigsäureäthylester

Hanseniaspora uvarum kann mit 50 mg/L schwefliger Säure SO₂ dezimiert werden

Schweflige Säure, Schwefeldioxid, SO₂

- *Kloeckera apiculata* reagiert empfindlicher >50 mg/l als *Saccharomyces cerevisiae* - Konzentrationen >50 mg/l reichen zum Abtöten - wichtig bei Schwefelung der Maische zum Schutz vor unerwünschten Mikroorganismen
- *Kloeckera apiculata* bildet Bindungspartner für schweflige Säure (Pyruvat, Ketoglutarat, Acetaldehyd) – bei hohen Konzentrationen von Bindungspartnern gibt es die sogenannten „Schwefelfresser Weine“. Verringerung mit biologischem Säureabbau (BSA)
- Schweflige Säure ist nur optimal wirksam gegenüber unerwünschten Mikroorganismen bei Konzentrationen ab 50 mg/l
- Schweflige Säure ist wirksamer bei tiefen pH-Werten
- Bis heute keine Alternative zu schwefliger Säure



Temperaturabhängigkeit

Hanseniaspora uvarum oder *Kloeckera apiculata*:

lieben Temperaturen unter 15 °C
im Vergleich zu

Saccharomyces cerevisiae, die
Temperaturen über 15 °C lieben
(optimal 30 °C)

Keine Temperaturveränderungen > 4 °C
während der alkoholischen Gärung



Hefepopulation im Traubensaft (%) – eine Herausforderung für alle Kellermeister

***Saccharomyces cerevisiae* (0.3 – 3.0)**

***Hanseniaspora uvarum* (50.9 – 89.1)**

***Metschnikowia pulcherima* (0.5 – 2.7)**

***Rhodotorula* (0 – 26.1)**

***Candida glabrata* (4.0 – 7.2)**

***Zygosaccharomyces bailii* (1.0 – 3.9)**

***Candida zeylanoides* (1.0 – 2.3)**

***Debaryomyces* (0.6 – 2.1)**

***Pichia kluveri* (0.4 – 1.4)**

***Candida stellata* (0.5 – 0.9)**

***Lipomyces* (0 – 0.5)**

***Brettanomyces bruxellensis* (0 – 0.4)**

***Hyphopichia butonii* (0 – 0.3)**

***Kluyveromyces* (0.2 – 0.2)**

***Williopsis sat.* (0 – 0.2)**

***Kryptocokkus* (0 – 0.2)**

andere Saccharomyceten (0.1 – 0.1)

unidentifizierte Hefen (0.1 – 0.2)



Rehydratisierung der Trockenreinzuchtheefe oder Schaffung von optimalen Bedingungen

- Das Auflösen der Hefe muss in Wasser erfolgen, weil Wasser sehr schnell in die Hefezelle und ihre Vakuole eindringen kann. Die Vakuolen enthalten unter anderem für die Vermehrung der Hefe wichtige Enzyme. Die Hefe muss in der zehnfachen Menge Wasser aufgelöst werden, damit der Wasserverlust durch das Trocknen wieder ausgeglichen werden kann. Ohne Wasser kein Leben!
- Die Wassertemperatur sollte optimal 42 °C betragen . Über 45 °C warmes Wasser ist für die Hefevermehrung schädlich bis tödlich. Hefeproduzenten raten deshalb zu einer moderaten Temperatur zwischen 37 °C und 40 °C, um Schwierigkeiten zu vermeiden. Wozu diese Erwärmung des Wassers? Dadurch werden sogenannte Heat-Schock-Gene aktiviert. Dieser Heat Schock wird bei allen Zellkulturen durchgeführt, die von einem Ruhezustand in einen aktiven Zustand überführt werden sollen. Sie regen die Aktivität der Hefezellen an und helfen so mit, eine hohe Biomasse zu erzeugen.
- Die Hefen sollten nicht länger als 20 Minuten im Wasser ein, weil sie sonst «verhungern». Die Zugabe von Traubensaft oder Zucker ist dann unerlässlich.



GoFerm Zugabe bei der Rehydratisierung oder ähnliche Präparate sind sicher sehr hilfreich, um die Hefe bei ihrem «Gärmarathon» zu unterstützen 😊



Nährstoffe – persönliche Erfahrungen:

Diammoniumsulfat: Böckser Gefahr

Diammoniumphosphat: «Junk Food»

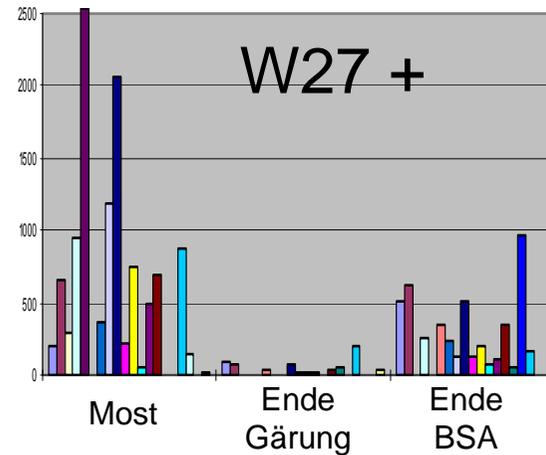
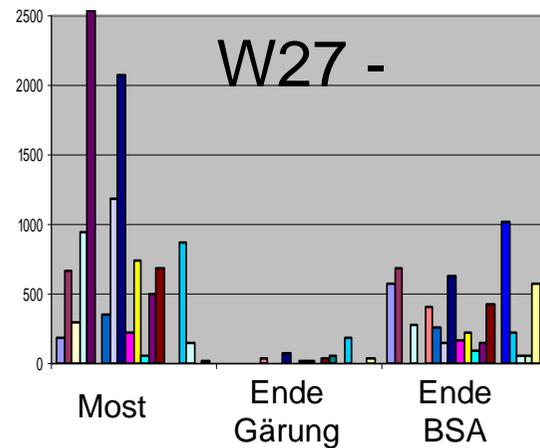
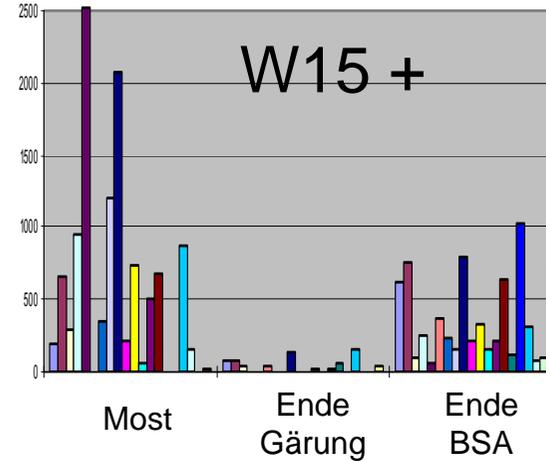
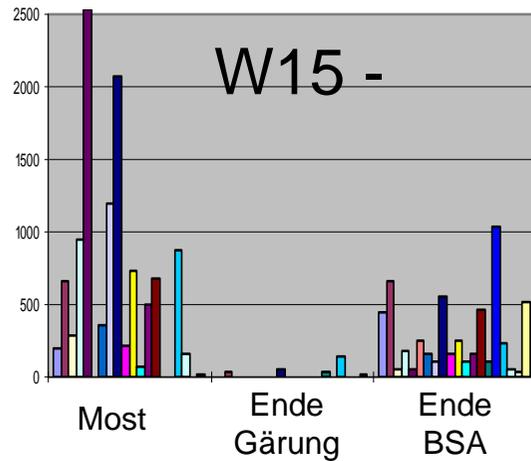
Thiamin: Neigung zu Medizinalton

Kombi-Präparate sind okay

Ascorbinsäure: in Anwesenheit von aktiven Hefen und Schwefelverbindungen Neigung zu Böckser



Aminosäureprofile in verschiedenen Gärstadien (Most – Ende Gärung – Ende BSA), mit zwei verschiedenen Hefen (W15 und W27) vergoren und mit Zugabe (+) von Nährsalz oder ohne Zugabe (-) von Nährsalz





Nach der alkoholischen Gärung: *Saccharomyces cerevisiae* (zum Teil am Auflösen) und *Oenococcus oeni* (zum Teil in Ketten)





Beispiel aus der Praxis Nährstoff für die Hefen: es kann auch zu viel sein 😊



Sensorische Wahrnehmung des Bockers

Geruch

Faule Eier der typische Schwefelböcker

Bouillon - Maggi - Liebstöckel

Verbrandes Brot

Gemüsesuppe

Gummi - verbrannter Gummi

Geschmack

Im Abgang oft leicht bitter



Behandlung des Böckers

Weine kühl halten

**Weinen Sauerstoff (Luft) zufügen - das
Glas schütteln**

**Kupferbehandlung - mit Kupfermünze
(Spritzen von Sauvignon Blanc Trauben☹)**

**Silberchloridbehandlung - verboten -
wieder erlaubt**



Ursachen für Bockser:

- Allgemeiner Stress für die Hefe
- Zu wenig fitte Hefezellen von der erwünschten Hefe
- Wassermangel im Rebberg - Stickstoff- und Mineralmangel, weil die Substanzen nicht zu den Wurzeln gelangen
- Temperaturführung während der Gärung
- Breitstellung von Schwefelverbindungen für die Hefe
- Überfütterung der Hefen
- Unterernährung der Hefen
- Zu wenig Sauerstoff für die Hefen
- Sulfonyl L- Ascorbinsäure (SAS) als Ersatz für schweflige Säure



Die Wirkung der Nährstoffzugabe zur Behebung von Gärstockungen ist nicht ersichtlich 😊



Ursachen für Gärstockungen am Ende der Weinbereitung in Weinen mit Restsüsse

Tiefes Glukose - Fruktose - Verhältnis kleiner als 0.1

- Weine **ohne** Gärstockungen: Glukose-Fruktose-Verhältnis **> 0.1**

Glucose (g/L)	Fructose (g/L)	GFV*
0.18	0.05	3.60
0.19	0.06	3.17
0.30	0.13	2.31

- Weine **mit** Gärstockungen: Glukose-Fruktose-Verhältnis **< 0.1**

	Glucose (g/L)	Fructose (g/L)	GFV*
	1.6	16.8	0.10
0.8	12.5	0.06	
0.0	9.4	0.00	

*GFV = Glucose – Fructose - Verhältnis



Eine Ursache für Gärstockungen: $GFR < 0.1$

Normal verlaufende Gärung $GFR > 0.1$

Fructose Zugabe

Glukose Wegnahme



Gärstockung $GFR < 0.1$

Fructose Wegnahme

Glukose Zugabe

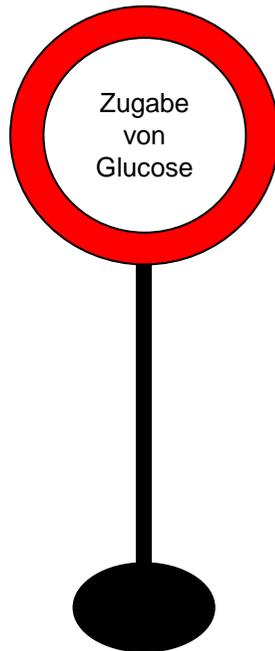


Normal verlaufende Gärung $GFR > 0.1$

Schütz and Gafner, 1993, Sluggish alcoholic fermentation in relation of the glucose-fructose ratio.
Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 15; 73-78.



Neustart von Gärstockungen durch Erhöhung des Glucose-Fructose- Verhältnisses, wenn alle Massnahmen wie Erwärmen auf 22°C zur Aufhebung von Gärverzögerungen nicht geholfen haben (97%)



**WELTWEIT
VERBOTEN!**

- Verwendung einer fructophilen Hefe:
Candida stellata
Zygosaccharomyces bailii



Geschichte von Fructoferm W3



Fructoferm W3

Fructophile Weinhefe, aus der Natur selektioniert



Fructoferm W3 (*Zygosaccharomyces bailii*) kann erfolgreich Gärstockungen, die auf einem GFR < 0.1 basieren, kurieren - sicher wurden 500'000 Liter Wein mit der Hefe kuriert.

Vorteil:

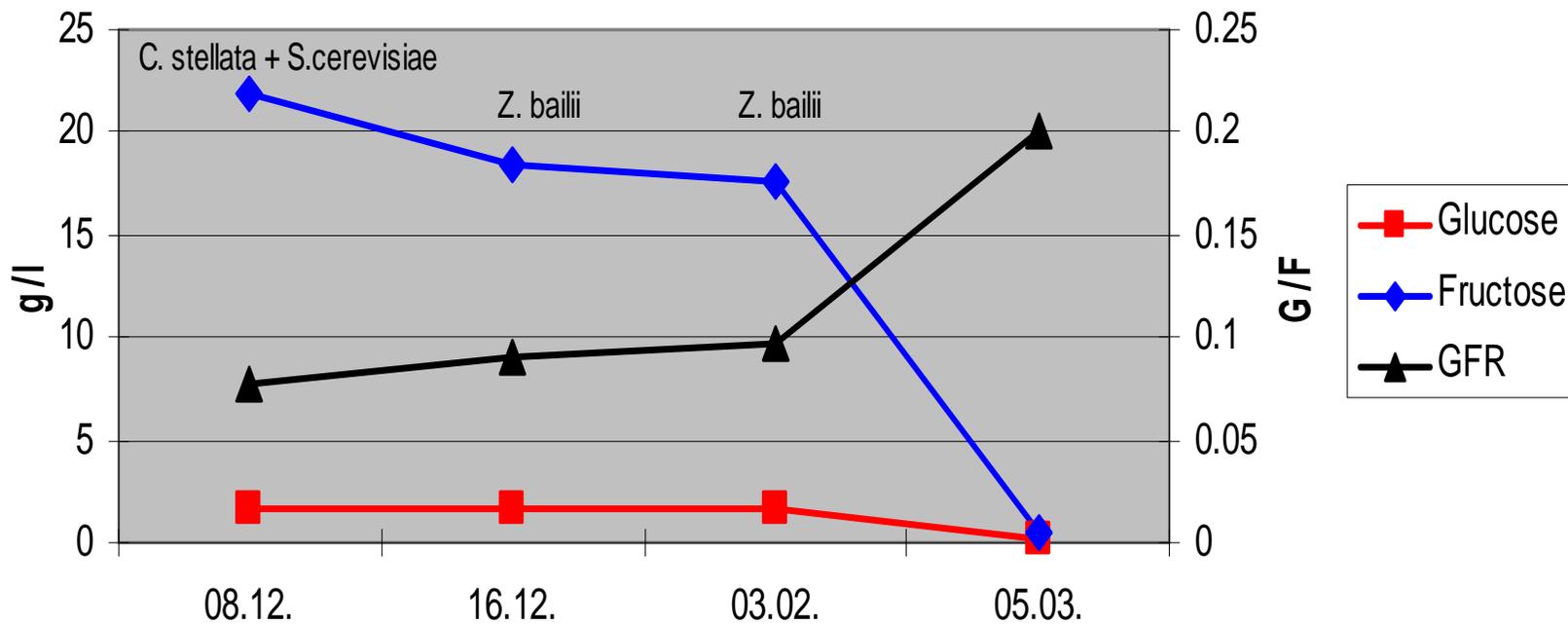
- kann durch den Fruktoseabbau das GFR erhöhen:

Nachteile:

- nicht gärfähig,
- kann nicht mit Weinhefen im Traubensaft eingesetzt werden,
- muss sobald das GFR > 0.1 mit einer gärfähiger Hefe zu Ende vergoren werden,
- Prozedere ist langwierig (mehrere Wochen bis Monate).

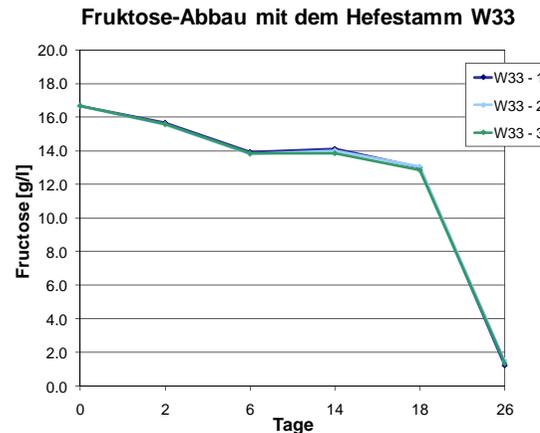


Blauburgundern Blanc de Noir 6000 L





Geschichte von Fructoferm W33



Fructoferm W33 (*Saccharomyces cerevisiae*) kann erfolgreich Gärstockungen, die auf einem GFR < 0.1 basieren kurieren und kann zum Verhindern von Gärstocken eingesetzt werden.

Vorteile:

- kann das GFR erhöhen auch wenn es unter 0.1 ist
- ist gärfähig, hat sehr ähnliche Gäreigenschaften wie Lalvin W15
- kann als Weinhefe im Traubensaft eingesetzt werden

Nachteile:

- muss vom glucophilen in den fructophilen Zustand „switchen“
- kann zwei bis drei Wochen glucophil bleiben, bevor sie „switched“



Isolierung von *Saccharomyces cerevisiae*

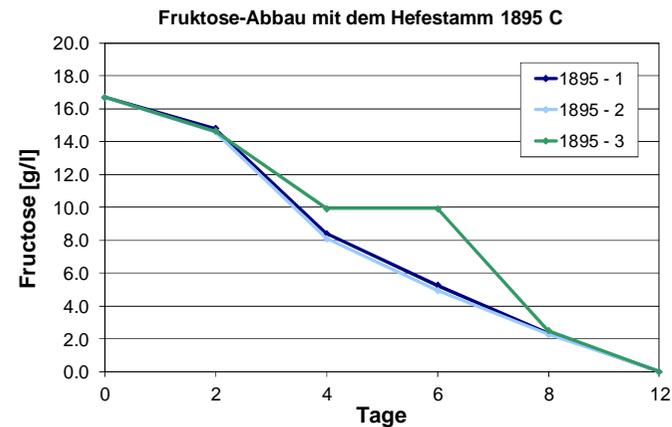
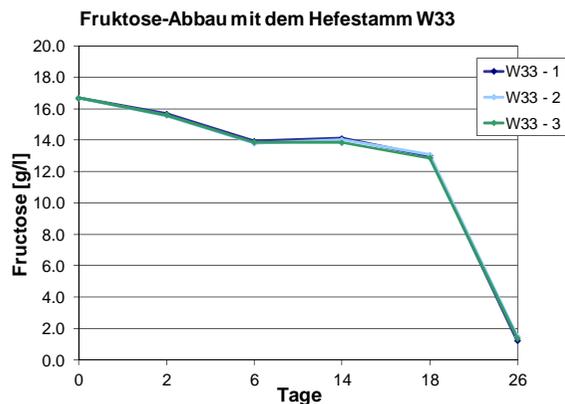
aus verschiedenen
Weinernten:
1895 (A,B,C) 1935 (A, B)
und 1962

Die Hefe 1895 C
aus der Ernte
1895





Abbau der Fruktose durch *Saccharomyces cerevisiae* (Fructoferm W33 und 1895 (1895C))



Die «alten» Hefen: 1895A, 1895B, 1895C, 1935A, 1935B und 1962 können erfolgreich Gärstockungen, die auf einem GFR < 0.1 basieren kurieren und kann auch zum Verhindern von Gärstocken eingesetzt werden, weil diese Hefen schon im Traubensaft eingesetzt werden können.



Chardonnay 6'000 L mit Gärstockung (9 Tage)

Datum	Gluc. g/l	Fruc. g/l	Gs g/l	pH	Ws g/l	Äs g/l	Ms g/l	Es g/l
12.01.2009	1.3	23.3	10.2	3.4	5.9	5.8	1.0	0.5
21.01.2009	0.0	0.1	6.1	3.7	3.6	0.1	3.4	0.4

Müller-Thurgau, Riesling-Silvaner oder RieslingxMadeleine Royale 4'300 L mit Gärstockung (5 Tage)

Datum	Gluc. g/l	Fruc. g/l	Gs g/l	pH	Ws g/l	Äs g/l	Ms g/l	Es g/l
05.12.2008	0.2	6.0	7.0	3.1	3.5	2.5	0.2	0.0
10.12.2008	0.1	1.1	5.1	3.3	3.4	0.0	2.1	0.2

Sauvignon blanc 2'300 L mit Gärstockung (20 Tage)

Datum	Gluc. g/l	Fruc. g/l	Gs g/l	pH	Ws g/l	Äs g/l	Ms g/l	Es g/l
19.12.2008	3.4	40.9	6.8	3.2	5.1	1.3	1.0	0.6
08.01.2009	0.0	2.2	5.2	3.4	3.2	0.4	2.7	0.5



Schlussfolgerungen zum fructophilen Genotyp der Hefen

Die DNA Sequenzierung der Hexokinase I und Hexokinase II Gene hat keine wesentlichen Änderungen zwischen den acht Hefestämmen ergeben:

Hexokinase I:

- in der codierten Sequenz 513 ein Austausch von **Alanin zu Valin** für 1895A, 1895B, 1985C, 1935A, 1935B (alle homozygot) und 1962 heterozygot

Hexokinase II:

- in der codierten Sequenz 1267 ein Austausch von **Isoleucin zu Valin** für 1895A, 1895B, 1985C, 1935A, 1935B und 1962 heterozygot
- in der Promotorregion: -58 bp; -295 bp bis -297 bp; -471 bp; -538 bp; -561 bp und -612 bp (nicht für Lalvin W15 und Fructoferm W33)

Sichelzellenanämie: im Hämoglobin wird **Glutaminsäure zu Valin**, was unter Sauerstoffmangel zur Auskristallisation des Hämoglobins führt.



Eigenschaften der Hefe 1895C

Vorteile:

- Keine Gärstockungen!!!
- Eignet sich zur Vergärung aller Rebsorten
- Keine Beeinträchtigung der Rebsorten typischen Aromen
- Verhindern und Kurieren von Gärstockungen, die als Ursache ein Glukose-Fruktose Verhältnis kleiner als 0.1 aufweisen
- Sehr gute gleichmässige Gäreigenschaften ohne unerwünschten Restzucker
- Überdurchschnittlich geringe Schaumbildung
- Hohe Temperaturtoleranz
- Hohe Osmotoleranz
- Geringe Biomasse (5'000 Liter ergeben zwischen 40 bis 60 Liter Hefe)
- Überdurchschnittlich geringe Essigsäurebildung (0.1 bis 0.3 g/L)
- Geringe – wenn überhaupt - Tendenz zur Bockser (H₂S) Bildung
- Braucht bei normal gesunden Traubengut keine Nährstoffe
- Überdurchschnittlich geringe SO₂ Bildung keine Probleme beim biologischen Säureabbau
- Sehr gute Weinalterung bei Weiss- und Rotweinen

Nachteile:

- Die Weinbereitung muss mit 1'000 kg der Hefe 1895C für die Weinernte im Herbst 2013 auskommen www.swisswineyeast.ch



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

„Ist Hefeernährung eine absolute Notwendigkeit für eine optimale Weinqualität?“

NEIN

Prof. Dr. Jürg Gafner
Agroscope in Wädenswil
Schloss, Postfach 185
CH-8820 Wädenswil, Schweiz
E-Mail: juerg.gafner@agroscope.admin.ch

20. August 2014

www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt



Danksagung:

Dr. Martin Schütz (sel.)
Petra Hoffmann-Boller
Yvo Dürr



Dr. Naomi Azur Porret
Patrick Corerth

Dr. Heidi Klara Horsch
Dr. Klaus Alfred Sütterlin



Prof. Dr. Florian Bauer
Prof. Dr. Maren Scharfenberger-Schmeer
Monika Volkan

Susanna Lattmann
Claudia Michel

Dr. Christian Weikert
Dr. David Drissner



Roland Bill
Manuela Oettli
Rolf Zimmermann

... und viele Keltereien die an unsere
Ideen festhalten!!!

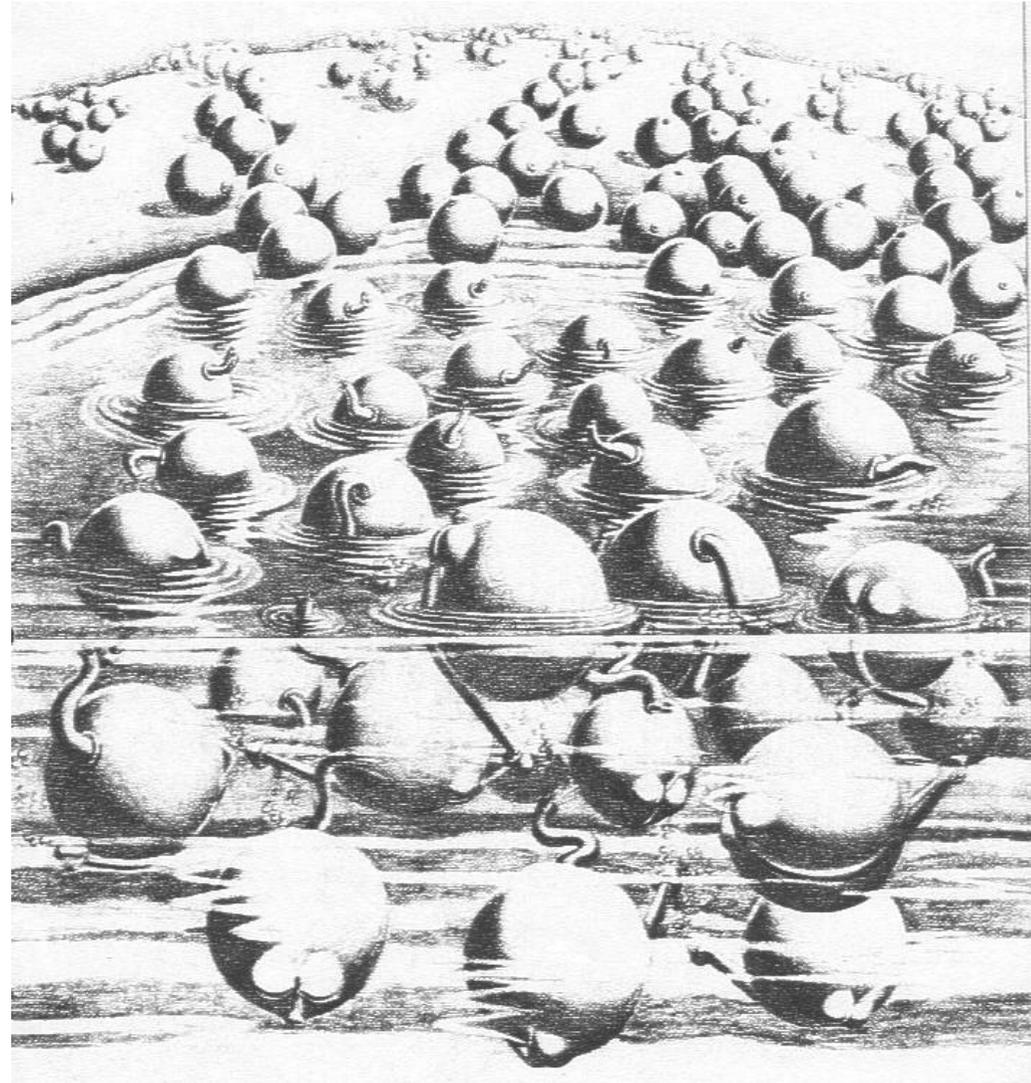


Wie man sich die Hefevergahrung früher vorstellte...

Ein Ausschnitt aus den Annalen der Chemie, Band 29, Jahrgang 1839 von den Autoren Friedrich Wuhler und Justus von Liebig:

"Mit Wasser zerteilte Bierhefe löst sich in unendlich kleine Kügelchen auf. Bringt man diese Kügelchen in Zuckerwasser, so entwickeln sich daraus kleine Tiere. Sie besitzen eine Art Saugrüssel, mit dem sie den Zucker aus der Auflösung verschlucken. Die Verdauung ist sogleich und aufs Bestimmteste an der erfolgenden Ausleerung von Exkrementen zu erkennen. Sie entleeren aus dem Darmkanal Weingeist und aus den Harnorganen Kohlensäure. So sieht man also aus dem Anus dieser Tiere unaufhörlich eine spezifisch leichtere Flüssigkeit in die Höhe steigen und aus ihren enorm grossen Genitalien spritzt in sehr kurzen Zwischenräumen ein Strom von Kohlensäure."

Eine Mikroskopische Aufnahme der Hefetatigkeit, so wie es sich die Autoren vorstellten





Hefepopulation im Traubensaft (%) – eine Herausforderung für alle Kellermeister

Saccharomyces cerevisiae (0.3 – 3.0)

Hanseniaspora uvarum (50.9 – 89.1)

Metschnikowia pulcherima (0.5 – 2.7)

Rhodotorula (0 – 26.1)

Candida glabrata (4.0 – 7.2)

Zygosaccharomyces bailii (1.0 – 3.9)

Candida zeylanoides (1.0 – 2.3)

Debaryomyces (0.6 – 2.1)

Pichia kluveri (0.4 – 1.4)

Candida stellata (0.5 – 0.9)

Lipomyces (0 – 0.5)

Brettanomyces bruxellensis (0 – 0.4)

Hyphopichia butonii (0 – 0.3)

Kluyveromyces (0.2 – 0.2)

Williopsis sat. (0 – 0.2)

Kryptocokkus (0 – 0.2)

andere Saccharomyceten (0.1 – 0.1)

unidentifizierte Hefen (0.1 – 0.2)