

## Böckserbildung verschiedener Hefen

*Böckser sind ein seriöses Problem in der Kellerwirtschaft. Sie entstehen durch Hefen bei der Vergärung mit Stickstoff unversorgter Moste. Die Veranlagung des eingesetzten Hefestamms spielt dabei eine erhebliche Rolle. Volker Schneider und Markus Teschke, Önologisches Institut in Bingen, haben 18 der am meist umgesetzten Reinzuchthefer auf ihre Neigung zur Böckserbildung untersucht.*

Böckser zählen zu den häufigsten Weinfehlern und sind in der Tat nichts ungewöhnliches. Sie sind auf das Vorliegen übelriechender, flüchtiger Schwefel (S)-Verbindungen zurückzuführen. Seit mittelfristige Klimaveränderungen bei nahezu unverändert hohen Erträgen zu einer Verarmung der Moste an hefeverwertbarem Stickstoff geführt haben, ist ihre Verbreitung epidemieartig gestiegen. In einzelnen Betrieben konnten bis zu 100 % der Gebinde als mit Böckser befallen identifiziert werden. In vielen Fällen sind sie erst lange nach der Gärung oder im bereits abgefüllten Wein erstmalig wahrnehmbar.

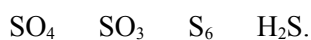
Entgegen einer immer noch weit verbreiteten Meinung ist ihre Behandlung durch Belüftung in den wenigsten Fällen erfolgreich. Die Hoffnung auf ein selbständiges Verschwinden des Böckers oder gar auf einen positiven Beitrag zum Weinroma in einer späteren Phase grenzt an Wunschdenken. Der Einsatz von Kupfersulfat wird somit zwingend. Übersteigt das damit eingebrachte Kupfer die Stabilitätsgrenze, wird eine Blauschönung unumgänglich. Ihre Durchführung setzt wiederum das Vorliegen entsprechender Mengen von Eisen voraus. Viele Böckser bilden sich wieder zurück, wenn zwischen der Zugabe von Kupfersulfat und der nachträglichen Blauschönung nicht eine zusätzliche Zwischenfiltration durchgeführt wird. Wird eine rechtzeitige Behandlung versäumt, kommt es durch chemische Folgereaktionen zu einem Abhocken des Böckers. Abgehockte Böckser sprechen auf Schönung nicht mehr an und können nur noch mittels physikalischer Verfahren entfernt werden (1, 2, 3, 4). Somit kann die Entfernung von Böcksern sehr strapaziöse und zeitaufwendige Behandlungen erfordern.

### Primärsubstanz Schwefelwasserstoff

Es ist naheliegend, diese kurativen Maßnahmen durch solche präventiver Natur zu ersetzen mit dem Ziel, die Bildung von Böcksern zu vermeiden. Dazu kann man bei dem Gärmedium ansetzen, dessen Unterversorgung die Hefe zur Bildung von Böcksern anreizt, oder bei der Hefe, die auf die defizitäre Mostzusammensetzung mit Böckser antwortet.

Schwefelwasserstoff ( $H_2S$ ) mit seinem bekannten Geruch nach faulen Eiern ist die zentrale Ausgangssubstanz von Böcksern. Während der Gärung ist es die mengenmäßig dominierende aller flüchtigen S-Verbindungen. Durch seine Reaktion mit anderen Weininhaltsstoffen entstehen während der Lagerung zahlreiche andere flüchtige S-Verbindungen wie Merkaptane, Sulfide und Disulfide, die Gerüche nach brennenden Streichhölzern, verbranntem Gummi, gekochtem Kohl, Zwiebeln, Fleisch und Knoblauch hervorrufen (5, 6, 7, 8, 9). Dass die Ausgangssubstanz  $H_2S$  und einige ihrer Folgeprodukte während oder kurz nach der alkoholischen Gärung durch die Hefe gebildet werden, geht aus der banalen Beobachtung hervor, dass das Hefegeläger eines böcksernden Weins stärker riecht als der überstehende geklärte Wein.  $H_2S$  wird durch die Hefe auf zwei unterschiedlichen Wegen gebildet:

a) Ausgangsprodukte können alle S-Verbindungen sein, deren Oxidationsstufe höher als die des  $H_2S$  ist: Sulfat, Sulfit und elementarer Schwefel. Da die Gärung ein reduktiver Vorgang ist, unterliegt auch der S-Stoffwechsel der Hefe den Bedingungen der Reduktion gemäß dem Schema



Dieser Bildungsweg hat an Bedeutung verloren, weil die Maßnahmen moderner Vinifikation elementaren Schwefel und schweflige Säure als Vorläuferstufen weitgehend ausschließen. Scharfe Mostvorklärung eliminiert Rückstände elementaren Schwefels, während auf eine Mostschwefelung meist verzichtet wird.

b) Die Hefe bildet  $H_2S$ , wenn ihr S-Stoffwechsel durch einen Mangel an hefeverwertbarem Stickstoff (FAN) gestört ist. Zum Aufbau ihrer Biomasse bedient sie sich leicht assimilierbarer N-Verbindungen, d. h. Ammonium und Alpha-Aminosäuren. Liegen diese im Mangel vor, gewinnt die Hefe zusätzlichen Stickstoff durch Abbau von Eiweiß. Dabei fallen S-haltige Aminosäuren an, bei deren Verwertung  $H_2S$  als Rückstand verbleibt. Mangel an bestimmten Aminosäuren führt auch zu einer verstärkten Aufnahme

von Sulfat in die Hefezellen, wo es zu  $H_2S$  reduziert wird. Unter vergleichbaren Bedingungen ist die  $H_2S$ -Bildung um so höher, je geringer die Versorgung des Mostes mit FAN (5, 6, 9, 10).

### **Messung von $H_2S$**

Die Fähigkeit zur Synthese von  $H_2S$  ist an die genetische Ausstattung des Hefestamms gebunden. Es gibt Stämme mit mehr und solche mit weniger Tendenz zur Bockserbildung und schließlich auch solche, die aufgrund eines Enzymdefektes grundsätzlich nicht dazu in der Lage sind. Es ist daher naheliegend, dass sich die verschiedenen auf dem Markt befindlichen Reinzuchthefer-Präparate in ihrer Neigung zur Bockserbildung unterscheiden.

Die Informationen, die die Industrie über die von ihr vertriebenen Hefepreparate zur Verfügung stellt, sind aus verständlichen Gründen ausschließlich positiver Art. Erkenntnisse über die Bockserlastigkeit werden den Anwendern vorenthalten. Deshalb wurden 18 der in Deutschland am meist vertriebenen Reinzuchtheferen auf ihre Bildung von  $H_2S$  in verschiedenen Gärmedien untersucht.

$H_2S$  reagiert mit Metallacetaten unter Bildung grau-schwarzer Metallsulfide. Zur Bestimmung des  $H_2S$  wurden mit Bleiacetat gefüllte, transparente Röhrchen auf die Gärgefäße aufgesetzt. Das Bleiacetat war auf einem Trägermaterial aufgebracht. In dem Maß, wie  $H_2S$  aus dem Gärgefäß entweicht, wird es durch das Bleiacetat abgefangen unter Bildung einer deutlich sichtbaren dunklen Verfärbung, die von unten nach oben fortschreitet. Die Höhe der Verfärbung ist eine lineare Funktion der  $H_2S$ -Menge. Nach vorhergehender Eichung der Röhrchen mit reinem  $H_2S$ -Gas ist es so möglich,  $H_2S$  in g/l zu quantifizieren. Es kann sowohl das während der Gärung entwichene als auch das nach der Gärung im Wein enthaltene  $H_2S$  bestimmt werden. Diese Technik wurde erfolgreich zum Studium der  $H_2S$ -Bildung in Abhängigkeit von der Hefe und der FAN-Versorgung in kalifornischen Mosten eingesetzt (11).

Als Gärmedien dienten zwei sterile Traubensäfte, deren Zusammensetzung in Tabelle 1 wiedergegeben ist. Zur Vermeidung von Gärstörungen mangels innerer Oberfläche wurde ein realistischer Trübungsgrad von 170 NTU für den roten Most bzw. 110 NTU für den weißen Most mittels Zugabe feingranuliertem PVPP eingestellt. PVPP bleibt während der Gärung leicht in Suspension; es ist ohne Einfluß auf die FAN-Zusammensetzung des Mostes oder den S-Stoffwechsel der Hefe. Von jedem der beiden Moste wurde ein Teil mit 30 g/hl Diammoniumphosphat (DAP, Gärsalz) versetzt. Für jede der 18 Hefen standen so vier Gäransätze zur Verfügung - ein roter und ein weißer Most jeweils mit und ohne Zusatz von Gärsalz. Die Hefen wurden vor der Beimpfung 15 Minuten lang in einem Most-Wasser-Gemisch (1:1) von 35°C rehydratisiert. Die Beimpfung erfolgte bei allen Mosten mit 20 g/hl. Die Gärung erfolgte nach Aufsetzen der Bleiacetat-Röhrchen bei 17-18 °C in Flaschen von 500 ml.

### **Unterschiede zwischen den Hefen**

Abbildung 1 zeigt die  $H_2S$ -Bildung in den beiden nicht mit Gärsalz versorgten Mosten in Abhängigkeit von der eingesetzten Hefe. Die Menge des während der Gärung gebildeten  $H_2S$  bewegte sich in einem weiten Bereich von 0 bis 89 g/l im gleichen Most. Der Faktor Hefe ist mehr als offensichtlich. Praktisch alle Hefen bildeten in dem weißen Most mehr  $H_2S$  als in dem roten Most. Trotzdem läßt sich eine eindeutige Grundtendenz ablesen. Sechs der 18 Hefen (E, F, H, J, L und R) zeigen eine ausgesprochene Bockserlastigkeit, fünf weitere (D, G, I, N und Q) weisen eine ähnliche Neigung auf niedrigerem Niveau auf. Daraus ergibt sich, dass die im Handel erhältlichen Hefen erhebliche Unterschiede in Hinblick auf die Bockserbildung aufweisen.

Nach der Vergärung wurden die erhaltenen Jungweine mit 100 mg/l  $SO_2$  aufgeschwefelt und sensorisch beurteilt. Fünf in der quantitativen deskriptiven Sensorik geschulte Prüfer bewerteten die Gärvarianten des weißen Mostes in Hinblick auf geruchlich wahrnehmbare Bockser anhand einer Intensitätsskala von 0 - 5 Punkten. Die Mittelwerte sind in Abbildung 2 dargestellt. Auch unter sensorischen Gesichtspunkten zeigen sich starke Unterschiede in der Bockserbildung der verschiedenen Hefen.

Mittels Korrelationsanalyse wurde ein eindeutiger Zusammenhang ( $r = 0,71$ ) zwischen der gebildeten  $H_2S$ -Menge und der geruchlichen Intensität der Bockser erkannt, der in Abbildung 3 dargestellt ist. Hefen mit keiner  $H_2S$ -Bildung liefern Weine, die frei von Bockser sind.

Über die  $H_2S$ -Synthese bei Spontangärungen ist nichts bekannt. Es ist zu erwarten, dass sie von der zur Dominanz kommenden betriebsspezifischen Hefeflora abhängt.

### **Einfluß von Gärnsalz**

Die Zugabe von Gärnsalz führt zur einer Erhöhung des für die Hefe verwertbaren Stickstoffs (FAN) in Form von Ammonium. Wie zu erwarten, verringert sich die gebildete H<sub>2</sub>S-Menge. Abbildung 4 stellt die Verhältnisse für die einzelnen Hefen dar. Der Effekt trat über alle Hefen hinweg auf, war aber im weißen Most mit seinem geringeren FAN-Gehalt stärker als im roten Most ausgeprägt (Tabelle 2).

Die zugesetzte Menge Gärnsalz reichte nicht aus, um die H<sub>2</sub>S-Bildung der stark böckserlastigen Hefen auf das durchschnittliche Maß zu reduzieren. Die gesetzlich zugelassene Höchstmenge von 30 g/hl DAP erhöht den FAN-Gehalt um 36 mg/l N. Diese Menge ist zu gering, um der Böckserbildung in Mosten mit starker N-Unterversorgung vorzubeugen.

### **Wechselwirkung Hefe-Most**

Durch Anwendung einer Faktorenanalyse auf das vorhandene Datenmaterial wurden zwei Faktoren, nämlich Most und Hefe, extrahiert, die von signifikantem Einfluß auf die H<sub>2</sub>S-Bildung sind (Tabelle 3). Die varianzanalytische Verrechnung des Datenmaterials mit den Mosten als unabhängige Variable ergab mit  $p = 0,019$  einen hochsignifikanten Einfluß der verwendeten Hefe. Böckserlastige Hefen manifestieren diese Eigenschaft in einem breiten Spektrum von Mosten, aber in Abhängigkeit von der N-Versorgung auf einem unterschiedlich hohen Niveau.

Weitere Untersuchungen der getesteten Hefen geben Aufschluß über die durch sie hervorgerufenen Veränderungen von Gesamtsäure und pH-Wert sowie über Durchgärvermögen, Bildung von SO<sub>2</sub> und SO<sub>2</sub>-bindenden Gärungsnebenprodukten.

### **Fazit**

Schwefelwasserstoff ist die primäre böckserverursachende Substanz, aus der sich weitere übelriechende flüchtige Schwefelverbindungen bis hin zum abgehockten Böckser entwickeln. Die während der Gärung gebildete Menge ist von der Hefe und der Stickstoffversorgung des Mostes abhängig. Sie steht in engem Zusammenhang mit der geruchlich wahrnehmbaren Intensität der Böckser im Jungwein. Die Unterschiede in der Böckserbildung zwischen den auf dem Markt befindlichen Hefepreparaten sind so stark, dass man zwischen brauchbaren und unbrauchbaren Hefen unterscheiden kann. Mittels der angewandten Screening-Methode können Hefen auf ihr Böckser-Bildungspotential getestet werden.

### **Literatur**

1. Schneider, V.: Böckser und ihre Tücken. Das Deutsche Weinmagazin, 6/1999, 28-29.
2. Schneider, V.: Böckser. Die Winzer-Zeitung, 12/1997, 26.
3. Schneider, V.: Böckser auf der Flasche. Die Winzer-Zeitung, 6/1999, 37.
4. Schneider, V.: Böckser - Ursachen und Beseitigung. Die Winzer-Zeitung, 7/1994, 25-28.
5. Thomas, C.S. et al.: The effect of elemental sulfur, yeast strain, and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. Am. J. Enol. Vitic. 44, 2 (1993), 211-215.
6. Giudici, P., Kunkee, R.E.: The effect of nitrogen deficiency and sulfur-containing amino acids on the reduction of sulfate to hydrogen sulfide by wine yeasts. Am. J. Enol. Vitic. 45, 1 (1994), 107-112.
7. Rauhut, D., Kürbel, H., Dittrich, H.H.: Sulfur compounds and their influence on wine quality. Die Wein-Wissenschaft 48 (1993), 214-218,
8. Rauhut, D., Kürbel, H.: Die Entstehung von H<sub>2</sub>S aus Netzschwefel-Rückständen während der Gärung und dessen Einfluß auf die Bildung von böckserverursachenden Metaboliten in Wein. Die Wein-Wissenschaft 49 (1994), 27-36.
9. Rauhut, D. et al.: Einfluß von Hefestämmen und deren Ernährung auf die Böckserbildung. In: 100 Jahre Hefereinzucht Geisenheim, Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Mikrobiologie und Biochemie, 1994, 38-55.

10. Park, S.K.: Production of volatile sulfur and thiol-containing compounds during fermentation using eight grape juices. Vortrag Jahrestagung American Society for Enology and Viticulture, Reno, Nev., Juni 1999.

11. Park, S.K.: A new technique to determine hydrogen sulfide in alcoholic fermentation. Vortrag Jahrestagung American Society for Enology and Viticulture, Reno, Nev., Juni 1999.

<b>Tabelle 1: Zusammensetzung der Moste</b>		
Most	rot	weiß
Mostgewicht, ° Oe	85	82
Zucker, g/l	198	190
pH	3,35	3,45
Gesamtsäure, g/l	7,0	6,6
FAN, mg/l N	224	187
Trübungsgrad (NTU)	170	110

<b>Tabelle 2: Verringerung des bei der Vergärung gebildeten H<sub>2</sub>S ( /l) durch Zusatz von 30 g/hl Gärnsalz zu zwei Mosten. Mittelwerte über 18 Hefen.</b>		
Most	weiß	rot
ohne Gärnsalz	21,15	9,14
mit Gärnsalz	7,03	6,99
Minderung H <sub>2</sub> S, %	- 66,8	- 23,5

<b>Tabelle 3: Ergebnisse der Faktorenanalyse. Faktorladungen nach Extraktion aus Hauptkomponenten. Markierte Ladungen &gt; 0,700.</b>		
Variable	Faktor 1	Faktor 2
Hefe	+ 0,2052	+ 0,9542 *
weißer Most ohne DAP	+ 0,9119 *	+ 0,0635
weißer Most mit DAP	+ 0,8423 *	+ 0,2209
roter Most ohne DAP	+ 0,8767 *	- 0,2582
roter Most mit DAP	+ 0,9038 *	- 0,2362
Erklärte Varianz	3,1687	1,0857
Anteil an Gesamtvarianz	0,6337	0,2171

Abb. 1: Bildung von Schwefelwasserstoff (H<sub>2</sub>S) während der Gärung von zwei Mosten in Abhängigkeit von der Hefe.

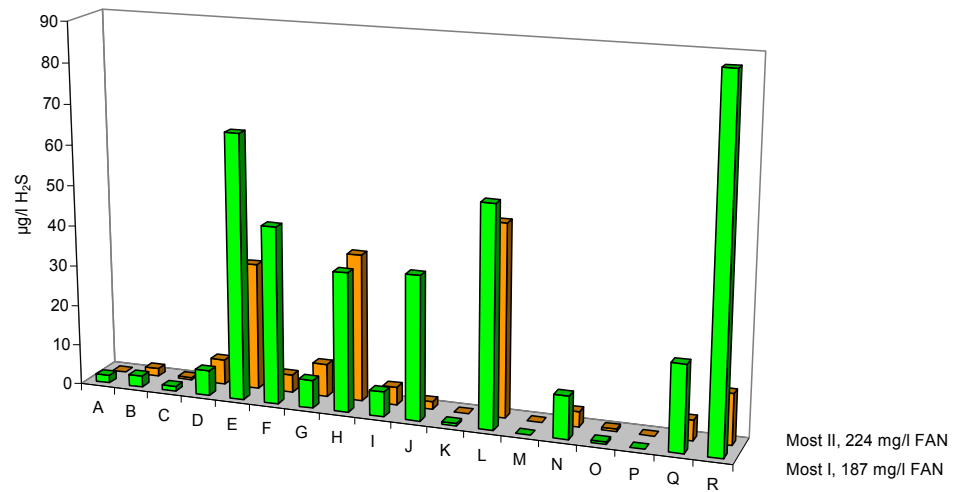


Abb. 2: Intensität (1-5) der geruchlichen Wahrnehmung von Bockser nach der Vergärung eines weißen Mostes (ohne DAP) mit 18 verschiedenen Hefen

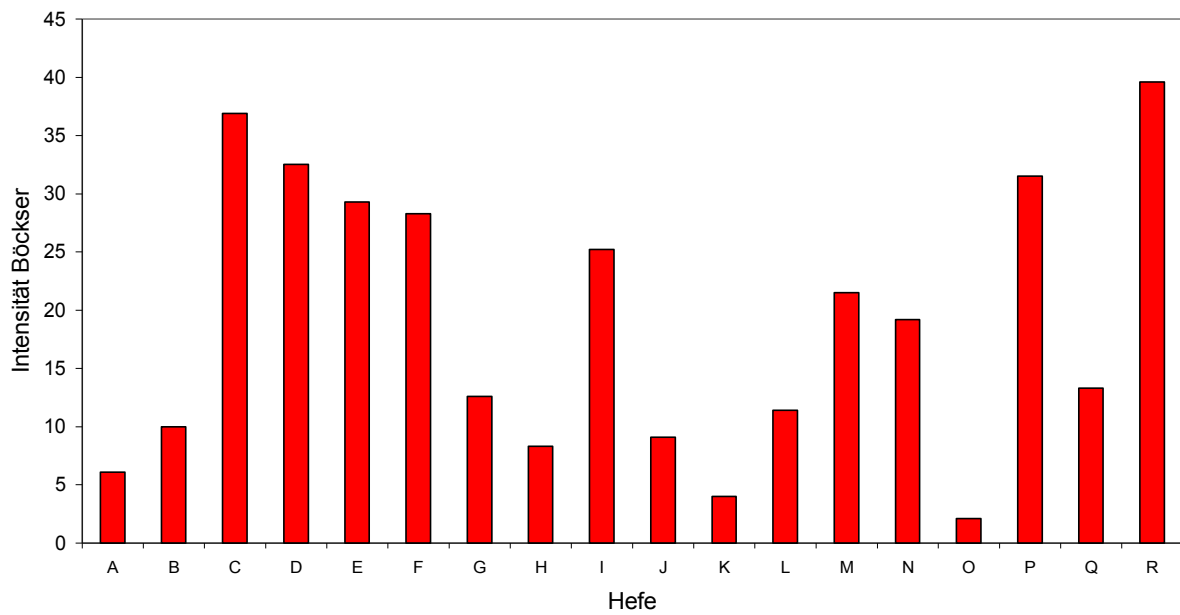


Abb. 4: Einfluss von Gärtsalz (30 g/hl DAP) auf die Bildung von H<sub>2</sub>S während der Gärung mit 18 verschiedenen Hefen. Mittelwerte von zwei Mosten. Hintere Reihe ohne Gärtsalz, vordere Reihe mit Gärtsalz.

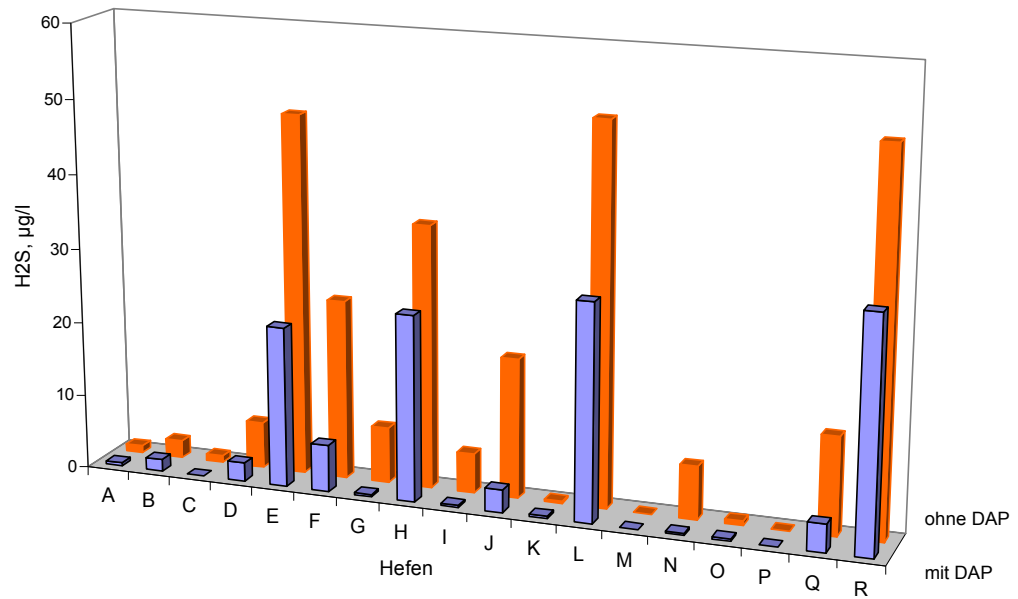


Abb. 3: Abhängigkeit der geruchlich wahrnehmbaren Intensität von Böcksern im Jungwein von der während der Gärung gebildeten H<sub>2</sub>S-Menge (µ/l) bei 18 verschiedenen Hefen in zwei Mosten.

