

Vermeidung von Gärstörungen in Wein und Sekt durch frühzeitige Erkennung mit Hilfe der Flusszytometrie

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Neustadt Institut für Weinbau und Önologie Prof. Dr. Ulrich Fischer/Prof. Dr. Maren Scharfenberger/ Dr. Stephan Sommer
Industriegruppe:	Deutscher Weinbauverband e.V. (dww), Bonn
	Projektkoordinator: Ullrich Mell, Weingut Geheimer Rat, Bassermann-Jordan GmbH, Deidesheim
Laufzeit:	2012 - 2015
Zuwendungssumme:	€ 232.500,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Gärstörungen stellen für die deutsche Weinwirtschaft ein großes Problem dar und werden durch die verstärkte Nachfrage nach trockenen deutschen Weinen sowie durch kellerwirtschaftliche Entwicklungen, wie starke Vorklärung und Kaltgärung, zunehmend begünstigt. Vor allem in der Sektbereitung liegen während der zweiten Vergärung extrem ungünstige Verhältnisse für die Hefen vor. Obwohl bei der alkoholischen Gärung die Hefe die zentrale Rolle einnimmt, wird sie in der Praxis während der Gärung nur anhand indirekter Parameter bewertet. Eine direkte Beurteilung der Hefeaktivität oder der Versorgungssituation findet nicht statt und somit wird meist erst eingegriffen, wenn sich erste Fehltöne zeigen. Zudem können Schadhefen zu Fehltönen sowie zur negativen Beeinflussung der Reinzuchthefen führen.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, eine schnelle und zuverlässige Analysenmethode zu entwickeln, um Gärstörungen frühzeitig zu erkennen. So können in der Praxis Maßnahmen ergriffen werden, um Gärstörungen und Fehltöne zu vermeiden und somit die Qualität der Weine zu verbessern. Im Forschungsprojekt wurde mit Hilfe der Flusszytometrie analysiert, ob charakteristische Ereignisse im Reservestoffhaushalt ausgemacht werden können, die auf eine bevor-

stehende Mangelsituation hinweisen und somit als Marker für eine Früherkennung nutzbar gemacht werden können. Außerdem kann die Flusszytometrie in Kombination mit FISH-Sonden dazu genutzt werden, Schadhefen zu quantifizieren.

Forschungsergebnis:

Im ersten Teil des Projekts wurden Verläufe der Reservestoffe Glycogen, Trehalose und Neutrallipide in Wein- und Sektgärungen unter verschiedenen Bedingungen im Labormaßstab analysiert. Im Anschluss daran wurden diverse Praxisproben analysiert. Bei den Weingärungen stellte sich heraus, dass es sehr schwierig ist, im Labormaßstab Gärstörungen zu induzieren. In einigen wenigen Fällen konnten gestörte Gärungen erreicht werden. Bei dem Verlauf der Trehalose zeigt sich in den Varianten ohne Gärstörungen nach einem starken Anstieg kurz vor Gärbeginn ein Abfallen zum Ende der Hauptgärphase. Bei den Varianten mit Gärstörungen fehlte dieser Abfall häufig. Wegen des späten Zeitpunkts, bei dem dieser Unterschied auftritt, ist diese Analyse für eine Früherkennung ungeeignet. Bei den Neutrallipidmessungen lässt sich eine Bildung von Neutrallipiden in Abhängigkeit von der Gärtätigkeit zeigen. Je stärker die Gärtätigkeit, desto höher der Gehalt an Neutrallipiden.

Der Glykogengehalt ist in den Varianten ohne Gärstörung insgesamt auf einem höheren Niveau. Bei den Varianten mit Gärstörung ist noch vor Gärbeginn ein Glykogenpeak zu beobachten. Es lassen sich somit Tendenzen in den Reservestoffverläufen mit bzw. ohne Gärstörung erkennen. Ob dies jedoch ausreicht, um eine Gärstörung vorherzusagen ist zweifelhaft. Zudem störte bei den Praxisproben das vermehrte Auftreten von Kontaminationen durch Fremdhefen u.a. die Auswertung der Reservestoffe. Des Weiteren führte der Einsatz von Bentonit während der Gärung zu Verstopfungen des Flusszytometers.

Bei den Sektgärungen zeigte sich, dass die Hefen unter diesen Bedingungen dauerhaft unter Stress stehen. Somit ähnelten sich alle Reservestoffverläufe in allen Varianten. Eine Nutzungsmöglichkeit für die Praxis ist hier nicht möglich.

Im zweiten Teil des Projekts wurde die Technik der flusszytometrischen Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (Flow-FISH) etabliert. Hiermit können (Schad-) Hefen quantitativ und qualitativ auf eine schnellere Art und Weise als mit den sonst üblichen Labortechniken nachgewiesen werden. Die Methode wurde mit verschiedenen artspezifischen Sonden etabliert, so dass ein Nachweis von *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* und von *Dekkera bruxellensis* möglich ist. Die FITC-markierten Sonden binden an die 26SrRNA der Hefen. Zur Erleichterung der Sondenbindung und somit der Erhöhung des Fluoreszenzsignals wurden Hilfssonden verwendet, die direkt angrenzend an die spezifischen Sonden binden. Die Zellfixierung erfolgt mittels Formaldehyd und erlaubt auch eine zeitverzögerte Probenanalyse. Durch den Arbeitsablauf ergibt sich die Möglichkeit, innerhalb von 24 h eine Aussage über die Zusammensetzung der Hefepopulation in der Probe zu treffen. Nach der Probenfixierung erfolgt eine flusszytometrische Zellzahlbestimmung, so dass auch diese nicht über andere Methoden ermittelt werden muss. In Spontangärungen aus der Praxis konnten *H. uvarum* zu Beginn der Gärung und im weiteren Verlauf *S. cerevisiae* quantitativ erfasst werden. Diese Methode kann der Praxis schnell Erkenntnisse über die vorliegende Mikroflora liefern, so dass frühzeitig Gegenmaßnahmen ergriffen werden können.

Wirtschaftliche Bedeutung:

In Deutschland werden von rd. 24.640 Betrieben 880 Mio. Liter Wein erzeugt. Mit insgesamt 1.400 schaumweinerzeugenden Betrieben ist Deutschland nach Frankreich auch der zweitgrößte Schaumweinproduzent der Welt. Gleichzeitig stehen deutsche Weine und deutsche Sekte unter einem starken Konkurrenzdruck, da in Deutschland über 60 % des Weinkonsums durch ausländische Erzeugnisse abgedeckt wird. Daher sind die Wein- und Sekterzeuger in Deutschland, die weit überwiegend zu den kleinen und mittelständischen Unternehmen gehören, gezwungen, durch hohe Produktqualität zu überzeugen.

Die wirtschaftliche Bedeutung dieses Projektes liegt vor allem in seinem Beitrag zur Reduzierung von nicht vermarktungsfähigen Weinen durch die Vermeidung von Gärstörungen und die Bildung von Fehlnoten. Gleichzeitig kann die entwickelte Analysenmethode zu qualitativ hochwertigeren Produkten führen. Aufgrund des Stresslevels bei der zweiten Gärung können Gärstörungen im Zuge der Sektbereitung nicht prognostiziert werden. Die Detektion von Schadhefen mittels FISH-Technik in Kombination mit der Flusszytometrie ist inzwischen bereits für *H. uvarum*, *Pichia anomala* und *S. cerevisiae* erfolgreich etabliert.

Kleinere und mittlere Produzenten von Wein und Sekt, die diese Technik nicht hausintern verfügbar haben, bekommen Zugang zu dieser Analytik über die Nutzung des Service spezialisierter Dienstleistungslaboratorien. Grundsätzlich können sämtliche Weinerzeuger mit einer Investition in ein Flusszytometer in Höhe von etwa € 35.000 und den von der Forschungsstelle zur Verfügung gestellten Protokollen die neu entwickelte Analytik nutzen.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht (2015).

Weiteres Informationsmaterial:

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR)
Rheinpfalz
Institut für Weinbau und Önologie
Breitenweg 71, 67435 Neustadt
Tel.: +49 6321 671-294
Fax: +49 6321 671-222
E-Mail: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 9079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.