



**lfz**  
Klosterneuburg

Lehr- und Forschungszentrum  
**Wein- und Obstbau**  
weinobstklosterneuburg.at

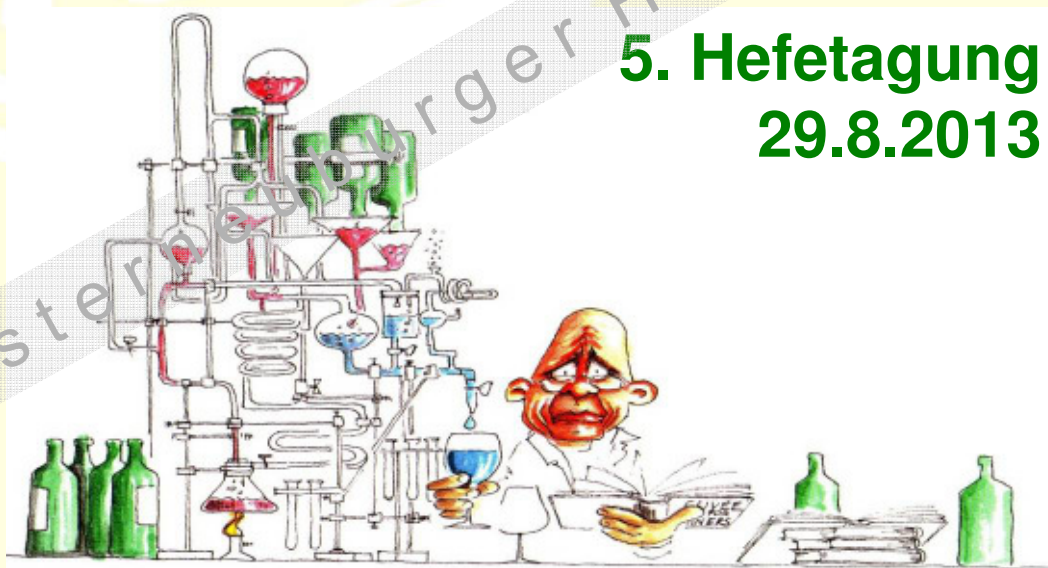


lebensministerium.at

Unser Wissen trägt Früchte.

# Schimmelassoziierte Aromen In Most und Wein

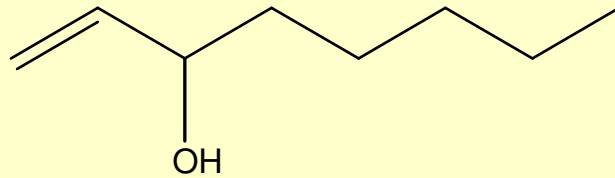
**5. Hefetagung**  
**29.8.2013**



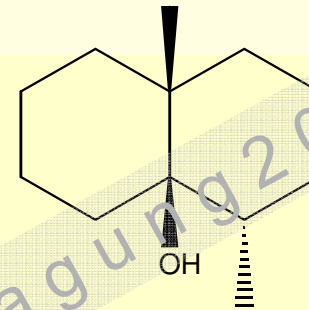
Karikatur Hörbst

Direktor HR Dipl.-Ing. Dr. Reinhard EDER  
Dipl.-Ing. Stefan NAUER und OR Mag. Walter BRANDES  
HBLAuBA Wein- und Obstbau, Klosterneuburg

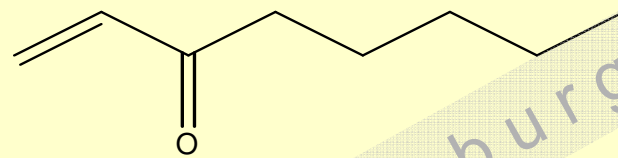
# Muffig, dumpfe Aromastoffe



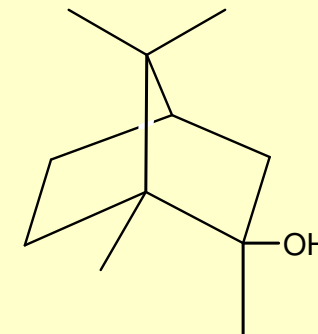
1-Okten-3-ol



Geosmin



1-Okten-3-on



2-Methyl  
isoborneol

und

2-Heptanol, 2-Octanol, Fenchon

Chlorphenole, Chloranisole, Bromanisole, Bromphenole

- => Analysenmethode um die verschiedenen Substanzen zu quantifizieren
- => Identifizierung der Ursache der muffig-dumpfen Aromen



# SCHIMMELPILZE

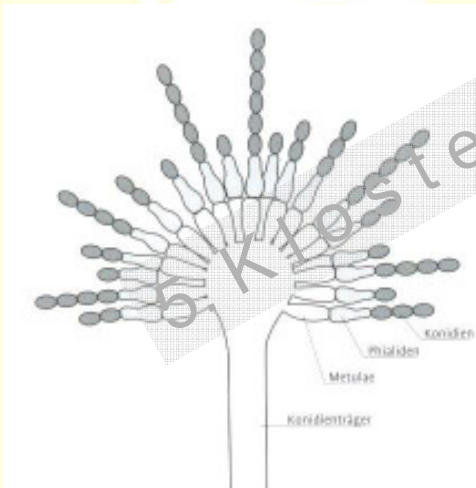
## FÄULNISPIILZE

Infektion der Beeren und Früchten mit Schimmelpilzen

### **Aspergillus**

### **Gießkannenschimmel**

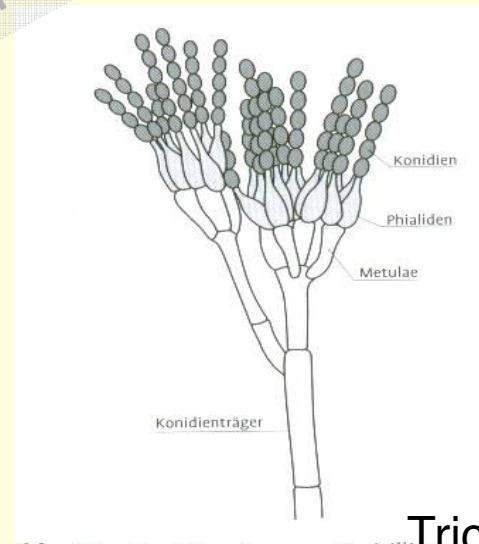
grün-gelb-schwarzer Rasen  
wärmeliebend, Schimmelton,  
Bildung von Mykotoxinen  
Aflatoxine in Nüssen



### **Penicillium**

### **Pinselschimmel**

weißlich-grün-gelb  
kälteliebend, Schimmelton  
Bildung von Ochratoxin



Trichoderma roseum  
Aurobasidium pullulans



# SCHIMMELPILZE

## Bedeutung:

- a) Produktion von vielen Lebensmitteln:  
erwünschte Veränderung, Bildung von Aromastoffen,  
(Camembert, Salami...), beim Wein Edelfäule = (Sotolon)
- b) Verderb durch Befall von Lebensmitteln:  
Fäulnis von Früchten, Fleisch, Brot,  
Bildung giftiger Inhaltsstoffe: Mykotoxine (Aflatoxin, Patulin,  
Trichothecin, Ochratoxin A ...) sind hitzestabil
- c) Bildung von Mufftönen - Fehl aroma

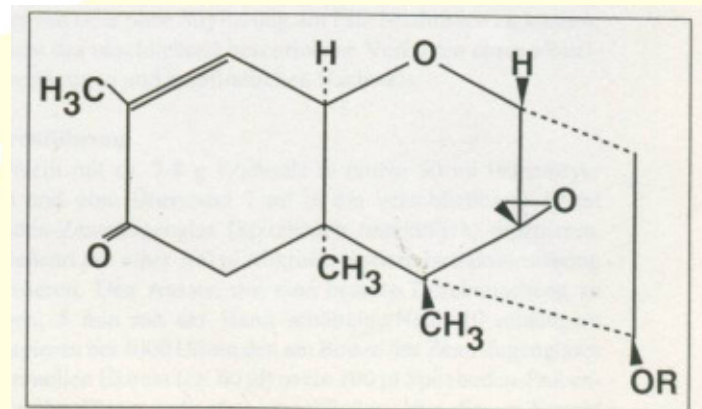
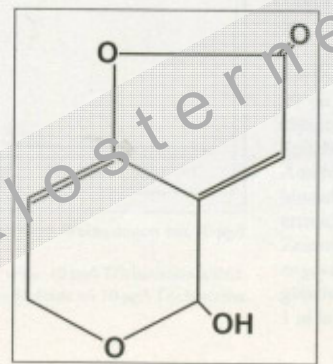
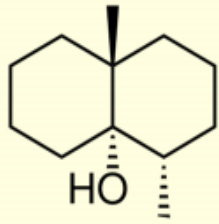
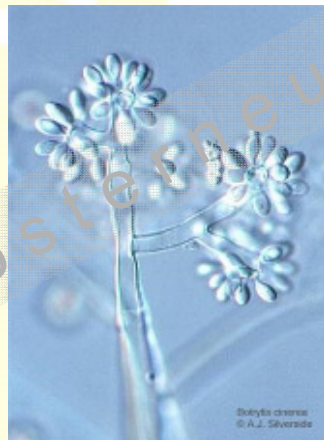


Abb. 2: Strukturformel des Trichothecins

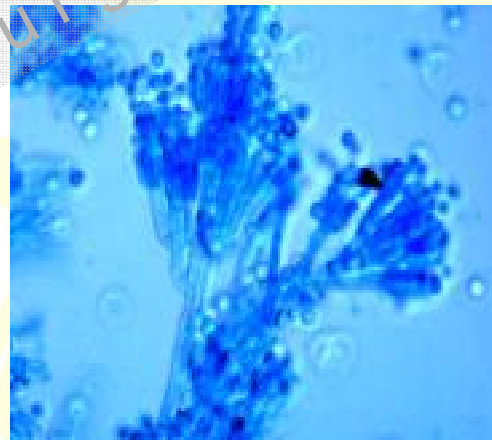
# Untersuchungsschwerpunkt: GEOSMIN



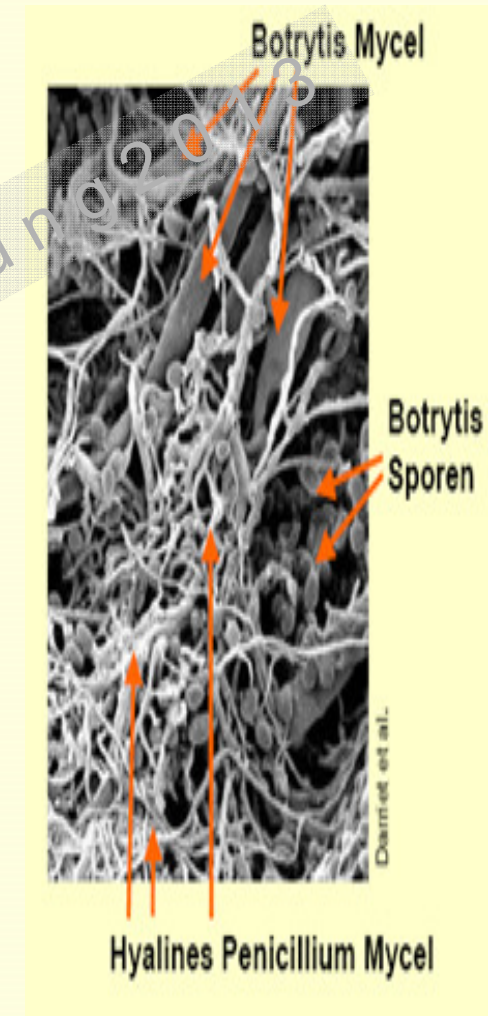
Geosmin:  
chiral Terpenalkohol  
(-) and (+) Form, Racemat  
muffig, erdig, dumpfes  
off-flavour



*Botrytis cinerea*



*Penicillium expansum*



Bildung durch  
Symbiose von

5. Klosterneuburger Hefetagung

# ANALYTISCHE METHODE

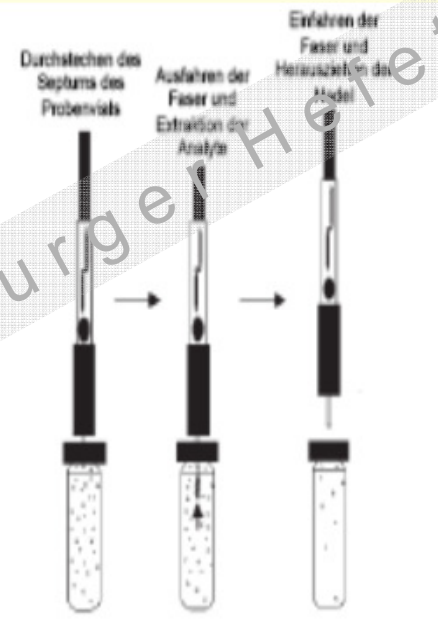
**EXTRAKTION:** Head-Space SPME Technik  
Solid Phase Micro Extraction  
Optimierung der Methode (Weingart et al., 2008)

Probenherstellung

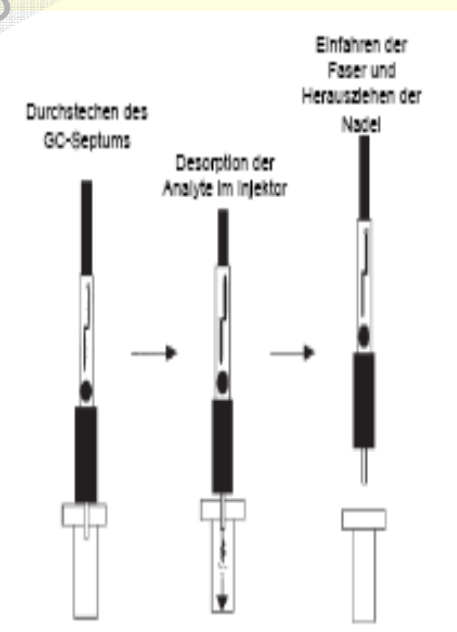
Head space Probenahme Extraktion in GC-MS



Wein Volumen: 5 ml  
NaCl Konzentration: 1.5 g/l



PDMS 100  $\mu\text{m}$  Faser  
*Polydimethylsiloxane*  
Extraktion Zeit: 60 min



Desorption: 35°C  
Desorption: 60 min



# EXTRAKTION aus Traubenproben

Auswahl geschimmelter und gesunder Trauben



Homogenisierung: 35-60 g Beeren, 12.000 Upm, 15 min

Klärung des Saftes: Zentrifugation 16.000 Upm, 25 min, 10°C

Probenansatz: 5 ml Saft, 50 µl int. Standard in CH<sub>3</sub>OH, 2 g NaCl

Extraktion: SPME mit PDMS Faser im Kopfraum der Probe



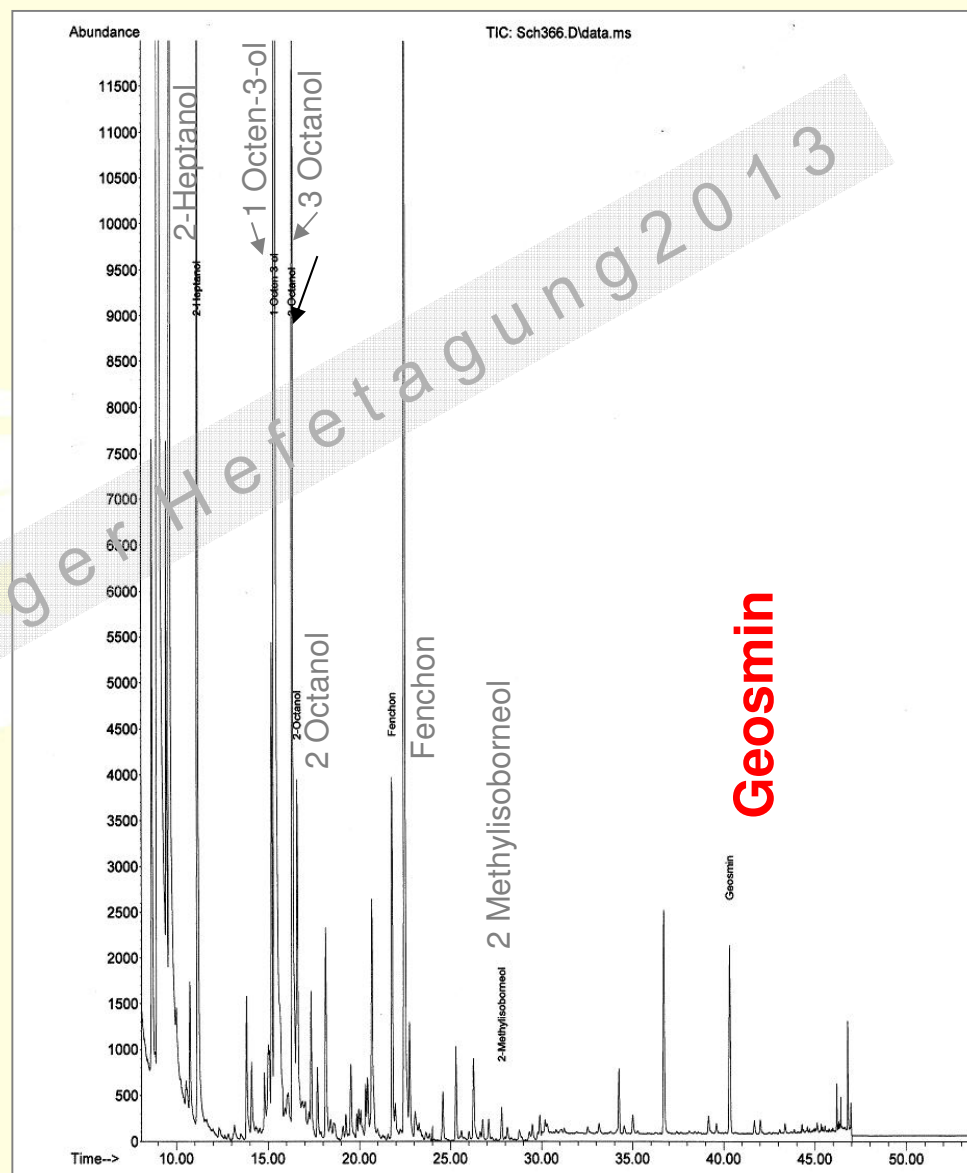
# GC-MSD TRENNUNG



GC Agilent 6890N  
GC Agilent 5975 MSD  
HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane  
30m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$

## Trennparameter:

50 °C 3 min  
8 °C/min auf 180 °C, 11 min  
25 °C/min auf 280 °C, 5 min



**Geosmin**

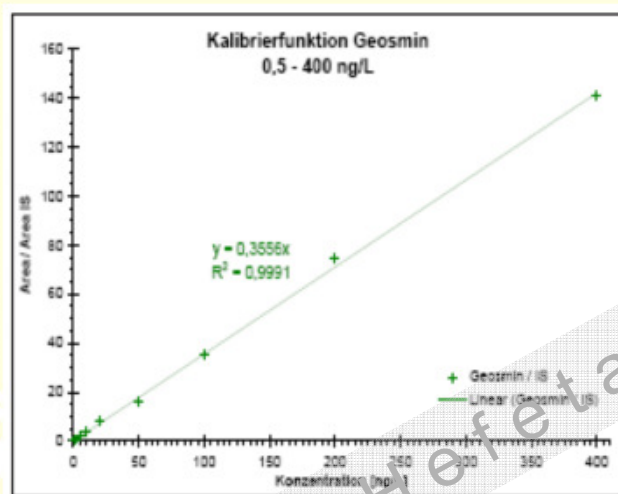
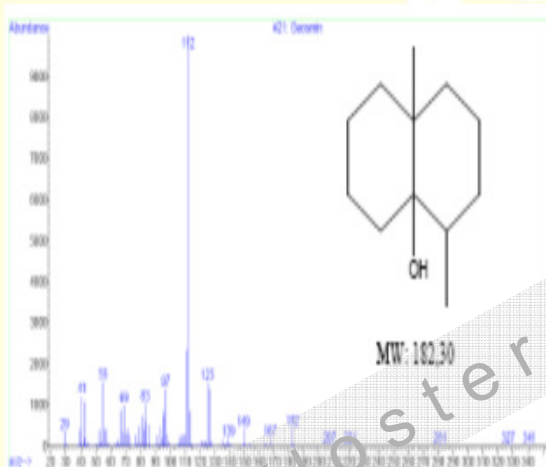




# GC-MSD ANALYSE GEOSMIN

## GC-MS-Identifikation:

Target ion: 112  
Qualifyier ion: 111,  
125, 126



## Kalibration

Linearity: 0-400 ng/l  
 $R^2 = 0.9991$

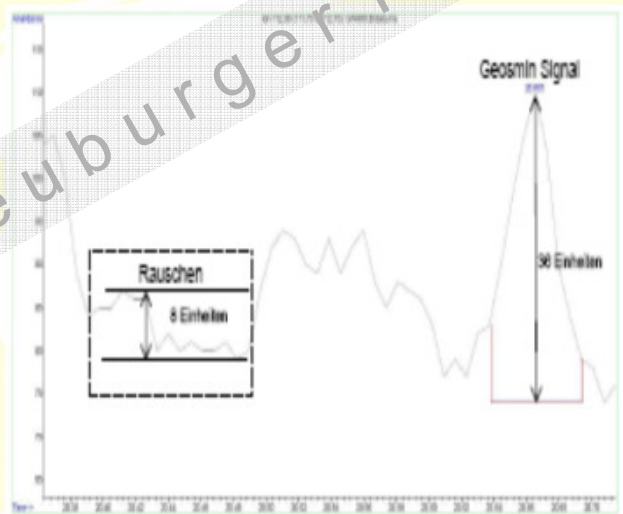
Limit of Detection

**LOD: 0.5 ng/l**

Limit of Quantification

**LOQ: 2.0 ng/l**

**Recovery: 74,3 %**



## Stabilität:

Inter Day Repeatability (5 analysis): Rel. Standard Deviation: 5.6 % RSD  
Intra Day Repeatability (10 analysis, 6 weeks): : 12.2 % RSD



Ifz

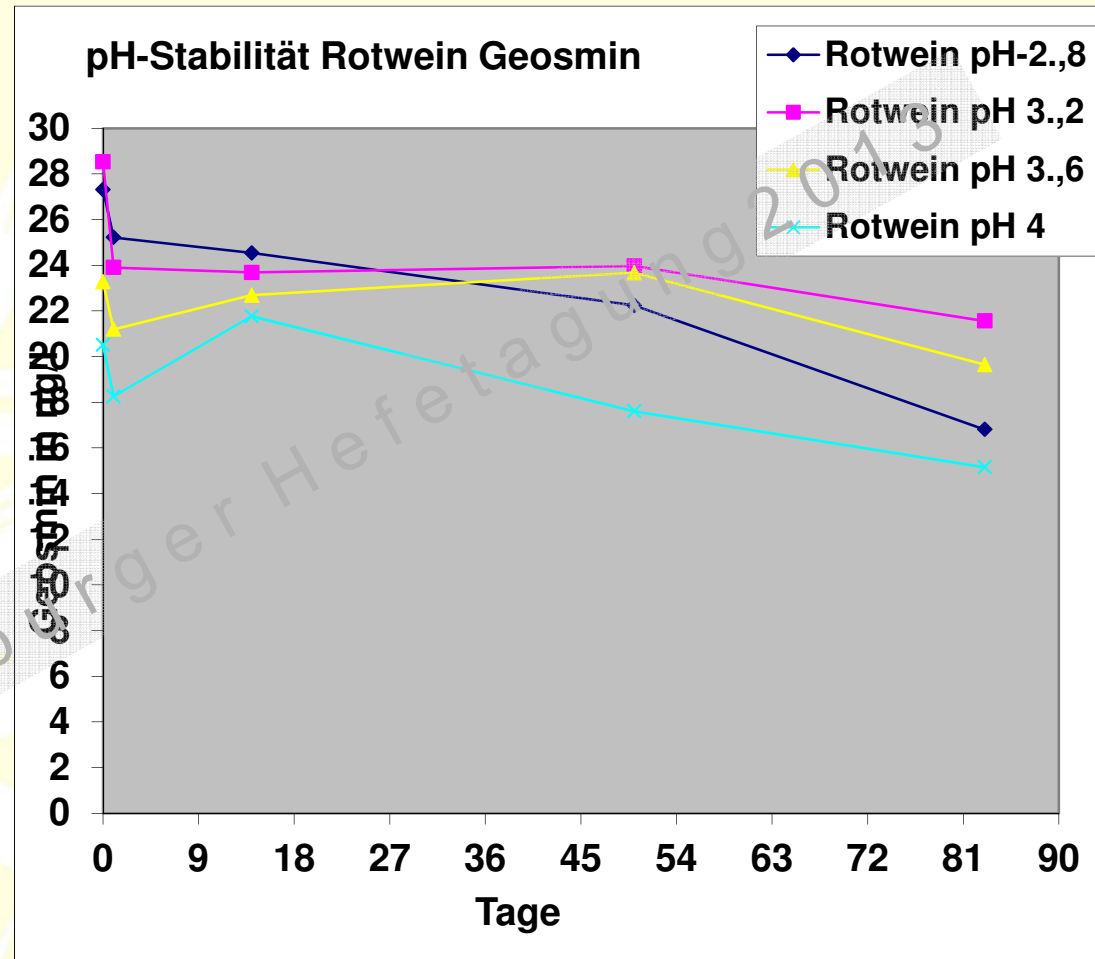
klosterneuburg

9

EDER, NAUER & BRANDES

03.09.2013

# STABILITÄT von GEOSMIN



Geosmin ist ziemlich stabil in einem pH-Bereich von 2.8 bis 4.0  
(Verluste von 20-30 % innerhalb 90 Tages)

# INTERPRETATION ANALYTISCHER WERTE ANHAND SENSORISCHER RELEVANZ

$$\text{OAV} = \text{Odour active value} = \frac{\text{analysierte Konzentration der Substanz x}}{\text{Schwellenwertkonzentration der Substanz x}}$$

Gehalt der Aromasubstanz in der Probe nur dann relevant,

**wenn OAV >1**

Sensorische Relevanz einer Substanz hängt ab von ...

- analysierte Konzentration (Qualität der Methode)
- Schwellenwertkonzentration ... ?



# BESTIMMUNG SENSORISCHER SCHWELLENWERTE

Best Estimate Treshold 3-Alternative Forced Choice (BET-3AFC Methode)

Anwendung BET am LFZ Klosterneuburg (Diplomarbeit Weingart, 2010)

Panel: 11 ausgebildete Weinkoster (!)

Zu testende Substanz (z.B. Geosmin): 6 steigende Konzentrationen  
(+ 1 Reserve über höchster und niedrigster Konzentration)

Zunahme der Konzentrationen: Faktor 2



# SENSORIAL TRESHOLD VALUES

Best Estimate Treshold  
3-Alternative Forced  
Choice  
(BET-3AFC Methode)

Dreieckstest  
Triangle Test  
(3 Alternativen  
= 3 Gläser),  
2 Konzentrationen,

Erzwungene  
Entscheidung  
KosterIn muss  
Urteil abgeben

Schwellenwert-Bestimmung nach BET

Name: Wrisger Datum: 15.5.2006

Sie bekommen 5 Sets à 3 Proben

1) Riechen Sie die Proben von links nach rechts.  
Zwei sind identisch, eine ist anders. Bestimmen Sie diese.  
Können Sie keinen Unterschied feststellen, raten Sie.  
Versuchen Sie den Unterschied (Fehler) zu beschreiben.

Welche Probe ist anders?

	L	M	R	Beschreibung
1	X			
2		X		muffig
3		X		schimmelig
4			X	kork
5	X			kork
6		X		kork

2) Kosten Sie von links nach rechts. Sonst wie oben.

Welche Probe ist anders?

	L	M	R	Beschreibung
1		X		
2			X	
3		X		schimmelig
4			X	kork
5	X			kork
6		X		kork

Alle Gläser erhalten den gleichen Wein.  
Ein Glas enthält mit TCA versetztes Wein.

Die Tester riechen von links nach rechts an den 3 Gläsern.  
In einer Tabelle wird angekreuzt, bei welchem Glas ein Unterschied bemerkt wurde.

Die Tester kosten von links nach rechts und kreuzen wieder das Glas mit dem abweichenden Geschmack an.

# SCHWELLENWERTE

Best Estimate Treshold  
with 3-Alternative Forced Choice  
(BET-3AFC Methode)

Wiederholung an 2 unterschiedlichen  
Tagen

## Resultat:

geometrische Mittel der  
höchsten unrichtig gefundenen Konz.  
und  
niedrigsten korrekt gefundenen Konz.  
(= single BET, Einzel BET)

BET Schwellenwert der Gruppe:  
Geometrische Mittel aller single BET

Konz. In ng/L	Koster Nr.										richtig: falsch	Gruppen-SW	Stdabw	% RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0,04														
0,2	0	x	x	0	0	0	x	0	x	0	4,6			
1	x	x	x	0	0	0	x	0	x	0	5,4			
5	x	x	x	x	0	0	x	x	x	x	9,1			
25	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10,0			
125	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10,0			
BET	0,447	0,069	0,069	2,236	11,120	0,447	0,069	2,236	0,069	2,236		0,525	3,396	646,5
0,015	0	x	0	x	x	x	0	x	0	0	5,5			
0,03	x	0	x	0	x	0	0	0	0	x	4,6			
0,25	0	x	x	0	x	0	0	x	0	x	5,5			
1	x	0	0	0	0	x	x	x	0	x	5,5			
4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10,0			
BET	0,500	2,000	2,000	2,000	2,000	0,500	0,030	0,122	2,000	0,030		0,495	0,944	190,6
End- ergebnis	0,447	0,069	0,069	2,000	2,000	0,447	0,030	0,122	0,069	0,030		0,191	0,788	413,4

2-Isopropyl-3methoxy-pyrazin - Geruch:  
single BET's: 0.03 – 11.2 ng/l  
group BET: 0.215 ng/l

2-IP-MP - Geschmack:  
single BET's: 0.03 – 11.2 ng/l  
group BET: 0.191 ng/l



# SCHWELLENWERT GEOSMIN (Racemat)

Konz. In ng/L	Koester Nr.										richtig: falsch	Gruppen-SW	Stdabw	% RSD		
	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11						
0,125																
0,25					x		x		0	0	2:2					
0,5	0	0	0	0	x	0	x	x	x	x	4:6					
1	x	x	0	0	0	0	x	0	x	0	4:6					
2	x	0	0	0	0	x	x	0	x	0	4:6					
4	0	x	x	x	0	0	x	x	0	x	6:4					
8	x	x	x	x	x	x	x	0	x	x	9:1					
16	x	x	x	0	0	x	x	x	0	0	6:4					
32				x						x	3:1					
<b>BET</b>	<b>5,657</b>	<b>2,828</b>	<b>2,828</b>	<b>22,627</b>	<b>22,627</b>	<b>5,657</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>0,354</b>	<b>22,627</b>	<b>4,287</b>	<b>9,482</b>	<b>221,2</b>			
0,05	0	na	0	0	0	0	na	na	x	0	2:5					
0,15	0		0	0	x	x			x	0	3:4					
0,4	x		x	0	x	x			x	0	5:3					
1,3	0		x	0	x	x			x	0	4:3					
4	0		x	0	x	x			x	0	5:3					
12	0		x	x	x	x			x	0	5:3					
36	0		x	x	x	0			x	0	5:3					
108					0						3:1					
<b>BET</b>	<b>62,354</b>	<b>20,785</b>	<b>6,928</b>	<b>0,087</b>	<b>0,245</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>0,354</b>	<b>0,721</b>	<b>3,646</b>	<b>28,553</b>	<b>793,1</b>				
<b>End-ergebnis</b>	<b>5,657</b>	<b>2,828</b>	<b>2,828</b>	<b>22,627</b>	<b>22,627</b>	<b>5,657</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>0,354</b>	<b>22,627</b>	<b>1,130</b>	<b>3,768</b>	<b>333,5</b>			

(+)/(-) Geosmin - Geruch:  
 single BET's: 0.1 – 22.6 ng/l  
 group BET: 1.13 ng/l

Konz. In ng/L	Koester Nr.										richtig: falsch	Gruppen-SW	Stdabw	% RSD		
	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11						
0,125																
0,25					x		x		0	0	2:1					
0,5	0	0	0	0	x	0	x	x	x	x	4:6					
1	x	x	x	0	0	0	x	0	0	0	5:5					
2	x	0	0	0	0	0	x	0	0	0	3:7					
4	0	x	x	0	0	0	x	x	0	x	6:4					
8	x	x	x	x	x	x	x	x	0	x	9:1					
16	x	x	x	0	0	x	x	x	x	0	6:4					
32				x						x	4:0					
<b>BET</b>	<b>5,657</b>	<b>2,828</b>	<b>2,828</b>	<b>22,627</b>	<b>22,627</b>	<b>5,657</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>22,627</b>	<b>22,627</b>	<b>6,496</b>	<b>9,665</b>	<b>148,7</b>			
0,05	0	na	0	0	x	0	na	na	0	x	2:5					
0,15	0		0	0	x	x			x	0	4:3					
0,4	x		x	0	x	x			x	0	5:2					
1,3	0		x	0	x	x			x	0	4:3					
4	0		x	0	x	x			x	0	6:1					
12	0		x	x	x	x			x	x	5:2					
36	0		x	x	x	0			x	x	5:2					
108											3:1					
<b>BET</b>	<b>62,354</b>	<b>0,245</b>	<b>6,928</b>	<b>0,087</b>	<b>0,245</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>6,928</b>	<b>0,721</b>	<b>1,412</b>	<b>22,827</b>	<b>1616,1</b>				
<b>End-ergebnis</b>	<b>5,657</b>	<b>2,828</b>	<b>2,828</b>	<b>22,627</b>	<b>22,627</b>	<b>5,657</b>	<b>0,177</b>	<b>11,314</b>	<b>6,928</b>	<b>0,721</b>	<b>1,191</b>	<b>3,962</b>	<b>332,5</b>			

(+)/(-) Geosmin - Geschmack:  
 single BET's: 0.1 – 22.6 ng/l  
 group BET: 1.19 ng/l



# INTERPRETATION

$$\text{OAV} = \text{Odour active value} = \frac{\text{analysierte Konzentration der Substanz x}}{\text{Schwellenwertkonzentration der Substanz x}}$$

Problem: unterschiedliche publizierte Schwellenwerte für Geosmin

Amon et al., 1989: 25 ng/l  
Weingart et al., 2010 1,2 ng/l

Unterschiede wahrscheinlich zurückzuführen auf:

- unterschiedlich sensible Koster
- unterschiedliche Matrix (Wasser, WW, RW)
- unterschiedlich kräftige Weine

Schwellenwert hat wesentlichen Einfluss auf Interpretation der nachfolgenden Ergebnisse ....





# GEOSMINGEHALT " IN ÖSTERREICHISCHEN WEINEN

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013



# AUSWAHL DER WEINE



2007: Auswahl von 118 Weinen welche bei der amtlichen Weinkost als dumpf, muffig, korkig unsauber beschrieben wurden.

2008-09: 300 „normalen“ Weine inklusive verdächtige Weine von Kost

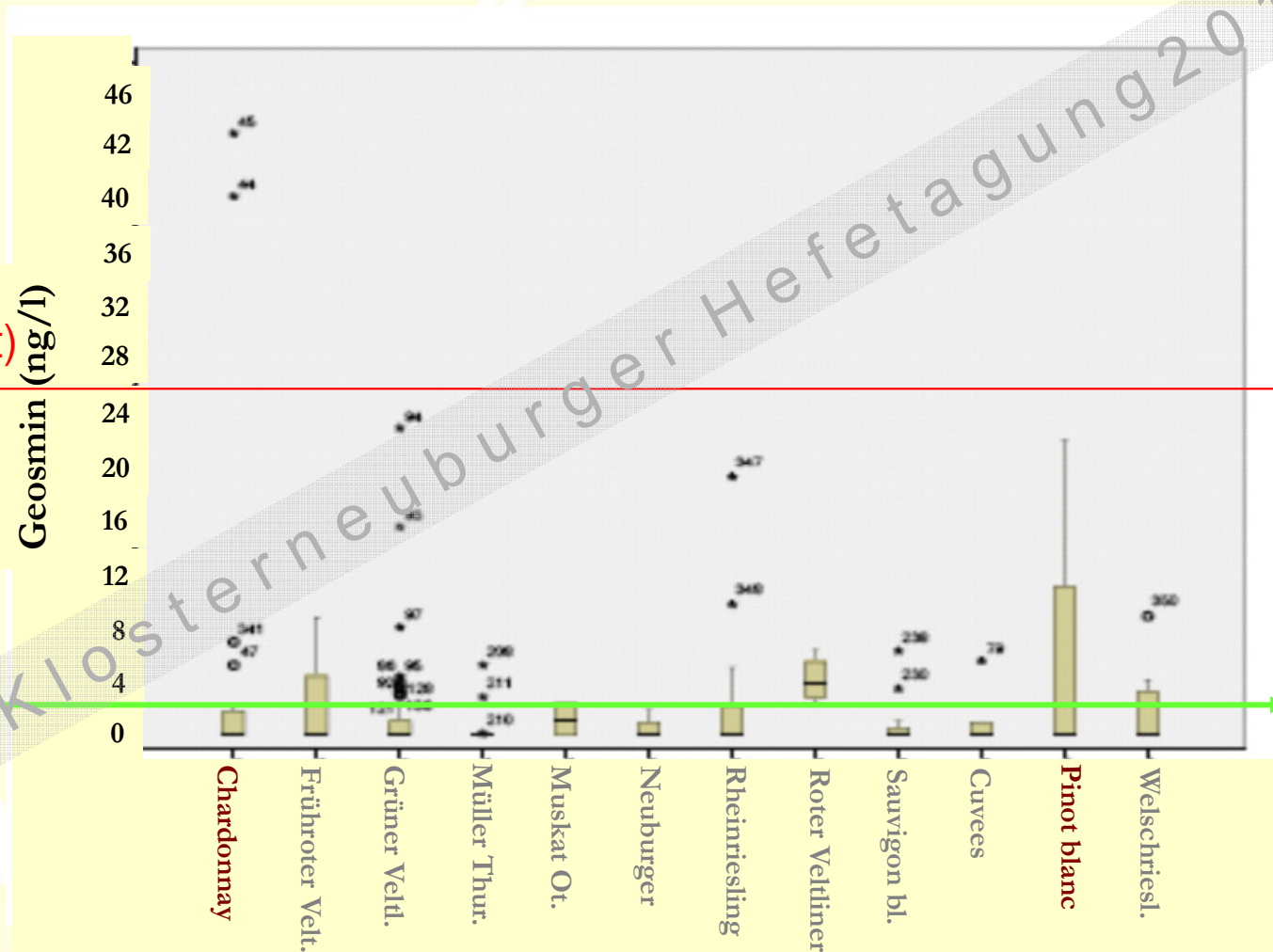


# GEOSMIN in WEISSWEINEN (2009)

Untersuchung von ca. 200 Weinen (gute und fehlerhafte)

Schwellenwert  
Literatur  
(Konsument)

BET  
Schwellenwert  
(Experten)



Maximum:  
42 ng/l

Common  
range:  
n.d. – 8 ng/l

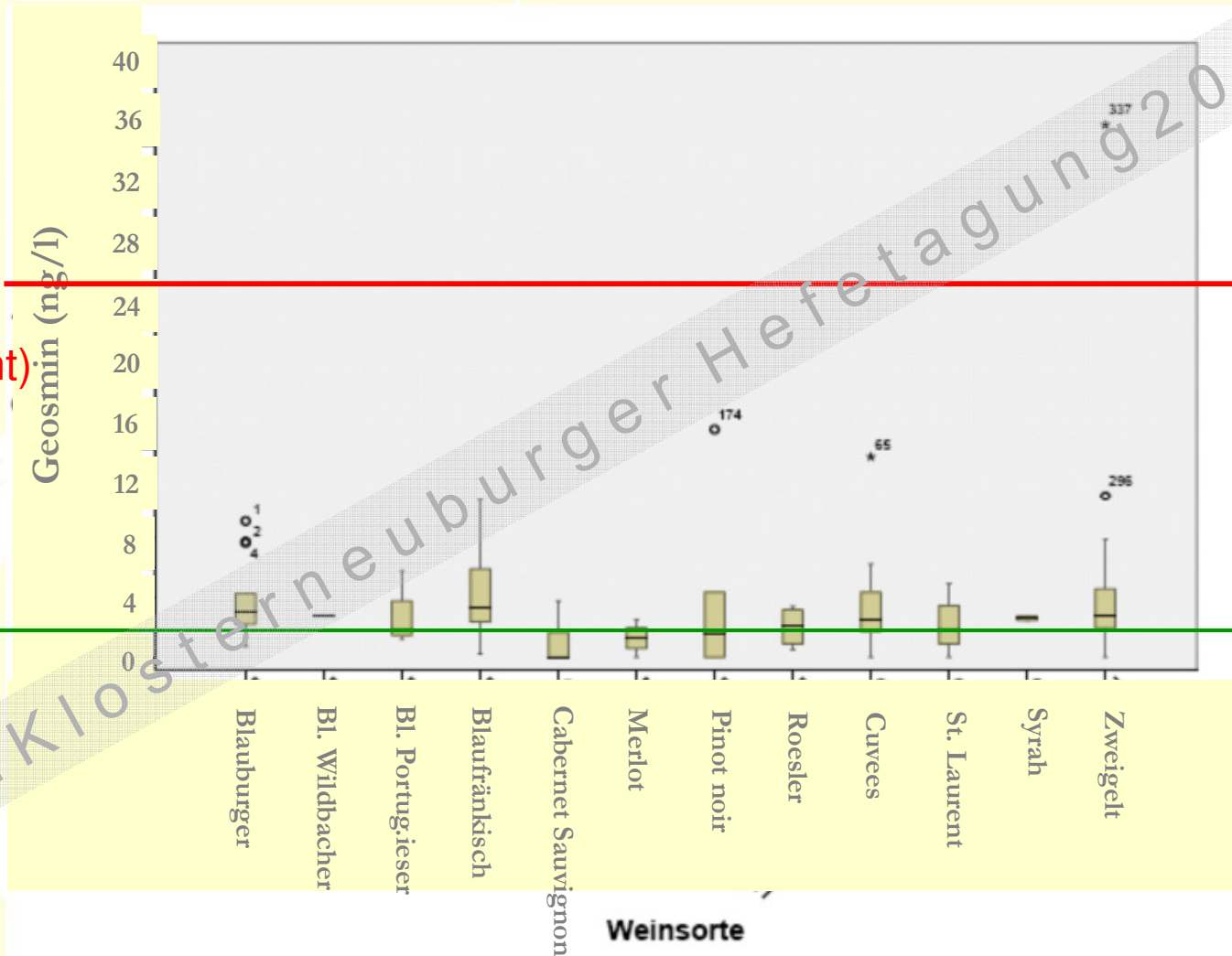


# GEOSMIN in ROTWEINEN (2009)

Untersuchung von ca. 100 Weinen (gut und beanstandet)

Schwellenwert  
Literatur  
(Konsument)

BET  
Schwellenwert  
(Experten)



Maximum:  
36 ng/l

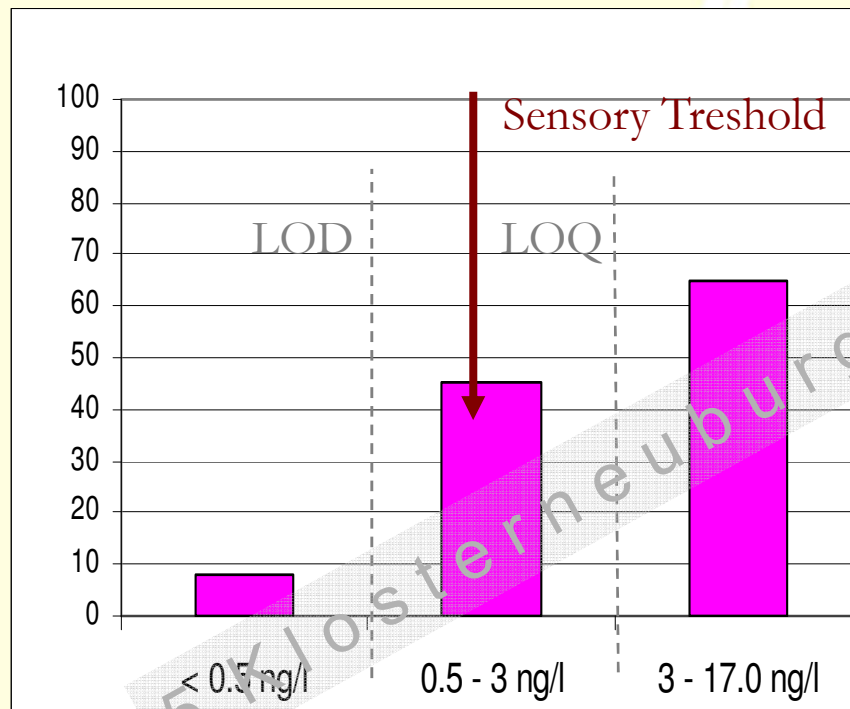
Common  
range:  
n.d. – 4 ng/l



# VORKOMMEN SCHIMMELIG MUFFIGER AROMEN

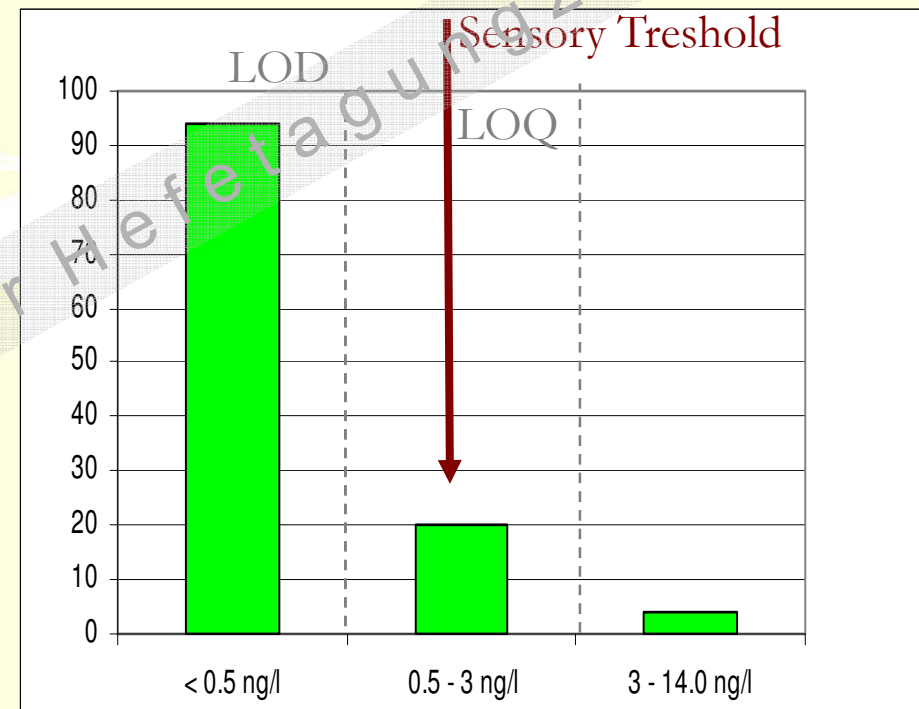
Untersuchung von 118 Weinen, die bei der Qualitätsweinprüfung als muffig, unsauber beanstandet wurden

GEOSMIN



Maximum: 17 ng/l

2,4,6-TCA



Maximum: 14 ng/l

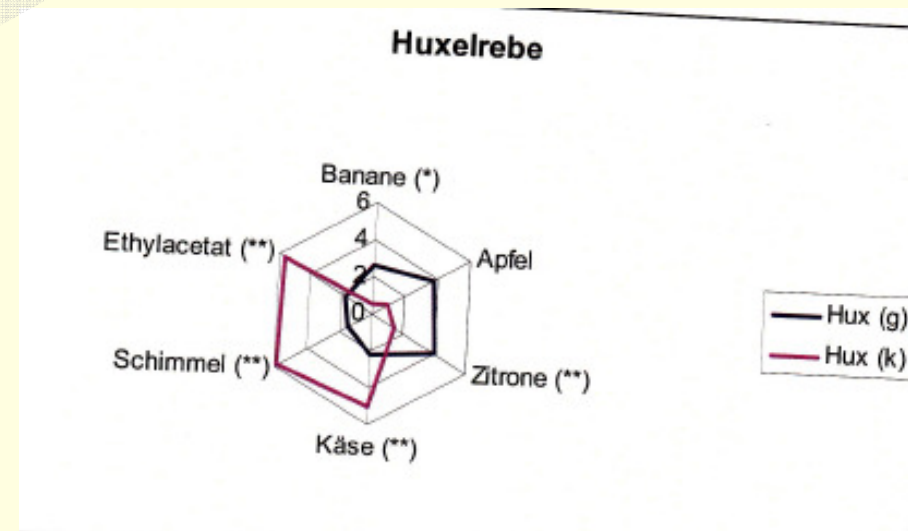
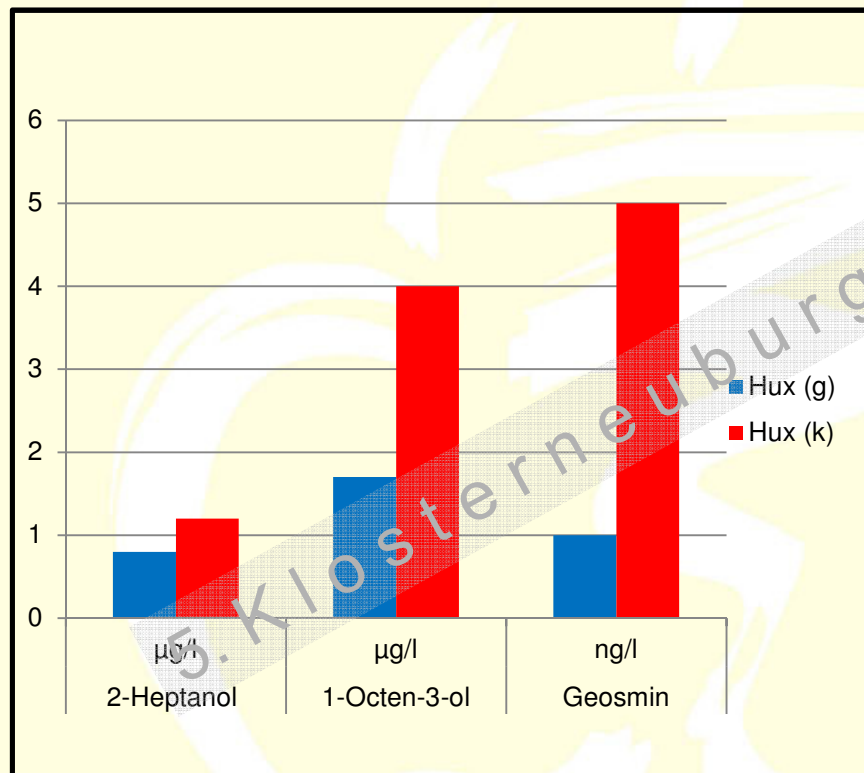
Korkig, muffig unsauber beurteilte Weine hatten öfter Schimmelaroma als Korkaroma



# VERGLEICH SCHIMMELIGER MUFFIGER AROMEN IN WEINEN AUS GESUNDEN (g)– KRANKEN (k) TRAUBEN - HUXELREBE



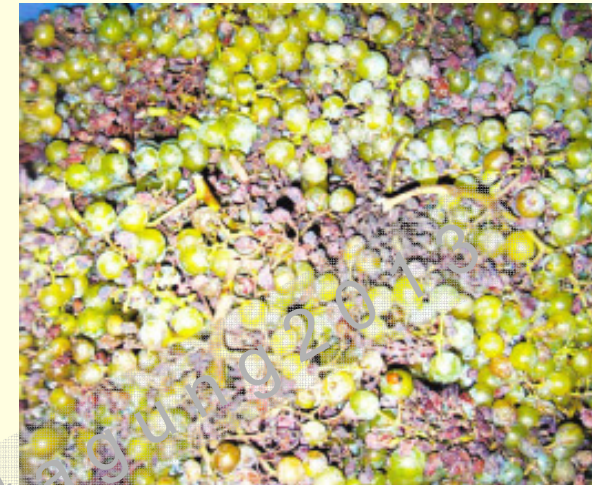
Botrytis, Penicillium



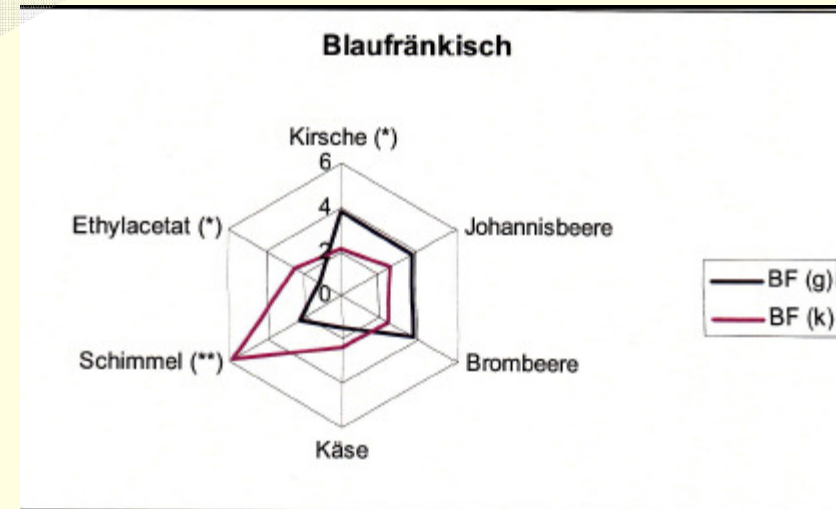
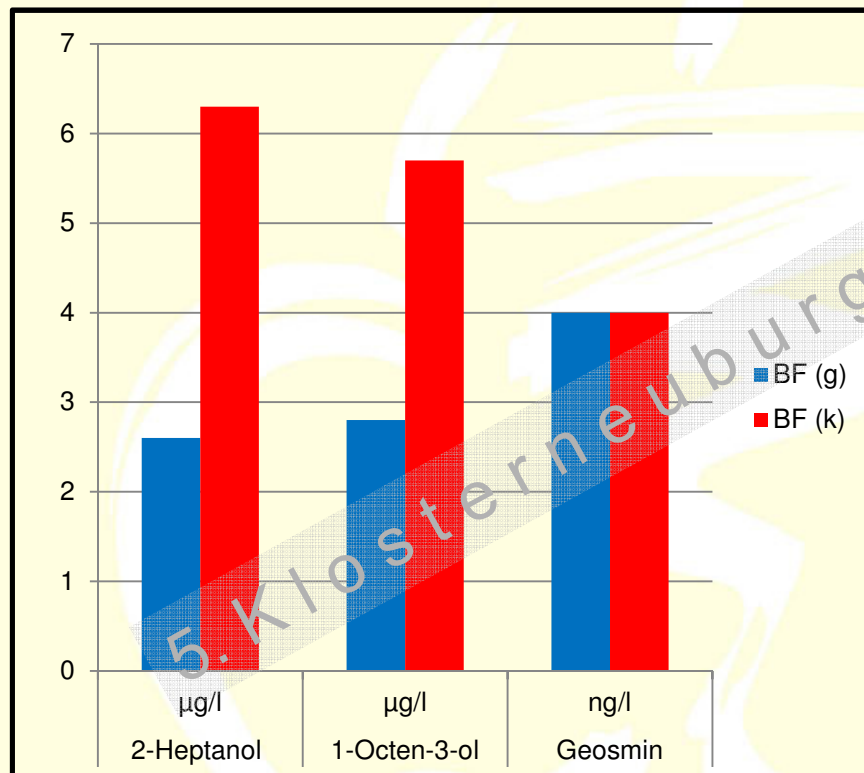
DA Gaul, Pfeifer Eder, 2009



# VERGLEICH SCHIMMELIGER MUFFIGER AROMEN IN WEINEN AUS GESUNDEN (g)– KRANKEN (k) TRAUBEN - BLAUFRÄNKISCH



Botrytis, Oidium Peronospora



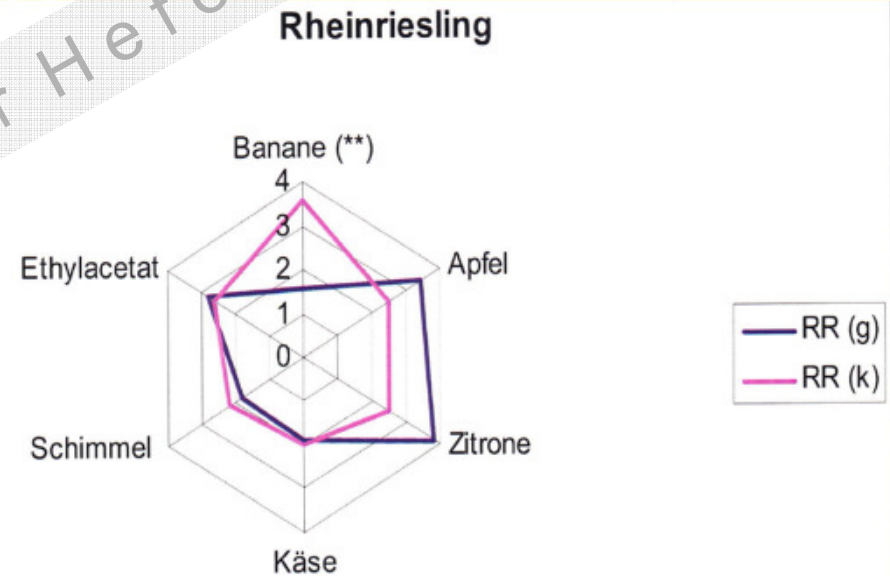
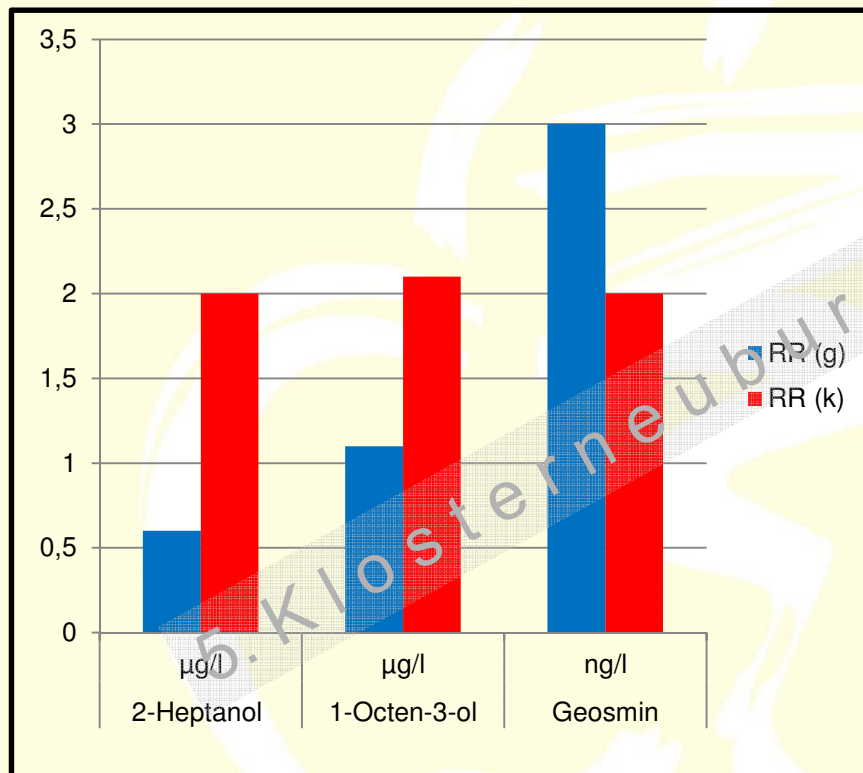
DA Gaul, Pfeifer Eder, 2009



# VERGLEICH SCHIMMELIGER MUFFIGER AROMEN IN WEINEN AUS GESUNDEN (g)– KRANKEN (k) TRAUBEN - RHEINRIESLING



Botrytis, Oidium, Peronospora

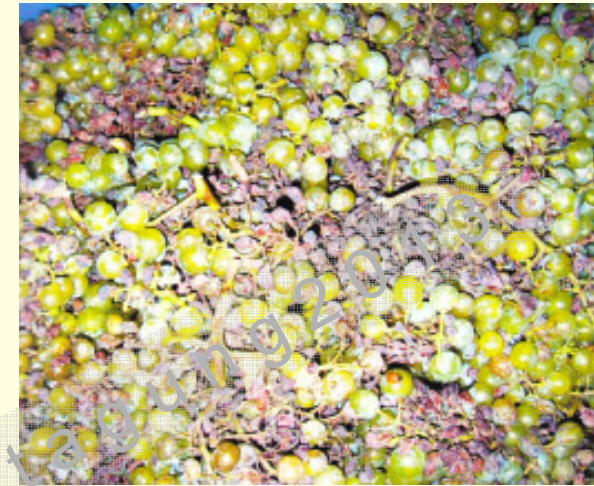


DA Gaul, Pfeifer Eder, 2009

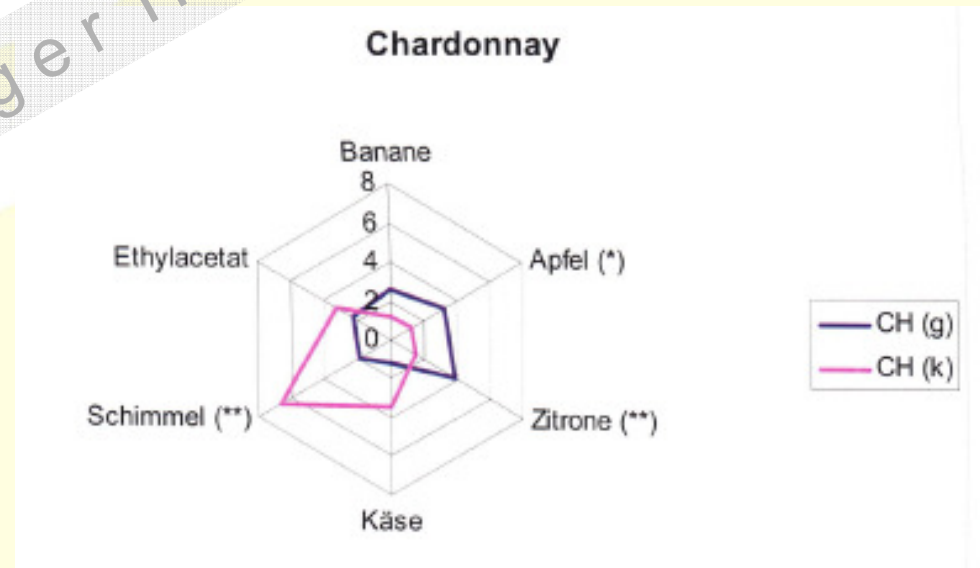
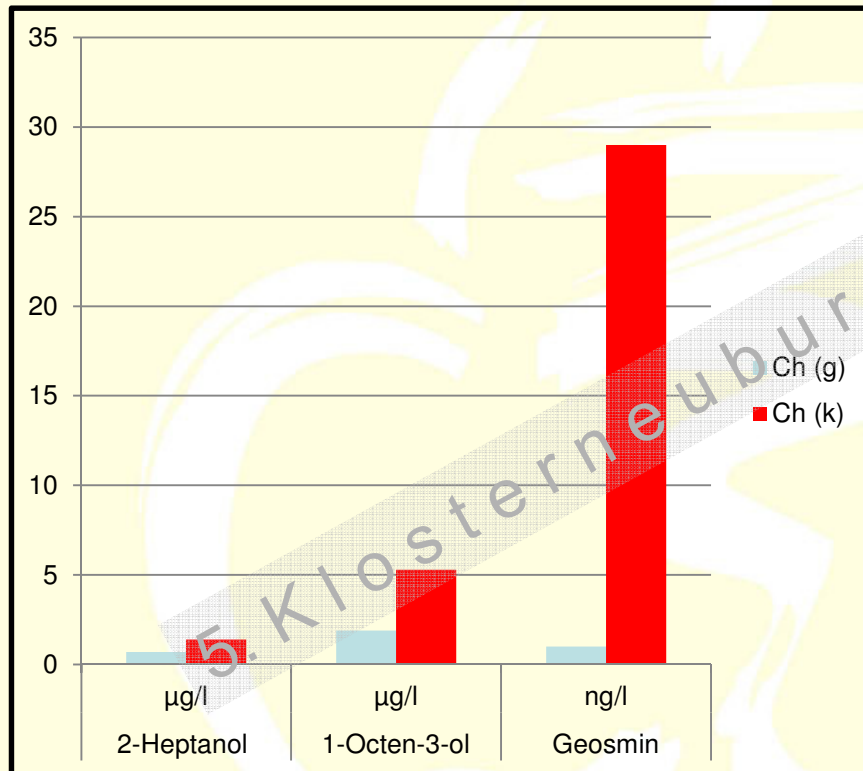




# VERGLEICH SCHIMMELIGER MUFFIGER AROMEN IN WEINEN AUS GESUNDEN (g)– KRANKEN (k) TRAUBEN - CHARDONNAY

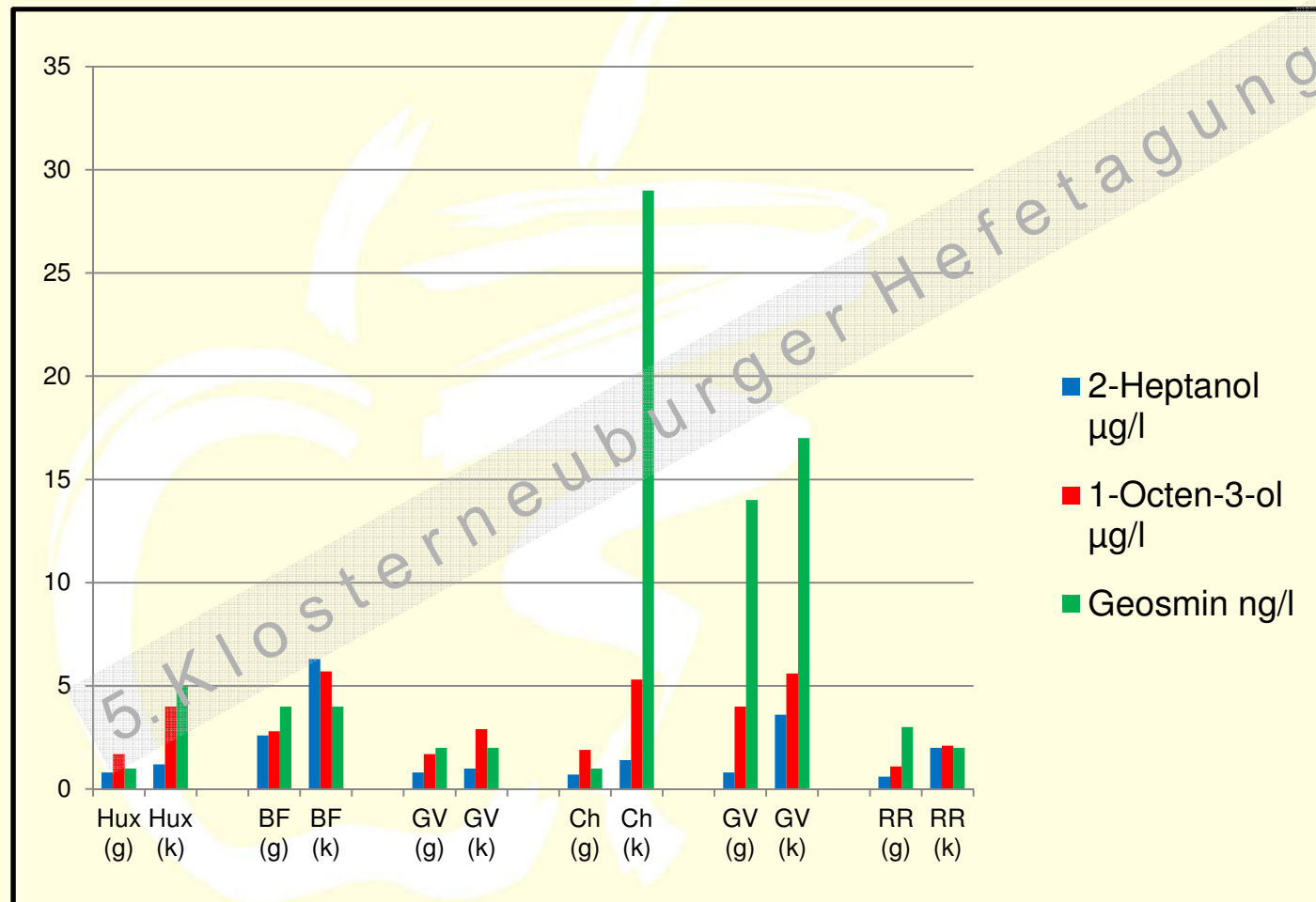


Botrytis, Oidium



DA Gaul, Pfeifer Eder, 2009

# VERGLEICH SCHIMMELIGER MUFFIGER AROMEN IN WEINEN AUS GESUNDEN (g)– KRANKEN (k) TRAUBEN



DA Gaul, Pfeifer Eder 2009



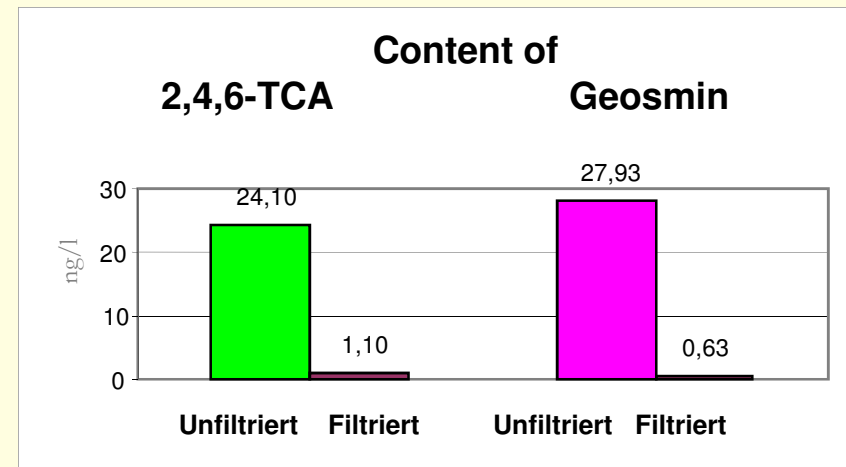
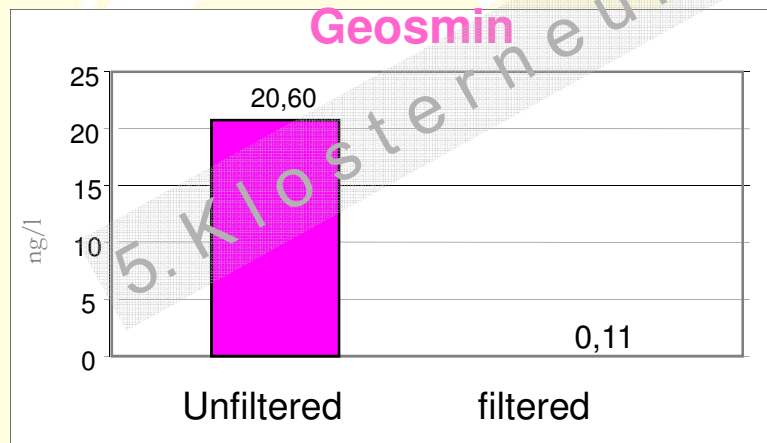
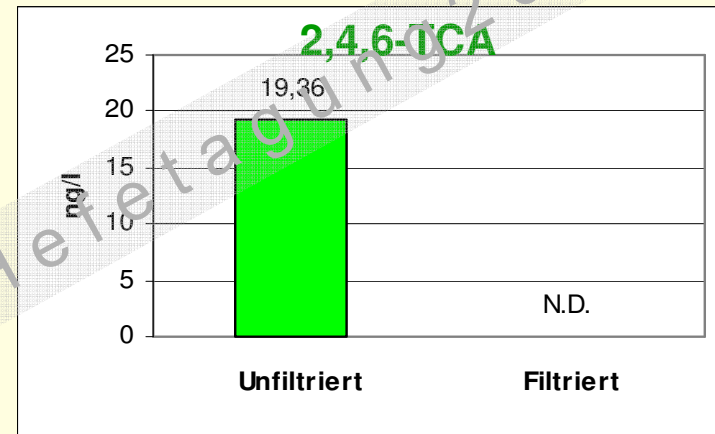
# Entfernung von Geosmin und TCA mit Spezialfiltern

5. Klosterneuburger Hefetagung 2013



# Entfernung von schimmelig-muffigen Fehlparfomen durch Spezialfilter (Zeolith)

Vorversuch mit Spezialfilter FIBRAFIX TX-R (Fa. Filtrox)



# Entfernung von schimmelig-muffigen Fehlparomen durch Spezialfilter (Zeolith)

Praktisches Experiment: 600 Liter Weißwein Cuvee 2008,  
60 ng /L Geosmin zugesetzt  
3.6 m<sup>2</sup> FIBRAFIX TX-R (Fa. Filtrox)

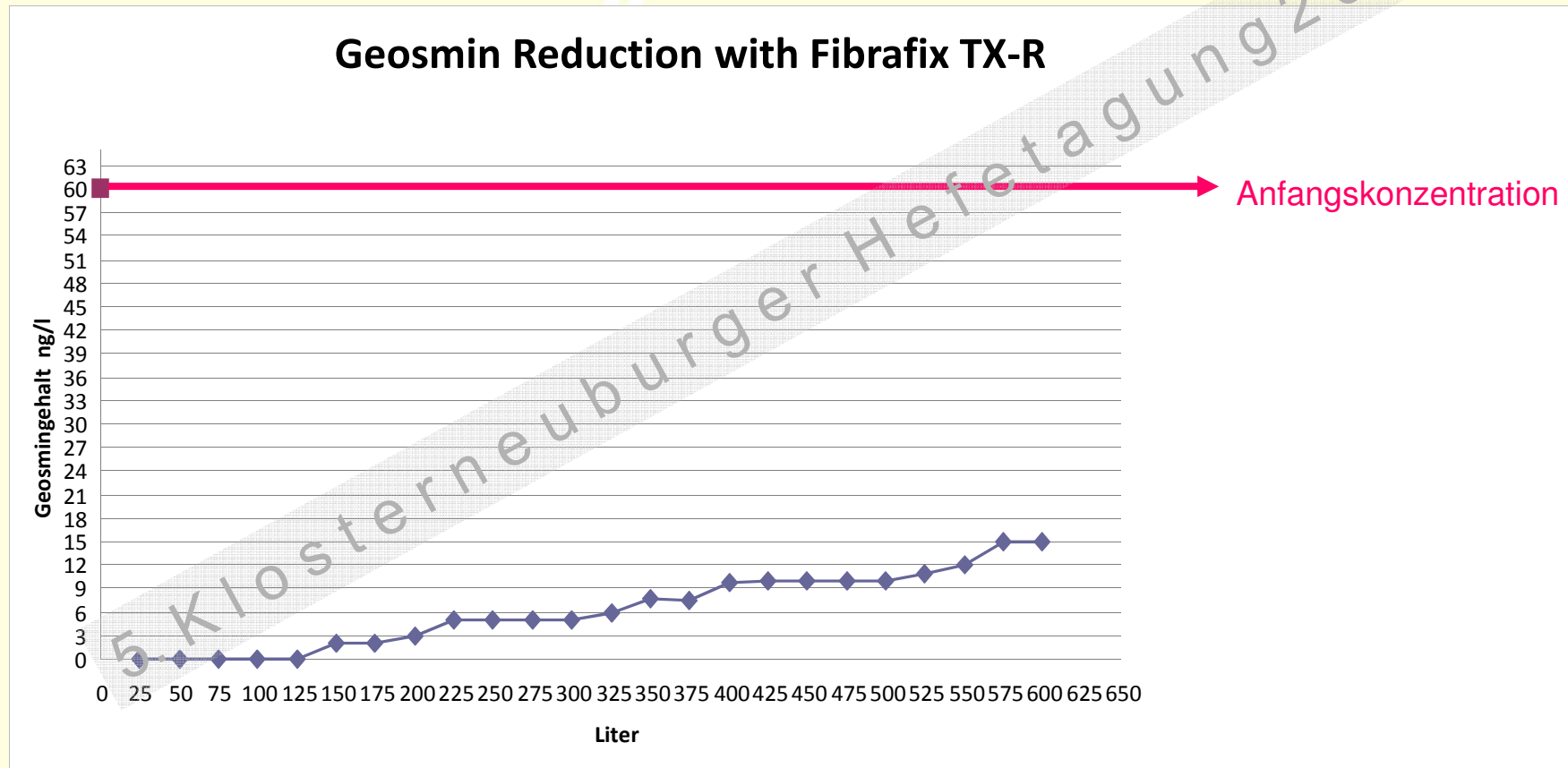


Charakteristik des Praxisversuchs: (9 20x20 Filterschichten = 3.6 m<sup>2</sup>, Dauer: 2 Stunden)



# Entfernung von schimmelig-muffigen Fehlparfomen durch Spezialfilter (Zeolith)

Spezial Filter FIBRAFIX TX-R mit TRIEX Granulat (Filtrox, Schweiz)



600 l Weißwein hatte nach Filtration keinen Fehlton mehr, durchschnittliche Reduktion: 90 %



# QUINTESSENZ

- Analysenmethode etabliert, validiert, Leistungsfähigkeit gut dokumentiert → verlässliche Daten
- Geosmin ist relativ stabil
- sensorische Schwellenwerte unterschiedlich (1 oder 25 ng/l)
- Interpretation der Ergebnisse nicht ganz einfach (OAV ?)
- Gehalte in Weinen unterschiedlich hoch, Einfluss auf Sensorik
- Weißwein bis 42 ng/l, hohe Konz. in Chardonnay und GV
- Rotwein bis 36 ng/l, hohe Konz. in Zweigelt und Pinot noir
- Sehr effektive Verringerung (< 90 %) von Geosmin und TCA mit Spezialfilterschichten möglich.



**Vielen Dank für Ihre  
geschätzte Aufmerksamkeit**

