

# Molekularbiologische Weinanalytik mittels real-time PCR – Hefen und Bakterien

Neu

- Vorbeschichtete PCR tubes
- Vereinfachte Lyse
- Reduzierte Pipettierschritte

## Bestimmung von Hefen von großem Interesse

Die Weinherstellung beginnt mit der Lese der Trauben, Herstellung von Traubensaft, gefolgt von Einmaischen, Gärung, Reifung, Klärung und Stabilisierung und endet mit der Abfüllung des Weins in Flaschen. In der modernen Weinproduktion werden standardisierte und wissenschaftliche Methoden eingesetzt. Anstelle von empirischen Prozessen, bei denen Wein unterschiedlicher Qualität erzeugt wird, kann eine konstant hohe Qualität in der Weinherstellung etabliert werden. Das Messen kritischer Parameter ermöglicht rechtzeitiges Eingreifen.

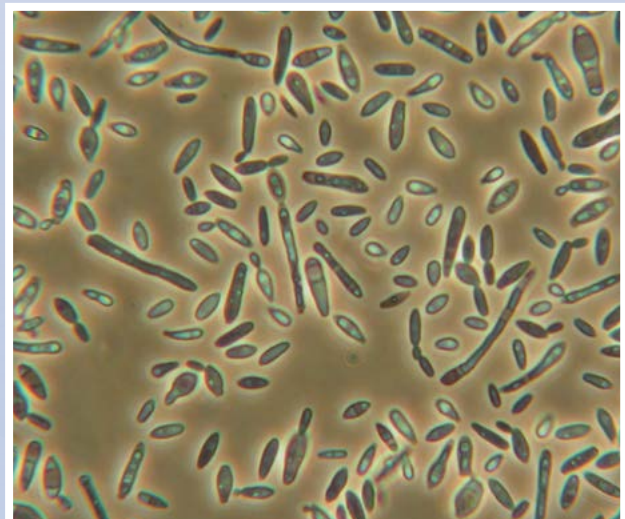
In der Regel erfolgt die kellertechnisch gesteuerte Gärung unter Zusatz von Reinzuchthefen aus dem *Saccharomyces* Stamm und gegebenenfalls der Verwendung von *Oenococcus oeni* zur Steuerung der optionalen malolaktischen zweiten Gärung. Eine Spontangärung mit in der Umwelt auftretenden Hefen lässt sich schlechter steuern, aber auch bei der gesteuerten Gärung können eingetragene wilde Hefen und spezialisierte Bakterien eine sensorische Veränderung und Beeinträchtigung des Weins bewirken.

Von zunehmendem, wenn auch regional unterschiedlichem Interesse, ist die Analytik der Hefe *Brettanomyces* (*Dekkera bruxellensis*). Diese, die phenolischen Abbauprodukte 4-EP (4-Ethylphenol) und 4-EG (4-Ethylgujanol) bildende Hefe, gilt als wichtigste Schadhefe in Wein. Hauptsächlich ist sie für einen Fehlton verantwortlich, der mit Begriffen Leder, Schweiss, Pferd umschrieben ist. In geringen Konzentrationen kann die Hefe gezielt eingesetzt werden und erwünscht sein, um eine kräftigere sensorische Wirkung zu erzielen.

Eine frühzeitige quantitative Bestimmung dieser Hefe ist von großem Interesse. Die klassische Mikrobiologie erfordert eine Inkubation von

ca. 10 Tagen und die Differenzierung von *Dekkera bruxellensis* erfordert Erfahrung, denn Missinterpretationen sind leicht möglich.

Mit Hilfe eines **DNA Standards (DBST 0100)** und daraus abgeleiteter Standardgerade, kann auf verschiedenen qPCR Cyclern eine einfache Quantifizierung im FAM Kanal mittels PCR auch bei dunklen Rotweinen durchgeführt werden. Im ROX oder HEX Kanal wird eine interne Amplifikationskontrolle für jede Probe durchgeführt.



Mikroskopisches Bild von *Dekkera bruxellensis* (LVWO Weinsberg)

## Erwünschte oder unerwünschte Bakterien

Die malolaktische Gärung (BSA) erfolgt durch Laktobazillen und das Bakterium *Oenococcus oeni* kann als hochspezialisiertes Bakterium in dieser Phase zugegeben werden, um eine Umwandlung

von Apfelsäure in mildere Milchsäure zu bewirken. Je nach gewünschtem Weintyp kann die Anwesenheit von *Oenococcus oeni* auch unerwünscht sein.

Während der Weinherstellung können Bakterien biogene Amine bilden, die im ausgebauten Wein störend wirken. Neben dem bekannten Histamin bewirken auch Putrescin und Cadaverin einen ähnlichen Effekt.

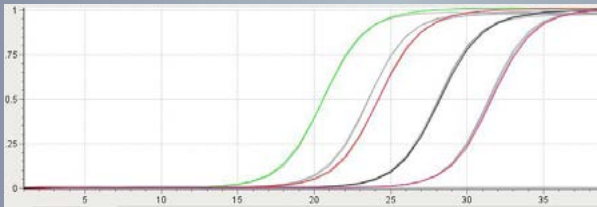
Biogene Amine können mit mehreren Methoden direkt nachgewiesen werden. Zur Vermeidung der Bildung biogener Amine in Wein eignet sich eine auf der OIV Methode OIV 449-2012 basierende real-time PCR. Diese erfasst frühzeitig das Risikopotential und ermöglicht rechtzeitiges Gegensteuern.

Zu den unerwünschten Bakterien gehören die Essigsäurebildner.

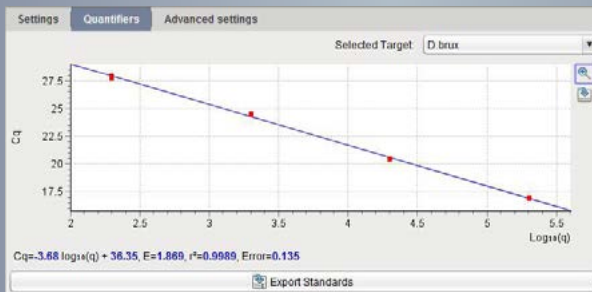
Ein **4x Multiplex Kit** (TPWS 0050) detektiert auf geeigneten Geräten in einer Messung

- *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Oenococcus oeni* (FAM)
- Essigsäure bildende Bakterien (ROX)
- Hefen (Cy5)
- interne Amplifikationskontrolle (JOE)

und ermöglicht damit einen schnellen Überblick über den mikrobiologischen Status.



**Abbildung 1:** zeigt einen typischen PCR Verlauf mit externen Standards. Die exponentiellen Kurven zeigen die Amplifizierung spezifischer DNA an. Proben ohne Befund zeigen eine flache Gerade. Der Lauf für *Dekkera bruxellensis* zeigt qualitativ, dass aufgrund der Kontrollen der Lauf gewertet werden kann.



**Abbildung 2:** Die Quantifizierung mit externer Standardkurve ist möglich. Die positive Weinprobe (Quadrat) wird automatisch berechnet.



GEN-IAL® First Yeast *Dekkera bruxellensis*  
Art.Nr. TPYDB 0050 FR



Simplex® Easy Wine Kit  
Art.Nr. SEW 0100

## GEN-IAL® Produkte

Produkt	Beschreibung	Packungsgröße	Art. Nr.
<b>GEN-IAL® DNA Präparation</b>			
Simplex® Easy Wine kit	DNA Präparation von Weinproben	100 Reaktionen	SEW0100
QuickGEN Sample preparation centrifugation	DNA-Präparation von Getränkeproben, Zentrifugation	100 Reaktionen	CSE 0100*
<b>GEN-IAL® Species Qualitative real-time PCR</b>			
QuickGEN* First-Oenococcus Oeni	Spezifischer DNA-Nachweis von <i>Oenococcus Oeni</i>	50 Reaktionen	QTPOE0050
First-Wine Screening Biogene Amine	Spezifischer DNA Nachweis biogener Amine bildender Bakterien	50 Reaktionen	BAM0050
QuickGEN* Acetic acid bacteria TaqMan™	Spezifischer DNA-Nachweis von Essigsäurebakterien	50 Reaktionen	QTPA 0050
Dekkera spp.	Spezifischer DNA-Nachweis von <i>Dekkera</i> spp.	50 Reaktionen	QTPYD0050
Dekkera bruxellensis TaqMan™ FH	Spezifischer DNA Nachweis von Hefen (FAM HEX)	50 Reaktionen	TPYDB0050FH
Dekkera bruxellensis TaqMan™ FR	Spezifischer DNA Nachweis von Hefen (FAM ROX)	50 Reaktionen	TPYDB0050FR
Dekkera bruxellensis TaqMan™ Spartan DX-12	Spezifischer DNA Nachweis von Hefen	50 Reaktionen	TPYDB0050SP
Dekkera bruxellensis TaqMan™	Spezifischer DNA-Nachweis von <i>Dekkera bruxellensis</i> high profile: ABI 7500, Agilent Mx3005P	48 Reaktionen	QTPYDB0048high
Dekkera bruxellensis TaqMan™	Spezifischer DNA-Nachweis von <i>Dekkera bruxellensis</i> low profile: Agilent Aria MX, Biorad CFX96, MyGo Pro	48 Reaktionen	QTPYDB0048low**
Dekkera bruxellensis Standard	DNA Standard für <i>Dekkera bruxellensis</i> Quantifizierung	200.000 KBE	DBST 0100
Zygosaccharomyces bailii	Spezifischer DNA Nachweis von <i>Zygosaccharomyces bailii</i> low profile: Agilent Aria MX, Biorad CFX96, MyGo Pro	48 Reaktionen	QTPYZB0048low**
Pichia membranaefaciens TaqMan™	Spezifischer DNA Nachweis von <i>Pichia membranaefaciens</i>	50 Reaktionen	TPYPM 0050
<b>GEN-IAL® Multiplex Screening</b>			
First-Wine PCR Screening TaqMan™	DNA Screening von Wein schädlichen Bakterien und Hefen: <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Oenococcus oeni</i> , Essigsäurebakterien und Hefe	50 Reaktionen	TPWS 0050
First-Wine PCR Screening TaqMan™	DNA Screening von Wein schädlichen Bakterien: <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Oenococcus oeni</i> , Essigsäurebakterien	50 Reaktionen	TPWSOH 0050
QuickGEN* First-Yeast differentiation PCR Kit	DNA-Screening und Differenzierung von Hefen high profile: ABI 7500, Agilent Mx3005P	96 Reaktionen	QYDIF0096high
QuickGEN* First-Yeast differentiation PCR Kit	DNA-Screening und Differenzierung von Hefen low profile: Agilent Aria MX, Biorad CFX96, MyGo Pro	96 Reaktionen	QYDIF0096low**
QuickGEN* First-Yeast differentiation PCR Kit	DNA-Screening und Differenzierung von Hefen white strips: Biorad CFX96, LightCycler® 480	96 Reaktionen	QYDIF0096white

\* Nur mit der QuickGEN-Linie kompatibel.

\*\* Lyticase ist lyophilisiert in PCR-Gefäßen bereits vorgelegt.

### Real-time PCR

- Schnelle Ergebnisse (ca. 2 Std.)
- Hochspezifisch
- Einfache Durchführung: mit Lyticase vorbeschichtete PCR tubes
- QuickGEN reduziert die Pipettierschritte: weniger Aufwand und erhöhte Sicherheit
- Auch in kleinen Labors möglich
- Geringer Gesamtaufwand