

# Einfluß verschiedener Hefen auf die Weinqualität - Mikrobiologische und molekularebiologische Untersuchungsmethoden

S. BERGER

## Hefeflora auf Trauben

Die Verwendung von sauberem Lesegut und der Einsatz von Reinzuchthefen (*Saccharomyces cerevisiae* oder *bayanus*) ist für die Produktion qualitativ hochwertiger Weine von ausschlaggebender Bedeutung.

Weintrauben bieten Lebensraum für eine Flora bestehend aus Schimmelpilzen, Bakterien und Hefen. In Abhängigkeit der Mikroorganismenart und -zellzahl können Weinkrankheiten entstehen.

Wilde Hefen werden durch den Zusatz von schwefeliger Säure nur zum Teil gehemmt und stellen besonders während der Standzeiten im Rahmen der Traubenverarbeitung eine Quelle für qualitäts- und geschmacksbeeinträchtigende Substanzen wie Acetaldehyd, Ester oder Essigsäure dar. Die Hefeflora auf Traubenproben des Versuchsgutes Agneshof, Klosterneuburg wurde untersucht.

Der unter sterilen Bedingungen frisch gepresste Traubensaft wurde auf Wallenstein-Agar bei 28 °C inkubiert und die Einzelkolonien reingezüchtet.

Die Zuordnung von 20 Hefekolonien erfolgte im Vergleich zu Typstämmen aufgrund des morphologischen und mikroskopischen Befundes, der Zuckerverwertung und der RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA Analysis Polymerase Chain Reaction) mit 3 verschiedenen Primern. Es dominieren entsprechend den Ergebnissen *Metschnikowia pulcherrima* (50%), *Hanseniaspora uvarum* 40% und 10% *Pichia Subspecies*.

Die identifizierten Species zählen weltweit zu den am häufigsten auf Trauben nachgewiesenen Hefegattungen. Weitere Arten wie *Candida stellata*, *Candida vini* oder *Torulasporea* lagen in den vorliegenden Untersuchungen unter der Nachweisgrenze.

## Reinzuchthefen der Gattung *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* kommen nur zu 0,1%-1% nativ vor, dominieren jedoch in den Jungweinen nach einer Spontangärung, wenn nicht unter Beteiligung wilder Hefen eine Fehl-gärung erfolgt ist. Reinzuchthefen können in Form zahlreicher kommerzieller Stämme gezielt eingesetzt werden. Für ein sicheres Verfahren unter schwierigen technologischen Bedingungen sind keine Hefestämme verfügbar.

Die Selektion neuer osmotoleranter oder kältetoleranter Stämme der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* erfolgt unter stringenten Bedingungen, wie zum Beispiel bei hohen Zuckerkonzentrationen.

Eine Unterscheidung und Typisierung der ausgewählten Stämme, auch im Vergleich zu kommerziellen Stämmen, gelingt durch den Einsatz molekularbiologischer Methoden. Mittels RAPD konnten zum Teil bei den untersuchten DNA-Proben Polymorphismen nachgewiesen werden (Abbildung 1).

## Diagnose von *Brettanomyces*

*Brettanomyces* können während der Lagerung die Weine durch Bildung von Äthyl-4-Phenol und Äthyl-4-Guajakol den gefürchteten "Pferdeschweißton" verursachen und die Weine nachhaltig schädigen.

Zur Vorsorge ist die Überprüfung alter und neuer Holzfässer und der frühe Nachweis dieses Mikroorganismus unerlässlich. Die Diagnose von *Brettanomyces* gelingt mittels PCR.

Mit den verwendeten Primern werden Bereiche der ITS (Internal Transcribed Spacer), die für die 5,8 S rRNA codie-

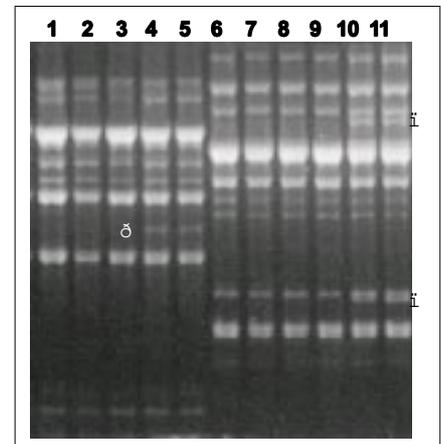


Abbildung 1: RAPD-PCR polymorphe Banden (Pfeile) beim Vergleich von Stämmen der Gattung *Saccharomyces cerevisiae*. Primer 1: S.c. 1: Spuren 1, 2. S.c. 2: Spur 3; S.c. 3: Spuren 4, 5. Primer 2: S. c. 1: Spur 6, 7. S.c. 2: Spuren 8, 9; S.c. 3: Spuren 10, 11.

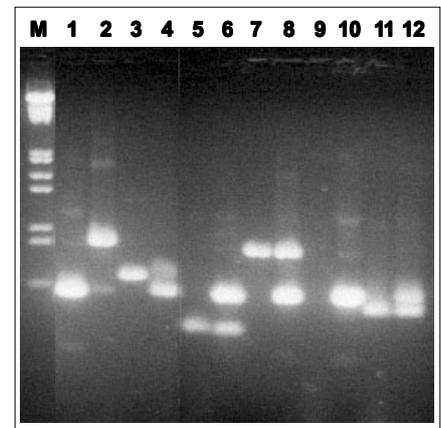


Abbildung 2: Nachweis von *Brettanomyces anomala*: M:  $\lambda$ III-DNA. Spur 1: *Brettanomyces*, Spuren 2: *Brett/Sacch. cer.*, 3: *Pichia*, 4: *Brett/Pichia*, 5: *Metschnikowia*, 6: *Brett/Metsch.*, 7: *Torulasporea*, 8: *Brett/Toru.*, 10: *Brett.*, 11: *Candida*, 12: *Brett/Cand.*

ren, amplifiziert und nach Agarosegelelektrophorese entsprechend der Fragmentgröße identifiziert. Hefen der Gattung *Brettanomyces* sind an jeweils ei-

**Autorin:** Dipl. Ing. Dr. Susanne BERGER, Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau, Wienerstraße 74, A-3400 KLOSTERNEUBURG



ner Bande mit spezifischem Molekulargewicht erkennbar.

Die Nachweisgrenze liegt in den vorliegenden Untersuchungen für gereinigte Genome bei einigen tausend Kopien, für direkten Nachweis aus lysierten *Brettanomyces*-Zellen bei einigen Keimen.

Das angewendete Protokoll eignet sich auch für den Nachweis von *Brettanomyces* in Anwesenheit anderer wilder Hefen (*Abbildung 2*) und *Saccharomyces cerevisiae*, insbesondere für das Monitoring gärender Moste und in lagernden Produkten.

## Literatur

- DANIEL et al., Rev. d. Œnologues, 2000, 95: 35-36.  
GRANCHI et al., J. Appl. Microbiology 1999, 87: 949-956.  
MOLNAR et al., Mitt. Klosterneuburg, 1995, 45: 113-121.  
UMAGAT, H., and KUCERA, P., 1982., J. Chromatography 239: 463-474.