

Untersuchungen über die Entstehung des „Mäuseltons“ in Wein und Modelllösungen

HANS Lay

Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau
D-74189 Weinsberg, Traubenplatz 5
E-mail: hans.lay@lvwo.bwl.de

Als verursachende Mikroorganismen für das „Mäuseln“ werden verschiedene Brettanomyces/Dekkera-Hefen sowie bestimmte Milchsäurebakterien (Oenococcus oeni, Lactobacillen) angeführt. Bislang konnten 2-Acetyl-1-pyrrolin, 2-Acetyl-tetrahydropyridin und 2-Ethyl-tetrahydropyridin als den „Mäuselton“ verursachende Substanzen nachgewiesen werden. Aus 2-Acetylpyridin wurde in einer zweistufigen Reaktion 2-Acetyl-tetrahydropyridin synthetisiert, welches als tautomeres Gemisch anfiel, wobei das Enamin (2-Acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridin) die stabilere Form darstellt. In einer weinsauren Lösung wurde die Geruchsschwelle dieses Gemisches ermittelt. Der Versuch, 2-Acetyl-tetrahydropyridin durch thermische Reaktion von Prolin mit Glucose bzw. Dihydroxyaceton herzustellen, führte nicht zu dem gewünschten Erfolg. Ein Zusammenhang zwischen erhöhten Gehalten an Isobuttersäure, Isovaleriansäure und Capronsäure konnte experimentell nicht nachvollzogen werden. Dagegen bildeten verschiedene Brettanomyces-Hefen (B. bruxellensis, B. intermedius) in Gegenwart von Lysin oder Ammoniumphosphat sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen einen mehr oder weniger stark ausgeprägten „Mäuselton“. In Gegenwart verschiedener Pflanzenschutzmittel konnte mit Brettanomyces kein „Mäuselton“ erzeugt werden. Versuche, den „Mäuselstoff“ mit Hilfe verschiedener Enzyme oder kellertechnischer Maßnahmen zu beseitigen, führten nur teilweise zum Erfolg.

Schlagwörter: Wein, Mäuseln, 2-Acetyl-1-pyrrolin, 2-Acetyl-tetrahydropyridin, 2-Ethyl-tetrahydropyridin, Brettanomyces

Research on the development of “mousy taint” in wine and model solutions. Mousy taint is a serious microbiological defect of wine. Causal microorganisms are different Brettanomyces/Dekkera yeasts as well as certain lactic acid bacteria such as Leuconostoc oenos (Oenococcus oeni) and Lactobacillus. Brettanomyces yeasts are frequently found in wooden casks from which they are hard to remove. Mousy taint can particularly occur in wines which are low in acid, oxidative and with a residual sugar content, as well as in berry wines and other beverages. So far 2-acetyl-1-pyrroline, 2-acetyltetrahydropyridine and 2-ethyltetrahydropyridine have been identified as substances present in mousy wines. 2-Acetyltetrahydropyridine was synthesized in a two-stage process from 2-acetylpyridine and in consequence the aroma threshold value in a tartaric acid solution determined. Acetyltetrahydropyridine was synthesised as a tautomeric mixture, whereby the enamine (2-acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine) represents the favoured form in wine and predominants in a 3:2 ratio. The synthesis of 2-acetyltetrahydropyridine by thermal reaction of proline with glucose or dihydroxyacetone failed. A correlation between increased contents of iso-butyric acid, iso-valeric acid and caproic acid, which was observed partly in mousy wines, could not be reconstructed experimentally. It has been shown that different Brettanomyces yeasts (B. bruxellensis, B. intermedius) in the presence of lysine or ammonium phosphate formed both under aerobic and anaerobic conditions a more or less strongly distinctive mousy taint. In the presence of different plant protection products no mousy taint could be produced with Brettanomyces yeasts: formation was only possible in the presence of different nitrogen containing substances such as ammonium phosphate or lysine. Attempts, to eliminate the mousy taint with different enzymes or other enological methods led only to partial success.

Key words: Wine, mousy taint, 2-acetyl-1-pyrroline, 2-acetyl-tetrahydropyridine, 2-ethyl-tetrahydropyridine, Brettanomyces

Recherches sur le "goût de souris" dans le vin et dans des solutions type. Des microorganismes tels que différentes levures du genre *Brettanomyces/Dekkera* ainsi que certaines bactéries lactiques (*Oenococcus oeni*, *Lactobacilles*) sont censés être à l'origine du "goût de souris". À ce jour, il a été possible de prouver que la 2-acétyl-1-pyrroline, la 2-acétyltétrahydropyridine et la 2-éthyltétrahydropyridine sont des substances causant le "goût de souris". On a synthétisé de la 2-acétyltétrahydropyridine à partir de la 2-acétylpyridine au cours d'une réaction en deux phases. Dans une solution d'acide tartrique le seuil de perception olfactive a été déterminé. La 2-acétyltétrahydropyridine a été obtenue sous forme d'un mélange tautomère, l'énamine (2-acétyl-1,4,5,6-tétrahydropyridine) présentant la forme la plus stable. La tentative de produire de la 2-acétyltétrahydropyridine par l'intermédiaire de la réaction thermique de la proline avec du glucose et/ou de la dihydroxyacétone n'a pas été couronnée de succès. Une relation entre les teneurs élevées en acide isobutyrique, en acide isovalérique et en acide caproïque n'a pas pu être prouvée par voie expérimentale. En revanche, les différentes levures *Brettanomyces* (*B. bruxellensis*, *B. intermedius*) ont entraîné un "goût de souris" plus ou moins fort en présence de lysine ou de phosphate d'ammonium, tant dans des conditions aérobies qu'anaérobies. Aucun "goût de souris" n'a pu être obtenu avec des *Brettanomyces* en présence de différents produits phytosanitaires. Des tentatives d'éliminer le "goût de souris" à l'aide de différents enzymes ou de mesures viticoles n'ont pas toujours été couronnées de succès.

Mots clés: vin, goût de souris, 2-acétyl-1-pyrroline, 2-acétyl-tétrahydropyridine, 2-éthyl-tétrahydropyridine, *Brettanomyces*

ERCKMANN (1898) beschreibt bereits den „Mäuselton“ sehr treffend als „Geschmack, der oft auf der Zunge einen Nachgeschmack hinterlässt, der an den Geruch von Mäusen erinnert, die in einem Käfig eingesperrt sind“. Er vermutete als Ursache dieses Fremdtones die Bildung von Acetamid, eine Verbindung, die einen auffallenden „Mäusegeruch“ besitzt. MÜLLER-THURGAU und OSTERWALDER (1913) erkannten bereits Bakterien als Ursache des „Mäuseltones“. Seit dieser Zeit zählt das „Mäuseln“ in der önologischen Literatur nicht mehr zu den allgemeinen Weinkrankheiten, sondern zu den Bakterienkrankheiten. SCHANDERL (1948) bezweifelte diese mikrobiologische Ursache. Er führte das „Mäuseln“ auf einen während der Gärung gebildeten Grundstoff und ein hohes Redoxpotenzial zurück. Nach seinen Beobachtungen trat das „Mäuseln“ immer in solchen Weinen auf, die bereits während der Gärung viel Luft aufnehmen konnten oder schon als Most ein hohes Redoxpotenzial mitbrachten und wenig geschwefelt

wurden. Bakterien waren für ihn nur die indirekten Erreger. Erst TUCKNOTT (1977) konnte den eindeutigen Zusammenhang aufklären zwischen Hefen und Bakterien, die das „Mäuseln“ erzeugen können. In seinen Versuchen fand er den Hinweis, dass Alkohol und Lysin für die Bildung verantwortlich sein müssen. Über die Entstehung des Fehltones war aber immer noch wenig bekannt. Besonders auffallend ist das häufige Auftreten des „Mäuseltones“ in säurearmen, oxidativen und Restzucker enthaltenden Weinen, Beerenweinen und anderen Getränken. Die Fehlentwicklung scheint demnach an aerobe Bedingungen geknüpft zu sein. Erst STRAUSS und HERESZTYN (1984) entdeckten mit Hilfe moderner Analysemethoden (GC-MS) die beiden tautomeren Formen von 2-Acetyl-tetrahydropyridin als eindeutige Ursache für den „Mäuselgeschmack“ (Abb. 1). Beide tautomere Formen sind bereits seit langem bekannte, wichtige Aromakomponenten gebackenen Brotes (BÜCHI und WÜEST, 1971). Die Bildung erfolgt hier durch eine Maillard-Reaktion. Aber auch beim Erhitzen von Prolin mit Dihydroxyaceton oder Glucose soll diese Aromakomponente entstehen. Zwei Jahre nach der Entdeckung von 2-Acetyl-tetrahydropyridin isolierte HERESZTYN (1986) Hefen und Bakterien aus australischen Weinen mit einem „Mäuselton“. Mit denselben Mikroorganismen ge-

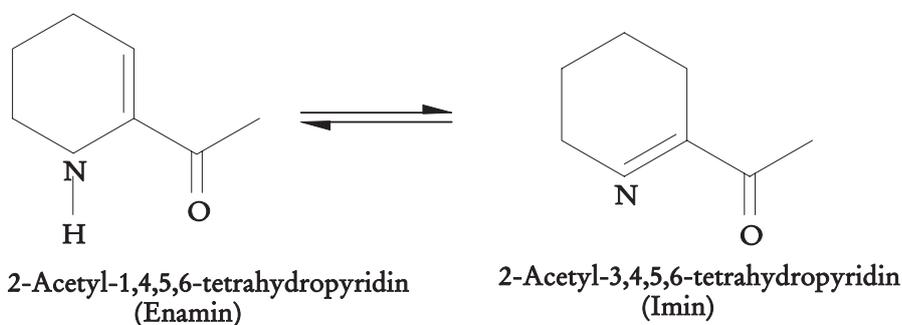


Abb. 1: Tautomere Formen von 2-Acetyl-tetrahydropyridin

lang es dann auch, einen „Mäuselton“ unter Laborbedingungen zu erzeugen.

Die von ihr isolierten Brettanomyces/Dekkera-Hefen sowie bestimmte Milchsäurebakterien wie *Leuconostoc oenos* (*Oenococcus oeni*) und Lactobacillen (*Lactobacillus brevis* und *L. cellobiosus*), nicht dagegen Pediococceen, können im Wein einen „Mäuselton“ hervorrufen. Brettanomyces-Hefen werden häufig in Holzfässern angetroffen, da diesen Hefen die beim enzymatischen Abbau des Lignins entstehenden Zucker zum Leben ausreichen. Selbst das Toasten oder Ausbrennen eines Holzfasses können diese Mikroorganismen in Nischen des Holzes überleben (GÖSSINGER, 1999). Auch in Gegenwart von Methanol oder Propanol anstatt Ethanol kann nach SCHEER und DITTRICH (1989) ein „Mäuselgeschmack“ entstehen. Entgegen früheren Beobachtungen ist auch eine Bildung von Acetyl-tetrahydropyridin ohne Lysin in Mengen zwischen 0 bis 60 µg/l möglich. Bei Weinhefe wurde das Auftreten eines „Mäuseltones“ bislang noch nicht beobachtet.

Das „Mäuseln“ wird gewöhnlich spät oder verspätet am Gaumen wahrgenommen und kann je nach Sensibilisierung des Kosters mehr als zehn Minuten anhalten. Alle „Mäuseltöne“ basieren auf basischen Heterocyclen und sind daher beim pH-Wert des Weines wegen ihres Salzcharakters nicht flüchtig. Den stärksten „Mäuselgeschmack“ erzeugt 2-Acetyl-1-pyrrolin, gefolgt vom 2-Acetyl-tetrahydropyridin. Den geringsten Geschmackseindruck hinterlässt 2-Ethyl-tetrahydropyridin (GRBIN et al., 1995), das nach den bisherigen Beob-

achtungen in einem mäuselnden Wein unter der Geruchsschwelle von 150 µg/l vorliegt. 2-Acetyl-1-pyrrolin wurde erstmals 1995 von HERDERICH et al. (1995) isoliert. Der Schwellenwert für das Enamin von 2-Acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridin in Wasser liegt bei 1,6 µg/l (WÜRDIG und WOLLER, 1989). In Tabelle 1 sind die Strukturen, Konzentrationen, Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte verschiedener stickstoffhaltiger Heterocyclen, die in Wein einen „Mäuselgeschmack“ erzeugen können, aufgeführt.

Der Nachweis eines „Mäuseltones“ im Wein gelingt am einfachsten durch Zerreiben einer kleinen Weinmenge von etwa 1 ml mit dem Handballen in der Handfläche und anschließendem Abriechnen. Auch durch Eintauchen eines zuvor alkalisch gemachten und anschließend getrockneten Filterpapierstreifens in das betreffende Getränk werden die „Mäuselstoffe“ freigesetzt und können somit geruchlich wahrgenommen werden.

In Zusammenhang mit dem Auftreten des „Mäuseltones“ werden von DITTRICH (1987) und SCHNEIDER (2000) auch erhöhte Gehalte an flüchtiger Säure und D-Lactat erwähnt. Nach ihren Beobachtungen überstiegen die Gehalte niederer Fettsäuren, wie i-Buttersäure, i-Valeriansäure und Capronsäure, die normalen Gehalte um etwa den Faktor 10.

Material und Methoden

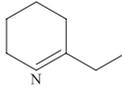
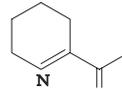
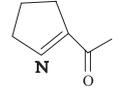
Herstellung von 2-Acetyl-1,4,5,6-, bzw. 3,4,5,6-tetrahydropyridin nach Büchi und Wüest (1971)

2-Acetylpyridin wird über 5%-igem Rhodium auf Aluminium als Katalysator zu 2-(1-Hydroxyethyl)-piperidin [1-(2-Piperidenyl)-ethanol] hydriert und durch eine fraktionierte Destillation gereinigt. Der entstandene Alkohol wird danach mit Silbercarbonat auf Celite zu 2-Acetyl-tetrahydropyridin oxidiert und ebenfalls destillativ gereinigt. Bei dieser Ein-Schritt-Synthese entsteht sofort das Enamin-Keton (Abb. 2).

Das Tautomerengemisch (Abb. 1) besteht anfangs aus zwei Dritteln 2-Acetyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin (Imin) und zu einem Drittel aus 2-Acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridin (Enamin). Das Imin entsteht als unmittelbares Oxidationsprodukt. Beim längeren Erhitzen kehrt sich dieses Verhältnis um, dann überwiegt das Enamin als stabilere Form. Gegenüber Luft sind beide Substanzen empfindlich.

Tabelle 1:

Struktur, Vorkommen, Geruchs- und Geschmacksschwellen von Substanzen, die einen Mäuselton verursachen (GRBIN, 1995)

Verbindung	Struktur	Geruchs-/Geschmacksschwelle	Konzentration in Wein (µg/l)
Ethyl-tetrahydropyridin (ETPy)		150 µg/l (Geschmack in Wein)	2,7 - 18,7
Acetyl-tetrahydropyridin (ACTPy) (Tautomere)		1,6 µg/l (Geruch in Wasser)	4,8 - 106
Acetyl-pyrroline (ACP)		0,1 µg/l (Geruch in Wasser)	Spuren - 7,8

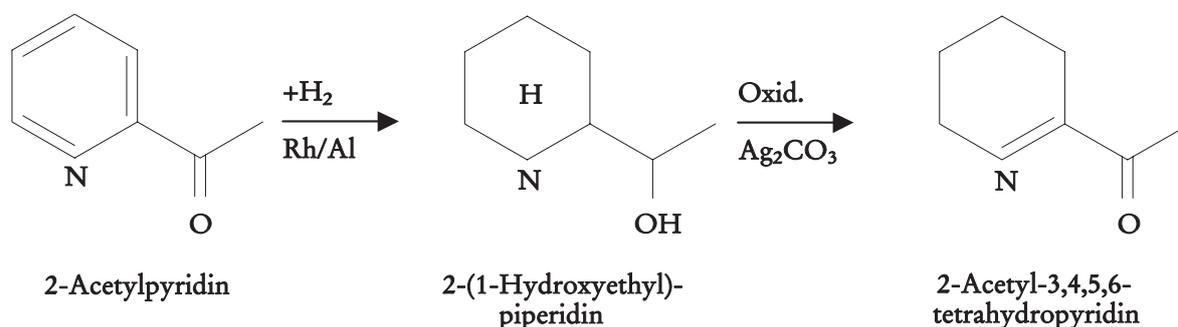


Abb. 2: Synthese von 2-Acetyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin aus 2-Acetylpyridin

Chemikalien zur Hydrierung und Oxidation Durchführung der Oxidation

Hydrierung über Natrium absolutiertes Ethanol

2-Acetylpyridin (Fa. Aldrich, Produkt-Nummer A,2100-2)

Rhodium auf Aluminium 5%-ig (Fa. Aldrich, Produkt-Nummer 21,285-7)

Wasserstoff (Fa. Linde, Produkt-Nummer 3180152, Reinheit 3,0)

Oxidation

Silbernitrat (z.B. Fa. Merck, Produkt-Nummer 101512)

Celite (z.B. Fa. Roth, Produkt-Nummer 503)

Natriumhydrogencarbonat (z.B. Fa. Merck, Produkt-Nummer 106329)

Benzol, frisch destilliert (z.B. Fa. Merck, Produkt-Nummer 101783)

Stickstoff (z.B. Fa. Linde, Produkt-Nummer 2220152, Reinheit 4,6)

Herstellung von Silbercarbonat

Die Vorschrift nach BÜCHI und WÜEST (1971) wurde geringfügig modifiziert. Es werden 60 g Silbernitrat in 360 ml Wasser gelöst, danach 50 g Celitepulver zugefügt und gut aufgerührt. Zu der Suspension gibt man langsam 37 g in 500 ml destilliertem Wasser gelöstes Natriumhydrogencarbonat. Nach ca. zehn Minuten gleichmäßigem Rühren wird mit Wasserstrahlvakuum abfiltriert, der Niederschlag mit destilliertem Wasser gewaschen und anschließend noch eine Stunde unter Wasserstrahlvakuum getrocknet. Dieser Trocknungsvorgang im Vakuum wird mit dem in drei Portionen aufgeteilten Filterrückstand nochmals zwei Stunden lang bei 40 bis 50 °C wiederholt.

Das getrocknete Silbercarbonat wird in einem 1-l-Dreihalskolben vorgelegt, ausgestattet mit einem Rückflusskühler, einem Aufsatz zum Anlegen eines Wasserstrahlvakuum und einem Probenaufgabegefäß, das 7 g in 200 ml Benzol gelöstes 1-(2-Piperidyl)-ethanol enthält. Über den Rückflusskühler wird ein Stickstoffstrom eingeleitet. Als Ausdehnungsgefäß dient ein Gummiballon. Das ganze System wird mehrmals mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und gründlich mit Stickstoff gespült, danach das in Benzol gelöste Piperidylethanol langsam dem Silbercarbonat zugefügt. Jeglicher Sauerstoffzutritt muss vermieden werden. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 22 Stunden unter Rühren am Rückfluss erhitzt. Der Gummiballon gleicht einen entstehenden Überdruck aus. Das Reaktionsgemisch wird über ein Faltenfilter filtriert, der Rückstand mit etwas Benzol gewaschen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Die Reinigung des bräunlichen Rückstands erfolgt mit Hilfe einer Mikrodestillations-Apparatur. Das Tautomerengemisch destilliert ohne Kühlung bei 46 °C (0,5 mbar) über. Die luftempfindliche Substanz ist nur in Lösung oder bei tiefen Temperaturen (-18 °C) einige Zeit haltbar.

Ergebnisse und Diskussion

Analyse des Oxidationsproduktes

In Ethanol weist das UV-Spektrum der Probe bei einer Wellenlänge von 310 nm die maximale Absorption auf.

Mittels IR-Spektroskopie waren bei folgenden Wellenzahlen charakteristische Signale detektierbar: 3400 cm^{-1} (N-H-Valenzschwingung); 2950 bis 2800 cm^{-1} (-CH₃ und -CH₂ Valenzschwingungen); 1680 cm^{-1} (α,β -ungesättigte Ketone; Valenzschwingung); 1620 cm^{-1} (C=C-Valenzschwingung); 1700 cm^{-1} (C=N-Doppelbindungsvalenzschwingung).

Das H-NMR-Spektrum des Imins und Enamins (Tabelle 2) stimmt mit dem von BÜCHI und WÜEST (1971) überein.

Tabelle 2:
Ergebnisse der H-NMR-Spektroskopie

Enamin	Imin
δ 1,5 (2H, m)	δ 1,20 (4H, m)
δ 1,9 (2H, m)	δ 2,15 (2H, m)
δ 2,0 (3H, s)	δ 2,25 (3H,s)
δ 2,8 (2H,t)	δ 3,50 (2H, m)
δ 4,3 (1H,s, breit)	
δ 5,2 (1H,t)	

Nicht identifiziert werden konnten die Signale: δ 2,6 (s); δ 4,9 (q).

Bei einer vorsichtigen Interpretation der Kernresonanzspektren ist eine Umwandlung des 2-Acetyl-tetrahydro-pyridins in die Ausgangssubstanz 2-Acetylpyridin denkbar, das ebenfalls einen ausgeprägten „Mäuselton“ besitzt.

Überprüfung des Geruchsschwellenwertes in einer weinsauren Lösung

Der Geruchsschwellenwert von 2-Acetyl-tetrahydro-pyridin wird mit 1,6 $\mu\text{g/l}$ in Wasser angegeben (GRBIN et al., 1995). Zur Überprüfung des Geruchsschwellenwertes wurden fünf Probanden unterschiedliche Konzentrationen von 2-Acetyl-tetrahydro-pyridin in einer wässrigen Weinsäure-Lösung vorgesetzt.

Eine Stammlösung von 2-Acetyl-tetrahydro-pyridin wurde mit einer wässrigen Weinsäure-Lösung (7 g/l Weinsäure mit Natriumhydroxid auf pH-Wert 3 eingestellt) auf die entsprechenden Konzentrationen verdünnt und der Test mit aufsteigenden Konzentrationen durch intensives Verreiben eines Tropfens der verdünnten Lösung in der Handfläche durchgeführt. Die in Tabelle 3 angeführten Konzentrationen geben jeweils an, wann der erste Geruchseindruck festgestellt wurde.

Tabelle 3:
Geruchsschwellenwert von 2-Acetyl-tetrahydro-pyridin (ATPy) in weinsauren Lösung (pH-Wert 3,0)
(A : Geruchseindruck der Lösung; B : Geruchseindruck auf der Handfläche)

Proband Nr.		2-Acetyl-tetrahydro-pyridin in Lösung			
		0,745 $\mu\text{g/l}$	1,49 $\mu\text{g/l}$	3,725 $\mu\text{g/l}$	7,4 $\mu\text{g/l}$
1	A	negativ	negativ	leicht pos.	deutlich pos.
	B	negativ	negativ	leicht pos.	deutlich pos.
2	A	negativ	positiv	positiv	deutlich pos.
	B	negativ	positiv	positiv	deutlich pos.
3	A	negativ	positiv	positiv	deutlich pos.
	B	negativ	negativ	positiv	deutlich pos.
4	A	leicht pos.	deutl. pos.	positiv	deutlich pos.
	B	negativ	leicht pos.	positiv	deutlich pos.
5	A	negativ	positiv	positiv	deutlich pos.
	B	negativ	negativ	positiv	deutlich pos.

Tabelle 4:
Chemische Zusammensetzung von Testlösungen

Spurenelement-Lösung	Modell-Lösung
50 mg Borsäure	80 g Glucose
4 mg Kupfersulfat x 5 H ₂ O	80 g Fructose
10 mg Kaliumjodid	3,5 g Weinsäure
20 mg Eisen-III-chlorid x 6 H ₂ O	3,5 g Äpfelsäure
40 mg Mangansulfat	309 μg Thiamin
20 mg Ammoniummolybdat	622 mg Meso- Inosit
40 mg Zinksulfat	1 ml Spurenelement-Lösung
10 mg Biotin	(wie nebenstehend)

Als Blindwert diente die auf pH-Wert 3 eingestellte Weinsäurelösung.

Die Verdünnungen, sowie weitere Konzentrationen zwischen 10,9 µg/l und 1,09 µg/l, wurden einen Monat im Kühlschrank aufbewahrt und danach wieder sensorisch getestet. Bei einer Konzentration von weniger als 109 µg/l konnte nach dieser Zeit kein „Mäuselton“ mehr wahrgenommen werden. Bei einer mikroskopischen Untersuchung des Tautomerengemisches wurden begeißelte Stäbchenbakterien identifiziert, die vermutlich das 2-Acetyl-tetrahydropyridin abgebaut hatten.

Versuche zur Bildung von 2-Acetyl-tetrahydropyridin durch thermische Reaktion von Prolin mit Glycerin bzw. Dihydroxyaceton

In der Literatur wird die Bildung eines „Mäuseltones“ durch Erhitzen von Prolin entweder mit Dihydroxyaceton oder Glucose beschrieben (BÜCHI und WÜEST, 1971). Nach unseren Untersuchungen konnte in einem synthetischen Substrat aus Glucose (80 g/l), Fructose (80 g/l), Äpfelsäure (3 g/l), Weinsäure (3 g/l), L(-)-Prolin (500 mg/l) und Glycerin (500 mg/l), gelöst in destilliertem Wasser und mit Natronlauge auf pH-Wert 3 eingestellt, bei Erhitzung unter Rückfluss auf 83 °C und unterschiedlichen Zeitintervallen zwischen fünf und 40 Minuten, bei keiner Variante ein „Mäuselton“ beobachtet werden. Auch unterschiedliche Konzentrationen von Glycerin und Prolin in Mengen zwischen 500 und 2000 mg/l führten nicht zu dem gewünschten Erfolg. Selbst bei einem Zusatz von Ethanol war unter den vorgenannten Bedingungen kein „Mäuselton“ zu erzeugen. Röstprozesse, wie sie beim Backen von Brot vorkommen, wurden nicht untersucht.

Einfluss von Pflanzenschutzmitteln auf die Bildung des „Mäuseltones“

In einer weiteren Versuchsreihe sollte geklärt werden, ob bestimmte Pflanzenschutzmittel zur Bildung eines „Mäuseltones“ beitragen können. Die Kultivierung erfolgte in einem sterilen Traubensaft, der mit *Brettanomyces lambicus* und *B. bruxellensis* infiziert wurde unter aeroben und anaeroben Bedingungen.

Eingesetzt wurden die Fungizide Bayleton (Wirkstoff: Triadimefon), Polyram combi (Wirkstoff: Metiram) und Rovral (Wirkstoff: Iprodion). Als Vergleich dienten Ansätze ohne diese Wirkstoffe.

Nach einer Kultivierung von drei Wochen konnte bei keinem der anaerob vergorenen Ansätze ein „Mäuselton“ beobachtet werden. Die Bildung des Fehltones erfolgte eher verzögert und dauerte bis zu einer deutlichen Wahrnehmung etwas länger als vier Wochen. Unter aeroben Gärbedingungen war dagegen schon nach einer Woche ein leichtes „Mäuseln“ festzustellen. Ein direkter Zusammenhang zwischen den zugesetzten Pflanzenschutzmitteln und dem Auftreten eines „Mäuseltones“ konnte nicht hergestellt werden.

Bildung von 2-Acetyl-tetrahydropyridin in Abhängigkeit von Lysin und Ammoniumphosphat

Zur Untersuchung der Bildung des „Mäuseltones“ durch Saccharomyces und verschiedene Brettanomyces-Stämme (*bruxellensis*, *intermedius*, *lambicus*) in Abhängigkeit von der Stickstoffquelle wurden sowohl Traubensaft (0,5 l, versetzt mit 1 g Calciumcarbonat und 0,5 ml Spurenelementlösung, aufgefüllt mit bidestilliertem Wasser auf 1 l) als auch eine Modell-Lösung (Tab. 4) verwendet.

Die Stoffe für die Modell-Lösung wurden in knapp einem Liter sterilem Wasser gelöst und anschließend mit Natronlauge auf pH-Wert 3,2 eingestellt und auf einen Liter aufgefüllt. Die Vergärung erfolgte unter anaeroben Bedingungen. Als Stickstoffquelle dienten 20,24 mg/ml Lysin bzw. 0,3 g/l Ammoniumphosphat. Nach einer Wachstumszeit von drei Wochen konnte bei fast allen Ansätzen, mit Ausnahme der Varianten mit Saccharomyces-Hefen, ein „Mäuselton“ festgestellt werden, wobei die mit Lysin versetzten Nährlösungen einen stärkeren „Mäuselton“ aufwiesen als solche ohne Zusatz. Nach fünf Wochen waren die Geschmackseindrücke der Kulturen mit und ohne Lysin etwa gleich intensiv. Dies zeigt, dass die Bildung von 2-Acetyl-tetrahydropyridin in Gegenwart der Aminosäure Lysin schneller erfolgt als bei ihrer Abwesenheit. In Tabelle 5 sind die sensorischen Ergebnisse verschiedener Gärversuche mit Brettanomyces- und Saccharomyces-Hefen in Lösungen mit unterschiedlicher Stickstoffquelle aufgeführt.

Beseitigung des „Mäuseltones“

Der „Mäuselton“ in einem Wein ist ein sehr hartnäckiger und nur schwer zu behandelnder Weinfehler. Eine vollständige Beseitigung durch Anwendung verschiedener Schönungsmittel gelang nicht, führte aber zu erheb-

Tabelle 5:

Sensorische Ergebnisse verschiedener Gärversuche mit Saccharomyces- und Brettanomyces-Hefen (*B. bruxellensis*, *B. lambicus*, *B. intermedius*) in Lösungen mit unterschiedlicher Stickstoffquelle

Nr.	Kultur	Sacch. cer.	Lysin	(NH ₄) ₃ PO ₄ 0,3 g/l	CaCO ₃ + Spurenel.	Erkennbares Mäuseln nach		
						2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen
						Proband 1 / 2 / 3		
1	TS + B. brux.	-	-	-	-	negativ	- / - / -	- / - / -
2	TS + B.lamb.	-	-	-	-	leicht	- / - / -	+ / + / + Fäkalgeruch, leicht
3	TS + B. in- term.	-	-	-	-	positiv	- / + / -	- / - / - Fäkalgeruch
4	TS + B. brux.	+	-	-	-	negativ	- / - / -	+ / - / -
5	TS + B. brux.	-	+	-	+	negativ	- / - / -	- / - / -
6	TS + B.lamb.	-	+	-	+	positiv	+ / + / +	+ / + / + stark
7	TS + B. in- term.	-	+	-	+	positiv	+ / + / +	+ / + / + stark
8	TS + B. brux.	+	+	-	+	negativ	- / - / -	- / - / -
9	TS + B. in- term.	+	+	-	+	negativ	- / - / -	- / - / -
10	TS + B. lamb.	+	+	-	+	negativ	- / - / -	- / - / -
11	TS	+	+	-	+	negativ	- / - / -	- / - / -
12	TS + B. brux.	-	-	+	+	negativ	- / - / -	- / + / + leicht
13	TS + B. lamb.	-	-	+	+	positiv	- / + / -	- / + / + leicht
14	TS + B. in- term.	-	-	+	+	positiv	+ / + / +	- / + / -
15	TS	+	-	+	+	negativ	- / - / -	- / - / -
16	TS + B.brux.	+	-	+	+	negativ	- / - / -	- / - / -
17	TS + B.lamb.	+	-	+	+	negativ	- / - / -	- / - / -
18	TS + B. interm.	+	-	+	+	negativ	- / - / -	- / - / -

lichen Qualitätseinbußen. Auch Versuche, das „Mäusel“ durch Aufspaltung des hydrierten Pyridinringes mit Hilfe verschiedener Enzyme, wie Pepsinase, Trypsin, Papain oder Proteinase K, zu beseitigen, brachten nicht den gewünschten Erfolg. Ebenso führte die Versenkung eines mäuselnden Weines zu keiner nennenswerten Verringerung des „Mäuseltone“. Durch eine Hefeschönung oder mehrmaliges Begasen (Intervall-Begasung) mit Kohlendioxid war nur eine leichte Verminderung des Fehltones zu erreichen. Das durch diese Maßnahme in dem Wein gelöste Kohlendioxid konnte mit einem feinperligen Stickstoffstrom wieder ausgewaschen werden.

Literatur

- BUCHI, G. and WÜEST, H. 1971: Synthesis of 2-acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine, a constituent of bread aroma. *J. Org. Chem.* 36: 609-610
- DITTRICH, H.H. (1987): *Mikrobiologie des Weines*, 2. Aufl. - Stuttgart: Ulmer, 1987
- ERCKMANN (1995) zitiert in: GRBIN, P.R., COSTELLO, P.J., HERDERICH, M., MARKIDES, A.J., HENSCHKE, P.A. and LEE, T.H.: Developments in the sensory, chemical and microbiological basis of mousy taint in wine. Proc. Ninth Austral. Wine Industry Technical Conference. - Adelaide (South Australia), 1995
- GOSSINGER, M. 1999: Mängel, Fehler und Krankheiten der Weine. *Der Winzer* 53(3): 10-12
- GRBIN, P.R., COSTELLO, P.J., HERDERICH, M., MARKIDES, A.J., HENSCHKE, P.A. and LEE, T.H. (1995): Developments in the sensory, chemical and microbiological basis of mousy taint in wine, p. 57-61. Proc. Ninth Austral. Wine Industry Technical Conference. - Adelaide (South Australia), 1995
- HERDERICH, M., COSTELLO, P.J., GRBIN P.R. and HENSCHKE, P.A. 1995: Occurrence of 2-acetyl-1-pyrroline in mousy wines. *Nat. Prod. Lett.* 7: 129-132
- HERESZTYN, T. 1986: Formation of substituted tetrahydropyridines by species of *Brettanomyces* and *Lactobacillus* isolated from mousy wines. *Amer. J. Enol. Vitic.* 37: 127-132
- MÜLLER-THURGAU und OSTERWALDER (1913): Die Bakterien in Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen. - Jena: G. Fischer, 1913 (Abdruck aus dem Centralblatt für Bakteriologie. II. Abt., Band 36)
- SCHANDERL, H. 1948: Die Ursachen der Mäuselkrankheit der Weine. *Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau* 57: 301-305
- SCHEER, A. und DITTRICH, H.H. 1989: Untersuchungen zur Entstehung des „Mäuselns“ und zur Aufklärung seiner stofflichen Ursache. *Jahresber. Dt. Ldw. Ges.* 57-57
- SCHNEIDER, V. 2000. Mäuselton. *Die Winzer-Zeitschrift* 15: 47.
- STRAUSS, C.R. and HERESZTYN, T. 1984: 2-Acetyl-tetrahydropyridines - a cause of the „mousy“ taint in wine. *Chemistry and Industry* (2): 109-110
- TUCKNOTT, O.G. (1977): The mousy taint in fermented beverages: it's nature and origin. - Ph. D. Thesis University of Bristol, 1977
- WÜRDIG, G. und WOLLER, R. (1989): *Chemie des Weines*. - Stuttgart: Ulmer, 1989

Manuskript eingelangt am 21. Juli 2003