

**Auszug von der Veröffentlichung in „rebe & wein Nr. 8, Seite 13 bis 17, 2008“.
Die ausführliche Darstellung der mikrobiologischen Befunde finden Sie in der
angegebenen Literatur. Weitergehende Informationen bei J. V. Herrmann.**

Sauerstoff – ein weitgehend unbeachteter Hefe-“Nährstoff“?

Josef V. Herrmann, Erna Schindler, Christine Maier, Martin Geßner und Rudolf Miltenberger

Die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* ist „fakultativ anaerob“. Dies bedeutet, dass sie in Ausnahmefällen zwar auch ohne Sauerstoff leben kann, dann aber in ihrer Vitalität und Vermehrungsfähigkeit stark eingeschränkt ist. Insofern ist die Gärung für die Hefe ein physiologischer Ausnahmezustand, den sie umso besser und länger überleben kann, als sie vorher gut mit Sauerstoff versorgt war. Die vorliegende Arbeit berichtet über Erfahrungen mit der Hefebelüftung und ihren Auswirkungen auf die Vitalität der Hefe während der Gärung.

Die Wein-Hefe *Saccharomyces cerevisiae* liebt Sauerstoff!

Dies ist häufig für Winzer eine sehr befremdliche Feststellung. Kennen sie doch ihre wichtigste önologische Partnerin zumeist nur in der Weise, dass sie diese vielleicht noch mit einem Schneebesen anrühren, dann aber bis zum Wiedersehen beim Abstich in den Most versenken und den Tank oder das Fass sicherheitshalber mit einem Gärspond luftdicht verschließen. Dabei wird völlig verkannt, dass die Hefen natürlicherweise, und aus menschlicher Sichtweise wohl auch „am liebsten“, leicht zuckerhaltige Substrate, wie zum Beispiel die „mürbe“ Beerenhaut einer hochreifen Beere besiedeln und dort – ganz einfach – atmen. Das heißt, sie bauen mit Hilfe des Sauerstoffes der Luft den Zucker aus der Beere vollständig zu Kohlendioxid und Wasser ab und erreichen damit die maximal mögliche Energieausbeute. Diese Energie wird für den „Betriebsstoffwechsel“ und den „Baustoffwechsel“ der Hefezelle benötigt, um die Lebensfunktionen und vor allem die Vermehrung durch Zellneubildung sicherzustellen. In einer solchen Situation hat die Hefe keinen Anlass Äthanol („Alkohol“) zu bilden.

Ganz anders die Situation in einem Most! Durch die hohe Zuckerkonzentration muss sich die Stoffwechselstrategie der Hefezelle fundamental ändern. Der Abbau des Zuckers endet mit sehr reaktiven Wasserstoff-Ionen, die mit Hilfe des Sauerstoffs der Luft zu Wasser oxidiert und damit „entgiftet“ werden. Das für diese Reaktion maßgebliche Enzym Cytochromoxidase wird jedoch schon durch sehr geringe Zuckermengen ab 0,1 g/l im Substrat gehemmt (Crabtree-Effekt). Damit kann die sehr energiereiche sogenannte „Endoxidation“ nicht mehr erfolgen. Der Zuckerabbau stoppt auf „halbem Wege“ und die Hefezelle bildet, quasi als Ausweg, das noch sehr energiereiche Endprodukt Äthanol. Auch wenn die Hefe mit dieser sogenannten alkoholischen Gärung nur einen Bruchteil der eigentlich verfügbaren Energie aus dem Zucker nutzen kann, so sichert dieser Stoffwechsel-Kunstgriff das Überleben der Hefe in einer für sie völlig unwirtlichen Umgebung. Die hohe Affinität der Hefen zu Sauerstoff wird auch darin deutlich, dass sie, trotz Crabtree-Effekt, die Atmung pa-

parallel zur Gärung solange betreiben, wie sie über Sauerstoff verfügen. Man spricht deswegen auch von einer „aeroben Gärung“. Zu ihrer Vermehrung ist die Hefe auf eine optimale Energieausbeute und damit auf das Vorhandensein von Sauerstoff im Most angewiesen. Demnach sind die eingesäten Hefezellen für ihre Vermehrung über drei bis vier Zellteilungszyklen bis zu der für die Gärung notwendigen Zellzahl von mindestens 10^7 /ml auf den noch sauerstoffreicheren Most vor Beginn der eigentlichen Gärung angewiesen.

Die Hefe ist während der Gärung regelrecht im Dauerstress. Einerseits wegen der hohen Zuckerkonzentration zu Beginn und andererseits wegen des steigenden Alkoholgehaltes während der Gärung. Je höher die Zahl und die Fitness der Hefezellen zu Beginn der Gärung, desto rascher, vollständiger und mikrobiologisch stabiler verläuft der Gärprozess. Mit dem Zusatz von Nährstoffen, Vitaminen und Heferindepriparaten in den unterschiedlichsten Formen versuchen die Winzer die Hefen dabei bestmöglich zu unterstützen bzw. Unwägbarkeiten vorzubeugen.

Sauerstoff, ein Vitalstoff - auch für die Hefe!

Die Bedeutung des Sauerstoffs für die Vitalität und die Leistungsfähigkeit der Hefe wird häufig außer Acht gelassen. Denn Sauerstoff ist nicht nur für die Vermehrung der Hefezellen unabdingbar, sondern fördert durch die bessere Energieversorgung der Zellen auch die Nutzung der Stickstoff-Quellen. Sauerstoff ist zudem notwendig für die Synthese von Fettsäuren und Sterinen, die essentielle Bestandteile der Plasmamembranen sind. Funktionsfähige Membranen sichern den geregelten Stoffaustausch innerhalb der Hefezelle wie auch mit der Umgebung und sind damit gerade auch bei osmotischem Stress infolge hoher Zucker- oder Alkoholkonzentrationen für die Hefezelle lebensnotwendig.

Die Belüftung in den ersten Stadien der Gärung hat vorteilhafte Auswirkungen auf die Vitalität und die Leistungsfähigkeit der Hefe und führt zur Verkürzung der Angärphase und zur Erhöhung der Gärintensität. Dies ist in der Weinbereitung seit langem bekannt. In der Bierbrauerei ist die Hefebelüftung ein Standardverfahren zur Sicherstellung der Hefequalität geworden.

Unsere Erfahrungen mit der Hefebelüftung

Unseren Untersuchungen im Jahr 2006 lagen die Fragestellungen zu Grunde, wie sich die Belüftung des Hefeansatzes und der Angärphase auf die

- Verbesserung des Gärverhaltens von Trockenreinzuchthefen
- in stickstoffarmen und gleichzeitigen hochrädigen Mosten auswirkt und
- welche mikrobiologischen Effekte dabei gegebenenfalls beobachtet werden können.

Material und Methoden

Most

Der für die Untersuchungen verwendete 2006er Most der Rebsorte Kerner aus der Lage Thüngersheimer Scharlachberg hatte folgende analytische Kennwerte

Mostgewicht (°Oe)	95
-------------------	----

Gesamtsäure (g/l)	7,6
pH-Wert	3,2
Weinsäure (g/l)	6,1
Äpfelsäure (g/l)	3,9
YANC (mg/l)	270
- Ammonium (mg/l)	110
- NOPA (mg/l)	160

Der Most wurde nach dem Pressen zur Vorklärung mit pektolytischen Enzymen versetzt und nach der Sedimentation homogen auf 300 l Edelstahltanks verteilt, die mit jeweils 270 Liter Most befüllt wurden und im Keller bei ca. 15 °C Raumtemperatur lagerten (vgl. Abb. 2).

Trockenreinzuchthefer-Präparate

Um die immer wieder hervorgehobenen positiven Auswirkungen der Belüftung auf die Verbesserung der Gäraktivität von Hefen darstellen zu können, wurden Trockenreinzuchtheferen mit bekanntermaßen moderater Gärstärke eingesetzt

- Lalvin W
- Fermiblanc Arom
- Oenoferm Tipico

Hefevermehrung, Hefebelüftung

Die Verfahrensweise wurde einerseits an die sogenannte Hefeherführung in den Bierbrauereien angelehnt und andererseits mit Geräten durchgeführt, die in jedem Keller zur Verfügung stehen.

Nachdem die Moste am 06.10.2006 in die Edelstahltanks ausgelegt waren, wurden für die Belüftung gemäß Versuchsaufbau (vgl. Abb. 2), von 3 definierten Tanks jeweils 50 l entnommen, in 100 l Bottiche überführt und mit den Trockenreinzuchthefer-Präparaten beimpft. In der Abbildung 1 ist das Schema der Revitalisierung der Trockenreinzuchthefer, des Hefeansatzes und der Belüftung dargestellt. Die beimpften Moste in den Bottichen wurden im Verlauf des 06.10. und am Morgen des 07.10.2006 insgesamt fünfmal für jeweils 5 Minuten durch Umpumpen überschwallt. Das Belüftungsintervall wurde gemäß Angaben in der einschlägigen Brauliteratur gewählt. Der Sauerstoffgehalt wurde dabei mit einem WTW Oxi 323 überwacht. Auch diese Ansätze wurden im Keller bei ca. 15°C Raumtemperatur gelagert.

Gärführung

Am Vormittag des 07.10.2006 wurden die belüfteten Gäransätze in die jeweiligen Gärtanks zurückgeführt und die übrigen nicht belüfteten Varianten mit den Trockenreinzuchtheferen beimpft. Die Gärung erfolgte bei einer Raumtemperatur von 15 °C. Der Gärverlauf wurde täglich refraktometrisch (Mostgewicht in °Oe) und durch Temperaturmessung kontrolliert.

Mikrobiologische Diagnostik

Die Proben für die mikrobiologische Diagnostik wurden an zwei Terminen entnommen. Aus dem Ausgangsmost am 06.10.2006 und am 08.10.2006, einen Tag nach der Beimpfung bzw. der Rückführung der belüfteten Hefeansätze. Die mikrobiologische Diagnostik erfolgte nach kulturellen, physiologischen und molekularbiologischen Verfahren.

Ergebnisse und Diskussion

Belüftung

In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass das Überschwallen weitaus effektiver ist, Sauerstoff in Moste einzubringen als durch Rühren, Quirlen oder mit einer Fritte. Die Sauerstoffsättigung wurde rasch mit 7,5 bis 8,5 mg O₂/l Most erreicht. Der Sauerstoff wurde ebenso rasch absorbiert und die Werte sanken bald nach der Belüftung wieder auf die Ausgangsgehalte von 0,2 mg O₂/l zurück. Diese Erfahrungen decken sich auch mit den Angaben in der Brauliteratur. Positive Effekte des Überschwallens dürften darin gegeben sein, dass dabei CO₂ ausgetrieben wird, infolge der regelmäßigen Umwirbelung die Hefezellen in Schwebelage gehalten werden und sich der Kontakt der Hefezellen mit Nährstoffen und dem O₂ verbessert. Alles Effekte, die das Wachstum der Hefen begünstigen und fördern. In der Literatur wird im Zusammenhang mit der Belüftung häufig von Problemen mit einer zu starken Schaumentwicklung berichtet. Dies können wir mit dem Überschwallen nicht bestätigen.

Entwicklung der Mikroorganismenflora und der Hefen

Wie in der Abbildung 3 dargestellt, hatte der Ausgangsmost eine „normale“ Mikroorganismenflora, die von der Wildhefe *Kloeckera apiculata* und diversen Bakterien deutlich dominiert wurde. Die Pilze und die anderen Wildhefen waren nur von untergeordneter Bedeutung. Der mikrobiologische Status der Hefevarianten am 08.10.2006, einen Tag nach der Beimpfung aller Moste (vgl. Abb. 3), ist sehr aussagekräftig. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Varianten der drei Hefepräparate, in die am 07.10.2006 ein belüfteter Gäransatz eingebracht worden war, deutlich höhere Konzentrationen von *Saccharomyces cerevisiae* aufwiesen als die nicht belüfteten Varianten. In den belüfteten Varianten waren am 08.10. bei Lalvin W etwa 8 mal, bei Fermiblanc Arom etwa 15 mal und bei Oenoferm Typico etwa 20 mal mehr *S. cerevisiae* nachzuweisen als in den unbelüfteten Varianten. Unmittelbar nach der Beimpfung am 07.10.2007 waren in der belüfteten Variante bei Lalvin W 2 mal, bei Fermiblanc Arom 2,5 mal und bei Oenoferm Typico 5 mal mehr *S. cerevisiae* nachzuweisen als in den unbelüfteten. Damit bestätigt sich sehr deutlich, dass die Belüftung die Vitalität der Hefezellen erheblich verbesserte und in der Angärphase zu einem Entwicklungsvorsprung führt. Die *S. cerevisiae*-Hefen erreichen damit sehr rasch die Dominanz über die Wildhefen und die für den Gärbeginn notwendige Zellzahl von 10⁷/ml. Die dadurch bedingte hohe Konkurrenzfähigkeit der *S. cerevisiae* dürfte auch der Grund dafür sein, dass in keinem Fall die Förderung von Kahlhefen oder anderen sauerstoffbedürftigen Wildhefen zu erkennen war.

Gärverlauf

Wie in der Abbildung 4 dargestellt, erwiesen sich die belüfteten Varianten als gärstärker. Hier begannen die Gärungen früher und der Zuckerabbau war sehr viel rascher als in den nicht belüfteten Varianten. Aufgrund einer Gärstörung am 5. Tag kam es zu massiven Gärverzögerungen, so dass die Gärung am 17. Tag abgebrochen werden musste. Wie die Gärverläufe zeigen, konnten die belüfteten Varianten aber auch in dieser kritischen Phase ihren Leistungsvorsprung aufrechterhalten und wiesen beim Abbruch der Gärung deutlich geringere Restzuckeranteile in den Weinen auf (vgl. Abb. 4).

Zusammenfassung

Es hat sich gezeigt, dass mit sehr einfachen Maßnahmen, die in jedem Keller zur Verfügung stehen, durch periodisches kurzzeitiges Überschwallen mit einer Pumpe während der Angärphase soviel Sauerstoff in den Most eingebracht werden kann, dass dadurch die Hefen in ihrer Vitalität und Gärstärke entscheidend gefördert werden können. Die damit verbesserte Gärleistung konnte auch während einer Gärstörung dargestellt werden. Weiterführende, hier nicht dargestellte Untersuchungen konnten die positiven Wirkungen der Belüftung auf die Konstitution der Trockenreinzuchthefen bestätigen.