

Aus dem Forschungs-Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Über die Milchsäurebakterien des Weines und den biologischen Säureabbau

Übersicht

III. Methoden zur Veränderung des Säuregehaltes im Wein

VON

F. RADLER

| | |
|--|----|
| A. Einleitung*) | |
| B. Geschichtliches | |
| C. Kulturmethoden und Systematik der Milchsäurebakterien des Weines | |
| D. Chemische Grundlagen | |
| E. Physiologie und Ökologie der Bakterien des biologischen Säureabbaus | |
| F. Methoden zur Veränderung des Säuregehaltes im Wein | |
| 1. Der biologische Säureabbau | |
| a) Der spontane bakterielle Äpfelsäureabbau | 63 |
| b) Einleitung des Äpfelsäureabbaus durch Bakterienkulturen | 65 |
| c) Nebenwirkungen des biologischen Säureabbaus auf den Wein | 66 |
| 2. Chemische Methoden zur Veränderung des Säuregehaltes | 68 |
| G. Ausblick | 69 |
| H. Zusammenfassung | 70 |

F. Methoden zur Veränderung des Säuregehaltes im Wein

Die Zusammensetzung des Traubenmostes hängt sehr wesentlich von der Rebensorte und den klimatischen Bedingungen ab. Vor allem der geschmacklich sehr wichtige Säuregehalt kann in sehr weiten Grenzen schwanken. Durch die Kellerbehandlung wird angestrebt, einen Säuregehalt im Wein zu erhalten, der je nach dem Typ des Weines im Bereich von etwa 4—8‰ Weinsäure liegt. Von KLENK und STRECKER (1955) wird bei württembergischen Rotweinen ein Gehalt von 4,5—5,5‰ Gesamtsäure und bei Weißweinen ein Gehalt von 5—7‰ Gesamtsäure als optimal angesehen.

In nördlichen Weinbaugebieten werden, besonders in ungünstigen Jahren und Weinbergslagen, Traubenmoste mit einem unerwünscht hohen Säuregehalt produziert. Um diese Weine konsumfähig zu machen, ist es häufig erforderlich, den zu hohen Säuregehalt zu vermindern. Dies kann entweder durch den bakteriellen Abbau der Äpfelsäure oder durch chemische Methoden erzielt werden, wenn man von dem sogenannten Verbessern, d. h. der Verringerung des Säuregehaltes durch Verdünnen mit Zuckerwasser absieht. In der Kellerwirtschaft hat man sich bisher im wesentlichen darauf beschränkt, den spontanen bakteriellen Säureabbau durch geeignete Maßnahmen zu fördern; die Anwendung von Bakterienkulturen zur Einleitung des Äpfelsäureabbaus befindet sich noch im Versuchsstadium. Beim biologischen Säureabbau wird zwar hauptsächlich Äpfelsäure zu Milchsäure dekarboxyliert, aber bei diesem biologischen Prozess erfolgen in geringem Umfang noch weitere Reaktionen, die für den Wein von Bedeutung sein können.

*) Abschnitt A—E erschienen in Vitis 3, 144—176 (1962) und 3, 207—236 (1963).

1. Der biologische Säureabbau

a) Der spontane bakterielle Äpfelsäureabbau

Aus den Ausführungen des vorangegangenen Kapitels kann leicht abgeleitet werden, durch welche einfache Maßnahmen der spontane biologische Säureabbau im Wein gefördert werden kann. Alles, was das Wachstum der Milchsäurebakterien im Wein begünstigt, wird zwangsläufig den Abbau der Äpfelsäure beschleunigen.

Die Kellerwirtschaft kennt seit langem die Methoden zur Förderung des Säureabbaus (SCHANDERL 1959). Es stehen folgende Möglichkeiten zur Verfügung: 1. Warme Lagerung, Temperaturerhöhung über 15°, 2. Längeres Liegenlassen auf der Hefe, Aufschlagen des Hefedepots (Erhöhung des Nähr- und Wachstoffsangebotes), 3. Schwache Zugabe von schwefliger Säure (Verminderung der Hemmstoffzugabe); vor allem Unterlassung eines SO₂-Zusatzes zum Jungwein, 4. Erhöhung des pH-Wertes durch Entsäuerung mit Calciumcarbonat (Einstellung einer für das Bakterienwachstum günstigen Reaktion), 5. Zugabe des frischen Trubes eines Weines, der spontan einen intensiven Säureabbau durchmachte (Einsaat von Äpfelsäure abbauenden Bakterien). Durch die gegenteiligen Maßnahmen wird der Säureabbau verhindert: Kalte Lagerung, frühzeitiger Abstich von der Hefe, starke SO₂-Zugabe zum Most und sofort nach der Gärung beim ersten Abstich, pH-Erniedrigung, was allerdings nur in begrenztem Umfang durch Verschnitt möglich ist, Entkeimungsfiltration oder Pasteurisation.

Bei Beachtung dieser Faktoren wurde schon von SCHÄTZLEIN (1914) die Einleitung des Säureabbaus grundsätzlich für möglich gehalten. Vor allem der Entsäuerung, dem Aufrühren der Hefe und der Zugabe von Trub aus einem Wein nach dem Säureabbau wurde eine fördernde Wirkung auf die Entwicklung der Bakterien zugesprochen (SCHÄTZLEIN und KRUG 1916). Auch BÖHRINGER (1955) empfiehlt zur Einleitung des Säureabbaus die Zugabe von Hefe von einem Wein, der die Säure stark abgebaut hat. Das Zuckern und Wässern der Moste soll keinen wesentlichen Einfluß auf den Grad des Säurerückgangs ausüben, wie aus Kellerversuchen von HALENKE und KRUG (1910) hervorgeht; dies dürfte allerdings nur innerhalb recht enger Grenzen zutreffen.

Nach SCHANDERL (1943) genügt oft eine geringe Entsäuerung mit Calciumcarbonat zur Einleitung des Säureabbaus. Durch einen Zusatz von 50 g Calciumcarbonat je hl wird der pH-Wert des Weines um etwa 0,1 pH-Einheiten erhöht. Bei sehr sauren Mosten wird häufig eine Zugabe des Calciumcarbonats vor der Gärung empfohlen (RENTSCHLER und Mitarb. 1954, LÜTHI 1957 c, RADLER 1958 e). Durch den Zeitpunkt der Entsäuerung wird die Zusammensetzung des Weines nicht beeinflusst, aber die Mostentsäuerung ist günstiger, weil dann den Äpfelsäure abbauenden Bakterien die bei der Gärung entstehende Wärme zum Wachstum zur Verfügung steht (MICHOD und FELL 1960). Bei südtiroler Weinen mit einem an sich nicht sehr hohen Säuregehalt hat dagegen die Mostentsäuerung nicht immer einen klar erkennbaren beschleunigenden Einfluß auf den Säureabbau (WEGER 1959). In diesen Fällen wird der Erwärmung oder der Erhaltung der Wärme eine größere Bedeutung beigemessen. Es wird immer die Maßnahme am wirksamsten sein, die den wichtigsten, das Bakterienwachstum begrenzenden Faktor beseitigt.

Die Auffassungen von RIPPEL (1943, 1950, 1953), wonach Säuregrad, Temperatur und Trub mit dem Säureabbau grundsätzlich nichts zu tun haben, treffen nur bei einer sehr einschränkenden Auslegung zu.

KLENK (1954) empfiehlt zur Förderung des biologischen Säureabbaus: Nur schwache Klärung des Mostes, keine stärkere Zugabe an schwefliger Säure als 10–20 mg je Liter; ferner soll durch langsame Gärung der Wein möglichst lange trüb gehalten werden. Die Zuckering soll möglichst fraktioniert vorgenommen

werden; durch Zuckering des Jungweines bleibt die Trübung länger erhalten. Der Säureabbau soll vor dem ersten Abstich erfolgen, zu einem späteren Zeitpunkt ist er meist nur durch eine Umgärung zu erzielen. In größeren Gebinden ist der Abbau leichter einzuleiten als in kleinen und im Tank leichter als im Holzfaß.

Diese letzte Beobachtung scheint schwer zu deuten. Wahrscheinlich werden die Bakterien in größeren Gebinden durch die höheren Temperaturen bei der Gärung begünstigt, und im gasdichten Tank genügt für den Wein häufig ein geringerer Zusatz von schwefliger Säure als im weniger dichten Holzfaß. Außerdem ist die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens geeigneter Bakterien in einer großen Weinmenge größer als in einer kleinen.

Nach BERGERET (1958 b) ist schweflige Säure der wichtigste Faktor, der auf den Säureabbau limitierend wirkt. Vor allem das Schwefeln bei den Abstichen soll sich sehr ungünstig auf den Säureabbau auswirken. Dies ist verständlich, denn sobald die Hefen aus dem Wein entfernt worden sind, entsteht kein Acetaldehyd mehr, an den die hemmende schweflige Säure gebunden wird. FÖRNACHON (1957) untersuchte eine größere Zahl von Weinen und prüfte das Vorkommen des Äpfelsäureabbaus in Abhängigkeit vom pH-Wert, dem Zusatz von schwefliger Säure und der Zeit des Lagerns auf der Hefe, siehe Tabelle 7. Aus dieser Übersicht geht besonders deutlich hervor, wie hoher pH-Wert, niedriger Zusatz von schwefliger Säure und langes Lagern auf der Hefe den Abbau der Äpfelsäure begünstigen. Es ist damit letztlich eine Frage der kellerwirtschaftlichen Technik, im Wein Bedingungen zu schaffen, die den Äpfelsäure abbauenden Bakterien eine Entwicklung ermöglichen. Denn wenn die Voraussetzungen für das Wachstum der Bakterien nicht gegeben sind, müssen alle Versuche den Säureabbau einzuleiten, erfolglos bleiben (RADLER 1958 e).

Tabelle 7

Die Abhängigkeit des Äpfelsäureabbaus vom pH-Wert und dem SO₂-Gehalt des Weines und der Zeit des Lagerns auf der Hefe (FÖRNACHON 1957). Die Werte geben in % die Zahl der Weine an, in denen der biologische Säureabbau erfolgt war.

| Einfluß des pH-Wertes | | Einfluß der SO ₂ | | Einfluß der Dauer der Lagerung auf der Hefe | |
|-----------------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------|---|-------------------|
| pH | Äpfelsäureabbau % | SO ₂ -Zusatz mg je Liter | Äpfelsäureabbau % | Zeit in Wochen | Äpfelsäureabbau % |
| < 3,21 | 6 | < 120 | 61 | < 4 | 25 |
| 3,21-3,40 | 22 | | | 4-8 | 36 |
| 3,41-3,60 | 39 | 120-150 | 38 | 8-12 | 56 |
| 3,61-3,80 | 71 | | | > 12 | 80 |
| > 3,80 | 85 | > 150 | 21 | | |

Von LÜTHI (1957 c) ist darauf hingewiesen worden, daß auch die Rebensorte einen Einfluß auf den biologischen Säureabbau hat. In einigen Sorten soll der Säureabbau schlecht möglich sein, so daß diese Sorten aufgegeben worden sind. Leider ist darüber nichts Näheres bekannt. Wahrscheinlich beruht aber die „Sortenwirkung“ im Wesentlichen auf dem pH-Wert des Mostes. In Sorten, die Moste mit sehr niedrigen pH-Werten liefern, dürfte der Säureabbau besonders schlecht einzuleiten sein.

b) Einleitung des Äpfelsäureabbaus durch Bakterienkulturen

Seit der Entdeckung, daß der Abbau der Äpfelsäure zu Milchsäure in Wein durch Bakterien bewirkt wird, sind viele Versuche durchgeführt worden, Reinkulturen von Milchsäurebakterien zur Einleitung des Äpfelsäureabbaus zu verwenden. Der Ausgang dieser Versuche war jedoch oft nicht befriedigend (SCHANDERL 1959). Erfolge in einem Jahr mit an tiefe pH-Werte adaptierten Bakterienstämmen konnten später nicht mehr bestätigt werden (LÜTHI und VERSCH 1959 a). Da es gelegentlich vorkommt, daß trotz Erwärmung des Kellers, chemischer Entsäuerung und geringer SO_2 -Zugabe der gewünschte Säureabbau nicht erfolgt (FELL 1961), besteht nach wie vor ein Interesse an Reinkulturen von säureabbauenden Bakterien. Von RADLER (1957) waren adaptierte Zellen von *Lactobacillus arabinosus* zur Dekarboxylierung von Äpfelsäure in Traubenmost verwendet worden. Durch Anwendung einer größeren Menge von Bakterien konnte die Äpfelsäure in Traubenmost in wenigen Stunden dekarboxyliert werden. Die Bakterien vermehrten sich dabei nicht. Die Äpfelsäure wurde von den in den Traubenmost eingebrachten Bakterienenzymen umgesetzt. Gleichzeitig oder später eingesäte Hefen vergoren den Most ohne Störung. Im Wein wurde das Enzym durch den Alkohol gehemmt, so daß der Äpfelsäureabbau nicht auf gleiche Weise durchgeführt werden konnte. Von DUPUY und MELAMED (1959) wurde ebenfalls *Lactobacillus arabinosus* zur Dekarboxylierung von Äpfelsäure in Traubenmost verwendet. Wenn der pH-Wert nicht zu niedrig war und keine Hemmung durch zu schnelle Alkoholbildung erfolgte, genügte eine Einsaat von 10^6 Keimen je ml. Durch Einsaat von vorkultivierten säureabbauenden Bakterien ($5 \cdot 10^5$ Keime je ml) in Most vor oder bei Beginn der Gärung konnte der Äpfelsäureabbau so gefördert werden, daß er gleichzeitig mit der alkoholischen Gärung beendet war (SUDRAUD und CASSIGNARD 1958).

Nach FLESCH und JERCHEL (1958) soll in Weinen, in denen kein spontaner Säureabbau erfolgt war, dieser durch Einsaat von Zellen von „*B. gracile*“ nur dann einzuleiten sein, wenn der pH-Wert durch Neutralisation auf pH 4,5 eingestellt wird, was natürlich in kellerwirtschaftlicher Hinsicht undurchführbar ist. Es wird daher empfohlen, die Bakterien vorzukultivieren und sie dann durch stufenweisen Zusatz des Weines zum Nährmedium an den Wein zu gewöhnen (FLESCH und JERCHEL, 1959). In Birnensaftmedium bei pH 3,5 vorkultivierte Bakterien sollen zum Äpfelsäureabbau besser geeignet sein als solche aus einem Wein, in dem sie an pH 3,4 adaptiert worden waren (FLESCH und JERCHEL 1960).

Nach PEYNAUD und DOMERCQ (1959, 1961) kann der Abbau der Äpfelsäure leicht durchgeführt werden, wenn der Most gleichzeitig mit Hefen und Bakterien beimpft wird. Der Äpfelsäureabbau beginnt dann kurz vor dem Ende der alkoholischen Gärung. Bei einer Einsaat von 10^1 – 10^5 Bakterienzellen je ml und Bebrütung bei 25° soll der Säureabbau in 11–15 Tagen beendet sein; auch bei pH 2,9 soll er noch innerhalb von 30 Tagen erfolgen. Diese Methode wird für die Praxis als geeignet angesehen. Eine Mostschwefelung von weniger als 150 mg SO_2 je Liter soll nicht stören, jedoch darf bei Zugabe der Bakterienkulturen im Most nicht zu viel freie schweflige Säure vorhanden sein.

Da das Wachstum der Äpfelsäure abbauenden Bakterien durch die Hefen auch unter ungünstigen Bedingungen sehr wesentlich gefördert wird, ist von RADLER (1960) vorgeschlagen worden, an Stelle von Bakterienreinkulturen Hefe-Bakterien-Mischkulturen zu verwenden, die ebenso wie bisher die Hefereinkulturen eingesetzt werden könnten. Unabhängig davon wurden von FELL (1961) Hefe-Bakterien-Mischkulturen zur Einleitung des Säureabbaus angewendet. Bei Einsaat in einen Most waren Gärung und Säureabbau nach 8 Tagen beendet. Schwierigkeiten bereitete es, die Bakterien und Hefen über längere Zeit haltbar zu machen. Bei einer

Lagerung von 5 Monaten bei 5° in einer 10%igen Rohrzuckerlösung überleben die Hefen, nicht dagegen die Bakterien; unter Kohlensäure bleiben die Bakterien in Wein lebensfähig, aber die Hefen werden geschädigt. Durch Lyophilisation bei 0,01 mm Hg, 20 Stunden bei -19° konnten die Mischkulturen in 10%iger Rohrzuckerlösung haltbar gemacht werden. Es genügte dann, wenn das Lyophilisat zur Einleitung von Gärung und Säureabbau dem Most zugesetzt wurde.

Reinkulturen von „*B. gracile*“ wurden von SCHMIDT durch Lyophilisieren haltbar gemacht. Die Überlebens-Rate der Keime wurde bestimmt; sie war bei raschem Einfrieren am höchsten. In Birnensaft soll die Schädigung von gefriergetrockneten Zellen von „*B. gracile*“ nach 6 bis 12 Wochen sehr gering sein, wie FLESCH und JERCHEL (1961) mit Fluoreszenzmikroskopie feststellten. Vor einem Zusatz zum Wein oder Most mußten die Zellen jedoch zum „Regenerieren“ zwei Tage in Birnensaftlösung gebracht werden.

WEBB und INGRAHAM (1960) haben eine größere Zahl von Äpfelsäure abbauenden Bakterienstämmen auf ihre Eignung zur Einleitung des Säureabbaus in verschiedenen Weinsorten untersucht. Nicht alle isolierten Stämme erwiesen sich als geeignet. Äpfelsäure abbauende Bakterienstämme in Weißweinen waren auch zum Säureabbau in Rotweinen befähigt. Durch Einsaat von vorkultivierten Bakterien in Traubenmost gelang es auch in Großversuchen, den Äpfelsäureabbau in wenigen Tagen durchzuführen.

Leider ist auch durch die erfolgreichen Versuche zur Einleitung und Durchführung des biologischen Säureabbaus mit Bakterienkulturen oder Hefe-Bakterien-Mischkulturen das technische Problem des Säureabbaus noch nicht restlos gelöst. Den Äpfelsäureabbau durch Zusatz von Bakterien zum Traubenmost einzuleiten, erscheint nicht schwierig, dagegen hat der Bakterienzusatz zum Wein bisher nicht immer den gewünschten Erfolg gehabt. Da der bakterielle Säureabbau in den meisten Fällen spontan eintritt, wird man kaum unnötig Bakterienkulturen anwenden wollen, ebenso wie es für den Ausbau von Traubenwein keineswegs notwendig ist, Hefereinkulturen für die Vergärung zu verwenden. In Weinen, in denen der Säureabbau ausgeblieben ist, sei es durch zu hohe Schwefelung, niedrigen pH-Wert, niedrige Gärtemperatur usw., dürfte es nach wie vor schwierig sein, den Säureabbau in einer technisch anwendbaren und rationellen Weise künstlich durchzuführen.

c) Nebenwirkungen des biologischen Säureabbaus auf den Wein.

Der biologische Säureabbau wird meist als ein natürlicher Reifungsvorgang des Weines angesehen. Die Decarboxylierung der Äpfelsäure zu Milchsäure ist die wesentlichste Umsetzung, die von den Bakterien durchgeführt wird. Aus energetischen Gründen müssen noch weitere Umsetzungen für die Wachstumsvorgänge erfolgen. Wie bereits näher ausgeführt, gibt es keine eigentlichen „Bakterien des biologischen Säureabbaus“, sondern der Äpfelsäureabbau wird im Wein von einer Reihe von Milchsäurebakterien durchgeführt, die auch von anderen Standorten bekannt sind und die unter Umständen zum Verderb von Wein oder Traubenmost führen können. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß durch den biologischen Säureabbau nicht nur die Äpfelsäure zu Milchsäure decarboxyliert wird, sondern gleichzeitig in geringem Umfang weitere Umsetzungen erfolgen.

Ob durch den Säureabbau eine geschmacklich nachteilige Beeinflussung des Weines erfolgt, ist noch umstritten. Zweifellos wird in den meisten Fällen der Wein durch den Säureabbau im Geschmack verändert (ZIMMERMANN 1958). Es sollen ge-

ruchlich und geschmacklich hervortretende Bukettstoffe entstehen, und die Weine sollen „ausgeglichener, feiner, widerstandsfähiger und bekömmlicher“ werden (GESSINGER 1956). Wie bereits näher ausgeführt, ist der Säureabbau für manche Qualitätsweine eine unerläßliche Voraussetzung, siehe Seite 145. Andererseits wird angegeben, daß einige Weine nach einem zeitigen Säureabbau vorübergehend einen Geruch nach Schwefelwasserstoff aufweisen, andere sollen einen schwachen, aber deutlichen Geruch und Geschmack nach Sauerkraut annehmen können (VAUGHN und TSCHELISTSCHEFF 1957). Von ZIMMERMANN und WAGNER (1956) wurde in Kleinversuchen bei zu stark „abgebauten Weinen“ ein unsauberer Geschmack und Milchsäurestich festgestellt; beim Weinausbau im Faß wurden dagegen keine Mängel beobachtet. VOGR (1957) weist darauf hin, daß bei zu hoher Kellertemperatur oder bei zu langem Belassen des Jungweines auf der Hefe der Säureabbau ein unerwünschtes Ausmaß annehmen und es infolge zu starker Entwicklung der Bakterien zu einem Säuresturz und zu einem „Scharfwerden“ der Weine kommen kann.

Im Gegensatz dazu wird von CARR (1959) berichtet, daß die Milchsäurebakterien in Apfelwein nur eine Verminderung der Säure und keine unangenehmen Veränderungen bewirken, was auf die im Vergleich zum Wein ungünstigen Nährstoffverhältnisse zurückgeführt wird.

Über die stofflichen Grundlagen der geschmacklichen Veränderung des Weines durch Äpfelsäure abbauende Bakterien ist bisher nur wenig bekannt. Milchsäurebakterien bewirken bei der Säuerung von Milch und Rahm das sogenannte „Butteraroma“, dessen wesentlicher Bestandteil Diacetyl bereits in Konzentrationen von 1 : 1 000 000 geschmacklich wirksam ist. Es kann leicht durch Oxydation aus dem nahe verwandten, in geschmacklicher Hinsicht kaum wirksamen, Acetoin entstehen. In Bier können Milchsäurebakterien durch Bildung von Diacetyl unangenehme Geschmacksveränderungen hervorrufen (SHIMWELL 1949). Nach HILL und Mitarb. (1954) bewirkt ein erhöhter Gehalt an Diacetyl oder Acetoin (5–10 mg je Liter) in Orangensaftkonzentraten einen unangenehmen Geschmack. Diese Verbindungen werden von *Lactobacillus*- oder *Leuconostoc*-Arten gebildet. Von VAUGHN und TSCHELISTSCHEFF (1957) wurde auf die Möglichkeit hingewiesen, daß Acetoin und Diacetyl von Milchsäurebakterien im Wein gebildet werden könnten. Ein Zusatz von technischem Acetoin bewirkt nämlich im Wein einen an Sauerkraut oder Molke erinnernden Geschmack (Milchsäurestich). RADLER (1962) zeigte, daß aus Wein isolierte Äpfelsäure abbauende Bakterien beim Wachstum in synthetischer Nährlösung oder Traubenmost Acetoin bzw. Diacetyl bilden können. In Übereinstimmung damit weisen Weißweine verschiedener Rebensorten einen höheren Gehalt ($9,3 \pm 0,68$ mg je Liter) an diesen geschmacklich wirksamen Stoffen auf, als Weine ohne Säureabbau ($4,3 \pm 0,54$ mg je Liter). Wein erfährt demnach durch den biologischen Säureabbau nicht nur eine Säureverminderung, sondern wird auch in der Zusammensetzung geschmacklich wirksamer Stoffe verändert. Die einzelnen Stämme der Milchsäurebakterien unterscheiden sich in ihrer Fähigkeit zur Bildung von Acetoin und Diacetyl. BIDAN (1956) konnte z. B. bei vier heterofermentativen Milchsäurebakterienstämmen aus Wein keine Acetoinbildung nachweisen.

Die Diacetylbildung von Milchsäurebakterien ist abhängig von der Zusammensetzung des Mediums, dem pH-Wert und der Temperatur. Unter günstigen Bedingungen wird wenig Diacetyl gebildet (CHRISTENSEN und PEDERSON 1958). Homofermentative Stämme bilden mehr Diacetyl als heterofermentative Stämme. Die Acetoinbildung verläuft über Brenztraubensäure, die quantitativ zu 1 Mol. Kohlensäure und $\frac{1}{2}$ Mol. Acetoin umgesetzt wird. α -Acetolaktat ergibt je 1 Mol. Kohlensäure und Acetoin (MOAT und LICHTSTEIN 1953). BUSSE und KANDLER (1961) wiesen mit radioaktiv markiertem Zucker bei

Leuconostoc citrovorum den Weg der Acetoinbildung über Brenztraubensäure und α -Acetolaktat nach.

Die Bildung von Acetoin und Diacetyl wird wahrscheinlich nicht die einzige Umsetzung sein, bei der von Milchsäurebakterien im Wein geschmacklich wirksame Stoffe gebildet werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Bakterien auch beim „normalen“ Säureabbau durch Umsatz von Stickstoffverbindungen geringe Mengen von Geschmacksstoffen bilden.

Es ist bisher noch nicht geklärt, wie es überhaupt zu einem „normalen“ Säureabbau kommt. Für den Abbau der Äpfelsäure ist die Entwicklung von mehreren Millionen Bakterien je ml erforderlich. Warum wird von diesen Bakterienmengen nur die Äpfelsäure abgebaut, ohne daß es im Normalfall zu weiteren wesentlichen und für den Wein schädlichen Umsetzungen kommt? Wahrscheinlich fehlen für eine Weiterentwicklung der Bakterien die notwendigen Nährstoffe, insbesondere Kohlenhydrate. Tatsächlich sind ja auch Weine, die größere Mengen von Zucker enthalten, durch die Milchsäurebakterien besonders gefährdet (FELL und MICHOD 1960). Es ist anzunehmen, daß die Milchsäurebakterien vor allem durch die bei den Weinabstichen erfolgenden Zusätze von schwefliger Säure sehr wesentlich im Wachstum gehemmt werden. Mit Recht ist darauf hingewiesen worden, daß der Wein nach dem Säureabbau und vor dem Abstich besonders instabil und gefährdet ist (MICHOD und FELL 1961).

Auch wenn die Äpfelsäure abbauenden Bakterien im Wein sich nicht so weit vermehren, daß es zu einer krankhaften Veränderung des Weines kommt (Milchsäuregärung, Schleimigwerden), wird mit einer geschmacklichen Beeinflussung des Weines durch die Bakterien gerechnet werden müssen. Ob diese Geschmacksveränderungen günstig sind oder nicht, kann letztlich nur von der Praxis entschieden werden. Die nachgewiesene Bildung von Acetoin und Diacetyl kann sehr wünschenswert sein, zumal Diacetyl ein verbreiteter Geschmacksstoff ist. Durch eine zu starke Bildung von Acetoin und Diacetyl kann dagegen der Wein ungünstig beeinflusst werden.

2. Chemische Methoden zur Veränderung des Säuregehaltes.

Neben der gelegentlich etwas unsicheren Lenkung des biologischen Säureabbaus durch Temperaturerhöhung, Lagerung auf der Hefe usw., bestehen noch andere Möglichkeiten zur Senkung des Säuregehaltes im Wein. Das einfachste Verfahren ist der Verschnitt von geeigneten Weinen zur Erzielung des gewünschten Säuregehaltes. Durch einen Zusatz von Zuckerwasser (Verbesserung) kann ebenfalls der Säuregehalt vermindert werden. Dies ist jedoch nur in wenigen Ländern erlaubt. Eine weitere einfache Methode zur Verringerung des Säuregehaltes im Wein ist der Zusatz von Calciumcarbonat, wodurch die Weinsäure als saures Calciumsalz ausgefällt wird. Die in sauren Weinen überwiegende Äpfelsäure kann mit Calciumcarbonat nur bei sehr genauer Kenntnis der Säure- und Alkalikonzentrationen als Äpfelsäure-Weinsäuredoppelsalz gefällt werden (MÜNZ 1961). Dieses Verfahren ist bisher nicht zulässig und wird erst versuchsweise erprobt.

Mit Hilfe von Ionenaustauschern ist es prinzipiell möglich, den Säuregehalt in beliebiger Weise zu beeinflussen. Allerdings besteht die Möglichkeit, daß durch Ionenaustauscher Geschmacksstoffe verändert und Aminosäuren und evtl. auch Vitamine, die u. a. für die Äpfelsäure abbauenden Bakterien erforderlich sind, ent-

fernt werden. Bisher ist die Anwendung von Ionenaustauschern bei der Weinbereitung in den meisten Ländern nicht gestattet.

Eine Erhöhung des Säuregehaltes ist gelegentlich in sehr säurearmen Südweinen erwünscht, sie kann nur durch einen Säurezusatz erzielt werden. In einigen Ländern ist ein Zusatz von Weinsäure oder Zitronensäure erlaubt.

Ausblick

Bei der Herstellung von Wein wird stets ein Gemisch von Mikroorganismen zugegen sein, da das Ausgangsprodukt Traubenmost nicht ohne großen technischen Aufwand keimfrei gemacht werden kann. Im Wein werden also auch immer Milchsäurebakterien anwesend sein, deren Tätigkeit gelenkt werden muß. Die einzige bakterielle Umsetzung, die für den Wein vorteilhaft sein kann, ist der biologische Säureabbau; als natürlicher Gärungsvorgang wird er immer eine Bedeutung für den Weinausbau haben. Die durch den Säureabbau bewirkte Verminderung des Gesamtsäuregehaltes kann auch mit anderen Methoden erreicht werden; die geschmackliche Beeinflussung des Weines durch die säureabbauenden Bakterien wird kaum durch andere Maßnahmen ersetzt werden können.

Bisher ist in der praktischen Weinbereitung zur Säureverminderung nur der spontane Säureabbau ausgenutzt worden, der ebenso wie die alkoholische Gärung in der Regel durch die natürliche Mikroflora erfolgt. Da der Säureabbau meist spontan abläuft, wird die Anwendung von Bakterienreinkulturen oder Hefe-Bakterien-Mischkulturen auf wenige Sonderfälle beschränkt bleiben. Falls aber die Kurzzeiterhitzung von Most zur Eiweißstabilisierung und Inaktivierung von Polyphenoloxidasen in größerem Umfang bei der Weinbereitung angewandt werden sollte, wird man zur Einleitung des Säureabbaus Bakterienkulturen oder Hefe-Bakterien-Mischkulturen benötigen. Es dürfte grundsätzlich vorteilhaft sein, wenn der Äpfelsäureabbau erfolgt, bevor der Wein auf Flaschen abgefüllt wird. Die Weine werden dadurch stabilisiert und sind gegen bakterielle Veränderungen — Trübung, Gasbildung — weniger anfällig. Weine, die noch Äpfelsäure enthalten, werden also in der Regel steril abgefüllt oder pasteurisiert werden müssen, wenn nicht durch einen erhöhten Gehalt an schwefliger Säure die Entwicklung von Bakterien verhindert werden kann. Die geringe Stabilität Äpfelsäure enthaltender Weine ist ein Nachteil, der allen chemischen Entsäuerungsverfahren anhaftet. Wenn also der biologische Säureabbau durch andere Methoden ersetzt wird, ist mit neuen Problemen zu rechnen.

Gelegentlich wird der biologische Säureabbau auf Grund irgendwelcher Vorwände abgelehnt, weil der Zusatz von Zuckerwasser zum Wein eine wirtschaftlich vorteilhafte Maßnahme zur Säureverminderung ist, vorauf ZIMMERMANN (1958) hingewiesen hat. Wenn der biologische Säureabbau verhindert wird, um dem Wein eine größere Menge Zuckerwasser zusetzen zu können, so entspricht nach Ansicht von GESSINGER (1956) eine solche „Verbesserung“ nicht mehr den Vorschriften des deutschen Weingesetzes, das die Verbesserung nur erlaubt, um einem natürlichen Übermaß an Säure abzuhelfen.

Ein großer Nachteil des biologischen Säureabbaus ist es, daß alle Maßnahmen, die ihn begünstigen, einer Erhaltung von unvergorenem Zucker (Restsüße) im Wein entgegen gerichtet sind (KLENK 1954). Es ist technisch nicht möglich, einen Restzuckergehalt im Wein zu erhalten und gleichzeitig den biologischen Säureabbau durchzuführen. Bei Weinen mit einem normalen Alkoholgehalt wird unter Bedingungen, die den Säureabbau gestatten, der Zucker vollständig vergoren. Der Gehalt an unvergorenem Zucker kann dann nur durch Verschnitt wieder erhöht werden.

Der Wein erfährt durch den Säureabbau eine leichte Geschmacksveränderung, was in der Regel vorteilhaft ist. Es besteht aber die Möglichkeit, daß für einige Weinsorten der biologische Säureabbau nachteilige Folgen hat. So ist es z. B. durchaus möglich, daß Moselweine, bei denen der Säureabbau meist verhindert wird, durch einen bakteriellen Abbau der Äpfelsäure in untypischer Weise beeinflußt werden können.

Für die Mehrzahl der Weinbaugebiete in den nördlichen Zonen wird über der biologische Säureabbau ein natürlicher und wünschenswerter Reifungsprozeß bleiben.

Zusammenfassung

Bei der Weinbereitung spielen Bakterien eine wesentliche Rolle als Erreger von Weinkrankheiten und des in der ganzen Welt verbreiteten und überwiegend wünschenswerten Äpfelsäureabbaus, des sogenannten biologischen Säureabbaus. Traubenmost und Wein sind für das Wachstum von Bakterien extrem ungünstige Substrate. Es kommen darin nur Essigsäurebakterien und Milchsäurebakterien zur Entwicklung.

Über die Herkunft der Bakterien ist bisher wenig bekannt. Essigsäurebakterien werden mit dem Lesegut in die Keller gebracht. Wahrscheinlich kommen auch die Milchsäurebakterien als Aufwuchsflora auf den Trauben vor, jedoch ist in frischem Traubenmost der Gehalt an Milchsäurebakterien sehr gering. Es ist daher möglich, daß sich in den Weinkellern eine eigene Mikroflora ansiedelt, in der spezialisierte Keime über längere Zeit erhalten bleiben.

Unter anaeroben Bedingungen können im Wein nur Milchsäurebakterien (*Lactobacillaceae*) wachsen. Eine Reihe von homofermentativen und heterofermentativen Arten wurde bisher isoliert; sie können in der Regel den Gattungen *Lactobacillus* und *Leuconostoc* zugeordnet werden, jedoch sind „untypische“ Stämme nicht selten. Für die Isolierung und Kultivierung der häufig nur langsam wachsenden Milchsäurebakterien sind eine Reihe von Methoden entwickelt worden.

Im Gegensatz zu den bakteriellen Weinkrankheiten (Milchsäurestich, Lindwerden, Umschlagen u. a.) ist der biologische Säureabbau eine nützliche bakterielle Umsetzung im Wein. Da Äpfelsäure von fast allen im Wein vorkommenden Milchsäurebakterien zu Milchsäure dekarboxyliert werden kann, bestehen sehr enge Beziehungen zwischen Äpfelsäureabbau und den Weinkrankheiten.

Die enzymatischen Vorgänge beim biologischen Säureabbau sind weitgehend aufgeklärt worden. Äpfelsäure wird entweder mit Äpfelsäureenzym („malic enzyme“) oxydativ zu Brenztraubensäure dekarboxyliert, die durch Milchsäuredehydrogenase zu Milchsäure reduziert wird, oder die Äpfelsäure wird von Äpfelsäuredehydrogenase zu Oxalessigsäure und diese anschließend durch Oxalessigsäuredekarboxylase zu Brenztraubensäure umgewandelt. Diese wird dann ebenfalls zu Milchsäure reduziert. Das Äpfelsäureenzym ist wahrscheinlich das beim biologischen Säureabbau überwiegend wirksame Ferment. Es ist adaptiv und wird nur bei Gegenwart von Äpfelsäure von den Bakterien gebildet, wozu ferner die Gegenwart weiterer Verbindungen wie Kohlehydraten und Aminosäuren erforderlich ist.

Voraussetzung für den biologischen Säureabbau ist, daß die Bakterien im Traubenmost oder Wein wachsen können. Die Entwicklung der Bakterien im Wein wird durch chemische, physikalische und biologische Faktoren beeinflußt. Die säureabbauenden Bakterien benötigen vergärbare Kohlehydrate, Aminosäuren, Vita-

mine der B-Gruppe und Mineralstoffe. Wahrscheinlich können von den Bakterien im Wein auch Peptide oder Eiweiß umgesetzt werden, diese Verbindungen sind jedoch keine unbedingte Voraussetzung. Der Nährstoffbedarf der Milchsäurebakterien des Weines konnte durch Kultur in synthetischen Medien aufgeklärt werden. Normalerweise dürften im Traubenmost oder Wein alle für das Wachstum der Milchsäurebakterien erforderlichen Stoffe vorhanden sein. Im Wein wirken vor allem schweflige Säure und Äthylalkohol und hohe Wasserstoffionenkonzentrationen hemmend. Niedrigere Temperaturen als 15° sind für die Bakterien ungünstig. Der ganze Komplex dieser Faktoren ist die Ursache für die häufig beschriebene Unsicherheit, die dem biologischen Säureabbau anhaftet.

Die Hefen können durch Nährstoffentzug bei raschem Wachstum und durch Alkoholbildung die Entwicklung der Bakterien hemmen; im allgemeinen dürfte jedoch die fördernde Wirkung der Hefen überwiegen. Mischkulturen von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien und Hefen können sich auch in solchen Mangelmedien entwickeln, die den Bakterien allein infolge des Fehlens von essentiellen Aminosäuren oder Wuchsstoffen das Wachstum nicht ermöglichen. Selbst wenn im Wein gelegentlich essentielle Stoffe für das Bakterienwachstum fehlen sollten, würde durch die Gegenwart von Hefen dieser Mangel von den Bakterien überwunden werden können. Auch bei niedrigen pH-Werten wird das Wachstum der Bakterien durch die Gegenwart von Hefe begünstigt.

Bei der Weinbereitung wird bisher nur der spontane bakterielle Äpfelsäureabbau zur Verminderung eines unerwünscht hohen Säuregehaltes ausgenutzt. Meist werden zur Förderung des spontanen Säureabbaus mit Erfolg bewährte Verfahren angewandt, wie Erwärmen des Kellers, geringer SO₂-Zusatz usw. Der biologische Säureabbau kann auch mit Bakterienkulturen oder Bakterien-Hefe-Mischkulturen eingeleitet werden, wenn diese Organismen dem Traubenmost zugesetzt werden. Versuche zur Einleitung des Äpfelsäureabbaus in einem vergorenen Wein sind dagegen nur selten erfolgreich.

Im allgemeinen wird der biologische Säureabbau in Weinen des nördlichen Anbaubereiches als notwendig und qualitätserhöhend angesehen. Durch die Tätigkeit der Bakterien wird aber nicht nur die Äpfelsäure zu Milchsäure und Kohlensäure umgesetzt, sondern es kann auch der Wein in seinem Gehalt an geschmacklich wirksamen Substanzen verändert werden.

Als natürlicher Gärungs- und Reifungsprozeß wird der biologische Säureabbau wegen der damit verbundenen Stabilisierung und Geschmacksbeeinflussung nur in Sonderfällen durch andere Methoden zur Säureverminderung im Wein ersetzt werden können.

Literaturverzeichnis*)

- BUSSE, M. and O. KANDLER: Biosynthesis of acetoin by *Leuconostoc citrovorum*. Nature **189**, 774—775 (1961).
- FELL, G. et J. MICHOD: Au sujet d'une maladie affectant les vins encore doux. Rev. Romande **16**, 67—68 (1960).
- FLESCHE, P. und D. JERCHEL: Die Gefriertrocknung von *Bacterium gracile*. Mitt. Klosterneuburg Ser. A, **11**, 12—16 (1961).
- GESSINGER, J.: Der biologische Säureabbau im Wein. Weinblatt, 552—553 (1956).
- HILL, E. C. F. W. WENZEL, and A. BARRETO: Colorimetric method for detection of microbiological spoilage in citrus juices. Food Technol. **8**, 168—171 (1954).

*) Die bereits in den Teilen I und II zitierte Literatur ist in dieser Zusammenstellung nicht nochmals aufgeführt worden.

- KLENK, E. und STRECKER: Die Möglichkeit der Säureverminderung in Most und Wein. Dt. Weinbau 10, 609—610 (1955).
- MICHOD, J. et G. FELL: Quand et comment faut-il traiter nos vins au carbonate de chaux? Rev. Romande 16, 77—78 (1960).
- MICHOD, J. et G. FELL: La fin de la fermentation malolactique, un moment critique de l'évolution du vin. Rev. Romande 17, 78 (1961).
- MÜNZ, TH.: Methoden zur praktischen Fällung der Wein- und Äpfelsäure als Ca-Doppelsalz. Weinberg u. Keller 8, 155—158 (1961).
- RADLER, F.: Die Bildung von Acetoin und Diacetyl durch die Bakterien des biologischen Säureabbaus. Vitis 3, 136—143 (1962).
- SCHÄTZLEIN, C.: Untersuchung der 1913er Moste der Pfalz. Weinbau der Rheinpfalz 2, 13—15 (1914).
- — , und O. KRUG: Untersuchungen über den Säurerückgang bei 1913er Pfalzweinen. Weinbau der Rheinpfalz 4, 1—8 (1916).
- VOGT, E.: Der Abbau der Säure im Wein. Dt. Wein-Ztg., 84—85 (1957).
- WEGER, B.: Erfahrungen mit dem biologischen Säureabbau und der Mostentsäuerung bei süd-tiroler Weinen. Wein-Wiss. 14, 136—140 (1959).
- ZIMMERMANN, E. und K. WAGNER: Erfahrungen um den Säureabbau. Weinblatt, 707—711 (1956).
- — : Sind die Widerstände gegen den Säureabbau berechtigt? Dt. Wein-Ztg., 664—666 (1958).

Eingegangen am 20. 7. 1962

Dr. F. RADLER
 Forschungsinstitut für Rebenzüchtung
 Geilweilerhof
 Siebeldingen über Landau/Pfalz
 z. Z.: C. S. I. R. O.
 Research Station
 Merbein, Vic.
 Australien