RESOLUTION OIV-OENO 632-2021

ANALYSETECHNIKEN UND TECHNIKEN DER MIKROBIOLOGISCHEN KONTROLLE

ANALYSEN, DIE ALLEN MONOGRAPHIEN GEMEINSAM SIND

HINWEIS: Durch die vorliegende Resolution werden die vorliegenden Resolutionen geändert:
- OENO 17/2003
- OIV-OENO 328-2009
- OIV-OENO 329-2009

DIE GENERALVERSAMMLUNG,

GESTÜTZT auf Artikel 2 Absatz 2 b) iv des Übereinkommens vom 3. April 2001 zur Gründung der Internationalen Organisation für Rebe und Wein,

AUF VORSCHLAG der Gruppe „Mikrobiologie“,

IN ANBETRACHT der Notwendigkeit, die Analysetechniken und Techniken der mikrobiologischen Kontrolle zu aktualisieren,

BESCHLIESST, die Absätze 1,2,3,4,5,6 und 7 der Spezifikation F-COEI-2-CONBAC des Internationalen Önologischen Kodex neu zu strukturieren und wie folgt zu ändern (Die Spezifikation F-COEI-2-CONBAC umfasst mehrere Seiten; in vorliegender Resolution sind nur die ersten 7 Seiten aufgeführt, da die vorzunehmenden Änderungen die ersten 7 Seiten der Spezifikation betreffen):

1. Rehydratation von Hefen (Saccharomyces- und Nicht-Saccharomyces): aktive Trockenhefe (ATH), Gefrierhefe (AGH), Presshefe (PH), cremige Hefe (CH), verkapselte und immobilisierte Hefe (IH), „Levain de Tirage“

Etwa 10 g des Präparats unter keimfreien Bedingungen abwiegen (genaues Gewicht für die endgültige Berechnung der Konzentration notieren),

mit sterilem salzhaltigen Peptonwasser* unter sterilen Bedingungen bei 20-37 °C auf 100 mL auffüllen oder den Empfehlungen des Herstellers folgen,

Beglaubigte Ausführung Hybridsitzung in Paris, 12 Juli 2021
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung
Pau ROCA

© OIV 2021

mit einem Stab, einem Stomacher oder Magnetrührer 5 Minuten vorsichtig rühren,

nach Beendigung des Rührens 20 Minuten bei Raumtemperatur (20-30 °C) ruhen lassen,

bei Raumtemperatur erneut 5 Minuten homogenisieren,

unter sterilen Bedingungen dezimale Verdünnungsreihen in Wasser oder sterilem salzhaltigen Peptonwasser* herstellen und mikrobiologische Kontrollen der homogenisierten Stammlösung durchführen.

Bei Hefen, die für Schaumweine verwendet werden, 1mL unter sterilen Bedingungen entnehmen, dezimale Verdünnungsreihen in Wasser oder sterilem salzhaltigen Peptonwasser *herstellen und mikrobiologische Kontrollen der homogenisierten Stammlösung durchführen

* Pepton-Salz-Lösung: bakteriologisches Pepton 1g/L, Natriumchlorid 8,5 g/L, End-pH-Wert 7,0

2. Rehydratation von Präparaten mit Milchsäurebakterien

Etwa 10 g des Präparats aus Milchsäurebakterien unter sterilen Bedingungen abwiegen,

(genaues Gewicht für die endgültige Berechnung der Konzentration notieren).

Auf 100 mL mit sterilem salzhaltigen Peptonwasser* unter sterilen Bedingungen (25 °C) auffüllen.

Mit einem Magnetrührer oder einem Stomacher 5 Minuten rühren.

Dann 20 Minuten bei Raumtemperatur (20-30 °C) ruhen lassen.

Bei Raumptemeratur erneut 5 Minuten homogenisieren,

Unter sterilen Bedingungen dezimale Verdünnungsreihen in Wasser oder sterilem salzhaltigen Peptonwasser *herstellen und die mikrobiologischen Kontrollen durchführen.

3. Mikrobiologische Kontrolle anderer Produkte des Önologischen Kodex:

Produkte, für die die Kontrolle von Hefen und/oder Bakterien erforderlich ist

Etwa 10 g des unter sterilen Bedingungen zu kontrollierenden önologischen Produkts abwiegen, (genaues Gewicht für die endgültige Berechnung der Konzentration notieren),

auf 100 mL mit sterilem salzhaltigen Peptonwasser* unter sterilen Bedingungen

© OIV 2021

auffüllen,

mit einem Magnetrührer oder einem Stomacher 5 Minuten rühren,

unter sterilen Bedingungen dezimale Verdünnungsreihen in Wasser oder sterilem salzhaltigen Peptonwasser* herstellen und die mikrobiologischen Kontrollen durchführen.

* Pepton-Salz-Lösung: bakteriologisches Pepton 1g/L, Natriumchlorid 8,5 g/L, End-pH-Wert 7,0

4. Auszählung der Gesamt-Hefen

YM-Agar (MALT WICKERHAM)

Bakteriologischer Agar	15 g
Hefeextrakt	3 g
Malzextrakt	3 g
Pepton	5 g
Glucose	10 g
Wasser	q.s.p. 1000 mL

YPD

Hefeextrakt	10 g
Pepton	20 g
Glucose	20 g
Agar	10 g
Wasser	q.s.p. 1000 mL

Das Nährmedium sofort nach der Herstellung 20 Minuten bei 120 °C autoklavieren. Bei

© OIV 2021

längerer Inkubationszeit sollte Chloramphenicol in einer Endkonzentration von 100 mg/L zugesetzt werden, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

Mit geeigneten Probeverdünnungen beimpfen, um 30-300 Kolonien zu erhalten und die Schalen 48 – 72 Stunden bei 25 - 30 °C aerob inkubieren,

KBE in den Schalen auszählen, die 30 – 300 Kolonien enthalten, und auf das Gewicht der Trockenmasse beziehen.

Neben den vorgeschlagenen Nährmedien können gleichwertige international anerkannte Nährmedien zur Kultivierung der Mikroorganismen verwendet werden.

5. Auszählung von Nicht-Saccharomyces-Hefen

5.1. Lysin-Medium

Die Hefen werden in einem Lysin-Medium kultiviert, das sich wie folgt zusammensetzt:

Agar	20 g
L-Lysin Monohydrochlorid	5 g
Glucose	1 g
Bromkresolpurpur	0.015 g
Wasser	q.s. 1000 mL
Einstellung des pH-Werts auf	pH 6.8 $\pm$ 0.2

1 Minute bis zur vollständigen Auflösung aufkochen und dann 20 Minuten bei 120 °C autoklavieren.

Bei längerer Inkubationszeit sollte Chloramphenicol in einer Endkonzentration von 100 mg/L zugesetzt werden, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

Nach Beimpfung mit den Probeverdünnungen die Schalen 48 – 96 Stunden bei 25 oder 30 °C inkubieren,

KBE auszählen (Schalen mit 30 – 300 Kolonien) und auf das Gewicht der Trockenmasse beziehen.

Neben den vorgeschlagenen Nährmedien können gleichwertige international

© OIV 2021

anerkannte Nährmedien zur Kultivierung der Mikroorganismen verwendet werden.

5.2. YPD-Medium versetzt mit Cycloheximid (10 mg/L), 6-7 Tage aerob inkubieren.

Bei längerer Inkubationszeit sollte Chloramphenicol in einer Endkonzentration von 100 mg/L zugesetzt werden, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

6. Auszählung der lebensfähigen Milchsäurebakterien

Modifizierte MRS (Man, Rogosa und Sharpe)

Die Bakterien werden in einem mit Tomatensaft versetzten MRS-Nährmedium (Man, Rogosa, Sharpe 1960) kultiviert, das sich wie folgt zusammensetzt:

Agar agar	15 g
Bacto-pepton	10 g
Fleischextrakt	8 g
Hefeextrakt	4 g
Sodium acetate	5 g
K_2HPO_4	2 g
Trinatriumcitrat	2 g
MgSO_4, 100mg/L	2.5 mL
MnSO_4, 20mg/L	2 mL
Tween 80	1 mL
DL-Apfelsäure	5 g
Tomatensaft*	200 ml
Glucose 20 g oder Glucose 10 g + Fructose	10 g

Beglaubigte Ausführung Hybridsitzung in Paris, 12 Juli 2021
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung
Pau ROCA

© OIV 2021

HCl oder NaOH q.s.p. pH	4,8
Destilliertes Wasser q.s.p.	1000 ml

*Tomatensaft dient der Förderung des Wachstums von Milchsäurebakterien. Zubereitung: handelsüblicher Tomatensaft (ohne Zusatzstoffe) oder selbstgemachter Tomatensaft, 4000 g 20 Minuten zentrifugieren, ggf. filtrieren und den klaren Saft verwenden.

20 min bei 110 °C autoklavieren,

Beim Einfüllen in die Petrischale dem Medium Pimarizin in einer Endkonzentration von 10 mg/L zugeben, um das Wachstum von Hefen und Schimmel zu hemmen.

8 – 10 Tage bei 25 °C anaerob inkubieren.

Neben den vorgeschlagenen Nährmedien können gleichwertige international anerkannte Nährmedien zur Kultivierung der Mikroorganismen verwendet werden.

7. Auszählung von Schimmelpilzen

Czapeck-Dox-Agar

Agar agar	15 g
Saccharose	30 g
$NaNO_3$	3 g
K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4$	0.5 g
KCl	0.5 g
$FeSO_4$	0.01 g
Wasser	q.s.p. 1000 mL
Adjust to Einstellung des pH-Werts auf	7

© OIV 2021

20 min bei 120 °C autoklavieren,

Chloramphenicol in einer Endkonzentration von 100 mg/L direkt in die Petrischale mit dem Medium geben, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

10 Tage bei 20 °C aerob inkubieren.

Neben den vorgeschlagenen Nährmedien können gleichwertige international anerkannte Nährmedien zur Kultivierung der Mikroorganismen verwendet werden.

8. Auszählung von Essigsäurebakterien

bakteriologischer Agar	20 g
Hefeextrakt	5 g
Aminosäuren von Casein	5 g
Glucose	10 g
Einstellung des pH-Werts auf	4.5
Wasser	q.s.p. 1000 mL

20 min bei 120 °C autoklavieren

Beim Einfüllen in die Petrischale dem Medium Pimarizin in einer Endkonzentration von 100 mg/L zugeben, um das Wachstum von Hefen und Schimmel zu hemmen sowie Penicillin in einer Endkonzentration von 12,5 mg/L, um das Wachstum von Milchsäurebakterien zu hemmen.

4 Tage bei 25 °C aerob inkubieren.

Neben den vorgeschlagenen Nährmedien können gleichwertige international anerkannte Nährmedien zur Kultivierung der Mikroorganismen verwendet werden.

© OIV 2021