

Vorkommen von Geosmin und anderen schimmelassoziierten Verbindungen in österreichischen Trauben und Wein

Stefan Nauer, Christian Philipp, Walter Brandes, Elsa Patzl-Fischerleitner und Reinhard Eder

HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: christian.philipp@weinobst.at

Neben Geosmin sind 3-Octanol, 2-Octanol, 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol und 2-Heptanol als Ursachen für Schimmel- bzw. Muffaroma im Wein und in Trauben bekannt. Bis dato gibt es wenig valide Daten über das Vorkommen dieser Verbindungen in österreichischen Trauben und Weinen. Im Zuge dieser Arbeit wurden 69 österreichische Traubenproben und 347 österreichische Weinproben auf diese Aromastoffe untersucht. Dabei erfolgte die quantitative Bestimmung mittels HS SPME GC-MS (Head Space Solid Phase Micro Extraction Gaschromatografie-Massenspektrometrie) durch eine multiple Standardaddition. In den Trauben wurde der Einfluss des Gesundheitszustands, der Farbe der Trauben und der Effekt des Einfrierens der Trauben auf die genannten Substanzen untersucht. Bei 1-Octen-3-ol, 2-Heptanol, 2-Octanol und 3-Octanol wurde ein signifikanter Einfluss des Gesundheitszustandes und bei 2-Octanol ein signifikanter Einfluss der Traubenfarbe und des Gefrierens festgestellt. In den analysierten Rotweinen wurden signifikant höhere Gehalte an 1-Octen-3-ol, 2-Heptanol, 2-Methylisoborneol und Geosmin gefunden als in den analysierten Weißweinen. Die Ergebnisse zeigten, dass in sensorisch auffälligen Weinproben die detektierten Schimmelaromen zwar nachweisbar waren, allerdings war das nicht zwingend. Welchen Einfluss diese mit Schimmelaromen assoziierten Substanzen somit tatsächlich auf das Aroma der Weine haben, wurde im Zuge der vorliegenden Arbeit noch nicht vollständig geklärt, diesbezüglich sind weitere Studien notwendig. Aus den Ergebnissen kann allerdings gemutmaßt werden, dass Synergismen der unterschiedlichen Aromastoffe untereinander eine entscheidende Rolle beim sensorischen Empfinden haben.

Schlagwörter: 3-Octanol, 2-Octanol, 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol, 2-Heptanol, sensorische Synergismen

Occurrence of geosmin and other mold-associated compounds in Austrian grapes and wine. Besides geosmin, the substances 3-octanol, 2-octanol, 1-octen-3-ol, 2-methylisoborneol and 2-heptanol are known to cause moldy aromas in wine and grapes. To date, there is still too little valid data on the occurrence of these compounds in Austrian grapes and wines. In the course of this work, 69 Austrian grape samples and 347 Austrian wine samples were analysed for these aroma compounds. Quantitative determination was performed by HS SPME GC-MS technique (Head Space Solid Phase Micro Extraction Gas Chromatography and Mass Spectrometry) by multiple standard addition. In the grapes, the influence of health status, color of grapes and the effect of freezing of grapes were calculated, with a significant influence by health status for 1-octen-3-ol, 2-heptanol, 2-octanol and 3-octanol, and a significant influence by grape color and freezing for 2-octanol. Significantly higher levels of 1-octen-3-ol, 2-heptanol, 2-methylisoborneol and geosmin were found in the analyzed red wines than in the analyzed white wines. The results show that in sensory conspicuous wine samples the detected mold aromas were detectable, but this was not mandatory. The influence of these mold aromas on the aroma of the wines was not fully clarified in the course of the present work, further studies are necessary in this regard. From the results, however, it can be assumed that synergisms between the different mold flavors have a crucial role in sensory perception.

Keywords: 3-octanol, 2-octanol, 1-octen-3-ol, 2-methylisoborneol and 2-heptanol, sensorial synergisms.

Neben Böckser, untypischer Alterung, Pferde-schweiß und oxidativen Noten ist schimmeliger, pilzartiger, muffiger oder erdiger Geruch bzw. Geschmack ein häufig auftretender Weinfehler. So wurde in einer Studie an vier Prüfstellen für den Österreichischen Qualitätswein festgestellt, dass der Beanstandungsgrund "Schimmel, dumpf, muffig" mit 13,18 % der am häufigsten genannte Ablehnungsgrund vor "mangelndem Sortencharakter" (13,09 %), "Böckser" (12,61 %) und "Gerbstoff" (8,91 %) war (Eder und Baumgartner, 2018). Weiters wurden in einer Studie über unsaubere Weine (Simpson, 1990) die am häufigsten einen Fehlgeruch verursachenden Verbindungen detektiert. Dazu zählten 2,4,6-Trichloranisol (= Korkgeschmack) (in 86 % der analysierten Proben), gefolgt von 1-Octen-3-on (in 73 % der analysierten Proben) (= Pilzgeruch, metallisch), 2-Methylisoborneol (= erdig, muffig, gammelig) (in 41 % der analysierten Proben), Guaiacol (in 30 % der analysierten Proben), 1-Octen-3-ol (= Pilzgeruch, Champignon-Note) (in 19 % der analysierten Proben) und Geosmin (= erdig muffig) (in 14 % der analysierten Proben). Weingart et al. (2010) beschrieben die Quantifizierung von Geosmin und 2,4,6-Trichloranisol in 118 österreichischen Weiß- und Rotweinen, die vorher sensorisch als muffig, unsauber, schimmelig aufgefallen waren. Die Ergebnisse zeigten, dass Trichloranisole im Vergleich zu Geosmin eine untergeordnete Rolle spielten. Hierzu ist allerdings anzumerken, dass der Korkgeschmack durch die weite Verbreitung von Drehverschlüssen, DIAM-Presskork und eine bessere Selektionierung der Naturkorken viel seltener vorkommt als früher, weshalb die Trichloranisole in dieser hier vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt wurden. Bis dato gibt es noch immer zu wenig valide Daten über das Vorkommen von schimmelassoziierten Verbindungen in österreichischen Trauben und Weinen (Nauer, 2010).

Die Anwesenheit von schimmeligen Fehlparmen (off-flavours) in Trauben oder Weinen ist eine Folge der Entwicklung von pflanzenpathogenen Pilzen auf Trauben, die in der Literatur schon seit längerer Zeit beschrieben sind (Semichon, 1905; Riberau-Gayon und Peynaud, 1964) oder der Kontamination der Weine mit Schimmelparmen durch beispielsweise unsaubere Schläuche, schlecht gereinigte Holzfässer, Kellerluft oder verschimmelte Korken (Picco und Rodolfi, 2004; Clemenz et al., 2008; Kugler und Rapp, 1997). Bekannt ist, dass neben Geosmin, 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol, 1-Octen-3-on und 1-Nonen-3-

on die Leitsubstanzen für dieses Schimmel- bzw. Muffaroma im Wein und Trauben sind. Geosmin (= trans-1,10-dimethyl-trans-9-decalol) gehört chemisch betrachtet zu den Terpenen und Terpenoiden. Laut Amon et al. (1989) wurde Geosmin erstmals 1989 in Wein und im Jahr 2000 im Most (Darriet et al., 2000) nachgewiesen. Dieser Nachweis im Most verdeutlichte, dass nicht nur die Mikroorganismen im Fass und bei der Gärung die verantwortlichen Produzenten von Geosmin sein können. Darriet et al. (2001) erbrachten den Beweis, dass von Trauben isolierte Mikroorganismen (*Streptomyces* sp. und *Penicillium* sp.) Geosmin produzieren können. La Guerche et al. (2007) konzentrierten sich darauf, warum mit Botrytis infizierte Weintrauben nicht mit Geosmin kontaminiert wurden. Sie stellten fest, dass für die Geosminproduktion sowohl bestimmte Botrytis-Pilze wie auch *Penicillium expansum* vorhanden sein müssen. La Guerche und Darriet (2005) demonstrierten diese synergistische Geosminproduktion von *Botrytis cinerea* und *Penicillium expansum* in Traubensaft und in Most. Sie fanden 8-36 µg Geosmin pro kg verschimmelter Trauben. Geosmin wurde bisher noch nie auf gesunden Trauben nachgewiesen. In kontaminierten Trauben fanden sich 94 % des gefundenen Geosmins auf der Beerenhaut der inneren Beeren. Auf den äußeren Beeren beziehungsweise am Stielgerüst befanden sich die restlichen 6 %. Nach dieser Feststellung sollte klar sein, dass eine rein optische Betrachtung und Kontrolle sich nicht nur auf das Äußere der Trauben beschränken darf. In diesem Zusammenhang zitierte Kennel (2005) Aussagen von La Guerche und Darriet (2005), dass auch bei optisch gesunden Trauben der Geruch bereits die Gegenwart von Geosmin anzeigen kann. Nach La Guerche und Darriet (2005) sind zwei bis fünf Trauben von hundert genug, um einen Wein zu kontaminieren (Kennel, 2005). Geosmin zählt zweifelsohne zu den geruchsaktiven Aromastoffen mit einer extrem niedrigen Wahrnehmungsschwelle. Im Wasser beträgt diese zum Beispiel nur 10 ng/l. Für Wein finden sich in der Literatur die in Tabelle 1 genannten Mengenangaben. Die angegebenen Geruchs- und Wahrnehmungsschwellenwerte schwanken je nach Panel und Matrix von 1,1 ng/l im Kunstwein mittels geschultem Expertenpanel (Weingart et al., 2010) und 80 bis 90 ng/l für Rotwein (Darriet et al., 2000). Jüngere Reevaluierungen des Schwellenwerts für Weißwein zeigten eine Schwelle von 17 ng/l (Eder et al., 2017). Geosmin wird dabei mit den Attributen erdig,

rote Rübe, feuchter nasser Boden und schimmeliges Moos beschrieben.

Tabelle 1: Geruchsschwellenwerte von Geosmin

Matrix	Geruchsschwellenwerte Konz ng/L	Autoren
Weißwein	17	Eder et al. (2017)
Kunstwein	1,1	Weingart (2007)
Weißwein	60 -65	Darriet et al.(2000)
Rotwein	80-90	Darriet et al.(2000)
Keine Angabe	25	Amon et.al (1989)

Wie bereits erwähnt, wurde auch 1-Octen-3-ol als mit Schimmeltönen assoziierter Aromastoff identifiziert. Diese Verbindung zählt zu den höheren Alkoholen im Wein (Jackson, 2000). Die höheren Alkohole, die allgemein im Wein gefunden wurden, haben einen starken stechenden Geruch. Während die meisten höheren Alkohole von der Hefe produziert werden, wird Octenol auch vom Pilz *Botrytis cinerea* gebildet (Rapp et al., 1986; Jackson, 2008). Lee und Simpson (1993) bestätigten, dass 1-Octen-3-ol neben dem Pilzgeruch auch einen schimmelähnlichen Geschmack in Wein verursachen kann. Auch Simpson (1990) fand, dass 1-Octen-3-ol in unsauberen Weinen einen Pilzgeruch hervorrufen kann. In Trauben wurde 1-Octen-3-ol in einer Größenordnung von 10 bis 50 µg/kg Traube nachgewiesen, im Most hingegen lagen die Werte zwischen 6 und 21 µg/l. La Guerche et al. (2006) gaben an, dass während der Gärung rund 20 % des 1-Octen-3-ols verlorengelassen.

Paterson et al. (2007) beschrieben, dass Methylisoborneol, welches ein Metabolit von *B. cinerea*, *Penicillium* und *Streptomyces* ist, einen ähnlichen Geruch wie Geosmin aufweist. Sie wiesen die Substanz beispielsweise in faulen Trauben der Sorte 'Merlot' nach. Bei Darriet et al. (2007) ist zu lesen, dass *Botrytis* fähig ist, 2-Methylisoborneol mit einem erdigen und kampferartigen Geruch zu produzieren. Diese Verbindung wurde bisher aber nur in blauen Weintrauben gefunden. Außerdem wurde die Verbindung in Weinen mit erheblicher Korkbelastung detektiert (Paterson et al., 2007). Der Geruchsschwellenwert in Wein für 2-Methylisoborneol liegt bei 30 ng/l (Amon et al., 1989), La Guerche et al. (2006) fanden die Substanz in Trauben in der Größenordnung von 0,17 bis 0,5 µg/kg und in Mosten von 0,045 bis

0,15 µg/l. Sie wurde aber nicht im Wein detektiert, da sie laut La Guerche et al. (2006) während der Gärung völlig verschwindet.

Neben diesen drei bekannten Schimmelaromen spielen die Verbindungen 1-Octen-3-on, 1-Nonen-3-on, 2-Heptanol, 3-Octanol, 2-Octanol, Fenchon und Fenchol eine gewisse Rolle. 1-Octen-3-on und 1-Nonen-3-on werden nach Geosmin und 2-Methylisoborneol besonders häufig als Verursacher des Pilzgeruches in Trauben, Most und Wein angesprochen (Darriet et al., 2008), wobei natürlich klar ist, dass diese Verbindungen aufgrund ihrer geringen Geruchsschwelle leichter wahrgenommen werden als zum Beispiel 2-Heptanol, das eine hohe Wahrnehmungsschwelle aufweist. 2-Heptanol, 3-Octanol, 2-Octanol, Fenchon und Fenchol spielen daher eine eher untergeordnete Rolle in der Schimmelproblematik. Sie werden meist in Studien von Darriet et al. (2008) auch detektiert, haben aber nicht diesen geruchsstarken und erdig-muffigen, pilzigen Charakter wie Geosmin.

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war es, eine Methode für die Analyse relevanter Schimmelaromen zu entwickeln und die Gehalte an Geosmin in verschiedenen Trauben und Weinen unter Berücksichtigung des Gesundheitszustandes und der Sorte zu untersuchen. Die Quantifizierung des Geosmins erfolgte mittels HS SPME GC-MS-Technik. Die erhaltenen Werte wurden im Hinblick auf die Geruchsaktivität anhand von Geruchsschwellenwerten aus der gängigen Literatur bewertet. Ebenfalls soll das Vorkommen von weiteren schimmelassoziierten Verbindungen wie 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol, 2-Octanol, 3-Octanol in Trauben sowie Wein untersucht werden.

Material und Methoden

Probenmaterial

Insgesamt wurden 69 österreichische Traubenproben und 347 österreichische Weinproben untersucht. Der Tabelle 2 ist eine Übersicht über die untersuchten Traubenproben gesplittet in Sorten, Zustand (krank/gesund) und Probenlagerung zu entnehmen. 27 Proben wurden optisch als gesund deklariert, die anderen waren sichtbar mit Botrytis oder Schimmel infiziert. Dabei gab es zwar keine Erhebung der Befallsstärke, allerdings wurden Trauben als krank identifiziert, wenn ca. 10 % der Beeren vom Botrytispilz befallen waren. Vom Traubenmaterial wurden 34 Proben frisch analysiert, 35 Proben mussten aufgrund von Kapazitätsproblemen vorübergehend tiefgefroren und vor der Analyse aufgetaut werden. Das Tiefrieren verhindert zwar das Weiterwachsen der

Schimmelpilze, kann aber auch zu inhaltsstofflichen Veränderungen der Trauben führen, weshalb für diese Proben eine separate Auswertung erfolgte. Die untersuchten Traubenproben stellen nur einen kleinen sowie auch regional begrenzten Ausschnitt von Rebsorten dar. Die Traubenproben wurden nach subjektiven Kriterien ausgewählt, wobei vor allem der Zustand des Traubenmaterials für die Auswahl entscheidend war. Dabei dominierte hauptsächlich die Frage, ob die ausgewählten Trauben von Botrytis befallen waren oder nicht. Deshalb wurden aber auch, um einen Vergleich mit offensichtlich gesunden Trauben ziehen zu können, auch letztere zur Analyse herangezogen. Natürlich achtete man auch darauf, dass diese, wenn möglich, von der gleichen Lage, ja größtenteils sogar vom selben Rebstock stammten.

Tabelle 2: Übersicht der untersuchten Traubenproben gesplittet in Sorten, Zustand (krank/gesund) und Probenlagerung (frisch/gefroren)

Untersuchte Rebsorte	Proben Anzahl (gesamt)	Zustand der Trauben gesund oder krank	Art der Probenlagerung	
			frisch (4°C)	gefroren (-18°C)
Grüner Veltliner	9	5 krank	2	3
		4 gesund	2	2
Chardonnay	4	3 krank	1	2
		1 gesund	-	1
Welschriesling	3	2 krank	2	-
		1 gesund	1	-
Rheinriesling	13	9 krank	5	4
		3 gesund	1	2
Rotburger (Zweigelt)	10	5 krank	2	3
		5 gesund	2	3
Grauer Portugieser	6	3 gesund	2	1
		3 krank	2	1
Frühroter Veltliner	3	1 gesund	1	-
		2 krank	1	1
Blauer Portugieser	2	1 gesund	-	1
		1 krank	-	1
Evita	3	3 krank	2	1
Irsai Oliver	2	1 gesund	-	1
		1 krank	-	1
Muskat	2	1 krank	-	1
		1 gesund	-	1
Neuburger	1	1 krank	1	-
Müller Thurgau	1	1 krank	1	-
Roesler	1	1 krank	-	1
Roter Veltliner	1	1 krank	1	-
Sankt Laurent	1	1 krank	-	1

Die zur Untersuchung verwendeten Weinproben stammten von der amtlichen Weinkost an der Höheren Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg. Bei der amtlichen Weinkost werden die zu prüfenden Weine von sechs geschulten und geprüften Experten blind verkostet (Kostverordnung BGBl II 256/2003). Als Proben für die Analyse kamen jene Weine in Frage, die laut Kostern einen Kork- und Schimmelaromen zuzurechnenden Fehler aufwiesen oder auch als unsauber deklariert wurden. Es wurden auch Weine herangezogen, bei denen diese Kostexperten geteilter Meinung waren (0 positiv: 6 negativ bis 3 positiv und 3 negativ). Dabei wurden 204 österreichische Weißweine (73 'Grüner Veltliner', 15 'Müller Thurgau', 27 'Rheinriesling', 12 'Welschriesling', 27 'Chardonnay', 11 'Sauvignon blanc', 3 'Frühroter Veltliner', 9 'Muskateller', 2 'Muskat Otonell', 13

'Weißburgunder', 2 'Grüner Silvaner', 1 'Sämling 88', 1 'Gewürztraminer', 2 'Grauburgunder', 3 'Roter Veltliner'), 9 österreichische Roséweine (8 Cuvée und 1 'Rotburger' ('Zweigelt')) und 129 österreichische Rotweine (53 'Rotburger' ('Zweigelt'), 11 'Blauburger', 12 'Blaufränkisch', 2 'Blauer Portugieser', 7 'Cabernet Sauvignon', 2 'Syrah', 5 'Merlot', 4 'Sankt Laurent', 4 'Rösler', 8 'Pinot noir', 21 Cuvée) verschiedener Herkunft der Jahrgänge 2004 bis 2008 analysiert. Die Analysen erfolgten im Jahr 2009.

Verwendete Chemikalien

Tabelle 3 gibt einen Überblick über Art und Herkunft der für die chemischen Analysen eingesetzten Chemikalien.

Tabelle 3: Chemikalien für die Analysen

Chemikalienbezeichnung	Firma	Reinheit
Geosmin	Sulpelco (Bellefonte, USA)	99,5
1-Octen-3-ol	Honeywell Fluka – Fisher Scientific (Schwerte, Deutschland)	98,00%
2-Methylisoborneol	Supelco (Bellefonte, USA)	99,0
R-(-)-2-Heptanol	Sigma Aldrich (St. Louis, USA)	95%
2-Octanol	Honeywell Fluka – Fisher Scientific (Schwerte, Deutschland)	
3-Octanol	Sigma Aldrich (St. Louis, USA)	99%
Natriumchlorid	Sigma Aldrich (St. Louis, USA)	≥99,5%
Methanol HPLC Gradient Grade	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)	99,9%
Ethanol	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	
NaOH 32%	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)	
HCl	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)	

Durchführung der Analysen

Die quantitative Bestimmung von Geosmin, 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol, 2-Heptanol, 2-Octanol und 3-Octanol erfolgte nach Dumoulin

und Riboulet (2004) bzw. Weingart (2007) mittels HS SPME GC-MS-Technik. Tabelle 4 ist die Gerätetypenbeschreibung des verwendeten SPME-GC MS-Systems zu entnehmen.

Tabelle 4: Gerätetypenbeschreibung des verwendeten SPME-GC-MS-Systems

Systemkomponente	Produktname	Hersteller/Herkunft
Gaschromatograph	GC HP 6890N	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Detektor	MSD HP 5975	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Autosampler (xyz-Roboter)	Combi PAL	CTC Analytics (Zwingen, Schweiz)
Autosampler-Software	Cycle Composer 1.5.2 Firmware 2.2.7 und Cycle Composer with Macro Editor	CTC Analytics (Zwingen, Schweiz)
GC-MS-Software	MSD Chemstation D.03.00.611	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Helium N56		Messner Austria GmbH, (Gumpoldskirchen, Österreich)
Injektor	UNIS 500,	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Liner	Silonite Liner Low Volume	90332L, jas
Septen für GC	Bleed/Temp Optimized Inlet Septa, 11 mm, prepierced, 5183-4757	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Säule	DB-5MS, Länge: 60 m; Innendurchmesser: 0,25 mm Filmdicke 0,25 µm	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
SPME-Faser	PDMS 100 µm	Sulpeco (Bellefonte, USA)
Faser-Halter Aufsatz für Autosampler	Combipal-SPME-Kit	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)

Die Quantifizierung erfolgte aufgrund von zu erwartenden Matrixeffekten durch eine multiple Standardaddition. Insgesamt wurde jede Probe viermal gemessen, einmal nicht aufgestockt und dreimal mit steigenden Konzentrationen der Standards (2-Heptanol (0,5 µg/l; 1µg/l; 2 µg/l); 2-Octanol (0,1 µg/l; 0,2 µg/l; 0,4 µg/l); 3-Octanol (0,5 µg/l; 1µg/l; 2 µg/l); 1-Octen-3ol (5 µg/l; 10 µg/l; 20 µg/l); 2-Methylisoborneol (25 ng/l; 50 ng/l; 100 ng/l); Geosmin (25 ng/l; 50 ng/l; 100ng/l) aufgestockt. Bei der Probenvorbereitung wurden 5 ml der Probe bzw. 5 ml der aufgestockten Probe in einem Headspace Vial mit 1,5 ± 0,01 g NaCl versetzt und mit einem Rührknochen

in den Autosampler gestellt. Die frischen oder eingefrorenen und aufgetauten Proben wurden mit einem Laborentsafter (Santos Zentrifugalentsafter 28A, Hutterer Nachfolge Gastronomiemaschinen Handels GmbH, Wien, Österreich) zu Saft verarbeitet. Dabei wurden die Proben mit 100 mg Kaliumpyrosulfit (Kadifit, Erbslöh, Geisenheim, Deutschland) pro Liter Most geschwefelt. Die Parameter für die SPME sind der Tabelle 5 zu entnehmen. Der für die Durchführung der Analysen auf schimmelassoziierte Verbindungen verwendete Gaschromatograph wies die in Tabelle 6 angeführten Spezifikationen und Geräteeinstellungen auf (Weingart, 2007).

Tabelle 5: Parameter für die SPME mit PDMS Faser 100 µm bei der Bestimmung von Geosmin und den restlichen schimmelassoziierten Verbindungen (Weingart., 2007)

Parameter	Wert
Faser	100 µm PDMS für Autosampler
Rührgeschwindigkeit	500 rpm
Rühr-Zeit	60 s dann 5 s Pause; Rührer wechselt Richtung
Einstehtiefe der Nadel beim Extrahieren	25 mm
Ausfahrlänge der Faser beim Extrahieren	13 mm
Einstehtiefe der Nadel in den Injektor	35 mm
Ausfahrlänge der Faser im Injektor	13 mm
Verweilzeit im Injektor	10 min
GC-Cycle Time	54 min
Äquilibrationsdauer	10 s
Extraktionsdauer	60 min
Extraktionstemperatur	35°C
NaCl (Salzzugabe)	~1,5 g in 5ml Weinprobe ~2,0 g in 5ml Traubenproben

Tabelle 6: Geräte Spezifikation/Parameter des verwendeten Gaschromatographen (Weingart., 2007)

Gerät:	Gaschromatograph GC HP6890 / Massenselektiver Detektor 5973
Säule:	HP-5MS; beladen mit 5% Phenylmethylsiloxan, Filmdicke 0,25 µm 30,0 m x 0,25 mm Innendurchmesser ? Modus (mode): konstanter Druck Druck (pressure): 19.50 psi anfänglicher Flussrate (nominal initial flow): 2.3 mL/min Durchschnittliche Geschwindigkeit (average velocity): 56 cm/sec
Trägergas:	1,6 mL/min, constant flow Bei 1,6 mL/min zeigt sich die beste Auflösung.
Injektor Desorption:	Mode: Splitless Starttemperatur (=Initial temp): 260 °C (On) Druck(=Pressure): 19.50 psi (On) Spülfluss (=Purge flow): 12.7 mL/min Spülzeit (=Purge time): 3.00 min Gesamt-Fluss(= Total flow): 17.4 mL/min
Temperaturprogramm des Ofens:	Anfangstemperatur: 50 °C (On) Startzeit (= Initial time): 3.00 min Maximaltemperatur: 270 °C Äquilabationszeit: 0.50 min Rampen: # Rate Endtemperatur (=Final temp) Endzeit (=Final time) 1 2.50 150 0.00 2 20.00 270 5.00 3 0.0(Off) Nachlaufzeittemperatur (=Post temp): 0 °C Nachlaufzeit (= Post time): 0.00 min Laufzeit: 54.00 min

Die Detektion erfolgte im Single-Ion-Modus (SIM) mittels Massenspektrometer. Die Auswahl der Qualifer- und Quantifier-Ionen für die Detek-

tion der gesuchten schimmellozierten Verbindungen erfolgte in Anlehnung an Weingart (2007). Diese sind, wie die Retentionszeiten und Nachweisgrenzen, Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Übersicht zu der Häufigkeit und Intensität der Qualifer-Ionen und Quantifier-Ionen sowie die Retentionszeiten und Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der detektierten Verbindungen

Detektierte Verbindung	Quantifier (dick markiert) und Qualifier-Ionen geordnet nach ihrer Häufigkeit bzw. Intensität	Retentionszeit (min)	Nachweisgrenze	Bestimmungsgrenze
2-Heptanol	45,55,43,41	11,436	0,50 µg/l	1,67 µg/l
2-Octanol	45,97,55	16,600	0,02 µg/l	0,05 µg/l
3-Octanol	59,55,83,101	16,338	0,02 µg/l	0,05 µg/l
1-Octen-3-ol	57,72,85	15,369	0,50 µg/l	1,67 µg/l
2-Methylisoborneol	95, 107, 108	27,815	10,0 ng/l	33,3 ng/l
Geosmin	112, 125, 126	40,327	0,6 ng/l	2,0 ng/l

Statistische Auswertung

Die Auswertung der Proben erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 26.0 von IBM (Armonk, USA). Die Daten wurden auf Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft. Obwohl die Daten der Traubenproben nicht normalverteilt (aber varianzhomogen) waren, wurden mittels multivariater ANOVA auf dem Signifikanzniveau ($\alpha \leq 0,05$) die Einflussfaktoren Gesundheitszustand, Farbe der Trauben und Zustand bei der Analytik (gefroren oder frisch) sowie die Wechselwirkungen der einzelnen Parameter untereinander ausgewertet. Mittels Spearman-Rangkorrelationsanalytik wurden die Korrelationen der Aromastoffe sowohl im Wein als auch in den Trauben untereinander überprüft und signifikante Korrelationen (Signifikanzniveau $\alpha \leq 0,05$ und $\alpha \leq 0,01$) diskutiert. Da die Daten der Weinproben nicht normalverteilt und/oder varianzhomogen waren, wurden sie mittels Kruskal Wallis-Test (Signifikanzniveau $\alpha \leq 0,05$) (Einflussfaktor: Farbe der Weine (weiß, rot, rosé) und paarweisen Vergleichen auf Basis des Mann-Whitney U-Test (Signifikanzniveau $\alpha \leq 0,05$) ausgewertet. Die Diskussion der Geosmingehalte im Kontext der Wahrnehmungs- und Geruchsschwelle erfolgte mittels einer Boxplot-Darstellung.

Ergebnisse und Interpretation

Ergebnisse der Untersuchung der Traubenproben auf schimmelassoziierte Verbindungen

Mittels multivariater Statistik wurden die Einflussgrößen Farbe (weiß, rot), Gesundheitszustand (krank, gesund) und der Zustand vor der Analyse (gefroren oder frisch) für die schimmelassoziierten Verbindungen 2-Heptanol, 2-Octanol, 3-Octanol, 1-Octen-3-ol, 2 Methylisoborneol und Geosmin kalkuliert. Die Ergebnisse sind der Tabelle 8 zu entnehmen. Signifikante Unterschiede beim Einflussfaktor Gesundheitszustand wurden bei den Verbindungen 1-Octen-3-ol, 2 Heptanol, 2 Octanol und 3-Octanol festgestellt, während der Gesundheitszustand der Trauben bei 2-Methylisoborneol und Geosmin keinen Einfluss auf den Gehalt der Verbindungen hatte. Bei 1-Octen-3-ol, 2-Octanol und 3-Octanol zeigten jeweils die kranken Trauben einen signifikant höheren Gehalt, während bei 2-Heptanol interessanterweise die gesunden Trauben einen signifikant höheren Gehalt aufwiesen. Eine Boxplot-Darstellung der Geosmin-Gehalte ist Abbildung 1 zu entnehmen. Von den untersuchten Traubenproben waren 26 gesund und 43 krank, wobei von den gesunden Trauben bei 73 %, und von den kranken

ken Traubenproben bei 65 % kein Geosmin nachweisbar war. Dieser Prozentsatz ist also annähernd gleich, was auch erklärt, warum es keinen signifikanten Unterschied zwischen kranken und gesunden Trauben gab. Die maximale Konzentration von gefundenem Geosmin bei den kranken Traubenproben war höher als bei den gesunden Traubenproben. Es ist ohnedies bekannt, dass die Edelfäule (*Botrytis cinerea*) alleine den Geosmingehalt nicht erhöht (La Guerche et al., 2007), während eine Co-Kontamination von *Botrytis cinerea* mit *Penicillium expansum* dafür verantwortlich gemacht wird (La Guerche und Darriet, 2005). Auch bestätigt sich die Feststellung von La Guerche und Darriet in einem Artikel von Kennel (2005), dass nicht alle visuell schimmlichen Trauben viel Geosmin enthalten.

Neben dem Einflussfaktor Gesundheitszustand konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den roten und weißen Trauben bei der Verbindung 2-Octanol festgestellt werden, wobei der Gehalt bei den roten Trauben höher war. Das ist

auch jene Verbindung, bei der ein signifikant geringerer Gehalt bei den gefrorenen Trauben festgestellt wurde. Daher ist hier nicht auszuschließen, dass durch das Gefrieren der Trauben die Gehalte dieser Verbindung reduziert wurden. Auch wurden bei dieser Verbindung signifikante Wechselwirkungen festgestellt. Beispielsweise ist der Unterschied im Geosmingehalt zwischen gefrorenen Trauben und frischen Trauben von der Farbe der Trauben abhängig.

Weiters wurden Korrelationen zwischen den Verbindungen kalkuliert (Tab. 9). Es wurden signifikant positive schwache Korrelationen zwischen den Verbindungen 2-Methylisoborneol und Geosmin sowie eine signifikant starke positive Korrelation zwischen 1-Octen-3-ol und 3-Octanol sowie zwischen 2-Heptanol und 2-Octanol festgestellt. Interessant ist, dass es zwischen 2-Heptanol und 1-Octen-3-ol genauso wie zwischen 2-Octanol und 1-Octen-3-ol und zwischen 3-Octanol und 2-Heptanol eine negative Korrelation gab.

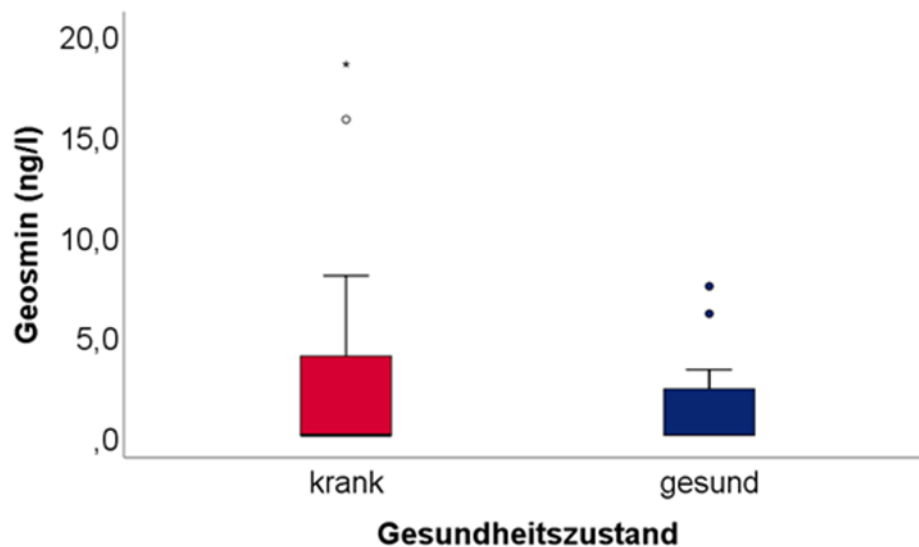


Abb. 1: Boxplotdarstellung der Geosmingehalte in gesunden und kranken Traubenproben

Tabelle 8: Mittelwerte für die Gehalte an Schimmelaromen in Abhängigkeit vom Gesundheitszustand, Beerenfarbe und Traubenkonservierung (frisch und gefroren) sowie Wechselwirkung der multivariaten Auswertung

Verbindung	Gesundheitszustand			Farbe			Zustand			Signifikanz der Wechselwirkung			
	krank	gesund	Sig	weiß	rot	Sig	frisch	gefroren	Sig	Farbe * Gesundheitsz.	Farbe * Frisch_Geifr.	Gesundheitsz * Frisch_Geifr.	Farbe * Gesundheitsz * Frisch_Geifr.
	Mittelwert			Mittelwert			Mittelwert						
1-Octen-3-ol (µg/l)	88,66	3,71	0,04	56,92	35,45	0,61	40,44	51,93	0,78	0,59	0,44	0,81	0,52
2-Heptanol (µg/l)	1,09	2,28	0,00	1,47	1,91	0,23	1,91	1,46	0,23	0,22	0,32	0,37	0,57
2-Methylisoborneol (ng/l)	47,7	99,8	0,36	44,5	103,0	0,31	55,3	92,2	0,52	0,70	0,86	0,56	0,62
2-Octanol (µg/l)	0,15	0,06	0,00	0,06	0,15	0,00	0,15	0,06	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
3-Octanol (µg/l)	1,22	<0,05	0,04	0,76	0,50	0,65	0,74	0,53	0,71	0,64	0,91	0,69	0,93
Geosmin (ng/l)	2,3	2,0	0,78	<2,0	3,1	0,08	<2,0	2,3	0,73	0,22	0,48	0,08	0,09

Tabelle 9: Spearman Rangkorrelation der Konzentrationen an schimmelassoziierten Aromastoffen in Trauben

	1-Octen-3-ol (µg/l)	2-Heptanol (µg/l)	2-Methylisoborneol (ng/l)	2-Octanol (µg/l)	3-Octanol (µg/l)	Geosmin (ng/l)
1-Octen-3-ol (µg/l)	1,000	-0,613**	0,075	-0,261*	0,660**	0,146
2-Heptanol (µg/l)	-0,613**	1,000	-0,041	0,543**	-0,528**	-0,101
2-Methylisoborneol (ng/l)	0,075	-0,041	1,000	0,079	0,100	0,286**
2-Octanol (µg/l)	-0,261*	0,543**	0,079	1,000	0,056	0,106
3-Octanol (µg/l)	0,660**	-0,528**	0,100	0,056	1,000	0,194
Geosmin (ng/l)	0,146	-0,101	0,286**	0,106	0,194	1,000

* $\alpha \leq 0,05$ ** $\alpha \leq 0,01$; grün negative Korrelation; blau: positive Korrelation; (+/-) $r=0,1$ = schwacher Zusammenhang; (+/-) $r=0,3$ =mittlerer Zusammenhang; (+/-) $r=0,5$ =starker Zusammenhang

Vergleich der Gehalte an schimmelassoziierten Verbindungen in Weinproben

Im Gegensatz zu den Traubenproben wurden die Weinproben nicht visuell, sondern anhand von Ergebnissen der amtlichen Weinkommission in Klosterneuburg in gesunde (saubere) und fehlerhafte (schimmelige) Weine unterteilt. Es wurden sensorisch auffällige Proben analysiert. Der Abbildung 2 ist ein Überblick über die gefundenen Konzentrationen verschiedener Schimmelaromen in den Proben zu entnehmen.

Es wird ersichtlich, dass die untersuchten Rotweine signifikant höhere Gehalte an 1-Octen-3-ol, 2-Heptanol, 2-Methylisoborneol und Geosmin als Weißweine und signifikant höhere Gehalte an 2-Heptanol und Geosmin als Roséweine aufwiesen. In Rotweinen bewegten sich die Gehalte von 1-Octen-3-ol von rund 1 µg/l bis zu 12 µg/l. Die untersuchten Weißweine wiesen 1-Octen-3-ol-

Gehalte von nicht nachweisbar bis 8 µg/l auf. Die festgestellte Bandbreite der Gehalte von Roséweinen begann bei ca. 1 µg/l und endete bei ca. 7 µg/l. Die gefundenen Gehalte an 2-Heptanol in Rotweinen überstiegen die Gehalte in Weiß- bzw. Roséweinen um das Vier- bis Fünffache. 2-Methylisoborneol war in den meisten Weinen nicht nachweisbar, wobei beim Rotwein wesentlich mehr Ausreißer (neun Ausreißer) beobachtet wurden als beim Weiß- (zwei Ausreißer) und beim Roséwein (kein Ausreißer). In Rotweinen erstreckte sich die Konzentration an Geosmin von nicht nachweisbar bis 8 ng/l. In den Weißweinen hingegen lag der Geosmingehalt von nicht nachweisbar bis 4 ng/l, wobei bei den Ausreißern auch Werte gefunden wurden, die bis zu 46 ng/l reichten. Die analysierten Roséweine deckten den Gehaltsbereich von nicht nachweisbar bis zu 2 ng/ab.

Tabelle 10: Spearman Rangkorrelation der Konzentrationen an schimmelassoziierten Aromastoffen in Trauben

	1-Octen-3-ol (µg/l)	2-Heptanol (µg/l)	2-Methylisoborneol (ng/l)	2-Octanol (µg/l)	3-Octanol (µg/l)	Geosmin (ng/l)
1-Octen-3-ol (µg/l)	1,000	0,466**	0,166	-0,022	-0,024	0,149**
2-Heptanol (µg/l)	0,466**	1,000	0,297**	0,028	-0,113	0,412**
2-Methylisoborneol (ng/l)	0,166	0,297**	1,000	0,087	0,019	0,054
2-Octanol (µg/l)	-0,022	0,028	0,087	1,000	0,011	0,047
3-Octanol (µg/l)	-0,024	-0,113	0,019	0,011	1,000	0,074
Geosmin (ng/l)	0,149**	0,412**	0,054	0,047	0,074	1,000

* $\alpha \leq 0,05$ ** $\alpha \leq 0,01$; grün negative Korrelation; blau: positive Korrelation; (+/-) $r=0,1$ = schwacher Zusammenhang; (+/-) $r=0,3$ =mittlerer Zusammenhang; (+/-) $r=0,5$ =starker Zusammenhang

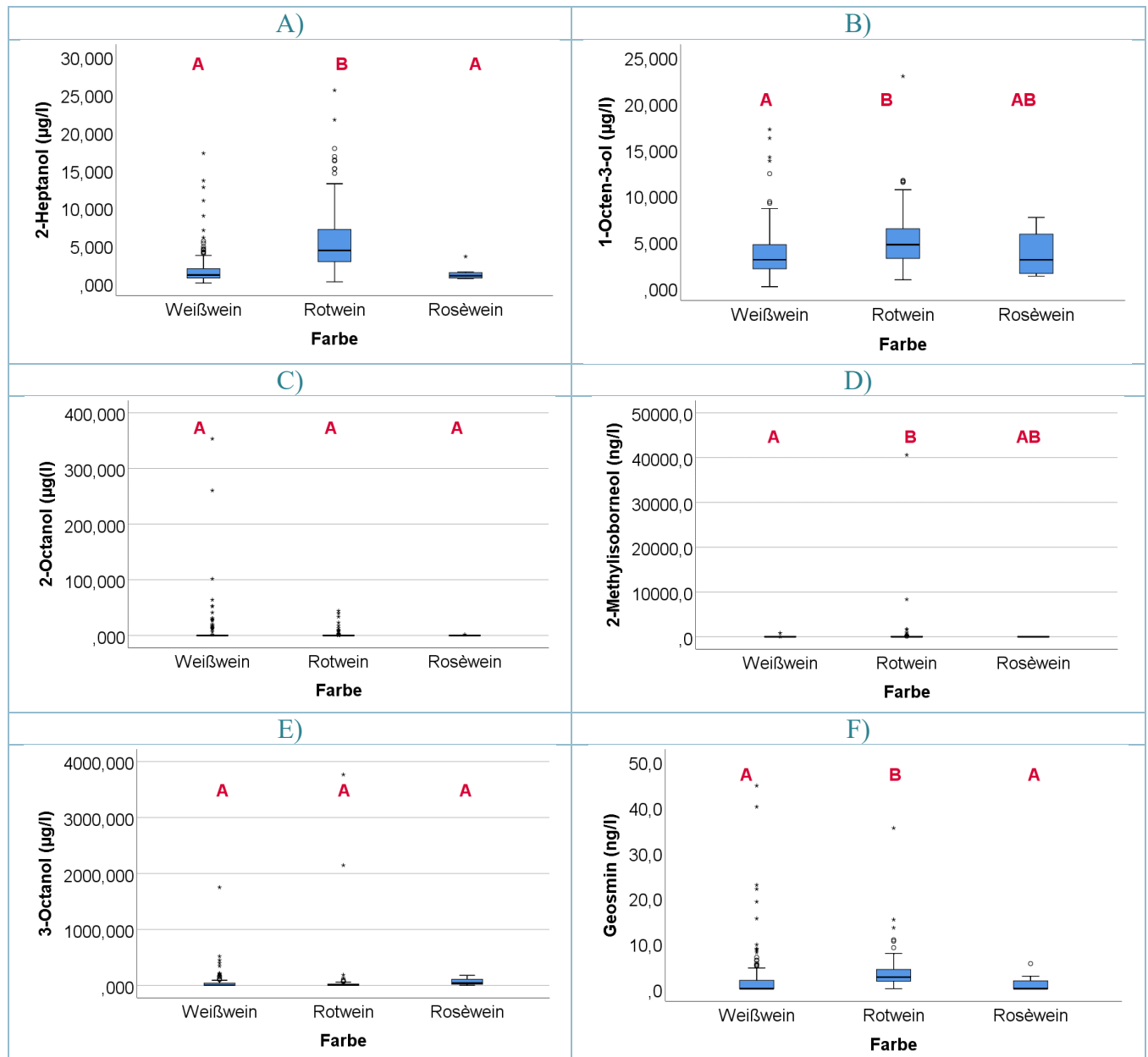


Abb. 2: Überblick Schimmelaromen: Signifikante Unterschiede zwischen Weißwein, Rotwein und Roséwein wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und paarweiser Vergleiche mittels Mann-Whitney U-Test auf dem Signifikanz-Niveau von $\alpha = 0,05$ ermittelt: A) 1-Octen-3ol; B) 2-Heptanol; C) 2-Methylisoborneol; D) 2-Octanol; E) 3-Octanol; F) Geosmin; unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an.

Analog zum Most wurden Korrelationen zwischen den Verbindungen kalkuliert (Tab. 9). Es wurden signifikant schwache positive Korrelationen zwischen den Verbindungen 2-Methylisoborneol und 2-Heptanol und Geosmin mit 1-Octen-

3-ol sowie eine signifikante mittlere positive Korrelation zwischen 1 Octen-3ol und 2-Heptanol sowie zwischen 2-Heptanol und Geosmin festgestellt.

Interpretation der Geosmingehalte der verschiedenen Weinsorten im Kontext der Geruchsschwellenwerte

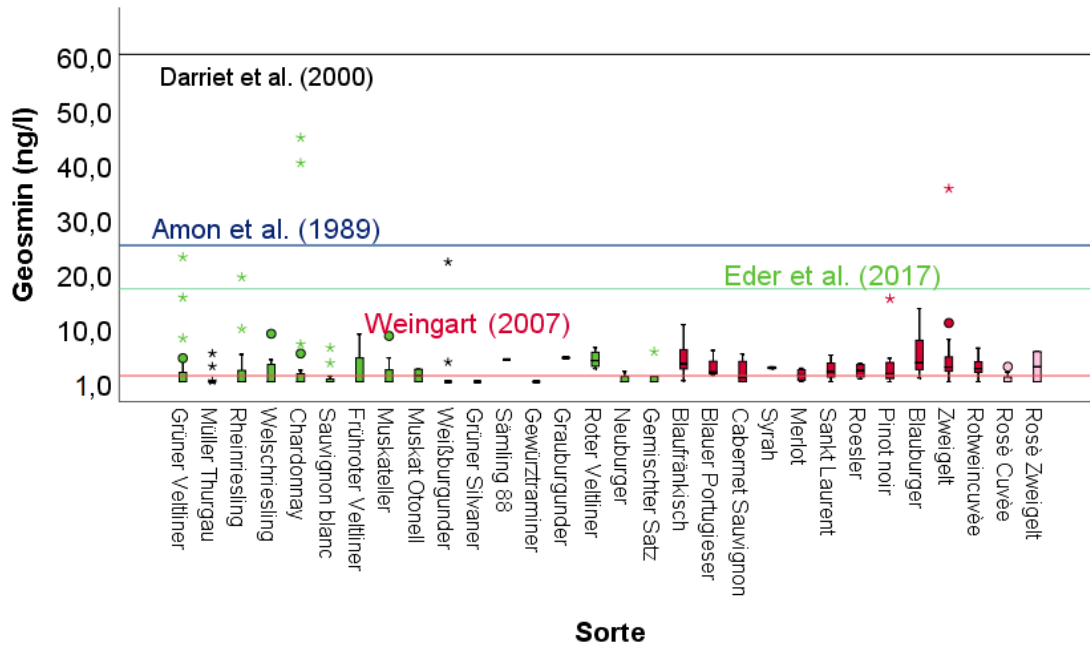


Abb. 3: In der gegenständlichen Studie ermittelte Geosmingehalte in unterschiedlichen Weinen im Kontext der in der Literatur beschriebenen Geruchsschwellenwerte

Der sensorische Impact von Geosmin auf die untersuchten Weinproben wird in der Abbildung 3 skizziert. Die Heterogenität der in der Literatur beschriebenen Geruchsschwellenwerte zeigte einen erheblichen Einfluss auf das Ergebnis. Während der Schwellenwert von Darriet et al (2000) bei keiner einzigen Probe überschritten wurde, wären beim Schwellenwert von Weingart (2007) fast alle Proben vom Geosmin sensorisch beeinflusst. Der Schwellenwert von Weingart (2007) wurde allerdings in Kunstwein erhoben und ist daher vermutlich zu gering. Die hier beschriebene Problematik zeigt allerdings die volle Komplexität des Themas. Bei der sensorischen Beurteilung von Weinen sind Parameter wie Schulung, Begabung und vor allem Matrix wesentlich (Lawless und Heymann, 2010). Die angegebenen Geruchsschwellenwerte von Amon et al. (1989) und Eder et al. (2017) (beide in Weißwein) sind höher als die gefundenen Geosmingehalte in den meisten Proben. In vielen der abgelehnten Weine konnte analytisch gar kein Geosmin nachgewiesen werden. Die meisten Ablehnungen bei der amtlichen Kost dürften allerdings multikausale

Gründe haben oder eben auf dem sensorischen Impact anderer Verbindungen beruhen.

Schlussfolgerung

Im Zuge der vorliegenden Arbeit wurde eine analytische Methode zur Quantifizierung von Schimmelaromen in Trauben (Most) und Wein entwickelt und eine große Anzahl an Proben analysiert. In sehr vielen gefaulten Trauben sowie in sensorisch auffälligen Weinproben waren mit Schimmelaromen assoziierte Substanzen nachweisbar, allerdings war das nicht zwingend. Welchen Einfluss die in der gegenwärtigen Studie analysierten mit Schimmelaromen assoziierten Substanzen tatsächlich auf das Aroma der Weine hatten, wurde im Zuge der vorliegenden Arbeit noch nicht vollständig geklärt. Geosmin ist für die sensorische Ablehnung eines Großteils der Proben wahrscheinlich nicht alleine ausschlaggebend, allerdings spielen im Wein synergistische Effekte eine große Rolle. Diese Annahme kann gewissermaßen von den verschiedenen Ergebnissen der

Arbeit bestätigt werden. Das zeigt sich einerseits, weil in nur wenigen sensorisch auffälligen Weinproben die Geruchsschwellenwerte für Geosmin in Weißwein überschritten wurden, und andererseits, weil die Korrelationsanalysen zwischen den Aromastoffen zeigen, dass einige Verbindungen (insbesondere 1 Octen-3-ol und 2 Heptanol) signifikant positiv mit der Geosminkonzentration im Wein (allerdings nicht in den Trauben) korrelierten. Diesbezüglich sind spezifische sensorische

Studien gepaart mit Laboranalysen zu den Synergismen und der Entstehung des Schimmeltons sinnvoll. Auch zeigen einzelne Ausreißer nach oben, dass Studien zur möglichen Reduktion von Schimmelaromen sinnvoll und zu empfehlen sind.

Literatur

Amon, J. M., Vandepuer, J. M., Simpson, R. F. 1989: Compounds responsible for cork taint in wine. *Wine Ind. J.*, 4: 62-69.

Bundesminister für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft 2003: Kostverordnung BGBl II 256/2003

Darriet, P., Pons, M., Lamy, S., La Guereche, S., Pons, M., Dubourdiu, D., Blancard D., Steliopoulos, P., Mosandl, A. 2000: Identification and quantification of geosmin, an earthy odorant contaminating wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10): 4835-4838.

Darriet, P., Lamy, S., La Guerche, S., Pons, M., Dubourdiu, D., Blancard, D., Steliopoulos, P., Mosandl, A. 2001: Stereodifferentiation of geosmin in wine. *European Food Research and Technology*, 213(2): 122-125.

Darriet, P., La Guerche, S., Dauphin, B., Sauris, P., Blancard, D. 2007: Botrytis cinerea and other bunch rot complexes : impact on musts and wines off-flavors. 14th international botrytis symposium, Cape Town, South Africa (2007) Online unter: http://academic.sun.ac.za/botrytis2007/Darriet_keynote.doc (zuletzt zugegriffen: 23.11.2021)

Darriet, P., La Vacher, B., Pons, M., La Guerche, S., Dauphin B., Poupot, C., Sauris, P., Blancard, D. 2008: Characterization of off-flavours in musts and wines caused by bunch rot fungi CRP-Gabriel Lippmann. (zuletzt zugegriffen 01.07.2010)

Dumoulin, M., Riboulet, J. M. (2004). Analyse de géosmine dans les vins: apport de la microextraction en phase solide (SPME) couplée

à l'analyse par GC-MS. *Revue française d'oenologie*, (208): 28-30.

Eder, R., Weingart, G., Nauer, S. 2017: Reconsidering the potential of geosmine as indicator for grape health and sensorial wine quality. Poster bei der In Vino Analytica Scientia, Salamanca, 2017

Fleet, G.H. 1993: *Wine Microbiology and Biotechnology* Routledge Chapman & Hall. Springer, 1993

Clemenz, A., Sterflinger, K., Kneifel, W., Mandl, K. 2008: Airborne fungal microflora of selected types of wine-cellars in Austria. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 58: 17-22.

Jackson, R.S. 2000: *Wine science. Principles, practice, perception.* San Diego: Academic Press, 2000, 2nd ed. 648.

Jackson, R.S. 2005: *Wine science. Principles and applications.* Amsterdam: Elsevier Acad. Press, 3rd ed. 747.

Kennel F. 2005: Bordeaux boffin solves geosmin conundrum - decanter.com - the route to all good wine (2005) Online unter: <http://www.decanter.com/news/60674.html>, 14.04.2010.

Kugler, D., Rapp, A. 2006: Bildung und Entstehung von Inhaltsstoffen in Korkborke während des Herstellungsprozesses von Flaschenkorken. *DEUT LEBENSM-RUNDSCHAU* 6, 1997: 174-177.

La Guerche, S. 2006: Mouldy-earthy faults in wines - Geosmin identified as the main compound responsible. www.infowine.com, *Internet Journal of Viticulture and Enology*.

La Guerche, S., De Senneville, L., Blancard, D., Darriet, P. 2007: Impact of the *Botrytis cinerea* strain and metabolism on (-)-geosmin production by *Penicillium expansum* in grape juice. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92(3): 331-341.

La Gureche, S., Darriet, P. 2005: Déviations organoleptiques des moûts et des vins associées aux pourritures des raisins. Étude particulière de la géosmine. *Revue des CEno-logues* 115, 2005: 13–16.

Lawless, H. T., Heymann, H. 2010: Sensory evaluation of food: principles and practices (Vol. 2). New York: Springer.

Lee, T. H., Simpson, R. F. 1993: Microbiology and chemistry of cork taints in wine. *Wine microbiology and biotechnology*: 353-372.

Nauer, S. 2010: Vorkommen und Stabilität von Geosmin und anderen schimmelassoziierten Verbindungen in Trauben und Wein und technologische Maßnahmen zur Reduzierung. Berhofer, E. und Eder, R. (eds). Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, 2010.

Paterson, R. R. M., Venâncio, A., Lima, N. 2007: Why do food and drink smell like earth?.

Picco, A. M., Rodolfi, M. 2004: Assessments of indoor fungi in selected wineries of Oltrepo Pavese (Northern Italy) and Sottoceneri (Switzerland). *American journal of enology and viticulture*, 55(4): 355-362.

Rapp, A., Mandery, H. 1986: Wine aroma. *Experientia*, 42(8): 873-884. Riberau-Gayon und Peynaud, 1964.

Semichon 1905: *Traité des maladies des vins*. Masson éditeur, Paris

Simpson, R. F. 1990: Cork taint in wine: A review of the causes. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 5(4): 286-96.

Weingart, G. 2007: Analytische und sensorische Bestimmung von 2,4,6-Trichloranisol und Geosmin in Wein. Diplomarbeit an der Universität Wien.

Weingart, G., Schwartz, H., Eder, R., Sontag, G. 2010: Determination of geosmin and 2, 4, 6-trichloroanisole in white and red Austrian wines by headspace SPME-GC/MS and comparison with sensory analysis. *European Food Research and Technology*, 231(5): 771-779.

Eingelangt am 10. Dezember 2021