

## MIKROBIELLE KONTAMINATION

**Gianni TRIOLI**

Vinidea, Italia

*Auszug aus "TECHNISCHE ANMERKUNGEN" LEITFADEN BIOLOGISCHER WEINBAU UND WEINBEREITUNG, EU-PROJEKT FP6 STREP - ORWINE*

Mikrobielle Kontaminierung oder Schädigung tritt mit der Entwicklung von Mikroorganismen auf, deren Stoffwechsel die Weinqualität negativ beeinflussen kann.

Traubensaft, reich an Zuckern und Nährstoffen, ist ein geeignetes Substrat für das Wachstum von vielen Spezies von Mikroorganismen, inklusive Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen. Nach der alkoholischen Gärung reduziert das vorhandene Ethanol das Potential für die Entwicklung von vielen Mikroorganismen, aber selbst in der Endphase der Weinherstellung können einige Hefen und Bakterien immer noch aktiv sein.

### **Schädigende Mittel**

Der niedrige pH-Wert von Saft und Wein erlaubt kein Wachstum von menschlichen Krankheitserregern, die daher kein Problem in der Weinindustrie darstellen. Viele Mikroorganismen können jedoch die Weinqualität durch das Produzieren von unerwünschten chemischen Verbindungen negativ beeinflussen, die sich aus der Degradation der vorteilhaften Verbindungen ergeben.

### **Oxidative Hefen**

Diese Gruppe umfasst Hefen von den Gattungen *Hansaenula*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Candida*. Diese Hefen haben einen überwiegend oxidativen Stoffwechsel, aber einige Spezies können in ziemlich hohem Alkoholniveau überleben. Sie können Zucker und organische Säuren unter der Präsenz von Sauerstoff metabolisieren. Unerwünschte Nebenprodukte, die sich aus dieser Aktivität ergeben, sind Essigsäure, Äthylacetat und Acetaldehyd neben vielen anderen Verbindungen, deren starke Präsenz Fehler und Fehleraromen im Wein initiieren kann. Oxidative Hefen werden auf Weintrauben, in Säften und in Wein gefunden.

### **Apiculatus Hefen**

Der Name dieser Hefen bezieht sich auf die zitronenförmige Erscheinung von *Kloeckera apiculata*. Diese Hefe liegt in Traubensaft vor dem vollständigen Beginn der alkoholischen Gärung vor und kann bei niedrigen Temperaturen schnell wachsen. Verglichen mit *Saccharomyces cerevisiae* (dem Hauptwirkstoff der alkoholischen Gärung in Wein) produziert *Kloeckera* höhere Mengen an flüchtiger Säure und Äthylacetat. Sein Stoffwechsel produziert andere flüchtige Verbindungen, deren Signifikanz hinsichtlich Weinqualität unklar ist. Die meisten Winzer trachten danach, diese flüchtigen Verbindungen zu vermeiden, während andere eine bestimmte Menge suchen, um ihrem Wein Komplexität hinzuzufügen. In einer typischen spontanen Gärung dominiert *Kloeckera* am eigentlichen Beginn des Prozesses und wird später von *Saccharomyces* verdrängt, sobald der Alkohol 4-5 % Grad erreicht. Man nimmt an, dass *Kloeckera*-Hefen der Hauptfaktor für den Abbau von assimilierbarem Stickstoff, Vitaminen und anderen Mikronährstoffen im Most sind.

### **Fermentierende Hefen**

Diese Familie ist im Grunde genommen, gut bekannt als *Saccharomyces spp.* Die verschiedenen Arten dieser Hefe sind die immunsten gegen die für Wein typische Kombination von Alkohol und Säure, und es sind diese Hefen, die die alkoholische Gärung bis zum vollständigen Abbau des Zuckers ausführen. Sie werden im Allgemeinen als positiv angesehen, aber Weinproduzenten müssen die große Variabilität innerhalb der Stämme beachten. Einige Stämme können übermäßige Mengen an Essigsäure, Schwefelverbindungen, SO<sub>2</sub>, Harnstoff und flüchtige Substanzen produzieren, welche die Weinqualität schädigend beeinflussen können. Einige wilde Stämme von *Saccharomyces cerevisiae* müssen als schädigende Mikroorganismen betrachtet werden. Spontane Gärungen werden normalerweise von etwa einem Dutzend verschiedener

Hefestämme ausgeführt. Oft sind die Stämme, die zu Beginn der Gärung überwiegen, nicht diejenigen, die den Zuckerabbau beenden. In derselben Weinkellerei tauchen in verschiedenen Jahren unterschiedliche Hefestämme auf. Diese Ungewissheit ist der Grund dafür, dass Weinhersteller die spontane Gärung in der Weinherstellung in Frage stellen.

### **Essigsäure-Bakterien**

*Gluconobacter* und *Acetobacter* sind die Hauptgattungen von oenologischer Bedeutung innerhalb dieser Familie. *Gluconobacter* sind hauptsächlich auf degradierten beschädigten Weintrauben zu finden und verwandeln Zucker in Essigsäure und andere Verbindungen, haben aber eine niedrige Resistenz gegenüber Alkohol. *Acetobacter* verwenden Ethanol als Substrat und metabolisieren es zu Essigsäure. Beide Bakterien brauchen Sauerstoff für ihre Aktivität.

### **Milchsäurebakterien**

Diese Gruppen schließen sowohl malolaktische Bakterien wie *Oenococcus oeni* als auch viele andere Mikroorganismen ein, die zu den Gattungen *Lactobacillus*, *Pediococcus* und anderen gehören. Viele der in Wein zu findenden Milchsäurebakterien sind heterofermentativ, und ihre Entwicklung in den Weintrauben und Säften muss deshalb vermieden werden, da sie zur Produktion von übermäßigen Mengen an flüchtigen Säuren führen können. Große Mengen von Milchsäurebakterien in von beschädigten Weintraubenbeeren stammendem Saft wurden umfassend untersucht. Ohne jede Kontrolle können diese Bakterien sehr schnell wachsen und konsumieren den Zucker unter Produktion von großen Mengen an Milch- und Essigsäuren als Nebenprodukte. Während der alkoholischen Gärung werden die Milchsäurebakterien normalerweise aufgrund des Wettbewerbs mit *Saccharomyces cerevisiae* reduziert. Jedoch steigt die Population der Milchsäurebakterien gegen Ende der Gärung und initiiert die malolaktische Gärung. (Der Hauptwirkstoff in Wein bei niedrigem pH-Wert ist *Oenococcus oeni* (früher *Leuconostoc oenos*)). Diese zweite Gärung ist normalerweise in Rotweinen erwünscht, aber in Weißweinen oft unerwünscht, wo Säure und Frische aufrechterhalten werden müssen. Mehrere Arten von *Lactobacillus* und *Pediococcus* können in Wein wachsen, und diese Bakterien sind bei hohen pH-Werten oft für den Abbau von Malat in Weinen verantwortlich. Außerdem können sie nach der malolaktischen Gärung in trockenen Weinen ebenso aktiv sein, da nur einige Hunderte mg/l Zucker ausreichend sind, um eine signifikante Population zu fördern. Diese späte Entwicklung von Bakterien in Wein ist definitiv eine schädigende Reaktion, da sie einen unangenehmen Geruch produziert.

### **Brettanomyces**

*Dekkera/Brettanomyces* ist eine Hefe, die sowohl in Traubensäften als auch in Wein zu finden ist. Einige Stämme können sogar bei relativ niedrigen Populationen Äthyl-Phenole produzieren, deren Geruch als Pferdemit, Heftpflaster und Pferdeschweiß beschrieben wird. *Brettanomyces* in der Weinkellerei kann zu signifikanten wirtschaftlichen Schäden führen. Diese Hefe kann Holzfässer wie auch Betontanks kontaminieren, was gründliche Reinigungsbehandlungen oder die vollständige Erneuerung von Behältern erfordern kann. *Brettanomyces* kann sich auch in der Flasche entwickeln, was oft widersprüchliche Fehler im Wein beim Verbrauch ergeben. Diese Hefe ist nicht leicht feststellbar und sorgsame Prävention ist die beste Art, diesen Schaden zu vermeiden. Hohe pH-Werte und niedrige SO<sub>2</sub>-Präsenz sind die Hauptgründe dafür, dass sich *Brettanomyces* im Wein entwickeln kann.

### **Bedingungen**

Die Ökologie dieser Mikroorganismen hängt von verschiedenen wichtigen Faktoren ab, wie Zeit, Temperatur, pH-Wert und Sauerstoff.

### **Zeit**

Mikroorganismen brauchen Zeit, um zu wachsen und sich zu vermehren. Eine Generationszeit kann von ein paar wenigen Minuten bis zu Wochen, je nach der Mikrobe, Bedingungen und Nahrungsverfügbarkeit variieren. In optimalen Bedingungen, beispielsweise bei Traubensaft unter Sommerlufttemperatur, kann sich der Hefe- und Bakterienbestand alle 1-2 Stunden verdoppeln. Man muss sich klar darüber sein, dass unter optimalen Bedingungen eine einzelne Hefezelle eine Population von einigen Tausenden von Zellen innerhalb von einem Tag produzieren kann. Die

kritischsten Phasen in der Weinherstellung müssen dann so schnell wie möglich durchgeführt werden (d.h. Transport und Lagerung von Weintrauben, Saftklärung, Periode innerhalb der Endphase der alkoholischen und malolaktischen Gärung, usw.).

### **Temperatur**

Jeder Mikroorganismus hat einen bestimmten optimalen Temperaturbereich für seine Aktivität. Zum Beispiel hat *Saccharomyces cerevisiae* keine oder eine sehr niedrige Aktivität unterhalb von 10-12 °C und zeigt in Traubensaft ein Maximalwachstum bei etwa 35 °C. Alkohol reduziert das Optimum auf 26-28 °C. *Kloeckera* ist bei Temperaturen von 4-10 °C aktiver als *Saccharomyces cerevisiae* und wird zum Beispiel während der Kaltmazeration des Saftes verwendet. Milchsäurebakterien brauchen 16-18 °C, um mit einer signifikanten Geschwindigkeit zu wachsen. Essigsäure-Bakterien können hohen Temperaturen sogar in Gegenwart von Alkohol standhalten. Kühlung ist eine energieaufwendige, aber wirksame Strategie bei der Reduktion des Wachstums von schädigenden Mikroorganismen sowohl in Saft als auch in Wein. Dennoch verlangsamen niedrige Temperaturen zwar das Wachstum und die Aktivität der Mikroorganismen, aber sie inaktivieren oder entfernen sie nicht aus dem System. Eine anschließende Steigerung der Temperatur startet den Kontaminierungsprozess neu.

### **Sauerstoff**

Sauerstoff ist für die Existenz einiger schädigender Mikroorganismen wesentlich. Essigsäure-Bakterien und oxidative Hefen brauchen eine reichliche Verfügbarkeit an Sauerstoff. Einige Milchsäurebakterien und einige *Brettanomyces*-Hefen können eine geringere Menge Sauerstoff ausnutzen. *Saccharomyces cerevisiae* brauchen keinen Sauerstoff, um sich zu entwickeln und zu gären, obwohl sie von seiner Verfügbarkeit um die mittlere Gärungsstufe herum profitieren. Die Vermeidung des Kontakts von Luft mit Saft und Wein durch reduzierte Gasräume in Tanks sowie Inertgasschutz ist auf diese Art eine wirksame Strategie, um die Entwicklung großer Mengen schädigender Mikroorganismen zu vermeiden.

### **pH-Wert**

Säure ist ein Hauptfaktor hinsichtlich Milchsäurebakterien. Nur *Oenococcus oeni* können eine Aktivität bei pH-Werten niedriger als 2,9 aufweisen; meistes besteht kein signifikantes Wachstum, wenn ein Wert über 3,2 nicht überschritten wird. Jedoch zeigen alle einen Anstieg ihrer Aktivität, wenn der pH-Wert zunimmt. Bei pH-Werten um etwa 4,0 können einige Milchsäurebakterien so schnell wachsen, dass sie die Hefen überwältigen. Unter den Hefen wird nur *Brettanomyces* signifikant vom pH-Wert beeinflusst, und Weine mit geringer Säure sind leichter kontaminierbar als solche mit niedrigen pH-Werten. *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera* und Essigsäure-Bakterien sind fast gleichermaßen im gesamten Bereich des Wein-pH-Werts aktiv.

### **Hemmstoffe**

Die Weinrichtlinie erlaubt die Verwendung einer gewissen Anzahl von Substanzen, die das Wachstum schädigender Mikroorganismen hemmen können.

### **SO<sub>2</sub>**

Hohe Wirksamkeit, niedrige Kosten und ein breites Anwendungsspektrum machen Sulfite dadurch zur gebräuchlichsten antimikrobiellen Verbindung in der Weinherstellung.

SO<sub>2</sub> ist aktiv gegen Bakterien und Hefen. Einer der Hauptgründe für seine breite Verwendung in der Weinherstellung ist, dass unter den Weilmikroorganismen *Saccharomyces cerevisiae*, der für die alkoholische Gärung benötigt wird gleichzeitig der gegenüber SO<sub>2</sub> am wenigsten empfindliche Organismus ist.

Die Wirksamkeit von SO<sub>2</sub>, wenn es dem Wein zugegeben wird, hängt von den abbindenden Verbindungen und vom Wein-pH-Wert ab.

Pyruvat, Acetaldehyd, 2-Chetoglutarsäure und andere Kohlenstoffverbindungen, die hauptsächlich von Hefen während der Gärung produziert werden, sind in der Lage, Sulfite so stark abzubinden, dass die gebundene Form für die meisten Mikroorganismen nicht mehr schädlich ist. Nur Bakterien sind von Schwefeldioxid betroffen.

Innerhalb des freien SO<sub>2</sub>'s ist es die molekulare Fraktion( SO<sub>2</sub> -- ), welche aktiv gegen alle schädigenden Mikroorganismen auftritt, und ihre Relevanz hängt vom pH-Wert ab. Diesselbe

Menge an freiem SO<sub>2</sub> ist 10-mal aktiver gegen Mikroben bei einem pH-Wert 3,0 als bei einem pH-Wert 4,0.

### **Lysozym**

Lysozym, aus Eiweißen extrahiert, ist ein Konservierungsmittel, das in der Lage ist, Bakterienzellen zu brechen und damit ihren Tod zu verursachen. Im Wesentlichen verwendet in der Milchindustrie, ist es in letzter Zeit für die Weinherstellung zugelassen worden. Es hat keinen Einfluss gegen Hefen und Essigsäure-Bakterien. Seine Wirksamkeit gegen Lacto-Bazillus, *Pediococcus* und *Oenococcus* ist größer, wenn diese Mikroorganismen in der Wachstumsphase sind und seine Verwendung als ein Präventivzym deshalb vorzuziehen ist.

### **Kaliumsorbate**

Es ist nur aktiv gegen Hefen. Wenn es während der bakteriellen Entwicklung anwesend ist, kann es zu Verbindungen metabolisiert werden, die für ein starkes nach Geranie (*Pelargonium*) riechendes Aroma verantwortlich sind. Deshalb ist seine Verwendung auf die Abfüllphase nach der Weinfiltration beschränkt, aber für biologische Weinherstellung nicht akzeptabel.

### **Dimethyl Dicarbonate (DMDC)**

Dies ist seit Kurzem in der Weinherstellung der EU zum Gebrauch in Süßweinen bei der Abfüllung erlaubt. Es ist eine Alternative zu Kaliumsorbate, da es nur gegen Hefen wirksam ist. Aufgrund seiner geringen Löslichkeit wird DMDC via Induktion beim Abfüllen durch ein spezielles Gerät in den Wein gebracht. Es wirkt als augenblickliche Sterilisation der Hefen, und nach wenigen Stunden zerfällt es in Methanol und Kohlendioxid, aber es ist für die biologische Weinherstellung nicht akzeptabel.

### **DANKSAGUNG**

Die Autoren danken für die finanzielle Unterstützung seitens der Kommission der Europäischen Gemeinschaft unter Prioritätsbereich 1,2 (biologischer Weinbau und Weinverarbeitung) des sechsten Rahmenprogramms für Forschung als technologische Entwicklung und Demonstration innerhalb der integrierten Projektnr. 022769 (biologischer Weinbau und Weinherstellung: Entwicklung von Umwelt und verbraucherfreundlichen Techniken für die Verbesserung der biologischen Weinqualität und des wissenschaftlich basierten gesetzgebenden Rahmens).

Die Information in diesem Bericht gibt nicht in jedem Fall die Ansichten der Kommission wider, und greift keinesfalls der zukünftige Politik der Kommission in diesem Bereich vor. Für den Inhalt dieses Berichts tragen allein die Autoren die Verantwortung. Die hierin enthaltenen Informationen, Meinungsäußerungen und jedliche Vorhersagen stammen aus Quellen, von denen die Autoren meinen, dass sie zuverlässig sind, was aber keine Garantie bezüglich ihrer Genauigkeit oder Vollständigkeit bedeutet. Die Informationen sind nicht bindend und basieren auf der Auffassung, dass jede Person, die diese bearbeitet oder ändert, dies ganz auf eigene Verantwortung tut.

### **HAFTUNGS AUSSCHLUSS**

Die auf diesen Seiten vermittelten Informationen werden in gutem Vertrauen geliefert. Diese Informationen sind nach bestem Wissen und professionellem Urteil der Autoren zum Zeitpunkt der Veröffentlichung exakt und richtig. Da die Autoren jedoch keine Kontrolle darüber haben, welchen Gebrauch die Empfänger von diesen Informationen machen, übernehmen die Autoren keinerlei Verantwortung oder Haftung hinsichtlich der Verwendung dieser Information durch Empfänger, (oder durch Dritte, welche die Informationen wiederum von Empfängern übernehmen).

Alle Angebote sind nicht bindend und ohne Verpflichtung. Teile der Seiten oder der vollständigen Veröffentlichung einschließlich aller Angebote und aller Informationen können ohne separate Ankündigung ergänzt, von den Autoren ausgetauscht, sowie teilweise oder vollständig gelöscht werden.