En ny malolaktisk bakteriestamme "Viniflora Sparta"

med høj surhedsresistens forbedrede aromaprofilen i for sur Orion-hvidvin

Af Carl-Henrik Brogren, VinoSigns.dk, henrik@brogren.dk og Nicolai Staugaard Hansen, Christian Hansen A/S, nicolaistaugaard@gmail.com

Introduktion

I kølige klimaområder er druemodning ofte forsinket og ufuldstændig med et højt indhold af æblesyre. Dette sænker pH-niveauet i saften, så der kræves enten malolaktisk gæring eller direkte afsyring. Ulempen ved en afsyring er fjernelsen af vinsyre, mens en malolaktisk gæring under pH = 3,2 ofte ikke lykkes. Formålet med denne undersøgelse er derfor at påvise, at en ny stamme af *Oenococcus Oeni*, Viniflora® Sparta™, der har en særlig høj tolerance over for lavt pH, kan initiere den malolaktisk gæring selv i en sur vin med en pH=2,9.

Style:	Lighter, refreshing whites	Full-bodied bold whites	Bright, fresh reds	Structured, medium-bodied reds	Big. bold. fruity and tannic reds
Varieties:	Riesling, Sauvignon Blanc	Chardonnay, Chenin Blanc	"Pinot Noir. Gamay, Sangiovese"	Cabernet Sauvignon, Merlot	Zinfandel, Syrah
TA, g/L (must):	8–9	6–8	7–9	6–8	5–7
pH (wine):	3.1–3.3	3.2–3.5	3.3–3.5	3.4–3.6	3.5–3.8
Brix (to predict alcohol):	20–22 (SG 1.083–1.092)	22–24 (SG 1.092–1.101)	22–24 (SG 1.092–1.101)	23–25 (SG 1.096–1.106)	24–27 (SG 1.101–1.115)
Tannin (bitterness, astringency):	Very low, no oak	Low, some oak possible	Low to medium, oak optional	Medium, oak helpful	Medium to high, oak esential
Sweetness, RS in g/100 mL:	0–0.5	0–0.2	0–0.4	<0.2	0.2–0.5
Flavor Components:	Citrus, spicy, floral notes	Stone fruit, honey, butter, melon	Red berries, cherries	Red and black fruit, brown baking spices	Lots of fruit, bramble, licorice
Color:	Very pale	Straw to golden	Bright red to purple	Purple with red og brick notes	Deep purple, bluish tinge

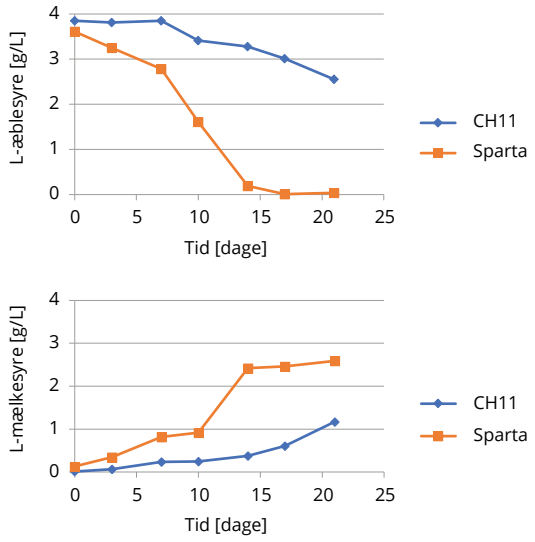
Tabel 1: *Vinbalance-skema, der illustrerer vintyperne i sødme, surhedsgrad og smagsegenskaber. Fra Winemaker Magazine, april-maj 2017, s. 36 (reference 1)*

Metoder og materialer

Undersøgelsen blev udført på Orion druesaft høstet og vinificeret fra vinmarken ved Bernstorff Slotshave i Gentofte, Danmark, i oktober 2017, et af de koldeste og mest fugtige efterår i mands minde. To lige store portioner af 25 L afstilket, hydropresset Orion most blev gæret til hvidvin i 4 uger. Ingen afsyring men en mindre chaptalisering blev udført ved gæringens start. Den endelige hvidvin havde en pH=2,9, for sur til en standard malolaktisk fermentering. Fire uger efter ved afslutningen af alkoholgæringen blev der tilsat den ene portion et parti Viniflora® CH11 bakterier, surhedsresistent ved pH=3,0, mens den anden tilsattes den nye Viniflora® Sparta™, resistent endog ved pH=2,9. Prøver blev indsamlet to gange om ugen i 3 uger og analyseret på WineScan (Foss) for indholdet af æblesyre og mælkesyre plus andre parametre (se Tabel 2).

Resultater

Viniflora® Sparta™-behandlingen gav en hurtig og fuldstændig fjernelse af æblesyre, mens Viniflora® CH11-stammen virkede langsommere og ikke afsluttede den malolaktisk gæring inden for forsøgsperioden på 3 uger. Til sammenligning blev en portion 25 L Solaris druesaft afsyret til pH=3,2 og derefter malolaktisk behandlet med Vinoferm® Malocid, som kun er aktiv ved pH>3,1.



Figur 1: *Tidsforløbet af en sekventiel malolaktisk gæring på Orion-hvidvin fra 2017 med de surheds-resistente Oenococus Oeni-stammer, Viniflora CH-11 og Viniflora Sparta™*

Figur 1 viser tidsforløbet ved den eksperimentelle malolaktiske fermentering. Det er en klar og signifikant forskel i det opnåede resultatet med de to udvalgte Viniflora *Oenococcus oeni*-stammer anvendt på denne meget sure Orion-hvidvin. Sparta-bakteriestammen starter straks og decarboxyleringen af æblesyren er afsluttet på bare 2 uger, mens bakteriestammen "CH-11" klart har vanskeligheder med at vokse i den sure pH=2.9 vin, men dog en uge efter podning med $10e^6$ CFU pr. L starter den enzymatiske omdannelse af det høje indhold af æblesyre til mælkesyre, men efter de 3 uger forsøget varede kun med op til ca. halvdelen omdannet. Dette holder den samlede surhedsgrad i den endelige

hvid højere (Tabel 2), mens "Sparta" stammen fik metaboliseret al æblesyren til den "blødere" mælkesyre. Analyser for "volatile syrer"(flygtige syrer), vinsyre og citronsyre i de 2 vine både før og efter den malolaktiske behandling viste uændrede lave værdier, som tegn på udebleven kontaminering.

Sensorisk scoring af de hvide vine indikerer, at en organoleptisk forbedret aromaprofil blev opnået både efter den fuldstændige malolaktiske behandling med Viniflora® Sparta™, men også efter den ufuldstændige behandling med Viniflora® CH11. Afsyring reducerer vinsyreindholdet med en negativ indvirkning på vin-aromaen. Afslutningsvis anbefaler vi derfor, at en malolaktisk fermentering udføres, når sur umoden druesaft må høstes fra kølige klimaområder og på år med ugunstige klimaforhold.

Diskussion

En afbalanceret og velsmagende vin indeholder en vis balance mellem sødme (restsukker) og syrlighed (pH) – se Tabel 1 (1). Derudover udvikles vigtige aromastoffer sent i modningstiden og tilføjer vigtige smagstoffer til vinen. Sammen med sukkerproduktionen i modningsperioden ændres syreprofilerne drastisk, idet vinsyreindholdet forbliver næsten konstant, mens æblesyren falder drastisk under modningsprocessen (2). Indholdet af æblesyre og vinsyre udgør det meste af den samlede surhedsgrad (TA), men der findes også i mindre mængder citronsyre og ravsyre samt andre syrer naturligt i druerne (3).

Som konklusion kan en malolaktisk gæring (4) i et køligt klimaområde væsentligt forbedre både smag og aroma af hvidvine, hvis de (uønsket) er fremstillet af ufuldstændigt modne druer. Som vist i denne undersøgelser kan en malolaktisk gæring her udført med Viniflora CH-11 stoppes for en delvis fjernelse af æblesyren for at opretholde en højere endelig surhedsgrad i vinen. Generelt anbefales ikke afsyring af druesaft og vin, da det vigtige indhold af vinsyre, der tilfører vinen sin vinsmag, derved mindskes.

Udover en bakteriel malolaktisk behandling til fjernelse af æblesyre klassisk udført med *Oenococcus Oeni*-stammer eller visse

	SOLARIS 2017 – 11% v/v alkohol			ORION 2017- 11% v/v alkohol				GENERELT VÆRDIOMRÅDE	
	Drue most	Hvidvin før MLF og afsyring	Hvidvin efter MLF (Vinoferm Malocid)	Drue most	Hvidvin før MLF	Hvidvin efter MLF (Viniflora CH11)	Hvidvin efter MLF (Viniflora Sparta)	Druemostens surhedsgrad	Druevinens surhedsgrad
Vinsyre (gram/L)	5.7	5.4	4.2	**5.9**	**5.5**	4.3	4.1	5-6	4-6
Æblesyre (gram/L)	3.8	3.4	0.18 (-95%)	4.3	3.9	1.9 (-51%)	0.06 (-98%)	3-10	2-5 (-MLF) <3 (+MLF)
Total syrer (gram/L) som vinsyre	**10.8**	10.2	6.3	**12.2**	10.8	8.2	6.2	9-11(umoden) 7-9 (moden)	8-9 (frisk) 6-8 (fyldig)
pH	**2.8**	3.0	3.3	2.7	2.9	3.4	3.3	2.8-3.4	3.1-3.5

Tabel 2: *Analytiske data for syrer og pH-værdier på druesaft, basis vine og de færdige malolaktiske behandlede (MLF) hvidvine.*

Lactobacillus plantarum-stammer, er gærstammen *Shizosaccharomyces pombe* også i stand til at udføre en enzymatisk metabolisk omdannelse af æblesyre til ekstra ethanol i den såkaldte maloalkoholiske gæring (5). Den særlige 71B-gær fra Lallemand findes også i et indkapslet format kaldet ProMalic produceret af det portugisiske firma Proenol.

Denne undersøgelse over malolaktisk fermentering af hvidvin er blevet analyseret med en FOSS Winescan, et universel FTIR-optisk baseret men meget dyrt analyseapparat, der ikke er tilgængeligt for et flertal af vinproducenter og hobby-vinfolk. Meget mindre sofistikerede metoder er mere end tilstrækkelige til at følge tidsforløbet af en malolaktisk behandling. Accuvin Quick-test fås specifikke for både L-æblesyre og L-mælkesyre og er både lette i brug og langt billigere (4) og kan direkte anvendes af uerfarne vinmagere. Det er selvfølgelig ikke analyser med samme præcision, men faktisk præcise nok for den slags undersøgelse, som præsenteres her. Endnu mere lovende er dog den nye udvikling af amperimetriske biosensorer (6,7), der specifikt kan måle både for L-æblesyre og L-mælkesyre. Både det spanske firma BioLan og et italiensk firma Tectronik har udviklet sådanne kommercielle biosensor-apparater, hvilket åbner op for en både nem og billig overvågning af æblesyrens nedbrydning og dannelsen af mælkesyre under såvel en parallel som sekventiel malolaktisk behandling.

Samme type amperimetriske biosensor ethanol-analyser findes allerede, og snart vil vi også have biosensor sulfitanalyser tilgængelige. Dermed er de vigtigste parametre dækket ved biosensorer. Biosensor specifik glycuronsyre bestemmelse (markør for Botrytis infektion) er nu tilgængelige også, ved siden immunostick test for Botrytis fra firmaet EnviroLogix. Den tid hvor kemikalie- og tidskrævende titreringer og kostbare kromatografiske analyser var nødvendige er forbi.

Formålet med denne meddelelse har været at fremhæve betydningen af malolaktisk gæring for den endelige balance i vinen mellem sødme og surhed (1), der især handler om balancen mellem vinsyre og æblesyre. I kølige klimaområder vil indholdet af æblesyre ved druehøsten ofte være for højt uden en delvis eller fuldstændig malolaktisk gæring. En fuldstændig malolaktisk fermentering kan tilføre vinen en mælke- og smøragtig smag fra dannelsen af mælkesyre og især diacetyl, hvilket kan blive for dominerende. En bakteriel malolaktisk gæring tilføjer også ekstra aroma til vinen ved at tilføje nye aromastoffer, thi de bakterielle beta-glycosidase enzymer frigiver bundne aromastoffer i glucosider, komplekser mellem aromastoffer og sukkermolekyler. Denne bakterielle beta-glycosidase-aktivitet savnes ved anvendelse af en gærbaseret maloethanolisk gæring. Vi vil derfor konklusivt til en lang række "cool climate" hvidvine generelt anbefale en hel eller delvis induceret malolaktisk gæring. Alternativt kan man også afvente en spontan malolaktisk gæring, f.eks. under en fadlagring af hvidvin, eventuelt kombineret med batonnage for at afrunde aromaen og give vinen mere fylde.

Litteraturhenvisninger
1. Peak, B: Creating balance in your wine. Winemaker Magazine, April-May 2017, Vol. 30, No. 2, p. 32-37. (www.winemakermag.com)
2. Winegrowers supplies: How the wine acids in the grape change during ripening. http://www.winegrowers.info/vinegrowing/Grape_acidity.htm
3. Miller, M: Monitoring Acids and pH in Winemaking, e-Book 1. WINE from Inside Out, http://www.gencowinemakers.com/docs/Acids%20Presentation.pdf
4. Miller, M: Malolactic Fermentation, e-Book 2. WINE from inside Out. (https://www.accuvin.com/wp-content/uploads/2015/04/Malolactic-Fermentation.pdf).
5. Volschenck, H, van Vuuren, HJJ, Viljuen- Bluum, M: Malo-ethanolic fermentation in *Saccharomyces and Schizsaccharomyces*. Curr. Genetic, 43, 379-91, 2013
6. Vargas E, Ruiz MA, Ferrero FJ, Campuzano S, Ruiz-Valdepeñas Montiel V, Reviejo AJ, Pingarrón JM. Automatic bionalyzer using an integrated amperometric biosensor for the determination of L-malic acid in wines. Talanta. 158:6-13. 2016
7. Giménez-Gómez P, Gutiérrez-Capitán M, Capdevila F, Puig-Pujol A, Fernández-Sánchez C, Jiménez-Jorquera C. Robust l-malate bienzymatic biosensor to enable the on-site monitoring of malolactic fermentation of red wines. Anal Chim Acta. 954:105-113. 2017

Carl-Henrik Brogren[1,2] and Nicolai Staugaard Hansen[3]
Bernstorff Fruit and Wine Corporation[1], Ved Slotshaven 3, DK-2820 Gentofte and VinoSigns.dk[2], Henningsens Alle 38, DK-2900 Hellerup, Denmark, and Dept. of Wine and Fermented Beverages[3], International Operation, Christian Hansen A/S, Boege Alle 10-12, DK-2970 Hoersholm, Denmark
henrik@brogren.dk or *nicolaistaugaard@gmail.com