

Mikrobiologie

Forschungsergebnisse der Jahre 1961—1964

von

E. MINÁRIK

Forschungsinstitut für Weinbau und Kellerwirtschaft, Bratislava

1. Die Hefen

Systematik, Taxonomie und Ökologie

BENDA (2) isolierte von Trauben eine neue Hefeart *Torulopsis burgeffiana* nov. spec., die zwar der Art *Candida pulcherrima* nahe steht, jedoch durch eine gründliche Untersuchung der Kohlenstoff-Assimilation klar von dieser Art abgegrenzt werden muß. Auch PEYNAUD und DOMERCQ (53) isolierten aus bei niedriger Temperatur gelagertem Most eine neue Art einer Kaltgärhefe, die als *C. vanriji* nov. spec. bezeichnet wird. Es handelt sich um eine auxoautotrophe, glukophile Hefe, die eine langsame und begrenzte Entwicklung aufweist. In Japan wurde *T. vinacea* nov. spec. aus Most von OHARA, NONOMURA und YAMAZAKI (47) isoliert und beschrieben. Eine sehr selten vorkommende Hefeart *Saccharomyces coreanus* Saito, ist von reifen Trauben in der Tschechoslowakei aufgefunden worden (42). — Eine große Anzahl von Arbeiten erschien in der Zeitspanne 1961—1964 über das Vorkommen von Hefen auf Trauben, in Mosten und Weinen. BENDA (3) untersuchte die Abhängigkeit der Hefearten von den Standortsfaktoren Rebensorte, Bodenart und Klima. Es konnte keine qualitative Abhängigkeit einzelner Hefearten von der Rebensorte oder Bodenart festgestellt werden. Hingegen sind solche Unterschiede in der Besiedlung verschiedener Rebensorten-Gruppen durch bestimmte Mikroorganismen-Gruppen zu verzeichnen. Der Einfluß des Klimas auf die Hefeflora ist offensichtlich. — BRÉCHOT, CHAUVET und GIRARD (7) untersuchten die Hefeflora von Rotweinmaischen während der Verarbeitung durch das CO₂-Mazerationsverfahren und die übliche klassische Methode von Beaujolais. Ein erhöhter Anteil von *Saccharomyces* bei dem erstgenannten Verfahren und ein hoher Prozentsatz an *Candida* und *Torulopsis* bei beiden Methoden kennzeichnen die Mikroflora der Rotweinmaische. — Die Gärung der Maische wird durch die Hefegemeinschaft *Kloeckera apiculata* — *Candida pulcherrima* eingeleitet. Für die Hauptgärung ist *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, für die vollständige Vergärung des Zuckers auch *Sacch. oviformis* verantwortlich. Zwischen der Hefeflora von spontan gärenden Mosten weißer Rebensorten und der von Rotweinmaischen besteht kein qualitativer, jedoch ein quantitativer Unterschied hinsichtlich eines höheren Anteils von *C. pulcherrima* in der Mikroflora der Maischen (43).

In südafrikanischen Weinen hat VAN ZYL und DU PLESSIS (73) und VAN ZYL (72) vorwiegend *Brettanomyces* sp. als Erreger von Trübungen festgestellt. Neben diesen Schädlingen sind noch *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *oviformis*, *Pichia membranaefaciens* und *fermentans* usw. identifiziert worden. — Umfangreiche ökologische Studien über Weinhefen sind in der Tschechoslowakei durchgeführt worden (38). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stehen mit Arbeiten von CASTELLI in Italien und DOMERCQ in Frankreich in gutem Einklang. Eine spezifische Hefeflora konnte

lediglich im Tokayer Weinbaugebiet festgestellt werden. Tokayer Ausleseweine sind durch ein fast ausschließliches Erscheinen der alkoholtoleranten Hefeart *Sacch. oviiformis* gekennzeichnet. In Tokayer Mosten ist die Brauunterhefe *Sacch. carlsbergensis* relativ oft aufzufinden (39). — In Muskatweinen von *Pantelleria* wiesen die Nachgärhefen, nach MARTINI (36), nur eine durchschnittliche Gärtüchtigkeit auf. — Die Hefeflora maltesischer Moste besteht nach CASTELLI (9) ausschließlich aus sporenbildenden Hefen (*Hanseniaspora valbyensis*, *Sacch. ellipsoideus*), ein Erscheinen, das bei ähnlichen ökologischen Untersuchungen in südlichen Weinbauländern laufend festgestellt wurde. Auch in Spanien sind zahlreiche Untersuchungen über die Weinhefeökologie durchgeführt worden (25, 26, 23). Zu den meist vertretenen Arten in den einzelnen Weinbaugebieten gehören vor allem *Sacch. ellipsoideus*, *Kloeckera apiculata*, *Torulaspora rosei*, *Zygosaccharomyces veronae*, *Torulopsis bacillaris* und *Kloeckera africana*. In Japan sind ähnliche Studien im Gange (45). Als Nachgärhefe werden *Sacch. oviiformis* und *Sacch. fermentati* bezeichnet. — In einer interessanten Arbeit setzt sich STEVIĆ (68) mit der allgemeinen Auffassung des Vorkommens von echten Hefen auf Trauben auseinander und behauptet, daß ausschließlich Insekten (Bienen und Wespen) als die wichtigsten Träger von Hefen, die die alkoholische Gärung der Moste verursachen, zu betrachten sind.

JAKUBOWSKA, RZEDOWSKA und RZEDOWSKI (27) überprüften die von GRAY vorgeschlagene Schnellmethode zur Beurteilung von meso- und kryophilen Weinhefen aufgrund ihrer Fähigkeit in Gegenwart von Äthanol Zucker zu vergären. Es wurde der Einfluß der Aussaatmenge, der Temperatur und Zeitdauer auf die Ergebnisse der Bestimmungsmethode geprüft. Nach Festlegung dieser Testbedingungen konnte die GRAMYSche Schnellmethode für meso- und kryophile Stämme der zu beurteilenden Weinhefen angewandt werden.

SÁNDULA, KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ und ZÁMEČNÍKOVÁ (69) konnten nachweisen, daß nicht nur die Brauhefe *Sacch. carlsbergensis*, sondern auch einige Stämme der Weinhefen *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* und *Sacch. oviiformis* ein eigenes Antigen „C“ besitzen. — Die Hefen und hefeartigen Mikroorganismen werden von KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ und FISCHEROVÁ (33) nach ihrem Vermögen, die Disaccharide Maltose und Saccharose zu vergären, in 4 Gärungstypen eingeteilt. Die Weinhefe *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* (Maltose +, Saccharose +) wird in 2 Gärungstypen, ähnlich wie die Nachgärhefe *Sacch. oviiformis*, aufgegliedert.

Ein einfacher quantitativer Nachweis der Raffinosegärung mittels einer papierchromatographischen Analyse des Gärsubstrates ermöglicht eine präzisere und objektivere Bestimmung der Hefen (37). — KUDRIAWZEW unterscheidet die Bäcker- und Brennereihefe von der Weinhefe (*Sacch. cerevisiae* — *Sacch. vini*). Als wichtigstes Merkmal zur Differenzierung beider Arten wird, außer den ökologischen Faktoren, die Unfähigkeit von *Sacch. vini*, „niedrigere Dextrine“ zu vergären, angegeben. Nach KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ und FISCHEROVÁ (34) handelt es sich hier nicht um die Ausnutzung „niedriger Dextrine“, sondern um die Ausnutzung von Maltotriose, die sowohl bei Stämmen der Art *Sacch. cerevisiae* als auch Stämmen der Varietät *ellipsoideus* festgestellt wurde. Die Eingliederung der Weinhefe als selbständige Art (*Sacch. vini, ellipsoideus*) ist daher nicht gerechtfertigt.

RZEDOWSKA (66, 67) untersuchte verschiedene Aufbewahrungsmethoden von Weinhefen. Die stationäre Züchtung der Hefen auf schrägem Agar-Medium mit Umpfung der Kulturen in flüssige Würze wird als bestgeeignete Methode für die Erhaltung der biologischen Aktivität der Hefen bezeichnet. Für die Erhaltung der Vitalität von Hefen über eine Zeitspanne von 4 Jahren hinaus ist die Aufbewahrung der lyophilisierten Kulturen unter einer Paraffinölschicht gut geeignet. Verschiedene

Aufbewahrungsmethoden haben einen gewissen Einfluß auf die morphologische Veränderlichkeit von Riesenkolonien der Hefen. Diese Veränderlichkeit steht jedoch in keiner Korrelation mit der Fähigkeit, einzelne Zucker zu vergären. Nach NYERGES (44) sind nach einer 10jährigen Aufbewahrung der Hefen unter Paraffinöl zwar vorerst morphologische Veränderungen zu verzeichnen, die jedoch schon nach der ersten Umimpfung verschwinden, so daß keine Verringerung des Gärvermögens der Hefen festzustellen ist.

Physiologie und Biochemie

RANKINE (63) untersuchte die Bildung von Schwefelwasserstoff in Most bei Hefen 12 verschiedener Gattungen unter verschiedenen Kulturbedingungen. Die Menge des erzeugten H_2S ist bei konstanten Bedingungen eine dauerhafte Eigenschaft der Hefen. Bei 30° C bildet sich durchschnittlich 5mal so viel H_2S als bei 15° C. *Schizosaccharomyces malidevorans* produzierte die Höchstmenge, Kahlmhefen der Gattung *Pichia* und *Candida* sind als schwache H_2S -Bildner zu bezeichnen. — VAN ZYL, DE VRIES und ZEEMAN (75) teilen die Weinhefe gemäß ihren Aromastoffprodukten in 2 Gruppen: die erste umfaßt neutrale Hefearten, die keine Aromastoffe bilden, die zweite wird durch eine höhere oder niedrigere Produktion dieser Stoffe charakterisiert. Als wichtigste aromastoffbildende Substanzen werden außer Äthylazetat, der Äthylester der Kaprylsäure und Ester anderer höherer Fettsäuren, Äthylbutyrat, Azetaldehyd, Glycerin usw. bezeichnet. — Höhere Alkohole werden im Wein als Produkte des Hefemetabolismus betrachtet, wobei diese zum größten Teil als sekundäre Produkte der Zuckermoleküle und nur zu einem kleinen Teil als Folge der Reaktion nach EHRlich entstehen (50). — Nach Poux und FLANZY (59) ist nach einer 2monatigen Lagerung des Weines auf der Hefe mit einem maximalen Aminosäuregehalt der Weine zu rechnen. Die Aminosäuren werden gemäß ihrer Regeneration nach der Gärung in 4 Gruppen eingeteilt. Die erste umfaßt jene Aminosäuren, die während der Gärung verbraucht, später jedoch nicht mehr regeneriert werden (Arginin, Histidin); die zweite Gruppe enthält Aminosäuren, die während der Lagerung auf der Hefe fast völlig ersetzt werden (Prolin); in der dritten Gruppe sind Aminosäuren, die vorerst verbraucht, später aber ersetzt werden, wobei ihr Inhalt höher als ursprünglich im Most ist (Lysin, Valin, Serin). In der vierten Gruppe sind schließlich Aminosäuren, deren Menge während der Gärung und Lagerung fortwährend ansteigt (Cystin, Methionin, Glycin u. a.). — Wie aus Untersuchungen von INIGO LEAL und BRAVO ABAD (24) hervorgeht, kann während der Gärung von Mosten mittels verschiedener Hefearten eine noch nicht näher bestimmte Substanz saurer Natur chromatographisch nachgewiesen werden. Diese Substanz wurde von 17 der insgesamt 18 verschiedenen Hefearten gebildet. Der Rf-Wert ist von den bisher bekannten Säuren verschieden.

Biologische Säureverminderung durch *Schizosaccharomyces*

Schon 1914 haben KLUYVER und später CHALENKO darauf hingewiesen, daß Hefen der Gattung *Schizosaccharomyces* in Fruchtsäften Äpfelsäure zu Alkohol und Kohlendioxyd abbauen. Arbeiten von KUDRIAWZEV und RZEDOWSKI haben abermals auf diese Tatsache neuest aufmerksam gemacht. RIBÉREAU-GAYON und PEYNAUD (65) stellen fest, daß *Schizosacch. liquefaciens*, *versatilis* und *acidodevoratus* neben einem relativ guten Gärvermögen die Äpfelsäure alkoholisch abbauen. Die titrierbaren Säuren des Weines werden dadurch um rund 50% herabgesetzt. Der Säureabbau verläuft bei aeroben und anaeroben Bedingungen mit gleicher Intensität. Da der Abbau der Äpfelsäure energetisch für den Wuchs der Hefezellen nicht ausreicht, ist

dieser von der alkoholischen Gärung abhängig (56). *Schizosacch. acidodevoratus* wird als identisch mit *Schizosacch. pombe*, in Widerspruch zu KUDRIAWZEW, bezeichnet. Die Fähigkeit, Äpfelsäure in weineigene Produkte durch Spalthefen abzubauen, ist neben dem natürlichen biologischen Säureabbau durch Bakterien bei der Weinbereitung von großer Bedeutung. PEYNAUD und SUDRAUD (54) brachten praktische Erfahrungen der Entsäuerung von Weinen mittels *Schizosacch. sp.* Die ursprüngliche Hefeflora wird entweder durch starke Schwefelung (25–50 g/hl SO₂) und Entschleimung oder Pasteurisation unterdrückt und der Most mit *Schizosacch.* beimpft. Schwierigkeiten eines solchen Verfahrens liegen auf der Hand und geben Anlaß zu weiteren Versuchen. Die Fähigkeit von *Schizosacch. pombe*, l-Äpfelsäure abzubauen, ermutigte PEYNAUD und LAFON-LAFOURCADE (55) die Äpfelsäure mit dieser Mikrobe azidimetrisch zu bestimmen. Diese Methode, die sehr einfach durchführbar ist, arbeitet mit einem 5%igen Fehler.

Gärhemmende Mittel

a. Antibiotika und Fungizide

Das Verhalten von STREPTIMIDON gegenüber Weinhefen ist von PEYNAUD und LAFON-LAFOURCADE (51) untersucht worden. Das Antibiotikum wirkt ähnlich wie Actidion. Actidion-resistente Stämme von *Sacch. oviformis* und *Sacch. acidifaciens* sind auch gegen Streptimidon widerstandsfähig. — Das von französischen Autoren (RIBÉREAU-GAYON *et al.*) früher angeführte Botryticin erwies sich gegenüber Weinhefen als indifferent. Eine Antibiose in konzentrierten, aus *Botrytis*-befallenen Traubenmosten, konnte keineswegs bestätigt werden (10). Der „lineare“ Gärverlauf von konzentrierten Mosten sowie Säften aus mit *Botrytis*-befallenen Trauben, kann weder dem Botryticin noch einem Mangel an N-Stoffen oder erhöhter Viskosität, sondern lediglich dem durch höhere Zuckerkonzentration verursachten hohen osmotischen Druck zugeschrieben werden. — Das bei der Peronosporabekämpfung angewandte Präparat Zineb (Zink-äthyl-bis-dithiokarbamat) wird von der Weinhefe relativ gut vertragen. Die Hefen absorbieren und nützen Zineb ähnlich wie andere Schwefelverbindungen bei Entstehung von Schwefelwasserstoff und Merkaptanen aus. Im wesentlichen wird auch die natürliche Zusammensetzung der Hefeflora der Trauben durch die Zineb-Behandlung kaum beeinflußt (8). Einen stark hemmenden Einfluß auf das Hefewachstum hat Vitamin K₃ (4-amino-2-methyl-1-naphthol); besonders wirksam ist die Kombination von Vitamin K₃ und SO₂. 10 mg/l des Vitamins und 100 mg/l SO₂ reichen im Durchschnitt für eine Hemmung der Hefeaktivität im Wein aus. Als Schwellenwert einer geschmacklichen Beeinträchtigung des Weines wird 50 mg/l Vitamin K₃ angegeben (71). — In einem Medium mit Actidion wird ein bevorzugtes Wachstum von *Schizosacch. pombe*, im Medium mit l-Lysin als N-Quelle das von *Saccharomyces ludwigii* und *Sacch. bisporus*, beobachtet. *Brettanomyces intermedius* wächst auf beiden, die echte Weinhefe *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* auf keinem der genannten Medien (46).

b. Sorbinsäure

Obwohl die Sorbinsäure in einigen Ländern schon seit einigen Jahren zur Wein- stabilisierung zugelassen wird, wurden weitere Versuche mit der Haltbarmachung süßer Weine durchgeführt. ASVÁNY (1) berichtet über vergleichende Versuche mit Sorbinsäure und Kaliumsorbat bei der Stabilisation von Weinen mit Restzucker und stellt fest, daß Sorbinsäure bis 400 mg/l den pH-Wert des Weines kaum beeinflußt, 200 mg/l Sorbinsäure entsprechendes Kaliumsorbat diesen Wert um 0,03 bis 0,04 er-

höht. Die titrierbaren Säuren werden bei 200 mg/l Sorbinsäure um 0,08 bis 0,11 g/l erhöht: Kaliumsorbat wirkt hingegen in dieser Hinsicht indifferent. Die Farbe von Rotweinen wird noch bei 400 mg/l beider Substanzen nicht beeinflusst. REHM und LUKAS (64) untersuchten die antimikrobielle Wirkung der Sorbinsäure in verschiedenen pH-Bereichen und stellten fest, daß diese Wirkung im wesentlichen durch die undissoziierte Sorbinsäuremoleküle hervorgerufen wird. Der Anteil der undissoziierten Moleküle wird zum sauren pH-Bereich hin stark erhöht. Auch die dissoziierten Moleküle der Sorbinsäure haben gegen *Sacch. cerevisiae* und anderen Mikroorganismen eine antimikrobielle Wirkung, die jedoch relativ vielfach schwächer als die der undissoziierten ist. — Praktische Erfahrungen bei der Weinstabilisierung mittels Sorbinsäure und Kaliumsorbat haben erneut die Wirksamkeit dieser Antiseptika erwiesen. Je nach vorheriger Weinbehandlung und chemischer Zusammensetzung der Weine werden Dosen zwischen 50–200 mg/l als erforderlich angegeben. Eine Herabsetzung der Zahl der Hefezellen und gleichzeitige Schwefelung ermöglichen, die Dosen des Mittels um 30–50% bei steigender Wirksamkeit zu reduzieren. Positive Ergebnisse konnten auch bei der Haltbarmachung von Tokayer Süßweinen erzielt werden (40). — Einen zusammenfassenden positiven Bericht über Sorbinsäure aufgrund der Erfahrungen von 14 Weinbauländern legte FEDUCHY MARINO (12) dem Internationalen Weinbaukongreß in Tbilisi vor. Eine realistische Darlegung der bisherigen Erkenntnisse der Anwendung von Sorbinsäure ist von PEYNAUD (48) zusammengefaßt. Der Verf. läßt durchblicken, daß es mit der Anwendung der Sorbinsäure genau so ist wie mit allen anderen modernen Weinbehandlungsmethoden: sie erfordern gute oenologische Kenntnisse und dürfen als kein automatisch wirkendes Weinbehandlungsmittel betrachtet werden.

c. Pyrokohlensäurediäthylester

Umfangreiche Arbeiten über Pyrokohlensäurediäthylester (PKE) in verschiedenen Weinbauländern sind in der Zeitspanne 1961–1964 veröffentlicht worden. Das Präparat, bekannt unter dem Namen Baycovin, wurde schon 1959 von HENNIG und 1960 von KIELHÖFER, MAYER und LÜTHI eingehend untersucht. LÜTHI, MAYER und HOTZ (35) berichten über eine geschmackliche Benachteiligung von PKE-behandelten Weinen (ab 0,2‰). Die organoleptische Beeinflussung wird den Restmengen des ortho-Esters der hergestellten Präparate zugeschrieben. Über technische Anwendungsmöglichkeiten von PKE durch Einstäubung in den Wein mit indifferenten Gasen N₂, CO₂ (unter 1,5–2 atü Druck mittels eines Zerstäubers) berichtet HENNIG (20). Neben dem Einrühren und Zerstäuben kann PKE in kontinuierlichen Verfahren mit einer Orlita-Membran-Pumpe erfolgreich eingedüst werden (21). Dieses Verfahren hat zu einer raschen Verbreitung der PKE-Behandlung der Weine im Großbetrieb geführt. — Nach BLOUIN und BARTHE (5) kann PKE auch durch eine Vermischung mit Kieselgur dem Wein zugesetzt werden. Dieses Verfahren hat sich jedoch nicht durchgesetzt. — Nach VAN ZYL (74) wird die Mehrzahl der in südafrikanischen Weinen vorkommenden Hefearten (*Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Sacch. oviformis*, *Brettanomyces* sp., *Saccharomyces* sp. usw.) durch minimale PKE-Konzentrationen unterdrückt. Eine Ausnahme wurde bei *Sacch. acidifaciens* beobachtet: bei einer massiven Kontamination reichen erst Dosen von 750 mg/l PKE zur Haltbarmachung aus. Gute Ergebnisse bei der Stabilisierung von Weinen mit Restzucker mittels PKE sind auch in der ČSSR erzielt worden (41). KIELHÖFER (28) ist der Ansicht, daß PKE aufgrund seines schnellen Zerfalles in die weineigenen Bestandteile Alkohol und Kohlendioxyd als technischer Hilfsstoff zu betrachten ist. Hingegen weist KOCH (32) diese Behauptung mit dem Hinweis zurück, PKE sei ein Konservierungsmittel in lebensmittelrechtlicher Beurteilung.

THOUKIS und BOUTHLET (70) sind der Ansicht, daß PKE nicht restlos bei der Hydrolyse in Alkohol und CO_2 zerfällt, sondern daß 2–3% des PKE ein Pyrokohlensäurekomplex, wahrscheinlich mit Gerbstoffen, bilden. Diese Vorstellung konnte allerdings noch nicht bestätigt werden. — HECHT (19) untersuchte PKE auf seine Toxizität in akuten und subakuten Versuchen. Die Toxizität erwies sich als gering. Dies stellen auch BORNHANN und LOESER (6) fest, die bei chronischer Zufuhr von PKE keine toxische Beeinflussung des Organismus beobachteten.

HAUSHOFER und RETHALLER (18) berichten über Großversuche mit Baycovin in Österreich, die positive Ergebnisse auch unter ungünstigen Lagerungsbedingungen erbrachten. Eine organoleptische, statistisch gesicherte Beeinflussung der Weine konnte bei den angewandten Konzentrationen (50–150 mg/l PKE) nicht ermittelt werden. — Auch PREMUŽIĆ und ŠAFAR (60) sind zu ähnlichen Ergebnissen in Jugoslawien gekommen. KIELHÖFER und WÜRDIG (29, 30), PRILLINGER (61) und PRILLINGER und HORWATITSCH (62) bestimmen die bei dem Zerfall von PKE im Wein entstehende Diäthylkarbonat-Menge, die von dem Alkoholgehalt des Weines und der Menge der PKE-Dosis abhängig ist, mit Hilfe der Gaschromatographie. Da Kohlensäureester im Wein natürlicherweise nicht vorkommen (31), ergibt sich die Möglichkeit, einen Zusatz dieser Stoffe nachzuweisen. Eine Übersicht der bis 1964 erschienenen Veröffentlichungen über PKE und seiner Wirkung gegen Mikroorganismen sind in den Arbeiten von HAWLEY (17) und GENTH (16) zusammengefaßt. Ein Überblick über die Anwendung von PKE bei der Weinbereitung ist auch von HENNIG (22) vorgelegt worden.

2. Die Bakterien

Die Herkunft von Milchsäurebakterien im Wein beschäftigt schon seit langem die Weinmikrobiologen. Einige Forscher (RADLER) bezeichnen als Standort verschiedene Reborgane, andere (WEBB, INGRAHAM) den Weinbetrieb. Nach PEYNAUD und DOMERCQ (49) sind Milchsäurebakterien (*Lactobacillus* sp. und *Leuconostoc* sp.) auch in vielen Fällen auf reifen Trauben aufzufinden. Ihr Vorkommen ist jedoch geringer als das von Hefen und Essigsäurebakterien. Es ist also anzunehmen, daß nicht nur die Milchsäurebakterienflora in den Betrieben, sondern auch die der primären Standorte (Trauben) die Äpfelsäure-Milchsäuregärung und unerwünschte biologische Abbauprozesse beeinflussen.

DU PLESSIS (57) untersuchte den Vitamin- und Aminosäuren-Bedarf von aus Trockenweinen isolierten Milchsäurebakterien. Alle Stämme benötigten Nikotinsäure, Riboflavin, Ca-Pantothenat und Thiamin oder Pyridoxin. Wenigstens 5 Aminosäuren (Valin, Arginin, Leucin, Isoleucin und Glutaminsäure) werden zum Wuchs benötigt. Homofermentative Stämme von Milchsäurebakterien bilden aus Glukose und Fruktose 70% Milchsäure als Hauptprodukt, heterofermentative Stämme bilden aus Glukose außer Milchsäure wesentliche Mengen von Essigsäure, Äthanol und Glycerol (58). Nach FORNACHO (13) wird das Wachstum von aus Wein isolierten heterofermentativen *Lactobacillus hilgardii* und *Leuconostoc mesenteroides* durch schweflige Säure und einen Überschuß von Azetaldehyd im Medium gehemmt. Die Milchsäurebakterien greifen das Azetaldehyd an und das freigegebene Schwefeldioxyd verhindert einen weiteren Wuchs. Homofermentative Bakterien (*Lactobacillus arabinosus*) verbrauchen viel weniger Aldehyd als die heterofermentativen Mikroorganismen, nichtsdestoweniger war kein Wachstum in Gegenwart von 100 mg/l gebundener schwefliger Säure zu verzeichnen. — In australischen Weinen, deren pH-Wert unterhalb von 3,6 liegt, konnten Milchsäurebakterien der Gattung *Leuconostoc*

aufgefunden werden. Diese Mikroorganismen dominieren bei der Äpfelsäure-Milchsäuregärung, falls diese unterhalb eines pH-Wertes von 3,4 verläuft (15). — Die Artzugehörigkeit von hetero- und homofermentativen Milchsäurebakterien kann durch eine papierchromatographische Analyse der zuckerhaltigen Assimilationssubstrate gut charakterisiert werden. So konnten *Lac. pastorianus* zu den heterofermentativen, *Lac. plantarum* zu den homofermentativen Bacillen, *Leuc. mesenteroides* zu den heterofermentativen Kokken eingeteilt werden (50). Einen Überblick der Arbeiten über die Äpfelsäure-Milchsäuregärung gab FORNACHON (14). — DUPUY und MANGENET (11) berichten über Bedingungen der Entwicklung von Essigsäurebakterien im Wein. Wichtig ist die Feststellung, daß die im Wein vorkommenden *Acetobacter*-Arten alle auxotroph sind. Das Wachstum der Essigsäurebakterien kann durch die gleichzeitige Wirkung der Säure (pH) und des Alkoholgehaltes verhindert werden. Sehr wirksam zur Bekämpfung der Essigsäurebakterien ist die schweflige Säure, die bei dem pH-Wert des Weines rasch bakteriostatisch, jedoch viel langsamer bakteriozid wirkt.

Literaturverzeichnis

1. ASVANY, A.: Angaben und Erfahrungen aus dem Bereich der Haltbarmachung der Weine mittels Sorbinsäure. Szölesz. Kut. Int. 12, 289–299 (1963).
2. BENDA, I.: *Torulopsis burgeffiana* nov. spec., eine von Weinbeeren isolierte, neue Hefeart. Antonie Leeuwenhoek 28, 209–214 (1962).
3. — — : Ökologische Untersuchungen über die Hefeflora im fränkischen Weinbaugebiet. Bayer. Landwirtschaft. Jb. 39, 595–614 (1962).
4. — — : Die Hefeflora des fränkischen Weinbaugebietes. Weinberg u. Keller 11, 67–80 (1964).
5. BLOUIN, J. und J. C. BARTHE: Etude du pyrocarbonate d'éthyl. Essais d'utilisation pratique. Vignes et Vins 119, 13–19 (1963).
6. BORNMANN, G. und A. LOESER: Toxikologische Studie über den Pyrokohlensäurediäthylester. Arch. f. Toxikol. 19, 69–78 (1961).
7. BRECHOT, P., J. CHAUVET und H. GIRARDI: Identification des levures d'un moût de Beaujolais au cours de sa fermentation. Ann. Technol. Agr. 11, 235–244 (1962).
8. CANTARELLI, C., F. TAFURI und A. MARTINI: Chemical and microbiological surveys on the effects of dithiocarbamate fungicides in winemaking. J. Sci. Food Agr. 15, 186–196 (1964).
9. CASTELLI, T.: Indagini microbiologiche sui mosti maltesi. Vini d'Italia 4, 189–191 (1964).
10. DITTRICH, H.: Zur Vergärung edelfauler und hochkonzentrierter Moste. Weinwiss. 19, 169–182 (1964).
11. DUPUY, P. und J. MANGENET: Conditions du développement des bactéries acétiques et mesures préventatives dans la conservation des vins. Ann. Technol. Agr. 12 (1), 63–72 (1963).
12. FEDUCHY MARINO, E.: Emploi des antiseptiques dans les vins en association avec l'anhydride sulfureux en vue du remplacement de ce dernier. Rapp. Gen., X^e Congr. Intern. de la Vigne et du Vin, Rapp. et Comm. 3–26, Moscou (1962).
13. FORNACHON, J. C. M.: Inhibition of certain lactic acid bacteria by free and bound sulphur dioxide. J. Sci. Food Agr. 14, 857–862 (1963).
14. — — : Travaux récents sur la fermentation malolactique. Ann. Technol. Agr. 12 (1), 45–55 (1963).
15. — — : A Leuconostoc causing malo-lactic fermentation in Australian wines. Amer. J. Enol. Vit. 15, 184–186 (1964).
16. GENTH, H.: On the action of diethylpyrocarbonate on microorganisms. 4th Intern. Symp. Food Microbiol., SIK, Göteborg (Sweden). 77–85 (1964).
17. HAWLEY, H. B.: The cold sterilisation of beverages. Intern. Food Ind. Congr., Sess. 4, paper 4 (1964).
18. HAUSHOFER, H. und A. RETHALLER: Großversuche mit Sorbinsäure und Pyrokohlensäurediäthylester. Mitt. Klosterneuburg Ser. A 14, 239–250 (1964).
19. HECHT, G.: Zur Toxikologie des Pyrokohlensäurediäthylesters. Z. Lebensmittel-Untersuch.-Forsch. 114, 292–297 (1961).

20. HENNIG, K.: Die technische Anwendung des Pyrokohlensäurediäthylesters. Weinberg u. Keller 8, 215—218 (1961).
21. — — : Weitere technische Anwendungsmöglichkeiten des Pyrokohlensäurediäthylesters (Diäthylpyrokarbonats) in der Kellerei. Weinberg u. Keller 9, 271—278 (1962).
22. — — : Emploi du pyrocarbonate d'éthyl dans le traitement des vins. Ann. Technol. Agr. 12 (1), 115—123 (1963).
23. INIGO LEAL, B.: Estudio microbiológico de los mostos de uva espanoles. Rev. Agroquim. Tecnol. 4, 166—169 (1964).
24. — — und F. BRAVO ABAD: Nueva sustancia de carácter ácido en fermentados de mosto por distintas levaduras. Rev. Espan. Fisiol. 18, 163—170 (1962).
25. — — , D. VÁSQUEZ MARTINEZ und V. ARROYO VARELA: Los agentes de fermentación vinica en la zona de Jerez. Rev. Cienc. Apl. 93, 296—305 (1963).
26. — — und V. ARROYO VARELA: Microbiología de los velos desarrollados sobre vinos de la zona de Montilla y los Moriles. Rev. Cienc. Apl. 96, 23—29 (1964).
27. JAKUBOWSKA, J., H. RZEDOWSKA und W. RZEDOWSKI: Versuch einer Weinhefeklaskifikation durch die Methode von Gray. Roczn. Technol. Chem. Zywnos. 7, 79—92 (1961).
28. KIELHÖFER, E.: Der Pyrokohlensäurediäthylester. Weinberg u. Keller 9, 235—256 (1962).
29. — — und G. WÜRDIG: Nachweis und Bestimmung von Diäthylcarbonat und Pyrokohlensäurediäthylester im Wein und Schaumwein. Dt. Lebensmitt. Rdsch. 7, 197—200 (1963).
30. — — und — — : Nachweis und Bestimmung eines Zusatzes von Pyrokohlensäurediäthylester zum Wein. Dt. Lebensmitt. Rdsch. 8, 224—228 (1963).
31. — — und — — : Über das Vorkommen von Kohlensäureestern im Wein und Schaumwein. Weinberg u. Keller 10, 201—207 (1963).
32. KOCH, J.: Pyrokohlensäurediäthyl-Ester, ein Konservierungsmittel oder ein technischer Hilfsstoff? Flüssiges Obst 2, 1—4 (1962).
33. KOCKOVA-KRATOCHVILOVA, A., A. VOJTKOVA-LEPSIKOVA und M. FISCHEROVA: Die Bedeutung der Gärungstypen bei der Bestimmung der Hefen und hefeartigen Mikroorganismen. Brauwiss. 14, 210—218 (1961).
34. — — und M. FISCHEROVA: Der Unterschied zwischen *Saccharomyces cerevisiae* und seiner Varietät *ellipsoideus*. Kvasný prumysl 10, 121—126 (1964).
35. LÜTHI, H., K. MAYER und E. HOTZ: Versuche zur Konservierung von Wein und Fruchtsäften mit Pyrokohlensäure-Diäthylester. Neue Erkenntnisse in der Fruchtsaftforschung und -technologie. Juris Verl., Zürich, 167—179 (1961).
36. MARTINI, A.: La microflora blastomicetica del vino Moscato di Pantelleria. Riv. Viticolt. Enol. 15, 57—60 (1962).
37. — — : La fermentazione del raffinosiso nel riferimento sistematico dei blastomiceti. Biochim. Appl. 10, 217—230 (1963).
38. MINÁRIK, E.: Klassifikation der Hefeflora des Weinbaugebietes der Kleinen Karpaten. Biol. prace, SAV, Bratislava 7, 5—73 (1961).
39. — — : Beitrag zur Zusammensetzung der Hefeflora von Tokayer Weinen. Biológia 16, 895—904 (1961).
40. — — : Bisherige Erkenntnisse einer Weinstabilisation mit Sorbinsäure. Kvasný prumysl 8, 353—357 (1962).
41. — — und L. LAHO: Stabilisierung süßlicher Weine mit Pyrokohlensäurediäthylester. Kvasný prumysl 8, 86—90 (1962).
42. — — : Vorkommen von *Saccharomyces coreanus* Saito auf Weintrauben. Biológia 18, 159—163 (1963).
43. — — : Beitrag zur Hefeflora gärender Rotweinmaischen. Vitis 4, 368—372 (1964).
44. NYERGES, E.: Veränderungen bei zehn Jahren unter Paraffinöl aufbewahrten Weinhefen. Szöl. Kut. Int. 12, 273—287 (1963).
45. OHARA, Y. und H. NONOMURA: Dynamic aspect of yeast-flora during vinous fermentation. Part. 6. Group succession from the middle of fermentation to post-fermentation period. Bull. Res. Inst. Ferment. Yamanashi 8, 1—12 (1961).
46. — — , — — und T. YAMAZAKI: Dynamic aspect of yeast-flora during vinous fermentation. Part 7. Preferential isolation of wild yeasts. Bull. Res. Inst. Ferment. Yamanashi 9, 17—25 (1962).
47. — — , — — und — — : *Torulopsis vinacea* sp. nov., a new yeast isolated from grape musts. J. Gen. Appl. Microbiol. 10, 77—78 (1964).

48. PEYNAUD, E.: Emploi de l'acide sorbique dans la conservation de vins. *Ann. Technol. Agr.* 12 (1), 99—113 (1963).
49. — — und S. DOMERCQ: Présence démontrée de bactéries lactiques sur les raisins mûrs. *C. R. Séances Acad. Sci. (Paris)* 252, 3343—3344 (1961).
50. — — und G. GUIMBERTEAU: Sur la formation des alcools supérieurs par les levures de vinification. *Ann. Technol. Agr.* 11, 85—105 (1962).
51. — — und S. LAFON-LAFOURCADE: Sur quelques souches de *Saccharomyces* résistantes à l'actidione et à la streptimidone. *Ann. Inst. Pasteur* 102, 469—480 (1962).
52. — — , G. GUIMBERTEAU und S. DOMERCQ: Die Anwendung der Zuckerchromatographie zur Charakterisierung der Milchsäurebakterien im Wein. *Mitt. Klosterneuburg Ser. A* 12, 183—192 (1962).
53. — — und S. DOMERCQ: *Candida vanriji*, dans des jus de raisin conservé à basse température. *Arch. f. Mikrobiol.* 47, 219—224 (1964).
54. — — und P. SUDRAUD: Utilisation de l'effet désacidifiant des *Schizosaccharomyces* en vinification de raisins acides. *Ann. Technol. Agr.* 13, 309—328 (1964).
55. — — und S. LAFON-LAFOURCADE: Dosage simple de l'acide l-malique à l'aide de *Schizosaccharomyces pombe*. *C. R. Séances Acad. Sci. (Paris)* 258, 5542—5543 (1964).
56. — — , S. DOMERCQ, A.-M. BOIDRON, S. LAFON-LAFOURCADE und G. GUIMBERTEAU: Etude des levures *Schizosaccharomyces* métabolisant l'acide l-malique. *Arch. f. Mikrobiol.* 48, 150—165 (1964).
57. PLESSIS, DU L. DE W.: The microbiology of South African winemaking. Part 5. Vitamin and amino acid requirements of lactic acid bacteria from dry wines. *S. Afr. J. Agr. Sci.* 6, 485—494 (1963).
58. — — und J. A. VAN ZYL: The microbiology of South African winemaking. Part 6. Fermentation of d-glucose, d-fructose, d-xylose and l-arabinose by lactic acid bacteria from dry wines. *S. Afr. J. Agr. Sci.* 6, 673—688 (1963).
59. POUX, CH., C. FLANZY und M. FLANZY: Les levures alcooliques dans les vins; proteolyse et proteogenèse. *Ann. Technol. Agr.* 13, 5—18 (1964).
60. PREMUSIC, D. und O. SAFAR: Weinstabilisation mit Pyrokohlensäurediäthylester. *Agron. Glasnik* 10, 744—750 (1964).
61. PRILLINGER, F.: Über den Nachweis und die Bestimmung von Diäthylcarbonat in mit Baycovin behandelten Weinen. *Mitt. Klosterneuburg Ser. A* 14, 29—32 (1964).
62. — — und H. HORWATITSCH: Über ein rasches Verfahren zum Nachweis des Pyrokohlensäurediäthylesters in Getränken und zum natürlichen Vorkommen von Kohlensäureestern in Gärprodukten. *Mitt. Klosterneuburg Ser. A* 14, 251—257 (1964).
63. RANKINE, B. C.: Hydrogen sulphide production by yeasts. *J. Sci. Food Agr.* 15, 872—877 (1964).
64. REHM, H.-J. und E.-M. LUKAS: Zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der Sorbinsäure. I. Mitt.: Die Wirkung der undissoziierten und dissoziierten Anteile der Sorbinsäure auf Mikroorganismen. *Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk., Infektionskrankh. u. Hyg.* 117, 306—318 (1963).
65. RIFÉREAU-GAYON, J. und E. PEYNAUD: Application à la vinification de levures métabolisant l'acide malique. *Procès-verbal Séance Acad. Agr. France*, 558—560 (1962).
66. RZEDOWSKA, H.: Untersuchungen über die Aufbewahrung von Hefen für Industriezwecke. I. Einfluß der Aufbewahrung von Brennereihefen auf ihre biologische Aktivität und Morphologie der Riesenkolonien. *Prace Inst. i Labor. Bad. Przem. i Spoz.* 3, 57—74 (1963).
67. — — : Untersuchungen über die Aufbewahrung von Hefen für Industriezwecke. II. Einfluß der Aufbewahrung von Weinhefen auf ihre biologische Aktivität und Morphologie der Riesenkolonien. *Prace Inst. i Labor. Bad. Przem. i Spoz.* 4, 89—112 (1963).
68. STEVIC, B.: The significance of bees (*Apis* sp.) and wasps (*Vespa* sp.) as carriers of yeasts for the microflora of grapes and the quality of wine. *J. Sci. Agr. Res.* 15, 80—92 (1962).
69. SANDULA, J., A. KOCKOVA-KRATOCHVILOVA und M. ZAMENCNIKOVA: Serologische Studie über Kulturhefen. *Brauwiss.* 17, 130—137 (1964).
70. THOUKIS, G., R. J. BOUTHILET, M. UEDA und A. CAPUTI: Fate of diethyl pyrocarbonate in wine. *Amer. J. Enol. Vit.* 13, 105—113 (1962).
71. YOUNG, H. Y. und R. E. ORSER: Preservation effect of vitamin K₃ and sulphur dioxide on sweet table wine. *Amer. J. Enol. Vit.* 13, 152—158 (1962).

72. ZYL, VAN J. A.: Turbidity in South African dry wines caused by the development of the *Brettanomyces* yeasts. *Sci. Bull. Vit. Ser.* 381, 1—42, Pretoria (1962).
73. — — und L. DE W. DU PLESSIS: The microbiology of South African winemaking. Part 1. The yeasts occurring in vineyards, musts and wines. *S. Afr. J. Agr. Sci.* 4, 393—403 (1961).
74. — — : The microbiology of South African Winemaking. Part 2. The preservation of musts and wines with pyrocarbonic acid diethyl ester. *S. Afr. J. Agr. Sci.* 5, 293—304 (1962).
75. — — , M. J. DE VRIES und A. S. ZEEMAN: The microbiology of South African winemaking. Part 3. The effect of different yeasts on the composition of fermented musts. *S. Afr. J. Agr. Sci.* 6, 165—180 (1963).