

Entwicklung diagnostischer und technologischer Strategien zur Reduktion von Gushing bei Sekt und Schaumwein



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität München School of Life Sciences Forschungsdepartment Molecular Life Sciences Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie Prof. Dr. Rudi F. Vogel/Prof. Dr. Ludwig Niessen
	Hochschule Geisenheim Zentrum für Analytische Chemie und Mikrobiologie Institut für Mikrobiologie und Biochemie Prof. Dr. Doris Rauhut
Industriegruppe(n):	Verband Deutscher Sektkellereien (VDS) e. V., Wiesbaden
Projektkoordinator:	Dirk Gloden Sektkellerei Schloss Wachenheim AG Wachenheim
Laufzeit:	2018 - 2021
Zuwendungssumme:	€ 444.360,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation

Bei Sekt kommt es trotz sachgemäßen Öffnens immer wieder zu einem heftigen Überschäumen des Flascheninhalts, dem sog. Gushing. Betroffene Partien sind unverkäuflich, da sie von den Verbrauchern reklamiert werden. Sie führen in Sektkellereien zu erheblichen wirtschaftlichen Einbußen. Der Anteil an Reklamationen wegen Überschäumens liegt bei Jahrgängen mit Gushing-Potential bei 25 - 30 % (bezogen auf die Gesamtzahl an Reklamationen). Nach Berechnungen des Verbands der Deutschen Sektkellereien e. V. (VDS) beläuft sich das Gesamtvolumen an deutschem Sekt, das wegen Gushing reklamiert wird, in Gushing-Jahren auf bis zu 8 Mio. Flaschen; dies entspricht einem Handelswert von ca. 40 Mio. €.

Untersuchungen im Rahmen des IGF-Projekts AiF 18125 N haben gezeigt, dass eine mögliche Ursache für das Auftreten von Gushing bei Sekt das Vorliegen bestimmter amphiphiler Proteine ist. Diese können etwa nach einer Infektion der Trauben mit dem Pilz *Penicillium oxalicum* in den Grundwein gelangen und im daraus hergestellten Sekt Gushing auslösen. Neben den Gushing-auslösenden Proteinen wurden aber auch solche Proteine in Sekt und Grundwein identifiziert, die eine Gushing-vermindernde Wirkung haben. Solche Proteine stammen sowohl aus der Weinhefe als auch aus den Weintrauben. Diese Untersuchungen lassen vermuten, dass

es immer dann zu Gushing kommt, wenn das Mengenverhältnis auslösender und vermindender Proteine unausgeglichen ist. In denselben Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein Befall mit dem häufig an Weintrauben auftretenden Edelfäulepilz *Botrytis cinerea* einen enzymatischen Abbau Gushing-vermindernder Proteine nach sich zieht. Verschiedene Prozessschritte bei der Weinherstellung (Schönung) führten zu einer Beeinflussung der Mengen dieser Proteine im fertigen Grundwein und im Sekt. Der Einfluss der verschiedenen Schönungsverfahren auf die am Gushing in auslösender oder vermindender Weise beteiligten Proteine wurde bislang allerdings noch nicht systematisch untersucht. Darüber hinaus fehlte es an diagnostischen Verfahren, mit denen diese Proteine in schneller und sensitiver Weise in Trauben, Grundwein und Sekt erfasst werden können.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, analytische Werkzeuge und prozessbasierte Maßnahmen zu entwickeln, mit deren Hilfe Reklamationen wegen Übersäuern reduziert werden können. Es sollten Kenntnisse über den Einfluss verschiedener Prozessschritte und -parameter gewonnen werden, um den Herstellungsprozess so zu gestalten, dass in der Praxis steuernd in das Mengenverhältnis zwischen den beiden Proteingruppen eingegriffen werden kann. Um den Erfolg verschiedener Maßnahmen im Herstellungsprozess messbar und überprüfbar zu machen, sollten analytische Werkzeuge entwickelt werden, mit denen die beschriebenen Proteine in der Rohware sowie im Herstellungsprozess erfasst werden können.

Forschungsergebnis

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde ein LAMP-Assay zum Nachweis von *P. expansum* entwickelt. Dieser Assay sowie LAMP-Assays zum Nachweis von *P. oxalicum*, *B. cinerea* und Patulin-produzierenden *Penicillium*-Spezies wurden für das Testen von Probenmaterial optimiert. Die Assays können direkt vor Ort für das Testen von Trauben-, Boden- und Mostproben angewendet werden, um Gushing-beeinflussende Pilze frühzeitig zu detektieren.

Des Weiteren wurden Peptidantikörper gegen die Proteine ns-Ltp1 Vv, PEX2_044840 und PDE_07106 generiert, die für immunochemische Assays verwendet werden können sowie ein ELISA zum Nachweis von PEX2_044840 entwickelt. Der Nachweis ermöglicht einen relativen Vergleich der Menge an PEX2_044840 in Proben. Mit diesem immunochemischen Assay können Grundweine auf die Anwesenheit von Gushing-beeinflussenden Proteinen untersucht werden.

Zum Nachweis des Proteins ns-Ltp1 aus der Weintraube wurde ein ELISA entwickelt. Untersuchungen von gushenden und nicht-gushenden Sekten zeigten keinen signifikanten Unterschied. Ein Gushing-reduzierender Effekt von ns-Ltp1 vV konnte daher nicht belegt werden.

Die mutmaßlich Gushing-auslösenden Pilzproteine PEX2_044840, PDE_07106 und PDE_04519 wurden in *Pichia pastoris* kloniert und exprimiert. Ausreichende Mengen des gereinigten Proteins PEX2_044840 wurden für Gushing-Versuche und die ELISA Entwicklung sowie des Proteins PDE_07106 für Gushing-Versuche erzeugt. Beide Pilzproteine führten nach Zugabe zu einwandfreiem Sekt zu Gushing.

Des Weiteren wurden Peptidantikörper gegen das Gushing-reduzierende Hefeprotein PAU5 generiert. Sie waren jedoch zu unspezifisch, um das Protein immunochemisch nachzuweisen. Jedoch wurde eine RP-HPLC Analytik so optimiert, dass damit der Gehalt von PAU5 in Sekten oder Grundweinen relativ bestimmt werden kann.

Das Gushing-reduzierende Hefeprotein PAU5 wurde in *Pichia pastoris* kloniert und exprimiert. Es konnten jedoch keine ausreichenden Mengen für die Durchführung von Verhaltensstudien in Sekt gewonnen werden.

29 verschiedene Hefen wurden auf ihr PAU5-Bildungspotential untersucht. Durch RP-HPLC-Analyse konnten Hefen mit starker Bildung selektiert werden. Der Einfluss von Fermentationsbedingungen auf die PAU5-Bildung wurde getestet. Eine Erhöhung der Temperatur, eine geringe Zelldichte zu Beginn der Fermentation, die Zugabe von Ethanol sowie diffuses Tageslicht führten zu einer erhöhten PAU5-Bildung in den Kulturen. Durch das Rühren der Kulturen, eine erhöhte Osmolarität oder eine Co-Kultivierung mit *Torulasporea delbrueckii* oder *Metschnikowia pulcherrima* wurden verringerte PAU5-Gehalte gemessen.

Grundwein wurde mit verschiedenen Hefen und unter unterschiedlichen Bedingungen versektet. Die PAU5-Gehalte wurden mittels RP-HPLC-Analyse analysiert. Die Hefen produzierten während der sekundären Fermentation kaum PAU5. Die Zugabe von Silikat-haltiger Rüttelhilfe sowie die Lagerdauer verringerten den Gehalt.

Versuche zur Versektung von Grundwein, der aus einem im Labor mit *Penicillium oxalicum* infizierten Most hergestellt worden war, waren nicht erfolgreich. Die Versektung eines mit *P. expansum* künstlich infizierten Grundweins zeigte einen signifikant höheren Gewichtsverlust beim Degorgieren in den mit *P. expansum* infizierten Varianten im Vergleich zur unbeimpften Kontrollvariante. Darüber hinaus führte die Versektung mit der geringen PAU5-bildenden Hefe in den mit *P. expansum* beimpften Proben zu einem signifikant höheren Gewichtsverlust nach dem Öffnen der Flaschen als in den entsprechenden Sekten, die mit der hohen PAU5-bildenden Hefe vergoren wurden.

Auch der Einfluss von Schönungsmitteln auf das Auftreten von Gushing in Sekt, der aus mit *P. expansum* infiziertem Most hergestellt wurde, wurde untersucht. Eine Bentonit-Behandlung verminderte den Gehalt der vermuteten Gushing-auslösenden Proteine von *P. oxalicum* und *P. expansum* sowie des mutmaßlich Gushing-vermindernden Hefeproteins PAU5.

Auf der Grundlage der erhaltenen Ergebnisse wurde ein Praxiskonzept zur Vermeidung/Reduktion von Gushing in Sekt und Schaumwein erstellt. Dieses Konzept dient als Handlungsanweisung, mit dessen Hilfe der Praktiker analytische und technische Maßnahmen ergreifen kann, die zu einer Verbesserung der Produktqualität hinsichtlich des Gushing-Potenzials führen.

Wirtschaftliche Bedeutung

Der Sektverbrauch in Deutschland lag im Jahr 2020 bei insgesamt 274,5 Mio. L, was einem Pro-Kopf-Verbrauch von 3,3 L entspricht. Dabei ist die Tendenz seit 2012 kontinuierlich rückläufig. Der Umsatz der Branche, zu der 150 Kellereibetriebe gehören, liegt bei rund 7,5 Mrd. € p. a.

Viele kleine Betriebe lassen einen Teil ihrer Weinproduktion durch Kooperativen und Lohnversektungsbetriebe zu Sekt verarbeiten, der durch die Weinproduzenten meist im Selbstvertrieb vermarktet wird. Damit sind in Deutschland rund 16.000 Betriebe (Zahlen Deutscher Wein, Statistik 2020/2021) potentiell von Gushing betroffen. Insbesondere für kleinere Betriebe kann das Auftreten von Gushing zu einem Ausfall von großen Teilen der Produktion führen. Oft besteht für diese Betriebe wegen der relativ kleinen Produktionsmengen auch nicht die Möglichkeit des Verschneidens verschiedener Partien, so dass das Auftreten von Gushing für kleine und mittlere Unternehmen eine große wirtschaftliche Belastung darstellen kann.

Mit Hilfe der im Projekt erzielten Ergebnisse werden den wein- und sektherstellenden Betrieben Maßnahmen an die Hand gegeben, mit denen das Gushing-Potential bereits im Grundwein erkannt werden kann oder mit denen Korrekturen an der Proteinzusammensetzung des Grundweins oder durch den Einsatz entsprechender Hefestämme des Sekts vorgenommen werden können. Die als Quintessenz dieses Projektes erstellten Handlungsanweisungen können daher für Sekterzeuger von großer wirtschaftlicher Bedeutung sein. Darüber hinaus können die im Rahmen des Projektes entwickelten und optimierten Methoden zum Nachweis von Proteinen und Pilzen (ELISA-Assay, LAMP-Assay, HPLC-Methode) durch Dritte aufgegriffen und zu diagnostischen Produkten weiterentwickelt werden, die ebenfalls eine große Hilfe für die Vermeidung wirtschaftlicher Schäden darstellen können.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2021.
2. Frisch et al.: Studies on the gushing potential of *Penicillium expansum*. Food Res. Intern. 139, 109915 (2021).
3. Frisch et al.: Development and optimization of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the species-specific detection of *Penicillium expansum*. Food Microbiol. 95, 103681 (2021).

4. Mann et al.: Influence of fermentation conditions on the secretion of seripauperin 5 (PAU5) by industrial sparkling wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Food Res. Intern. 139, 109912 (2021).
5. Mann, M.A., Frisch, L.M., Vogel, R.F. & Niessen, L.: Influence of fermentation conditions on the secretion of seripauperin 5 (PAU5) by industrial sparkling wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Food Res. Intern. 139, 109912. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109912> (2020).
6. Frisch et al.: Entwicklung von LAMP-Assays zur Detektion von Schimmelpilzen in Lebensmitteln. LABO 12, 51, 30 - 33 (2019).

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität München
School of Life Sciences
Forschungsdepartment Molecular Life Sciences
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie
Gregor-Mendel-Straße 4, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-5496
Fax: +49 8161 71-3327
E-Mail: niessen@wzw.tum.de

Hochschule Geisenheim
Zentrum für Analytische Chemie und Mikrobiologie
Institut für Mikrobiologie und Biochemie
Von-Lade-Straße 1, 65366 Geisenheim
Tel.: +49 6722 502-331
Fax: +49 6722 502-330
E-Mail: doris.rauhut@hs-gm.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

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

Gefördert durch:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.