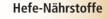
Abb. 1: Weinausbau in Glas-

ballons im Versuchskeller des Staatlichen Weinbauinstituts Freiburg





# Welche Nahrung braucht die Hefe?

Der Zusatz von Hefe-Nährstoffpräparaten zum Most ist weit verbreitet. Ein wichtiges Ziel ist dabei, die Stickstoff-Versorgung der Hefe zu verbessern. Diese hat nicht nur Einfluss auf den Gärverlauf und den Endvergärungsgrad, sondern auch auf die Ausbildung von Aromastoffen und generell auf

die Weinqualität. Im folgenden Artikel von Dr. Rainer Amann und Bettina Zimmermann, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg, geht es um die Fragen: In welcher Form kommt Stickstoff im Most vor? Welche Präparate darf man in welcher Menge zusetzen? Ist es der Hefe egal, wann und in welcher Form sie ihren Stickstoff bekommt?



Die Rebe bildet aus dem Nitrat Aminosäuren. Diese liegen in der Pflanze teilweise in freier Form vor, teilweise werden sie zu kürzeren oder längeren Ketten verknüpft. Kürzere Ketten nennt man Peptide, längere Proteine (Eiweiße), zu denen auch alle Enzyme zählen. Im Most ist der Gehalt an Aminosäuren höher als der Proteingehalt. Nitrat ist nur in geringen Konzentrationen von wenigen Milligramm pro Liter (mg/l) vorhanden.

Für ihre Vermehrung und Stoffwechselprozesse kann die Hefe Ammonium und freie Aminosäuren verwerten. Nicht jede Aminosäure nützt der Hefe gleich viel. Die mit Abstand wichtigste ist das Arginin, das rund ein

bis zwei Drittel des insgesamt von den Aminosäuren stammenden hefeverfügbaren Stickstoffs liefert. Ein Arginin-Molekül enthält gleich vier von der Hefe verwertbare Stickstoff-Atome, die meisten anderen Aminosäuren nur eins. Prolin, neben Arginin in vielen Mosten die in höchster Menge vorkommende Aminosäure, wird von der Hefe normalerweise gar nicht verwertet.

#### Welche Zusätze sind zugelassen?

Details zu den in der EU zugelassenen oenologischen Verfahren und Behandlungsstoffen sind in der seit 1. August 2009 gültigen Verordnung (EG) Nr. 606/2009 geregelt, die im Internet auf der Seite <a href="http://eur-lex.europa.eu">http://eur-lex.europa.eu</a> frei zugänglich ist. Bei den Hefenährstoffen brachte die neue Verordnung keine Änderungen. Erlaubt sind folgende Zusätze:

- Diammoniumphosphat (DAP), Diammoniumsulfat (DAS) oder eine Kombination beider Salze bis zu einem Grenzwert von 1 g pro l (100 g/hl). Bei der Sektbereitung dürfen für die zweite Gärung bis zu 0,3 g/l (30 g/hl) DAP oder DAS zugegeben werden, auch wenn bereits ein Zusatz zum Most erfolgte.
- *Ammoniumbisulfit* bis zu einem Grenzwert von 0,2 g/l (20 g/hl)
- Thiamin (= Vitamin B 1) maximal 0,6 mg/l (60 mg/hl)
- Heferindenzubereitungen (Hefezellwände) bis zu 0,4 g/l (40 g/hl)

Eingesetzt werden in Deutschland meistens DAP alleine, Mischungen aus DAP und Thiamin oder Kombipräparate mit DAP, Thiamin und Heferindenzubereitungen.

Die Höchstmenge von 1 g/l DAP liefert 212 mg/l Stickstoff in Form von Ammonium. Verwendet man Mischpräparate aus DAP und Thiamin, dann muss man das Mischungsverhältnis beachten. Sie sind teilweise so angesetzt, dass mit der Gabe von 0,5 g/l DAP bereits die zulässige Menge von 0,6 mg/l (60 mg/hl) Thiamin erreicht ist. Weiteres DAP muss dann in Reinform zugegeben werden, wenn man höhere Gaben für notwendig

Der Zusatz von Thiamin ist vor allem bei Mosten aus botrytisbelastetem Lesegut wichtig, weil der Botrytis-Pilz das in den Trauben enthaltene Thiamin für seinen Stoffwechsel bereits teilweise verbraucht hat.

Bei Verwendung von Ammoniumbisulfit wird der Most gleichzeitig mit Ammonium versorgt und geschwefelt. Bisulfit ist die Form, die nach Schwefelung im Most beziehungsweise Wein überwiegend vorliegt, egal ob diese mit flüssigem Schwefeldioxid [SO $_2$ ], Kaliumdisulfit [K $_2$ S $_2$ O $_5$ ] oder Ammoniumbisulfit [(NH $_4$ )HSO $_3$ ] erfolgt. Die maximal zulässige Menge von 0,2 g/l Ammoniumbisulfit entspricht 129 mg/l SO $_2$ . Die enthaltene Stickstoffmenge ist mit 28 mg/l N gering, was Ammoniumbisulfit als Hefenährstoff relativ uninteressant macht.



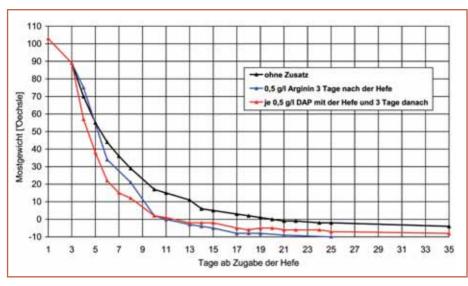


Abb. 2: Einfluss von Hefenährstoffen auf den Gärverlauf bei 2008er Kerner

## Was verbirgt sich hinter "Heferindenzubereitungen"?

Die Bezeichnung "Heferinden" gibt es im Deutschen eigentlich gar nicht. Aber irgendwann wurde der französische Begriff "écorces de levures" zu wörtlich übersetzt und hat sich seitdem – ausschließlich in der Oenologie – etabliert. Gemeint sind Hefezellwände und so steht es auch im englischsprachigen Text der Verordnung ("yeast cell walls"). Der kurzen Formulierung in der EU-Verordnung "Verwendung von Heferindenzubereitungen" steht eine große Menge unterschiedlicher Präparate gegenüber.

Dabei ist schwer einzuschätzen, wie sich die Produkte verschiedener Anbieter oder auch diverse Präparate eines einzelnen Herstellers unterscheiden. Die Herstellungsverfahren der Präparate sind in den Produktinformationen nicht näher beschrieben. Oft werden Hefen mit bestimmten Substanzen "gefüttert", die dann in den daraus hergestellten Präparaten enthalten sind und bei der Zugabe zum Most freigesetzt werden. So kann man den Most über diese Hefepräparate mit Substanzen versorgen, deren direkter Zusatz nicht zulässig ist.

Manche Präparate sollen die Reinzuchthefe schon bei der Rehydrierung fördern und werden ihr zugegeben, bevor diese in den Most kommt. Dazu gehören zum Beispiel Lalvin GoFerm (Begerow) und VitaDrive (Erbslöh). GoFerm ist nach Herstellerangaben ein "Hefenährstoff aus inaktiven Hefen, der Vitamine (z. B. Pantothenat, Biotin), Mineralstoffe (Magnesium, Zink, Mangan) und Aminosäuren enthält". Die meisten Hefepräparate werden jedoch dem Most zudosiert. Hierzu gehören zum Beispiel Maxaferm (Keller-Mannheim), Nutrivin (Schliessmann), SihaFerm Plus (Begerow) oder Vitamon Ultra (Erbslöh). Über die Hefezubereitung im Kombipräparat

Maxaferm schreibt Fa. Keller: "Der spezielle Hefezellwandkomplex ist Lieferant von assimilierbarem Stickstoff (Aminosäuren), Sterolen und langkettigen Fettsäuren, die die Hefen gegen Ende der Gärung stärken. Durch Bindung der  $C_8$ - $C_{12}$  Fettsäurehemmstoffe hat Maxaferm eine vorbeugende Wirkung gegen Gärstockungen."

Hinzu kommen noch speziell für den BSA angebotene Präparate wie SIHA Bactiferm (Begerow) oder BioStart Nutri (Erbslöh): "BioStart Nutri ist eine Mischung aus inaktivierten Hefekomponenten, reich an alpha-AminoStickstoff (Aminosäuren), Zellwand-Polysacchariden sowie Zellulose. Oenococcus oeniStämme können keinen anorganischen Ammonium-Stickstoff verwerten."

In allen drei zitierten Beschreibungen werden die Aminosäuren erwähnt. Die Hefe kann aus Ammonium Aminosäuren synthetisieren. Deshalb stellt sich die Frage, ob eine Aminosäuregabe gegenüber dem einfachen Zusatz von Ammonium Vorteile bringt oder unnötig ist. Um diese Frage zu beantworten, wurden am WBI im Herbst 2008 die Auswirkungen der Gabe von Arginin (weinrechtlich nicht zulässig) und von DAP zum Most verglichen.

### Arginin und DAP im Vergleich

Mit der Sorte Kerner wurde ein Gärversuch in 25 l-Glasballons durchgeführt. Kerner weist oft einen niedrigen N-Gehalt auf, was zum Teil Gärstockungen oder die Ausbildung einer Untypischen Alterungsnote (UTA) zur Folge hat. Der Most eignete sich dank des hohen Mostgewichtes (103° Oechsle) bei gleichzeitig relativ geringem Stickstoffgehalt (54 mg/l Ammonium und 103 mg/l NOPA-N) gut für einen Gärversuch. NOPA-N ist der hefeverfügbare Stickstoff aus Aminosäuren, wobei das Arginin mit dieser Methode nur zu 25 % – eins der vier N-Atome – erfasst wird. Verglichen wurde der

Gärverlauf ohne Zusatz, mit Zusatz von 0,5 g/l Arginin drei Tage nach der Hefe und mit gestaffelter Gabe der zulässigen Höchstmenge DAP (je 0,5 g/l mit der Hefe und drei Tage später).

In Abbildung 2 erkennt man, dass der Most ohne Zusatz am langsamsten vergor. Auch nach sieben Wochen enthielt der Wein bei 13,9 % vol. Alkohol noch 16 g/l vergärbaren Zucker, wie bei Gärstockungen üblich fast ausschließlich Fructose. Die gestaffelte Gabe der Höchstmenge an DAP (entspricht 212 mg/l N) reichte nicht aus, um eine komplette Vergärung zu erreichen. Immerhin gelang es damit, den Wein in den analytisch trockenen Bereich zu bringen (7 g/l Zucker bei 14,3 % vol.). Die Gabe von 0,5 g/l Arginin entspricht einer Stickstoffmenge von 162 mg/l, also weniger als bei der DAP-Variante.

Weil die Gesamtmenge erst drei Tage nach der Hefe zugegeben wurde, verlief die Gärung zunächst langsamer als bei der DAP-Variante. Der Effekt von Arginin war dann aber deutlich stärker als der von DAP. Nach gut drei Wochen war die Gärung bei 14,8 % vol. und einem konstanten Gehalt von 3 g/l vergärbarem Zucker beendet.

Dieser Versuch zeigt, dass es für die Hefe einen deutlichen Unterschied machen kann, ob sie den Stickstoff in Form von Ammonium oder der Aminosäure Arginin erhält. Der direkte Zusatz von Aminosäuren ist allerdings weinrechtlich nicht zulässig. Ihr Gehalt im Most kann nur durch die Verwendung von Hefezellwandpräparaten erhöht werden.







Tab. 1: Ammoniumgehalt in Mosten ohne Gärsalzgabe				
Most	Sorte	Ammonium (mg/l)		
Nr.		Tag 1	Tag 2	Tag 3
1	Weißburgunder	44	39	< 10
2	Weißburgunder	63	19	< 10
3	Spätburgunder	48	< 10	
4	Grauburgunder	60	< 10	
5	Cabernet Cubin	40	< 10	
6	Kerner	37	< 10	
7	Gutedel	36	< 10	
8	Riesling	80	< 10	
9	Kerner	37	< 10	
10	Weißburgunder	47	< 10	

Tag 1 = Tag der Hefegabe

#### Wie schnell schluckt die Hefe den Stickstoff?

In zehn Laborversuchen wurde der Stickstoffgehalt während und nach der Gärung verfolgt. Dazu wurden Moste bei Raumtemperatur in 1,5 l-Flaschen vergoren und regelmäßig Proben zur Messung von Ammonium und dem von Aminosäuren gelieferten NOPA-Stickstoff entnommen. Die angewandten enzymatischen Messverfahren sind in stillen Mosten sehr genau, in gärenden Mosten treten bei Wiederholungsmessungen Schwankungen bis zu zirka 10 % auf. Die Bestimmungsgrenze in gärenden Mosten liegt bei etwa 10 mg/l, auch für Ammonium- beziehungsweise NOPA-N-freie Moste ist nachfolgend als Messwert "unter 10 mg/l" (< 10 mg/l) angegeben. In allen zehn Mosten ohne Zugabe von DAP war das Ammonium spätestens zwei Tage nach der Hefegabe komplett aufgebraucht (s. Tab. 1). Der von Aminosäuren stammende Stickstoff wurde in sieben der zehn Moste komplett aufgebraucht. Bei diesen Mosten fiel der NOPA-Wert innerhalb von zwei bis acht Tagen unter 10 mg/l. Die Hefe verwertet Ammonium schneller als die Aminosäuren.

## Nährstoffgabe bei einem aminosäurereichen Weißburgunder

Bei einem Weißburgunder (Most Nr. 10, 93° Oechsle) wurden die fünf folgenden Varianten verglichen:

- ohne Zusatz
- 1 g/l DAP gleichzeitig mit der Hefe
- <br/>  $\,$  1 g/l DAP zwei Tage nach der Hefe
- 1 g/l Arginin mit der Hefe

Der hohe NOPA-Wert von 214 mg/l zeigt, dass der Most von Natur aus gut mit Aminosäuren versorgt war. Alle Varianten waren nach fünf bis sechs Tagen vollständig vergoren. Die Zusätze beschleunigten die Gärung minimal (DAP mit der Hefe) bis gar nicht (DAP zwei Tage nach der Hefe), eine Gärförderung erwies sich hier als unnötig. Beim Zusatz des DAP zwei Tage nach Hefegabe war die Gärung bereits weit fortgeschritten (26° Oe bei der Variante mit gestaffelter Gabe, 30° Oechsle bei der Variante 1 g/l DAP zwei Tage nach der Hefe). Vollständig durchgegorene Weine haben Mostgewichte von -3 bis -10° Oe, das heißt ihre Dichte ist geringer als die von Wasser. 0° Oe entsprechen einer relativen Dichte von 1,000 (Dichte des gärenden Mostes = Dichte von Wasser). Der Weißburgunder hatte am Ende der Gärung -7° Oechsle (rel. Dichte 0,993).

Deutliche Unterschiede gab es beim Ammoniumgehalt im durchgegorenen Wein (s. Abb. 3). Im Most ohne Zusatz sowie im Most mit Arginingabe war das Ammonium nach einem Tag komplett verschwunden. Die Gabe von 1 g/l Ammonium vor der Gärung erhöhte den Gehalt von 47 auf 307 mg/l. Die Gehalte sind hierbei nicht als N, sondern als NH<sub>3</sub> (Ammoniak) angegeben. 1 g/l DAP entspricht dabei 257 mg/l NH<sub>3</sub>. Die gemessene

Zunahme von 260 mg/l stimmt somit sehr gut mit dem berechneten Wert überein. Dieser sehr hohe Gehalt sank innerhalb von zwei Tagen auf 35 mg/l und blieb dann konstant.

Die Gabe von 1 g DAP zwei Tage nach der Hefe führte zu einem Ammoniumgehalt von zirka 220 mg/l, der sich im Rahmen der Analysengenauigkeit nicht mehr änderte. Das während der Gärung zugegebene DAP blieb bei diesem aminosäurereichen Most also völlig ungenutzt! Bei gestaffelter Gabe von 2 x 0,5 g/l Ammonium erhöhte sich der Ammoniumgehalt durch die zweite Gabe auf 165 mg/l und blieb dann ebenfalls konstant. Die erste Gabe war komplett aufgebraucht worden. Das ist allerdings in Abbildung 3 nicht erkennbar, weil für den 23.10. der Gehalt nach Zugabe des DAP eingetragen ist.

Abbildung 4 zeigt den Verlauf der NOPA-Werte für die fünf Weißburgunder-Varianten. In der Variante ohne Zusatz sank der Wert von 214 mg/l auf etwa 50 mg/l und änderte sich dann bis zum Ende der Gärung nicht mehr.

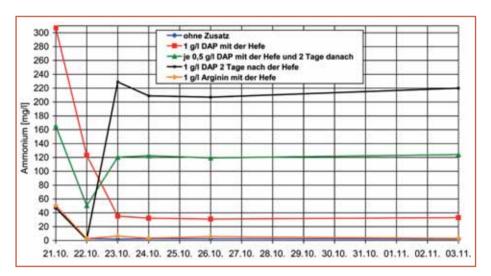


Abb. 3: Ammoniumgehalt bei 2008er Weißburgunder mit und ohne Nährstoff-Zusatz

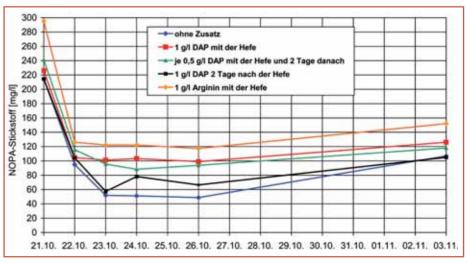


Abb. 4: NOPA-Stickstoff bei 2008er Weißburgunder mit und ohne Nährstoff-Zusatz





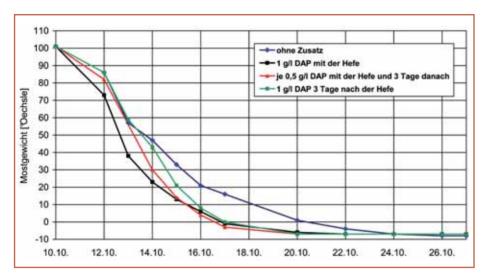


Abb. 5: Gärverlauf bei 2008er Kerner mit und ohne DAP-Zusatz

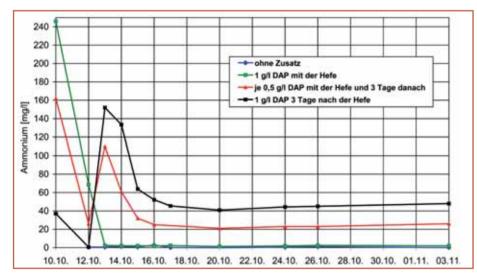


Abb. 6: Ammoniumgehalt bei 2008er Kerner mit und ohne DAP-Zusatz

1 g Arginin liefert 324 mg/l hefeverfügbaren Stickstoff. Weil aber die NOPA-Methode nur eins der vier Stickstoffatome des Arginins erfasst (siehe oben), erhöhte sich der NOPA-Wert in der Argininvariante nur um 81 mg/l (von 214 auf 295 mg/l) und sank innerhalb eines Tages auf einen konstanten Wert von rund 120 mg/l ab.

Ganz "blind" für Ammonium ist die NOPA-Messung nicht. Deshalb erhöht sich auch der NOPA-Wert geringfügig, wenn man große Mengen Ammonium zugibt. Er stieg von 214 auf 226 (0,5 g/l DAP mit der Hefe) beziehungsweise 241 mg/l (1 g/l DAP mit der Hefe) an. Am Ende der Gärung (26. bis 27.10.) war der NOPA-Wert in allen Varianten mit Nährstoffgabe höher als in der Variante ohne Zusatz. Die Hefe nutzt das zugegebene Ammonium als bevorzugte Stickstoffquelle und benötigt deshalb weniger Aminosäuren. Die Variante mit Gabe von 1 g/l DAP zwei Tage nach der Reinzuchthefe (am 24.10.) enthielt nicht mehr

Aminosäuren als die Variante ohne Zusatz. Hier war es nur der Ammoniumzusatz, der zu einer Erhöhung des NOPA-Wertes führte.

Bei allen Varianten erhöhte sich der NOPA-Wert nach Absinken der Hefe deutlich, wie die Messwerte vom 3.11., etwa eine Woche nach Gärende, zeigen. Dies war auch in allen anderen Laborversuchen festzustellen und kann auf die Autolyse der abgestorbenen Hefezellen zurückgeführt werden. Allerdings standen die Weine nach der Gärung unter stark oxidativen Bedingungen in nicht vollen Flaschen (sensorische Untersuchungen waren ja nicht geplant und spundvoll halten hätte nach jeder Probennahme eine Umfüllung erfordert). Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob ein solcher Anstieg der NOPA-Werte auch in spundvollen Gebinden zu beobachten ist.

#### DAP-Gabe bei einem nährstoffarmen Kerner

Bei einem Kerner (Most 9, 101° Oechsle) mit niedrigem Aminosäure- und Ammoniumge-

halt (NOPA 86 mg/l, Ammonium 37 mg/l) wurde ein ähnlich aufgebauter Laborversuch in 1,5 l-Flaschen durchgeführt, allerdings ohne Arginin-Variante:

- ohne Zusatz
- 1 g/l DAP gleichzeitig mit der Hefe
- je 0,5 g/l DAP mit der Hefe und drei Tage später
- 1 g/l DAP drei Tage nach der Hefe Abbildung 5 zeigt, dass die Gärung durch die DAP-Gabe stark beschleunigt wurde. Ohne DAP war der Most nach 17 Tagen vergoren, mit DAP nach zehn bis elf Tagen. Der Zeitpunkt des Zusatzes hatte auf die Gärdauer keinen Einfluss, Der Most mit DAP-Gabe drei Tage nach der Hefe holte den Most mit simultaner Gabe von DAP und Hefe ein. Die Ammoniummessungen (Abb. 6) zeigten deutliche Unterschiede zum Weißburgunder-Versuch. Von dem mit der Hefe zugesetzten DAP war nach drei Tagen nichts mehr übrig. Auch das drei Tage nach der Hefe gegebene Gärsalz wurde zu einem großen Teil verwertet. Es blieben nur etwa 25 mg/l (gestaffelte Gabe) beziehungsweise zirka 45 mg/l (Gabe von 1 g/l DAP am 13.10.) Ammonium übrig. In einem genau gleich aufgebauten Versuch mit einem Riesling (90° Oechsle, 80 mg/l Ammonium, NOPA 107 mg/l) entsprachen die Ergebnisse eher denen des Weißburgunder-Versuchs.

#### Zusammenfassung

Im Kleinausbau (251-Glasballons) und in Laborversuchen (1,51-Flaschen) wurde der Einfluss von Hefenährstoffen auf den Gärverlauf untersucht. In einem Versuch mit einem nährstoffarmen Kerner brachte die Gabe der Aminosäure Arginin eine schnellere Gärung und einen niedrigeren Restzuckergehalt als ein DAP-Zusatz. Der direkte Zusatz von Aminosäuren ist allerdings weinrechtlich verboten, sie können nur über Hefezellwandpräparate zugeführt werden.

In drei Versuchen wurden ein Kerner (niedriger Aminosäure- und Ammoniumgehalt), ein Riesling (mäßig mit hefeverfügbarem Stickstoff versorgt) und ein Weißburgunder (hoher Aminosäuregehalt, wenig Ammonium) mit der zulässigen Höchstmenge an DAP vergoren. Ob die Gabe mit der Hefe, zwei bis drei Tage nach der Hefe oder gestaffelt erfolgte, hatte bei diesen Versuchen keinen oder nur minimalen Einfluss auf die Gärdauer und den Endvergärungsgrad. DAP-Gaben während der Gärung führten teils zu sehr hohen Ammoniumgehalten im Wein. Bei guter Stickstoffversorgung blieb das während der Gärung zugegebene DAP komplett unverwertet. Die Empfehlung, höhere DAP-Dosagen immer gestaffelt zu geben, gilt aber weiterhin, weil sich das bei in der Literatur beschriebenen Untersuchungen teilweise als vorteilhaft erwies. Die Verwendung der Höchstmenge von 1 g/l DAP ist höchstens bei sehr nährstoffarmen Mosten sinnvoll.



