Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 44 (1953)

Heft: 1

Artikel: Beitrag zur Kenntnis fadenziehender (linder) Weine und Obstweine

Autor: Lüthi, Hs.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982843

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Beitrag zur Kenntnis fadenziehender (linder) Weine und Obstweine

Von *Hs. Lüthi*

(Mitteilung aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil)

I. Einleitung

Das Lind- oder Öligwerden der Weine und Obstweine ist eine in allen weinbautreibenden Ländern wohlbekannte, auffallende Veränderung dieser Getränke. In Deutschland und Österreich bezeichnet man sie als Zäh-, Schwer- und Schleimigwerden. Im französischen Sprachgebiet wird die eigenartige Veränderung als «la graisse des vins» beschrieben. Als «ropy» oder «slimy wines» schliesslich bezeichnet man sie im englischen Sprachbereich.

Die krankhafte Veränderung ist überall von gleicher Natur. Weine und Obstweine fliessen lautlos wie Öl und ohne das bekannte Plätschern ins Glas. Sie sind mehr oder weniger dickflüssig und von zäher, fadenziehender und schleimiger Beschaffenheit (Bilder 1 und 2). Die im Wein gelöste Kohlensäure kann infolge-

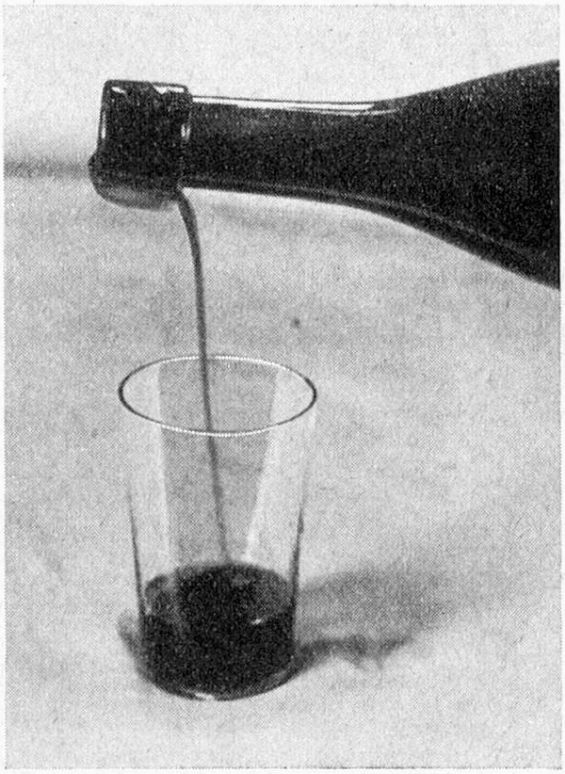

Abb. 1
Linder Wein fliesst lautlos und ölig ins Glas. Keine Kohlensäureentwicklung.

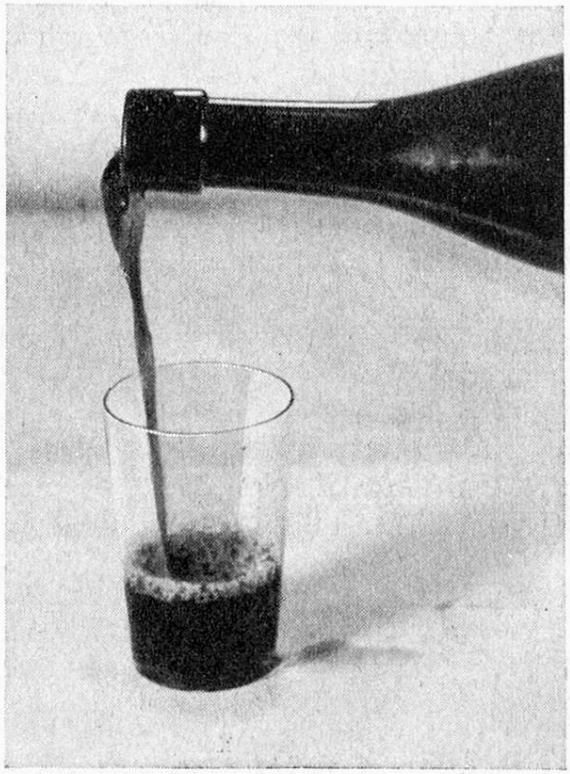

Abb. 2
Gesunder Wein fliesst unter Geräuschbildung ins Glas. Kohlensäure wird leicht frei («Sternbildung»).

dessen nur schwer entweichen. Ihre kleinen Bläschen steigen äusserst langsam durch die Flüssigkeit empor, und man vermisst deshalb die bei einem normalen Wein gern gesehene leichte Kohlensäureentwicklung und «Stern»-Bildung.

Die Veränderung des physiko-chemischen Zustandes der Weine ist so auffallend und gleichzeitig so unnatürlich, dass sie keinem Konsumenten entgeht. Mit dem Entstehen des Lindwerdens bildet sich in der Flasche ein mehr oder weniger starkes Depot, so dass sich der Wein bei unvorsichtigem Einschenken noch trüben kann. Das Interessanteste aber an dieser Erscheinung ist, dass sie durch kurzes Schütteln des Getränkes restlos zum Verschwinden gebracht werden kann. Der Wein nimmt dadurch wieder seine normale Beschaffenheit an, und nur dem geübten Degustator ist es möglich, an leichten Aroma- und Geschmacksveränderungen, besonders bei Rotweinen, auf die vorherige Beschaffenheit zu schliessen.

In der Ostschweiz stellt das Lindwerden heute eines der wichtigsten Probleme der Weinwirtschaft dar. Ihre leichten, zum Teil alkohol- und gerbstoffarmen Weine, vor allem die Rotweine, sind mit gewissen Unterschieden von Jahrgang zu Jahrgang sehr anfällig für die Krankheit, seien sie nun im Fass oder in der Flasche. Im letzten Falle sieht sich der Weinhandel gezwungen, die abgefüllten Flaschen wieder zurücknehmen, zu entkorken, die Weine zu behandeln und erneut in Flaschen abzuziehen. In gewissen Jahrgängen sind ihm dadurch enorme Belastungen erwachsen. Das Interesse der Weinwirtschaft an der Abklärung dieser seltsamen Krankheit ist daher zu allen Zeiten äusserst rege gewesen.

Das Lind- oder Zähwerden ist bei den Weinen nur in selteneren Fällen mit einem richtigen «Stich», d.h. mit der abnormalen Erhöhung des Gehaltes an flüchtiger Säure verbunden. Linde Obstweine dagegen sind in der Regel gleichzeitig auch stichig und untrinkbar.

II. Literaturübersicht

Schon in den ältesten mir zugänglichen Schriften über Wein und Weinbehandlung ist das Lind- oder Zähwerden erwähnt, und es werden uns heute unverständlich erscheinende Behandlungsmethoden empfohlen.

Die Krankheit muss bereits vor mehr als hundert Jahren eine praktische Bedeutung besessen haben. Im Jahre 1811 setzte nämlich die «Société d'Agriculture, Sciences et Arts» in Paris einen Preis aus für die Aufdeckung der Ursache des Lindwerdens und für die Bekanntgabe von wirksamen Vorbeuge- und Behandlungsmassnahmen. Der damalige Preisgewinner *Mandel* führte das Lindwerden auf einen durch Einflüsse des Jahrgangs und des Bodens gestörten Gleichgewichtszustand im Extrakt der Weine zurück. Er wies bereits auf die Bedeutung einer unvollständigen Durchgärung der Weine hin. Die *Heilung* erblicke er in Zusätzen von Weinstein und Tannin.

Der durch seine Vorschläge zur Weinverbesserung bekannte Franzose *Chaptal* führte in einer 1831 erschienenen Arbeit [1]) das Lindwerden ebenfalls auf einen

Restzuckergehalt der Weine zurück. Diese Vermutung zieht sich wie ein roter Faden durch beinahe alle späteren Arbeiten.

In seinem bekannten Werke [2]) über den Wein bezeichnet *Pasteur* erstmals bestimmte Mikroben als Erreger der Krankheit. Er glaubt, dass diese von den Trauben, vor allem von verpilzten Beeren her stammen. Seine scharfe Beobachtungsgabe lässt ihn erkennen, dass Flaschenweine aus einem angebrochenen Fass, in welchem er eine «essigmutter»-ähnliche Decke auf dem Wein feststellte, bisweilen extrem stark lind werden können. Diese Beobachtung verdient heute unser besonderes Interesse. Die von ihm beschriebenen Erreger sind Kokken, welche häufig in rosenkranzähnlichen Verbänden vorkommen.

Nach *Pasteur* haben verschiedene Forscher in linden Weinen bestimmte Organismen festgestellt und als Urheber der Krankheit betrachtet. So glaubte *Börsch* [3]) ein sarcina-artiges Bakterium als Erreger ansprechen zu dürfen. Dem gegenüber behauptete *Aderhold* [4]), das Zähwerden der Weine werde durch einen Diplococcus verursacht. *Kramers* [5]) Auffassung, es handle sich bei den Erregern des Lindwerdens um ein oft in langen Fäden vorkommendes Stäbchenbakterium, hat sich bis in die Neuzeit hinein halten können. Sie wird von *Cruess* [6]) noch in der neuen Auflage (1947) seines Buches über die Weinbereitung weitergegeben. *Kramer* nennt den von ihm als Erreger des Lindwerdens angesprochenen Organismus *Bacillus viscosus vini*. Leider gelang es ihm nie, mit Reinkulturen desselben Weine lind zu machen. *Mazé* und *Pacottet* [7]) züchteten aus linden Weinen ein Stäbchen, welches sie näher untersuchten und infolge seiner Stoffwechselprodukte (CO_2, Alkohol, Mannit) zu den Mannitbakterien zählten. *Laborde* [8]) berichtet als erster, dass es ihm gelungen sei, mit zwei nicht näher beschriebenen Stämmen Weine künstlich lind zu machen. Seine Organismen besitzen eine schleimige Hülle, bilden im Gegensatz zu den Angaben von *Mazé* und *Pacottet* keinen Mannit, dagegen Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure als Hauptprodukte, Bernsteinsäure und Glyzerin als Nebenprodukte. Er schreibt ferner, dass sich die Schleimbildner infolge der Beschaffenheit ihrer dicken Hülle durch Alkohol nachweisen (fällen) lassen. Die gefällte Substanz hat nach seinem Bericht Zellulosecharakter. Ähnlich dem Dextran reduziert sie *Fehling*'sche Lösung nicht.

Auch *Kayser* und *Manceau* [9]) stellen als wichtigste Stoffwechselprodukte ihrer aus verschiedenen französischen Weinen herausgezüchteten Organismen Essigsäure und Mannit fest. Mit den als Reinkulturen angesprochenen Bakterienstämmen vermochten sie Versuchsweine wieder lind zu machen. Diese Ergebnisse befinden sich in auffallendem Gegensatz zu den meisten späteren Arbeiten, in welchen übereinstimmend festgestellt wird, dass das Lindwerden eines Weines nicht unbedingt mit einer merklichen Erhöhung des Essigsäuregehaltes zusammenhängen müsse. Von Bedeutung ist die sich mit *Pasteurs* Angaben deckende Beobachtung, dass gewisse «Aerobier» das Lindwerden stark beeinflussen können. Sie glauben, dass solche Organismen (Bakterien, Hefen oder Schimmelpilze) die Erreger vor dem Sauerstoff schützen und sie deswegen zu vermehrter Schleimproduktion befähigen.

Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Autoren führt *Meissner* [10]) das Lindwerden der Weine und Obstweine auf die Tätigkeit von bestimmten *Schleimhefen* zurück. Auch *Wortmann* [11]) sieht den Erreger der Krankheit in einer Hefe. Er glaubt sogar, dass wahrscheinlich mehrere Organismen als Urheber in Frage kommen.

Goldschmidt [12]) äussert sich in seiner Arbeit nicht über die Erreger der Krankheit. Übereinstimmend mit den meisten andern Autoren gibt er aber an, dass sie vorwiegend die Weissweine befallen. Auch nach seinem Bericht kann das Lindwerden oft in so starkem Masse auftreten, dass der Wein kaum mehr zu der auf den Kopf gestellten Flasche herausfliesst! Solche Beobachtungen treten immer wieder vereinzelt auf. Sie wurden aber bisher nie recht ernst genommen und als starke Übertreibungen bewertet.

Im Gegensatz zu den meisten bisher erwähnten Forschern behaupten *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* [13]), dass das Lindwerden sicher *nicht* auf einen Restzuckergehalt der Weine zurückgeführt werden könne. Die von der Krankheit befallenen und von ihnen beobachteten Gutedelweine besassen in gesundem Zustande nur 0,6 g/Liter und weniger, zum Teil sogar nur Spuren von reduzierenden Substanzen. Es schien darum den Autoren unmöglich, diese geringen Zuckerreste als Voraussetzung für die Enstehung des Lindwerdens zu betrachten. Die Tatsache, dass zwei von den drei untersuchten Weinen praktisch nur Kokken enthielten, hätte zur Annahme verleiten können, die Krankheit werde sicher durch solche verursacht. Der dritte Wein besass aber praktisch nur das bekannte, säureabbauende *Bacterium gracile*, so dass diese Annahme dahinfallen musste.

Einige Jahre später befassen sich die beiden Autoren in einer grösseren Arbeit [14]) erneut mit dem Lindwerden der Weine. Dabei erbringen sie den Beweis dafür, dass auch *völlig zuckerfreie Weine* lind werden können. Sie glauben, dass dem Restzuckergehalt für das Lindwerden der Weine bis jetzt allzu grosse Bedeutung beigemessen wurde, stellen aber nicht in Abrede, dass ein solcher die Krankheit hie und da befördern könnte.

Erstmals wird hier das Lindwerden als *Folgeerscheinung des biologischen Säureabbaues* gedeutet. Wiederholte Versuche, es mit Reinkulturen in sterilisierten Weinen künstlich zu erzeugen, missglückten stets. Die Autoren kommen darum zur Auffassung, die Weine würden durch die Pasteurisation so stark verändert, dass sie nicht mehr krankheitsanfällig seien.

Wohl auf Grund dieser Versuche glaubt *Osterwalder* [15]), dass Schleimsubstanzen der Traubenbeeren für das Lindwerden von massgebender Bedeutung seien. Er nimmt an, dass sie durch den biologischen Säureabbau in eine unlöslichere, dichtere Form übergehen und sieht in der schleimigen Beschaffenheit der Weine eher eine physiko-chemisch bedingte Veränderung.

Die Auffassung vom ursächlichen Zusammenhang des Lindwerdens mit dem biologischen Säureabbau hat sich bis heute erhalten. Von mehreren Autoren, insbesondere von *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* [14]), aber auch von *Martin* [16])

wird auf die interessante Tatsache aufmerksam gemacht, dass sich linde Weine chemisch gar nicht eindeutig charakterisieren liessen.

Allgemein bekannt, und von den meisten Autoren erwähnt, ist die leichte Anfälligkeit von *Frühabzügen, Süssdrucken* oder *gerbstoffarmen* Weinen. Da früher Rotweine infolge ihrer besonderen Kelterung stets sehr gerbstoffreich waren, lässt sich erklären, dass die Krankheit vorwiegend bei Weissweinen beobachtet wurde. Ganz ohne Erklärung bleibt aber die Frage, weshalb die Schleimstoffe linder Weine und Obstweine durch kurzes Schütteln und Sauerstoffzufuhr gänzlich zerstört werden können.

Von den zahlreichen, zuletzt auch durch *Martin* [16]) unternommenen Versuchen, das Lindwerden durch Reinkulturen in Weinen künstlich zu erzeugen, sind mit Ausnahme der von *Laborde* [8]) und *Kayser* und *Manceau* [9]) beschriebenen Fälle alle Anstrengungen erfolglos geblieben. Bereits auf Grund der Arbeiten von *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* über die chemische Veränderung linder Weine liegt die Annahme sehr nahe, dass in jenen beiden Ausnahmefällen keine absoluten Reinkulturen vorlagen.

In diesem Zusammenhang sei noch auf eine Beobachtung von *Kramer* [5]) und *Martin* [16]) hingewiesen. Sie bemühten sich ebenfalls um die Isolierung der Erreger des Lindwerdens. Beide weisen auf *«kleine kokkenförmige Gebilde»* hin, welche sie neben den üblichen Bakterien in linden Weinen feststellen konnten. Sie wagen diese «kokkenförmigen Körperchen» aber nicht sicher als Mikroorganismen anzusprechen, und ihre Bedeutung blieb darum unabgeklärt.

Nach *Martin* hat sich in neuerer Zeit *Rentschler* [17]) mit dem Lindwerden der Weine befasst. Er untersuchte die durch Alkohol fällbaren Schleimsubstanzen und kam zum Schluss, dass es sich dabei um *Aminozucker* handeln müsse. Als letzter habe ich in zwei vorläufigen Mitteilungen [18])[19]) auf meine Versuche zur Abklärung der biologischen Ursache und zur Isolierung der Erreger des Lindwerdens hingewiesen. Auf diese Arbeiten soll nun im Folgenden näher eingegangen werden.

III. Isolierung von Streptococcus mucilaginosus var. vini

1. Beobachtungen in der Praxis

Die gegenwärtigen Kelterungsmethoden für Rotweine führen zu den vom heutigen Konsumenten geschätzten, milden und gerbstoffarmen Getränken. Diese sind erfahrungsgemäss für das Lindwerden ebenso anfällig wie die Weissweine. Infolge der bei ihnen normalerweise geübten Zurückhaltung im Gebrauch von schwefliger Säure ist die Krankheit gegenwärtig und ganz im Gegensatz zu früher sogar eine typische Rotweinkrankheit geworden. Ihr sind Süssdrucke, Frühabzüge, ferner säure- und gerbstoffarme Weine sowohl in der Flasche als auch im Fass besonders unterworfen.

Nach meinen Beobachtungen dauert die Krankheit im Fasse gewöhnlich viel weniger lang als in der Flasche, wo der Sauerstoffzutritt nur sehr gering ist. Im

Fasse wird die Krankheit sehr oft gar nicht beachtet. Sie hinterlässt aber immer ein mehr oder weniger starkes schleimiges Depot, das manchmal von der Beschaffenheit des Eiklars sein kann. Auffallend ist, dass die Weine von Jahrgang zu Jahrgang ganz verschieden anfällig für die Krankheit sind. Sie tritt zwar jedes Jahr häufig auf, doch waren ihr z.B. die 1948er Weine besonders ausgesetzt.

Unerklärbar scheinen Fälle, bei welchen vom *gleichen* Abzug einige unter denselben Bedingungen lagernde Flaschen die Krankheit aufweisen, unmittelbar daneben liegende aber nicht.

Bei der Beobachtung einer grossen Zahl von Flaschen habe ich immer wieder feststellen können, dass sich der *Beginn* der Krankheit schon frühzeitig an der besonderen Art der Depotbildung erkennen lässt. Bei der liegenden Flasche bildet sich an der tiefsten Stelle zuerst ein unbedeutendes, gelblich-weisses Depot in Form eines zarten, oft mehrfach unterbrochenen Striches. Gleichzeitig können daneben weitere Striche wie feine Verzweigungen eines «Ästchens» festgestellt werden. Die Weiterbeobachtung zeigt immer, dass diese «Ästchen» im Verlaufe einiger Wochen alle nach der Mitte zu einem dicken «Faden» zusammenrutschen. Stellt man die Flasche auf, so bleibt dieser zunächst am Glas kleben und sinkt nachher, zahlreiche Fäden ziehend und ohne eigentliche Trübung des Flascheninhaltes langsam zu Boden.

Bei der Kontrolle grösserer Weinabfüllungen in der Praxis *) machte ich die interessante, bis heute nicht sicher abgeklärte Beobachtung, dass vom gleichen Abzug in den 3-dl-Flaschen das beschriebene Depot und damit das Lindwerden zuerst auftritt. Der Wein in diesen Flaschen ist der Krankheit schon stark verfallen, wenn in den 7-dl-Flaschen die Depotbildung erst beginnt. Zu dieser Zeit sind aber die 1-Literflaschen noch ohne jede Depotbildung. Die Beobachtung findet ihre Parallele in der bekannten Tatsache, dass die Entwicklung der Weine in kleinen Flaschen rascher fortschreitet als in grösseren.

Die wiederholt erwähnte Feststellung, das Lindwerden sei in der Praxis immer mit einer Kohlensäureentwicklung verbunden, konnte ich bestätigen. Auch die seinerzeit von *Müller-Thurgau* aufgestellte Behauptung, die Krankheit stehe im Zusammenhang mit dem biologischen Säureabbau, hat ihre Gültigkeit nicht verloren. Schliesslich sei noch auf die wichtige Erfahrungstatsache hingewiesen, dass ursprünglich säurereiche Jahrgänge besonders anfällig für das Lindwerden sind.

2. Das Ausgangsmaterial

Es fehlte nicht an linden Weinen und Obstweinen als Ausgangsmaterial für die bakteriologische Abklärung der Krankheit. Von besonderem Interesse für mich waren die Bakterienkulturen, mit welchen *Martin* [16]) arbeitete und die er

*) Die auf breiter Basis durchgeführten Versuche konnten in Zusammenarbeit mit Herrn *Ernst Nägeli*, dem Leiter der Weinabteilung des Verbandes ostschweiz. landw. Genossenschaften (VOLG), Winterthur, durchgeführt werden. Ihm verdanke ich auch zahlreiche wertvolle Anregungen und Hinweise.

mir in verdankenswerter Weise als Trockenpräparate zur Verfügung stellte. Im weiteren wurden aus einer grösseren Zahl linder Getränke Fälle ausgewählt, welche bakteriologisch das einheitlichste und einfachste Bild zeigten. Ein 1948er Blauburgunderwein der Versuchsanstalt war ziemlich stark lind und wies in seinem Zentrifugat neben Hefen vorwiegend Kokken von verschiedener Grösse und nur vereinzelte Stäbchenbakterien auf. Ein stark linder 1948er Gutedelwein aus einer Einsendung enthielt ebenfalls vorwiegend Kokken und wurde deshalb zur Weiteruntersuchung mitverwendet. Im Gegensatz dazu wies die von *Martin* stammende Kultur vorwiegend Stäbchen und nur sehr vereinzelte Kokken auf. Diese verschiedenen Ausgangsproben lieferten das Rohmaterial für die nun folgenden bakteriologischen Arbeiten.

3. Die Isolierungsarbeiten

Aus eigenen Beobachtungen, aber auch aus den verschiedenen bereits erwähnten Arbeiten vermutete ich, dass kokkenähnliche Bakterien beim Schleimigwerden der Weine eine wichtige Rolle spielen müssten. Das Ausgangsmaterial enthält durchwegs Kokken. In manchen Fällen scheinen sie aber in verschwindender Minderzahl zu sein.

Der Zusammenhang mit dem biologischen Säureabbau war unbestritten, jedoch war die künstliche Reproduktion der Krankheit mit Reinkulturen der in den betreffenden Weinen vorgefundenen säureabbauenden Bakterien bisher nicht gelungen. Es lag darum zuerst nahe, das Lindwerden als eine durch kombinative Wirkung zweier oder mehrerer Organismen entstehende Erscheinung zu betrachten und in diesem Sinne Versuche anzustellen.

Von Aufstrichen des Ausgangsmaterials auf Tomatensaftagar wurden zunächst etwa dreissig verschiedene Kulturen angelegt. Es handelt sich dabei um solche von verschiedenen Stäbchen, Kokken und Hefen. Mit ihnen wurde in der Folge einzeln und in zahlreichen Kombinationen versucht, Wein und Obstwein künstlich wieder lind zu machen.

Nach mehrmonatiger Versuchszeit konnten tatsächlich einige wenige durch Kombination von vier bis fünf verschiedenen Organismen lindgewordene Weine und Obstweine beobachtet werden. Es galt nun, mit den einzelnen Stämmen allein, oder in geringerer Anzahl kombiniert, weitere Versuche durchzuführen. Diese waren ausserordentlich zeitraubend und von wechselndem Erfolg begleitet.

Als Versuchsgetränke dienten in 5-dl-Flaschen mit Patentverschluss abgefüllte Weine und Obstweine verschiedener Herkunft. Oft zeigte sich erst nach monatelangem Warten, dass nicht alle verwendeten Getränke sich für unsere Versuche «eigneten». Mit den gleichen Bakterien wurden die einen lind, die andern aber nicht. Die Weine scheinen also nur dann krank zu werden, wenn sie eine bestimmte *Disposition* dazu besitzen. Meine Auswahl des Versuchsmaterials war darum anfänglich weitgehend vom Zufall abhängig. Nachdem einmal ein sich sehr gut eignender Wein gefunden war, konnte er für eine grössere Zahl weiterer Versuche verwendet werden.

Aus künstlichen, mit Erfolg verlaufenen Infektionsversuchen wurde schliesslich eine wirksame Kultur von *Kokken* erhalten. Nach mehrfachen Überimpfungen auf verschiedene Nährböden konnte der ursprünglich als Reinkultur angesprochene Stamm in zwei weitere Stämme mit deutlich verschiedenen Eigenschaften aufgespalten werden. Die eine der beiden Kulturen trübte die Nährlösung, die andere aber liess sie völlig klar. Die in der Folge mit beiden Kulturen angestellten Versuche zeigten, dass nur die letzte die Fähigkeit besass, Weine lind und fadenziehend zu machen. Sie soll nun eingehend beschrieben werden.

Eigenschaften der schleimbildenden Kokken in Nährlösung

Der isolierte Stamm trübt die aus verdünntem Traubensaft, Hefeautolysat und Caseinhydrolysat bestehende Nährlösung in keiner Weise und bildet nach 8—10 Tagen auf dem Boden der Kulturflaschen einen mehr oder weniger dicken, grauweissen, schleimigen Belag. Schwenkt man das Gefäss in einer Drehbewegung, so löst sich dieser vom Boden. Dabei können oft starke Einzelfäden entstehen und sich wie ein Seil zu einem dicken, später wieder zu Boden sinkenden

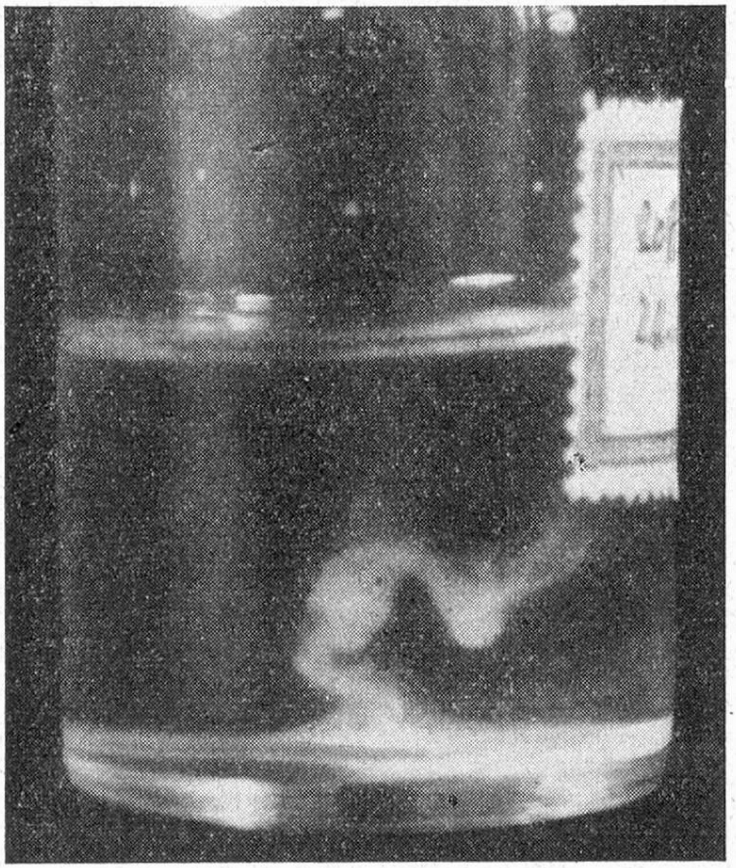

Abb. 3
Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini in Nährlösung.
Man beachte die völlige Klarheit der Lösung und die zähschleimige Beschaffenheit des aufgewirbelten dicken Bodensatzes.

Schleimpfropfen aufdrehen (Abb. 3). Wird stärker geschüttelt, so löst sich der ganze Schleim zu einer mehr oder weniger groben und sich bald wieder setzenden Trübung auf.

a) Morphologie

In einer Nährlösung, enthaltend 50 % Traubensaft, 1 % Hefeautolysat, 2 % Caseinpepton und 47 % Wasser, kann in 6—10 Tagen bei 25° C kräftiges Wachstum festgestellt werden. Die Kokken sind von sehr unterschiedlicher Grösse,

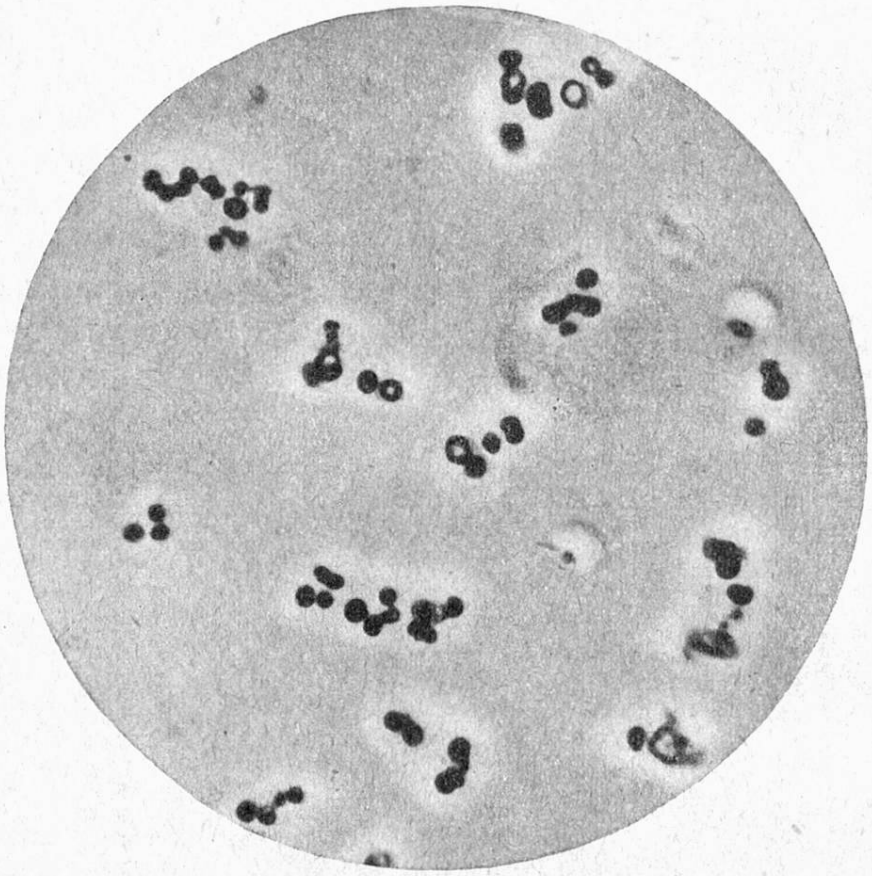

Abb. 4
Phasenkontrastaufnahme einer Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini. Man beachte die meist dichten, undurchsichtigen Kapseln, ebenso die durch den ausgeschiedenen Schleim (heller Hof) zusammengehaltenen Häufchen von Bakterien. Vergrösserung: ca. 1200 ×.

besitzen einen Durchmesser von 0,5—1,0 μ und sind in der dichten Schleimkapsel, welche sie umgibt, nur sehr schlecht zu sehen (Abb. 4). Die Kapsel selber kann das Mehrfache der erwähnten Zellgrösse erreichen.

Elektronenoptische Aufnahmen *) bestätigen die unregelmässige Grösse der

*) Ich verdanke die Aufnahmen und ihre Interpretierung Herrn Dr. *K. Mühletaler* aus dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie am Institut für allgemeine Botanik (Vorstand: Prof. Dr. *A. Frey-Wyssling*) an der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich.

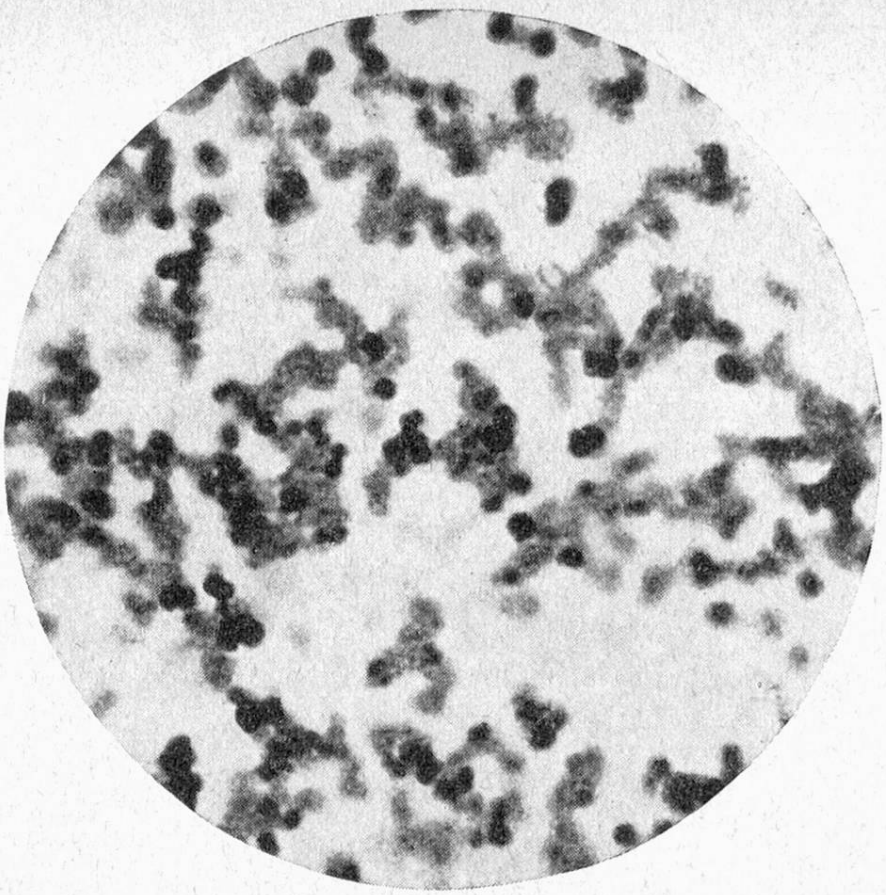

Abb. 5
Differentialfärbung einer Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini.
Kapseln: schwarz, Schleim: grau. Vergrösserung: ca. 1500 ×.

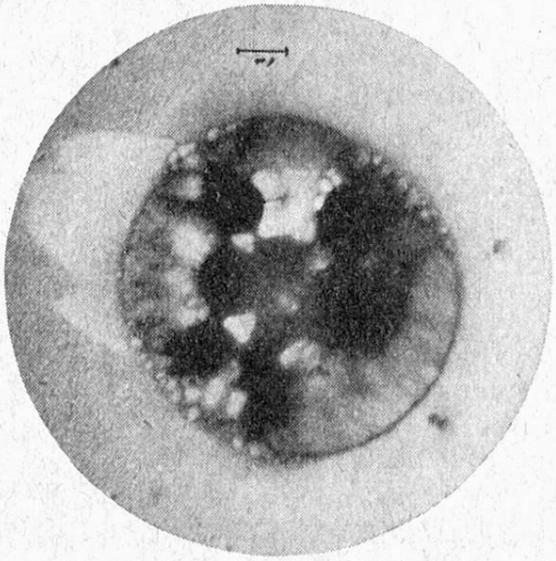

Abb. 6
Elektronenoptische Aufnahme der Erreger des Lindwerdens.
Eine Anzahl von Kokken ist in einer dichteren Kapsel, welche durch die Präparierung auf einen Bruchteil ihrer ursprünglichen Grösse eingeschrumpft ist, eingeschlossen. Um die Kapsel ist ein Hof von ausgeschiedenem Schleim sichtbar.

Kokken und das Vorhandensein einer ziemlich mächtigen, zähen Schleimhülle. Sie zeigen darüber hinaus einwandfrei, dass die Bakterien durch die Kapsel hindurch Schleim abzusondern vermögen (Abb. 5). Besonders deutlich kann die verschiedene Natur von Kapsel und Schleim durch die Differentialfärbung nach *Klieneberger-Nobel* [20]) kenntlich gemacht werden (Abb. 6). Die Kokken sind einzeln, zu zweien, oft aber auch in ganz unregelmässigen Häufchen zu beobachten. Sie färben sich *gram-positiv*. Da auch die Kapseln von verschiedener Grösse und offensichtlich verschiedener Dichte sein können, besitzen diese Häufchen oft so zufällige Form, dass sie vom ungeübten Auge kaum als Organismen angesprochen werden. Ich zweifle nicht daran, dass sowohl *Kramer* als auch *Martin* diese Bakterien vor sich hatten. Beide beschrieben nämlich kokkenähnliche Gebilde, welche sie nicht sicher als Organismen anzusprechen wagten.

b) Gelatinekulturen

Auf Tomaten-Traubensaft-Gelatine entwickeln sich bei 20° C innerhalb 40 Tagen bei nicht zu dichtem Aufstrich kreisförmige bis unregelmässige Kolonien von 0,8—1,2 mm Durchmesser. Die Kolonie ist *glattrandig, mattglänzend*, von *grauer Farbe* und leicht *convexer* Gestalt. Beim Berühren mit der Impfnadel lassen sich 0,5—1 cm *lange Fäden* ziehen. Oft bleibt dann die ganze Kolonie am Ende der Nadel haften. Es tritt *keine Gelatineverflüssigung* auf. Die Kolonien sind *undurchsichtig*. In Gelatine *Stichkulturen* ist das Wachstum auf der ganzen Länge des Stiches *einheitlich* und die *Stichlinie warzenförmig*. Auch hier keine Gelatineverflüssigung. Das umliegende Substrat ist *unverändert*.

c) Biochemische und physiologische Merkmale

Die Kokken sind *fakultativ anaerob*. Die *optimale Temperatur* liegt zwischen 25—30° C. In Nährlösung mit Nitratzusatz kann *weder Nitrit- noch Gasbildung* beobachtet werden.

Nitratreaktion negativ, Voges-Prokauer: negativ.

Stärke nach 47 Tagen bei 25° C: *nicht abgebaut.*

Katalasereaktion: negativ. Bildung von Milchsäure aus Äpfelsäure, vermutlich auch aus verschiedenen Zuckern.

Gasbildung: sehr schwache CO_2-Bildung aus Äpfelsäure.

Schleim- oder Säurebildung aus: Glucose, Fructose, Saccharose, Raffinose.

Die auffallendste und für die Praxis der Weinbereitung wichtigste Eigenschaft der isolierten Kokken ist ihre *intensive Schleimbildung* in Weinen, aber auch in Nährlösungen, wenn auch in letzteren häufig nicht so stark. Dieser Schleim lässt sich, wie es bereits *Laborde* [8]), *Rentschler* [17]) und *Martin* [16]) beschrieben, durch Alkohol fällen. Nach den beiden letzten Autoren handelt es sich bei der fällbaren Schleimsubstanz um Zucker, an deren Aufbau nach *Rentschler* Stickstoff beteiligt ist. Im Gegensatz dazu schreibt *Martin*, dass der Stickstoff-

anteil mit zunehmender Reinigung der Substanz immer geringer werde und der reinen Substanz vermutlich fehle. Die Schleimsubstanz kann durch einfaches *Schütteln zerstört* werden.

d) Systematische Zuteilung

Auf Grund der beschriebenen Eigenschaften ergibt sich für die isolierten Kokken zwangslos die Zuteilung zu der Familie der *Lactobacteriaceae*. Diese ist nach *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* [21]) in die beiden Stämme *Streptococcaceae* (Kokken) und *Lactobacilleae* (Stäbchen) unterteilt. Die Zuteilung ergibt sich auch hier zwangslos.

Der Stamm der Streptococcaceae ist in drei Gattungen aufgeteilt. Von diesen können nur die Gattungen *Leuconostoc* und *Streptococcus* in Betracht gezogen werden.

Wegen der beobachteten CO_2-Produktion müsste die Gattung *Leuconostoc* gewählt werden, doch besitzen die isolierten Kokken im Gegensatz zu den Vertretern dieser Gattung kräftig ausgebildete *Kapseln*, und sie vermögen auch in nicht saccharosehaltigen Nährlösungen Schleim zu bilden. Sie lassen sich mit den in dieser Gattung beschriebenen Vertretern kaum vergleichen und stimmen auch in ihrer Herkunft nicht mit diesen überein. Wegen der beobachteten, allerdings sehr schwachen CO_2-Bildung kann, wie erwähnt, auch die Zuteilung zur Gattung *Streptococcus* nicht völlig zwangslos erfolgen. CO_2-Bildung ist dort als Eigenschaft der strikt anaeroben Organismen angeführt. Trotzdem möchte ich den Stamm vorläufig in diese Gattung einordnen.

In seiner Arbeit über die Milchsäurebakterien in der Brauerei beschreibt *Shimwell* [22]) mehrere Streptococcen, welche in ihren Eigenschaften mit den von mir isolierten Kokken weitgehend übereinstimmen. In einer später erschienenen Arbeit beschrieben *Kulka* und Mitarbeiter [23]) einen weiteren schleimbildenden Streptococcenstamm, welcher nicht nur morphologisch, sondern auch physiologisch sehr grosse Ähnlichkeiten mit den einzuordnenden Organismen besitzt. Beide Organismen wurden aus Bier herausgezüchtet und sind in der Lage, dieses stark schleimig zu machen. In der nachstehenden Tabelle sollen vor allem die nicht völlig übereinstimmenden Eigenschaften zusammengestellt werden. In zahlreichen andern, nicht aufgeführten Eigenschaften herrscht völlige Übereinstimmung der aufgeführten Organismen.

Die in der vorangehenden Tabelle herausgearbeiteten Unterschiede in verschiedenen wichtigen Eigenschaften legen folgende Schlüsse nahe:

Die in der Grösse, Kapselbildung, Diacetylentwicklung, Trübung des Mediums und im Verhalten gegenüber bestimmten Temperaturen bestehenden Unterschiede haben *Kulka, Cosbie* und *Walker* zur Schaffung einer neuen Species bewogen.

Die angeführten Unterschiede zwischen den von mir herausgezüchteten Kokken einerseits und den Organismen von *Shimwell* bzw. *Kulka, Cosbie* und *Walker*

Merkmale	Str. damnosus var. limosus *(Shimwell)*	Str. mucilaginosus *(Kulka, Cosbie* und *Walker)*	Streptococcus *(Lüthi)*
Herkunft	Engl. Ale	Bier	Wein, Obstwein
Morphologie	1—1,5 μ. Durchschnittlich 1 μ. Oft grösser als 1,5 μ. Grosse Kapseln in schleimigem Bier	Einheitlich 0,5 μ. Nur kleine Kapseln	0,5—1 μ. Grosse Kapseln von dichter Beschaffenheit
Temperatur	Optimum: 21—25° C. Wachstum bei 15° C. Kein Wachstum bei 30° C	Optimum: 25° C. Wachstum auch bei 10° und 30°	Optimum: 25°. Wachstum auch bei 10° und 30° C
Veränderung des natürlichen Nährmediums	Schleimbildung unter leichter Trübung	Schleimbildung *ohne* Trübung	Schleimbildung *ohne* Trübung
Diacetylbildung	positiv	negativ	positiv
Verhalten gegen verschiedene Zucker	Schleim- und Säurebildung aus: Glucose, Fructose, Maltose, Salicin. *Nicht* aus: Lactose, Raffinose, Dextrin, Stärke *Homofermentativ*	Säurebildung nur aus: Glucose, Fructose und Salicin *Homofermentativ*	Schleim- oder Säurebildung: aus Glucose, Saccharose, Fructose, Raffinose *Heterofermentativ*
Verhalten gegenüber Alkohol	Schleim bis 8 Vol.%	Schleimbildung in Bier von normalem Alkoholgehalt	Schleimbildung in Weinen bis zu 11 und mehr Vol.%
pH-Optimum	Zwischen pH 5 und 6. Entwicklung auch bei pH 3,4	Keine Angaben. Untersuchungen bei pH 5,4	pH 5,5—6,0. Wächst auch bei pH 3,12

andererseits scheinen ebenfalls die Schaffung einer weiteren, neuen Species zu fordern und zu rechtfertigen.

Ich verzichte aber vorläufig auf die Schaffung einer neuen Art. Auf Grund der bisher durchgeführten vergleichenden Untersuchungen mit der mir in freundlicher Weise von *Walker*, College of Technology, Manchester, zur Verfügung gestellten Kultur von *Str. mucilaginosus (Kulka, Cosbie, Walker)*, habe ich mich

entschlossen, die Erreger des Lindwerdens vorläufig als eine *Varietät* derselben zu betrachten. Sie soll in der Folge als *Streptococcus mucilaginosus var. vini* bezeichnet werden.

Meinen Entschluss begründe ich damit, dass die mir zur Verfügung gestellte Kultur von *Str. mucilaginosus* sich in meinen Nährlösungen und unter meinen Kulturbedingungen scheinbar als näher verwandt herausstellt, als sich dies aus der Zusammenstellung der Literaturangaben ergeben würde (siehe auch Abb.7/8).

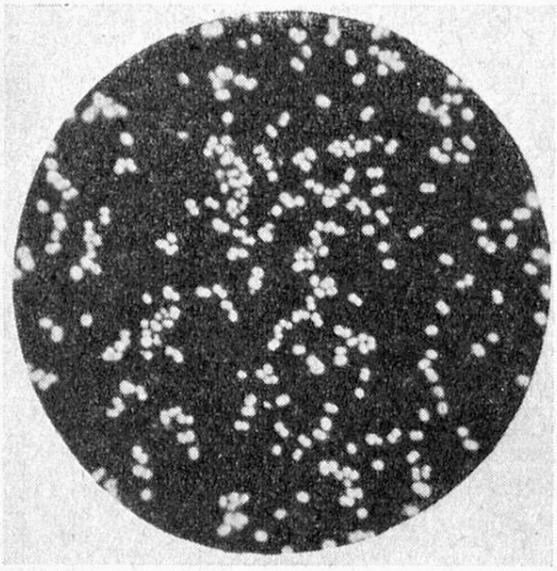

Abb. 7
Negativfärbung von Streptococcus mucilaginosus var. vini. Man beachte die Grössenunterschiede und Gruppierung.
Vergrösserung: ca. 800 ×

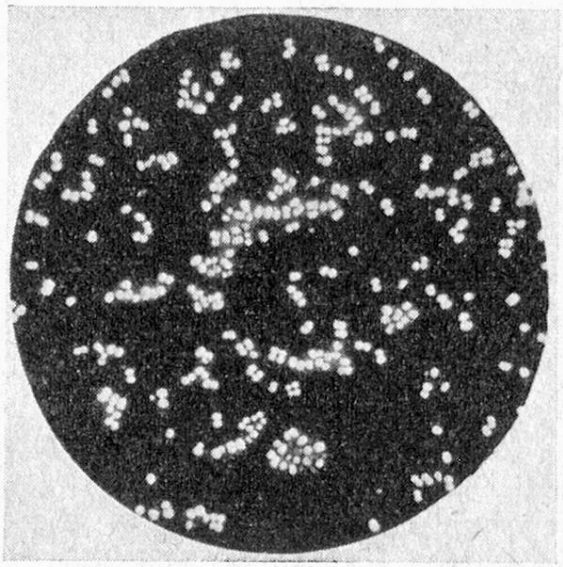

Abb. 8
Negativfärbung von Streptococcus mucilaginosus (Kulka, Cosbie, Walker) aus eigenen Versuchen. Die morphologische Ähnlichkeit ist auffallend.
Vergrösserung: ca. 800 ×

In die weiteren vergleichenden Untersuchungen soll auch der *Str. damnosus var. limosus* von *Shimwell* eingeschlossen werden. Ihnen soll darum die endgültige Bestätigung oder neue Festlegung der systematischen Einteilung vorbehalten bleiben.

IV. Versuche zur Abklärung des Lindwerdens von Weinen mit Hilfe von Mischkulturen

1. Die Messung des Lindgrades

Notwendige Voraussetzung zur Untersuchung des Lindwerdens der Weine ist das Vorhandensein einer geeigneten Methode zur möglichst quantitativen Erfassung einer typischen Eigenschaft dieser Weinkrankheit. Da ich anfänglich nicht in der Lage war, Intensitätsunterschiede dieser Krankheit auf Grund einer

chemischen Analyse festzustellen, musste ein Masstab für die schleimige Beschaffenheit des Weines gefunden werden.

Messungen der *Oberflächenspannung* und der *Viskosität* wurden seinerzeit von *Widmer* und *Geiger* [24]) mit negativem Ergebnis durchgeführt. Die beiden Autoren fanden, dass sich linde Weine nur in extremen Fällen durch ihre Viskosität voneinander unterscheiden lassen. In seiner mehrfach zitierten Arbeit hat *Martin* [16]) eine Methode zur quantitativen Erfassung des Lindseins ausgearbeitet und eingehend beschrieben. Sie beruht auf der Messung der *Kapillarsteiggeschwindigkeit*. Die etwas umständliche Methode bedient sich sorgfältig hergestellter Filterpapierstreifen von möglichst gleichbleibender Qualität und misst unter konstant zu haltenden Aussenbedingungen die Aufsteiggeschwindigkeit der Versuchsweine für bestimmte Höhen. Da linde Weine nach dem Schütteln wieder ihre ursprüngliche Beschaffenheit annehmen, ergibt die Messung vor und nach dem Schütteln verschiedene Werte, welche auf der Veränderung der Viskosität und Oberflächenspannung beruhen. Der Quotient aus dem *«Lindwert»* und *«Schüttelwert»* ergibt nach *Martin* den *«Schütteleffekt»*, d.h. ein Mass für die Schleimigkeit des Weines. Da nach meiner Auffassung das Schütteln eines linden Weines immer denselben Effekt, nämlich das Zerstören seiner Schleimigkeit besitzt, ziehe ich es vor, den erhaltenen Wert für das Mass des Lindseins in Zukunft kurz als *«Lindgrad»* zu bezeichnen.

Trotz mehrfacher Versuche mit der Methode von *Martin* ist es nie gelungen, befriedigende Werte zu erhalten. Das Verfahren ist mit zuviel Fehlerquellen behaftet, zu umständlich und zeitraubend. Die offensichtlich bestehenden Unterschiede in Viskosität und Oberflächenspannung, welche zwischen einem linden und nichtlinden Weine bestehen, mussten auf andere Weise, durch möglichst einfache und gleichzeitig empfindlichere Messungen und Werte charakterisiert werden.

Nach eingehenden Vorversuchen erwies sich dazu die *Tropfenzahlmethode* als geeignet. Zu ihrer Bestimmung wurde das *Stalagmometer* von *Traube* benutzt. Es liessen sich damit bereits leicht linde und von blossem Auge nicht mit Sicherheit als solche erkennbare Weine auf Grund ihrer veränderten Tropfenzahl erkennen. Die festgestellten Messfehler betragen maximal 4 %, doch schwankt der «Schüttelwert» beim gleichen Weine meistens in viel engeren Grenzen.

Das Stalagmometer von *Traube* ist aber zur Messung der Schleimigkeit linder Weine nur unter Einhaltung besonderer Versuchsbedingungen verwendbar. Es sei daran erinnert, dass linde Weine durch das Schütteln ihre zähe, schleimige Beschaffenheit in kurzer Zeit und irreversibel verlieren. Der Schleimstoff wird dadurch «zerrissen».

Bei den Vorversuchen hat sich gezeigt, dass reproduzierbare Werte mit dem Stalagmometer nur dann erhalten werden können, wenn der Wein äusserst sorgfältig und langsam in die Kapillare des Instrumentes eingesogen wird. Missachtet man diese Forderung, so werden die schleimigen Stoffe beim Aufziehen in die enge Kapillare zerstört, und es resultiert ein zu kleiner «Lindwert». Der in den

Wein eintauchende Stalagmometer wird darum mit einem Gummischlauch an eine mit Wasser gefüllte Flasche angeschlossen. Durch langsames Austropfenlassen des Wassers entsteht ein schwacher Sog und ein sehr langsames, schonendes Aufsteigen des linden Weines in die Kapillare (Fig. 1).

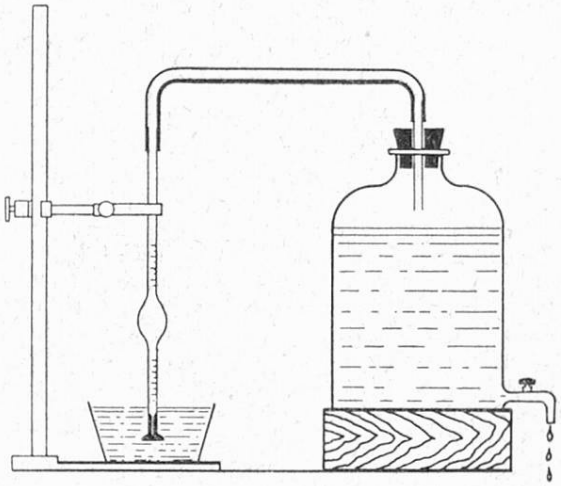

Fig. 1
Schematische Darstellung der verwendeten Vorrichtung zur sorgfältigen Füllung des Stalagmometers ohne Schädigung («zerreissen») der Schleimsubstanz.
Beschreibung im Text.

Beispiel der Ermittlung des «Lindgrades»

Linder Wein:	Gemessene Tropfenzahl mit Stalagmometer	: 43,2 Tropfen	= *«Lindwert»*
Derselbe Wein nach dem Schütteln:	Gemessene Tropfenzahl mit Stalagmometer	: 48,1 Tropfen	= *«Schüttelwert»*

$$\textit{Lindgrad} = \frac{\text{Schüttelwert}}{\text{Lindwert}} = \frac{48{,}1}{43{,}1} = 1{,}113$$

Für die graphischen Darstellungen in dieser Arbeit wurden vom errechneten Lindgrad nur die Stellen nach dem Komma auf der Ordinate aufgetragen.

2. Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf des Lindwerdens und des biologischen Säureabbaues in Weinen

Seit den eingehenden Untersuchungen von *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* wird das Lindwerden als *Folgeerscheinung des biologischen Säureabbaues* betrachtet. Nach ihren Angaben folgt die Krankheit dem biologischen Abbau der Äpfelsäure oft unmittelbar. Manchmal aber, so zeigt vielfache Erfahrung, kann der Wein auch nach Monaten, ja sogar erst nach Jahren auf der Flasche lind werden, ohne dass gleichzeitig sein Säuregehalt deutlich abnimmt.

Unter dem grossen im Verlaufe der Zeit gesichteten Beobachtungsmaterial befanden sich linde Weine, welche auf Grund ihres hohen Säuregehaltes unmöglich schon den Säureabbau hinter sich haben konnten. Die elektrometrische Messung ihres Säuregrades ergab pH-Werte von 3,12; 3,22; 3,28. Sie zeigen, dass es sich dabei um lauter für unsere Begriffe noch sehr saure Weine handelt, weisen doch konsumfertige Produkte nach dem Abbau normalerweise einen pH-Wert von 3,4 und mehr auf.

Entgegen allen bisherigen Angaben in der Literatur musste darum angenommen werden, dass das Lindwerden der Weine *nicht notwendigerweise eine Folge des biologischen Säureabbaues* sein muss, sondern *gleichzeitig mit diesem* oder vielleicht sogar *vor* diesem auftreten kann.

Zur Abklärung dieser Frage wurde darum der Versuch unternommen, die beiden wichtigen Vorgänge in einem Weine in ihrem *zeitlichen Ablauf* und in ihrem Ausmasse zu erfassen.

Versuchsanordnung:

In einem 2 Liter fassenden Erlenmeyerkolben wurde ein 1948er Blauburgunderwein der Versuchsanstalt eingefüllt, mit vorher bereits sterilisiertem Paraffinöl überschichtet und hierauf bei 65° C pasteurisiert. Die Impfung erfolgte mit einem sehr gut wirksamen *Bakteriengemisch* aus den früheren Versuchen.

Analysendaten des Weines:	Alkoholgehalt	10,6	Vol.%
	Gesamtsäure (als Weinsäure)	6,90	g/l
	Gebundene schweflige Säure	37	mg/l
	Freie schweflige Säure	14	mg/l
	Flüchtige Säure	0,31	g/l
	pH	3,55	

Versuchstemperatur: 23° C

Die Kontrolle des Versuches erfolgte durch regelmässige, sehr sorgfältige Probeentnahme. Von der Probe wurden zuerst der Lindwert, dann der Schüttelwert und schliesslich Gesamtsäure, pH-Wert und flüchtige Säure bestimmt. Die Fig. 2 zeigt, dass bereits nach 10 Tagen ein Säureabbau von 1,2 ‰ festgestellt werden konnte. Zu gleicher Zeit war aber der Wein auch bereits sehr deutlich lind. Währenddem der Säureabbau regelmässig weiter fortschritt, erreichte die Schleimigkeit des Weines aber schon bei der Kontrolle am 31. Versuchstage ihren Maximalwert. Beim Abschluss des Versuches am 48. Tage konnte der Säureabbau als beendet gelten. Der Wein war aber in diesem Moment noch stark lind und hätte bei weiterer Beobachtung den normalen Zustand sicher erst nach einigen Wochen wieder erreicht.

In einem weiteren Versuch mit dem gleichen Wein, jedoch einem anderen Bakteriengemisch, entwickelten sich Säureabbau und Lindwerden im Verlaufe von 20 Tagen. Bei der ersten Kontrolle nach 4 Tagen war erst ein minimaler Säurerückgang von 9,90 ‰ auf 9,8 ‰ feststellbar. Überraschenderweise war aber

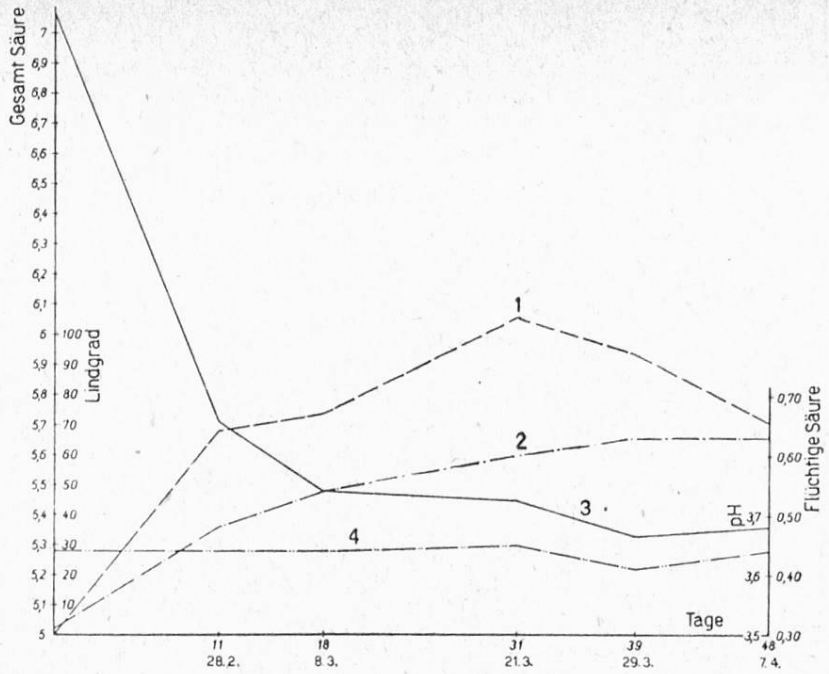

Fig. 2

Ablauf des biologischen Säureabbaues und des Lindwerdens in einem Wein.

Kurve 1: Verlauf des Lindgrades auf Grund von Messungen mit der Tropfenzahlmethode.

Kurve 2: Zunahme des Gehaltes an flüchtiger Säure während des Säureabbaues und des Lindwerdens.

Kurve 3: Rückgang des Gesamtsäuregehaltes infolge des biologischen Säureabbaues.

Kurve 4: Veränderungen des pH-Wertes.

der Wein bereits stark lind und zog deutliche Fäden. Nach acht Tagen erreichte die Krankheit bzw. schleimige Beschaffenheit ihren Maximalwert. Am 20.Tage, d.h. vier Tage *nach* Abschluss des Säureabbaues, besass der Wein wieder seinen ursprünglichen Zustand. Dieser Versuch lässt vermuten, dass das Lindwerden u.U. bereits *vor* Beginn des Säureabbaues auftreten kann.

Mit beiden Versuchen ist eindeutig bewiesen worden, dass das Lindwerden *keine Folgeerscheinung des biologischen Säureabbaues* ist. Die Messungen zeigen, dass beide Vorgänge praktisch *miteinander* ablaufen können. Je nach der Intensität des Lindgrades kann der zähe, schleimige Zustand des Weines noch längere Zeit über das Ende des biologischen Säureabbaues hinaus anhalten. Weitere Versuche zeigen, dass im Fass die Krankheit gleichzeitig mit dem Säurerückgang ihren Abschluss finden kann.

Von besonderem Interesse ist die öfters beobachtete leichte Zunahme der Gesamtsäure und des pH-Wertes nach Abschluss des Säureabbaues. Beides wurde bei der früheren Beurteilung anfänglich übersehen. Auf Grund unserer Messungen in Versuchen mit Reinkulturen darf heute angenommen werden, dass die Säurebildung auf die Tätigkeit der Erreger des Lindwerdens (Milchsäurebildung) zurückzuführen ist.

Hier möchte ich eine weitere gleichsinnige Beobachtung aus einem andern Versuch erwähnen. Von einem Blauburgunder des Jahrganges 1949 wurden 10 Flaschen bei 50° C (15 Minuten) pasteurisiert und unter denselben Bedingungen gelagert wie eine gleiche Anzahl nicht pasteurisierter Proben. Nach einer dreizehn Monate langen Lagerung bei Temperaturen von 15—20° C erwies sich der Wein in den nicht pasteurisierten Flaschen praktisch ausnahmslos als stark lind. Die andern waren in jeder Hinsicht in Ordnung.

Blauburgunder (Clevner) 1949	Gesamtsäure	pH	Milchsäure
Pasteurisiert (gesund)	4,6 ‰	3,66	3,2 ‰
Nicht pasteurisiert (lind)	4,8 ‰	3,70	3,7 ‰

Der mikroskopische Befund ergab im nicht pasteurisierten Wein vorwiegend *Str. mucilaginosus var. vini* und nur sehr wenige säureabbauende Bakterien. Die kleine Änderung in den Analysenzahlen muss demnach eindeutig auf die Tätigkeit der Schleimbildner zurückgeführt werden, denn die beiden Weine unterscheiden sich biologisch einzig im Gehalt an diesen. Alle Analysenwerte können als gesichert angesehen werden (Milchsäurebestimmung nach *Lieb* und *Zacherl*).

Der kurvenmässig dargestellte Verlauf des Lindwerdens der Weine bestätigt die Angabe aller früheren Autoren, dass die Krankheit *vorübergehenden Charakter* hat. Beim *Verschwinden der Schleimstoffe* spielt der *Luftzutritt* eine wichtige Rolle. In zahlreichen Fällen hat sich gezeigt, dass offen aufgestellte, sogar stark linde Weine innerhalb 3—4 Tagen ihre ursprüngliche Beschaffenheit wieder annahmen. Es gibt aber noch nicht erklärbare *Ausnahmefälle,* in welchen die schleimige Beschaffenheit des Weines auch bei Luftzutritt während Wochen anhält. Nach meinen Beobachtungen trifft dies meistens dann zu, wenn das Lindwerden gleichzeitig mit andern Krankheiten, z.B. dem Milchsäurestich verbunden ist und die Weine bereits restlos verdorben sind.

3. Beobachtungen über das Entstehen des Lindwerdens in einem Lagergefäss

Wie schon festgestellt wurde, ist der Beginn des Lindwerdens in Flaschen auf dem Lager gewöhnlich an einer typischen Depotbildung zu erkennen. Der Flascheninhalt bleibt dabei meist *vollkommen klar.* Das Depot hingegen kann schliesslich in der liegenden Flasche zu einem dicken, scharf abgegrenzten Schleimstreifen anwachsen. Diese Beobachtung zeigt bereits, dass die Schleimbildung vom Grunde des Gefässes ausgeht.

In zahlreichen Versuchen konnte auch festgestellt werden, dass mit zunehmender Gefässgrösse die Intensität des Lindwerdens abnimmt. So gelingt es z.B. mit Rein- oder Mischkulturen, den Inhalt in kleinen Flaschen (50—200 ml) unter den gleichen Versuchsbedingungen viel stärker lind zu machen als in grösseren (1—2 l).

Mit der Tropfenzahlmethode konnte die Ausbreitung des Lindwerdens in einem grösseren Gefässe kontrolliert und so Klarheit über die tatsächlichen Verhältnisse gewonnen werden.

Ein 2 Liter haltender Erlenmeyerkolben wurde mit vierfach durchbohrtem Gummistopfen versehen. Durch die Bohrungen wurde ein Glasrohr bis unmittelbar über den Boden, ein zweites bis in die Mitte des Gefässes eingeführt. Ein weiteres Glasrohr mündete im oberen Drittel des Kolbens aus und das letzte schliesslich unmittelbar unter dem Gummistopfen in den Luftraum. Alle Glasrohre waren oben umgebogen und mit einem Gummischlauch und Quetschhahn versehen. Als Versuchswein diente ein Gemisch von zwei 1948er Weinen (Blauburgunder und Isabella), von dem bekannt war, dass es sich leicht lind machen liess. Der Wein wurde mit sterilem Paraffinöl überschichtet und anschliessend mit dem Versuchskolben im Dampftopf bei 65° C pasteurisiert. Die Impfung erfolgte mit 20 ml einer wirksamen Bakterienmischkultur. Versuchstemperatur 24° C. Die Messungen des Lindgrades ergaben folgende Werte:

	Nach 9 Tagen	Nach 17 Tagen
Oben im Gefäss	104	98
Mitte des Gefässes	118	106
Unten im Gefäss	128	112

Damit war anhand von Messungen erstmals bewiesen, dass bei Auftreten der Krankheit der Wein in einem Gefäss durchaus nicht überall die gleiche Beschaffenheit aufweist. Es ist anzunehmen, dass er in einem Fass in den obersten Schichten infolge eines intensiveren Lufteinflusses nie die schleimige Beschaffenheit annimmt wie auf dem Grunde. Bei Luftzutritt ist es sogar wahrscheinlich, dass die Schleimstoffe in dem Masse, wie sie sich bilden, in den obersten Schichten des Getränkes auch wieder abgebaut werden.

In der Praxis kommt es manchmal vor, dass bei Probeentnahme mit dem Weinheber der Wein ölig ins Glas fliesst. Beim Probierhähnchen, welches im untersten Drittel des Fasses angebracht ist, scheint er aber eine normale Beschaffenheit zu besitzen. Solche Beobachtungen könnten Zweifel an den oben erwähnten Messungen aufkommen lassen. Es liess sich aber feststellen, dass bereits durch das rasche, wirbelnde Ausströmen des Weines aus dem Probierhahn die Lindstoffe zerrissen werden und der Wein normale Beschaffenheit vortäuschen kann.

4. Beitrag zur Abklärung der chemischen Ursachen des Lindwerdens

Seit jeher sind gleichzeitig mit den biologischen auch die chemischen Ursachen des Lindwerdens diskutiert worden. Lange war man allgemein der Auffassung, das Lindwerden sei auf Reste unvergorenen Zuckers in den Weinen

zurückzuführen. Die Tatsache, dass Frühabzüge und Süssdrucke besonders zum Lindwerden neigen, schien diese bereits von *Pasteur* geäusserte Meinung zu bestätigen. In ihrer Arbeit glauben aber *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* den Nachweis erbracht zu haben, dass auch praktisch zuckerfreie Weine ölig und fadenziehend werden.

Diese Beobachtungen waren es, welche die beiden Forscher in ihrer Auffassung bestärkten, die Krankheit stehe viel eher in engem Zusammenhang mit dem biologischen Säureabbau. Der Gedanke allerdings, dass die Äpfelsäure Voraussetzung für das Auftreten der Krankheit sein könne, wurde aber nirgends geäussert.

Zur Abklärung der chemischen Ursachen des Lindwerdens wurden folgende Versuche durchgeführt.

1. Versuch: Zusatz von verschiedenen Zuckern

Zu diesen Versuchen wurde ein Bakteriengemisch, dessen Wirksamkeit bereits verschiedentlich erprobt war, als Impfmaterial verwendet. Die verschiedenen Zucker wurden jeweils in der Menge *von 5 g* der folgenden Nährlösung zugesetzt:

Caseinpepton 5%ig	12,5 ml
Hefewasser	ad 250 ml

Als Kohlehydrate wurden *Saccharose, Xylose, Raffinose, Arabinose, Sorbit, Dextrin* verwendet.

Nach erfolgter Pasteurisation der mit reiner Phosphorsäure auf ein pH von 3,7 eingestellten *Nährlösung* wurde mit dem Bakteriengemisch beimpft. Nach einer Versuchsdauer von 41 Tagen bei 23° C erfolgte die Kontrolle der Nährlösung. Es zeigte sich dabei, dass nur die Lösungen mit *Saccharose* und *Raffinose* in dieser Zeit stark lind geworden waren. Bei den übrigen Kohlehydraten konnte keine deutliche Veränderung wahrgenommen werden.

2. Versuch: Zusatz von Äpfelsäure

Zu diesem Versuch stunden zwei 1948er Blauburgunderweine der Versuchsanstalt aus der gleichen Parzelle (Vor- und Nachlese) zur Verfügung. Auf Grund der nachfolgenden Gesamtanalyse wurde angenommen, diese Weine hätten ihre Äpfelsäure restlos abgebaut. Es stellte sich die Frage, ob sie noch künstlich lind gemacht werden konnten oder nicht.

Der enge Zusammenhang des Lindwerdens mit dem biologischen Säureabbau legte den Gedanken nahe, die Äpfelsäure könnte für das Auftreten der Krankheit unter Umständen von ausschlaggebender Bedeutung sein.

Die verschiedenen, über die Säureverhältnisse der beiden Weine aufschlussgebenden Analysenzahlen lassen erkennen, dass weder im einen noch im andern Reste von abbaubarer Äpfelsäure zu erwarten waren.

Analysenzahlen der Clevner 1948, Fässer 23 und 48

Bestimmung von		Fass 23	Fass 48
Spez. Gewicht		0,9954	0,9965
Alkohol Vol.%		11,3	10,5
Extrakt	g/l	24,50	25,30
Zucker (Invert.)	g/l	1,40	1,30
Zuckerfreier Extrakt	g/l	23,1	24,0
Gesamtsäure (als Weinsäure)	g/l	4,9	5,0
Flüchtige Säure	g/l	0,44	0,44
Nichtflüchtige Säure	g/l	4,4	4,5
Weinsäure	g/l	1,3	1,2
Milchsäure	g/l	4,0	4,2
Extraktrest	g/l	18,7	19,5
Asche	g/l	2,93	2,98
Aschenalkalität		8,1	7,8
Freie schweflige Säure	mg/l	18	14
Gesamte schweflige Säure	mg/l	65	63

Im Versuch wurde beiden Weinen 2 g/l äpfelsaures Kalium zugesetzt und entsprechende Kontrollen *ohne* diesen Zusatz belassen. Als weitere Kontrolle wurde ferner ein dritter Wein, welcher mit den verwendeten Bakterien sicher lind gemacht werden konnte, herbeigezogen. Mit ihm sollte die Wirksamkeit der Mischinfektion dokumentiert werden. Die Versuchstemperatur betrug 23° C. Die Messung des Lindgrades wurde mit der Tropfenzahlmethode ausgeführt.

Kontrolle nach Tagen	1. Wein: Vorlese		2. Wein: Spätlese		Kontrollwein
	ohne	mit Äpfelsäure	ohne	mit Äpfelsäure	
Nach 10 Tagen	—	—	—	—	+
Nach 13 Tagen	—	—	—	—	++
Nach 19 Tagen	—	+	—	++	++
Nach 27 Tagen	—	++	—	++	++

+ = lind ++ = stark lind — = nicht lind

Aus diesen beiden Versuchen zeigt sich, dass offenbar *die Anwesenheit von geringen Mengen Äpfelsäure für das Auftreten der Krankheit von ausschlaggebender Bedeutung sein kann.* Bemerkenswert ist, dass die Krankheit im Wein mit höherem Alkoholgehalt sogar früher und intensiver auftrat als im alkoholärmeren.

Diese Beobachtungen bestätigen und erklären gleichzeitig die bereits gemachte Erfahrung, dass sich gewisse Weine für die Versuche nicht «eignen». In manchen gegen die Krankheit «immunen» Fällen kann nicht allein das Fehlen von Äpfelsäure, sondern z.B. auch ein zu hoher Gehalt an Gerbstoff oder ein anderer Grund die Entwicklung der schleimbildenden Bakterien verunmöglichen. Die Versuche bringen aber eine *Erklärung für die vielfache praktische Erfahrung,*

dass lange gelagerte, fertig «ausgebaute» (abgebaute) oder «ausgeschulte» Weine der Krankheit, nach ihrer Abfüllung in Flaschen, viel weniger häufig anheim fallen als Frühabzüge.

Der im obigen Versuch als Kontrollwein verwendete Blauburgunder 1948 wurde einige Tage an der Luft stehen gelassen und verlor dabei bald seine linde Beschaffenheit. Er wurde hierauf wieder pasteurisiert und diesmal aber mit einer *Reinkultur* der schleimbildenden Streptokokken beimpft. Nach 28 Tagen trat die Krankheit erneut auf. Damit war bewiesen, dass die übliche Kellerbehandlung linder Weine (Luftberührung, Peitschen) nur dann guten Erfolg verspricht, wenn sie gleichzeitig mit einer wirksamen Filtration und Dosierung von schwefliger Säure kombiniert wird.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche beweisen, dass aus bestimmten Zuckern Schleim gebildet werden kann. Ihre Anwesenheit in Weinen kann darum, ganz im Gegensatz zu der von *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* geäusserten Ansicht, für das Lindwerden von *ausschlaggebender Bedeutung* sein. Die Versuche zeigen weiter, dass *auch Restgehalte von Äpfelsäure entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung der Krankheit haben können.*

V. Versuche mit Reinkulturen von Streptococcus mucilaginosus var. vini

1. Ist das Lindwerden mit einer Gasentwicklung verbunden?

Sobald sich die ersten Kulturen als rein erwiesen, wurden mit ihnen Versuche in Weinen durchgeführt. In erster Linie interessierte es zu wissen, ob die in der Praxis bei linden Weinen stets beobachtete Kohlensäureentwicklung auf den biologischen Säureabbau, auf die schleimbildenden Streptokokken oder aber auf beide Vorgänge zurückzuführen sei.

Die eben im Versuch 2 des vorigen Abschnittes beschriebene Nachimpfung des Kontrollweines wurde in diesem Sinne untersucht. Im Beobachtungsprotokoll konnte gleichzeitig mit dem Lindwerte der Vermerk «sehr schwache Kohlensäureentwicklung» angebracht werden. In dem 200 ml fassenden Erlenmeyerkolben, in welchem der Wein mit Paraffinöl überschichtet war, konnten an der Trennschicht zwischen Paraffinöl und Wein feine Kohlensäurebläschen festgestellt werden. Da es sich nur um geringe Gasmengen handelte, hegte ich Zweifel und setzte mit dem gleichen Wein und denselben Bakterien einen Versuch in vier Einhorn-Gärröhrchen an. Die Kontrolle nach 15 Tagen ergab sehr starkes Lindsein, jedoch war nirgends eine Gasblase sichtbar. Dieser Versuch veranlasste mich seinerzeit zu der Feststellung, die bei linden Weinen beobachtete Kohlensäure könne nur vom Säureabbau herrühren. Die in der Zwischenzeit von meinem Mitarbeiter *Hochstrasser* weiter ausgeführten Versuche scheinen nun aber doch zu bestätigen, dass unsere Streptokokkenstämme aus *Äpfelsäure* geringe Mengen von *Kohlensäure* (und *Milchsäure*) zu entwickeln vermögen.

2. Der Einfluss des Säuregrades auf das Lindwerden der Weine

Die in der Folge beschriebenen Versuche wurden mit den beiden Stämmen 208 al und 216 des *Str. mucilaginosus var. vini* in dem bereits mehrfach erwähnten, für diese Zwecke sehr gut geeigneten Clevner 1948 durchgeführt. Ich verwendete dafür wieder Erlenmeyerkolben von 200 ml Inhalt, in welchen der Wein mit sterilem Paraffinöl überschichtet war. Durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen reichte ein Glasrohr bis nahe auf den Grund. Es war oben umgebogen und mit einem kurzen Gummischlauch mit Klemmschraube versehen. Das zweite Glasrohr reichte nur bis unmittelbar unter den Gummistopfen. Es war mit steriler Watte verstopft. Die Impfung erfolgte, selbstverständlich nach der Pasteurisation des Versuchsweines (15 Minuten bei 70° C), unter sterilen Bedingungen. Durch sehr sorgfältiges Einpressen von Luft durch das kurze Rohr liessen sich aus dem Kolben mehrfach Proben zur Messung des Lindgrades entnehmen.

Parallel dazu wurden die pH-Versuche in der auf Seite 7 beschriebenen Nährlösung durchgeführt. Ein bestimmtes Quantum davon wurde mit dem Streptokokkus beimpft und zu je 15 ml unter sterilen Bedingungen in sterile Glasröhrchen abgefüllt. Das Wachstum der Organismen konnte hierauf (nach Aufschütteln des Sedimentes) anhand von *Trübungsmessungen* bestimmt werden.

In meiner früheren Arbeit (18. S. 271) ist bereits eine Versuchskurve wiedergegeben worden. Ihr Verlauf wurde durch Messung des Lindgrades in den bei verschiedenen pH-Werten angelegten Parallelversuchen ermittelt. Beimpft wurden die Versuche mit dem Stamm 208 a1 des isolierten Streptokokkus. Sie zeigen, dass für ihn das pH-Optimum in der Nähe des pH-Wertes 6,0 zu suchen ist.

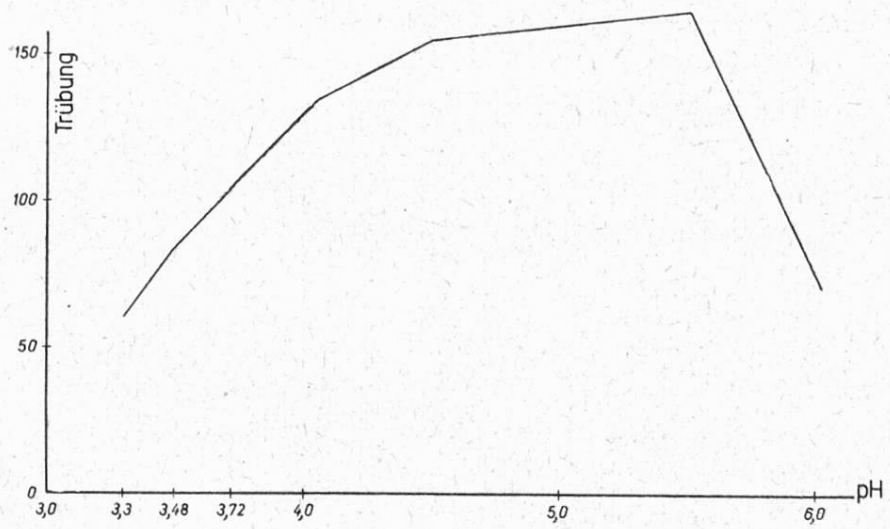

Fig. 3
Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Entwicklung einer Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini. Der optimale Entwicklungsbereich liegt zwischen pH 5,5 und 6,0. Versuche in einer Nährlösung. Trübungsmessungen.

Mit dem Stamm 216 während einer Versuchsdauer von 37 Tagen (bei 23° C) ermittelte Werte aus Trübungsmessungen ergaben nach *Fig. 3* ein ähnliches Verhalten. Der Kulminationspunkt liegt vermutlich zwischen den Werten pH 5,5 und pH 6,0. Die kleine Abweichung mag darauf zurückzuführen sein, dass im einen Falle *Wein*, im andern aber *Nährlösung* als Kulturmedium diente.

Es mag noch ein weiterer interessanter Versuch mit dem Stamm 208 a1 kurz beschrieben werden. Er wurde gleichfalls in dem bereits erwähnten Clevner 1948 mit dem beschriebenen Erlenmeyerkolben durchgeführt, und zwar bei den pH-Werten 3,45; 4,05; 4,50; 4,95; 5,50; 6,10 und 6,45. Das Ergebnis der jeweils in allen pH-Stufen durchgeführten Messungen ist in *Fig. 4* dargestellt.

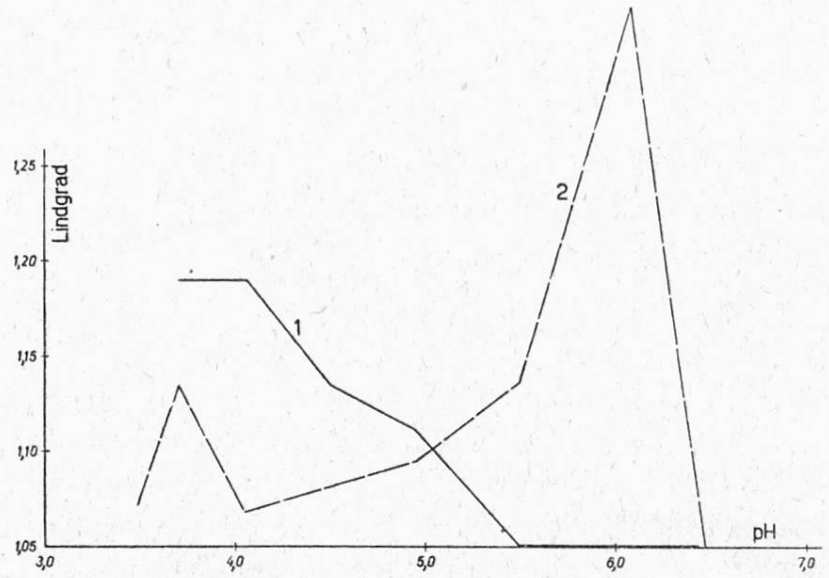

Fig. 4

Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Entwicklung der Schleimbildung einer Reinkultur des Streptococcus mucilaginosus var. vini.

Kurve 1: Kontrolle des Versuches nach 25 Tagen ergibt bei den niedrigeren pH-Werten stärkere Lindgrade.

Kurve 2: Kontrolle nach 47 Tagen ergibt den maximalen Lindgrad bei pH 6. Beschreibung im Text.

Die erste Kontrolle (Kurve 1) erfolgte nach einer Versuchsdauer von 25 Tagen (bei 23° C). Sie zeigt überraschenderweise, dass die Weine mit den niedrigen pH-Werten einen grösseren Lindgrad aufweisen als die in der Nähe des Optimalwertes gelegenen.

Nach weiteren 22 Tagen wurden aus den gleichen Gefässen nochmals Proben herausgenommen und ihr Lindgrad bestimmt. Das Ergebnis dieser Messungen ist in Kurve 2 dargestellt. Es zeigte sich überraschenderweise, dass nun umgekehrt die Weine bei niedrigem pH nur noch schwach lind waren, dagegen beim Optimalwert noch eine ausserordentliche Schleimigkeit aufwiesen. Die Erklärung

dieser Resultate bietet Schwierigkeiten. Vielleicht wird es sich zeigen, dass bei höheren pH-Werten Wachstum und Schleimbildung nicht parallel verlaufen, oder dass bei diesen Werten die Schleimsubstanzen weniger rasch abgebaut werden.

Aus den Versuchen über den Einfluss des pH-Wertes auf das Lindwerden der Weine darf geschlossen werden, dass die Krankheit in säureärmeren Getränken bessere Entwicklungsgrundlagen besitzt als in sehr sauren. Die Unterschiede sind aber — wie die verschiedenen Versuche zeigen — im Bereich der natürlichen pH-Werte unserer Weine nicht so stark ins Gewicht fallend.

VI. Der Einfluss fremder Organismen auf das Lindwerden der Weine

1. Erste Beobachtungen

a) Beobachtungen an linden Weinen

Sowohl aus der früher publizierten Kurve (18) über den Einfluss des Säuregrades auf die Tätigkeit der schleimbildenden Streptokokken als auch aus Fig. 3 geht hervor, dass die Bakterien sich in den Versuchen unterhalb des pH-Wertes von 3,3 (in Nährlösung mit ziemlich idealen Bedingungen) nicht zu entwickeln vermochten. Im Falle des Versuches mit Wein (Fig. 4) lag der Minimal-pH-Wert sogar bei 3,46. Auch spätere Versuche zeigten immer wieder das gleiche Bild. Diese Ergebnisse waren leider mit den in der Praxis beobachteten Verhältnissen zunächst nicht in Einklang zu bringen. So zeigten z.B. von 24 zur Untersuchung aus der Praxis eingesandten linden Weinen nur deren neun einen pH-Wert von über 3,45. Bei allen übrigen Proben lag er darunter. Von ihnen wiesen 8 Proben sogar einen pH-Wert von weniger als 3,30 auf. Solche Werte können der normalen Zusammensetzung des *unabgebauten* Traubenmostes entsprechen.

Die Tatsache, dass es trotz mehrfachen Versuchen in den gleichen Weinen nicht gelang, mit Reinkulturen bei diesen relativ niedrigen pH-Werten die Krankheit künstlich zu erzeugen, legte den Gedanken nahe, dass unter praktischen Bedingungen noch andere, bisher nicht beachtete Faktoren eine Rolle spielen müssten.

Nach der Isolierung des *Str. mucilaginosus var. vini* unterzog ich zahlreiche linde Weine einer eingehenden mikroskopischen Prüfung, um mich zu vergewissern, ob tatsächlich der isolierte Streptokokkus in jedem Falle im Sediment nachzuweisen sei. Bis heute ist mir *kein einziger* Wein zu Gesicht gekommen, in welchem er nicht hätte nachgewiesen werden können. Es fiel dagegen auf, dass in einzelnen stark linden Weinen diese Bakterien nur in scheinbar unbedeutender Minderzahl anzutreffen sind. In andern dagegen überwiegt die Zahl der Streptokokken. Es konnte aber praktisch kein Wein gefunden werden, in welchem diese letzteren völlig allein aufgetreten wären. In den meisten Fällen waren die

Streptokokken mit säureabbauenden Bakterien vergesellschaftet. Es stellte sich darum die Frage, ob diese Organismen das Lindwerden zu beeinflussen vermögen.

In dieser Richtung angelegte Versuche haben aber bis heute zu keinem positiven Resultat geführt.

b) Beobachtungen bei der Isolierung von Str. mucilaginosus var. vini

Bei der mir von *Martin* zur Verfügung gestellten Mischkultur stellte ich fest, dass sie vorwiegend aus säureabbauenden Bakterien vom Typus *Bacterium gracile (Müller-Thurgau* und *Osterwalder)*, aus *Essigbakterien* und zu einem ausserordentlich geringen Anteil aus *Streptokokken* bestand. Dieses Organismengemisch stellte sich bei zahlreichen Versuchen, Weine künstlich lind zu machen, als besonders wirksam heraus.

Bei den zahlreichen, stets ohne Erfolg gebliebenen Versuchen, mit Hilfe der Aufstrichmethode aus diesem Bakteriengemisch einen Streptokokkenstamm herauszuzüchten, konnte immer wieder beobachtet werden, dass sich einzelne Bakterienkolonien in ihrer Grösse deutlich von den andern unterschieden. Sie waren von kegelförmiger Gestalt und schmutziggrauer Farbe. Oft fiel mir auf, dass sie bereits ziemliche Grösse aufwiesen, wenn alle übrigen Kolonien eben erst deutlich sichtbar wurden. Das Auffallendste aber war, dass sich bei der Berührung mit der Impfnadel oft bis 5 cm lange, zähe Schleimfäden ziehen liessen. Später habe ich bei Oberflächenkolonien von Reinkulturen nie auch nur annähernd so starke Schleim- und Fadenbildung beobachten können. Die Überimpfung solcher Bakterienkolonien in eine Nährlösung führte immer wieder zu Haut- und Essigsäureentwicklung. So entstand nach und nach die Vermutung, Essigbakterien könnten an der auffallend starken Schleimbildung und am Entstehen des raschen Koloniewachstums von Agarkulturen in irgend einer Art beteiligt sein.

2. Agarkulturen mit bestimmter Bakterienkombination

Die oben beschriebenen Beobachtungen bei Aufstrichkulturen auf Agar veranlassten mich zu weiteren Versuchen, in welchen pro Röhrchen immer ein Streptokokkenstamm mit einer gerade zur Verfügung stehenden Reinkultur anderer Organismen ausgestrichen wurde. Die Kultur des *Str. mucilaginosus var. vini* wurde nur auf der obern Hälfte, die des «Partners» dagegen auf der untern Hälfte des Schrägagars ausgestrichen. Auf einem etwa 2 cm breiten Streifen in der Mitte des Röhrchens wurde dafür gesorgt, dass sich beide Kulturen «überdeckten». Diese Versuchsanordnung ermöglichte einerseits eine Kontrolle der Eigenschaften des Oberflächenwachstums beider Organismenstämme, andererseits in der Mitte eine eventuelle gegenseitige Beeinflussung.

Als «Partner» zur Prüfung herbeigezogen wurden einige im Verlaufe der Isolierungsarbeiten gewonnene und nicht näher bestimmte *Kokken* und *Stäbchen*, ferner einige Reinhefen und vier Stämme von *Essigbakterien*, nämlich *«Sylvaner», «B. 220», Bacterium ascendens, Bacterium orleanense*. Gleichzeitig wurden

die erwähnten Stämme auch unter sich kombiniert. Nach einigen Vorversuchen und längerer Beobachtungszeit konnte die überraschende Feststellung gemacht werden, dass beim Zusammentreffen bestimmter Essigbakterien mit *Str. mucilaginosus var. vini* tatsächlich viel grössere und viel stärker fadenziehende Kolonien auftraten als bei der Reinkultur jedes einzelnen «Partners». Später stellte sich heraus, dass auch gewisse Hefen und sogar Schimmelpilze den gleichen Effekt, nämlich eine *Verstärkung* des *Wachstums* und der *Schleimbildung* des *Str. mucilaginosus var. vini* auszulösen imstande sind. Bei der Kombination der verschiedenen Essigbakterien unter sich oder mit den übrigen erwähnten Stämmen blieb die Erscheinung aus.

Mit diesen Vorversuchen wurde meines Wissens erstmals der experimentielle Beweis dafür geliefert, dass *wechselseitige Beeinflussungen verschiedener Mikroorganismen auch bei Weinkrankheiten* eine bedeutende Rolle spielen können. Die Vermutung, dass dem so sei, ist in der Fachliteratur schon früh ausgesprochen worden. Zum Beispiel haben *Pasteur*, sowie *Kaiser* und *Manceau* in ihren zitierten Arbeiten bereits die Beobachtung gemacht, dass starkes Wachstum der «Aerobier» einen fördernden Einfluss auf das Lindwerden der Weine ausübe.

In der Zwischenzeit sind weitere Beobachtungen gesammelt worden. Nach diesen scheinen symbiotische Beziehungen unter bestimmten Mikroorganismen im Weine nicht selten zu sein und eine beträchtliche praktische Rolle zu spielen. Weitere Untersuchungen auf diesem Gebiete sind in unserem Laboratorium im Gange.

3. Versuche mit bestimmten Essigbakterien zur Beeinflussung der Tätigkeit von Streptococcus mucilaginosus var. vini in Weinen

Die auf Agarnährböden ausgeführten Versuche wurden nun auf Weine ausgedehnt. Ein positiver Ausfall auch hier musste von *weittragender praktischer Bedeutung* sein, nicht nur für die Kenntnis des Ablaufes der ganzen Krankheit, sondern auch für die zu treffenden Vorbeugemassnahmen in der Praxis und darüber hinaus für die Kenntnis des Wesens der Weinkrankheiten.

In einem Versuch wurden neben dem Streptokokkenstamm als Kontrolle acht Bakterien-«Paare» zusammengestellt. Bei fünfen davon war *Str. mucilaginosus var. vini* der eine der beiden Partner. Bei den andern war das säureabbauende *Bacterium gracile* mit verschiedenen Essigbakterien gepaart.

Als Versuchswein diente ein 1948er Räuschling unserer Versuchsanstalt, von dem folgende Analysendaten angegeben seien:

Alkohol	10,0	Vol.%
Gesamtsäure	7,5	g/l
Zucker	1,6	g/l
Milchsäure	1,1	g/l
pH	3,30	

Dieser Wein wurde nun in verschiedene Proben aufgeteilt und mit Natronlauge bzw. Phosphorsäure auf die pH-Werte 3,0; 3,48; 3,72; 4,05; 4,5; 5,0; 5,5; 6,05; 6,95 eingestellt. Die zweifache Sterilisation des in Fläschchen von 50 ml abgefüllten Versuchsweines erfolgte im Autoklaven während 30 Minuten in strömendem Dampf.

Die Impfung erfolgte mit 0,5 ml eines Bakteriengemisches, welches durch Zusammengeben der beiden Kulturen und durch gutes Schütteln erhalten wurde. Für einen pH-Wert wurden immer zwei Fläschchen angesetzt. Die erste Kontrolle des Versuches fand nach 36 Tagen mit Hilfe der Tropfenzahlbestimmungen statt.

Das Ergebnis des Versuches mit dem Streptokokkenstamm «208 a1» allein, sowie in Verbindung mit dem Essigbakterium «Stamm 220» ist in der Fig. 5

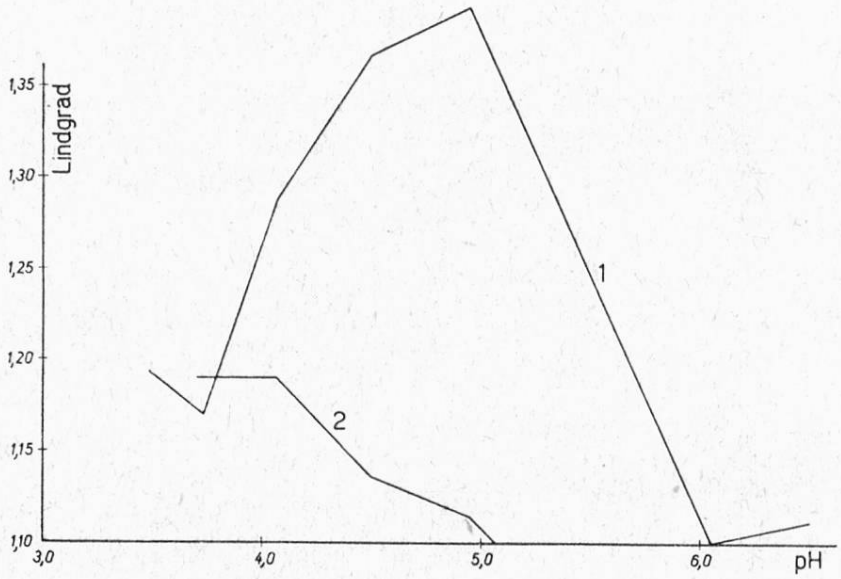

Fig. 5

Einfluss einer «Partner»-Kultur auf das Lindwerden eines Weines bei verschiedenen pH-Werten.

Kurve 1: Lindgrade entstanden durch eine Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini mit dem «Partner» Essigbakterium «Stamm 220».

Kurve 2: Ohne «Partner»-Kultur entstandene Lindgrade.

dargestellt. Der Verlauf der Kurven zeigt deutlich, dass durch die Anwesenheit der Essigbakterien *enorme, mehrfach stärkere Lindgrade erzielt werden können, als mit der Reinkultur allein.* Insbesondere bei höheren pH-Werten konnten auch Weissweine in einem bisher nicht bekannten Masse lind gemacht werden.

Die Abb. 9 zeigt das Bild eines Räuschlingweines, welcher mit dem Streptokokkenstamm unter Zuhilfenahme des Essigbakteriums «Stamm 220» bei pH 6,0 so extrem lind gemacht werden konnte, dass beim Ausgiessen aus dem Fläschchen der Flüssigkeitsfaden nicht abriss und sich meterlang ausziehen liess. Durch geeignete Versuchsanordnung lassen sich heute solche Lindgrade bereits in einem Drittel der ursprünglichen Zeit erzielen.

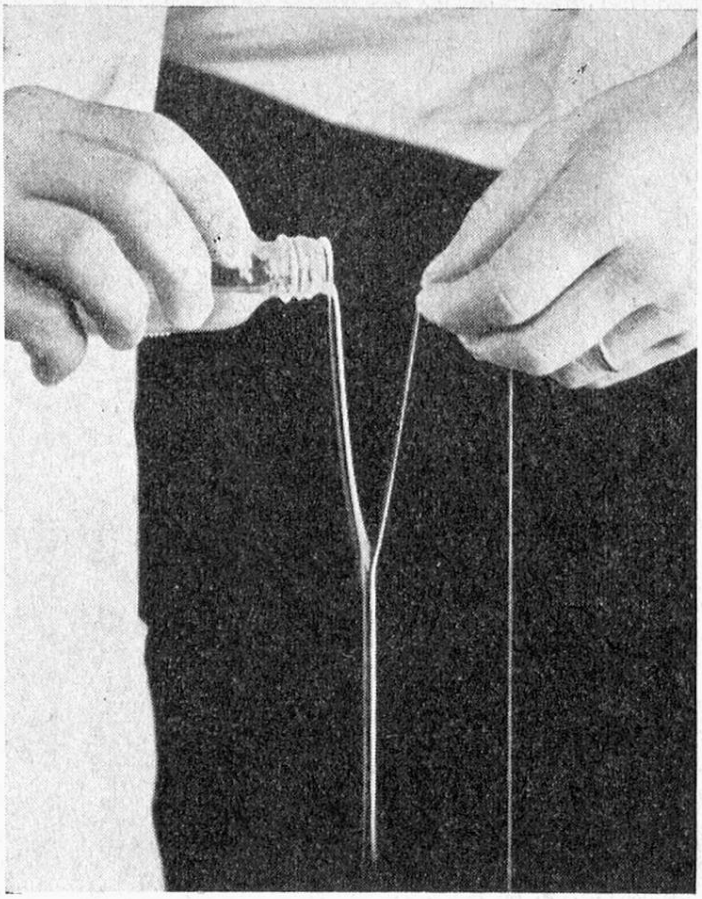

Abb. 9
Mit Hilfe einer «Partner»-Kultur extrem lind gemachter Räuschlingwein

Die Versuche zeigen deutlich, dass *Str. mucilaginosus var. vini* mit einem geeigneten «Partner» das Lindwerden der Weine auch bei den natürlichen pH-Werten dieser Getränke in überraschender Weise zu verstärken vermag. Die Kontrolle solcher Versuche liess vermuten, dass die Verstärkung der Schleimigkeit nicht nur auf eine *kräftigere Bakterienvermehrung*, sondern wahrscheinlich auch auf eine viel *intensivere Schleimbildung* zurückzuführen ist. Es ist allerdings auch in Betracht zu ziehen, dass die «Partner»-Kultur einen «Schutzstoff» ausscheiden könnte, welcher den Abbau des gebildeten Schleimes verhindert.

Auffallenderweise sind unter solchen Verhältnissen (erhöhter pH-Wert, Zusatz eines «Partners») die sonst sehr dichten Bakterienkapseln kaum mehr vorhanden. Es ergibt sich ein völlig verändertes Bild, welches dem der *Abb. 10* entspricht. Sie stellt den Stamm 208 a1 des *Str. mucilaginosus var. vini* dar, nachdem er über ein Jahr nur in Nährlösung weiter kultiviert wurde. Er hatte nach dieser Zeit mit seinen Kapseln auch die Eigenschaft, Weine künstlich lind machen zu können, unwiederbringlich verloren. Seitdem die weiteren Stämme immer in ihrem natürlichen Milieu, in einem Wein weiter geimpft werden, wurde kein ähnlicher Fall mehr beobachtet.

Diese durch künstliche Infektion erzielten extrem linden Weine erklären nun

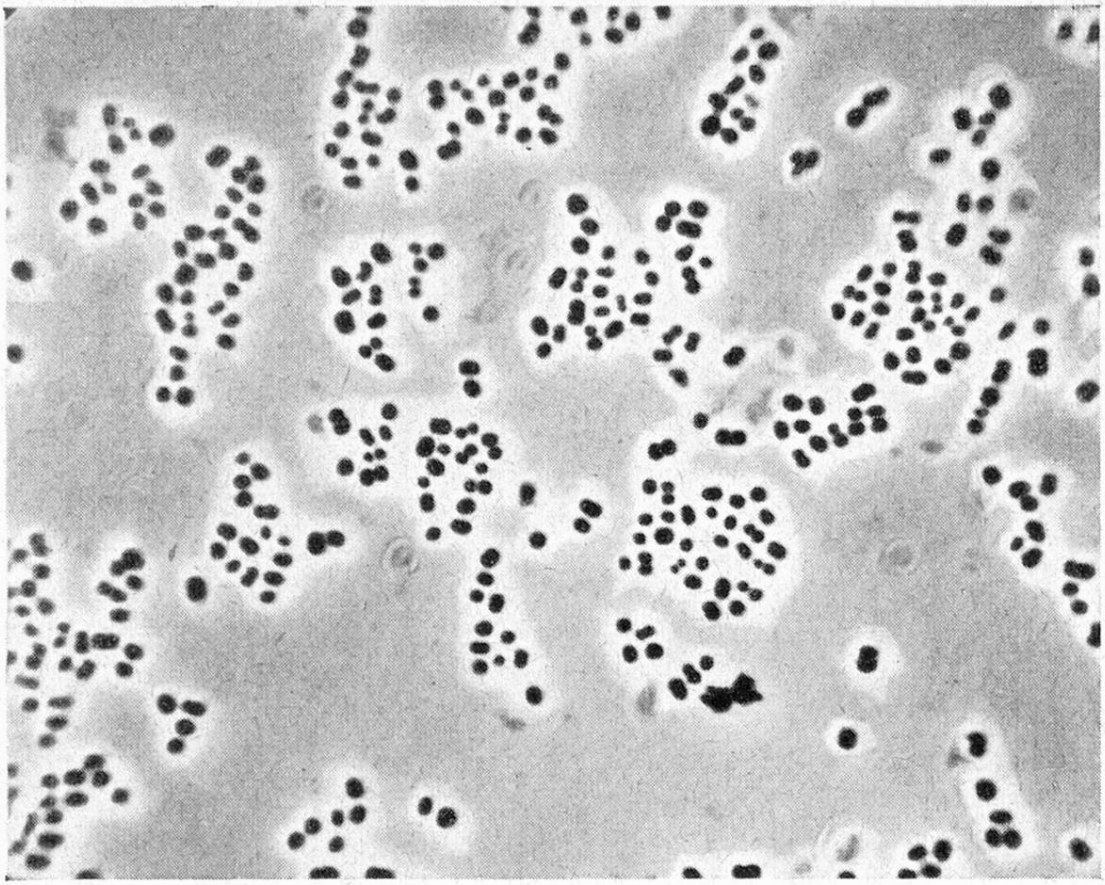

Abb. 10
Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini (Stamm 208 al) nach Verlust seiner Eigenschaft, Weine lind zu machen. Durch die noch vorhandene geringe Schleimbildung werden die Zellen zu Gruppen zusammengehalten. Es sind keine Kapseln mehr gebildet worden. Vgl. Abb. 4. Phasenkontrastaufnahme. Vergrösserung: ca. 1500 ×.

auf einmal jene früher unglaubhaften Fälle in der Literatur, wo von kaum mehr aus der Flasche fliessenden linden Weinen die Rede ist.

Die Ergebnisse sind aber auch geeignet, die Bedeutung der Essigbakterien für die Gesunderhaltung der Weine in ein ganz anderes Licht zu stellen. Die seit je empfohlene Sorgfalt und Sauberkeit bei der Lese (Sönderung der Trauben) und bei allen Kellerarbeiten erhält hier eine weitere Begründung.

Darüber hinaus konnte durch die beschriebenen Beobachtungen und experimentell bestätigten Annahmen eine in der Praxis bisher als «rätselhaft» betrachtete Erscheinung abgeklärt werden. Auf sie wurde ich im Verlaufe meiner Arbeiten immer wieder aufmerksam gemacht.

In der Praxis wird häufig beobachtet, dass in einer Anzahl nebeneinander lagernden Flaschen des *gleichen Abzuges* der Wein in den einen oft noch durchaus gesund und normal, in den andern aber bereits stark lind und fadenziehend ist.

Die Vornahme von biologischen Flaschenuntersuchungen führte bald zur Erkenntnis, dass in einzelnen (gebrauchten) Flaschen auch nach der normalen

Reinigung noch grosse Mengen von Bakterien, vor allem Essigbakterien, zurückbleiben können. Es ist also, wie sich experimentell ebenfalls nachweisen lässt, der *verschiedene Reinheitsgrad der Flaschen*, welcher zu dem ehemals «rätselhaften» verschiedenen Verhalten des gleichen Weines führen kann!

Es war anzunehmen, dass auch andere Organismen, ähnlich den bereits erwähnten Essigbakterien, in der Lage sind, die Schleimproduktion des *Streptococcus mucilaginosus var. vini* kräftig zu fördern. Weitere Untersuchungen haben bis heute gezeigt, dass ausser bestimmten Hefen ebenfalls Schimmelpilze die gleiche Eigenschaft besitzen können. Nach unseren Versuchen ist die Hefe *Debariomyces Klöckeri* imstande, die Schleimbildung der Streptokokkenstämme ganz wesentlich zu verstärken.

4. Versuche zur Abklärung der Wirkungsweise des Symbionten

Streptococcus mucilaginosus var. vini kann mit Hilfe eines geeigneten «Partners» in seinen Kulturen zu einer enormen Schleimbildung veranlasst werden. Auf das dabei auftretende Verschwinden der Schleimkapseln ist bereits hingewiesen worden.

Es liegt nahe, ist aber durchaus nicht selbstverständlich, die vermehrte Schleimbildung den Streptokokken und nicht der «Partner»-Kultur zuzuschreiben. Möglich ist immerhin, dass die ebenfalls mit einer Schleimhülle umgebenen Partnerzellen auch an der Schleimbildung beteiligt sein könnten. Zur Abklärung dieser Fragen wurden folgende Versuche angestellt.

a) Versuche mit Kollodiummembranen

1. Versuch:

In einem Erlenmeyerkolben mit 250 ml Inhalt wurden 200 ml 1949er Elblingwein eingefüllt und dessen pH mit Natronlauge auf den für die Schleimbildung günstigen Wert von 5,0 eingestellt. In diesen Kolben wurde (siehe Fig. 6) ein mit dem gleichen Wein gefüllter *Kollodiumsack* hineingehängt. Die Pasteurisation erfolgte wie üblich im strömenden Dampf. In dem Kollodiumsack wurden hierauf 5 ml einer bereits öfters verwendeten, sehr wirksamen Mischkultur eingeimpft.

Nach vierwöchiger Versuchsdauer zeigte sich, dass der Inhalt des *Kollodiumsackes stark lind wurde. Der Wein ausserhalb des Sackes aber behielt seine ursprüngliche Beschaffenheit. Die Schleimstoffe vermögen also nicht durch die Kollodiumwand zu diffundieren.*

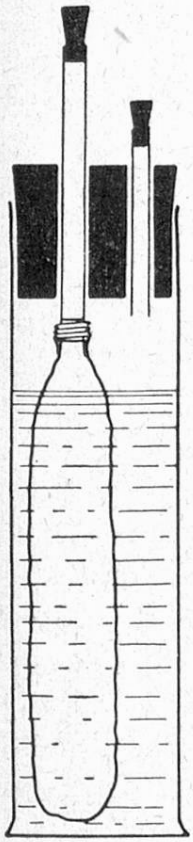

Fig. 6 Darstellung der Versuche mit Kollodiummembranen. Beschreibung im Text.

2. Versuch:

Nach dem eindeutigen Ergebnis des ersten Versuches wurden die weiteren Experimente mit *Reinkulturen* angelegt. Es sollte geprüft werden, ob die bekannte Wirkung des genannten «Partners» auch dann eintritt, wenn beide Organismen durch eine *Kollodiummembran voneinander getrennt sind.*

Der Versuch wurde in einem grösseren Glasrohr mit dem gleichen Elblingwein durchgeführt. Dabei enthielt der Kollodiumsack möglichst die gleiche Flüssigkeitsmenge wie das Glasrohr.

Als Kontrolle wurde der gleiche Wein in zwei Rollflaschen abgefüllt. In die eine erfolgte die Impfung des Stammes 216 von *Str. mucilaginosus var. vini,* in die andere wurde dieser gleiche Stamm mit der «Partner»-Kultur «Stamm 220» (Essigbakterien) zusammen eingeimpft.

In den Kollodiumsack dagegen wurden Stamm 220, in den Wein ausserhalb des Sackes aber der Streptokokkenstamm geimpft.

Nach 14 Tagen (bei 23° C) erfolgte die erste Kontrolle der Kulturen in den *Rollflaschen.* Sie ergab:

Stamm 216	nicht lind
Stamm 216 × 220	bereits stark lind.

Zwei Tage später wurde der eigentliche Versuch mit dem *Kollodiumsack* kontrolliert. Dabei wurden folgende Beobachtungen notiert:

Inhalt des Sackes (Stamm 220)	*nicht lind*
Inhalt des Glasrohres (Stamm 216)	*sehr stark lind.*

Mit diesem Versuch konnte nachgewiesen werden, dass die Partnerkultur *an der Schleimbildung selber nicht beteiligt ist.* Gleichzeitig brachte diese Versuchsanordnung aber auch den eindeutigen *Beweis dafür, dass die schleim-induzierenden oder -erhaltenden Stoffe des «Partners» durch die Kollodiumwand hindurch zu diffundieren und zu wirken vermögen.*

Infolge der bekannten Eigenschaften einer Trennungswand aus Kollodium kann nun aber angenommen werden, dass der *wirksame Stoff ein relativ kleines Molekül* besitzen muss und *kein Enzym* ist.

Der genau gleiche Versuch ist mit gleichem Erfolg auch mit den Stämmen *Str. mucilaginosus var. vini* (Stamm 216) × *Bacterium ascendens* (Essigbakterien) durchgeführt worden. In beiden Fällen war bei Versuchsabbruch, am 14. Tage, der mit Stamm 216 *allein* beimpfte Wein in der Rollflasche leider noch nicht lind. Für die Beurteilung der Versuche spielt dies aber keine Rolle.

Beide Versuche sind nach erfolgter Kontrolle auf das Lindsein noch einer genauen mikroskopischen Prüfung unterzogen worden. Das Sediment des stark linden Weines im Glasrohr ist auf die Anwesenheit von Stäbchen der Partnerkultur hin untersucht worden, um sicher zu sein, dass ja keine Infektion eventuell

durch eine undichte Stelle des Kollodiumsackes erfolgt sei. Eine solche hätte sich allerdings auch in einem Lindwerden des Sackinhaltes geäussert!

3. Versuch:

In einem letzten Versuch ist bei genau gleicher Anordnung die Partnerkultur bereits *vor der Pasteurisation der Versuchseinrichtung* geimpft worden. Es wurden zur Impfung 20 ml einer *alten* Kultur des Stammes 220 verwendet, in der Meinung, dass sich in dieser eine grössere Menge der wirksamen Substanz befinde als in einer jungen. Die Pasteurisation erfolgte während 30 Minuten bei 75° C. Da dieser Versuch gleichzeitig mit dem vorher beschriebenen angestellt wurde, erfolgte die Kontrolle ebenfalls am 14. Tage.

Es konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

Inhalt des Kollodiumsackes mit abgetöteter Kultur «Stamm 220»	nicht lind
Inhalt des Glasrohres ausserhalb des Sackes mit Stamm 216 von Streptococcus mucilaginosus var. vini	*stark lind.*

Es wird jedoch beigefügt, dass die Schleimbildung etwas weniger intensiv war als bei Versuch Nr. 2.

Dieser letzte Versuch scheint erneut zu beweisen, dass es sich bei der wirksamen, die Schleimbildung induzierenden oder erhaltenden Substanz nicht um ein Enzym handeln kann. Er zeigt aber auch, dass diese *Substanz durch das betreffende Essigbakterium ins Nährmedium ausgeschieden wird und auch in Abwesenheit lebender Zellen dieses Bakterium wirksam sein kann.*

b) Versuche mit Destillaten aus Kulturmedien

Die eben beschriebenen Resultate regten zu neuen Versuchen an. Sie sollten Auskunft über die Natur der *schleiminduzierenden oder -erhaltenden Substanz* geben. Nachdem feststeht, dass diese unabhängig von dem sie erzeugenden Bakterium und auch nach einer Erwärmung auf die üblichen Pasteurisationstemperaturen noch wirksam ist, wurde abzuklären versucht, ob sie wasserdampfflüchtig sei oder nicht. Einige Tastversuche schienen zu bestätigen, dass auch das Destillat aus einer älteren «Partner»-Kultur, z.B. des Essigbakteriums «Stamm 220», eine gewisse stimulierende Wirkung auf die schleimbildenden Streptokokken ausüben kann. Da dieses einen hohen Gehalt an Essigsäure aufweist, zeigten sich von Anfang an Schwierigkeiten in der Dosierung. Für die weiteren Versuche wurde darum das gesamte Destillat in *verschiedene Fraktionen* aufgeteilt.

Es seien hier zwei Versuche kurz besprochen und ihre Resultate graphisch dargestellt. Eine Anzahl weiterer Versuche dieser Art ist weniger deutlich oder sogar ohne sichtbare Wirkung des Destillates oder einer Teilfraktion verlaufen. In einigen Fällen sind dagegen wesentlich bessere Resultate erzielt worden. Ich führe die negativen Resultate in erster Linie auf ungenügende oder zu hohe Konzentration der Zusätze zurück.

1. Versuch:

Das bereits mehrfach erwähnte, als «Partner» wirksame Essigbakterium «Stamm 220» wurde in 30 Liter eines Räuschlings 1949 geimpft. Nach 2½ Monaten wurde der Wein mit der sich üppig entwickelten Kultur pasteurisiert. Aus diesem Rohmaterial konnte zunächst ein Destillat von zwei Litern gewonnen werden. Davon wiederum dienten 200 ml als Ausgangsmaterial zur Gewinnung folgender Fraktionen:

Fraktion 1	77,5 — 78° C	gewonnene Menge	32	ml
Fraktion 2	79° C	gewonnene Menge	80	ml
Fraktion 3	79 — 87° C	gewonnene Menge	10	ml
Fraktion 4	87 — 100° C	gewonnene Menge	6,5	ml
Fraktion 5	100 — 101° C	gewonnene Menge	48	ml
Fraktion 6		Destillationsrückstand	6	ml
		Gesamtdestillat	182,5	ml

Als Versuchswein diente ein 1950er Elbling, dessen pH mit Natronlauge auf den Wert 4,5 eingestellt wurde. Jede Fraktion sowie das Gesamtdestillat wurde nun auf seine Wirkung gegenüber *Streptococcus mucilaginosus var. vini* geprüft. Zu diesem Zweck wurden für jeden Versuch 250 ml des erwähnten Weines verwendet. Von der zu prüfenden Fraktion wurde ¼ der gewonnenen Menge, von der Fraktion 2 dagegen nur ⅛, d.h. 10 ml zugesetzt. Vom Gesamtdestillat, welches als Ausgangsmaterial zur Gewinnung der verschiedenen Fraktionen diente, erfolgte dagegen ein Zusatz von 25 ml. Dieser Zusatz entspricht etwas mehr als der 1½fachen Menge des aus demselben Quantum (250 ml) der Bakterienkultur gewonnenen Destillates.

Selbstverständlich wurde als Kontrolle in diesem Versuch sowohl die Mischkultur *Stamm 220* × *Str. mucilaginosus var. vini* als auch die Reinkultur des letzteren miteinbezogen.

Der gesamte, für jeden Versuch verwendete Wein (250 ml) wurde nach erfolgtem Zusatz der Fraktion pasteurisiert, hierauf mit einer Reinkultur von *Str. mucilaginosus var. vini* beimpft und erst nachher in Glasröhrchen zu 25 ml steril abgezogen. Ohne Gefährdung des Gesamtversuches liess sich auf diese Weise nach bestimmten Zeitabständen immer eine Probe auf deren Lindgrad hin untersuchen. Seine Bestimmung erfolgte nach einer inzwischen verbesserten, sich auf die Durchflusszeiten durch bestimmte Filter stützenden Methode. Die Methode ist von meinem Mitarbeiter *Hochstrasser* ausgearbeitet worden und wird demnächst von ihm eingehend beschrieben werden.

Die Ergebnisse sind in der graphischen Darstellung (Fig. 7) zusammengestellt worden. Der besseren Übersicht halber sind die Kurven der Fraktionen 2, 5 und 6 weggelassen worden. Mit der Fraktion 2 erreichte der Versuchswein erst gegen

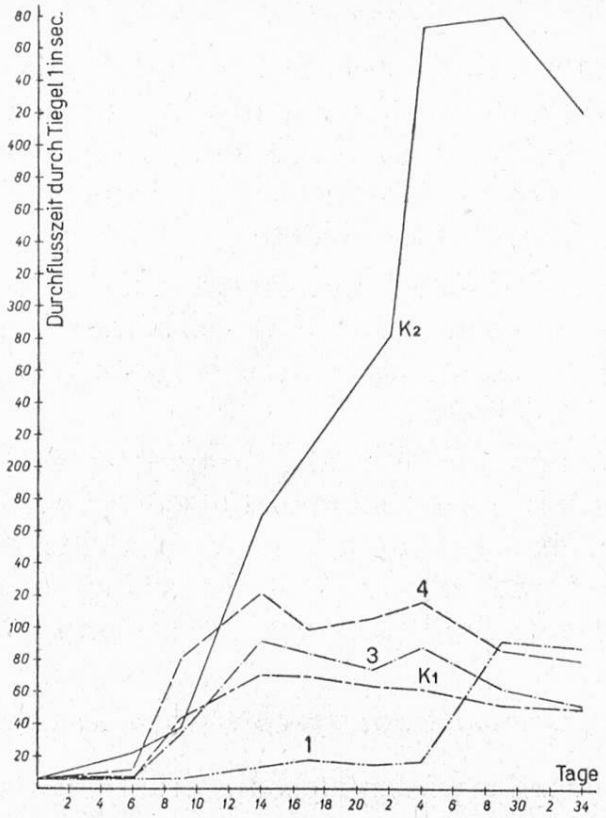

Fig. 7
Versuche zur Verstärkung der Schleimbildung durch Zusatz von Destillaten aus «Partner»-Kulturen.

Kurve K 1: Ausmass des durch eine Reinkultur von Streptococcus mucilaginosus var. vini in einem Wein erzeugten Lindwerdens.
Kurve K 2: Ausmass des gemeinsam mit einer «Partner»-Kultur erzeugten Lindwerdens.
Kurve 1: Wirkung des Zusatzes von Fraktion 1 (77,5—78°) des Destillates.
Kurve 3: Wirkung des Zusatzes von Fraktion 3 (79—87°) des Destillates.
Kurve 4: Wirkung des Zusatzes von Fraktion 4 (87—100°) des Destillates.

Ende des Versuches einen stärkeren Lindgrad als die eine Kontrolle (Reinkultur von Str. muc. var. vini). Der Zusatz der beiden andern Fraktionen vermochte die Reinkultur nicht zu stärkerer Schleimbildung anzuregen.

Aus dem Versuch ist einerseits der grosse Unterschied in der Wirkung einer *Reinkultur* und einer *Mischkultur* festzuhalten. Andererseits scheint er aber zu beweisen, dass wenigstens *ein Teil* der wirksamen Substanz im Destillat (besonders Fraktion 4) gewonnen werden kann. Eine Trennung der Substanz durch fraktionierte Destillation ist leider nicht gelungen. Die Wirkung der Fraktionen Nr. 3 und 4 deuten aber auf eine gewisse Anreicherung in den zwischen 79 bis 100° C überdestillierenden Dämpfen hin.

In andern Versuchen führte der Zusatz von Destillaten bis zu einem mehr als vierfach grösseren Lindgrad als bei der Kontrolle.

2. Versuch:

Als Ergänzung und Kontrolle des eben beschriebenen Versuches wurde auch ein Gesamtdestillat des nicht vorher mit der «Partner»-Kultur beimpften Versuchsweines (Elbling 1950) hergestellt. Es sollte damit geprüft werden, ob sich unter Umständen die wirksame Substanz auch aus einem gewöhnlichen, unbehandelten Wein in einem Destillat anreichern lasse.

Das Ergebnis dieses Versuches mit einem Zusatz des *Gesamtdestillates* ist nicht eindeutig positiv, obschon in drei Fällen erhöhte Schleimbildung festgestellt wurde. Es lässt aber die Vermutung zu, dass bei weiteren Versuchen schlüssigere Resultate erzielt werden könnten.

Nachdem die stimulierende Wirkung bestimmter Stoffwechselprodukte von Essigbakterien, Hefen und sogar Schimmelpilzen nachgewiesen werden konnte, darf erwartet werden, dass sich in jedem Wein kleine Mengen der fraglichen Substanzen vorfinden. Ihre Menge wird stark abhängig vom Gesundheitszustand des Rohmaterials und von der Pflege des Weines sein.

c) Versuche mit synthetischen Zusätzen

In mehreren Versuchen erwiesen sich die Fraktionen zwischen 80 und 98° C der aus Kulturmedien einer «Partner»-Kultur gewonnenen Destillate als besonders wirksam und die Schleimbildung der Streptokokken anregend. Auffallend ist aber, dass der Zusatz *lebender Kulturen*, z.B. von bestimmten Essigbakterien *mehrfach stärker* wirkt.

Weitere Versuche mit den bei 80—98° C überdestillierenden Stoffen können vielleicht zu besseren Resultaten führen.

Bis jetzt sind in einem Vorversuch erstmals *n-Propanol* und *Iso-Propanol* gleichzeitig mit den im vorigen Abschnitt erwähnten wirksamsten Fraktionen als Zusätze zu einem 1949er Räuschling (pH 4,7) geprüft worden.

Bei der Kontrolle des Versuches nach sieben Tagen konnten mit Hilfe der Tropfenzahlmethode folgende Lindgrade gemessen werden:

Fraktion 1 (78—89° C)	1,15
Fraktion 2 (über 89° C	1,0
n-Propanol	1,13
Iso-Propanol	1,145
Kontrolle ohne Zusatz	1,045

In beiden Versuchen mit dem Zusatz von Propanol sind wesentlich höhere Lindgrade erzielt worden als bei der Kontrolle. Es sollen darum weitere Versuche in dieser Richtung unternommen werden.

VII. Diskussion der Ergebnisse

Der in dieser Arbeit beschriebene Erreger des Lindwerdens konnte in allen bisher untersuchten schleimigen Weinen und Obstweinen nachgewiesen werden. Seine endgültige systematische Einordnung ist einerseits noch nicht möglich, weil das Studium seiner physiologischen Eigenschaften mit sehr grossen Schwierigkeiten verbunden und noch nicht abgeschlossen ist, andererseits aber, weil das Ergebnis eines Vergleiches der in der Literatur beschriebenen, nahe verwandten Streptokokken noch abgewartet werden soll.

Es soll in diesem Zusammenhang noch auf *die chemische Veränderung der Weine durch das Lindwerden* hingewiesen werden. In meiner vorläufigen Mitteilung [19]) war es auf Grund der damaligen Untersuchungen noch nicht möglich, auf eindeutige Veränderungen der Analysenzahlen hinzuweisen. Zu gleichen negativen Ergebnissen waren früher schon *Müller-Thurgau* und *Osterwalder*, ebenso in jüngster Zeit *Martin* gekommen. Dieser schreibt noch, dass die chemischen Veränderungen, welche die Versuchsweine durch seine Reinkulturen (mit denen er allerdings das Lindwerden nicht künstlich erzeugen konnte) zeigten, genau die gleichen waren wie die durch wirksame Mischkulturen (Sedimente) entstandenen.

Die Ausarbeitung empfindlicher Analysenmethoden hat bereits zur guten Erfassung der Milchsäurebildung in Nährlösungen und Weinen geführt. Eine weitere Verfeinerung der Analysenmethoden wird zur völligen Abklärung der chemischen Veränderungen eines Weines durch das Lindwerden führen, insbesondere aber zur Abklärung der Frage, welche im Weine vorhandenen Stoffe jeweils für das Entstehen des Lindwerdens von ausschlaggebender Bedeutung sind.

In Bezug auf die degustativen Eigenschaften lindgewordener Weine gilt heute allgemein die Auffassung, dass die Krankheit in *Weissweinen* keinerlei spürbare Veränderungen zurücklasse. Diese Ansicht wird z.B. auch von *Benvegnin*, *Piquet* und *Capt.* [26]) (p. 316) vertreten. Bei *Rotweinen* dagegen kann in der Mehrzahl der Fälle (nicht immer) eine leichte *Aromaveränderung* festgestellt werden. Sie wird von Kennern als «Milchsäureton» bezeichnet.

Wie bereits erwähnt, war es möglich, eine Anzahl elektronenoptische Aufnahmen von Kulturen des *Str. mucilaginosus var. vini* herzustellen. Die Interpretierung der Bilder durch den Fachmann auf diesem Gebiete, *H. Mühletaler*, führte zu folgenden Ergänzungen, welche auch durch die spezielle Kapselfärbung nach *Klieneberger-Nobel* bestätigt wurden. Die Kapseln bestehen aus einem wesentlich dichteren Material und können mehrfache Grösse des eigentlichen Bakteriums annehmen. An einer *Hofbildung* um die bei der Präparierung zusammengeschrumpften Kapseln lässt sich die Schleimaussonderung deutlich feststellen. Auf Grund des Bildes kann angenommen werden, dass die Schleimteilchen die Grösse von 50 Å nicht überschreiten. Diese Feststellung gibt Anhaltspunkte über die Porengrösse der verwendeten Kollodiummembranen, durch wel-

che der Schleim nicht durchzudringen vermag, sowie über die Teilchengrösse des gesuchten, die Schleimbildung aktivierenden oder erhaltenden Stoffes.

Bakterien, welche einen ähnlichen schüttelempfindlichen Schleim bilden und den Wein und Obstwein lind zu machen vermögen, sind bis jetzt noch nicht beschrieben worden. Nach den bisherigen Beobachtungen scheint es, dass sie ihre Eigenschaft der Schleimbildung bei der Weiterzüchtung im natürlichen Nährmedium auch nach längerer Zeit nicht verlieren. Bei der Kultur in künstlichen Nährmedien dagegen ist bis heute ein Fall bekannt, bei welchem die Eigenschaft der Schleimbildung *verloren* ging (vgl. S. 23).

Bei meinen Arbeiten ist öfters die Frage aufgetaucht, ob die isolierten Kokken ihre Eigenschaft der Schleimbildung von jeher besitzen, oder ob sie diese erst *nachträglich* durch bestimmte äussere Einflüsse erworben haben.

Solche Fälle sind durch *Burri* und *Thöni* [27][28]) bekannt geworden. Sie beschrieben, wie echte Milchsäurebakterien vom Typus *Bacterium casei* in *schleimbildende Rassen* übergeführt werden können. Allerdings lassen sich — im Gegensatz zum vorliegenden Fall — die schleimbildenden von den diese Eigenschaft nicht besitzenden Bakterien des gleichen Stammes morphologisch nicht unterscheiden. Ein späterer Verlust dieser erworbenen Eigenschaft ist beobachtet worden.

Von besonderem Interesse an jener Arbeit ist, dass die Schleimbildung durch eine (nicht näher bestimmte) *Kahmhefe* induziert werden kann. Solche *Mischkulturen*, schreiben die Verfasser, nahmen oft «mit auffallender Plötzlichkeit eine schleimige, fadenziehende Beschaffenheit» an. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert (vgl. S. 24), dass die Schleimbildung bei *Str. mucilaginosus var. vini* in meinen Versuchen durch *Debariomyces Klöckeri*, ebenfalls eine Kahmhefe, *verstärkt* werden kann.

In neuerer Zeit ist durch Arbeiten von *Avery, McLeod* und *McCarty* [29]) bewiesen worden, dass auch die Ausbildung von Kapseln bei Kokken eine erst nachträglich, durch äussere chemische Einflüsse induzierte Eigenschaft sein kann.

Die Forscher haben nachgewiesen, dass kapsellose Pneumococcen in kapselbildende übergeführt werden können und dass sie die neu erworbene Eigenschaft nicht wieder verlieren. Diese *Dauermutation* kann durch Präparate von aus Hefe gewonnener *Desoxyribonucleinsäure* ausgelöst werden.

Von Prof. Dr. *S. Signer*, Vorstand des chemischen Institutes der Universität Bern, ist mir in verdankenswerter Weise ein Präparat von Desoxyribonucleinsäure zur Verfügung gestellt worden. (Dieses Präparat wurde allerdings aus Kalbsthymus gewonnen.) Ich versuchte damit den Stamm 208 a1 von *Str. mucilaginosus var. vini*, welcher durch fortwährende Kultur in künstlichem Nährmedium sein Schleimbildungsvermögen verloren hatte, wieder zur Schleimbildung zu bewegen. Leider ist mir dies bisher nicht gelungen.

Mikroskopische Beobachtungen schleimbildender und nicht schleimbildender Kokkenstämme haben auch mir die Frage nahe gelegt, ob die schleimbildenden

Stämme als Dauermutationen der diese Eigenschaft nicht besitzenden aufzufassen seien. Zur Abklärung dieser Frage sollen weitere Beobachtungen gesammelt werden.

Die Entdeckung der Erreger des Lindwerdens ermöglicht der Praxis die Anwendung sicherer Vorbeuge- oder Behandlungsmassnahmen. Als solche kommen in erster Linie in Frage und sind in meiner vorläufigen Mitteilung [19]) bereits beschrieben worden: Die *E.K.-Filtration* und die *Pasteurisation der Weine.*

Zum Abschluss der Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, ausser den Herren *E. Nägeli, R. Hochstrasser* auch meinen Kollegen *E. Peyer, H. Huber* und *H. Rentschler* für ihr reges Interesse und ihre wertvollen Anregungen herzlich zu danken.

Zusammenfassung

1. Die Besprechung der Fachliteratur zeigt deutlich, dass das Lind-, Zäh- oder Öligwerden der Weine seit mehr als hundert Jahren ein aktuelles Problem der gesamten Weinwirtschaft darstellt. In früheren Arbeiten ist es übereinstimmend als eine häufige Krankheit der Weissweine bezeichnet worden. Es ist aber auch in allen Rotweingebieten bekannt und wird heute in der Ostschweiz als typische Rotweinkrankheit bezeichnet.
2. Aus linden Weinen verschiedener Herkunft liess sich ein schleimbildender Kokkus herauszüchten. Mit Reinkulturen davon lassen sich gesunde, für die Krankheit «disponierte» Weine künstlich lind und fadenziehend machen. Seine Eigenschaften werden beschrieben und mit denen anderer, nahe verwandter Organismen verglichen. Auf Grund dieser Arbeiten wird die vorläufige Benennung als *Streptococcus mucilaginosus var. vini* begründet.
3. Mit stark wirksamen *Bakteriensedimenten* aus linden Weinen der Praxis wurde die Krankheit besser abzuklären versucht. Dabei ergaben sich folgende Resultate:
   a) Die bisherigen Methoden zur quantitativen Erfassung der Schleimigkeit eines Weines wurden verbessert. Die Messung der Oberflächenspannung durch Bestimmung der *Tropfenzahl* mit dem *Stalagmometer* von *Traube* erwies sich, bei Einhaltung beschriebener Versuchsbedingungen, für die frühzeitige Erkennung und Beurteilung linder Weine als sehr einfach und gut brauchbar.
   b) Durch Messung des Lindgrades war es erstmals möglich, die gegenseitigen Beziehungen zwischen biologischem Säureabbau und Lindwerden abzuklären und ihren zeitlichen Ablauf nebeneinander festzuhalten. Dabei zeigte sich, dass beide Vorgänge *praktisch gleichzeitig* ihren Anfang nehmen. In einzelnen Fällen finden sie auch gleichzeitig ihren Abschluss. Meist aber bleiben die Weine auch nach Beendigung des biologischen Säureabbaues noch mehr oder weniger lange ölig und fadenziehend. Damit wird die bisherige Auffassung, wonach das Lindwerden als *Folgeerscheinung des biologischen Säureabbaues* betrachtet wird, eindeutig widerlegt.
   c) Die Messung des Lindgrades erlaubt die Feststellung, dass sich das Lindwerden in Lagergefässen stets von unten, vom Depot her, entwickelt, und dass es nach oben an Intensität abnimmt.

d) Es konnte nachgewiesen werden, dass Restgehalte von nicht abgebauter *Äpfelsäure* die Entstehung des Lindwerdens stark beeinflussen können. Ferner wird, ebenfalls im Gegensatz zur bisherigen Auffassung, bewiesen, dass *Restzuckergehalte* in Weinen für das Entstehen der Krankheit von ausschlaggebender Bedeutung sein können.

4. Mit *Reinkulturen von Streptococcus mucilaginosus var. vini* liess sich nachweisen, dass beim Lindwerden eine äusserst schwache Gasentwicklung stattfinden kann. Ferner liess sich der Einfluss des Säuregrades (Wasserstoffionenkonzentration) auf die Entwicklung und Schleimbildung der Organismen abklären. Aus den Versuchen ergibt sich ein optimaler Entwicklungsbereich zwischen pH 5.5—6,0.
5. Es konnte weiter erstmals nachgewiesen werden, dass *fremde Organismen* auf das Lindwerden der Weine (Schleimbildung) einen grossen Einfluss ausüben. Als wirksame «Partner» oder Symbionten wurden einige Arten von *Essigbakterien*, ferner die Kahmhefe *Debariomyces Klöckeri* und ein *Schimmelpilz* erwähnt.
   Mit solchen «Partner»-Kulturen gelang es, in Weinen bisher nie beobachtete Lindgrade zu erzielen. Es wird auf die grosse praktische Bedeutung dieser Beobachtungen für die zukünftige weitere Beurteilung der Weinkrankheiten hingewiesen.
6. Mit Hilfe von *Kollodiummembranen* wurde Einfluss- und Wirkungsweise der «Partner»-Kulturen abzuklären versucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass ein vorläufig noch nicht bekannter, durch die «Partner»-Kultur ausgeschiedener Stoff einerseits das Wachstum und die Vermehrung von *Streptococcus mucilaginosus var. vini* anregt und andererseits zu einer stark vermehrten Schleimbildung führt. Es wird auf die Möglichkeit verwiesen, dass dieser Stoff nicht nur eine vermehrte Schleimbildung induzieren, sondern auch einen raschen oxydativen Abbau desselben verhindern könnte. Ferner konnte nachgewiesen werden, dass der unbekannte Stoff durch die *Kollodiummembranen* hindurch zu diffundieren und in Abwesenheit des «Partners» seine Wirkung auszuüben vermag. Die beschriebene Wirkung lässt sich auch nachweisen, wenn die verwendete Partnerkultur vor der Verwendung *durch Pasteurisation abgetötet* wird, was beweist, dass der unbekannte Stoff hitzebeständig ist.
7. Die Natur des unbekannten, die Schleimbildung von *Str. mucilaginosus var. vini* so stark anregenden Stoffes wurde weiter abzuklären versucht. Die Anwendung von *Destillaten aus Partnerkulturen* führte bei weitem nicht zur gleichen Schleimbildung wie bei der Verwendung von nicht abdestillierten, lebenden Kulturen. Die bis vierfache Verstärkung der Schleimbildung gegenüber den Kontrollversuchen legt aber die Vermutung nahe, dass wenigstens ein Teil der gesuchten Substanz sich im Destillat finden lässt oder dass sie teilweise zerstört wird.
8. Im Zusammenhang mit den erwähnten Versuchen wurde die Wirkung von *n-Propanol* und *Iso-Propanol* untersucht. Mit diesen Zusätzen liess sich eine leicht vermehrte Schleimbildung induzieren.
9. In einem letzten Abschnitt wird auf die noch weitgehend unabgeklärten chemischen Veränderungen der Weine durch das Lindwerden hingewiesen. Es wird die Frage diskutiert, ob die Eigenschaft der Schleimbildung ursprünglicher Natur oder durch die Streptokokken erst *nachträglich* erworben sei. Auf diese Frage bezugnehmende Arbeiten und ein Versuch zur Induktion der Schleimbildung bei einem Streptokokkenstamm werden kurz besprochen. Abschliessend wird darauf hingewiesen, dass die Entwicklung der Erreger des Lindwerdens Wege zur wirkungsvollen Vorbeugung und Bekämpfung der Krankheit in der Praxis eröffnen. Die wichtigsten Möglichkeiten werden erwähnt.

Résumé

1. La littérature sur la «graisse» du vin est passée en revue.
2. On est arrivé à isoler des vins gras les germes jusqu'à maintenant inconnus de la maladie et sur la base des propriétées constatées ils ont été nommés provisoirement: Streptococcus mucilaginosus var. vini.
3. On a constaté que la maladie de la graisse est favorisée par des restes d'acide malique dans les vins. Mais elle n'est pas une conséquence de la rétrogradation malolactique. En outre, contrairement aux indications de la littérature, on a démontré que la maladie est liée à des restes de sucre dans les vins.
4. On a aussi constaté que la maladie peut être activement influencée par d'autres organismes, p. ex. certains ferments acétiques.

Summary

1. The literature about the ropiness of wine is discussed.
2. A new germ has been isolated from such viscous wines and has been named Streptococcus mucilaginosus var. vini. The properties of this germ are described.
3. It has been proved that the ropiness of wine is influenced favourably by remains of malic acid. But it is not a consequence of the malolactic retrogradation. Against literary statements it was proved that the disease has some connection with the remains of sugar contained in wine.
4. For the first time it has been possible to state, that other organisms influence the disease, such as acetic acid bacteria, yeast and moulds.

Literatur

[1]) *J. A. Chaptal:* «Sur la cause de la graisse des vins». Ann. de chimie et de physique XLIV, 2e série, p. 212, 1829/31.

[2]) *L. Pasteur:* Etudes sur le vin, Paris 1866, p. 62/63.

[3]) *C. Börsch:* Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines und zur Kenntnis der Hefen. Diss.: Erlangen 1893.

[4]) *R. Aderhold:* Untersuchungen über reine Hefen, III. Teil, Landw. Jahrbuch, Bd. 23, 1894, S. 587.

[5]) *E. Kramer:* Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft. 2. Teil, Wien 1892.
E. Kramer: S.-B. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturwiss. Klasse 98, S. 358.

[6]) *W. V. Cruess:* The Principles and Practice of Wine. Making, Avi. Publ. Co. New York 1947, p. 329.

[7]) *Mazé* et *P. Pacottet:* Vinification, Paris 1904, S. 490.

[8]) *J. Laborde:* Sur les ferments des vins gras. Compt. rend. T. 138, 1904, p. 228.

[9]) *E. Kayser* et *E. Manceau:* Les ferments de la graisse des vins. Epernay 1909.

[10]) *Rich. Meissner:* Studien über das Zähwerden von Most und Wein. Landw. Jahrb. Bd. 37, 1898, S. 715; Zbl. Bakt. II. Abt. Bd. 5, 1899, S. 232.

[11]) *H. Wortmann:* Untersuchungen über das Auftreten von Dematium pullulans im gärenden Most. Jahresbericht Geisenheim 1891/92, S. 52.

[12]) *F. Goldschmidt:* Der Wein. Mainz 1900, S. 276—277.
[13]) *Müller-Thurgau* und *Osterwalder:* Über die Säureabnahme in Schweizerweinen Landw. Jahrb. der Schweiz, 1914, S. 465.
[14]) *Müller-Thurgau* und *Osterwalder:* Beobachtungen über das Lindwerden von Obst- und Traubenweinen. Landw. Jahrb. der Schweiz, 1917, S. 473—
[15]) *A. Osterwalder:* Neuere Untersuchungen über das Lindwerden der Weine. Schweiz. Ztschr. für Obst- und Weinbau, 1919, S. 20.
[16]) *L. Martin:* Beitrag zur Kenntnis der linden Weine. Diss. ETH Zürich 1948.
[17]) *H. Rentschler:* Über das Lindwerden der Weine und Obstweine. Schweiz. Ztschr. für Obst- und Weinbau 1948, S. 7.
[18]) *H. Lüthi:* Über das Lindwerden der Weine und Obstweine. Schweiz. Ztschr. für Obst- und Weinbau 1949, S. 266.
[19]) *H. Lüthi:* Über das Lindwerden der Weine. Schweiz. Ztschr. für Obst- und Weinbau 1950, S. 149, 165.
[20]) *E. Klieneberger-Nobel:* Über Kapsel und Schleimbildung bei Bakterien. Schweiz. Ztschr. für Pathologie, Bakteriologie. Vol. XI, Fasc. 4 (1943), p. 336.
[21]) *D. Bergey:* Manual of Determinative Bacteriology, VI. Edition 1948, p. 305.
[22]) *J. L. Shimwell:* Brewing Bacteriology. VI. The Lactic Acid Bacteria, Wall. Lab. Comm. Vol. XII, Nr. 36.
[23]) *D. Kulka, A. J. Curtin Cosbie, T. K. Walker:* Streptococcus mucilaginosus Spec. nov. Journ. Inst. Brewing, Vol. LV, Nr. 5, 1949, p. 315.
[24]) *A. Widmer* und *A. Geiger:* Versuche über das Lindwerden der Weine. Landw. Jahrb. der Schweiz, 1944, S. 930.
[25]) *D. Krüger:* Die Bestimmung der Oberflächenspannung. Die Methoden der Fermentforschung. Leipzig 1941, S. 956.
[26]) *Benvegnin, Piquet* et *Capt.:* Traité de Vinification, Lausanne 1952, Librairie Payot.
[27]) *R. Burri* und *J. Thöni:* Überführung von normalen, echten Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen. Zbl. für Bakt. II. Abb. Bd. 23, S. 32 (1909).
[28]) *R. Burri* und *J. Thöni:* Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmentalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden, schleimbildenden Milchsäurebakterien. Landw. Jahrb. der Schweiz. Bd. 23, S. 227 (1909).
[29]) *O. T. Avery, C. M. McLeod* und *M. McCarty:* J. exp. Med. **79**, 137 (1944).