

Antibakterielle Wirkung von Wein

von Christiane Ziegelwagner, Karin Silhavy-Richter und Karin Mandl

Zitierweise:
Ziegelwagner C, Silhavy-Richter K, Mandl K
Antibakterielle Wirkung von Wein
Ithaka Journal 1/2012: 47–56 (2012)
www.ithaka-journal.net
Herausgeber: Delinat-Institut für Ökologie und
Klimafarming, CH-1974 Arbaz
www.delinat-institut.org, www.ithaka-journal.net.
ISSN 1663-0521

Antibakterielle Wirkung von Wein

von Christiane Ziegelwagner, Karin Silhavy-Richter und Karin Mandl

In früheren Zeiten trank man Wasser häufig nur mit Wein gemischt. Vor allem im Mittelalter, als in den Städten die Wasserqualität besonders schlecht war, nutzte man die keimtötende Wirkung des Weines. Wie die vorliegende Studie zeigt, können weder der Alkohol noch die Säure noch die Tannine allein diese Wirkung erklären, sondern nur das Zusammenspiel der über 1000 Inhaltsstoffe des Weines.

Wein ist seit langer Zeit als Genussmittel, religiöses Symbol und Handelsgut Teil unserer Kultur. Die erste systematische Weinherstellung fand vermutlich in Georgien statt, wo Tonkrüge mit Weinreliefs aus der Zeit 6000 v. Chr. nachgewiesen wurden. Ungefähr zeitgleich wurde Wein auch im Niltal, in der Region des heutigen Palästina und im Bereich zwischen Euphrat und Tigris hergestellt. Damals wurde Wein als Statussymbol, Währung, Rauschmittel und Medizin zugleich angesehen. Die erste Kultivierung von wildem Wein fand wahrscheinlich bei den Griechen statt. Durch die Römer wurde der Wein über das Mittelmeergebiet hinaus verbreitet (Wenz, 2005; Althoff, 2002).

Chemisch gesehen ist Wein eine komplexe Lösung von Alkohol (v.a. Ethanol), Kohlehydraten, Säuren, Stickstoffverbindungen, Mineralstoffen und Polyphenolen. Weiterhin sind in geringen Mengen auch Aldehyde und Acetale, Ester, Enzyme, Vitamine sowie gelöste Gase (Kohlendioxid, Schwefeldioxid,

Sauerstoff und Schwefelwasserstoff) in diesem Gemisch enthalten. Gehalt und Zusammensetzung dieser Stoffe im Wein ist abhängig von der Traubensorte, der Lage und der Bodenbeschaffenheit des Weinberges, von der Witterung, vom Reifegrad der Trauben bei der Ernte, von der Gärführung und der Behandlung des Weines während der Herstellung. Für die Qualität des Weines ist der Gehalt an Ethanol, Glycerin, Säuren, Zucker und Aromastoffen ausschlaggebend.

Unter den Phenolen kann man die Nicht-Flavonoide und die Flavonoide unterscheiden. Beide Gruppen sind im Wein enthalten und werden während der Herstellung durch Pressen und Fermentieren aus der Fruchthaut und den Samen extrahiert (Würdig & Woller, 1989).

Gesundheitliche Wirkungen von Wein

Der gesundheitliche Nutzen von moderatem Weinkonsum ist gut untersucht und wird mit erhöhter Lebensdauer und verringertem Risiko für Herz- und Kreislauferkrankungen assoziiert (Pinder & Sander, 2004; Saremi & Arora, 2008; Ullah & Khan, 2008). Die protektiven Effekte werden vor allem den Polyphenolen zugeschrieben, die freie Radikale fixieren und mit Enzymen wechselwirken (Rodrigo & Bosco 2006; Singh et al., 2008).

In den letzten drei Jahrzehnten wurden mehrere Studien zum Antikaries-Effekt von Phenolen publiziert (Daglia et al.,

2002; Duarte et al., 2006). Der Krankheitsverlauf wird von der Nahrungszusammensetzung, den karieserregenden Bakterien (v.a. *Streptococcus mutans*) und der Zahnoberfläche beeinflusst. Die Vorstufe von Karies ist Plaque (Zahnbelag). Plaque ist ein Biofilm, der aus tausenden Bakterien besteht (Loesche, 1986). Die Biofilmbildung wird durch den Zuckergehalt der Nahrung, durch hydrophobe, elektrostatische Interaktionen oder spezifische Ligand-Rezeptor Wechselwirkungen bestimmt. Zur Demineralisation des Zahns kommt es durch die Säureproduktion von *Streptococcus mutans*. *S. mutans* selbst ist auf Grund eines pH-regulierenden Enzyms, der F-ATPase, gegen den Säuregehalt seiner Umgebung geschützt (Marsh & Martin, 1999; Socransky et al., 1998). Erst kürzlich wurde entdeckt, dass Rotweininhaltsstoffe schon in geringen Konzentrationen die Säuretoleranz von *S. mutans* herabsetzen und auf diesem Weg die Biofilmbildung hemmen (Thimothe et al., 2007). Weiters wurde gezeigt, dass zum größten Teil Anthocyanidine, die zur Großgruppe der Polyphenole gehören, in Anti-Biofilm, Anti-Adhesion und antibakterieller Wirkung von Wein involviert sind (Daglia et al., 2009). Wein wirkt also auf mehreren Ebenen gegen Plaque und in weiterer Folge auch gegen Karies. Polyphenole aus Nahrungsmitteln können das Wachstum und die Zusammensetzung der Darmbakterien erheblich beeinflussen. Die wichtigsten phenolischen Bestandteile in Rotwein sind Flavonole, Flavan-3-ole, Anthocyanine, Hydrobenzoesäure, Stilbene und phenolische Alkohole, die Veränderungen in der Mund- und Darmflora bewirken. Obwohl die Mundflora und die Darmflora dieselben Mikroorganismen aufweisen, unterscheiden sich Mund und Darm in der Verteilung der beteiligten Bakterien (Requena et al., 2010).

Auswirkung des Weines auf die Darmflora

Eine der wichtigsten Aufgaben der Darmflora ist die Aufspaltung von Kohlenhydraten und Eiweißen in kleinere Moleküle, die durch die Darmwand ins Blut aufgenommen werden können sowie als Nährstoffe für andere Mikroorganismen dienen. Weiters schützt eine intakte Darmflora vor Beschwerden im Magen-Darm Trakt, vor Entzündungen und zu einem noch nicht geklärten Anteil vor Krebs und Adipositas (Caroll et al., 2009).

Die ersten Bakterien, die sich nach der Geburt im Darm ansiedeln sind Bifidobakterien und Laktobazillen (Ventura et al., 2009). Wie schon zuvor erwähnt, helfen die Bakterien im Darm Nährstoffe aufzuspalten, die durch eigene Enzyme nicht spaltbar sind. Damit übernehmen sie durch Stoffwechselfähigkeiten wie Gärung, Methanogenese, Gluconeogenese und Biosynthese von essentiellen Aminosäuren, Vitaminen und Isoprenoiden wichtige Stoffwechselfunktionen (Walter et al., 2006).

Siedeln sich schädliche Bakterien im Darm an, nennt man sie Humanpathogene. Sie produzieren Toxine und krebserregende Substanzen. Eine Infektion mit Humanpathogenen führt zu einer Erkrankung, die in dem meisten Fällen mit hohem Fieber, Durchfall und Erbrechen einhergeht (Guarner & Malagelada 2003). Ein weiterer interessanter Aspekt ist die Vermutung, dass bakterielles Ungleichgewicht im Darmtrakt mit chronischen Erkrankungen wie z.B.: chronischer Darmentzündung in Verbindung gebracht werden (Salzmann & Bevins, 2008; Sanz et al., 2007). Zusammenfassend kann man sagen, dass sowohl der Mund als auch der Darm ein komplexes, dynamisches, mikrobielles System von hoher Biodiversität sind. Für eine gesunde, vollständige Verdauung sind Bakterien unerlässlich.

Der Großteil der Weinphenole wird im Dickdarm umgesetzt, wobei die Bioverfügbarkeit von mitverdauten Bestandteilen abhängt. Einige Polyphenole und ihre Abbauprodukte inhibieren oder fördern selektiv Darmbakterien. Das heißt, über längere Zeit verändern sich durch die antimikrobielle Wirkung die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Darmflora (Furiga et al., 2009). Nach weiteren *In-vitro*-Versuchen konnte außerdem gezeigt werden, dass einige Polyphenole auf pathogene Bakterien im Darm hemmend wirken, aber gleichzeitig keinerlei negative Effekte oder sogar leichtes Wachstum bei probiotischen Bakterien verursachen (Lee et al., 2006; Tzounis et al., 2008). Daraus kann man schließen, dass einige Phenole auf unterschiedliche Bakterien völlig unterschiedliche Auswirkungen haben.

Trotz dieser Ergebnisse existieren nur wenige Studien die sich mit der Auswirkung von Wein auf die Darmflora beschäftigen. Um noch bessere, gezielte Aussagen zu treffen sind weitere Untersuchungen vor allem *in vivo* nötig.

Antimikrobielle Wirkung von Wein

Die antimikrobielle Wirkung von Wein ist gut dokumentiert. Über die dafür verantwortlichen Stoffe im Wein gibt es kontroverse Meinungen. Die einen meinen, dass Phenole im Wein für die hemmende Wirkung verantwortlich sind, die anderen betonen, dass nicht-phenolische Inhaltsstoffe diese Wirkung zeigen.

In der Studie von Waite und Daeschel (2007) wurden 4 Weinparameter auf antimikrobielle Aktivität untersucht. In Versuchen stellte sich beim Vergleich von pH, Säuregehalt, Schwefeldioxid und Ethanol heraus, dass der pH der wichtigste Faktor für die Inhibierung von Bakterien ist.

Die Publikation von Daglia et al. (2007) kommt zu dem Ergeb-

nis, dass in erster Linie organische Säuren im Wein hemmend wirken. Im Vergleich dazu betont Carneiro et al. (2008), dass organische Säuren nur in Kombination mit Ethanol synergistisch agieren und eine Inaktivierung bewirken.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen gibt es eine Reihe weiterer Studien, die die Wichtigkeit des synergistischen Wirkens von pH, organischen Säuren und Ethanol untermauern (Marimon et al., 1998; Moretto & Daeschel, 2004). Eine besondere Rolle wird in vielen Fällen den Phenolen zugeschrieben (Radovanovic et al., 2009; Vaquero et al., 2007; Papadopoulou et al., 2005; Herald & Davidson, 1983; Wen et al., 2003). Des Weiteren gibt es Publikationen, in welchen Resvatol als das wichtigste Phenol zur bakteriellen Hemmung bezeichnet wird (Daroch et al., 2001; Chan, 2002). Boban et al., (2010) wiederum zeigt, dass Resvatolwerte nicht mit der beobachteten mikrobiellen Hemmung einhergehen. Diese Studie betont:

Die antimikrobielle Wirkung von Wein kann nicht auf einen Einzelbestandteil zurückgeführt werden

In Boban et al. (2010) wird die antibakterielle Wirkung der Inhaltsstoffe wie folgt beschrieben:

intakter Wein > phenolreduzierter Wein > dealkoholisierter Wein > Kombination von Ethanol und niedrigem pH Wert > niedriger pH > Ethanol.

Separate Anwendung von Ethanol und niedrigem pH führt zu einem vernachlässigbaren antimikrobiellen Effekt, obwohl diese beiden Faktoren in Kombination synergistisch wirken. Die antimikrobielle Aktivität kann nicht auf einen Faktor zurückgeführt werden, vielmehr ist die Kombination aus niedrigem pH, Ethanol, Phenolen und weiteren Inhaltsstoffen am wirksamsten.

Die pH-Werte von Weinen liegen im sauren Bereich zwischen etwa 2,5 und 3,5 (Vogt, 1953). Die wichtigsten Säuren im Wein

sind Weinsäure, Apfelsäure, Milchsäure, Zitronensäure sowie Bernsteinsäure, Galakturonsäure, Phosphorsäuren und Ascorbinsäure (= Vitamin C) (Eder, 2004).

Der pH-Wert wird in der Wirkung auf Humanpathogene, wie schon zuvor erwähnt, sehr gegensätzlich bewertet. Tatsächlich scheint es, als würde der pH allein keine allzu großen Auswirkungen haben. Werden Bakterien nur mit diesem Faktor konfrontiert, kommen sie relativ gut damit zurecht (Boban et al., 2010).

Weine haben einen Alkoholgehalt zwischen 10 und 15 Prozent. Alkohol wirkt als Zellgift, weil es deren Membranen schädigt und die Permeabilität erhöht (Waite & Daeschel, 2007). Dadurch kann der Ionenkonzentrationsgradient zwischen dem Zellplasma und der Umgebung nicht aufrecht gehalten werden und es kommt zu Enzymdenaturierungen. Eine Kombination aus niedrigem pH und Ethanol wirkt stark schädigend auf Bakterien, die separate Anwendung hingegen kaum (Boban et al., 2010).

Bedeutung der Phenole

Phenole sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und erfüllen im Pflanzenstoffwechsel verschiedene Aufgaben. Ein Phenolmolekül besteht aus einem aromatischen Ring, an den zumindest eine Hydroxygruppe gebunden ist. Polyphenole bestehen aus zumindest 2 phenolischen Hydroxygruppen. Polymere Phenole (= Tannine) bestehen aus kondensierten Phenolen (Eder, 2004).

Es führen verschiedene Stoffwechselwege zu Phenolen, wie der Shikimatweg, der Acetat-Malonat-Weg und der Terpenoidsyntheseweg. Phenole sind Elektronenüberträger bei der Photosynthese und der Atmungskette, sie kommen auch in Blüten und Früchten vor und wirken als UV- und Fraßschutz.

Des Weiteren haben sie antibakterielle und allelopathische Eigenschaften (Bresinsky et al., 2008). Die Wirkung als Fraßschutz liegt darin begründet, dass Phenole mit Enzymen wechselwirken und diese inaktivieren (Requena et al., 2010). Tannine binden und inaktivieren auch Verdauungsenzyme von Herbivoren mit dem Ziel, die Pflanze als Futter schwer verdaulich und unattraktiv zu machen. Herbivoren wiederum haben sich im Laufe der Evolution an die Tannine angepasst, indem sie prolinreiche Enzyme mit dem Speichel in die Mundhöhle abgeben. Das Prolin bindet Tannin durch Wasserstoffbrückenbindung sehr stark. Damit wird eine große Menge an Tannin inaktiviert und die restlichen Verdauungsenzyme können ungestört arbeiten. Diese tannininduzierte Aggregation von Speichelproteinen führt zu physikalischen Veränderungen des Speichels. Die Viskosität des Speichels wird verringert, das heißt er wird zäher. Es wird vermutet, dass die Tannin-Enzym-Interaktion für die Wahrnehmung von Trockenheit im Mund verantwortlich ist. Tannin-Enzym-Interaktionen sind also wichtig für sensorische Eigenschaften, Tannin-Tannin-Interaktionen sind wichtig für die Klarheit von Wein (Zanchi et al., 2008).

Phenole werden in Nicht-Flavonoide (phenolische Alkohole, Zimtsäure, Hydrobenzoesäure und Stilbene etc.) und Flavonoide (Anthocyane, Flavonole, Flavan-3-ole sowie ihre oligomeren und polymeren Formen wie z.B.: Tannine und Proanthocyanidine) eingeteilt. Der Phenolgehalt variiert auf Grund der Weinsorte und der Verarbeitungsmethoden. Der mittlere Gehalt für Weißweine beträgt 10,38mg/100mL, für Rotweine beträgt er 107,44 mg/100mL (Neveu et al., 2010).

Phenole reagieren hochsensitiv auf Veränderungen ihrer chemisch-physikalischen Umgebung. Die Löslichkeit und die Interaktion mit Proteinen wird beeinflusst (Zanchi et al., 2007

Neue Wege zur Untersuchung der Weinqualität

Die Untersuchungen bestätigen eindrücklich die selektive antibakterielle Wirkung von Wein, wobei entgegen der öffentlichen Meinung Weißwein offenbar eine leicht bessere Wirkung als Rotwein aufweist. Auf Basis dieser Resultate kündigen sich spannende Folgeuntersuchungen an:

- > Wie unterscheiden sich verschiedene Weine hinsichtlich ihrer antibakterielle Wirkung?
- > Welchen Einfluss haben oenologische Eingriffe auf die antibakterielle Wirkung von Wein (z.B. Sulfitgehalt, Filtrierung, Maischestandzeit, Ausbau)?
- > Wie ist die Wirkung des Weines auf das allgemeine bakterielle Milieu im Darm zu beurteilen (Vergleich von regelmäßigen Weintrinkern mit z.B. regelmäßigen Biertrinkern, gelegentlichen Weintrinkern und abstinente Personengruppen)?
- > Können durch bestimmte Methoden im Weinberg Gehalt und Quantität von Weinhaltstoffen so beeinflusst werden, dass die Wirkung des Weines auf das bakterielle Darmmilieu positiv beeinflusst wird?

& 2008). Die antioxidative Wirkung hängt von der Polarität des Solvens ab. In unpolare Lösung wie Ethanol oder Methanol ist die antioxidative Wirkung hoch, in polare Lösung wie Wasser ist die antioxidative Wirkung klein (Pinelo et al., 2004). Das ist wiederum ein Hinweis auf die synergistischen, antimikrobiellen Fähigkeiten der im Wein enthaltenen Stoffe. Die phenolischen Bestandteile verstärken durch Ethanol und niedrigen pH-Wert ihre antimikrobielle Wirkung (Wen et al., 2003).

Die genauen molekularen Wirkungsweisen der Phenole auf Mikroorganismen sind noch nicht geklärt. Cushnie & Lamb (2005) vermuten, dass Phenole die Cytoplasmamembran porös machen, den Energiemetabolismus stören und die DNA-Gyrase hemmen. Im Falle der DNA-Gyrasehemmung wird die Replikation der DNA während der Zellteilung gestört. Die Aufgabe der Gyrase, die zur Klasse der Topoisomerasen gehört, wäre die Entwindung eines DNA-Stranges während der Replikation. Durch die Hemmung findet die Entwindung nicht statt und es kommt zum Supercoiling der DNA, was eine basale Störung des Metabolismus bedeutet.

Beim Erhitzen von Wein auf 125 °C kommt es zu signifikanten, hitzeinduzierten, chemisch-physikalischen Veränderungen. Trotz diesen Veränderungen behält der Wein seine antibakterielle Wirkung bei z.B.: bei der Zubereitung von Speisen (Boban et al., 2010).

Untersuchung der antibakteriellen Wirkung von Wein an vier verschiedene Bakterienarten

An der Österreichischen Bundesanstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg wurde die Wirkung von Ethanol, Tannin, Rotwein und Weißwein auf die folgenden vier Bakterienstämme untersucht: *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* und *Enterococcus faecalis*. Während es sich bei den ersten drei Bakterienarten um gefährliche Pathogene handelt, ist letzteres ein natürliches Darmbakterium. Eine antibakterielle Wirkung des Weines auf die ersten drei Arten wäre also erwünscht, auf letzteres eher unerwünscht.

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass Weißwein dicht gefolgt von Rotwein die höchste antibakterielle Wirkung auf die drei untersuchten pathogenen Bakterienstämme aufweist. Nach einem Wirkungszeitraum von 10 bis 30

Minuten konnten sowohl bei Behandlung mit Weiß- als auch mit Rotwein praktisch keine vitalen Keime der drei pathogenen Stämme mehr nachgewiesen werden. Die Behandlung mit Tannin zeigte auf *Escherichia coli* und *Salmonella choleraesuis* nur sehr geringe Wirkung, auf *Staphylococcus aureus* eine im Vergleich zu den Weinen stark verzögerte Wirkung. Die Behandlung mit Ethanol zeigte eine geringe Anfangswirkung auf die pathogenen Keime, nach 30 Minuten vermehrten sich jedoch die pathogenen Bakterien bereits wieder.

Auf das natürliche Darmbakterium *Enterococcus faecalis* hatten weder Weiß- noch Rotwein eine nachweisliche Wirkung.

Material und Methode

Für die Untersuchung der antibakteriellen Wirkung von Wein wurden vier verschiedene Bakterienarten herangezogen: *Escherichia coli* ATCC25922, *Enterococcus faecalis* ATCC51299, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 und *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Die verwendeten Stämme wurden von der Firma ATCC erworben.

Es wurde für das Bakterium *E.coli* das Harlequin Coliformen Medium von der Firma verwendet, für *E.faecalis* und *S.colerae* wurde das Caso Agar der Firma Roth und für *S.aureus* das Plate Count Agar von der Firma Roth verwendet.

Die Arbeitskonzentration der Bakterien wurde auf 0,1 eingestellt. Die Trübungsmessung erfolgte mit dem Densi Check plus der Firma Biomérieux. Damit konnte ungefähr abgeschätzt werden, wie viele Bakterien sich in einer Lösung befanden und eine Annäherung der gleichen Konzentrationen erzielt werden.

Die verwendeten Methoden

Das Auszählverfahren

Beim Auszählverfahren wurde eine bestimmte Menge mit definierter Konzentration an Bakterien (100µL mit 0,1 Trübe) in eine bestimmte Menge Medium (5mL Rotwein, Weißwein, 10% Alkohol und Tannine) pipettiert. Die Konzentration der Tanninlösung betrug 7mg/100mL. Nach 10, 30 und 60 Minuten wurden die Röhrchen zentrifugiert (4,4 rpm, 5 Minuten, 20°C). Der Überstand wurde verworfen, mit NaCl-Lösung wird auf das ursprüngliche Volumen (5mL) verdünnt und die Röhrchen werden gut geschüttelt.

Der Vorgang des Zentrifugierens wird 3mal wiederholt. Die verwendete Zentrifuge war «Centrifuge 5702R» von Eppendorf. Somit werden die Bakterien «gewaschen» und es wird kein störendes Medium auf die Platte übertragen. Schließlich werden 100 µL der fertig gewaschenen Bakterien auf die Platten pipettiert und mit einem Spatel gründlich verteilt. Dieser Vorgang wird für jedes Bakterium durchgeführt. Die Ansätze der Rotwein-, Weißwein-, Alkohol- und Tanninproben werden für jede Zeiteinheit 12mal wiederholt. Das Auszählen der Kolonien erfolgt am nächsten Tag.

Für die Kontrolle wurde NaCl 0,9% als Medium verwendet, der Versuchsablauf ist identisch. Durch die Kontrolle erhält man Vergleichswerte (Ausgangswerte) für die Hemmung durch Rotwein, Weißwein, 10% Ethanol und Tannin.

Die Hemmhofmethode

Bei der Hemmhofmethode werden 100 µL mit 0,3 Trübe auf den Nährboden aufgebracht und mit einem Spatel gleichmäßig verstrichen. Danach werden mit einer Pinzette jeweils 2 Testblättchen (Durchmesser 12,5mm) auf die beimpften Platten gelegt. Anschließend werden 250 µL Rotwein, Weißwein,

Alkohol oder Tannin auf die Testblättchen pipettiert. Für jede Probe gibt es 12 Wiederholungen, die Auswertungen erfolgen am nächsten Tag. Der Hemmhof wurde in mm gemessen. *Die Hemmstoffe:* Die verwendeten Flüssigkeiten, die auf antibakterielle Wirkung untersucht wurden, waren Rotwein, Weißwein, Ethanol und Tannin.

- Rotwein: Pinot Noir, Wien, 12,9 Vol% Alkohol, 1,2g Restzucker, 4,3 g/L Säure;
- Weißwein: Grüner Veltliner, 11,5%vol, trocken;
- Ethanol: 10%ige Ethanollösung wurde aus 96%igem Ethanol hergestellt.
- Tannin: 7 mg Tannin Grape wurden eingewogen und in 100mL A. dest gelöst.

Die statistische Auswertung: Als statistische Auswertungsmethode wurde nur der Mittelwert aus den jeweils 12 Wiederholungen gebildet. Die Daten wurden mit Microsoft Excel grafisch dargestellt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse des Auszählverfahrens

E. coli: Die Gattung *Escherichia* gehört wie die Gattung *Salmonella* zur Familie der Enterobacteriaceae. Sie sind den gramnegativen anaeroben Stäbchenbakterien zugeordnet. Innerhalb der Gattung *Escherichia* ist nur *Escherichia coli* (kurz: *E. coli*) von nennenswerter medizinischer Bedeutung. Das Bakterium wurde 1885 von Theodor Escherich im Stuhl von Säuglingen entdeckt. Von *E. coli* existieren eine Vielzahl von Stämmen, die einerseits völlig harmlos (Anteil der Darmbakterien etwa 1%), andererseits auch bedeutende Krankheitserreger von Mensch und Tier sein können. Die Virulenz ist also sehr unterschiedlich. Das Genom des nicht virulenten Stammes K12 ist bereits entschlüsselt und enthält 4289 Gene. *E. coli* hat ein Wach-

tumsoptimum bei etwa 30 °C und kann auf verschiedenen Nährböden kultiviert werden (Mayr, 2002).

In Abb. 1 wurden die Ergebnisse von den verschiedenen Einwirkzeiten von dem Bakterium *E. coli* dargestellt. Mit der grünen Linie in der Abb. 1 wurde der Einfluss von Tannin dargestellt. Es zeigte sich, dass die hemmende Wirkung von Tannin vorhanden ist, jedoch nur sehr gering. Bei der Wirkung von Alkohol ist zu beobachten, dass nach 30 Min. die beste Wirkung erzielt wurde, aber nach 60 Min. die Keime wieder an Zahl zunahmten. Die beste keimtötende Wirkung bei *E.coli* konnte durch Einsatz von Weißwein erreicht werden. Nach 10 Min. waren fast keine Keime mehr vital. Die keimtötende Wirkung von Rotwein war bei *E. coli* erst nach 30 Min. vollständig erreicht.

Es zeigte sich in diesem Versuch, dass eine Einwirkzeit von 30 Minuten eines Weines das Abtöten von *E. coli* auf jeden Fall gewährleistet und dass der Einsatz von Wein in früheren Zeitaltern auf jeden Fall sinnvoll und berechtigt war. Die Gefahr an einer Infektion an *E. coli* ist in jedem Fall nach 30 Min. überwunden.

Enterococcus faecalis: Die Gattung *Enterococcus* gehört zu den grampositiven Milchsäurebakterien. Die Beteiligung von *Enterococcus faecalis* an Darminfektionen und Urogenitalinfektionen ist schwer zu beurteilen, weil *E. faecalis* Teil der Normalflora im Darm ist. *E. faecalis* wurde bei 28 °C bebrütet (Mayr, 2002).

Salmonella cholerae: Die Art *Salmonella cholerae* gehört zu den gramnegativen, fakultativ anaeroben Stäbchenbakterien und wird der gleichen Gruppe wie *E. coli* zugeordnet. Salmonellen gehören weltweit zu den wichtigsten bakteriellen Infektionserregern bei Menschen und Tieren. Diese Stäbchenbakterien treten in einer großen Anzahl von Stämmen mit unterschied-

licher Wirtsanpassung und Virulenz auf. Die meisten Salmonellen sind beweglich und können wochen- und monatelang in kontaminierter Umwelt überleben. Sie stellen keine besonderen Ansprüche an das Kultivierungsmedium. Salmonellen wachsen bei etwa 30 °C optimal.

Die Art *S. cholerae* nützt in den meisten Fällen Schweine als Wirt, in Einzelfällen kommt es zur Infektion von Menschen mit schweren, lethalen Krankheitsverläufen (Mayr, 2002).

Staphylococcus aureus: Die Gattung *Staphylococcus* umfasst grampositive, fakultative Anaerobier. Die Zellen sind kugelförmig und wachsen oft in Haufen angeordnet. Sie sind Schleimhaut- und Hautparasiten und als Eitererreger und Lebensmittelvergifter bedeutsam.

S. aureus ist auf eine Vielzahl von tierischen Wirten spezialisiert (Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Pferd, Feldhase, Huhn/Pute) und lokale und systemische Eiterungsprozesse sowie Abszesse aus.

Beim Menschen gehört *S. aureus* zu wichtigen Erregern von Intoxikationen und invasiven Erkrankungen. Toxinbedingte Krankheiten sind das Toxische Shock Syndrom, Scalded Skin Syndrome und Lebensmittelintoxikationen durch Enterotoxine. Lebensmittelintoxikationen werden durch Staphylococcusarten gebildet, die im Fleisch von geschlachteten Tieren vorkommen. Staphylokokkenenterotoxine sind hitzestabil und werden durch das Garen von Speisen nicht immer sicher inaktiviert. Die Inkubationszeit ist mit 2–4 Stunden sehr kurz. Danach setzen Übelkeit, Erbrechen, Fieber und starke Durchfälle ein. Nach 1 bis 2 Tagen klingen die Krankheitsbilder wieder ab (Mayr, 2002).

Zeit in Minuten	Tannin ($\cdot 10^3$)	Ethanol (10%) ($\cdot 10^3$)	Rotwein ($\cdot 10^3$)	Weisswein ($\cdot 10^3$)
10	1,732	1,041	0,2390	0,0048
30	1.583	0.215	0.0007	0.0004
60	1.325	0.57	0.0004	0.0001

Tabelle 1:

Zeigt den Gesamtvergleich von *E. coli* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit auf Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

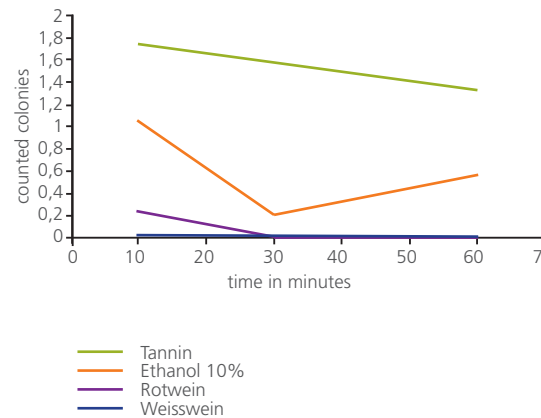


Abb. 1:

Zeigt den Gesamtvergleich von *E. coli* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

Zeit in Minuten	Tannin	Ethanol	Rotwein	Weisswein
10	3500	3500	3500	3500
30	3500	3500	3500	3500
60	1124	3500	3500	3500

Tabelle 2:

Zeigt den Gesamtvergleich von *E. faecalis* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit auf Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein. Der Wert «3500» ist ein Schätzwert und beschreibt dicht gewachsene Kolonien, die nicht mehr händisch ausgezählt wurden.

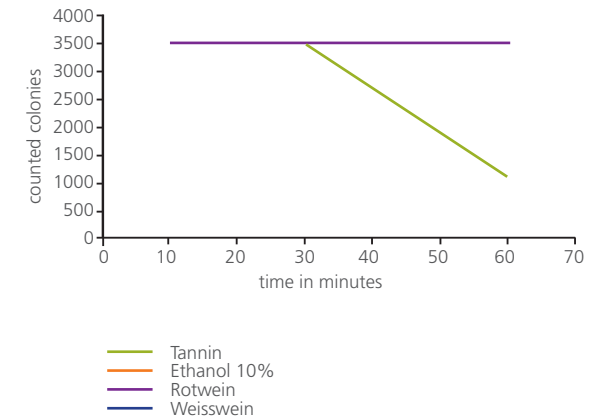


Abb. 2:

Zeigt den Gesamtvergleich von *E. faecalis* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

Zeit in Minuten	Tannin ($\cdot 10^3$)	Ethanol (10%) ($\cdot 10^3$)	Rotwein ($\cdot 10^3$)	Weisswein ($\cdot 10^3$)
10	0.636	0.700	0.0002	0.00025
30	0.463	0.619	0.0002	0.00025
60	0.822	0.840	0.0001	0

Tabelle 3:

Zeigt den Gesamtvergleich von *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit auf Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

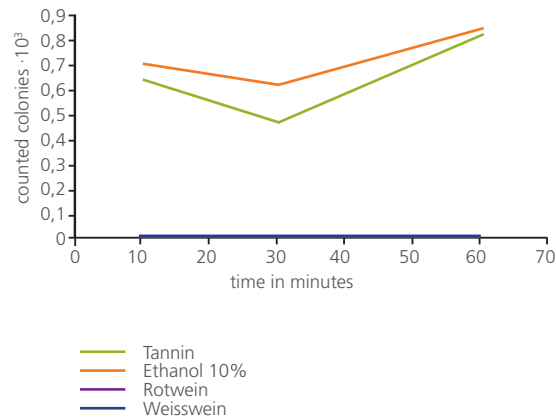


Abb. 3:

Zeigt den Gesamtvergleich von *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

Zeit in Minuten	Tannin ($\cdot 10^3$)	Ethanol (10%) ($\cdot 10^3$)	Rotwein ($\cdot 10^3$)	Weisswein ($\cdot 10^3$)
10	0.278	1.220	0.6940	0.0009
30	0.449	0.005	0.0170	0
60	0	0.170	0.0003	0

Tabelle 4:

Zeigt den Gesamtvergleich von *S. aureus* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit auf Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

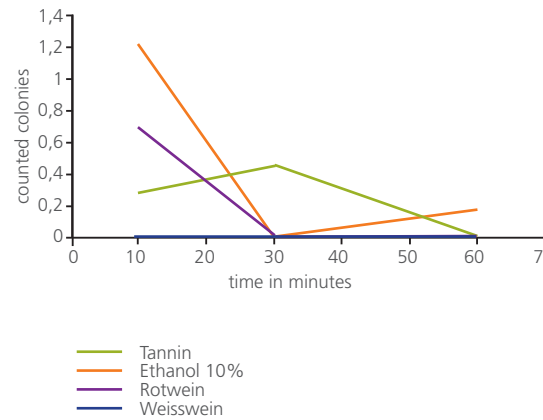


Abb. 4:

Zeigt den Gesamtvergleich von *S. aureus* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Tannin, Ethanol (10%), Rotwein und Weisswein.

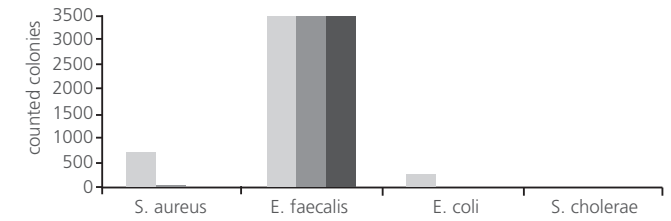


Abb. 5:

Zeigt die gezählten Kolonien von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Rotwein. Der Wert «3500» ist ein Schätzwert und beschreibt dicht gewachsene Kolonien, die nicht mehr händisch ausgezählt wurden.

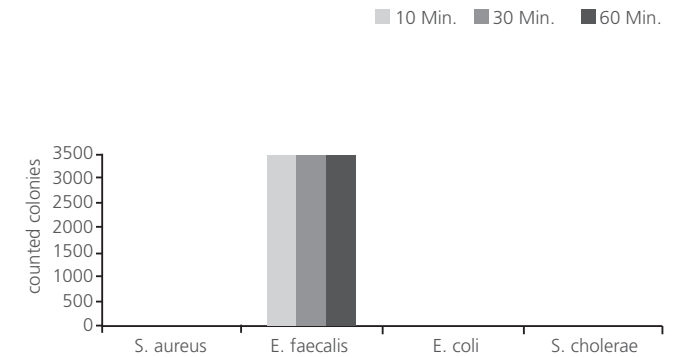


Abb. 6:

Zeigt die gezählten Kolonien von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Weisswein. Der Wert «3500» ist ein Schätzwert und beschreibt dicht gewachsene Kolonien, die nicht mehr händisch ausgezählt wurden.

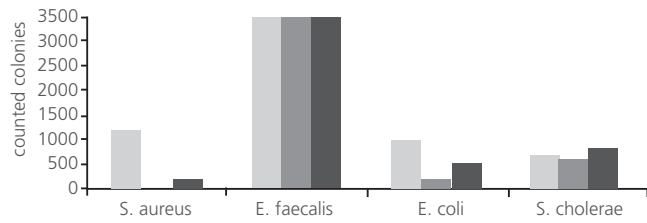


Abb. 7: Zeigt die gezählten Kolonien von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Ethanol (10%). Der Wert «3500» ist ein Schätzwert und beschreibt dicht gewachsene Kolonien, die nicht mehr händisch ausgezählt wurden.

■ 10 Min. ■ 30 Min. ■ 60 Min.

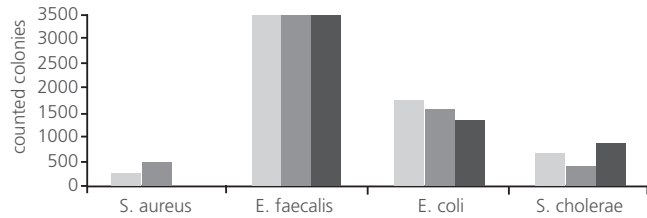


Abb. 8: Zeigt die gezählten Kolonien von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* nach 10, 30 und 60 Minuten Einwirkzeit in Tannin. Der Wert «3500» ist ein Schätzwert und beschreibt dicht gewachsene Kolonien, die nicht mehr händisch ausgezählt wurden.

Die Ergebnisse der Hemmhofmethode

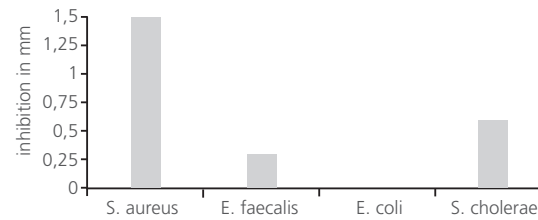


Abb.9: Die Grafik zeigt die Hemmung von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* in mm durch Rotwein.

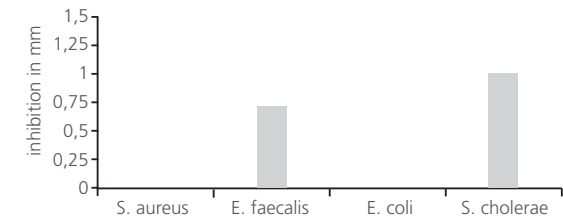


Abb.11: Die Grafik zeigt die Hemmung von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* in mm durch Aethanol (10%).

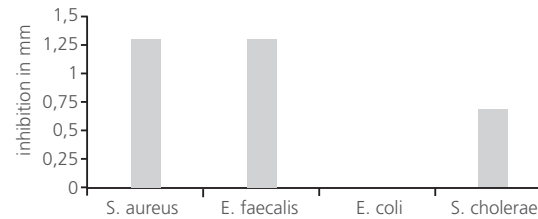


Abb. 10: Die Grafik zeigt die Hemmung von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* in mm durch Weisswein.

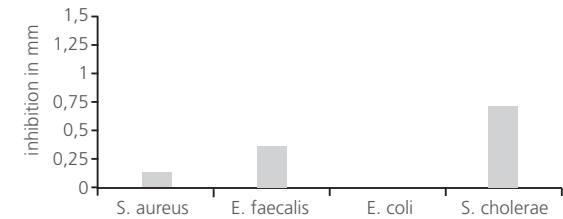


Abb. 12: Die Grafik zeigt die Hemmung von *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* und *S. cholerae* in mm durch Tannin.

Zusammenfassung

Die Untersuchungen erfüllen unsere Erwartungen und spiegeln die Aussagen der Literatur wieder.

Beim Auszählverfahren sowie bei der Hemmhofmethode stellt sich heraus, dass Weißwein dicht gefolgt von Rotwein die größte Hemmung hervorruft. Bei den Ergebnissen des Auszählverfahrens fällt auf, dass nach der Behandlung mit Weißwein die gezählten Kolonien bereits nach 10 Minuten gegen Null gehen. Bei Rotwein tritt dieser Zeitpunkt nach 30 Minuten ein.

Es zeigt sich außerdem, dass *Enterococcus faecalis* nur bei Tannin nach 60 Minuten Einwirkzeit eine leichte Hemmung auftritt. *E. faecalis* zeigt sich nach der Direktbehandlung mit Rotwein, Weißwein und Alkohol durch das Auszählverfahren im Wachstumsverhalten völlig unverändert. *E. faecalis* dürfte wie erwartet als natürliches Darmbakterium mit den zuvor genannten Lösungen gut zu Recht kommen.

Beim Auszählverfahren ergibt sich bei Tannin eine leichte Hemmungserscheinung. Die Ausnahme ist in diesem Fall *Salmonella cholerae*. Dieses Bakterium zeigt nach Tanninbehandlung leichte Anpassungserscheinungen, weil nach 60 Minuten wieder mehr Kolonien ausgezählt wurden. Ein ähnliches Bild ergibt die Auswertung der Alkoholbehandlung. Im Fall von *E. coli* und *S. cholerae* kommt es nach Alkoholbehandlung nach 60 Minuten zu Regeneration. Nur *Staphylococcus aureus* zeigt sich nach Alkoholbehandlung eine starke Wachstums- hemmung.

Bei der Hemmhofmethode ergibt sich durch Tannin eine leichte Hemmung bei *S. aureus*, *E. faecalis* und *S. cholerae*. Durch Alkohol werden nur *E. faecalis* und *S. cholerae* gehemmt. *E. coli* wird bei der Hemmhofmethode von keiner Flüssigkeit gehemmt.

Es überrascht, dass die Ergebnisse des Auszählverfahrens mit den Ergebnissen der Hemmhofmethode nicht zwingend übereinstimmen. Es macht für die Bakterien also einen Unterschied ob man sie, wie beim Auszählverfahren, für eine gewisse Zeit in einer Lösung «badet» und anschließend wäscht, oder ob man sie einmal mit einer geringen Menge einer Lösung konfrontiert.

Die Reaktionen von *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* und *S. cholerae* auf die verwendeten Lösungen waren sehr unterschiedlich. Ebenso unterscheiden sich die Ergebnisse der 2 Methoden im Bezug auf ein Bakterium. Es können also keine Pauschalbehauptungen aufgestellt werden, weil jedes Bakterium individuell auf verschiedene Lösungen reagiert.

Äußerst interessant sind die Regenerationserscheinungen verschiedener Bakterien nach Tannin und Alkoholbehandlung. Ähnlich den Hitzeschock-Proteinen (heat shock proteins) könnte es im Bezug auf die Wirkung von Tannin und Alkohol ähnliche Anpassungen geben. Alkohol wirkt auf Zellmembranen und macht sie porös. Vielleicht werden als Antwort auf den Alkoholstress spezielle ungesättigte Fettsäuren vermehrt synthetisiert, um die Elastizität der Membranen zu gewährleisten.

Literaturverzeichnis

- Althoff G. (2002). *Rituelle Verhaltensmuster an der Tafel. Vom frühmittelalterlichen Gelage zum höfischen Fest*. In: Hans Ottomeyer, Michaela Völkel (Hg.): *Die öffentliche Tafel. Tafelzeremoniell in Europa 1300–1900*. Edition Minerva Hermann Farnung.
- Barker K. (2006). *Das Cold Spring Harbor Laborhandbuch für Einsteiger*. Spektrum Akademischer Verlag, 427pp.
- Boban N., Tonkic M., Budimir D., Modun D., Sutlovic D., Punda-Polic V., Boban M. (2010). *Antimicrobial Effect of Wine: Separating the Role of Polyphenols, pH, Ethanol and other Wine Components*. Journal of Food Science, 75: 322–326.
- Bresinsky A., Körner C., Kadereit J.W., Neuhaus G., Sonnewald U. (2008). *Strasburger, Lehrbuch der Botanik*. Spektrum Akademischer Verlag, 1175pp.
- Carneiro A., Couto J.A., Mena C., Queiroz J., Hogg T. (2008). *Activity of Wine against Campylobacter jejuni*. Food Control, 19: 800-805.
- Caroll I.M., Threadgrill D.W., Threadgrill D.S. (2009). *The gastrointestinal microbiome: a malleable, third genome of mammals*. Mammalian Genome, 20: 395–403.
- Chan M.M. (2002). *Antimicrobial effect of reservalton on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin*. Biochem Pharmacol, 63:99–104.
- Cushnie T.P., Lamb A.J. (2005). *Antimicrobial activity of Flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agents, 26(5): 343–356.
- Daglia M., Papetti A., Grisoli P., Aceti C., Dacarro C., Gazzani G. (2007). *Antibacterial activity of red and white wine against oral streptococci*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 55: 5038-5042.
- Daglia M., Stauder M., Papetti A., Signoretto C., Giusto G., Canepari P., Pruzzo C., Gazzani G. (2010). *Isolation of red wine components with anti-adhesion and anti-biofilm activity against Streptococcus mutans*. Food Chemistry, 119: 1182–1188.
- Daglia M., Tarsi R., Papetti A., Grisoli P., Dacarro C., Pruzzo C. (2002). *Antiadhesive effect of green and roasted coffee on Streptococcus mutans adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 1225–1229.
- Daroch F., Hoeneisen M., Gonzales C.L., Kawaguchi F., Salgado F., Solar H., Garcia A. (2001). *In vitro antibacterial activity of Chilean red wines against Helicobacter pylori*. Microbios, 104:79–85.

- Duarte S., Gregiore S., Singh A., Vorsa N., Schaich K., Bowe W.H. (2006). *Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of Streptococcus mutans biofilm*. FEMS Microbiology Letters, 275: 50–56.
- Eder R. (2004). *Weinanalyse im eigenen Betrieb: Qualitätsparameter*. Österreichischer Agrarverlag, 76pp.
- Furiga A., Lonvaud A., Badet C. (2009). *In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract*. Food Chemistry, 113: 1037–1040.
- Guarner F., Malagelada J.R. (2003). *Gut flora in health and disease*. Lancet, 360: 512–519.
- Herald P.J., Davidson P.M. (1983). *Antibacterial activity of selected hydroxycinnamic acids*. Journal of Food Science, 48:1378-1379.
- Lee H.C., Jenner A.M., Low C.S., Lee Y.K. (2006). *Effects of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota*. Research in Microbiology, 157: 876–884.
- Loesche W.J. (1986). *Role of Streptococcus mutans in human dental decay*. Microbiological Reviews, 50: 353–380.
- Marimon J.M., Bujanda L., Gutierrez-Stampa M.A., Cosme A., Arenas J.I. (1998). *Antibacterial activity of wine against Salmonella enteritidis: pH or alcohol?* Clin. Gastroenterol, 27:179–180.
- Marsh P., Martin M. (1999). *Oral microbiology* (4th ed.). New York: Elsevier.
- Moretto T., Daeschel M.A. (2004). *Wine is bactericidal to foodborne pathogens*. Journal of Food Sciences, 69: 251–257.
- Neveu V., Perez-Jiménez J., Vos F., Crespy V., du Chaffaut L., Mennen L. (2010). *Phenol-explorer : an online comprehensive database on polyphenol contents in foods*. (www.phenol-exploerer.eu). Database, doi: 10.1093/database/bap024.
- Papadopoulou C., Soulti K., Roussis I.G. (2005). *Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans*. Food Technol. Biotech., 43:41–46.
- Pinder, R. M., Sander, M. (2004). *Alcohol, wine and mental health: Focus on dementia and stroke*. Journal of Psychopharmacology, 18: 449–456.
- Pinelo M., Manzocco L., Nunez M.J., Nicoli M.C. (2004). *Solvent effect on quercetin antioxidant capacity*. Food Chemistry, 88: 201–207.
- Radovanovic A., Radovanovic B., Jovancicevic B. (2009). *Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines*. Food Chemistry, 117: 326–331.
- Requena T., Monagas M., Pozo-Bayo M.A., Martin -Alvarez P.J., Bartolome B., del Campo R., Avila M., Martinez-Cuesta M.C., Pelaez C., Moreno-Arribas M.V. (2010). *Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. A review*. Trends in Food Science and Technology, 21: 332–344.
- Rodrigo R., Bosco C. (2006). *Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 142: 317-327.
- Rolle M., Mayr A. (2002). *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Enke Verlag. 627 pp.
- Sanz Y., Sánchez E., Marzotto M., Calabuig M., Torriani S., Dellaglio F. (2007). *Differences in faecal bacterial communities in celiac and healthy children as detected by PCR and denaturing gradient gel electrophoresis*. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 51: 562–568.
- Salzmann N.H., Bevins C.L. (2008). *Negative interactions with the microbiota: IBD*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 635: 67–78.
- Saremi, A., Arora, R. (2008). *The cardiovascular implication of alcohol and red wine*. American Journal of Therapeutics, 15: 265–277.
- Singh M., Arseneault M., Sanderson T. (2008). *Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: Bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 4855–4873.
- Socransky S. S., Haffajee A. D., Cugini M. A., Smith C., Kent R. L. Jr. (1998). *Microbial complexes in subgingival plaque*. Journal of Clinical Periodontology, 25,134–144.
- Thimothe J., Bonsi I.A., Padilla-Zakour I.P., Koo H. (2007). *Chemical characterisation of red wine grape (Vitis vinifera and Vitis interspecific hybrids) and pomace phenolic extracts and their biological activity against Streptococcus mutans*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 55: 10200–10207.
- Tzounis X., Vulevic J., Kuhnle G.C., George T., Leonczak J., Gibson G.R. (2008). *Flavonol monomer-induced changes to the human faecal microflora*. British Journal of Nutrition, 99: 782–792.
- Ullah, M. F., Khan, M. W. (2008). *Food as medicine: Potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 9: 187–195.
- Vaquero M.J.R., Alberto M.R., de Nadra M.C.M. (2007). *Antibacterial effects of phenolic compounds from different wines*. Food Control, 18: 93–101.
- Ventura M., O'Flaherty S., Claesson M.J., Turrone F., Klaenhammer T.R., van Sinderen D. (2009). *Genome-scale analyses of health-promoting bacteria: probiogenomics*. Nature Reviews Microbiology, 7: 61–71.
- Vogt E. (1953). *Weinchemie und Weinanalyse*. Ulmer Verlag, 399pp.
- Waite J.G., Daeschel M.A. (2007). *Contribution of wine components to inactivation of food-borne pathogens*. Journal of Food Sciences, 72:M286–291.
- Walter A., Cerdeno-Tarraga A., Bentley S. (2006). *Faecal matters*. Nature Reviews Microbiology, 4: 572–573.
- Wen A., Delaquis P., Stanich K., Toivonen P. (2003). *Antilisterial activity of selected phenolic acids*. Food Microbiology, 20:305–311.
- Wenz G. (2005). *Coena Domini. Sakramentales Essen und Trinken in christlicher Tradition*. In: Franz-Theo Gottwald, Lothar Kolmer (Hg.): Speiserituelle. Essen, Trinken, Sakralität. Hirzel Verlag.
- Würdig G., Woller R. (1989). *Chemie des Weines*. Handbuch zur Lebensmitteltechnologie. Ulmer Verlag, 926 pp.
- Zanchi D., Poulain C., Konatrev P., Tribet C., Svergun D.I. (2008). *Colloidal stability of tannins: astringency, wine tasting and beyond*. J Physics: Condens Matter 20: 494224.