

Untersuchungen über die experimentelle Durchführung des biologischen Säureabbaues

von

F. RADLER

Einleitung

Ein wesentlicher Vorgang bei der Reifung des Weines ist die Abnahme des Säuregehaltes, die in der Regel im Anschluß an die durch Hefe verursachte alkoholische Gärung erfolgt. Dieser Säurerückgang führt zu einer erheblichen Verminderung des Gehaltes an freien Säuren des Mostes, die im wesentlichen aus Äpfelsäure und Weinsäure bestehen. Andere Säuren z. B. Zitronensäure kommen im Most gewöhnlich nur in so geringer Menge vor, daß ihr Abbau (CARPENTIE und Mitarb. 1951) für den Rückgang an Gesamtsäure ohne Bedeutung ist.

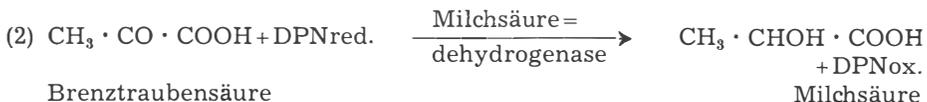
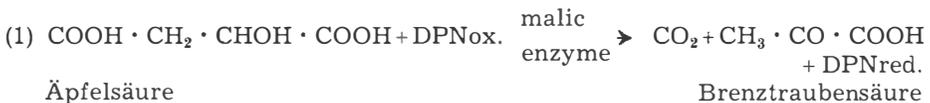
Die Abnahme des Gehaltes an Weinsäure und Äpfelsäure im Laufe der Entwicklung des Mostes zum Wein sind zwei grundsätzlich verschiedene Vorgänge. Weinsäure wird durch Kristallisation von Weinstein ausgefällt, während Äpfelsäure enzymatisch abgebaut wird. Der Säurerückgang erfolgt durch Übergang der zweibasischen Äpfelsäure in die schwach dissoziierte, einbasische Milchsäure, während die Kohlensäure als Gas frei wird und entweichen kann. Seit der Entdeckung des Äpfelsäureabbaues durch MÜLLER-THURGAU (1891), ist über dieses Gebiet eine umfangreiche Literatur entstanden, die im einzelnen wiederzugeben an dieser Stelle nicht möglich ist. (Übersichten siehe SCHANDLER 1950, VOGT 1951, PEYNAUD 1955, K. RIPPEL 1950 u. a.).

Es besteht kein Zweifel darüber, daß Äpfelsäure enzymatisch in Milchsäure und Kohlensäure zerlegt wird, jedoch war die Herkunft der Enzyme, die diese Umsetzung bewirken, eine Zeit lang umstritten. Grundsätzlich könnten diese Enzyme 1. aus dem Most selbst, 2. aus der Hefe und 3. von Bakterien stammen. An sich ist es durchaus wahrscheinlich, daß im Rebensaft Enzyme vorhanden sind, die Äpfelsäure abzubauen vermögen. Da Enzyme fast ausnahmslos reversibel sind, ist anzunehmen, daß dieselben Enzyme, die Äpfelsäure zu bilden vermögen, diese auch abbauen können. Nachweisbar sind jedoch äpfelsäureabbauende Enzyme im Most nicht. Sterilfiltrierter Most bleibt unverändert. Die zweite Möglichkeit, daß Fermente der Hefe den Äpfelsäureabbau verursachen, wird nicht mehr ernsthaft diskutiert, da der Äpfelsäuregehalt steril mit Reinhefe vergorenen Mostes nicht merklich abnimmt. Entsprechende Versuche sind auch schon von MÜLLER-THURGAU u. OSTERWALDER (1913) und SEIFERT (1901, 1903) durchgeführt worden.

Seit der Entdeckung des sogenannten biologischen Säureabbaues wird daher angenommen, daß Bakterien die Ursache des Abbaues der Äpfelsäure zu Milchsäure und Kohlensäure sind. Schon MÜLLER-THURGAU u. OSTERWALDER (1913) und KOCH (1898, 1900) haben eine Reihe von Bakterien aus Wein isoliert und näher beschrieben. Es gelang auch, Äpfelsäure mit Hilfe dieser Bakterien zu zersetzen, doch ließ sich durch Beimpfen von Most oder Jungwein mit diesen Bakterien nie eine „Äpfelsäuregärung“ durchführen, wie es bei der alkoholischen Gärung mit Reinhefe möglich ist. Das Mißlingen dieser Versuche sowie die beträchtliche Unsicherheit, die der „Äpfelsäuregärung“ auch beim gewerbsmäßigen Ausbau von Weinen anhaftet, hat diesen Vorgang immer ein wenig rätselhaft erscheinen lassen. Die Praxis weiß sehr genau, daß der Säureabbau zwar häufig normal eintritt, aber auch manchmal ohne ersichtlichen Grund ausbleibt. Aus ihren Beobachtungen entstanden Hypothesen zur Deutung der Vorgänge um den biologischen Säureabbau und damit gleichzeitig empirische Verfahren, um den Säureabbau zu lenken. Entsprechend der Qualität des Mostes ist es nämlich häufig erwünscht, den Säureabbau zur Erhaltung oder Steigerung der Qualität zu unterdrücken oder zu fördern.

Den Säureabbau zu unterbinden ist heute kein Problem mehr. Eine Förderung oder eine Beschleunigung des Säureabbaues ist dagegen nicht mit gleicher Sicherheit zu erzielen. Wohl sind eine Reihe von Maßnahmen bekannt, durch die der Säureabbau gefördert wird: Möglichst lange Trübhaltung des Mostes bzw. des Jungweines, (evtl. durch fraktionierte Zuckering), langes Stehenlassen auf dem Hefetrub und gelegentliches Aufrühren, möglichst hohe Lagertemperatur, geringe oder keine Schwefelung. Sicher sind jedoch alle diese Maßnahmen nicht. Wenn der spontane Säureabbau ausbleibt, hat man bisher keine Möglichkeit den einmal unterbliebenen Säureabbau wieder in Gang zu bringen.

Durch die grundlegenden Arbeiten von OCHOA u. Mitarb. (1948, 1950), KORKES u. OCHOA (1948), KORKES u. Mitarb. (1950) scheint sich eine neue Möglichkeit zu eröffnen, den biologischen Säureabbau im Most oder Wein durchzuführen. OCHOA u. Mitarb. haben zunächst in Taubenleber, später in dem Milchsäurebakterium *Lactobacillus arabinosus* ein Enzym (malic enzyme) entdeckt, das bei Gegenwart von Triphosphopyridinnucleotid (TPN) bzw. Diphosphopyridinnucleotid (DPN) Äpfelsäure annähernd quantitativ zu dekarboxylieren vermag, wobei Kohlensäure und Brenztraubensäure entstehen (1). Die auch in gereinigten Enzympräparaten stets vorhandene Milchsäuredehydrogenase reduziert dann die Brenztraubensäure mit Hilfe des DPNred. sofort zur Milchsäure (2). Diese neuen enzymatischen Befunde, auf deren Bedeutung für die Weinchemie PEYNAUD (1955) besonders hingewiesen hat, ließen vermuten, daß mit Hilfe des Apfelenzyms (malic enzyme) von *L. arabinosus* der Äpfelsäureabbau im Wein experimentell durchgeführt werden kann.



Material und Methoden

1. Mikroorganismen. Das Milchsäurebakterium *Lactobacillus arabinosus* 17-5*) wurde mir freundlicherweise vom Max-Planck-Institut für med. Forschung, Heidelberg, überlassen. Die Kulturweinhafe war mir von Herrn Dr. Stührk, Neustadt, zur Verfügung gestellt worden.
2. Die verwendeten Traubenmoste stammen von den Versuchsanlagen der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof.
3. P_{H} -Messungen und Gesamtsäuretitrationen erfolgten mit der Glaselektrode und dem Beckmann- P_{H} -Meßgerät. Die Äpfelsäure wurde nach NOSSAL (1952) in PAECH u. TRACEY (1955) durch enzymatische Dekarboxylierung mit *L. arabinosus* und manometrischer Messung der gebildeten Kohlensäure bestimmt. Zuckerbestimmung nach LEHMANN - SCHOORL - MAQUENNE in KLEIN (1932).
4. Die Zählung der lebenden Keime erfolgte nach dem in der Bakteriologie üblichen Plattentest durch entsprechendes Verdünnen der keimhaltigen Lösungen und Auszählen der Bakterienkolonien auf Tomatensaftagarplatten.

Ergebnisse

Es ist schon häufig gelungen, Bakterien, die den Säureabbau veranlassen, zu isolieren und rein zu züchten. MÜLLER-THURGAU u. OSTERWALDER (1913) haben eine ganze Reihe von Bakterien aus Most und Wein isoliert, beschrieben und mit ihnen Äpfelsäure in synthetischen Nährlösungen umgesetzt. Es ist ihnen jedoch nicht gelungen durch Beimpfen eines Mostes oder Weines mit diesen Bakterien den sogenannten biologischen Säureabbau einzuleiten.

Most oder Wein ist nun ein für Bakterien sehr ungeeignetes Substrat. Der P_{H} -Wert liegt in der Regel zwischen 2,5 und 3,5, selten höher; dagegen ist er in Weinen, in denen ein Säureabbau erwünscht ist, meist noch niedriger. Diese Werte liegen jedoch nicht in dem Bereich, in dem selbst säuretolerante Bakterien wachsen und sich vermehren können; unterhalb P_{H} 4 ist eine rasche Vermehrung der Bakterien kaum zu erwarten, dazu kommt noch, daß die meist hohe Zucker- oder Alkoholkonzentration dem Bakterienwachstum wenig förderlich ist (von einem evtl. Gehalt von SO_2 ganz zu schweigen). Wenn eine geringe Menge Bakterien in ein ungünstiges Substrat gebracht wird, kann eigentlich nichts anderes geschehen, als daß die Bakterien in einer mehr oder weniger kurzen Zeit absterben und Most oder Wein unverändert bleiben. Die mit den Bakterien eingebrachte Menge Ferment wird dann in der Regel viel zu gering sein, um eine sichtbare Reaktion auslösen zu können.

Auf Grund dieser Überlegungen lassen sich zwei Wege beschreiten, um Äpfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure zu überführen. Entweder man wird das Substrat, d. h. den Most oder Jungwein soweit verändern, daß sich Bakterien darin vermehren können, oder man wird von vornherein so viele Bakterien in den Most oder Wein hineinbringen, daß deren Gehalt an Ferment ausreicht, um wenigstens den größten Teil der Äpfelsäure zu dekarboxylieren. Die erste Möglichkeit scheidet aus, da es weder zweckmäßig noch zulässig ist, noch kellerwirtschaftlich oder geschmacklich vertretbar wäre, den Most oder Wein etwa durch Zusatz von Alkali soweit zu verändern, daß geeignete Bakterien darauf zu wachsen vermögen. Anders ist es mit der zweiten Möglichkeit. Es ist kein Problem dem Most oder Wein eine

*) Nach BREED u. Mitarb. (1948) ist *L. arabinosus* synonym mit *L. plantarum*.

genügend große Menge Bakterien zuzusetzen, um die Äpfelsäure weitgehend zu Milchsäure abzubauen, ohne daß dazu eine Vermehrung der Bakterien erforderlich ist. Die Richtigkeit dieser Überlegung konnte durch folgende Versuche bewiesen werden.

Ein Milchsäurebakterium, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, das die Fähigkeit hat, Äpfelsäure zu dekarboxylieren, (KORKES u. OCHOA 1948) wurde nach den Angaben von NOSSAL (1952), kultiviert und in einem Massenkulturmedium an Äpfelsäure adaptiert. Nach 24 Stunden wurden die Bakterien durch Zentrifugieren von der Nährlösung getrennt und anschließend mehrmals mit dest. Wasser gewaschen, um anhaftendes Nährmedium weitgehend zu entfernen. Von diesem Bakterienbrei, der eine Trockensubstanzkonzentration von ca. 7% hatte, wurden 0,05 ml je ml einem geklärten Most und einem mit Reinhefe steril vergorenem Wein zugesetzt. Der durch die Bakterien stark getrübe

Tabelle 1

Änderung des Säuregehaltes von Most und Jungwein nach Behandlung mit einer Suspension von Apfelenzym enthaltenden Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5.

	Most (Sbl. 4-81-18)	Jungwein (Riesling)
Vor künstlichem Säureabbau		
Titrierbare freie Säure (als Weinsäure) mg je ml	13,50	10,00
Äpfelsäure mg je ml	9,55	3,70
p _H -Wert	3,10	3,25
Qualitativer Nachweis von:		
Äpfelsäure	+	+
Milchsäure	-	-
Weinsäure	+	+
Nach künstlichem Säureabbau		
Titrierbare freie Säure (als Weinsäure) berechnet mg je ml	8,24	9,80
Äpfelsäure mg je ml	0,22	3,35
Säurerückgang in Weinsäure %	5,26	0,20
Qualitativer Nachweis von:		
Äpfelsäure	-	+
Milchsäure	+	-
Weinsäure	+	+

Most und Wein wurde ca. 40 Stunden bei 30° im Brutschrank gehalten. Die papierchromatographische Trennung der Karbonsäuren (eindimensional in Butanol: Ameisensäure: Wasser = 102:20:9) ergab, daß die Säuren im behandelten Wein unverändert geblieben waren, während im Most die Äpfelsäure verschwunden war, wofür auf den Chromatogrammen Milchsäure erschien.

Die quantitative Bestimmung der Äpfelsäure (nach NOSSAL 1952) bestätigte dieses Ergebnis, siehe Tabelle 1, S. 45. Wie erwartet war es durch Verwendung einer genügend großen Menge von Bakterien gelungen, die Äpfelsäure im Most zu Milchsäure und Kohlensäure abzubauen. In einem weiteren Versuch wurde festgestellt in welcher Zeit die Äpfelsäure im Most durch eine Zellsuspension von *L. arabinosus* dekarboxyliert werden kann. Bei einer Wiederholung des beschriebenen Versuches wurden während des Äpfelsäureabbaues Proben genommen und darin die noch vorhandene Äpfelsäure bestimmt. Die Ergebnisse von Tab. 2 zeigen, daß bereits nach drei Stunden bei 30° C 83% der im Most vorhandenen Äpfelsäure abgebaut ist.

Spätestens nach 8 Stunden ist unter den beschriebenen Bedingungen der Äpfelsäureabbau im Most beendet.

Tabelle 2

Zeitlicher Ablauf des Abbaues der Äpfelsäure in einem Most (Sbl. 4-81-18) mit *Lactobacillus arabinosus* 17-5.

Dauer des Abbaues Stunden	Gehalt des Mostes an Äpfelsäure mg je ml	Äpfelsäure abgebaut %
0	9,82	0
3	1,66	83
8	0,0	100
40	0,0	100

Im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen im Most war der Äpfelsäuregehalt im Wein (siehe Tab. 1, Seite 45) durch die Behandlung mit *L. arabinosus* nicht verändert worden. Da Most und Wein sich vor allem in ihrem Zucker- und Alkoholgehalt unterscheiden, war es sehr wahrscheinlich, daß das äpfelsäureabbauende Enzym (malic enzyme) von *Lactobacillus arabinosus* vom Zuckergehalt des Mostes nicht beeinflußt, dahingegen aber vom Alkohol in seiner Wirkungsweise gehemmt wird. Eine irreversible Schädigung des Enzyms durch die an sich recht niedrige Alkoholkonzentration im Wein ist nicht zu erwarten, vor allem, da Alkohol ein übliches Fällungsmittel für Enzyme ist und sich auch das Apfelenzym ohne große Aktivitätsverluste mit Aceton fällen läßt (OCHOA u. Mitarb. 1948). Zur Prüfung des Alkoholeinflusses auf das Apfelenzym wurde ein mit Reinhefe steril vergorener Wein durch Eindampfen auf etwa das halbe Volumen vom Alkohol befreit. Dann wurde durch Zugabe von entsprechenden Mengen Wasser und Äthylalkohol ein „Wein“ mit unterschiedlichem Alkoholgehalt hergestellt. Diese Weinproben wurden in der gleichen

Weise wie beschrieben mit einer Suspension von *L. arabinosus* versetzt und der Äpfelsäureabbau nach ca. 40 Stunden bei 30° verfolgt, siehe Abb. 1.

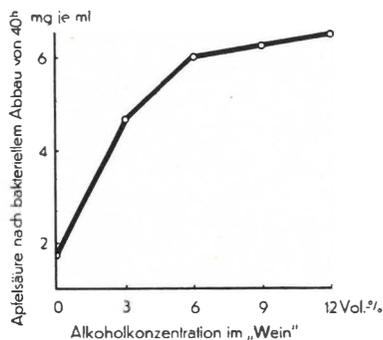


Abb. 1 Die Abhängigkeit des Abbaues der Äpfelsäure durch eine Suspension von Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5, die an Äpfelsäure adaptiert worden sind, von der Alkoholkonzentration. Ursprünglicher Äpfelsäuregehalt des Weines 6,25 ‰.

Während in dem alkoholfreien Wein die Äpfelsäure weitgehend abgebaut wurde, ist der Abbau schon bei 3 Vol.-% Alkohol stark eingeschränkt. Oberhalb von 6 Vol.-% Alkohol scheint kein nennenswerter Äpfelsäureabbau mehr zu erfolgen. Damit ist natürlich keineswegs ausgeschlossen, daß ein Äpfelsäureabbau oberhalb von 6 Vol.-% Alkohol nicht möglich ist (dies würde den Erfahrungen der Praxis widersprechen), sondern es ist lediglich unter den angegebenen Bedingungen ein rascher Abbau der Äpfelsäure mit *L. arabinosus* 17-5 bei einem Alkoholgehalt von mehr als 6 Vol.-% nicht mehr möglich. PEYNAUD (1955) fand dagegen, daß in naturbelassenen Weinen, in denen die Hefentwicklung durch Zugabe von Actidion unterbunden wurde, ein natürlicher Säureabbau erfolgt, gleichgültig ob der Alkoholgehalt 10 oder 13 Vol.-% beträgt. Diese Versuche sind allerdings mit den hier beschriebenen nicht vergleichbar. Außerdem reicht in einem naturtrüben Wein eine Kohlensäureentwicklung allein nicht aus, um den biologischen Säureabbau zu charakterisieren.

Nachdem der Säureabbau wenigstens im Most experimentell durchgeführt werden konnte, galt es noch einige weitere Fragen zu klären, so vor allem, ob von den Bakterien, die dem Most zugesetzt werden, noch andere Umsetzungen als die Dekarboxylierung der Milchsäure durchgeführt werden. Das normale Substrat für den Energiegewinn homofermentativer Milchsäurebakterien sind Kohlenhydrate, die im wesentlichen zu Milchsäure und geringen Mengen von Essigsäure und Kohlensäure abgebaut werden. Die wichtigsten Kohlenhydrate des Mostes sind Glucose und Fructose, die in annähernd äquimolaren Mengen vorkommen. Der Gesamtgehalt einiger Moste an reduzierenden Kohlenhydraten wurde vor und nach der Dekarboxylierung der

Äpfelsäure bestimmt. Der Säureabbau war wie bei den vorangegangenen Versuchen mit ca. 0,05 ml einer 7%igen Suspension von *L. arabinosus* in mehreren Mosten durchgeführt worden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Eine Abnahme des Zuckergehaltes ist in den Mosten auch nach dem Säureabbau nicht nachweisbar, d. h., die Zuckermenge, die von den Bakterien glykolytisch gespalten werden kann, ist geringer als der der Zuckerbestimmung anhaftende Fehler. Bei dem niedrigen P_{11} -Wert der verwendeten Moste scheint eine Milchsäuregärung nicht mehr statt zu finden. Ob

Tabelle 3

Zuckergehalt von Mosten einiger Rebensorten vor und nach Durchführung des künstlichen Säureabbaues.

Rebensorte	Reduzierende Kohlenhydrate, berechnet als Glucose mg je ml	
	unbehandelt	nach künstlichem Säureabbau
Müller- Thurgau	186,2	186,7
	189,7	179,0
Vi 1576	198,2	201,5
	201,5	196,7
Sbl. 4-81-18	184,2	183,5
	187,2	176,7

dies lediglich die Folge der verminderten glykolytischen Aktivität an Äpfelsäure adaptierten Zellen ist (Оснoл 1952), oder ob eine Glykolyse des Zuckers durch die Zellen von *L. arabinosus* unter den beschriebenen Bedingungen überhaupt nicht möglich ist, kann ohne weitere Versuche nicht entschieden werden. Desgleichen lassen sich vorläufig keine Aussagen darüber machen, ob von dem in den Most eingebrachten Bakterienbrei noch andere Umsetzungen als die Äpfelsäuredekarboxylierung und eine evtl. geringfügige, glykolytische Zuckerspaltung verursacht werden.

Wesentlich erschien es zu prüfen, ob die Zellen von *L. arabinosus* im Most lebensfähig bleiben, sich vermehren oder — wie eigentlich zu erwarten — absterben. Wie in den vorangegangenen Versuchen war eine Suspension von *L. arabinosus* hergestellt worden. Diese Suspension lebender Bakterienzellen wurde in der üblichen Weise einem geklärten Most und vergleichsweise dest. Wasser und einer Lösung von 10 Vol.-% Alkohol in Wasser zugesetzt und bei

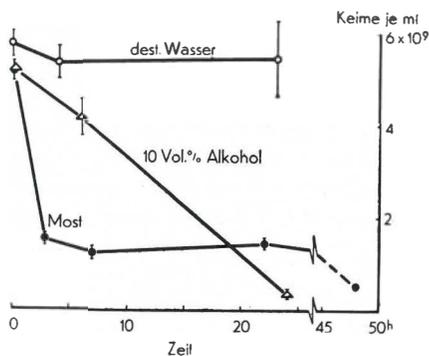


Abb. 2 Die Abhängigkeit der Zahl der lebensfähigen Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5 von der Dauer des Aufenthaltes in Most, dest. Wasser und 10 Vol.-% Äthylalkohol. Zusätzlich zu den Mittelwerten, die aus je 5 bis 8 Einzelzählungen berechnet sind, ist der mittlere Fehler m angegeben.

etwa 30° aufbewahrt. Die Zahl der lebenden Keime wurde über einen Zeitraum von 24-48 Stunden mit Hilfe der Plattengußmethode verfolgt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 dargestellt. Während sich in destilliertem Wasser die Zahl der lebensfähigen Keime innerhalb von 24 Stunden kaum veränderte, sind im Most bereits nach drei Stunden nur noch etwa 30% und nach 48 Stunden nur noch 10% der Zellen lebensfähig. Als sicher kann man aus diesem Ergebnis ablesen, daß Zellen von *L. arabinosus* sich im Most nicht vermehren, sondern rasch absterben. Ob die absterbenden Bakterienzellen im Most noch unerwünschte Reaktionen auslösen oder den Most durch Ausscheidung von Stoffen verändern können, läßt sich vorläufig noch nicht übersehen.

In einem weiteren Versuch wurde einem geklärten Most wiederum in der beschriebenen Weise eine Zellsuspension von *L. arabinosus* zur Dekarboxylierung der Äpfelsäure zugesetzt. Gleichzeitig wurde der Most mit einer geringen Menge Reihefe beimpft und bei ca. 25° aufbewahrt. Zusammen mit dem Äpfelsäureabbau begannen sich die Hefen zu vermehren und den vorhandenen Zucker zu vergären. Nach etwa 4-5 Tagen war der Most völlig durchgoren und klärte sich durch Absetzen der Hefen und Bakterien; es war somit in kürzester Zeit ein Most zu einem Wein ausgebaut worden. Die Vergärung eines Mostes wird durch den künstlichen Äpfelsäureabbau nicht gestört. Über den Geschmack eines auf solche Weise gewonnenen Weines konnten allerdings bisher keine Angaben gemacht werden, da die Versuche nur an wenigen Millilitern überdies längere Zeit gelagerten Mostes durchgeführt werden konnten.

Diskussion

Aufbauend auf den grundlegenden Arbeiten von OCHOA u. Mitarb. ist in der vorliegenden Arbeit ein Hinweis gegeben worden, wie sich der sogenannte

biologische Säureabbau künstlich durchführen läßt. Obgleich der enzymatische Vorgang des Säurerückganges im Wein geklärt ist und Bakterien*) als wahrscheinlichste Erreger des Säureabbaues angesehen werden können, bleibt es dennoch nach wie vor unbekannt, wie die Bakterien in genügend großer Zahl in den Most bzw. Wein gelangen können. Aus Erfahrungen, die bei den beschriebenen Versuchen gewonnen wurden, ist anzunehmen, daß für den biologischen Säureabbau im Wein, in der normalen Zeit von 1-3 Wochen, mindestens 10^7 Bakterienzellen je ml notwendig sind. Eine solch große Menge Bakterien ist jedoch erfahrungsgemäß im Most nicht vorhanden, wenn auch die Zahl der anaeroben und fakultativ aeroben Bakterienkeime je cm^2 Weinblatt mehrere Millionen betragen kann, (eigene, noch unveröffentlichte Versuche). Der biologische Säureabbau ist auch weiterhin ohne die Annahme einer Vermehrung der Bakterien im Most nicht erklärbar. Wahrscheinlich besteht zwischen den Hefen und Bakterien im Most ein Metabioseverhältnis wie es SCHANDERL 1950 annimmt. Die hier geschilderten Versuche widersprechen der Annahme von einem Metabioseverhältnis nicht, denn der Säureabbau ist zwar ohne vorangegangenes Hefewachstum aber auch ohne Vermehrung der Bakterien durchgeführt worden. Metabioseverhältnisse sind eine sehr häufige Erscheinung bei mikrobiologischen Vorgängen. Die Grundlagen dieser Metabiose sind jedoch unbekannt. SCHANDERL (1950) glaubt in Eiweißausscheidungen der Hefe die Ursache des Metabioseverhältnisses zu erkennen. Doch fehlen bisher die experimentellen Ergebnisse. Es ist möglich, daß durch die Stoffwechsellätigkeit der Hefe in räumlich eng begrenzten Stellen — im Hefetrub oder auch nur an der Oberfläche der Hefezellen — für die Bakterien Lebensbedingungen entstehen, die den Bakterien trotz der ungünstigen Bedingungen des Großraumes ein Wachstum ermöglichen. Ähnliche Verhältnisse sind in der Boden- und Hydromikrobiologie lange bekannt.

Wenn auch in den beschriebenen Versuchen gezeigt werden konnte, wie sich der Säureabbau in einem sonst unveränderten Most lediglich durch Zusatz von einer genügenden Menge eines an Äpfelsäure adaptierten Bakterienbries bewirken läßt, so ist damit weder das wirtschaftliche, noch das technische Problem der Durchführung des biologischen Säureabbaues gelöst, selbst wenn man die Möglichkeit unberücksichtigt läßt, daß die Bakterien den Most evtl. auch nachteilig beeinflussen können. Erst wenn es gelänge Bakterien zu züchten, die über einen höheren Gehalt an Äpfelsäure abbauenden Enzymen verfügen, so daß mit einer wesentlich geringeren Menge als bei den beschriebenen Versuchen (1-3,5 g Bakterientrockenmasse je Ltr. Most) die Äpfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure zerlegt werden kann, wäre an eine praktische Anwendung dieser Methode zur künstlichen Durchführung des Säureabbaues zu denken. Außerdem müßten Bakterienpräparate gewonnen werden, die Äpfelsäure nicht nur im Most, sondern auch im alkoholhaltigen Wein abzubauen vermögen, damit auch in den Fällen, in denen der spontane Säureabbau nach der Gärung ausgeblieben ist, die Säure im Wein vermindert werden kann.

*) Nach Drucklegung dieser Arbeit erschien eine Veröffentlichung von D. JERCHEL, P. FLESCHE und E. BAUER [Liebigs Ann. Chem. 601, 40-60 (1956)] woraus hervorgeht, daß einige aus Wein isolierte Bakterien gleichzeitig die Enzyme „malic enzyme“, Milchsäuredehydrogenase und Äpfelsäuredehydrogenase besitzen.

Der verwendete Mikroorganismus, *L. arabinosus*, ist wahrscheinlich nicht der gleiche, der gewöhnlich den Säureabbau im Wein hervorruft, wie der Einfluß schon geringer Alkoholkonzentrationen auf den Äpfelsäureabbau erkennen läßt (Abb. 1, Seite 46). Es ist daher zu hoffen, daß sich vielleicht noch geeignete Organismen zur Durchführung des Säureabbaues in Traubenmost und Wein isolieren lassen.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, die es ermöglicht den „biologischen Säureabbau“, d. h. die Dekarboxylierung der Äpfelsäure, in Traubenmosten experimentell durchzuführen. Mit einer genügend großen Menge an Äpfelsäure adaptierter Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5 läßt sich im sonst unveränderten Traubenmost in kurzer Zeit die Äpfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure abbauen, ohne daß es erforderlich ist, die wirksamen Enzyme (malic enzyme und Milchsäuredehydrogenase) aus den Bakterien zu extrahieren.

Im Wein gelingt die Dekarboxylierung der Äpfelsäure mit *L. arabinosus* nicht, da die Enzymaktivität schon bei geringer Alkoholkonzentration rasch abfällt und oberhalb von 6 Vol.-% Alkohol keine größeren Mengen Äpfelsäure dekarboxyliert werden.

Die dem Most zugesetzten Bakterien verlieren in Folge der ungünstigen Lebensbedingungen in kurzer Zeit ihre Lebensfähigkeit und setzen sich ab. Die im Most enthaltenen Zucker werden von der Bakteriensuspension unter den beschriebenen Bedingungen nicht angegriffen. Eine gleichzeitig oder im Anschluß an den Äpfelsäureabbau im Most erfolgende Gärung mit Reinhefe verläuft ohne Störung. Ob der Most durch die Behandlung mit der Bakteriensuspension in seiner Qualität nachteilig beeinflusst wird, konnte bisher noch nicht festgestellt werden.

Literaturverzeichnis

- BREED, R. S., E. G. D. MURRAY and A. P. HITCHENS: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore 1948.
- CHARPENTIE, Y.; RIBEREAU-GAYON, J. et E. PEYNAUD: *Bull. de la Soc. de Chimie biologique* **33**, 1369-1378 (1951).
- KLEIN, G.: *Handbuch der Pflanzenanalyse*, Wien 1932.
- KOCH, A.: *Weinbau und Weinhandel* **16**, 236, 243, (1898). — **18**, 395, 407, 417 (1900).
- KORKES, S. and S. OCHOA: *J. Biol. Chem.* **176**, 463-464 (1948).
- KORKES, S., A. DEL CAMPILLO and S. OCHOA: *J. Biol. Chem.* **187**, 891-902 (1950).

- MÜLLER-THURGAU, H.: Weinbau und Weinhandel 9, 421-428 (1891).
- MÜLLER-THURGAU, H. und A. OSTERWALDER: Die Bakterien im Wein und Obstwein. Jena 1913.
- NOSSAL, P. M.: Biochem. J. 50, 349-355 (1952).
- OCHOA, S., A. H. MEHLER and A. KORNBERG: J. biol. Chem. 174, 979-1000 (1948).
- OCHOA, S., J. B. V. SALLES and P. Y. ORTIZ: J. biol. Chem. 187, 863-874 (1950).
- OCHOA, S.: Enzymatic Mechanisms of Carbon Dioxide Fixation. In: SUMNER, J. B. and K. MYRBÄCK. The Enzymes. New York 1952. Bd. II, 2, S. 929-1032.
- PAECH, K. und M. V. TRACEY: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955.
- PEYNAUD, E.: Mitteilungen Serie A Rebe und Wein 5, 183-191 (1955).
- RIPPEL, K.: Arch. Mikrobiol. 14, 509-530 (1950).
- SCHANDERL, H.: Die Mikrobiologie des Weines. Stuttgart 1950.
- SEIFERT, W.: Zeitschr. landw. Versuchswesen Österreich 4, 980-992 (1901). — 6, 567-585 (1903).
- VOGT, E.: Weinchemie und Weinanalyse. Stuttgart 1951.