



Mikroskopische Früherkennung von Weinfehlern

Trübungen in Weinen und Fruchtsäften sind von blossem Auge schwierig zu beurteilen, weil die Partikelgrösse meist weit unter der Erkennungsschwelle des menschlichen Auges liegt.

Aufschluss erhält man durch Betrachtung im Mikroskop mit einer geeigneten Vergrösserung. So ist eine Differenzierung der Trubpartikel und in vielen Fällen sogar eine Beurteilung des Zustands der Mikroorganismen möglich. Während der langjährigen Tätigkeit des Autors in der Weinforschung war das Mikroskop immer wieder eine wichtige (und oft die erste) Informationsquelle bei der Beurteilung des Zustands eines Weins oder Fruchtsafts.

DANIEL PULVER, RÜTI ZH
daniel.pulver@ypl.ch

«On fait le vin sans microscope»! Diesen Ausspruch hörte ich von einem bekannten französischen Önologen, als wir in seinem Keller im Burgund über alkoholische Gärung und biologischen Säureabbau diskutierten. Bei der späteren Untersuchung von Fassproben aus diesem Keller zeigte sich, dass fast alle Proben Pediokokken enthielten. Bekanntlich können diese Bakterien dem Wein schaden und es ist gut, wenn sie nicht allzu lange ihr Unwesen treiben. Im vorliegenden Fall war der Wein zwar noch nicht verdorben; vermutlich hätte man die Qualität aber steigern können, wenn man die unerwünschten Mikroorganismen rechtzeitig erkannt und Gegenmassnahmen getroffen hätte. In den Wein «hineinschauen» bedeutet aber nicht nur, dass man fehlerhafte Entwicklungen rechtzeitig erkennt und dadurch die Entstehung von Schäden vermeiden kann, es ist auch ein beruhigendes Gefühl zu wissen, dass «alles in Ordnung» ist.

Oder wenn man weiss, dass eine Eiweiss- oder Gerbstofftrübung zwar ein Schönheitsfehler ist, die Weinqualität jedoch kaum beeinträchtigt. In solchen Fällen kann man sich – im Gegensatz zu mikrobiologischen Fehlentwicklungen, bei denen meistens rasches Handeln nötig ist – mit dem Entscheid über das weitere Vorgehen Zeit lassen.

Kostenfaktor Mikroskop

Mancher Kellermeister mag sich schon mit dem Gedanken befasst haben, ein Mikroskop anzuschaffen. Meist schrecken aber die Kosten für ein gutes Gerät vom Kauf ab. Für Fr. 3000.– bis 4000.– sind bei verschiedenen Herstellern Mikroskope erhältlich, die sich für den routinemässigen Praxiseinsatz eignen. Gebrauchte Mikroskope, die den Kellerbedürfnissen genügen, findet man nur ganz selten. Die auf den gängigen Internetplattformen

men angebotenen Occasionsgeräte sind meist nicht von ausreichender Qualität. Wenn man aber bedenkt, dass ein Mikroskop bei guter Pflege ohne weiteres 20 bis 30 Jahre oder länger im Einsatz stehen kann, lohnt sich eine Anschaffung jedoch bestimmt. Insbesondere wenn man damit Schäden am Produkt verhindern und das Gerät eventuell mit Berufskollegen teilen kann. Dabei wird jedoch vorausgesetzt, dass sich einer davon für die Mikroskopiertechnik interessiert, sich einarbeitet und sich auch Zeit für die Untersuchungen nehmen kann. Die Routine stellt sich dann von selbst ein.

Ansprüche an die Ausrüstung

Mikroorganismen und feine Trubpartikel sind ungefähr 0.5 bis 10 µm (1 Mikrometer µm = 0.001 mm) gross. Um solche Teilchen kontrastreich abbilden zu können, ist eine Vergrösserung von 1:400 bis 1:1000 erforderlich. Das erreicht man mit einem 40× und einem 100× Objektiv und einer Okularvergrösserung von 10×. Die Qualität des Objektivs ist entscheidend. Es sollten vorzugsweise farb-korrigierte Planobjektive gewählt werden, die sich für Phasenkontrast eignen. Für das Objektiv 100× wird ein kleiner Tropfen Immersionsöl zwischen die Frontlinse des Objektivs und das Deckglas des Präparats gegeben, um den Lichtverlust möglichst gering zu halten. Zusätzlich benötigt man einen phasenkontrastfähigen Kondensator oder einen mit Phasenschieber. Diese Einrichtungen ergeben bei Nativpräparaten einen deutlich besseren Kontrast. Das Mikroskop muss weiter über ein stabiles Stativ und eine gute Beleuchtung verfügen.

Sehr nützlich ist auch eine Laborzentrifuge für Röhren von 10 bis 15 ml Inhalt. Damit können Trubstoffe in der Probe zirka 50-fach angereichert werden. Entsprechend geringer ist die nötige Partikelzahl, um bei der hohen Vergrösserung überhaupt etwas zu finden.

Präparate und Mikroskopie-Technik

Ein einfaches Präparat stellt man her, indem man einen kleinen Tropfen der Probelösung (evtl. des Zentrifugats) auf einen sauberen Objektträger gibt und mit einem Deckglas zudeckt. Überschüssige Flüssigkeit wird mit einem Filterpapier abgetupft. Mit dem 40×-Objektiv wird zunächst die Bildebene gesucht. Danach wird durch Drehen des Objektivkopfs auf das 100×-Objektiv – unter Zugabe eines Tropfens Immersionsöl – die grösste Vergrösserung eingestellt. Durch Verschieben des Objektischs werden verschiedene Bildfelder inspiziert. Enthält ein Präparat zu viele Trubpartikel, muss man es wieder etwas verdünnen, damit die einzelnen Partikel frei schwimmen. Vor der Untersuchung des Präparats sollte man einige Minuten warten, bis sich die Flüssigkeit unter dem Deckglas etwas beruhigt hat.

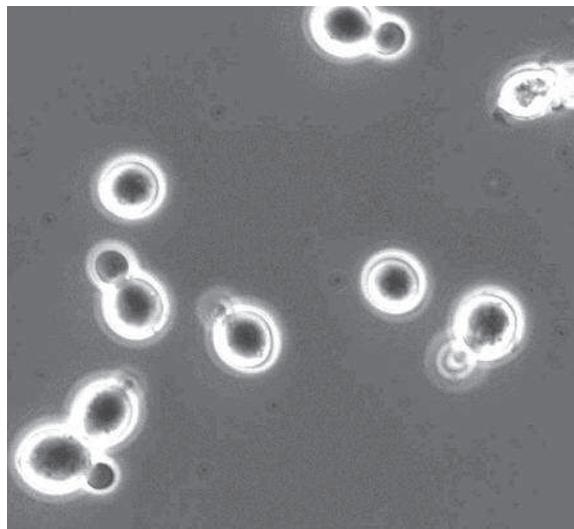


Abb. 2: Sprossende Hefe.

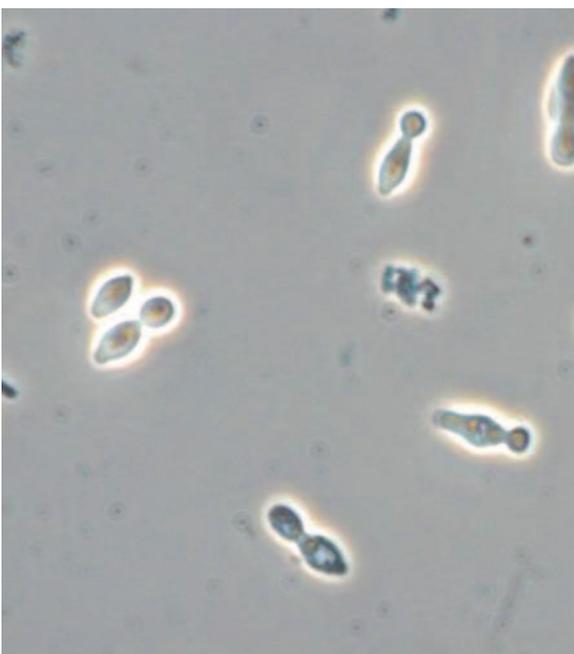


Abb. 1: *Hanseniaspora uvarum*.

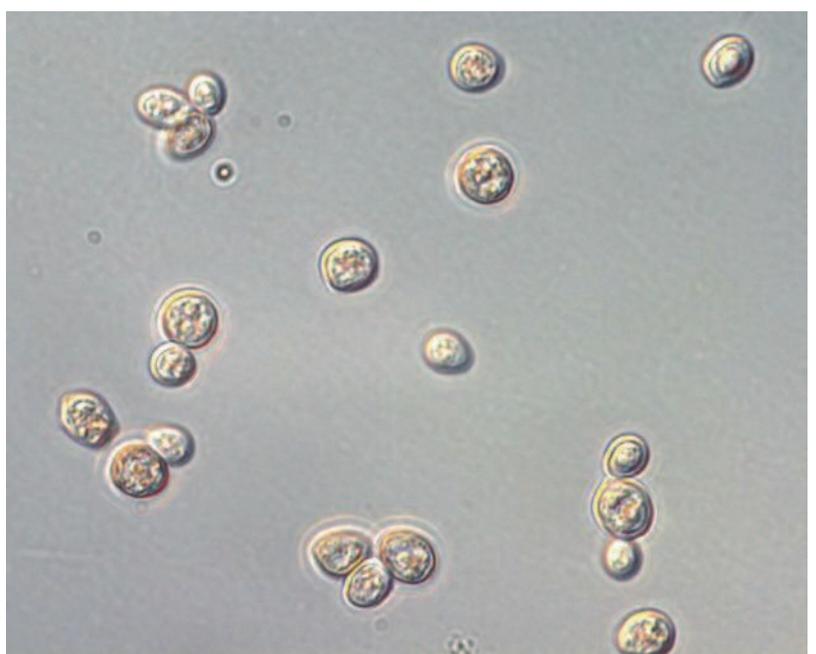


Abb. 3: Alte Hefe.

Informationen aus dem Mikroskop

Von der Saftgewinnung bis zum abgefüllten Getränk kann das mikroskopische Bild vielfältige Informationen über das Vorkommen und den Zustand von Mikroorganismen sowie über die Trubpartikel liefern. Im Laufe der Vinifikation verändert sich die Zusammensetzung der Trubstoffe ständig. In einem frisch gepressten Saft oder in einer Rotweinmaische findet man normalerweise nur wenige Mikroorganismen, jedoch viele Partikel aus der mechanischen Bearbeitung der Ernte. Oft findet man auch viele Weinsteinkristalle, da die Tartratbildung nach dem Pressen sehr rasch erfolgt. Wurde schlecht gesondertes Material verarbeitet, findet man oft schon viele wilde Hefen (z.B. *Hanseniaspora uvarum*, Abb. 1, die an ihrem zitronenförmigen Umriss leicht erkennbar sind), und vielleicht auch Essigbakterien. Dies bedeutet für den Kellermeister, auf Maischestandzeiten zu verzichten und so rasch wie möglich mit Reinzuchtheffe die Gärung einzuleiten.

Abb. 4: Wein im BSA, ältere Hefe, *Oenococcus oeni* und verschiedene Trubpartikel.

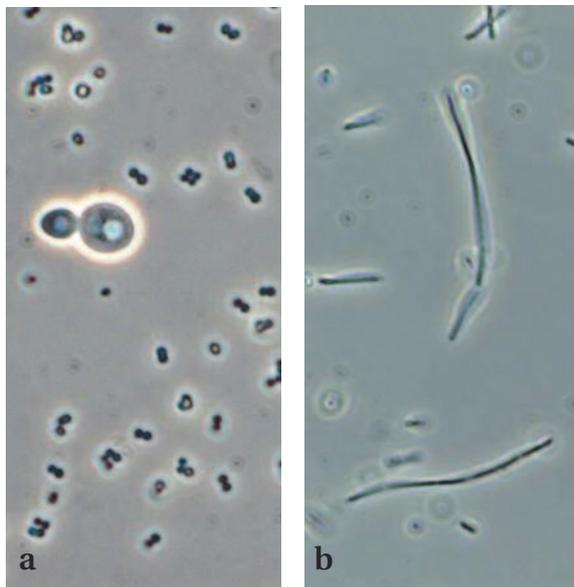
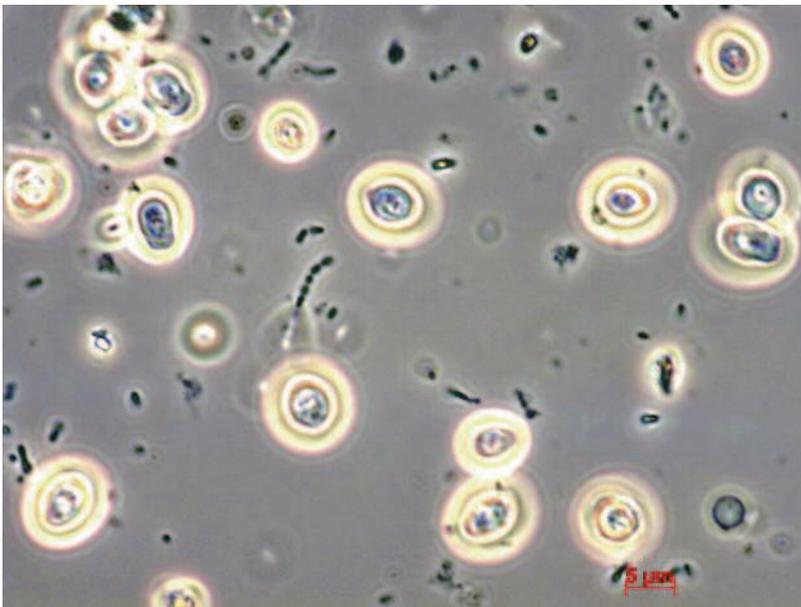


Abb. 5:
a) Pediokokken,
b) Lactobacillen.

Alkoholische Gärung

Während der alkoholischen Gärung (ob spontan oder induziert) kann der Zustand der Hefen mikroskopisch abgeschätzt werden. In der ersten Gärphase findet man viele sprossende Hefen (Abb. 2). Später kann man das Verhältnis von aktiven zu alten, nicht mehr aktiven Hefen bestimmen. Junge Hefezellen erscheinen transparent, mit einer grossen Vakuole, bei älteren (inaktiven) Hefen ist das Zellinnere verdichtet und die Vakuole geschrumpft (Abb. 3). Diese Beobachtung ist insbesondere bei schleppendem Gärverlauf oder bei Gärstockungen hilfreich. Sind noch 10 bis 20% aktive Hefen vorhanden, kann man versuchen, sie durch geeignete Massnahmen zu reaktivieren. Sind nur noch inaktive Hefen zu sehen, muss man versuchen, mit einer frischen Anstellheffe, eventuell mit einem fructophilen Hefestamm, die Gärung zu Ende zu bringen.

Biologischer Säureabbau

Beim biologischen Säureabbau (BSA) geht es darum zu kontrollieren, ob dieser bereits begonnen hat, und wenn ja, ob die richtigen Bakterien vorhanden sind. *Oenococcus oeni* Bakterien sind sehr klein und man erkennt sie an ihrer rundlichen, manchmal leicht ovalen Form. Sie können Ketten von vier bis zwölf Zellen bilden (Abb. 4). Sind ausschliesslich solche Bakterien vorhanden oder sind sie in der Überzahl, kann der BSA problemlos zu Ende geführt werden. Unerwünscht sind dagegen Pediokokken (erkennbar an ihrer kugeligen Form). Sie kommen fast immer als Doppelzellen oder grössere Zellhaufen vor (Abb. 5a). Sind viele Pediokokken vorhanden, darf man mit der Filtration nicht lange zuwarten. Sonst können sie biogene Amine bilden oder sogar zum Lindwerden des Weins führen. Lactobacillen sind in der Regel stäbchenförmig und relativ gross (Abb. 5b), wobei die Variabilität zwischen den einzelnen Arten recht gross ist. Obwohl es auch «harmlose» *Lactobacillus*-Stämme gibt, ist bei starkem Aufkommen Vorsicht geboten. Es ist manchmal schwierig, die «harmlosen» von den unerwünschten Lactobacillen zu unterscheiden. Das Risiko, dass flüchtige Säure oder andere unerwünschte Stoffwechselprodukte entstehen, ist recht gross. Deshalb sollte man auch solche Bakterien bald durch Filtration entfernen.

Lagerung und Fassausbau

Je nachdem wie «scharf» der Wein filtriert wurde, findet man im Mikroskop keine oder nur wenige Trubpartikel beziehungsweise Bakterien. Meist wird die Wahrnehmungsgrenze von zirka 100 000 Partikeln/ml bei 1000-facher Vergrösserung deutlich unterschritten. Es wurde aber schon oft beobachtet, dass nach einer gewissen Zeit trotz Filtration und Einbrand wieder Mikroorganismen wachsen. Dabei handelt es sich – vor allem bei Weinen mit höheren pH-Werten – meist um Pediokokken, weil diese SO₂-toleranter sind. Somit lohnt es sich, auch während der Ausbauphase die Weine ab und zu mikroskopisch zu kontrollieren. Hat man viele Barriques im Keller, kann man sie während einer routinemässigen Degustation stichprobenweise kontrollieren.

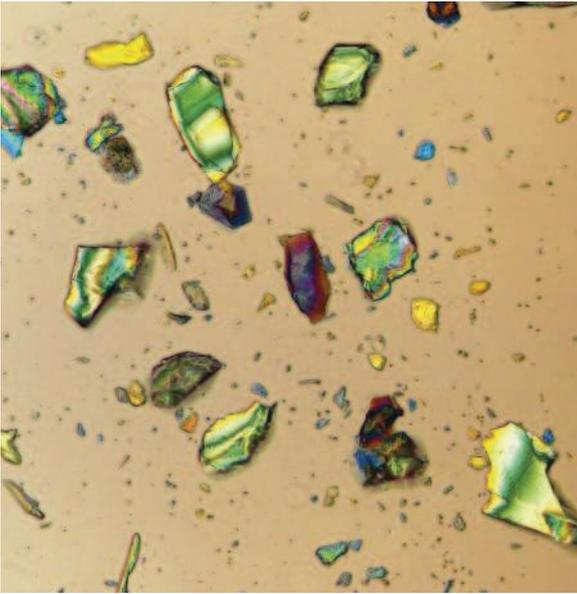


Abb. 6: Weinsteinkristalle im polarisierten Licht.

Flaschentrübungen

Nach der Abfüllung sollte der Wein theoretisch stabil sein. Und doch kommt es immer wieder zu nachträglichen Trübungen. Meist sind diese auf unsorgfältige oder zu wenig scharfe Filtration oder zu schwachen Einbrand bei hohen pH-Werten zurückzuführen. Es kann aber auch sein, dass die Weine vor der Abfüllung nicht genügend eiweiss- oder weinsteinstabil waren (Abb. 6). Ist die

Trübung schon von blossen Auge erkennbar, sind mehr als genug Trubpartikel vorhanden, um sie im Mikroskop bestimmen zu können. Mikroorganismen können einfach von chemisch-physikalischen Trubstoffen wie Eiweiss, Gerbstoff oder Kristallen unterschieden werden. Bei mikrobiologischen Trübungen ist meist rasches Handeln nötig. Insbesondere bei restzuckerhaltigen Weinen können Hefen den Zucker abbauen und dabei Kohlendioxid bilden. Ausserdem entsteht eine massive Trübung und der Wein verliert seinen Charakter. Handelt es sich um Bakterien, wurde möglicherweise zu wenig scharf oder unter hohem Druck filtriert, sodass Bakterien in die Flasche gelangten und sich dort wieder vermehrten. Meist handelt es sich um *Pediokokken*, seltener um *Lactobacillen*, die rasch zum Verderb führen. Im Gegensatz zu *Oenococcus oeni* sind diese Bakterien – wie erwähnt – viel weniger empfindlicher gegen SO_2 und können noch bei über 20 mg/L freier SO_2 überleben. In diesen Fällen ist rasches Handeln angezeigt, wenn der Wein gerettet werden soll.

Kontrolle ist besser!

Das Mikroskop ist ein gutes Instrument für die routinemässige Überwachung von Weinen während der Herstellung. Statt im Dunkeln zu tappen, ist es besser zu wissen, was in den eingelagerten Weinen vor sich geht. Fehlentwicklungen können erkannt werden, bevor sie sich sensorisch negativ auswirken. Selbst wenn die mikroskopische Prüfung keinen negativen Befund ergibt, ist es gut zu wissen, dass alles in Ordnung ist und man gegebenenfalls beruhigt in den Urlaub fahren kann. ■

Détection précoce des défauts du vin par analyse microscopique

Il est difficile d'interpréter les altérations optiques des vins et des jus de fruits par simple inspection visuelle, car les particules sont trop petites pour être visibles à l'œil nu. La vinification ressemble parfois à un vol à l'aveugle. Les altérations peuvent être constatées par perception organoleptique et corroborées par des mesures analytiques. Mais si l'évolution dans une direction indésirable se fait progressivement, on intervient souvent trop tard et il ne reste que des mesures de correction drastiques pour assurer la qualité. Le microscope permet de détecter les altérations probléma-

tiques beaucoup plus tôt et de rectifier le tir à temps. L'origine d'altérations optiques en tout genre peut être déterminée rapidement et sans grand effort. Un maître de chai qui connaît les types et l'état des microorganismes qu'il est susceptible de rencontrer en cours de vinification pourra suivre les processus microbiologiques et leur imprimer la direction voulue. Le microscope éclaire donc la question au vrai sens du terme. Il devient un allié précieux du professionnel qui le rassure sur la bonne évolution de ses produits.

R É S U M É