

Untersuchung des biologischen Säureabbaus im Wein

IV. Über Faktoren, die das Wachstum der Apfelsäure-abbauenden Bakterien beeinflussen

VON

F. RADLER

Einleitung

Weine, die an der klimatischen Grenze des Anbaubietes erzeugt werden, zeichnen sich häufig — vor allem in ungünstigen Jahren — durch einen zu hohen Säuregehalt aus. Zur Steigerung der Weinqualität ist daher eine Herabsetzung des Säuregehaltes oft erwünscht. Als einziger natürlicher Vorgang bewirkt der biologische Säureabbau eine Verminderung des Säuregehaltes, wenn man die auf der Auskristallisation von Weinstein beruhenden Entsäuerung außer Betracht läßt. Als Mittel zur Qualitätssteigerung ist der biologische Säureabbau schon seit langer Zeit von Interesse. Als natürlichem Vorgang wird dem biologischen Säureabbau in Zukunft im deutschen Weinbau wahrscheinlich noch größere Bedeutung beigemessen werden müssen, da anzunehmen ist, daß im Rahmen der europäischen Wirtschaftsunion die Weingesetze der beteiligten Länder einander angeglichen und damit die Methoden der Weinverbesserung vereinheitlicht werden.

Obwohl bekannt ist, daß der biologische Säureabbau im Wein durch die enzymatische Tätigkeit von Bakterien hervorgerufen wird und darauf beruht, daß die L-Äpfelsäure des Traubensaftes zur schwächer dissoziierten, einbasischen und daher weniger sauren Milchsäure und der gasförmigen Kohlensäure abgebaut wird, bestehen noch viele Unklarheiten über die Voraussetzungen dieses Vorganges. Es ist heute in der Kellerwirtschaft noch nicht möglich, den biologischen Säureabbau in jedem Fall mit Sicherheit durchzuführen, da den empirischen Maßnahmen teilweise die theoretischen Grundlagen fehlen.

Die enzymatische Seite des biologischen Säureabbaus ist von JERCHEL u. Mitarb. (1956) bearbeitet worden. Aufbauend auf den Arbeiten von OCHOA (1952) konnte bei zwei aus Wein isolierten Bakterien nachgewiesen werden, daß diesen Bakterien zwei enzymatische Wege zum Abbau der L-Äpfelsäure zur Verfügung stehen. Danach kann die L-Äpfelsäure entweder mit Äpfelsäuredehydrogenase und β -Decarboxylase über Oxalessigsäure zu Brenztraubensäure abgebaut werden oder aber die L-Äpfelsäure wird mit „malic enzyme“ oxydativ zu Brenztraubensäure und Kohlensäure decarboxyliert. Die Brenztraubensäure wird in beiden Fällen von Milchsäuredehydrogenase zu Milchsäure reduziert. Als Cofaktoren sind für diese Reaktionen Diphosphopyridin-nucleotid und Mn^{2+} erforderlich.

Durch Zusatz einer genügend großen Menge von ruhenden Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5, die vorher an L-Äpfelsäure adaptiert worden sind, kann die L-Äpfelsäure im Traubenmost in kurzer Zeit decarboxyliert werden (RADLER 1957). Dieser experimentell durchgeführte Säureabbau unterscheidet sich jedoch wesentlich von dem natürlichen Säureabbau im Wein, da

der gewöhnlich im Anschluß an die alkoholische Gärung erfolgende Äpfelsäureabbau im Wein von wachsenden Bakterien durchgeführt wird. Wenn auch auf Rebenblättern z. T. größere Mengen von Bakterien mit der Fähigkeit L-Äpfelsäure abzubauen vorkommen, so enthalten frische Traubenmoste nur wenige Bakterien (RADLER 1958 a), erst nach der Gärung sind einige Zeit vor dem Beginn des Äpfelsäureabbaus säureabbauende Bakterien in größerer Menge nachweisbar. Diese Bakterien müssen demnach im Wein wachsen und sich vermehren können.

Bei den Bakterien des biologischen Säureabbaus handelt es sich um eine Reihe von verschiedenen Milchsäurebakterien, die den Gattungen *Leuconostoc*, *Lactobacillus* und *Pediococcus* angehören (BIDAN 1956, FORNACHON 1957, VAUGHN u. TCHELISTCHEFF 1957, RADLER 1958 a). Eine Gesamtbearbeitung und ein Vergleich möglichst vieler bisher isolierter „Weinbakterien“ wäre sehr wünschenswert. Die für die Äpfelsäure-abbauenden Bakterien häufig verwendete Bezeichnung *Bacterium gracile* steht nicht mehr im Einklang mit der bakteriologischen Nomenklatur und sollte daher vermieden werden; vergleiche VAUGHN (1955).

Zum Wachstum benötigten Bakterien Nährstoffe und gegebenenfalls auch Wuchsstoffe. In einer vorangegangenen Arbeit (RADLER 1958 b) war der Nähr- und Wuchsstoffbedarf von vier aus Wein isolierten, Äpfelsäure-abbauenden Bakterien untersucht worden. Wie alle Milchsäurebakterien haben auch die säureabbauenden Bakterien des Weines einen komplexen Nähr- und Wuchsstoffbedarf. Nach einer Reihe von ergebnislosen Versuchen war es gelungen, alle vier Bakterienstämme in einer Nährlösung zu kultivieren, die nur aus bekannten Verbindungen besteht. Die Zusammensetzung dieser Nährlösung sei hier angegeben:

D. L- α -Alanin 200 mg, D. L- α -Aminobuttersäure 50 mg, D. L- γ -Aminobuttersäure 50 mg, L-Arginin 100 mg, L-Asparagin 50 mg, L-Asparaginsäure 400 mg, L-Cystin/Cystein 100 mg, L-Glutaminsäure 400 mg, Glykokoll 100 mg, L-Histidin 100 mg, D. L-Leucin 100 mg, D. L-Isoleucin 100 mg, L-Lysin 100 mg, D. L-Methionin 100 mg, L-Oxyprolin 50 mg, D. L-Phenylalanin 100 mg, L-Prolin 100 mg, D. L-Serin 100 mg, D. L-Threonin 100 mg, L-Tryptophan 100 mg, L-Tyrosin 100 mg, D. L-Valin 100 mg, Orotsäure 20 mg, Xanthin 5 mg, Adenin 10 mg, Guanin 10 mg, Uracil 10 mg, Thiamin 0,2 μ g, Riboflavin 0,2 mg, Pyridoxin und Pyridoxamin je 0,3 mg, Cobalamin 0,01 mg, Nicotinsäure und -amid je 0,5 mg, Biotin 0,01 mg, p-Aminobenzoesäure 0,1 mg, Folsäure 0,25 mg, Inosit 20 mg, Glucose 15 g, Xylose oder Arabinose 1 g, L-Äpfelsäure 5 g, Citronensäure 0,5 g, D. L-Milchsäure 0,5 g, Bernsteinsäure 0,5 g, Ascorbinsäure 0,3 g, Tween 80 0,1 g, NaCl 0,01 g, $MnSO_4 \cdot aq.$ 0,01 g, $FeSO_4 \cdot aq.$ 0,01 g, $MgSO_4 \cdot aq.$ 0,5 g, NH_4Cl 3,0 g, KH_2PO_4 3,0 g, H_2O 1000 ml, pH -Wert 5,5 - 6,5.

Fast alle Stoffe, die in der synthetischen Nährlösung enthalten sind, kommen auch im Most oder Wein vor, wie aus den Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren hervorgeht. Es ist daher nicht zu erwarten, daß normalerweise das Wachstum der säureabbauenden Bakterien durch das Fehlen einzelner Nähr- und Wuchsstoffe verhindert wird. Im Auslassungstest (Weglassen einzelner Verbindungen aus der synthetischen Nährlösung) konnte gezeigt werden, daß nicht alle Substanzen der synthetischen Nährlösung zum Wachstum der Bakterien unbedingt erforderlich sind (RADLER 1958 b). Als unbedingt notwendig oder wachstumsfördernd erwiesen sich: Folsäure, Nicotinsäure, Riboflavin, Biotin, Pantothensäure, Arginin, Cystin-Cystein, Glutaminsäure, Histidin, Leucin, Phenylalanin, Serin, Tryptophan, Tyrosin und Valin. Da ferner nachgewiesen werden konnte, daß bereits die Entwicklung von etwa 50 mg Bakterienmasse je l Traubenmost genügt, um den vollständigen Abbau der L-Äpfelsäure durchzuführen, ist z. B. der Bedarf der Bakterien an Amino-

säuren sehr gering. Diese 50 mg Bakterienmasse bestehen zu etwa 80% aus Eiweiß, das aus mindestens 15 Aminosäuren zusammengesetzt ist, daher dürften bereits 1—5 mg von jeder Aminosäure genügen, um den Bakterien das Wachstum in 1 Liter Wein oder Most zu ermöglichen.

Neben Vitaminen und Aminosäuren benötigen die Äpfelsäure-abbauenden Bakterien vergärbare Kohlenhydrat als Energiequelle zum Wachstum (RADLER 1958 c), da der Abbau der L-Äpfelsäure zu Milchsäure und Kohlen-säure kein energieliefernder Vorgang ist (SCHANDERL 1943). Bei Abwesenheit von Kohlenhydrat erfolgt in synthetischer Nährlösung kein Wachstum der Bakterien und damit auch kein Abbau der L-Äpfelsäure. Da die Äpfelsäure-abbauenden Bakterien völlig anaerob wachsen können, kommen in ihrem Stoffwechsel oxydative Vorgänge, d. h. völlige Substratoxydationen zu Kohlen-säure und Wasser, nicht vor. Homofermentative Bakterien vergären die als Energiequelle dienende Glucose zu zwei Molekülen Milchsäure, heterofermen-tative Stämme können Glucose entsprechend dem für *Leuconostoc* bekannten Schema zu je 1 Mol Milchsäure, Äthylalkohol und wahrscheinlich Kohlen-säure vergären. Im Wein sind die Stoffwechselendprodukte der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien normalerweise nicht nachweisbar, da bereits eine Kohlenhydratmenge von weniger als $\frac{1}{10}$ der abgebauten L-Äpfelsäure für das Wachstum der Bakterien als Energiequelle genügt. Der Abbau der L-Äpfel-säure ist für die säureabbauenden Bakterien eine Nebenreaktion von nur geringer oder gar keiner Bedeutung (RADLER 1958 c).

Nachdem durch die vorangegangenen Untersuchungen gezeigt werden konnte, daß die Nähr- und Wuchsstoffe, die gewöhnlich im Most oder Wein vorkommen, zum Wachstum für die säureabbauenden Bakterien genügen, ergibt sich zwangsläufig die Frage, warum in der Praxis der biologische Säure-abbau häufig ausbleibt. Da die Bakterien in einer Nährlösung genau bekannter Zusammensetzung oder auch in einem steril filtrierten, frischen Traubenmost gedeihen können, erübrigen sich die Annahmen, daß die Äpfelsäure-abbauenden Bakterien auf das Vorhandensein unbekannter Vitamine, Eiweiß- oder Trubstoffe angewiesen sind oder daß sich die Bakterien nur im Anschluß an das Wachstum der Hefe entwickeln können.

Im folgenden wird die Wirkung der Faktoren auf das Wachstum der säure-abbauenden Bakterien untersucht, in denen sich Wein oder Traubenmost wesentlich von der synthetischen Nährlösung unterscheiden. Die Ergebnisse von Modellversuchen lassen erkennen, welche Faktoren das Wachstum der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien und somit den biologischen Säureabbau verhindern. Da auf Grund vorangegangener Untersuchungen bekannt war, daß der Abbau der L-Äpfelsäure immer erfolgt, wenn die Bakterien zur Ent-wicklung kommen, wurde in diesen Versuchen nur das Bakterienwachstum bestimmt, ohne zusätzliche Bestimmung des Abbaus von L-Äpfelsäure.

Material und Methoden

1. Mikroorganismen. Vier aus Wein isolierte, Äpfelsäure-abbauende Bakterien, von denen Stamm 2 L *Lactobacillus plantarum* nahesteht, während die Stämme 12 a, 16 a, 45 b zur Gattung *Leuconostoc* gehören und der Species *Leuconostoc citrovorum* nahestehen (RADLER 1958 a). Als Vergleichsstamm diente *Lactobacillus plantarum* = *Lactobacillus arabinosus* 17-5. Die Orga-nismen wurden in Stichkulturen in Tomatensaftagar bei 23° kultiviert und bei +5° aufbewahrt.

2. Als Nährlösung diente bei allen Versuchen Tomatensaftlösung (Tomatensaft 40 %, Pepton 1 %, peptonisierte Milch (DIFCO) 1 %, pH-Wert 4,8 — 5,2), die meist nach dem Autoklavieren bei 1,2 atü, 5 Min. durch Zusatz der angegebenen Substanzen verändert wurde.

3. **Beimpfung.** Zur Beimpfung der Nährlösungen wurden je 5 ml 1—2 Tropfen einer etwa vier Tage alten Kultur in Tomatensaftlösung ohne vorhergehende Reinigung verwendet.

4. **Bestimmung des Bakterienwachstums.** Die Bakterienmasse wurde durch Trübungsmessung im durchfallenden Licht in standardisierten 16 mm Reagenzgläsern mit dem Becherglaskolorimeter (LANGE) unter Verwendung eines Rotfilters bestimmt. Die Mengenangaben sind mit Hilfe einer Eichkurve einer Zellsuspension mit bekanntem Gehalt an Bakterientrockenmasse ermittelt. Zur Vermeidung des durch die Färbung der Nährlösungen bedingten Meßfehlers wurden die Bakterien 10—20 Min. bei 7500 U/Min. zentrifugiert und anschließend für die Trübungsmessung in destilliertem Wasser suspendiert. — Bestimmung des pH-Wertes mit Potentiometer (BECKMANN) und Glaselektrode.

Ergebnisse

Da in vorangegangenen Arbeiten gezeigt werden konnte, daß das Wachstum der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien normalerweise wahrscheinlich nicht durch einen Mangel an Nähr- und Wuchsstoffen im Traubenmost oder Wein begrenzt wird, müssen andere Faktoren die Ursache für das häufige Ausbleiben der Entwicklung der Bakterien und damit des biologischen Säureabbaus sein, der besonders in sauren Weinen sehr erwünscht ist. Von folgenden Faktoren ist zu erwarten, daß sie das Wachstum der säureabbauenden Bakterien im Most oder Wein hemmen können: Lagerungstemperatur, Zuckerkonzentration, Alkoholkonzentration, pH-Wert, Gehalt an Weinsäureanion, Gehalt an schwefliger Säure. Die gleichen Faktoren können in Südweinen die Entwicklung von Bakterien verhindern, die den Wein verderben, vgl. VAUGHN (1955).

Die Temperatur ist für das Wachstum von Bakterien von entscheidender Bedeutung. Die für diese Arbeit verwendeten säureabbauenden Bakterien vermochten bei + 15° noch langsam zu wachsen. Auf Grund der Versuchsergebnisse vieler Autoren und der Erfahrungen der Praxis ist bekannt, daß unterhalb von 10—12° der biologische Säureabbau sehr stark oder vollständig gehemmt ist.

Wenn auch der Zuckergehalt des Traubenmostes infolge der Gärung nur kurze Zeit erhalten bleibt, ist dennoch denkbar, daß die Bakterien durch hohe Konzentrationen geschädigt werden. Abb. 1, S. 292 zeigt jedoch, daß bei Kultur in Tomatensaftlösung auch hohe Zuckerkonzentrationen das Wachstum der aus Wein isolierten, säureabbauenden Bakterien nicht nennenswert beeinflussen. Die in diesem Versuch verwendete Saccharose wurde der Tomatensaftlösung vor dem Autoklavieren zugesetzt. Bei pH 4,8 dürfte die Saccharose weitgehend zu Fructose und Glucose hydrolysiert worden sein, so daß in dem Modellversuch ein ähnliches Zuckergemisch vorgelegen hat wie im Traubenmost.

Da Äthylalkohol als Desinfektionsmittel verwendet wird, ist schon mehrfach untersucht worden, welche Alkoholkonzentrationen das Wachstum der säureabbauenden Bakterien im Wein hemmen (u. a. A. KOCH 1898, 1900; MÜLLER-THURGAU u. OSTERWALDER 1913; BIDAN 1956; LÜTHI 1957). Die Angaben über die wachstumshemmend wirkenden Alkoholkonzentrationen weichen z. T. etwas von einander ab. Je nach Versuchsanstellung und verwendeter Bakterienart wird festgestellt, daß das Wachstum der Bakterien zwischen 7 Vol.-% und

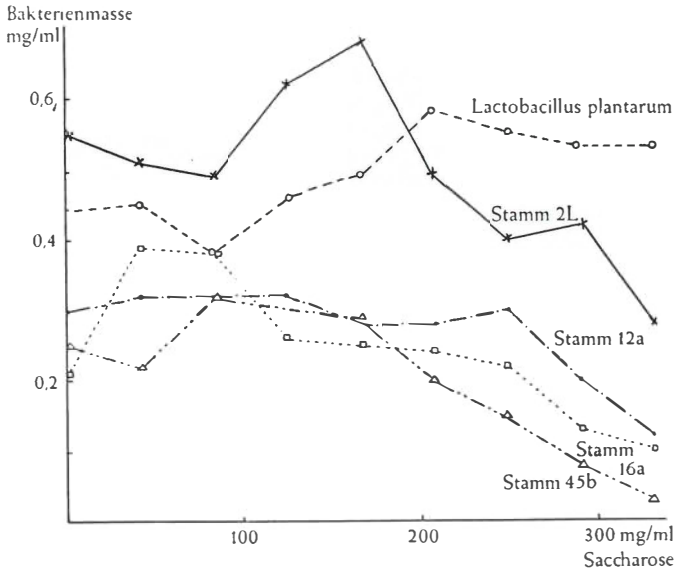


Abb. 1. Einfluß der Zuckerkonzentration auf das Wachstum von Äpfelsäureabbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung.

Messung des Bakterienwachstums nach etwa 10tägiger Kultur bei 23°

18 Vol.-% gehemmt oder unterbunden wird. Nach OLSEN (1948) soll in dänischen Obstweinen der Säureabbau noch bei 30 Vol.-% Alkohol erfolgen können. Andererseits wurde nachgewiesen, daß die Decarboxylierung von L-Äpfelsäure durch ruhende Zellen von *Lactobacillus arabinosus* 17-5 bereits durch 6 Vol.-% Alkohol verhindert wird (RADLER 1957). Wie die Ergebnisse der

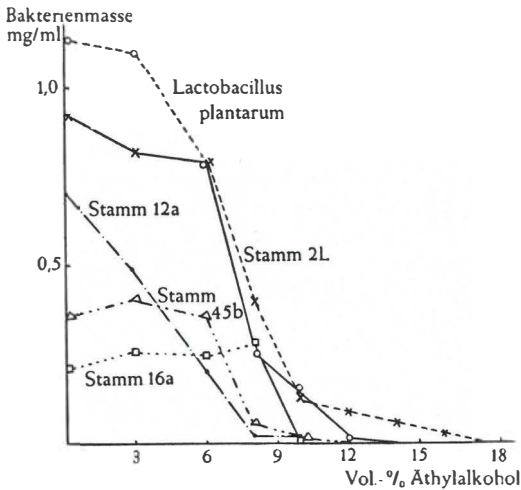


Abb. 2. Einfluß der Äthylalkoholkonzentration auf das Wachstum von Äpfelsäureabbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung.

Messungen des Bakterienwachstums nach etwa 10tägiger Kultur bei 23°

Modellversuche zeigen (Abb. 2) wird das Wachstum der hier untersuchten säureabbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung bei pH 4,8 bei 10 Vol.-% Äthylalkohol fast vollständig gehemmt. Nur bei dem Vergleichsstamm *Lactobacillus plantarum* ist bei 16 Vol.-% Alkohol noch ein schwaches Wachstum erkennbar. (Der Alkohol war den Nährlösungen nach dem Autoklavieren zugesetzt worden. Zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten waren die Kulturröhrchen während der Versuchsdauer fest verschlossen). In Übereinstimmung mit VAUGHN (1955) konnte in Versuchen, die später beschrieben werden sollen, festgestellt werden, daß

die hemmende Wirkung des Alkohols durch niedrige pH-Werte der Nährlösung noch gesteigert wird.

Als sehr wesentlicher Faktor für das Wachstum der säureabbauenden Bakterien erweist sich die Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung (siehe Abbildung 3. Der pH-Wert der Tomatensaftlösungen wurde durch Zusatz von Weinsäure eingestellt und nach dem Autoklavieren überprüft. Bei pH 3,05 sind nach etwa 10 Tagen nur noch der Vergleichsstamm *L. plantarum* und der Stamm 2L zur Entwicklung gekommen, während die anderen Stämme nur bis zu einem pH-Wert von etwa 3,2 zu wachsen vermochten. Auch bei länger dauernden Versuchen dürfte pH 3 etwa die Grenze sein, unterhalb der

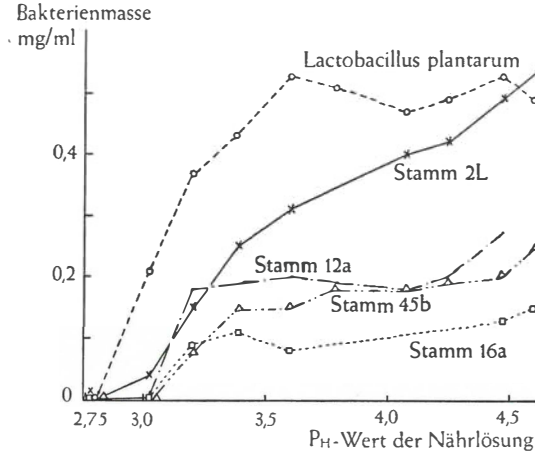


Abb. 3. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung. Messung des Bakterienwachstums nach etwa 10tägiger Kultur bei 23°

sich die säureabbauenden Bakterien nicht mehr entwickeln können. LÜTHI (1957) hat allerdings auch bei pH 2,85 noch ein geringes Wachstum von „*Bacterium gracile*“ nachweisen können. BIDAN (1956) konnte bei pH 3,2 von vier verschiedenen säureabbauenden Bakterien nur bei zwei Stämmen Wachstum nachweisen. Von VAUGHN (1955) wird angegeben, daß in californischen Weinen die Entwicklung von Bakterien, die den Wein verderben können, zwischen pH 3,3 und 3,5 nicht mehr möglich ist. Die hier untersuchten Äpfelsäure-abbauenden Bakterien vermochten jedoch zwischen pH 3,05 und 3,15 noch zur Entwicklung zu kommen. Dennoch dürfte die Wasserstoffionenkonzentration ein sehr wesentlicher Faktor für den biologischen Säureabbau sein, denn gerade die Weine mit einem hohen Säuregehalt, in denen eine Säureverminderung erwünscht ist, haben naturgemäß einen pH-Wert um 3. — Ergänzend sei erwähnt, daß in allen Kulturen, in denen ein Wachstum der Bakterien durch Trübungsmessung nachweisbar war, der pH-Wert der Lösungen der bewachsenen Kulturen stets infolge der Milchsäurebildung der Bakterien unter den Ausgangswert erniedrigt worden war.

Da der pH-Wert in den Modellversuchen mit Weinsäure eingestellt worden war, bestand die Möglichkeit, daß nicht die Wasserstoffionenkonzentration sondern die Konzentration an Weinsäureanion das Wachstum der Bakterien begrenzt. Abb. 4, S. 294 läßt erkennen, daß das Wachstum der untersuchten Äpfelsäure-abbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung bis zu einer Konzen-

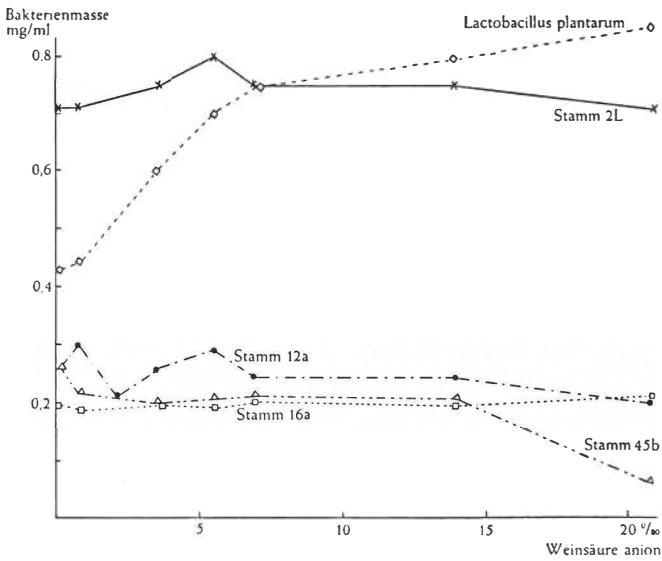


Abb. 4. Einfluß der Konzentration an Weinsäureanion auf das Wachstum von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung bei pH 5,2. Messung des Bakterienwachstums nach etwa 10tägiger Kultur bei 23°

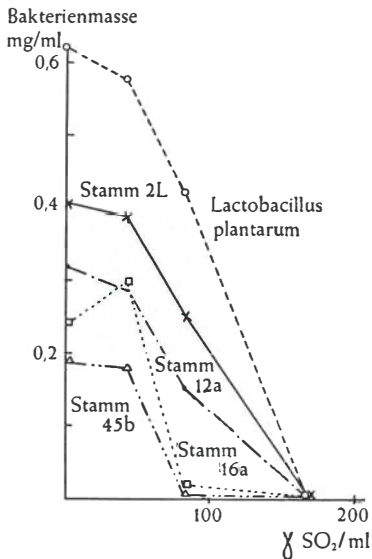


Abb. 5. Einfluß der Konzentration an schwefliger Säure auf das Wachstum von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien in Tomatensaftlösung bei pH 4,8. Messungen des Bakterienwachstums nach etwa 10tägiger Kultur bei 23°

tration von 20‰ Weinsäure bei konstantem pH-Wert von etwa 5,2 nicht nennenswert beeinflußt wird. Im Most oder Wein dürfte allerdings selbst eine Konzentration von 10‰ Weinsäure nur höchst selten — wenn überhaupt — vorkommen.

Neben der Wasserstoffionenkonzentration und dem Alkoholgehalt im Wein dürfte der Gehalt an schwefliger Säure, die aus kellertechnischen Gründen zugesetzt wird, das Wachstum der säureabbauenden Bakterien begrenzen. Abb. 5 zeigt, daß schon durch 80 mg SO₂ je Liter das Wachstum einiger Stämme fast völlig unterbunden wird, und daß bei 160 mg SO₂ je Liter kein Bakterienstamm mehr zu wachsen vermochte. Die schweflige Säure wurde der Tomatensaftlösung (pH 4,8) nach dem Autoklavieren in Form einer entsprechend verdünnten Lösung von 5%ig. SO₂ (Merck) zugesetzt. — Dieser Versuch gibt natürlich nur Näherungswerte und ist mit den Verhältnissen im Wein nicht direkt vergleichbar, da in diesem Versuch sicher ein Teil der schwefligen Säure vom Luftsauerstoff oxydiert wurde und ferner — wie im Wein — ein nicht bestimmter Anteil der

SO₂ von den Zuckern (5%) im Tomatensaft gebunden worden ist. — Da dem Wein häufig größere Mengen von schwefeliger Säure zugesetzt werden, ist sicher aus der SO₂-Gehalt eine Ursache für das häufige Ausbleiben des biologischen Säureabbaus in unseren Weinen. Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von FÖRNACHON (1957), der bei australischen Weinen feststellen konnte, daß in Weinen mit einem Gehalt von mehr als 120—150 mg SO₂ je Liter der Säureabbau nur sehr selten erfolgt war.

Diskussion

Wenn auch Einwände gegen die Übertragung der in Modellversuchen gewonnenen Ergebnisse der Kulturversuche von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien auf die Verhältnisse beim Weinausbau erhoben werden können, so lassen sich jedoch daraus Folgerungen ziehen, die für die Praxis von Bedeutung sein können.

Der praktischen Kellerwirtschaft sind schon lange eine Reihe von Maßnahmen bekannt, durch die der biologische Säureabbau gefördert werden kann. Es ist unwahrscheinlich, wenn auch nicht ausgeschlossen, daß der Säureabbau ausbleibt, weil keine geeigneten Bakterien im Traubenmost vorhanden sind. KLENK u. STRECKER (1957) haben sogar beobachtet, daß selbst in Mosten, die durch Kurzzeiterhitzung sterilisiert worden waren, der Säureabbau erfolgte, wenn die Gärgefäße nicht sorgfältig steril gehalten waren. Auf Grund praktischer Versuche halten diese Autoren die Schaffung geeigneter Bedingungen für das Wachstum der Bakterien als wichtigste Voraussetzung für die Durchführung des biologischen Säureabbaus. Das Vorhandensein von Bakterien wird in frischen Mosten immer gegeben sein und die geringen Mengen an erforderlichen Nährstoffen für die säureabbauenden Bakterien (RADLER 1958 b) dürften andererseits in dem natürlichen Produkt Traubenmost normalerweise auch vorhanden sein.

Wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dürfte in mitteleuropäischen Weinen das Wachstum der säureabbauenden Bakterien fast ausschließlich durch die Wasserstoffionenkonzentration, den Gehalt an schwefeliger Säure und in untergeordnetem Maße vom Alkoholgehalt und der Lagerungstemperatur begrenzt werden. Wenn in einem Wein der Säureabbau nicht spontan erfolgt ist, dann dürfte es meist zwecklos sein, lediglich Kulturen von säureabbauenden Bakterien zuzusetzen, da in einem solchen Wein die Bedingungen für die Entwicklung dieser Bakterien nicht gegeben sind. Sicher haben sich deshalb Kulturen von säureabbauenden Bakterien zur Einleitung des biologischen Säureabbaus bisher nicht bewährt.

Zweckmäßigerweise wird man daher schon im Most dafür sorgen, daß die Äpfelsäure-abbauenden Bakterien zur Entwicklung kommen können, denn so lange noch kein Alkohol vorhanden ist, sind die Bedingungen für das Wachstum der Bakterien besser als in einem ausgegorenen Wein mit 8-12 Vol.-% Alkohol. Zur Einleitung des Säureabbaus wird man also so frühzeitig wie irgend möglich durch Zusatz von Calciumcarbonat entsäuern, um die Wasserstoffionenkonzentration zu erniedrigen. Ferner sollte dem Most vor dem Säureabbau nur so wenig schwefelige Säure zugesetzt werden, wie aus geschmacklichen und kellerwirtschaftlichen Gründen vertretbar ist. Ähnliche Maßnahmen sind u. a. auch von LÜTHI (1957) vorgeschlagen worden. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß das Wachstum der säureabbauenden Bakterien durch Ascorbinsäure nicht gehemmt wird; die synthetische Nährlösung enthält 0,3 g Ascorbinsäure je Liter.

Wenn auch die säureabbauenden Bakterien ein vergärbares Kohlenhydrat als Energiequelle zum Wachstum benötigen, so ist jedoch fraglich, ob durch die fraktionierte Zuckeringung — wie sie zur Förderung des Säureabbaues vorgeschlagen wird — das Bakterienwachstum durch die Zufuhr dieser Energiequelle gefördert wird, da geringe, aber dennoch ausreichende Zuckermengen in jedem Wein vorhanden sind. Es ist jedoch möglich, daß das Wachstum der Bakterien durch die fraktionierte Zuckeringung begünstigt wird, indem die Temperatur durch die Gärung erhöht und somit die Alkoholkonzentration im Wein erst allmählich gesteigert wird und nicht schon innerhalb von wenigen Tagen ihren maximalen Wert erreicht.

Durch Aufrühren des Hefetrubes soll der Säureabbau ebenfalls gefördert werden können. Es ist möglich, daß dadurch bereits abgesunkene Bakterien wieder im Wein suspendiert werden; diese Bakterien werden jedoch sicher nicht gedeihen, wenn nicht gleichzeitig günstige Wachstumsbedingungen für sie geschaffen werden, denn Nähr- oder Wuchsstoffausscheidungen der Hefe sind keine unbedingte Voraussetzung für den Ablauf des biologischen Säureabbaus.

Durch Anwendung von Reinkulturen von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien wird der Säureabbau zweifellos eingeleitet und beschleunigt werden können, wenn die Bakterien schon dem richtig vorbehandelten Most zugesetzt werden. Bisher war es mir allerdings nicht möglich entsprechende Versuche in dem erforderlichen Umfang durchzuführen. — Vielleicht gelingt es auch noch weitere Bakterien zu isolieren oder durch Selektionsmethoden zu züchten, die noch besser als die bisher vorhandenen Stämme an die extremen Bedingungen des Mostes und des Weines angepaßt sind und die über eine genügende Resistenz gegen hohe Wasserstoffionenkonzentration, schwefelige Säure und Alkohol verfügen. Ein Zusatz von säureabbauenden Bakterien zum Wein wird jedoch wahrscheinlich nur in den Fällen zweckmäßig und notwendig sein, in denen die ursprüngliche Bakterienflora infolge lange andauernder ungünstiger Lebensbedingungen im falsch oder gar nicht behandelten Traubenmost oder Wein zu Grunde gegangen ist.

Zusammenfassung

Da das Wachstum der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien — und damit der biologische Säureabbau — im Wein wahrscheinlich nicht durch einen Mangel an Nähr- oder Wuchsstoffen behindert wird, müssen andere Faktoren die Ursache des häufigen Ausbleibens des Säureabbaus im Wein sein. An Modellversuchen konnte gezeigt werden, daß das Wachstum von aus Wein isolierten Äpfelsäure-abbauenden Bakterien durch höhere Alkoholkonzentrationen als 10 Vol.-%, einen niedrigeren pH -Wert als 3,1 und einen höheren Gehalt als 100 mg schwefelige Säure je Liter weitgehend unterbunden wird, während hohe Konzentrationen an Zucker oder Weinsäureanion nicht störend wirken. — Die Möglichkeiten zur Einleitung und Förderung des biologischen Säureabbaues werden diskutiert.

Herrn Prof. Dr. B. HUSFELD bin ich für die Förderung meiner Arbeiten zu Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis

- BIDAN, P.: Sur quelques bactéries isolées des vins en fermentation malolactique. Ann. Technol. 4, 597—617 (1956).
- FORNACHON, J. C. M.: The occurrence of malo-lactic fermentation in Australian wines. Australian J. Appl. Sci. 8, 120—129 (1957).
- JERCHEL, D., P. FLESCH und E. BAUER: Untersuchungen zum Abbau der L-Äpfelsäure durch *Bacterium gracile*. Liebigs Ann. Chem. 601, 40—60 (1956).
- KLENK und STRECKER: Der Einfluß der Kurzeiterhitzung auf Ausbau, Qualität und Haltbarkeit der Weine. Dtsch. Weinbau, wiss. Beih. 1957, 5—8.
- KOCH, A.: Über die säureverzehrenden Organismen des Weines. Weinbau und Weinhandel 16, 236, 243 (1898).
- — : Über die Ursachen des Verschwindens der Säure bei Gärung und Lagerung des Weines. Weinbau und Weinhandel 18, 395, 407, 417 (1900).
- LÜTHI, H.: La rétrogradation malolactique dans les vins et les cidres. Rev. Fermentat. Ind. aliment. 12, 15—21 (1957).
- MÜLLER-THURCAU, H. und A. OSTERWALDER: Die Bakterien im Wein und Obstwein. Jena 1913.
- OCHOA, S.: Enzymatic mechanisms of carbon dioxide fixation. In: SUMNER, J. B. and K. MYRBÄCK: The Enzymes. New York 1952. Bd. II, S. 929—1032.
- OLSEN, E.: Studies of bacteria in Danish fruit-wines. Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. Serol. 14, 1—28 (1948).
- RADLER, F.: Untersuchungen über die experimentelle Durchführung des biologischen Säureabbaues. Vitis 1, 42—52 (1957). — Naturwissenschaften 44, 232—233 (1957).
- — : Mikrobiologische Untersuchung des bakteriellen Säureabbaus im Wein. Naturwissenschaften 45, 215—216 (1958).
- — : Untersuchung des biologischen Säureabbaus im Wein. Isolierung und Charakterisierung von Äpfelsäure-abbauenden Bakterien. Arch. Mikrobiol. 30, 64—72 (1958a).
- — : Untersuchung des biologischen Säureabbaus im Wein. II. Der Nähr- und Wuchsstoffbedarf der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien. Arch. Mikrobiol. im Druck (1958 b).
- — : Untersuchung des biologischen Säureabbaus im Wein. III. Die Energiequelle der Äpfelsäure-abbauenden Bakterien. Arch. Mikrobiol. im Druck (1958c).
- SCHANDERL, H.: Über den bakteriellen Säureabbau im Wein. Dtsch. Wein-Ztg. 28. Mai 1943.
- VAUGHN, R. H.: Bacterial spoilage of wines with special reference to California conditions. Advances Food Res. 6, 67—108 (1955).
- — and A. TCHELISTCHEFF: Studies on the malic acid fermentation of California table wines. I. An introduction to the problem. Amer. J. Enology 8, 74—79 (1957).

eingegangen am 23. 6. 1958