

Vollautomatisch-optische Traubensortierung im Fokus der Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit

Analytische Untersuchungen der Moste und Weine der
Sortierfraktionen der Jahrgänge 2010 und 2011 des
Weinanbaugebietes Mosel unter besonderer Berücksichtigung
von Mykotoxinen

Vom Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades „Doktor der Naturwissenschaften“
genehmigte Dissertation

D 386

vorgelegt von

Diplom-Lebensmittelchemikerin

Katharina Hausinger

Betreuer der Arbeit: Prof. Dr. Dr. Dieter Schrenk

Prof. Dr. Heike Raddatz

Kaiserslautern 2014

Meinen Eltern

In Liebe und Dankbarkeit

„Lass dich nicht von dem abbringen,

was du unbedingt tun willst.

Wenn Liebe und Inspiration vorhanden sind,

kann es nicht schiefgehen.“

(Ella Fitzgerald)

Die experimentellen Teile dieser Arbeit entstanden im Zeitraum von August 2010 bis August 2013 in den Laboren des Dienstleistungszentrums Ländlicher Raum (DLR) Mosel sowie im Nationalen Referenzlabor für Mykotoxine des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) Berlin im Rahmen des Projektes „Optisch-maschinelle Entfernung von qualitätsmindernden Partikeln aus Vollernter-Traubenlesegut als Qualitätssicherungsmaßnahme für den Steillagenweinbau“ (Förderkennzeichen PG I-06.01-28-1-44.010-08).

Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Eröffnung des Promotionsverfahrens: 23.10.2013

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 09.01.2014

Prüfungskommission

- Vorsitzender: Prof. Dr. Werner Thiel
1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Dieter Schrenk
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Heike Raddatz

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VIII
Veröffentlichungen.....	X
Abkürzungen.....	XIII
1 EINLEITUNG	1
2 ZIELSETZUNG.....	3
3 DEFINITIONEN	5
4 THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....	6
4.1 Technologie - Vollautomatisch-optischer Traubensortierer.....	6
4.1.1 Aufbau	6
4.1.2 Abläufe bei der Traubensortierung.....	7
4.2 Aufbau der Traubenbeere.....	13
4.3 Rebsorten.....	15
4.3.1 Allgemeines	15
4.3.2 Riesling.....	15
4.3.3 Müller-Thurgau (Rivaner)	16
4.3.4 Grauburgunder (Pinot gris).....	16
4.3.5 Spätburgunder (Pinot noir)	16
4.4 Klimatische Bedingungen	17
4.4.1 Klimawandel	17
4.4.2 Vegetationsperiode 2010	18
4.4.3 Vegetationsperiode 2011	19
4.4.4 Reifeentwicklung 2010/2011	19

4.5	Fäulnis	21
4.5.1	Allgemeines	21
4.5.2	Fäulnis auf Trauben.....	21
4.6	Analytische Parameter	33
4.6.1	Mykotoxine.....	33
4.6.2	Biogene Amine	78
4.6.3	Phenolische Inhaltsstoffe.....	85
4.6.4	Mostgewicht.....	95
4.6.5	Gluconsäure und Glycerin.....	96
4.6.6	Säuren	100
4.6.7	Kationen.....	109
4.6.8	Schwefelbindungspartner	111
4.6.9	Aromastoffe	119
4.7	Sensorik.....	121
4.7.1	Allgemeines	121
4.7.2	Sensorik-Attribute	121
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	125
5.1	Allgemeines zur Ergebnisdarstellung und Diskussion	125
5.1.1	Probenbezeichnung.....	125
5.1.2	Ergebnisdarstellung.....	125
5.2	Ergebnisse der Bonitur/Selektionsquoten.....	127
5.3	Mykotoxine	129
5.3.1	Methoden-Etablierung zur Bestimmung von Mykotoxinen in Mosten und Weinen	129
5.3.2	Gehalte in den Proben.....	153
5.4	Biogene Amine	167
5.4.1	Histamin.....	168
5.4.2	Putrescin.....	171
5.4.3	Diskussion Histamin und Putrescin: Fäulniseinfluss und önologische Auswirkungen ...	173
5.5	Phenolische Inhaltsstoffe	176
5.5.1	Gesamtphenolgehalte	176
5.5.2	Einzelphenolgehalte	179
5.6	Mostgewicht.....	193

5.7	Gluconsäure und Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis.....	196
5.7.1	Gluconsäure	196
5.7.2	Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis.....	200
5.8	Säuren	202
5.8.1	Weinsäure	204
5.8.2	Äpfelsäure	205
5.8.3	Citronensäure	207
5.8.4	Flüchtige Säure	208
5.9	Kationen	212
5.9.1	Kalium.....	213
5.9.2	Magnesium und Calcium	214
5.10	Schwefelbindungspartner	216
5.10.1	Gehalte im Gärgut	217
5.10.2	Gehalte im Wein	221
5.10.3	Gebundenes SO ₂ in den Weinproben	226
5.11	Geosmin	227
5.12	Sensorik	229
5.12.1	Allgemeine Auswertung der sensorischen Ergebnisse aller Versuche des Jahrgangs 2011	229
5.12.2	Detaillierte Auswertung der sensorischen Ergebnisse der Sortierversuche V4-2011-SpB und V5-2011-Rsl.....	231
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	241
7	SUMMARY	245
8	MATERIAL UND METHODEN	248
8.1	Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien/Lösungen.....	248
8.1.1	Geräte (DLR Mosel)	248
8.1.2	Geräte (BfR)	249
8.1.3	Verwendete Reagenzien/Lösungen (DLR Mosel).....	249
8.1.4	Verwendete Reagenzien/Lösungen (BfR).....	251
8.1.5	Verbrauchsmaterialien (DLR Mosel und BfR)	252

8.2	Methoden	252
8.2.1	Allgemeines	252
8.2.2	Weinausbau.....	255
8.2.3	Bonitur	261
8.2.4	Kationen und Biogene Amine	262
8.2.5	Folin-Ciocalteu-Index.....	266
8.2.6	FTIR-Spektroskopie zur Bestimmung von Most- und Weinhaltstoffen	269
8.2.7	Gluconsäure	270
8.2.8	Organische Säuren.....	273
8.2.9	Flüchtige Säure	276
8.2.10	Acetaldehyd	277
8.2.11	2-Ketoglutarinsäure	279
8.2.12	Brenztraubensäure	282
8.2.13	Iodometrische Bestimmung des freien und gesamten Schwefeldioxids mittels Potentiometrie.....	284
8.2.14	Farbe	285
8.2.15	Off-flavour-Verbindungen (Geosmin)	286
8.2.16	Methoden der sensorischen Qualitätsanalysen - Prüfverfahren	287
9	LITERATUR	289
A	ANHANG	318
A.1	Ergänzungen	318
A.2	Verwendete Formeln	330

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau des vollautomatisch-optischen Traubensortierers der Firma Key/Clemens	6
Abbildung 2: Vereinzelung und Vorentsaffung der Beeren auf dem Vibrationstisch des vollautomatisch-optischen Traubensortierers	7
Abbildung 3: Beschleunigung und Stabilisierung der Beeren vor der Detektion (Fa. Clemens).....	7
Abbildung 4: Kamera- /Laserbereich des vollautomatisch-optischen Traubensortierers (Feltes, J.).....	8
Abbildung 5: Kameradetektion (rechts) und Softwareerkennung nach festgelegten Sortierparametern (links) .	9
Abbildung 6: Laserdetektion (rechts) und Softwareerkennung nach festgelegten Sortierparametern (links) ...	10
Abbildung 7: Pneumatisch-arbeitende Luftdüsenleiste des vollautomatisch-optischen Traubensortierers (Feltes, J.).....	11
Abbildung 8: Sortierung der Beeren mittels Druckluft (Feltes, J.).....	11
Abbildung 9: Sortierung mit Abtransport der Negativ-fraktion (Fa. Clemens)	11
Abbildung 10: Fraktionen eines Versuches nach Sortierung: Kontrolle (unsortiertes Lesegut), Positivfraktion (gesunde, intakte Beeren), Saftvorlauf (freiwerdender Saft), Negativfraktion (faule Beeren).....	12
Abbildung 11: Schematischer Aufbau einer Beere.....	13
Abbildung 12: Riesling-Trauben (Kohl, E.).....	15
Abbildung 13: Müller-Thurgau-Trauben	16
Abbildung 14: Grauburgunder-Traube (Kohl, E.)	16
Abbildung 15: Spätburgunder-Trauben (Kohl, E.).....	16
Abbildung 16: Temperaturen, Niederschläge und Erntezeiträume der Jahrgänge 2010 und 2011 jeweils vom 01.08. bis 31.10.	18
Abbildung 17: Reifeverläufe der Rebsorte Riesling (im Bereich Trier) hinsichtlich des Mostgewichtes und des Säuregehaltes in den Jahrgängen 2010 und 2011	20
Abbildung 18: Fäulnisbefall auf Trauben (Kohl, E.).....	21
Abbildung 19: Perforation der Beerenhaut durch <i>Botrytis cinerea</i> (Kohl, E.)	21
Abbildung 20: <i>Botrytis cinerea</i> -befallene Trauben (Kohl, E.)	23
Abbildung 21: <i>Penicillium</i> auf Trauben (Rosch, A.).....	26
Abbildung 22: Weißer <i>Peronospora</i> -Pilzrasen auf jungen Beeren (Kohl, E.)	27
Abbildung 23: Lederbeeren (Rosch, A.).....	27
Abbildung 24: Schwarzfäule auf Trauben (Kohl, E.)	27
Abbildung 25: <i>Trichothecium roseum</i> auf Trauben (Eichhorn, Lorenz, 1978)	28
Abbildung 26: <i>Alternaria</i> auf Trauben (Maixner, Dr. M.).....	29
Abbildung 27: Essigfäule auf Beeren (Kohl, E.)	31
Abbildung 28: Essigfäule auf Beeren (Feltes, J.)	31
Abbildung 29: Einflussfaktoren auf den Mykotoxingehalt von Weinen	34
Abbildung 30: Grundstruktur der Ochratoxine.....	36
Abbildung 31: Strukturen der Aflatoxine B ₁ , B ₂ , M ₁ , G ₁ , und G ₂	40
Abbildung 32: Struktur von Sterigmatocystin	43
Abbildung 33: Ausschnitt der Biosynthese von Patulin	44
Abbildung 34: (<i>E</i>)- und (<i>Z</i>)-Ascladiol.....	47
Abbildung 35: Struktur von Citrinin.....	48
Abbildung 36: Struktur der Mycophenolsäure	50
Abbildung 37: Strukturen wichtiger <i>Alternaria</i> -Toxine	52
Abbildung 38: Grundstrukturen der Trichothecene der Typen-A, -B, -C und -D.....	55
Abbildung 39: Struktur von Trichothecin	56
Abbildung 40: Struktur von Deoxynivalenol	58
Abbildung 41: Struktur von Nivalenol	60
Abbildung 42: Strukturen von T-2 Toxin und HT-2 Toxin	61
Abbildung 43: Struktur von Diacetoxyscirpenol.....	62
Abbildung 44: Grundstruktur der Fumonisine FB ₁ -FB ₄	63
Abbildung 45: Struktur von (S)-Zearalenon.....	65
Abbildung 46: Abbau von Zearalenon zu alpha- und beta-Zearalenol	66
Abbildung 47: Struktur der Penicillinsäure in der Keto- bzw. Lactonform.....	68
Abbildung 48: Struktur von Griseofulvin	69
Abbildung 49: Struktur von Roquefortin C.....	70
Abbildung 50: Struktur von Citreoviridin	71
Abbildung 51: Struktur des Natriumsalzes von Moniliformin	71
Abbildung 52: Struktur von Beauvericin	73
Abbildung 53: Struktur von Wortmannin	74
Abbildung 54: Struktur der Kojisäure	75
Abbildung 55: Struktur von Fumagillin	76
Abbildung 56: Strukturen der Cytochalasine H und J.....	76

Abbildung 57: Struktur des Cyclosporin A	77
Abbildung 58: Bildungsmechanismen von Putrescin, ausgehend von Arginin bzw. Ornithin.....	79
Abbildung 59: Bildung von Histamin, ausgehend von Histidin; HDC: Histamin-Decarboxylase	79
Abbildung 60: Grundstrukturen wichtiger flavonoider Verbindungen im Wein	86
Abbildung 61: Strukturen wichtiger Hydroxyzimtsäuren und -Derivate im Wein	87
Abbildung 62: Strukturen wichtiger Hydroxybenzoesäuren und -Derivate im Wein	88
Abbildung 63: Struktur von Tyrosol.....	88
Abbildung 64: Strukturen von trans- und cis-Resveratrol	89
Abbildung 65: Wichtige Flavan-3-ol-Monomere (Catechine) in Trauben und Wein	90
Abbildung 66: Struktur von Malvidin	91
Abbildung 67: Autoxidation eines Catechol-Derivates zu einem Chinon-Derivat.....	92
Abbildung 68: Aktives Zentrum der Tyrosinase mit Umsetzung von Phenol und Catechol zu Chinonen	92
Abbildung 69: Enzymatische Oxidation der D-Glucose zu D-Gluconsäure durch Schimmelpilze	96
Abbildung 70: Enzymatische Oxidation der D-Glucose zu D-Gluconsäure und weiteren Verbindungen durch Bakterien.....	97
Abbildung 71: Entwicklung der Gluconsäurekonzentration in Trauben infolge der Ausbreitung von <i>Botrytis cinerea</i> oder von <i>Botrytis cinerea</i> zusammen mit Essigsäurebakterien	98
Abbildung 72: Beerentypische Säuren	101
Abbildung 73: Während der Gärung gebildete Säuren	101
Abbildung 74: Verteilung der Wein- und Äpfelsäure innerhalb der Beere.....	102
Abbildung 75: Bildung der Essigsäure durch Essigsäurebakterien	105
Abbildung 76: Bildungsweg der Essigsäure durch Hefen	106
Abbildung 77: Umsetzung der L-Äpfelsäure zu L-Milchsäure während der malolaktischen Gärung.....	107
Abbildung 78: Verteilung von Kalium und Calcium innerhalb der Beere.....	109
Abbildung 79: Dissoziationsgleichgewichte der schwefligen Säure in wässriger Lösung	111
Abbildung 80: Hauptbindungspartner der schwefligen Säure im Wein	113
Abbildung 81: Bildung der wichtigsten SO ₂ -Bindungspartner während der Glykolyse durch die Weinhefe	113
Abbildung 82: Schematische Darstellung der SO ₂ -Bindung an Aldehyde (a) und Ketosäuren (b)	115
Abbildung 83: Enzymatische Decarboxylierung von Brenztraubensäure zu Acetaldehyd und anschließender Reduktion zu Ethanol während der alkoholischen Gärung	116
Abbildung 84: Entstehung des 2-Ketoglutarats während des Citratzyklus (Ausschnitt).....	118
Abbildung 85: Strukturen der Off-flavour-Verbindungen (-)-Geosmin, 1-Octen-3-ol und 1-Octen-3-on.....	119
Abbildung 86: Strukturen von Patulin und 5-Hydroxymethylfurfural.....	131
Abbildung 87: Aufbau einer monolithischen SPE-Säule	132
Abbildung 88: Strukturen der Verbindungen, die als methodenkorrigierende Interne Standards getestet wurden	134
Abbildung 89: Schema der Durchführung der modifizierten QuEChERS-Methode	135
Abbildung 90: Extracted Ion Chromatogramm mit den MRM-Übergängen aller Analyten im positiven ESI-Modus des Multi-Standards der Konzentration 50 (100) ng/mL.....	141
Abbildung 91: Extracted Ion Chromatogramm mit den MRM-Übergängen aller Analyten im negativen ESI-Modus des Multi-Standards der Konzentration 50 (100) ng/mL	143
Abbildung 92: Patulingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05).....	154
Abbildung 93: Patulingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05).....	154
Abbildung 94: DON-Gehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05).....	159
Abbildung 95: DON-Gehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05).....	160
Abbildung 96: AOH-Gehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05)	162
Abbildung 97: AOH-Gehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	162
Abbildung 98: Histamingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05).....	168
Abbildung 99: Histamingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (bei V4-2011-SpB vor malolaktischer Gärung) (n=3; p=0,05)	168
Abbildung 100: Putrescingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05).....	171
Abbildung 101: Putrescingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (bei V4-2011-SpB vor malolaktischer Gärung) (n=3; p=0,05)	171
Abbildung 102: Gesamtphenolgehalte (berechnet als Gallussäure-Äquivalente) der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05).....	177
Abbildung 103: Gesamtphenolgehalte (berechnet als Gallussäure-Äquivalente) der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05).....	177
Abbildung 104: Strukturelement Pentafluorphenyl (PFP) der stationären Trennphase der Kinetex-PFP-Säule	180
Abbildung 105: Core-Shell Material der Kinetex Säure	181
Abbildung 106: Chromatogramm der Phenol-Standardlösung der Konzentration 10 mg/L bei 280 nm.....	183
Abbildung 107: Chromatogramm der Phenol-Standardlösung der Konzentration 10 mg/L bei 320 nm.....	183
Abbildung 108: Weißweinprobe (blau) und mit 10 mg/L aufdotierte Weißweinprobe (rot)	184
Abbildung 109: Durchschnittliche Mostgewichte der Kontrollfraktionen der Versuchsjahre 2010 (n=6) und 2011 (n=9)	193
Abbildung 110: Mostgewichte der Sortierfraktionen des Jahrgangs 2010 (n=1).....	194
Abbildung 111: Mostgewichte der Sortierfraktionen des Jahrgangs 2011 (n=1).....	194
Abbildung 112: Gluconsäuregehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05)	197
Abbildung 113: Gluconsäuregehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05)	197

Abbildung 114: Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der Gärgutproben der Kontroll- und Negativfraktionen des Jahrgangs 2010 (Glycerin: n=1; Gluconsäure: n=3)	200
Abbildung 115: Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der weißen Gärgutproben der Kontroll- und Negativfraktionen des Jahrgangs 2011 (Glycerin: n=1; Gluconsäure: n=3)	201
Abbildung 116: Gesamtsäuregehalte der Kontrollfraktionen der Moste der Jahrgänge 2010 (n=6) und 2011 (n=9).....	203
Abbildung 117: Weinsäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	204
Abbildung 118: Äpfelsäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	205
Abbildung 119: Citronensäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	207
Abbildung 120: Konzentration der flüchtigen Säure in den Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05).....	209
Abbildung 121: Konzentration der flüchtigen Säure in den Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05).....	210
Abbildung 122: Kaliumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	213
Abbildung 123: Magnesiumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05).....	214
Abbildung 124: Calciumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)	215
Abbildung 125: Acetaldehydgehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3, p=0,05)	217
Abbildung 126: Brenztraubensäuregehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05)	219
Abbildung 127: 2-Ketoglutarsäuregehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3; P=0,05).....	220
Abbildung 128: Acetaldehydgehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05).....	222
Abbildung 129: Brenztraubensäuregehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05)	223
Abbildung 130: 2-Ketoglutarsäuregehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05)	225
Abbildung 131: Gehalte an gebundenem SO ₂ in den Weißweinen des Jahrgangs 2011 (n=1).....	226
Abbildung 132: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)	231
Abbildung 133: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)	233
Abbildung 134: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)	234
Abbildung 135: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)	235
Abbildung 136: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)	236
Abbildung 137: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)	236
Abbildung 138: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)	237
Abbildung 139: Farbe der Versuchsfraktionen des Rotweins V4-2011-SpB	238
Abbildung 140: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Farbe“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)	239
Abbildung 141: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)	240
Abbildung 142: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)	240
Abbildung 143: Schematische Darstellung des standardisierten Weinausbaus.....	256
Abbildung 144: Chromatogramm der biogenen Amine der Konzentration 6 mg/L	264
Abbildung 145: Allgemeiner Reaktionsmechanismus der Oxidation einer o-Diphenolverbindung (modifiziert nach Kennedy et al., 2006).....	267
Abbildung 146: Chromatogramm des kleinsten Standards der organischen Säuren	274

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung von Stoffen hinsichtlich ihrer Kanzerogenität (IARC, 2013)	34
Tabelle 2: Mykotoxine, die auch von Citrinin-produzierenden Schimmelpilzen gebildet werden (Frank, 1992)	49
Tabelle 3: Mindestmostgewichte für Qualitäts- und Prädikatsweine des Anbaugebietes Mosel (Schick, 2012).....	95
Tabelle 4: Gluconsäure- und Glyceringehalte als Beurteilungswerte für verdorbenes Lesegut (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, 2012)	99
Tabelle 5: Gesamt-SO ₂ -Höchstmengen für konventionelle sowie Öko-Weiß- und –Rotweine (Qualitätsweine) (VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I B; VO (EG) Nr. 889/2008 Anhang VIIIa; Schick, 2012)	112
Tabelle 6: Ergebnisse der Bonitur der Sortierversuche der Jahrgänge 2010 und 2011	127
Tabelle 7: Etikett-Angaben der verwendeten Säfte und Weine zur Validierung der Multi-Mykotoxin-Methode.....	132
Tabelle 8: Lösungsmittel, Kalibrierbereiche, Kalibrierfunktionen, Bestimmtheitsmaße, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Mykotoxine im positiven ESI-Modus	137
Tabelle 9: Kalibrierbereiche, Kalibrierfunktionen, Bestimmtheitsmaße, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Mykotoxine im negativen ESI-Modus.....	138
Tabelle 10: Geräteparameter zur Bestimmung der Mykotoxine.....	140
Tabelle 11: Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus (fett markierte m/z-Verhältnisse der Produktionen stellen die Quantifizierungslinien dar)	142
Tabelle 12: ¹³ C-stabilisotopenmarkierte Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus	143
Tabelle 13: Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im negativen ESI-Modus	144
Tabelle 14: ¹³ C-stabilisotopenmarkierte Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus	145
Tabelle 15: Retentionszeit-Verschiebung, Variationskoeffizienten, Prozess-Effizienzen, Matrix-Effekte und Extraktions-Effizienzen der Analyten im positiven ESI-Modus	150
Tabelle 16: Retentionszeit-Verschiebung, Variationskoeffizienten, Prozess-Effizienzen, Matrix-Effekte und Extraktions-Effizienzen der Analyten im negativen ESI-Modus	151
Tabelle 17: Geräteparameter zur Bestimmung phenolischer Verbindungen	180
Tabelle 18: Absorptionsmaxima, Retentionszeiten und Stammlösungen der phenolischen Analyten	182
Tabelle 19: Etikettangaben der verwendeten Weine zur Überprüfung der Trennleistung der Kinetex-PFP-Säule	184
Tabelle 20: Validierungsparameter der phenolischen Verbindungen	185
Tabelle 21: Geosmingehalte in Proben des Jahrgangs 2011	227
Tabelle 22: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)	232
Tabelle 23: Ergebnisse der Dreiecksprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)	232
Tabelle 24: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)	235
Tabelle 25: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)	237
Tabelle 26: Ergebnisse der Dreiecksprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=12)	237
Tabelle 27: Farbintensitäten und Farbnuancen der Versuchsfraktionen des Rotwein V4-2011-SpB	238
Tabelle 28: Aufbewahrungsgefäße der Gärgutproben für die jeweiligen Bestimmungsparameter	253
Tabelle 29: Versuchsspezifische Parameter.....	255
Tabelle 30: Pressprogramm für die Fraktionen der weißen Rebsorten	257
Tabelle 31: Pressprogramm für die Fraktionen des Spätburgunders	260
Tabelle 32: Geräteparameter zur Bestimmung der Kationen	263
Tabelle 33: Standards zur Bestimmung der biogenen Amine.....	264
Tabelle 34: Standards zur Bestimmung der Kationen	265
Tabelle 35: Retentionszeiten und Kalibrierfunktionen der Kationen und biogenen Amine.....	265
Tabelle 36: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Kationen und biogenen Amine.....	265
Tabelle 37: Wiederholstandardabweichungen/Variationskoeffizienten der Kationen und biogenen Amine (n=10).....	266
Tabelle 38: Photometrie-Parameter zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes mittels der Folin-Ciocalteau-Methode	268
Tabelle 39: Validierungsparameter der Gesamtphenol-Bestimmung	268
Tabelle 40: Photometrie-Parameter zur Gluconsäurebestimmung	271
Tabelle 41: Ablauf-Schema der Gluconsäurebestimmung (modifiziert nach Megazyme).....	271
Tabelle 42: Validierungsparameter der Gluconsäurebestimmung	272
Tabelle 43: Geräteparameter zur Bestimmung der organischen Säuren.....	273
Tabelle 44: Ansatz der Standards zur Bestimmung der organischen Säuren	274
Tabelle 45: Retentionszeiten und Kalibrierfunktionen der organischen Säuren	275
Tabelle 46: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der organischen Säuren	275

Tabelle 47: Wiederholstandardabweichungen/Variationskoeffizienten der organischen Säuren (n=10).....	275
Tabelle 48: Wiederholstandardabweichung/Variationskoeffizient der flüchtigen Säure	276
Tabelle 49: Photometrie-Parameter zur Acetaldehydbestimmung	277
Tabelle 50: Ablauf-Schema der Acetaldehydbestimmung (modifiziert nach Megazyme).....	278
Tabelle 51: Validierungsparameter der Acetaldehyd-Bestimmung	279
Tabelle 52: Photometrie-Parameter zur 2-Ketoglutar säurebestimmung	280
Tabelle 53: Ablauf-Schema der 2-Ketoglutar säurebestimmung.....	280
Tabelle 54: Validierungsparameter der 2-Ketoglutar säure.....	281
Tabelle 55: Photometrie-Parameter zur Brenztraubensäurebestimmung	282
Tabelle 56: Ablauf-Schema der Brenztraubensäurebestimmung (modifiziert nach Megazyme)	283
Tabelle 57: Validierungsparameter der Brenztraubensäure-Bestimmung.....	284
Tabelle 58: Photometrie-Parameter zur Farbbestimmung	285

Veröffentlichungen

Poster

Hausinger, K., Raddatz, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2012): Innovation in der Weinwelt: Vollautomatisch-optische Traubensortierung (Teil 1). Regionaltagung Südwest. Lebensmittelchemische Gesellschaft, Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Regionalverband Südwest, Kaiserslautern, Deutschland

Hausinger, K., Raddatz, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2012): Innovation in der Weinwelt: Vollautomatisch-optische Traubensortierung (Teil 2). 41. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Münster, Deutschland

Hausinger, K., Feltes, J., Lipps, M., Porten, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2012): Qualitätssicherung im Wein durch vollautomatisch-optische Traubensortierung. 6. Kongress Lebensmitteltechnologie, Dresden, Deutschland

Hausinger, K., Raddatz, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Influence of grape rot on the contents of sulphur binding compounds in wine after automated optical grape-sorting. 8. Internationaler Kongress "Forum Life Science 2013", München, Deutschland

Hausinger, K., Feltes, J., Lipps, M., Porten, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Vollautomatisch-optische Traubensortierung: Verfahrenstechnik und Analytik. 10. Trierer Lebensmitteltag, Trier, Deutschland

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Automated optical grape-sorting: Analytical and sensory composition of must and wine fractions. In *Vino Analytica Scientia Symposium*. Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, Frankreich

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Analytische Beurteilung der vollautomatisch-optischen Traubensortierung zur Qualitätssicherung im Wein. 42. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Braunschweig, Deutschland

Publikationen

Hausinger, K., Raddatz, H., Rudy, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2012): Optimierte Methode zur Quantifizierung der wichtigsten Polyphenole in Weißwein mittels HPLC mit UV-Detektion. Deutsche Lebensmittel-Rundschau Dezember 108 (12): 635-638

Hausinger, K., Raddatz, H., Rosch, A., Schrenk, D. (2013): Optische Sortieranlagen in der Praxis: Möglichkeiten zur Qualitätssteigerung und Qualitätssicherung. Das deutsche Weinmagazin 16: 10-15

Hausinger, K., Raddatz, H., Rosch, A., Schrenk, D. (2013): Schlüssel zur Qualität: Vollautomatisch-optische Traubensortierung. Der Winzer 9: 16-21

Hausinger, K., Raddatz, H., Rosch, A., Schrenk, D. (2013): Traubensortierung im Fokus. Die Winzer-Zeitschrift 9: 33-36

Hausinger, K., Raddatz, H., Rosch, A., Schrenk, D. (2013): Qualitätssicherung durch Traubensortierung?! Der Deutsche Weinbau 23; 34-36

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, Rudy, H., A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Automated optical grape-sorting: Influence of grape rot on the contents of biogenic amines in the vintages of 2010 and 2011. Mitteilungen Klosterneuburg 63: 70-78

Eingereicht:

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Influence of grape rot on the contents of sulfur binding compounds in wine after automated optical grape-sorting. Vitis (angenommen)

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Automated optical grape-sorting of rotten grapes: Effects of rot infections on gluconic acid concentrations and glycerol/gluconic acid ratios in must and wine. Food Control

Vorträge

Hausinger, K., Raddatz, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2012): Automated optical grape-sorting: Analytical parameters as indicators of different grape rots after sorting process in must and wine. Patholux 2012: Impact of Plant Pathogens on the Quality of Crops and Wine. Centre de Recherche Public (CRP) Gabriel Lippmann, Mondorf-les-Bains, Luxembourg

Hausinger, K., Feltes, J., Lipps, M., Porten, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Vollautomatisch optische Traubensortierung - Technologische Möglichkeiten und Unterschiede in der analytischen Zusammensetzung der Sortiervarianten. 61. Deutscher Weinbaukongress. Deutscher Weinbauverband e. V., Stuttgart, Deutschland

Hausinger, K., Lipps, M., Raddatz, H., Rosch, A., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Automated optical grape-sorting: Analytical and sensory composition of must and wine fractions. In Vino Analytica Scientia Symposium. Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, Frankreich

Hausinger, K., Raddatz, H., Scholten, G., Schrenk, D. (2013): Automated optical grape-sorting: Analytical and sensory effects on wine. iFood Conference 2013. Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik (DIL) e.V. Hannover, Deutschland

Abkürzungen

ACN	Acetonitril
ADI	Acceptable Daily Intake
AIDH	Aldehyd-Dehydrogenase
ALT	Altenuen
AME	Alternariolmonomethylether
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
AOH	Alternariol
AP	Amtliche Prüfungsnummer
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
ATX	Altertoxine I–III
a_w	Wasseraktivität
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BG	Bestimmungsgrenze
BSA	Biologischer Säureabbau
c	Konzentration
CE	Collision Energy
CEP	Cell Entrance Potential
CFIA	Canadian Food Inspection Agency
cfu	colony forming unit
CVUA	Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CXP	Cell Exit Potential
DAS	Diacetoxyscirpenol
D-LDH	D-Lactat-Dehydrogenase
DLR	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum
DON	Deoxynivalenol
DP	Declustering Potential
DWI	Deutsches Weininstitut
EFSA	European Food Safety Authority
EG	Erfassungsgrenze
EU	Europäische Union
FAO	Food and Agriculture Organization
FB ₁	Fumonisin B ₁
FB ₂	Fumonisin B ₂
FB ₃	Fumonisin B ₃
FLD	Fluoreszenzdetektor
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektrometer
ESI	Elektronenspray-Ionisation
EtOH	Ethanol
GAE	Gallic Acid Equivalents
GCK	Gluconat-Kinase
GG	Gärgut
GIDH	Glutamat-Dehydrogenase
GrB	Grauburgunder
HCl	Salzsäure
hL	Hektoliter
HMF	Hydroxymethylfurfural
H ₂ O	Wasser
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

IA	Immunoaffinitätssäulen
IARC	International Agency for Research on Cancer
IC-LD	Ionenchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion
IS	Interner Standard
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
KG	Körpergewicht
KIS	Kellerwirtschaftlicher Informations-Service
Kon	Kontrolle
LAVES	Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
M	molare Masse
MCA	Metal Closure Aluminium
MeOH	Methanol
MRM	multiple reaction monitoring
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
MTh	Müller-Thurgau
MW	Mittelwert
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
NADH	reduziertes Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	reduziertes Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NaOH	Natriumhydroxid
neg	Negativfraktion
n.d.	nicht detektierbar
NG	Nachweisgrenze
NIR	nahes Infrarot
NIV	Nivalenol
n.n.	nicht nachweisbar
NO(A)EL	No Observed (Adverse) Effect Level
NTU	Nephelometric Turbidity Unit
° Oe	Grad Oechsle
OIV	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
OTA	Ochratoxin A
OTB	Ochratoxin B
PE	Polyethylen
6-PGDH	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PLS	partial least squares
PMTDI	Provisional Maximum Tolerable Weekly Intake
pos	Positivfraktion
psi	pound-force per square inch, Maßeinheit für Druck
QbA	Qualitätswein bestimmter Anbaugebiete
RGB	Rot-Grün-Blau
RNH	Rheinhessen-Nahe-Hunsrück
RP	Reversed Phase
rpm	rotations per minute
Rsl	Riesling
Rt	Retentionszeit
s	Standardabweichung
Saft	Saftvorlauf
SCCS	Scientific Committee on Consumer Safety
SCF	Scientific Committee on Food
SCOOP	Scientific Cooperation
SO ₂	Schwefeldioxid

SpB	Spätburgunder
SPE	Solid Phase Extraction
T	Temperatur
TDI	Tolerable Daily Intake
TeA	Tenuazonsäure
TEA	Triethanolamin
TWI	Tolerable Weekly Intake
UV	Ultraviolett
VK	Variationskoeffizient
VO (EG)	Verordnung der Europäischen Gemeinschaft
% Vol.	Volumenprozent
W	Wein
WHO	World Health Organisation
ZEA	Zearalenon

1 Einleitung

Die Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit nehmen in der Weinbranche aufgrund zunehmender gesteigerter Anforderungen seitens der Verbraucher, des Handels und Gesetzgebers eine zentrale Rolle ein. Diese Faktoren sind vor allem für den betriebswirtschaftlichen Erfolg in der Weinbranche unabdingbar. Mit einem Weinkonsum von rund 20 Mio. Hektolitern pro Jahr in Deutschland, was einem pro Kopf Verbrauch von rund 24 L entspricht (DWI, 2012), wird die Bedeutung des Genussmittels Wein in der Gesellschaft ersichtlich. Es ist daher wichtig, den aktuellen und zukünftigen Erwartungen der Kunden an den Wein gerecht zu werden (Göbel, 2003). Die Kontinuität der Weinstilistik und der Qualität sind hierbei Schlüsselfaktoren.

Die Einflüsse bei der Erzeugung von Wein sind sehr vielfältig. Zahlreiche Faktoren, wie sensorische Eigenschaften und chemische Zusammensetzung der Trauben, hygienische Faktoren und technologische Möglichkeiten bei der Weinherstellung sowie fermentative Einflüsse beeinflussen die Weinqualität. Während der Vegetation der Trauben ist wie bei allen landwirtschaftlichen Erzeugnissen vor allem der klimatische Einfluss als ausschlaggebender Faktor für die Qualität zu sehen.

Der Gesundheitszustand der Trauben ist für die Traubenqualität und die daraus resultierende Weinqualität von zentraler Bedeutung. Im Zusammenhang mit der Klimaveränderung kann seit einigen Jahren überwiegend in den nördlichen Weinbauregionen Europas, und damit auch im Weinanbaugebiet Mosel, ein verstärkter Fäulnisbefall der Trauben durch Mikroorganismen beobachtet werden. Die veränderte Verteilung von Regen- und Trockenperioden, die zunehmenden Starkregenereignisse und die vermehrte Anzahl von tropischen Nächten im September führen zu optimalen Wachstumsbedingungen für Pilze und Bakterien auf den Trauben (Schmitt, 2007; Walg, 2008; Rosch et al., 2010). Im Durchschnitt der Jahre hat sich auch der Reifezeitpunkt der Trauben verfrüht (Lipps, 2013). Die Verschiebung des Reifestadiums der Trauben in Zeiträume mit vorherrschend höheren Temperaturen sowie extremer Witterung begünstigen ebenso eine Traubenfäulnis. Solche Bedingungen bewirken bei Pilzen und anderen Mikroorganismen mitunter eine Befallsdynamik, welche neben Ertragsschäden auch starke qualitative Auswirkungen auf den späteren Wein haben kann. Hierbei sind Art und Intensität der auftretenden Fäulnis entscheidend.

Neben dem verstärkten Auftreten des Pilzes *Botrytis cinerea* auf Trauben können auch eine Zunahme an Sekundärfäuleerregern, wie bspw. Schwarzfäule, *Penicillium*, *Trichothecium* und Essigfäule, sowie mechanische Verletzungen der Beerenhaut durch

verstärkten Insektenbefall oder Hagel beobachtet werden (Rosch et al., 2009). Dadurch kommt es zu Veränderungen der Trauben- und Weinqualität, was die Erzeuger vor neue Herausforderungen stellt. Durch die Mikroorganismenaktivität auf faulen Beeren können unerwünschte Stoffwechselprodukte, wie bspw. Mykotoxine, biogene Amine, flüchtige Säure sowie dumpf-muffige Geruchs- und Geschmacksattribute in höheren Mengen gebildet werden. Neben gesetzlichen Grenz-/Höchstmengenwerten wird die Vermarktbarkeit der Weine insbesondere auch durch negative sensorische Effekte gefährdet. Korrekturen mit Behandlungsmitteln im Most oder Wein sind in Abhängigkeit der gebildeten Stoffwechselprodukte zum Teil wirkungslos bzw. stark qualitätsmindernd, da diese nicht selektiv wirken und auch positive Stoffe entfernen.

Aus gesundheitlichen Aspekten stehen insbesondere die Stoffwechselprodukte von Sekundärpilzen im Fokus; bereits geringe Befallsraten können zu beträchtlichen Qualitätsverlusten im späteren Wein führen.

Es wird daher deutlich, wie notwendig es ist, neue Möglichkeiten für die Weinbranche zu finden, schadhaftes Lesegut bereits bei der Lese bzw. vor der Traubenverarbeitung effektiv zu selektieren, um den Eintrag negativer Stoffe aus faulen Beeren in den Most sowie Wein zu verringern und somit ein qualitativ hochwertiges Produkt gewährleisten zu können.

Bisher wird eine Traubensortierung meist manuell durchgeführt, ein sehr personal-, zeit- und damit kostenintensives Verfahren. Sortiermaschinen mit Kamera- bzw. Lasertechnik, wie sie in anderen Bereichen der Lebensmittelindustrie bereits erfolgreich eingesetzt werden, werden neuerdings auch in der Weinbranche als vollautomatisch-optische Traubensortierer von verschiedenen Herstellern angeboten. Sie sollen die Möglichkeit bieten, die notwendigen Kriterien bezüglich der Sortierleistung, der gewünschten Selektionsquote, der Schonung des Lesegutes und des hygienischen Designs zu erfüllen (Lipps et al., 2009). Nicht nur in Hinblick auf die zunehmende Fäulnisdynamik, sondern auch aufgrund des zunehmenden Einsatzes von Traubenvollerntern zur schnellen und kostengünstigen Traubenernte, bedarf es einer effizienten Verfahrenstechnik zur anschließenden Traubensortierung.

Es ist daher wichtig, anhand zahlreicher analytischer und sensorischer Parameter zu untersuchen, inwieweit die vollautomatisch-optische Traubensortierung unter praxisnahen Bedingungen als Maßnahme zur Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit genutzt werden kann.

2 Zielsetzung

In Deutschland stellt die Weinbranche mit einer Produktion von 9,2 Mio. Hektolitern Wein auf 102.000 ha (Durchschnitt der Jahre 2007-2011) einen bedeutenden Wirtschaftszweig dar (DWI, 2012). Der Fokus liegt vor allem auf der Erzeugung qualitativ hochwertiger Weine (Steidl, Leindl, 2003).

Sowohl bei der Rotwein- als auch der Weißweinherstellung erschließen sich viele positive önologische Aspekte hinsichtlich einer Traubensortierung. Eine Entfernung von unreifen Trauben oder die Sortierung von gesunden und faulen Beeren per Hand wird bereits in vielen Weinbaubetrieben durchgeführt. Längst stellen aber nicht mehr nur unreife Trauben oder durch *Botrytis* befallene Beeren einen Sortierungsgrund dar, sondern auch eine Vielzahl weiterer unerwünschter Faktoren wie Sonnenbrandbeeren, Peronosporatrauben, Oidium, Schwarzfäule, Essigfäule oder auch Grünfäule, die auf Infektionen mit Pilzen bzw. Bakterien zurückzuführen sind. Bedingt durch die Klimaveränderungen kommt es zu einer Zunahme der Traubenfäulnis und auch der Fäulnisarten. Als besonders problematisch sind auch stark qualitätsmindernde Stoffwechselprodukte dieser Mikroorganismen anzusehen, die z. T. auch gesundheitliche Folgen für den Verbraucher beinhalten können. Dies stellt die Produzenten vor neue Herausforderungen, die qualitativen Anforderungen seitens Gesetzgeber und Absatzmärkten (Verbraucher) zu erfüllen.

Im zugrundeliegenden Projekt sollte die für die Weinerzeugung innovative Verfahrenstechnik des vollautomatisch-optischen Traubensortierers als Möglichkeit getestet werden, um vor allem unter Praxisbedingungen eine effiziente Selektion unerwünschter Beeren zu erreichen. Zur repräsentativen Aussage wurden praxisübliche Mengen (>1 Tonne) an Trauben mit unterschiedlichen Fäulnisarten und -intensitäten sortiert. Um die Allgemeingültigkeit der vollautomatisch-optischen Traubensortierung als Maßnahme zur Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit zu untersuchen, wurden zudem die unterschiedlichen Rebsorten *Riesling*, *Müller-Thurgau*, *Grauburgunder* und *Spätburgunder* nach den Kriterien Marktrelevanz, Reifegrad, Physiologie (unterschiedliche Beerengröße) und Phänologie (unterschiedliche Beerenfarbe) ausgewählt.

Die durch vollautomatisch-optische Traubensortierung erhaltenen Moste und korrelierenden Weine der Sortierfraktionen *Softvorlauf*, *Positivfraktion* mit den gesunden Beeren und *Negativfraktion* mit den faulen Beeren sollten im direkten Vergleich zum unsortierten Ausgangslesegut der *Kontrolle* hinsichtlich der Auswirkungen eines

Fäulnisbefalls untersucht werden. Durch einen Fäulnisbefall könnten bestimmte Mikroorganismen bei günstigen Wachstumsbedingungen, forciert durch die Klimaveränderungen, zur Bildung von traubenfremden Stoffen wie Gluconsäure (Ribéreau-Gayon et al., 2006a & 2006b) und produktschädigenden Stoffen, wie flüchtiger Säure (Dittrich, Großmann, 2005), biogenen Aminen (Scholten, Friedrich, 1998), Off-flavour-Verbindungen (La Guerche et al., 2006; Jackson, 2008) und Mykotoxinen (Serra et al., 2005; Fugelsang, Edwards, 2010; Barata et al., 2012) führen. Zudem kann es zu einer Änderung der traubeneigenen Inhaltsstoffe kommen, wozu neben den Standardanalyten wie dem Mostgewicht, den Kationen und den organischen Säuren auch Spezialparameter wie phenolische Verbindungen (Ribéreau-Gayon et al., 2006a & 2006b) zählen. Ein Fäulnisbefall kann ebenso Einflüsse auf die alkoholische Gärung, insbesondere auf die Bildung von Schwefelbindungspartnern, haben (Dittrich et al., 1974). Diese stofflichen Veränderungen sollten mittels chemisch-analytischer Untersuchungen sowohl in den Mosten als auch den korrelierenden Weinen der Jahrgänge 2010 und 2011 ermittelt werden.

In diesem Zusammenhang waren entsprechende Methodenentwicklungen und -validierungen notwendig. Die Etablierung einer Multi-Methode mittels HPLC-MS/MS zur Erfassung von Mykotoxinen in Mosten und Weinen war ein wesentliches Ziel dieser Arbeit. Hierbei sollten nicht nur die in Weinen bisher routinemäßig untersuchten Mykotoxine wie bspw. Ochratoxin A abgedeckt werden, sondern das Analyse-Spektrum besonders um Mykotoxine erweitert werden, die infolge möglicher Pilzinfektionen auf Trauben ebenso gebildet werden können. Im Rahmen dieser Methodenentwicklung galt es auch, eine routinemäßig anwendbare Probenaufarbeitungsmethode für Moste und Weine zu entwickeln. Zur Bestimmung der phenolischen Verbindungen mittels HPLC-UV sollte eine Multi-Methode mit einer kurzen Trenndauer der Analyten entwickelt werden.

Da ein Fäulnisbefall auf Trauben sensorisch nachteilige Effekte auf den Geruch und Geschmack eines Weines haben kann, wurden die Weine der Sortierversuche mittels eines geschulten Prüferpanels sensorisch bewertet.

Insgesamt wurden die Ergebnisse der optischen Bonitur, der chemisch-analytischen und der sensorischen Untersuchungen zur Bewertung der Sortiereffizienz herangezogen, um damit das innovative Verfahren der vollautomatisch-optischen Traubensortierung als Maßnahme zur Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit zu beurteilen. In diesem Zusammenhang wurde die aktuelle Fäulnisbelastung der Trauben, insbesondere anhand der stark qualitätsmindernden und gesundheitlich nachteiligen biogenen Amine und Mykotoxine, eingehender bewertet.

3 Definitionen

Traubenmost ist das aus frischen Weintrauben auf natürlichem Wege oder durch physikalische Verfahren gewonnene flüssige Erzeugnis (VO (EG) Nr. 479/2008).

Der Traubenmost stellt eine Vorstufe des Weines dar. Noch vor der Vergärung wird der Most im Hinblick auf die Möglichkeit einer Gärführung vorbehandelt. Zur Beeinflussung der Moste stehen u. a. folgende Möglichkeiten zur Verfügung (Troost, 1988):

- die enzymatische Behandlung der Moste mit pektolytischen Enzymen
- das Vorklären, bspw. durch Sedimentation oder Filtration
- die Anreicherung der Moste mit Zucker und die Mostentsäuerung

Der zur Gärung vorbereitete Traubenmost wird önologisch als **Gärgut** bezeichnet.

Traubensaft ist das flüssige, nicht gegorene, aber gärfähige Erzeugnis, das so behandelt wurde, dass es zum Verbrauch in unverändertem Zustand geeignet ist (VO (EG) Nr. 479/2008).

Wein ist das Erzeugnis, das ausschließlich durch vollständige oder teilweise alkoholische Gärung der frischen, auch eingemaischten Weintrauben oder des Traubenmostes gewonnen wird (VO (EG) Nr. 479/2008).

Die im Fokus dieser Arbeit stehenden Begriffe der **Qualitätssicherung**, **-steigerung** und **-sicherheit** werden im Folgenden definiert.

Die **Qualität** eines Lebensmittels ist der Erfüllungsgrad der Bedürfnisse der Kunden nach einwandfreien, genusstauglichen Lebensmitteln (Eisenbrand, Schreier, 1995).

Nach DIN EN ISO 8402 stellt die **Qualitätssicherung** die Summe aller Maßnahmen dar, um eine konstante Produktqualität sicherzustellen. In der Weinbranche ist die Qualitätssicherung vor allem bei der Erzeugung definierter Weinstile wichtig.

Bei der **Qualitätssteigerung** können erwünschte Inhaltsstoffe im Most bzw. Wein erhöht und unerwünschte Stoffe, u. a. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, reduziert bzw. entfernt werden.

Beim Begriff der **Qualitätssicherheit** wird auf die Anforderungen an die Lebensmittelsicherheit der VO (EG) Nr. 178/2002 Art. 14 (2a) zurückgegriffen. Hierbei gelten Lebensmittel als nicht sicher, wenn davon auszugehen ist, dass sie gesundheitsschädlich sind. Der Gehalt an gesundheitsschädlichen Stoffen sollte daher minimal sein; vorhandene gesetzliche Grenzwerte dürfen nicht überschritten werden.

4 Theoretische Grundlagen

4.1 Technologie - Vollautomatisch-optischer Traubensortierer

4.1.1 Aufbau

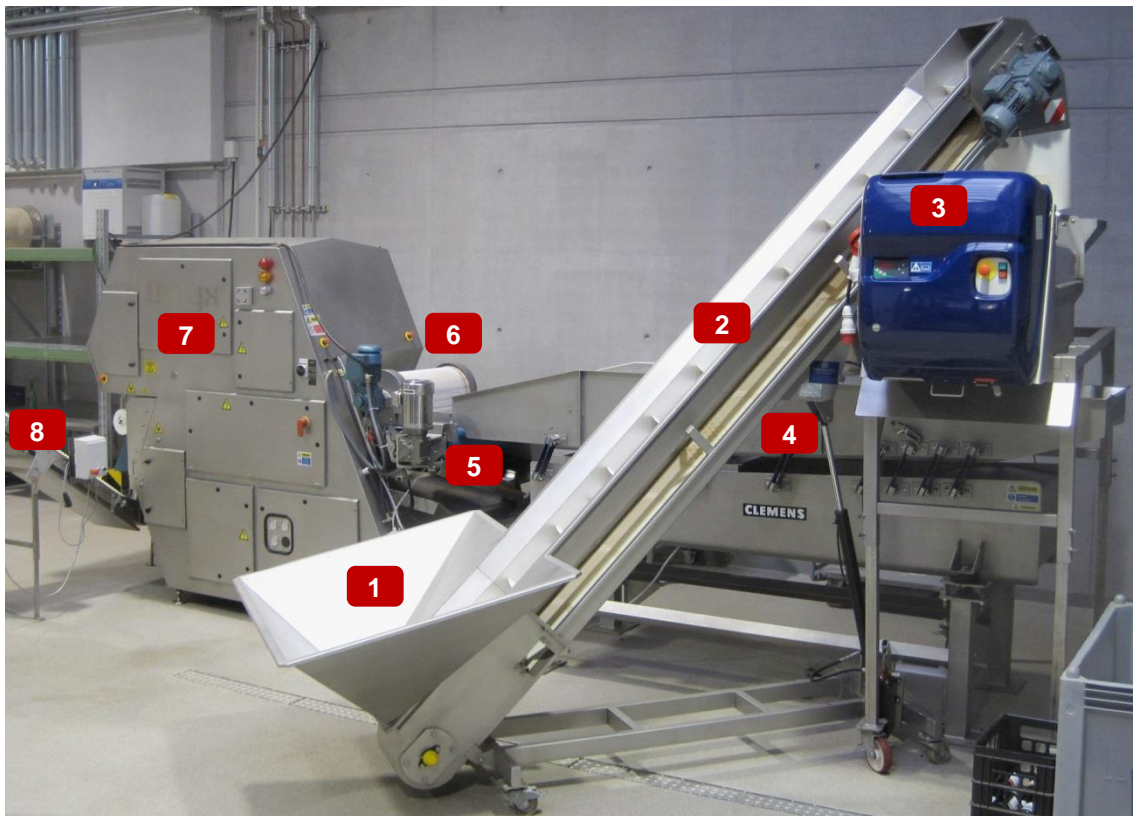


Abbildung 1: Aufbau des vollautomatisch-optischen Traubensortierers der Firma Key/Clemens mit 1: Aufgabetrichter / 2: Förderband / 3: Entrapper / 4: Vibrationstisch mit Vorentsaffung / 5: Sortierförderband / 6: Andrückrolle / 7: Selektionseinheit mit Kamera und Laser / 8: Förderband zum Abtransport der Negativfraktion (Fa. Clemens)

Die Sortieranlage G6-Optyx[®] Fluo-Raptor[™] 3375-F der Firma Key Technologies (Walla Walla, Washington State, USA) wird in der Lebensmittelindustrie zur Steigerung der Produktqualität und Produktivität eingesetzt. Sie stellt mit dem integrierten System einer Hochleistungs-Zeilen-Kamera und eines NIR-Lasers (near infrared laser) die zentrale Selektionseinheit bei der vollautomatisch-optischen Traubensortierung dar.

Um optimale Sortierergebnisse zu erzielen, sind die im Folgenden dargestellten Verfahrensschritte bei einer Traubensortierung notwendig (Rosch et al., 2010; Clemens, 2011; Feltes, Porten, 2011; Key Technologies, 2013).

4.1.2 Abläufe bei der Traubensortierung

4.1.2.1 Entrappung

Das in Lesegutbehältern angelieferte Hand-/Maschinenlesegut wird in den Aufgabetrichter (1) (Abbildung 1) des Förderbandes gekippt. Dieses (2) transportiert das Lesegut in den Entrapper (3) (Ablösen der Beeren von den Rappen), welcher direkt über der Aufgabezone des Vibrationstisches (4) angeordnet ist.

4.1.2.2 Vereinzelung und Vorentsaffung der Beeren



Abbildung 2: Vereinzelung und Vorentsaffung der Beeren auf dem Vibrationstisch des vollautomatisch-optischen Traubensortierers (Fa. Clemens)

Nach erfolgter Entrappung werden die Traubenbeeren aufgrund der vorhandenen Oberflächengeometrie des Vibrationstisches und der vorhandenen Schwingungen vereinzelt (Schichtdicke: eine Beere) und so gleichmäßig dem optischen Sortierer zugeführt. Auf dem Weg zum Sortierer findet eine drucklose Vorentsaffung und Abscheidung von ausgetretenen Traubenkernen und anderen unerwünschten Bestandteilen über die im Tisch vorhandenen Lochbleche ($\varnothing 2,5 \text{ mm}$) statt (Abbildung 2).

4.1.2.3 Beschleunigung und Stabilisierung der Beeren

Im Übergabebereich von Vibrationstisch zum Transportband (5) des optischen Sortierers (600 mm Bandbreite) erfolgt aufgrund des großen Geschwindigkeitsunterschiedes zwischen Vibrationstisch (0,3 m/s) und Sortierer-Förderband (3 m/s) eine „Entzerrung“ der einzelnen Traubenbeeren. Eine über dem Sortierförderband angebrachte rotierende Rolle, bestehend aus einem weichen Kunststoffnetz, läuft mit der gleichen Geschwindigkeit wie das Förderband (Abbildung 3). Sie stabilisiert die noch taumelnden Traubenbeeren auf dem Förderband und ermöglicht so die genaue Lageerfassung der einzelnen Beere durch die Kamera-/Lasereinheit.



Abbildung 3: Beschleunigung und Stabilisierung der Beeren vor der Detektion (Fa. Clemens)

4.1.2.4 Detektion/Scanning der Beeren mittels Kamera und Laser

Die optische Traubensortierung erlaubt mit ihren vielfältigen Einstellmöglichkeiten und hinterlegbaren Programmierungen eine sehr umfangreiche Sortierung. Je nach Lesegut wird mittels einer Hochgeschwindigkeits-Zeilen-Kamera alleine (Weißweinbeeren) oder durch Zuschaltung eines NIR-Lasers (Rotweinbeeren und Weißweinbeeren mit natürlicher bräunlicher Färbung) detektiert. Die Kamera- und die dahinter liegende Lasereinheit sind im Detektionsbereich lichtstark ausgeleuchtet (Abbildung 4).

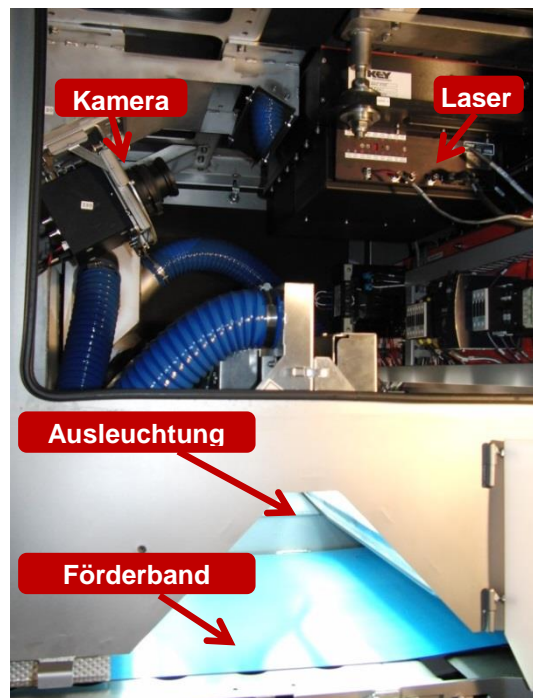


Abbildung 4: Kamera- /Laserbereich des vollautomatisch-optischen Traubensortierers (Feltes, J.)

Die Hochleistungs-Zeilen-Kamera mit einem **RGB-Farbspektrum** (Rot, Grün, Blau) sitzt im oberen Gehäusebereich und detektiert über Spiegel mit einer Abtastrate von 4.000 Aufnahmen pro Sekunde die zu sortierenden Trauben auf dem Förderband. Die Online-Aufnahmen der Beeren werden vom Rechner des Gerätes direkt ausgewertet und die Beeren entsprechend der zuvor festgelegten Parameter sortiert. Um diese Parameter einzustellen, werden gesunde und faule Beeren sowie Rappen und Stiele vor dem Start der Sortierung auf das Band gelegt und eingelesen. Mithilfe der Farberkennung der Kameras können z. B. grüne von braunen Beeren getrennt werden. Selbst der Grad der tolerierbaren Fäulnis ist einstellbar – d. h. es kann die maximale Größe des faulen Bereiches einer einzelnen Beere bestimmt werden. Das von der Kamera aufgenommene Bild kann vom Bediener an dem integrierten Computer als „gut“ oder „schlecht“ markiert werden (Abbildung 5). Die hierdurch errechneten Farbraster können nach Belieben weiter differenziert und als Sortierprogramme abgespeichert werden. Je genauer diese Abgrenzung erfolgt, desto besser ist die Sortierqualität.

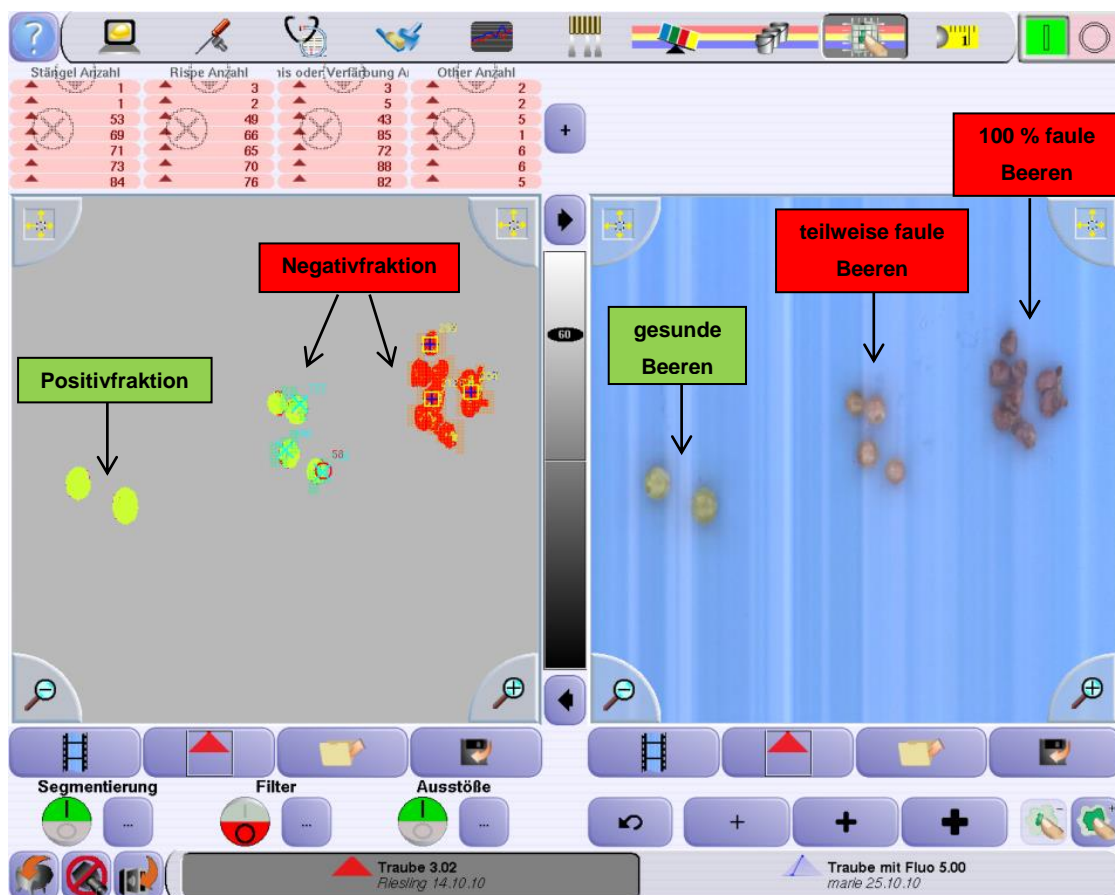


Abbildung 5: Kameradetektion (rechts) und Softwareerkennung nach festgelegten Sortierparametern (links)

Der **NIR-Laser** befindet sich ebenfalls im Gehäusebereich über dem Förderband. Er arbeitet bei einer Wellenlänge von 785 nm und dient der Erkennung von Beerenstrukturen und -oberflächen. Er wird zur Selektionsoptimierung von Beeren roter Rebsorten sowie weißer Rebsorten mit natürlicher bräunlicher Färbung, wie bspw. Grauburgunder, ergänzend zur Kamera zugeschaltet, da es hier beim Kamerasystem zu Problemen bei der Unterscheidung von gesund-roten bzw. gesund-bräunlichen zu fäulnisbedingt-braunen Beeren kommt. Der NIR-Laser arbeitet auf drei verschiedenen Signalwegen, der Streuung, der Polarisation und der Reflexion. Da bei den intakten, dunklen Beeren eine gleichmäßige Oberfläche im Vergleich zur ungleichmäßigen, strukturierten Oberfläche bei fäulnisbelasteten Beeren mit eingefallener Beerenhaut vorliegt, ist eine Differenzierung von gesunden, intakten Beeren und fäulnisbelasteten Beeren somit hinsichtlich ihrer Struktur und Oberflächenbeschaffenheit möglich (Abbildung 6).

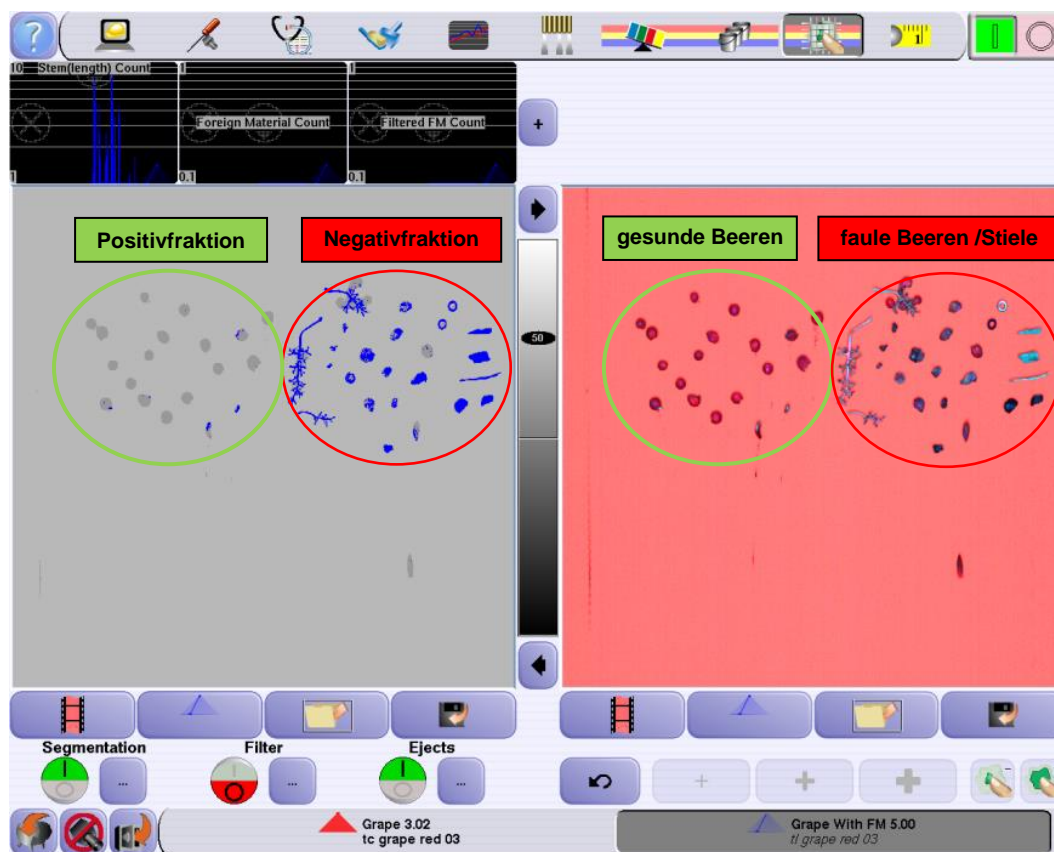


Abbildung 6: Laserdetektion (rechts) und Softwareerkennung nach festgelegten Sortierparametern (links)

4.1.2.5 Ausschleusung der Beeren mittels Druckluftdüsen



Abbildung 7: Pneumatisch-arbeitende Luftdüsenleiste des vollautomatisch-optischen Traubensortierers (Feltes, J.)

Nach Erfassung der genauen Lage der Traubenbeeren steuert der integrierte Hochleistungscomputer eine pneumatisch arbeitende Luftdüsenleiste (106 Düsen; 2,5 mm Abstand) (Abbildung 7) an, welche die sich hinter dem Förderband in der Flugphase („waagerechter Wurf“) befindlichen unerwünschten Traubenbestandteile (z. B. faule Beeren) pneumatisch nach unten „ausschießt“ bzw. selektiert (Abbildung 8) und mittels Abtransporteinheit (Abbildung 9) in einen Lesegutbehälter transportiert.



Abbildung 8: Sortierung der Beeren mittels Druckluft (Feltes, J.)

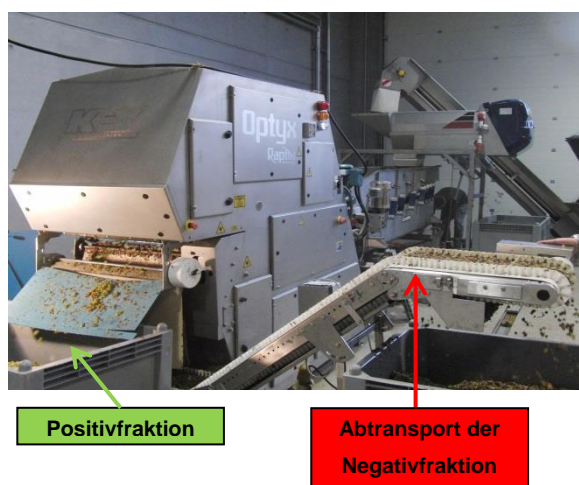


Abbildung 9: Sortierung mit Abtransport der Negativfraktion (Fa. Clemens)

Als optimale Druckluftbedingungen sind für Beeren 2-3 bar geeignet, da hierbei die „negativ“ aussortierten Bestandteile sowie benachbarte intakte Beeren nicht weiter durch Druckluft zerstört werden. Zudem werden „Mitreißeffekte“ vermieden, wodurch weniger gesunde Beeren in die Negativfraktion gelangen und die Sortierung genauer wird. Die intakten, gesunden Beeren „fliegen“ in einen hinter dem Sortierer stehenden Lesegutbehälter und können weiter verarbeitet werden.

4.1.2.6 Sortierfraktionen



Abbildung 10: Fraktionen eines Versuches nach Sortierung: Kontrolle (unsortiertes Lesegut), Positivfraktion (gesunde, intakte Beeren), Saftvorlauf (freiwerdender Saft), Negativfraktion (faule Beeren)

Die nach Sortierung erhaltenen Fraktionen sind in Abbildung 10 exemplarisch dargestellt und setzen sich wie folgt zusammen: Die **Kontrolle** enthält neben den gesunden, intakten Beeren auch prozentuale Anteile fäulnisbelasteter Beeren, je nach Befallsstärke. Die **Positivfraktion** enthält überwiegend gesunde, intakte Beeren, wohingegen in der **Negativfraktion** vor allem die fäulnisbelasteten und beschädigten Beeren enthalten sind. Infolge eines Pilzbefalls oder durch mechanische Einwirkungen (Traubenlese, Traubentransport) kann es zu Verletzungen der Beerenhaut kommen, sodass der Saft in Form des **Saftvorlaufs** aus den Beeren austreten kann. Bei einem Fäulnisbefall durch *Botrytis cinerea* kann es aber auch, je nach Entwicklung des Pilzes und der Wetterbedingungen, zu eingetrockneten, rosinenartigen Beeren kommen, aus denen kaum noch Saft austritt.

4.1.2.7 Leistung

In Abhängigkeit des Fäulnisgehaltes des Lesegutes kann eine Durchsatzmenge von 3-5 Tonnen Trauben pro Stunde erreicht werden (je höher der Fäulnisgehalt, desto geringer die Durchsatzmenge).

4.2 Aufbau der Traubenbeere

Die wertgebenden Inhaltsstoffe des Weines werden aus der Beere gewonnen, die sich histologisch in die Bereiche Wachsschicht (Cuticula), Beerenhaut (Exokarp), Fruchtfleisch (Mesokarp) und den Kernbereich untergliedert (Abbildung 11). Das Gesamtgewebe der Traubenbeere teilt sich je nach Sorte in 70-80 % Fruchtfleisch, 15-25 % Haut und 2-6 % Kerne auf (Christmann, 2001).

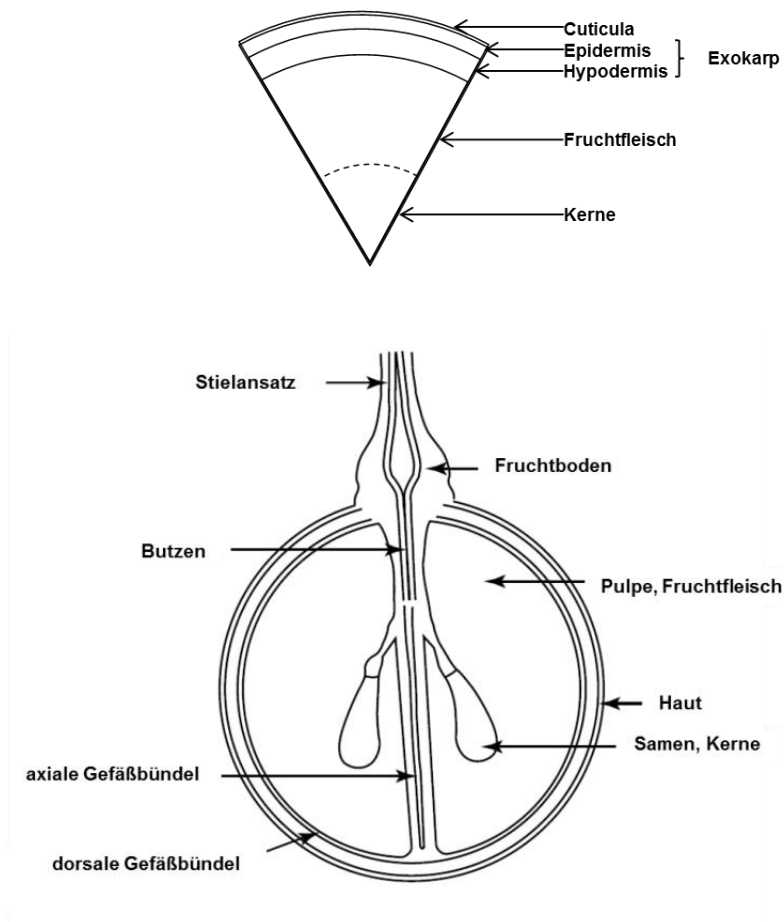


Abbildung 11: Schematischer Aufbau einer Beere (modifiziert nach Christmann, 2001; Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

Die dünne Cuticula überzieht die gesamte Beere und schützt vor mechanischer Verletzung und Verdunstung (Steidl, 2001). Sie bildet zusammen mit den darunter liegenden Gewebeschichten Epidermis und Hypodermis die Gesamtheit der Beerenhaut. Ihre Zellverbände bilden eine sortenspezifische Widerstandsfähigkeit gegen mikrobielle Infektionen und mechanische Belastungen. Die Beerenhaut lässt sich im reifen Zustand ohne Schwierigkeiten vom Fruchtfleisch ablösen. Der mechanisch-enzymatische Aufschluss bei der Traubenverarbeitung wird von der jeweiligen Beerenhautstärke der Sorte beeinflusst (Christmann, 2001). Die Beerenhaut beinhaltet die Hauptmenge an phenolischen Verbindungen, Mineralstoffen (Kalium, Calcium), Pektinen, Proteinen und

traubeneigenen Enzymen. Im Fruchtfleisch befindet sich die Hauptmenge des Saftes, in dem hauptsächlich Glucose, Fructose, Wein- und Äpfelsäure gelöst sind (Steidl, 2001).

Im Inneren der Beere befinden sich 2-4 Kerne, die als Träger von phenolischen Substanzen von Bedeutung sind. Je nach Rebsorte enthalten sie zwischen 22-56 % der gesamten phenolischen Verbindungen, darunter den Hauptteil der Catechine, der Gallus- und Kaffeesäure, die je nach mechanischer Beschädigung vermehrt in den Most gelangen (Christmann, 2001).

Witterungsverlauf, Reifezustand der Trauben und die Rebsorte selbst beeinflussen die Inhaltsstoffe des Mostes. Die Mostzusammensetzung ist für die Qualität des späteren Weines verantwortlich und bestimmt auch die erforderlichen Schritte der Mostbehandlung (Steidl, 2001).

Der Most enthält folgende durchschnittliche Konzentrationen (Steidl, 2001):

Wasser	780-850 g/L
Zucker	120-150 g/L
Säuren	6-15 g/L
Mineralstoffe	2,5-5 g/L
Stickstoffverbindungen	0,2-1,4 g/L
Polyphenole	0,1-2,5 g/L
Aromastoffe	(keine Konzentrationsangabe)

4.3 Rebsorten

4.3.1 Allgemeines

In den Jahren 2010 und 2011 wurden weltweit rund 7,5 Mio. ha Rebflächen, davon 3,5 Mio. ha in der EU, bewirtschaftet. Deutschlandweit betrachtet lag die Verteilung bei 64 % weißen und 36 % roten Rebsorten in diesen beiden Jahren. Im Anbaugebiet Mosel mit 8800 ha Rebfläche entfielen 91 % auf weiße und 9 % auf rote Rebsorten. Die bedeutendsten Rebsorten in dieser Region stellen Riesling (60 %), Müller-Thurgau (13 %) und Elbling (6 %) dar (DWI, 2012).

4.3.2 Riesling



Abbildung 12: Riesling-Trauben (Kohl, E.)

Bei Riesling handelt es sich um eine weiße Rebsorte, deren Aroma vor allem durch Monoterpene geprägt ist. Die Traube ist klein bis mittelgroß und sehr dichtbeerig. Die Beeren sind rund, grün bis gelbbraun (auf der Sonnenseite) und schwarz punktiert (Abbildung 12) (Ambrosi et al., 1994; Landesanstalt für Rebenzüchtung, 1998). Rieslingtrauben sind relativ fäuleanfällig, und auch durch Verrieseln (Folge einer gestörten Befruchtung, führt meist zur Kleinbeerigkeit) kann es Probleme geben. Vor allem der späte Austrieb und die für deutsche Verhältnisse späte Reife sind für den Riesling charakteristisch. Rieslingwein zeichnet sich durch eine fruchtige Säure aus, die dem Wein Frische, Rasse und Lebendigkeit verleiht. Sensorisch wird er mit Aromen wie Pfirsich und Apfel beschrieben (siehe Kapitel 4.7.2.4) (Ambrosi et al., 1994; Robinson, 1997; Landesanstalt für Rebenzüchtung, 1998). Das Anbaugebiet Mosel ist eines der größten deutschen Riesling-Anbaugebiete (DWI, 2013a).

4.3.3 Müller-Thurgau (Rivaner)



Abbildung 13: Müller-Thurgau-Trauben
(Kohl, E.)

Bei Müller-Thurgau handelt es sich um die Kreuzung aus der Riesling- und der Madeleine royale-Rebe. Diese weiße Rebsorte hat große Trauben, die locker bis dichtbeerig sind. Die hartschaligen Beeren sind oval, mittelgroß, gelblich grün und beduftet (Abbildung 13). Die Weine sind überwiegend leicht und durch eine milde Säure mit einem angenehmen Muskatton gekennzeichnet (siehe Kapitel 4.7.2.4) (Ambrosi et al., 1994; Robinson, 1997; Landesanstalt für Rebenzüchtung, 1998).

4.3.4 Grauburgunder (Pinot gris)



Abbildung 14:
Grauburgunder-Traube
(Kohl, E.)

Beim Grauburgunder handelt es sich um eine weiße Rebsorte, deren Trauben mittelgroß und sehr dichtbeerig sind. Die Beeren sind rund bis länglich, dünnhäutig und je nach Reife grau bis blaurot gefärbt (Abbildung 14). Die Weine werden als saftig, würzig, leicht spritzig bis voluminös beschrieben (siehe Kapitel 4.7.2.4) (Ambrosi et al., 1994; Robinson, 1997; Landesanstalt für Rebenzüchtung, 1998).

4.3.5 Spätburgunder (Pinot noir)



Abbildung 15:
Spätburgunder-Trauben
(Kohl, E.)

Beim Spätburgunder handelt es sich um eine rote Rebsorte. Die Traube des Spätburgunders ist klein bis mittelgroß und eher dichtbeerig. Die Beeren sind mittelgroß, rund bis oval, dunkelblau bis violett, stark beduftet, dünnhäutig und saftreich (Abbildung 15). Daraus hergestellte Weine sind saftig, fruchtig, körperreich, samtig und voll (siehe Kapitel 4.7.2.4) (Ambrosi et al., 1994; Robinson, 1997; Landesanstalt für Rebenzüchtung, 1998).

4.4 Klimatische Bedingungen

4.4.1 Klimawandel

Wie jede Kulturpflanze stellt auch die Weinrebe spezielle klimatische Anforderungen. Als wichtige Standortfaktoren gelten u. a. Sonne (Strahlung), Wasser, Boden (Mineralstoffe) und Lage (Exposition), die je nach Verteilung im zeitlichen Verlauf der Traubenreife einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung der Pflanze ausüben. Witterungsschwankungen wirken sich wesentlich auf die Qualität des Weines aus (Jahrgangsunterschiede) (Bauer, Fardossi, 2008).

Der Klimawandel macht sich seit einigen Jahren auch in der Weinbranche deutlich bemerkbar. Bei Betrachtung der Vegetationsperiode von April bis Oktober ist ein sichtbarer Trend zur Erwärmung und zur Änderung in der Niederschlagsverteilung, vor allem seit 1997, feststellbar. Es kommt durchschnittlich zur Reifeverfrühung und -beschleunigung in der Vegetationsperiode bis hin zur Lese, Ausbreitung wärmeliebender Schädlinge und Krankheiten, Abnahme der Frosttage, Zunahme von Hitzeperioden, Starkregen- und Hagelereignissen (Schmitt, 2007; Walg, 2008; Rosch et al., 2010; Lipps, 2013).

Als positive Auswirkung der früheren Traubenreife und -lese ergibt sich ein größerer Spielraum für die Erreichung bestimmter Qualitätsstufen beim Wein. Die Beerenreifephase wird durch die Verfrühung der Entwicklung in eine wärmere Zeit verlegt. Durch höhere Tages- und besonders Nachttemperaturen erfolgen ein stärkerer Säureabbau und eine Veränderung der Ausprägung von Fruchtaromen, besonders bei weißen Rebsorten. Die Weinqualität ändert sich hin zu reiferen, extrakt- und alkoholreicheren Weinen. Gerade dieser Aspekt kann aber auch als negativ betrachtet werden. Die bekannten Vorzüge deutscher Weißweine, wie Fruchtigkeit, Säurespiel und moderater Alkoholgehalt, gehen damit immer mehr verloren (Schmitt, 2007; Bauer, Fardossi, 2008).

Als zunehmende Herausforderung hinsichtlich der Traubengesundheit sind vor allem die häufigen Witterungswechsel, Starkregenereignisse und eine Reife bei höheren Temperaturen mit einem folglich schnelleren Verlauf von Fäulnisprozessen anzusehen. Je wärmer und feuchter die Reifephase der Beeren ist, desto leichter können bspw. *Botrytis*, *Penicillium* (Grünfäule) und Essigfäule die Beeren befallen. Starkregenereignisse kurz vor der Lese führen zu aufgeplatzten Beeren, die damit ideale Eintrittspforten für Mikroorganismen darstellen. Die veränderten Witterungsbedingungen führen auch zum Auftreten neuer Krankheiten und Schädlinge. Erhebliche Ertrags- und Qualitätseinbußen sind die Folgen (Schmitt, 2007; Bauer, Fardossi, 2008).

4.4.2 Vegetationsperiode 2010

Zwischen der Hochblüte der Weinrebe und der Lese liegen in unseren Breiten durchschnittlich 105-115 Tage (Steidl, Leindl, 2003). Die Reblüte des Jahres 2010 lag vom Zeitraum her gesehen im langjährigen Mittel (Rebschutzdienst Nr. 16, 2010). Bei Betrachtung der Witterung 2010 kam es Anfang und Ende September zu einigen niederschlagsreichen Tagen (Abbildung 16). Der dadurch erhöhte Wasserdruck in den Pflanzen führte bei den Beeren teils zum Reißen der Beerenhäute. Der dabei austretende Saft diente als Nährstoffsubstrat für die Besiedlung mit exogenen Pilzen; vor allem die Anfang Oktober vorherrschend warmen Temperaturen (inkl. hoher Luftfeuchtigkeit) begünstigten eine Primärfektion mit *Botrytis cinerea*. Die Befallsrate des Versucheslesegutes war mit durchschnittlich 33 % in diesem Jahr sehr hoch. Die kühleren Temperaturen im Anschluss an die Primärfektion führten jedoch nur zur langsamen Entwicklung des *Botrytis*-Pilzes, wodurch dessen Entwicklungsstadium zum größten Teil als „edelfaul“ zu bewerten war. Die Weiterentwicklung des *Botrytis*-Pilzes zur Graufäule war vereinzelt erst gegen Ende der Ernteperiode zu erkennen. Aufgrund der kühlen Bedingungen konnten keine Sekundärfektionen festgestellt werden.

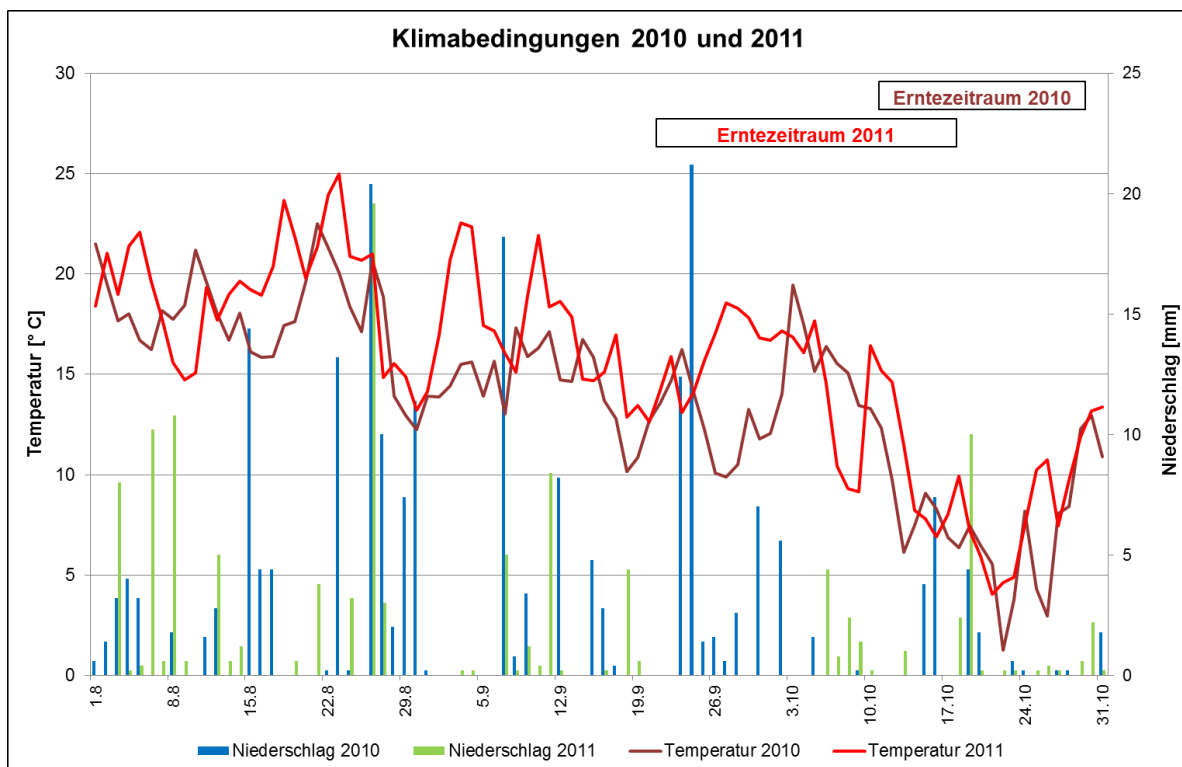


Abbildung 16: Temperaturen, Niederschläge und Erntezeiträume der Jahrgänge 2010 und 2011 jeweils vom 01.08. bis 31.10. (Wetterstation Bernkastel-Kues; Agrarmeteorologie Rheinland-Pfalz, Stand vom 06.06.2013)

4.4.3 Vegetationsperiode 2011

Die Vegetationsperiode des Jahrgangs 2011 zeichnete sich durch eine sehr frühe Reifeentwicklung der Beeren im Vergleich zu 2010 aus (Rebschutzdienst Nr. 8, 2011). Die warme Frühjahrswitterung in 2011 hatte eine rasante Entwicklung der Reben in den Weinbergen zur Folge. Die Reben blühten bereits Ende Mai und damit etwa 20 Tage früher als im Durchschnitt der Jahre (DWI, 2011). Die anschließende Witterung verkürzte den Vegetationsvorsprung auf etwa zwei Wochen (KIS Mosel Nr. 9, 2011).

Bei Betrachtung der in Abbildung 16 dargestellten Klimadaten führten Niederschläge bei frühreifen Rebsorten wie Burgunder und Müller-Thurgau bereits Ende August zu Pilzinfektionen. Die Beerenhäute reifer Beeren wurden vermehrt durch Insektenfraß beschädigt. Am 26.08.2011 sorgte zudem regional auftretender intensiver Hagel für starke Beerenschäden. In Kombination mit den warmen Temperaturen im Anschluss waren nicht nur Pilzinfektionen zu erkennen, sondern auch ein stärkerer Befall mit Essigsäurebakterien, die die sog. Essigfäule verursachen. Erneute Niederschläge von Anfang bis Mitte September und andauernd warme Temperaturen begünstigten weiter den Krankheitsbefall der Beeren sowie eine schnelle Entwicklung der Fäulnisverursacher. Da es bis zum Ernten der Trauben zu keinen weiteren, starken Niederschlägen kam, blieb die Befallsrate des Versuchslesegutes bei durchschnittlich 13 % und war damit geringer als 2010. Die feucht-warmen Witterungsbedingungen führten jedoch verstärkt zur Bildung von Graufäule (siehe Kapitel 4.5.2.1) sowie vereinzelt zur Ansiedlung weiterer Sekundärpilze und auch Essigsäurebakterien.

4.4.4 Reifeentwicklung 2010/2011

Anhand der amtlichen Reifemessung des DLR Mosel wird die unterschiedliche Reifeentwicklung der Trauben einzelner Rebsorten abgeleitet. Die amtlichen Reifemessungen beginnen jährlich bei einem Mostgewicht der Trauben von etwa 50 °Oe und enden zu Beginn der Traubenernte. Aus insgesamt 62 Weinbergen verschiedener Bereiche der Mosel, welche einen repräsentativen Durchschnitt widerspiegeln, und unterschiedlicher Rebsorten, werden schematisch Beerenproben gesammelt und hinsichtlich der Standardparameter, u. a. Mostgewicht, pH-Wert und Säure mittels FTIR analysiert. Abbildung 17 verdeutlicht exemplarisch den Reifeverlauf der Rebsorte Riesling (im Bereich Trier) hinsichtlich des Mostgewichtes und des Säuregehaltes in den Jahrgängen 2010 und 2011.

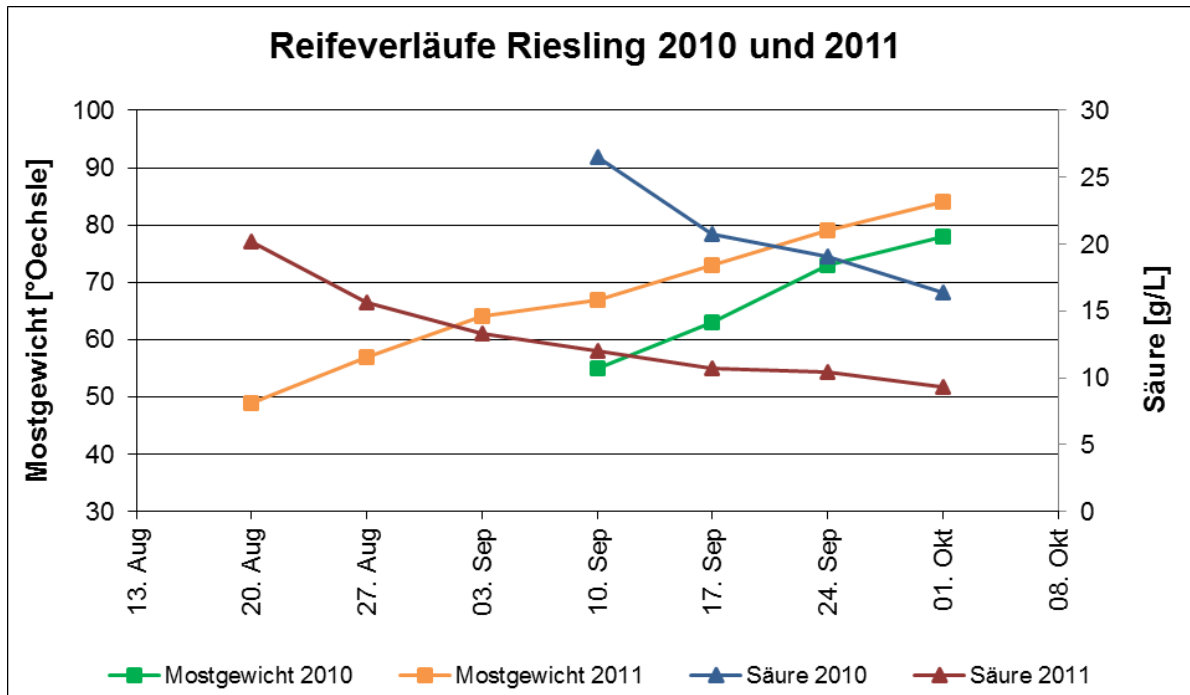


Abbildung 17: Reifeverläufe der Rebsorte Riesling (im Bereich Trier) hinsichtlich des Mostgewichtes und des Säuregehaltes in den Jahrgängen 2010 und 2011 (KIS Mosel Nr. 16, 2011)

4.5 Fäulnis

4.5.1 Allgemeines

Schimmelpilze kommen ubiquitär vor und sind obligate Aerobier (Fugelsang, Edwards, 2010). Vor allem Pilze der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Alternaria* stellen die Hauptverursacher für den Verderb von Früchten dar und sind für den finanziellen Verlust in vielen Bereichen der Lebensmittelindustrie verantwortlich. Früchte sind wegen ihrer hohen Wasseraktivität (a_w -Wert), ihrem hohen Zuckergehalt und den organischen Säuren, die zu einem niedrigen pH-Wert im Fruchtfleisch führen, anfälliger gegenüber Pilzen als gegenüber anderen Fäulnis-Mikroorganismen (Jackson, Al-Taher, 2008). Im Allgemeinen zeichnen sich Früchte durch ihren hohen Säuregehalt aus, der sich in pH-Werten zwischen $<2,5$ und 5 widerspiegelt. Das Wachstum vieler Bakterien wird bei solch niedrigen pH-Werten gehemmt, wohingegen für Hefen und Schimmelpilze diese pH-Werte tolerierbar sind und teilweise sogar optimale Wachstumsbedingungen darstellen (Drusch, Ragab, 2003).

4.5.2 Fäulnis auf Trauben



Abbildung 18: Fäulnisbefall auf Trauben (Kohl, E.)



Abbildung 19: Perforation der Beerenhaut durch *Botrytis cinerea* (Kohl, E.)

Die Traubenqualität hängt in erster Hinsicht vom Gesundheitszustand der Trauben ab und ist für die spätere Weinqualität von zentraler Bedeutung (Barata et al., 2011a). Ein Fäulnisbefall auf Trauben, der von zahlreichen Mikroorganismen (wie Schimmelpilzen, Bakterien, Hefen) ausgehen kann, stellt die Hauptursache einer verminderten Traubenqualität dar (Abbildung 18) (Fugelsang, Edwards, 2010). Viele Faktoren, wie Regen, Temperatur, Rebsorte, Reifezustand der Beere, Lokalisation der Beere innerhalb der Traube, physikalische Schäden wie Vogel- und Insektenschäden oder Schimmelpilzbefall sowie die Applikation von Fungiziden und Insektiziden beeinflussen Diversität und Quantität der mikrobiellen Populationen auf der Traube (Barata et al., 2012).

Warme und feuchte Klimabedingungen begünstigen das Wachstum aller Schimmelpilze (Bellí et al., 2002). Die Art des Pilzbefalls auf Trauben ist nicht nur auf die

klimatischen Bedingungen, die landwirtschaftlichen Methoden und den Reifezustand der Beeren zurückzuführen, sondern auch auf den Zustand der Trauben und die Aggressivität der Pilze (Paster, 2008). In diesem Zusammenhang spielt der Zustand der Beerenhaut eine entscheidende Rolle, da Verletzungen der Schale als Eintrittspforte für Pilze und Mikroorganismen dienen. Solche Wunden können sowohl durch Insektenfraß, Hagelschlag, Abquetschen der Beeren, mechanische Belastungen als auch durch enzymatische Perforation der Beerenhaut durch *Botrytis* entstehen. Der dadurch zugängliche Saft dient den Mikroorganismen als Nährmedium, wodurch eine starke Vermehrung begünstigt wird (Abbildung 19) (Dittrich, 1989; Dittrich, Großmann, 2005; Walter, Kortekamp, 2012).

Auf der Oberfläche von reifen, gesunden Trauben kommen Mikroorganismen in Populationen zwischen 10^3 - 10^5 cfu/g (colony forming unit) vor, wobei es sich dabei überwiegend um Hefen und verschiedene Arten von Milch- und Essigsäurebakterien handelt. Auf beschädigten Trauben können deutlich höhere Populationen mit 10^6 - 10^8 cfu/g bestimmt werden, wobei filamentöse Pilze (z. B. *Botrytis cinerea*) und Essigsäurebakterien verstärkt auftreten (Fleet, 1999). Auf Trauben werden üblicherweise die Gattungen *Aspergillus*, *Botrytis* und *Penicillium*, in geringerem Ausmaß auch *Phytophthora*, *Moniliella*, *Alternaria* und *Cladosporium* gefunden (Da Rocha Rosa et al., 2002). Fäulnisbefallene Trauben zeigen eine veränderte chemische Zusammensetzung auf; die Aktivität von Schimmelpilzenzymen wirkt sich nachteilig auf Geruch, Geschmack und Farbe der Weine aus (Fleet, 1999). In diesem Zusammenhang bilden Schimmelpilze wie *Aspergillus* und *Penicillium* zahlreiche Verbindungen, wie bspw. 1-Octen-3-ol, wodurch pilzige Mufftöne in den Weinen hervorgerufen werden (Fugelsang, Edwards, 2010). Eine Fäulnis kann auch einen negativen Einfluss auf das Hefewachstum während der alkoholischen Gärung und auf das Wachstum von Milchsäurebakterien während der malolaktischen Gärung haben (Fleet, 1999). Die Erntetemperaturen sind ebenfalls zu berücksichtigen, da aus warmem Lesegut auch warme Moste entstehen, in denen es zur raschen Vermehrung der Mikroorganismen kommt (Degünther, 2012). Die Kontrolle des Pilzwachstums auf Trauben ist daher eine Schlüsselaufgabe bei der Weinproduktion (Fleet, 1999), besonders auch in Hinblick auf eine mögliche Bildung von Mykotoxinen (Fugelsang, Edwards, 2010; Barata et al., 2012). Da die Lebensmittelsicherheit in Europa eine große Rolle spielt, liegt der Schwerpunkt daher auf der Minimierung von Toxinen als Lebensmittelkontaminanten, um den Schutz der Verbraucher zu gewährleisten (Dombrink-Kurtzman, 2008).

Bei der folgenden Zusammenstellung handelt es sich u. a. um subjektiv (optisch und geruchlich) wahrgenommene Fäulnisbelastungen der Versuchstrauben der Jahrgänge 2010 und 2011. Die jeweiligen Auswirkungen auf die Rebe, und speziell auf die Trauben

bzw. Beeren, sind dargestellt. Es handelt sich somit um keine abschließende und vollständige Darstellung aller möglichen Mikroorganismen, sondern um eine fallbezogene, exemplarische Zusammenstellung.

4.5.2.1 *Botrytis cinerea*

Der für den Weinbau wichtigste Schimmelpilz ist *Botrytis cinerea*. Es handelt es sich um einen Pilz der Klasse der Ascomyceten, der in seiner parasitischen Phase im Pflanzengewebe (endoparasitisch) wächst (Dittrich, Großmann, 2005).

Botrytis cinerea führt weltweit zu einem jährlichen Ertragsverlust von rund 20 % und zu Verlusten zwischen 10-100 Milliarden Euro (Genoscope, 2002). *Botrytis* tritt meist als Primärinfektion der Trauben auf. Am häufigsten infiziert der Pilz die Beeren über Wunden in der Beerenhaut. Mit zunehmender Kompaktheit der Trauben quetschen sich die Beeren gegenseitig ab, wodurch bereits ab Reifebeginn solche Wunden entstehen (Walter, Kortekamp, 2012).



Abbildung 20: *Botrytis cinerea*-befallene Trauben (Kohl, E.)

Zu Beginn einer *Botrytis*-Infektion verfärben sich die Beeren weißer Rebsorten hellrosa bzw. hellbraun und die Beeren roter Rebsorten violett (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009). Ein Fortschreiten des Pilzwachstums ist vom inneren Bereich der Beere (Beeren noch grün) nach außen (Beerenhaut bereits vom Pilz braun verfärbt) deutlich zu erkennen. Besonders bei dicht gepackten Trauben kann es leicht zu einer Infektion einer gesunden Beere durch eine unmittelbar benachbarte faule Beere kommen. Aus punktuellen *Botrytis*-Infektionen entstehen so in den Trauben „Nester“ *Botrytis*-befallener Beeren (Abbildung 20) (Dittrich, 1989; Walter, Kortekamp, 2012).

Bei länger andauernder Feuchtigkeit überziehen sich alle von dem Pilz befallenen Pflanzenteile (Trauben, Stiele) mit einem für *Botrytis* charakteristischen Belag (Grauschimmel). Der gleiche Pilz kann sowohl als Schädling als auch als Nützlichling auftreten. Je nachdem, welcher Traubenteil bzw. bei welchem Reifegrad die Beeren befallen werden, wird zwischen Roh- oder Sauerfäule, Edelfäule, Graufäule und Schwundfäule unterschieden (Dittrich, 1989; Dittrich, Großmann, 2005).

Die **Roh- oder Sauerfäule** entsteht, wenn unreife Beeren infiziert werden, deren Mostgewichte je nach Traubensorte zwischen 25-50 °Oechsle liegen (Dittrich, 1989). Rebsorten mit dünner Beerenhaut können bei beginnender Reife ab etwa 50 °Oechsle durch *Botrytis*-Befall (Rohfäule) innerhalb von wenigen Tagen zusammenfaulen. Aus rohfaulen Trauben können nur minderwertige Moste mit geringem Zuckergehalt und hohem Säureanteil gewonnen werden (Held, 2009).

Bei reifen Beeren werden zwei *Botrytis*-Stadien, die nachfolgend näher betrachtet werden, unterschieden.

Als Erzeuger der **Edelfäule** kann *Botrytis* die Gewinnung von hochwertigen Spitzenweinen ermöglichen (Hillebrand et al., 1998; Dittrich, Großmann, 2005). Bei der Edelfäule werden schon vollreife Beeren (ab 65 °Oechsle) bei trockenem, warmem Herbstwetter und taureichen Nächten durch den Schimmelpilz befallen. Er perforiert dabei die Beerenhaut und zerstört deren Zellzusammenhalt durch pektolytische Enzyme (Dittrich, 1989). Dies führt zu einer verstärkten Verdunstung des Wassers, wobei die Beereninhaltsstoffe (Zucker, Säure) konzentriert werden, was als wichtigste Veränderung anzusehen ist. Die Mostausbeute wird dadurch zwar verringert, aber der Zuckergehalt des Mostes und damit die spätere Weinqualität aufgrund des gesteigerten Mostgewichtes erhöht. Aus edelfaulen Trauben werden hochedle Prädikatsweine, wie Auslesen, Beerenauslesen und Trockenbeerenauslesen (Deutschland), Sauternes (Frankreich) und Tokaji (Ungarn) gewonnen (Dittrich, 1989; Hillebrand et al., 1998; Dittrich, Großmann, 2005; Carrascosa et al., 2011; Jakob, 2012). Die aus *Botrytis*-befallenen, reifen Trauben hergestellten Weine haben ein charakteristisches Aroma („*Botrytis*-Ton“), eine Fülle von Extraktstoffen und Süße (Jakob, 2012). Die sortenspezifischen Bukett- und Aromastoffe der jeweiligen Rebsorte werden von *Botrytis* weitgehend zerstört. Weine aus edelfaulen Trauben werden als hochwertiger angesehen; ihre Sortenspezifität ist aber verringert oder sogar kaum erkennbar (Dittrich, 1989; Dittrich, Großmann, 2005).

Es kann weiterhin zu erhöhten Gehalten an Glycerin und Gluconsäure sowie zu einem Konzentrationsanstieg der Schwefelbindungspartner 2-Ketoglutar Säure und Brenztraubensäure um 50 % kommen (Holbach, Woller, 1976 & 1978; Dittrich, 1989; Dittrich, Großmann, 2005). Jedoch ist die Bildung von Glycerin und Gluconsäure nicht nur

auf den *Botrytis*-Befall zurückzuführen, sondern auch auf die damit verbundene Folge-Mikroflora (Dittrich, 1989). Der *Botrytis*-Pilz weist wichtige enzymatische Aktivitäten auf, die von Pektin-abbauenden und Phenol-oxidierenden Enzymen ausgehen. Zu letzteren zählt vor allem die Laccase, deren Aktivität zu einer Farbvertiefung bei Weißweinen und einer Abnahme der Anthocyane in Rotweinen führt (Dittrich, 1989). Von erheblicher technologischer Bedeutung ist die Glucanbildung des Pilzes, die bei Weinen aus faulen Beeren zu Klärungs- und Filtrationsschwierigkeiten führt (Dittrich, Großmann, 2005).

Die **Graufäule**, die zweite Art der *Botrytis*-Fäule auf reifen Trauben, tritt bei nasser Witterung auf, wobei der enzymatische Zellabbau erhöht wird und es zu einer Braunfärbung der befallenen Stellen kommt. Bei Weißweinen führt dies zur Hochfärbigkeit, bei Rotweinen zu Farbverlusten (Steidl, 2001). Graufäule bewirkt oft unerwünschte und negative Effekte hinsichtlich der Weinqualität, was hauptsächlich durch die Maskierung und den Abbau von Aromastoffen sowie der Bildung von dumpf-muffigen, erdigen und „pilzigen“ Fremdaromen, den sogenannten „Off-flavour“-Verbindungen (u. a. 1-Octen-3-on, 1-Octen-3-ol), verursacht wird (Ribéreau-Gayon et al., 2006a & 2006b; Hong et al., 2011).

Bei **Schwundfäule** handelt es sich um infiziertes Traubenmaterial, das bei gutem Wetter eine Erhöhung des Mostgewichtes ergeben hätte, aber durch regenbedingte Auswaschung an Zucker verloren hat und das Mostgewicht dadurch erheblich gesunken ist (Dittrich, 1989).

Bakterien- und Hefepopulationen nehmen während des Reifeprozesses der Traubenbeeren zu; auf *Botrytis*-infiziertem Lesegut sind sie in deutlich größerer Anzahl vertreten als auf gesundem (Duhail et al., 1999; Barbe et al., 2001). Die Hefezahlen sind in Mosten aus solchen Beeren mindestens zehnmal höher als in Mosten aus vergleichbaren gesunden Beeren (Dittrich, 1989). Gleichzeitig mit der Ausbreitung des *Botrytis*-Pilzes kann es auch zum Befall durch Sekundärfäuleerreger wie Essigsäurebakterien kommen, die auf den geschädigten Beeren schnell wachsen (Dittrich, 1989; Würdig, Woller, 1989; Dittrich, Großmann, 2005).

4.5.2.2 Penicillium

Die Gattung *Penicillium* ist auch für das Verderben von Nahrungs- und Futtermitteln verantwortlich und daher von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Es handelt sich hierbei um Schimmelpilze, die über die Luft übertragen werden. Viele *Penicillium*-Arten können eine Vielfalt an Mykotoxinen, u. a. Patulin, Ochratoxin A (OTA), Citrinin, Penicillinsäure, Citreoviridin sowie weitere Sekundärmetabolite wie Roquefortin C produzieren (siehe Kapitel 4.6.1) (Barkai-Golan, 2008).

4.5.2.2.1 *Penicillium expansum* Link: Grünfäule



Abbildung 21: *Penicillium* auf Trauben (Rosch, A.)

Die Grünfäule stellt eine Sekundärkrankheit auf reifen Beeren dar. Als Hauptverursacher der Grünfäule ist *Penicillium expansum*, der zur Klasse der Ascomyceten gezählt wird, beschrieben, wobei auch andere *Penicillium*-Arten auf befallenen Beeren festgestellt werden konnten (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009). *P. expansum* besiedelt bevorzugt Traubenbeeren, die durch Vogelfraß, Wespen, Quetschungen u. a. mechanisch verletzt wurden (Altmayer, 1983).

Nach *Botrytis* sind die *Penicillien* die wichtigsten Infektanten von Traubenbeeren (Dittrich, Großmann, 2005). Von 215 Pilzstämmen (außer *Botrytis*), die von Trauben isoliert wurden, gehörten 133 Stämme zur Gattung *Penicillium* (Radler, Theis, 1972).

Grünfäule tritt in warmen und feuchten Jahren auf, wenn die Beeren frühzeitig in die Reifephase übergehen. Risikofaktoren für eine Grünfäule-Infektion sind hohe Temperaturen im Sommer und häufiger Niederschlag während der Beerenreife. Auf den Beeren erscheint ein weißer Belag an den verletzten Stellen der Beerenhaut, der sich ausdehnt und sich gräulich-grün verfärbt (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009). Befallene Beeren werden weicher und verändern ihre Farbe von oliv-grün zu schwach-braun (Abbildung 21). Im fortgeschrittenen Stadium der Infektion verfaulen die Trauben und schrumpfen bei trockenen Umgebungsbedingungen ein. Dicht gepackte Trauben werden häufiger von Grünfäule befallen. Diese Cluster zeigen innen Nester mit faulen Beeren (Mohr, 2005). Daher sind Sorten mit dicht gepackten Trauben anfälliger als solche mit loser Beerenstruktur. Außerdem tritt Grünfäule in Jahren mit hohem Beerenertrag und folglich kompakten Clustern häufiger auf. Der Befall von einzelnen Beeren kann auf den gesamten Cluster übergehen und zu mumifizierten Clustern führen, die mit Grünfäule überzogen sind (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009).

Untersuchungen zeigten, dass *Penicillium*-Moste im Vergleich zu gesunden Mosten nicht den Endvergärungsgrad erreichen. Weiterhin setzt die alkoholische Gärung bei Mosten aus stark befallenem Lesegut mit einer erheblichen zeitlichen Verzögerung ein, wenn keine Reinzuchtheefe verwendet wird (Eichhorn, Lorenz, 1978). Es kommt zur veränderten Zusammensetzung des Mostes, da Zucker- und Säuregehalte sowie Gluconsäure und Glycerin zunehmen. Beeren, die mit Grünfäule befallen sind, zeigen deutliche Fremdaromen, wobei bereits eine geringe Menge an infizierten Trauben zu einem muffigen Geschmack im Wein führen kann (Altmayer, 1983; Kassemeyer, Berkelmann-

Löhnertz, 2009). Aus reinen *Penicillium*-Beeren hergestellter Wein ist kaum genießbar, da diese Weine u. a. auch sehr bitter sind (Eichhorn, Lorenz, 1978; Dittrich, Großmann, 2005).

4.5.2.3 *Plasmopora viticola* (Berk. & M. A. Curtis) Berl. & De Toni: *Peronospora*



Abbildung 22: Weißer *Peronospora*-Pilzrasen auf jungen Beeren (Kohl, E.)

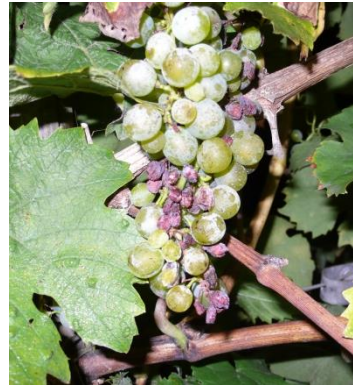


Abbildung 23: Lederbeeren (Rosch, A.)

Peronospora ist auch unter den Bezeichnungen Falscher Mehltau, Blattfallkrankheit und Lederbeerenkrankheit (*Plasmopora viticola*) bekannt. Dabei werden alle grünen Rebeile befallen. Die durch den Pilz verursachten Ausfälle reichen bis hin zum totalen Ertragsverlust. *Peronospora* zerstört u. a. das Blattgewebe, wodurch es zum Blattfall kommt. Junge Beeren werden von einem weißen Pilzrasen befallen und sterben ebenfalls ab (Abbildung 22). Ab Erbsengröße der Beeren wächst der Pilz in das Innere der Beeren ein, sodass sich die Beeren blau verfärben und zu Lederbeeren eintrocknen (Abbildung 23). Diese fallen entweder zu Boden oder verbleiben in der Traube, wo sie bei nassem Wetter faulen. Der Ausbruch der *Peronospora* erfolgt während der Dunkelheit unter hoher Luftfeuchtigkeit und einer Temperatur größer 12 °C (Hillebrand et al., 1998; Held, 2009).

4.5.2.4 *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz: Schwarzfäule



Abbildung 24: Schwarzfäule auf Trauben (Kohl, E.)

Guignardia bidwellii gehört zur Klasse der Ascomyceten und wird auch als „Black rot“ bzw. Schwarzfäule bezeichnet. Er tritt an Blättern, Blattstielen, Trieben und dem Stielgerüst der Trauben auf. Bei Traubenbefall tritt ein wirtschaftlicher Schaden auf, da die mumienartig eingetrockneten, schwarz verfärbten Beeren zu einem Ausfall von bis zu 80 % des Ertrages führen können (Abbildung 24) (Schruff, Kassemeyer, 1999; Held, 2009).

4.5.2.5 *Trichothecium roseum* (Pers.) Link: Rosafäule



Abbildung 25:
Trichothecium roseum
auf Trauben (Eichhorn,
Lorenz, 1978)

Rosafäule kommt hauptsächlich in gemäßigten Klimazonen vor (Serra et al., 2005) und tritt bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit und Regen auf Beeren nach der Reifephase auf. *Trichothecium roseum* siedelt sich bei Verletzungen und bei Primärinfektionen der Beere durch *Botrytis cinerea* an (Eichhorn, Lorenz, 1978; Flesch et al., 1986; Serra et al., 2005). Infizierte Beeren zeigen weiße bis rosafarbene Beläge auf, schrumpfen und verfaulen. Fortgeschrittene Infektionen führen zu mumifizierten Clustern mit rosafarbenem Überzug (Abbildung 25) (Eichhorn, Lorenz, 1978; Kassemeyer, Berkemann-Löhnertz, 2009). Da dieser Schimmelpilz Mykotoxine wie Crotocin, Trichothecin (siehe Kapitel 4.6.1.9.1), iso-Trichothecin, Trichothecolon, Rosenonolacton, Hydroxyrosenolacton, Desoxyrosenolacton und Roseotoxin bilden kann, müssen befallene Trauben während der Ernte aussortiert werden (Flesch et al., 1986; Schwenk et al., 1989; Flesch, Voigt-Scheuermann, 1994; Majerus, Zimmer, 1995; Kassemeyer, Berkemann-Löhnertz, 2009), um eine Kontamination des Endproduktes so gering wie möglich zu halten.

Im Laborversuch konnte gezeigt werden, dass *Trichothecium roseum* während des Wachstums in Traubensaft alle untersuchten Mostinhaltsstoffe (Säuren, Glycerin, Zucker) abbaut (Altmayer, 1983). Schon ein geringer Anteil befallener Trauben beeinträchtigt deutlich den Geschmack des Weines, da diese Weine durch einen ausgeprägten Fremdton und einen unangenehmen, bitteren Geschmack gekennzeichnet sind (Eichhorn, Lorenz, 1978; Hillebrand et al., 1998; Dittrich, Großmann, 2005). Bei einer Konzentration von 5,5 mg/L konnte Trichothecin sensorisch erkannt werden. Trichothecin ist offensichtlich allein für den Bittergeschmack verantwortlich, da die Testansätze mit Reintoxin und mit Weinen aus Trichothecin belasteten Mosten (mit allen Stoffwechselprodukten des Schimmelpilzes) identische Ergebnisse lieferten (Schwenk et al., 1989).

4.5.2.6 *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: Alternaria-Fäule

Alternaria-Fäule auf Traubenbeeren (Abbildung 26) wird hauptsächlich von der Gattung *Alternaria alternata* verursacht und führt nur zu geringen Qualitätsverlusten im Weinbau. Der Pilz siedelt sich hauptsächlich auf reifen Beeren mit austretendem Zucker an. Um eine Infektion auszulösen, ist eine hohe relative Luftfeuchtigkeit notwendig (98-100 %), sodass häufiger Regen im Spätsommer und Herbst eine günstige Bedingung für den Infektionsprozess darstellt. Der Schimmelpilz bildet dadurch vor allem im Traubeninneren



Abbildung 26: *Alternaria* auf Trauben
(Maixner, Dr. M.)

ein aus langen Hyphen bestehendes, dichtes, wolliges Myzel (Eichhorn, Lorenz, 1978). Nur vereinzelt verletzte Beeren werden befallen, wobei diese einen muffigen Geschmack im Most und Wein hervorrufen und auch verschiedene Mykotoxine (u. a. Alternariol, Alternariolmonomethylether; siehe Kapitel 4.6.1.8) in die Produkte gelangen können. Daher müssen infizierte Beeren bei der Lese aussortiert werden (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009).

4.5.2.7 *Aspergillus spec.: Aspergillus-Fäule*

Die Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* gehören zur Klasse der Ascomyceten und sind in der Natur weit verbreitet. Sie sind als Bodenpilze bekannt, wobei sie auch zu den häufigsten über die Luft übertragenen Schimmelpilzen zählen. Sie kommen auf vielen Nahrungs- und Futtermitteln, u. a. auf Früchten und Gemüse, vor. Die wichtigsten Mykotoxine, die von der Gattung *Aspergillus* gebildet werden können, sind die Gruppe der Aflatoxine, Ochratoxin A, Sterigmatocystin, Patulin, Citrinin und Penicillinsäure (siehe Kapitel 4.6.1) (Barkai-Golan, 2008).

Optische Erscheinungsformen sind grün-gelbe, schwarze, braune oder weiße Schimmelpilzbeläge auf dem Substrat. Sie wachsen u. a. auf faulen Weintrauben, an feuchten Stellen in Kellern und auf Flaschenkorken (Dittrich, Großmann, 2005).

Auf Trauben wird die *Aspergillus*-Fäule hauptsächlich von den Gattungen *A. alliaceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* und *A. ochraceus* ausgelöst (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009). *A. carbonarius* wird vielfach in erhöhten Konzentrationen auf der Bodenoberfläche im Weinberg gefunden. Beschädigte Trauben fallen zu Boden und stellen ein zuckerreiches Substrat für die vorhandenen *Aspergillus*-Spezies dar. Durch Entfernen von verfaulten Trauben kann folglich das Vorkommen von *A. carbonarius* im Weinberg reduziert werden (Hocking et al., 2007). Derzeit tritt *Aspergillus*-Fäule auf Weinreben speziell bei warmen Klimabedingungen auf (Leong et al., 2007). Es handelt sich hierbei meist um einen Sekundärfäuleerreger, weshalb *A. carbonarius* oft auch zusammen mit einer *Botrytis*-Fäule auf Trauben nachgewiesen wurde (Serra et al., 2005). Die Anzeichen einer *Aspergillus*-Fäule auf Trauben werden sichtbar, sobald Zucker aus reifenden Beeren nach Beginn der Reifephase austritt. Die Oberfläche von infizierten Beeren ist mit schwarzen Schimmelbelägen bedeckt und die Beeren verfaulen sichtbar. Schimmelpilze, die zur Gattung *Aspergillus* Section *Nigri* gehören, werden auch als Schwärzeaspergillen

bezeichnet. Diese kommen am häufigsten zum Zeitpunkt der Ernte vor (Battilani et al., 2008). Die Stämme *A. niger* und *A. carbonarius* sind in der Lage, die kanzerogenen Mykotoxine Ochratoxin A (Leong et al. 2006a) und Fumonisin B₂ (Logrieco et al., 2011) in der Traube zu bilden (siehe Kapitel 4.6.1.2 und 4.6.1.10), womit sie den Most und Wein kontaminieren. Infolge des steigenden Zuckergehaltes von der Reife bis zur Ernte kommt es zu einer abnehmenden Wasseraktivität (a_w), sodass der optimale a_w -Bereich für eine Ochratoxin A-Bildung erreicht wird (Hocking et al., 2007). Die Aflatoxine, vor allem die der B- und G-Gruppe, werden hauptsächlich von Schimmelpilzen der Stämme *A. flavus* und *A. parasiticus* gebildet. *A. flavus*, der die Aflatoxine B₁ und B₂ produziert, kommt weltweit vor; *A. parasiticus*, der die Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ bildet, kommt hauptsächlich in Amerika und Afrika vor (siehe Kapitel 4.6.1.3) (IARC, 1993). Aufgrund der Toxinbildung sollten Cluster, die mit *Aspergillus*-Pilzen befallen sind, bei der Lese aussortiert werden (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009).

4.5.2.8 *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc: Rebstock- und Blattfleckenkrankheit

Phomopsis kann in Jahren mit hohen Niederschlägen im Frühjahr auftreten und schwere Schäden an den jungen Trieben auslösen, da er vor allem den Rebstock und die Blätter befällt (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009; Carrascosa et al., 2011). Während der Beerenreife können kühle und regnerische Bedingungen gelegentlich zu Infektionen der Beere führen. Auf befallenen Beeren bilden sich braune Punkte aus, die sich schnell vergrößern und zur Traubenfäulnis führen (Kassemeyer, Berkelmann-Löhnertz, 2009). Die Mykotoxine Cytochalasin H und J (siehe Kapitel 4.6.1.21) stellen wichtige Sekundärmetabolite der Gattung *Phomopsis* dar (Burres et al., 1992; Cole, Schweikert, 2003a).

4.5.2.9 Essigsäurebakterien: Essigfäule

Essigsäurebakterien gehören zu den Gattungen *Acetobacter* und *Gluconobacter*, die zu den obligat aeroben Mikroorganismen zählen, und verursachen die sogenannte Essigfäule. *Acetobacter* spp. sind meist in alkoholischen Milieus wie teilweise fermentierten Mosten und Weinen zu finden, wohingegen *Gluconobacter oxydans* wegen ihrer hohen Alkoholintoleranz meist auf den Trauben und im Most vorkommen (Drysdale, Fleet, 1988; Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Essigsäurebakterien treten meist als Sekundärinfektion auf *Botrytis*-infizierten Beeren auf. Die Moste solcher Beeren enthalten oft schon mehr als 0,8 g/L flüchtige Säure (Dittrich, Großmann, 2005). Ein Fäulnisanteil von 20-40 % führt zu einer deutlichen Qualitätsminderung, wohingegen ein Fäulnisanteil

von 80 % eine komplette Aussonderung zur Folge hat (Barata et al., 2011b). Aus derart fäulnisbefallenen Beeren hergestellte Moste und Weine sind oft nicht mehr verkehrsfähig (VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I C; siehe Kapitel 4.6.6.2.5).

Die Infektion mit Essigsäurebakterien auf den Beeren kann aber auch als Primärinfektion durch Verletzungen der Beerenschale auftreten, wodurch Essigbakterien und Hefen ein Einwachsen in das Beereninnere ermöglicht wird (Sponholz, Dittrich, 1979). Die Anfangsphasen der Essigfäule unterscheiden sich kaum von einer *Botrytis*-Infektion, da beide Infektionen zu einer ähnlichen Farbveränderung des Blütenstiels sowie der Beere führen. Erst kurz vor dem Erntezeitpunkt lassen sich die Unterschiede erkennen. Es kommt u. a. zur Bräunung der Beerenhaut sowie zur Freisetzung eines stechenden Essigsäure- und Ethylacetatgeruches (Abbildung 27 und Abbildung 28) (Barata et al., 2011a).



Abbildung 27: Essigfäule auf Beeren (Kohl, E.)



Abbildung 28: Essigfäule auf Beeren (Fettes, J.)

Der Alkoholgehalt, der pH-Wert, die SO_2 -Konzentration und die Temperatur von Mosten und Weinen stellen die wichtigsten Wachstumsfaktoren für Essigsäurebakterien (und auch Milchsäurebakterien) dar. Je höher pH-Wert und Temperatur sind, desto höher ist auch die Vermehrungsrate (Joyeaux et al., 1984; Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Essigsäurebakterien kommen bei der Weinherstellung zu jedem Zeitpunkt vor. Bereits gesunde Trauben weisen Zellpopulationen von Essigsäurebakterien in der Größenordnung von 10^2 Zellen/g auf, wobei hier *Gluconobacter oxydans* die vorherrschende Spezies darstellt. Bei *Botrytis*-infizierten Trauben steigen die Zellpopulationen auf 10^6 Zellen/g an, wobei hier die Spezies *Acetobacter aceti* und *Acetobacter pasteurianus* mit einem Anteil von 75-85 % der Essigsäurebakterien dominieren. Die Menge an Essigsäurebakterien korreliert mit dem Infektionsgrad der Traubenbeeren. Größere Populationen an Essigsäurebakterien wurden zu späteren Lesezeitpunkten gefunden (Joyeaux et al., 1984). Bei schwülem Herbstwetter kann sich der sogenannte „Essigstich“ schon am Rebstock ausbilden (Dittrich, Großmann, 2005).

Bereits bei kurzzeitigem Luftkontakt von kontaminiertem Wein infolge von Pump- oder Transportprozessen kann es zu einem deutlichen Wachstum der *Acetobacter*-Bakterien kommen (Joyeaux et al., 1984; Drysdale, Fleet, 1989). Demgegenüber konnte *Gluconobacter oxydans* auch bei maximalem Sauerstoffeinfluss nicht im Wein nachgewiesen werden. Diese Spezies bevorzugt zuckerhaltige statt alkoholische Lösungen und ist folglich auf gesunden Beeren und im Most zu finden (Joyeaux et al., 1984).

4.5.2.10 Bekämpfungsmaßnahmen

Zur Bekämpfung von *Botrytis* werden weinbautechnische und phytosanitäre Maßnahmen (bspw. Entblätterung der Traubenzone und Lockerung der Traubenstruktur) in Verbindung mit einem Botrytizideinsatz empfohlen (Held, 2009). Gegen die Erreger der Grün-, Essig- und Rosafäule stehen bisher keine Pflanzenschutzmittel zur Verfügung (Walter, Kortekamp, 2012); auch gegen die weiteren genannten Fäulniserreger sind keine spezifischen Pflanzenschutzmittel erhältlich. Da die Erreger die Beeren ausschließlich über Wunden infizieren, stellt die Vermeidung von Wunden die einzige Bekämpfungsstrategie dar (Walter, Kortekamp, 2012).

4.6 Analytische Parameter

4.6.1 Mykotoxine

4.6.1.1 Allgemeines

Schimmelpilze haben unterschiedliche ökologische Anforderungen und kommen weltweit in Lebensmitteln vor (Serra et al., 2005). Dazu gehören landwirtschaftliche Rohstoffe, wie Obst, Gemüse, Getreide, Nüsse und Gewürze. Ein Schimmelpilzbefall führt zur Qualitätsminderung von Lebens- und Futtermitteln und verursacht finanzielle Verluste für die Erzeuger und Verarbeiter. Zudem können Schimmelpilze auch eine Bedrohung für den Verbraucher darstellen, wenn sie Mykotoxine produzieren (Jackson, Al-Taher, 2008).

Bei Mykotoxinen handelt es sich um sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die in Lebensmitteln, Futtermitteln und landwirtschaftlichen Erzeugnissen auf dem Feld und auch während der Lagerung infolge einer Schimmelpilzinfektion gebildet werden können (Shapira, 2004; Serra et al., 2005). Ein üppiges Pilzwachstum muss aber nicht gleichzeitig mit einer starken Toxinbildung verbunden sein, umgekehrt kann aber auch ein schwaches Pilzwachstum eine starke Toxinbildung zur Folge haben (BfR, 2011). Die Kontamination von Lebensmitteln mit Mykotoxinen, mit Ausnahme der Aflatoxine, ist bisher nur wenig untersucht, obwohl auch Ochratoxin A und Fusarientoxinen als Lebensmittel-Kontaminanten viel Beachtung geschenkt wird (Dombrink-Kurtzman, 2008). Die Entwicklung von empfindlichen Methoden zur Quantifizierung von Mykotoxinen in Lebens- und Futtermitteln ist daher aus gesundheitlicher und wirtschaftlicher Sicht von großer Bedeutung.

Mykotoxine selbst sind überwiegend thermostabile Moleküle, die sich je nach chemischer Struktur in verschiedene Verbindungsklassen einordnen lassen. Einige Mykotoxine verbleiben im Schimmelmyzelium als sogenannte Endotoxine, wohingegen andere als sogenannte Exotoxine in die Umgebung freigesetzt werden (Jović et al., 2009). Von den rund 460 bekannten Mykotoxinen stellen Aflatoxine, Citrinin, Patulin, Ochratoxin A, Fumonisine, Trichothecene (Deoxynivalenol, Nivalenol, T-2 Toxin, HT-2 Toxin) und Zearalenon die wichtigsten dar (Barkai-Golan, Paster, 2008; Jović et al., 2009).

Das Vorkommen und die Produktion von Mykotoxinen in Lebensmitteln und Futtermitteln sind außer vom vorhandenen Stamm sehr stark vom Substrat, vom pH-Wert und von anderen Milieubedingungen abhängig und werden durch die Lagerung, Umweltbedingungen und ökologischen Bedingungen wie Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit, sowie den Einsatz von Fungiziden beeinflusst. Die Wechselwirkungen

zwischen all diesen Faktoren sind jedoch noch nicht vollständig untersucht und die Toxinproduktion ist nicht vorhersehbar (Paul, Thurm, 1979; Drusch, Ragab, 2003; Zöllner, Mayer-Helm, 2006). Durch Fungizide kann einerseits das Wachstum von Schimmelpilzen und damit auch die Mykotoxinbildung verringert werden; andererseits wird vermutet, dass Fungizide zu Stressreaktionen der Schimmelpilze führen, was sich in einer erhöhten Mykotoxinbildung äußert (Bath et al., 2010). Abbildung 29 verdeutlicht die zahlreichen Einflussfaktoren auf den Mykotoxingehalt von Weinen.

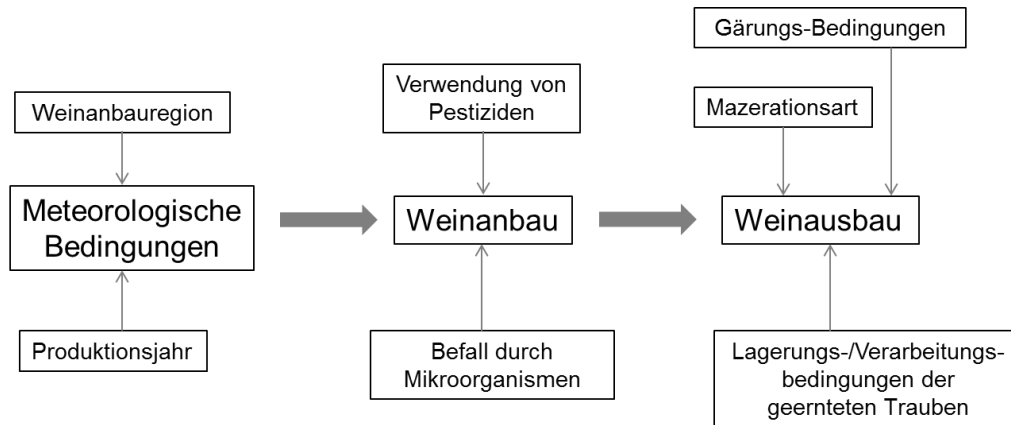


Abbildung 29: Einflussfaktoren auf den Mykotoxingehalt von Weinen (modifiziert nach Blesa et al., 2006)

Das Risiko der Diffusion von Mykotoxinen in Obst und Gemüse ist von deren Konsistenz abhängig. Viele Mykotoxine sind bei der Verarbeitung von Obst und Gemüse sehr stabil, sodass daraus hergestellte Produkte eine bedeutende Quelle zur Aufnahme von Mykotoxinen und somit eine ernste Bedrohung für Menschen und Tiere weltweit darstellen (Barkai-Golan, Paster, 2008). Mykotoxine zeigen akute, subakute und chronische toxische Effekte beim Tier und/oder beim Menschen, wobei einige Mykotoxine auch kanzerogen, mutagen und teratogen wirken (Drusch, Ragab, 2003; Capriotti et al., 2012). Die IARC (2013) hat folgende Einteilung von Stoffen hinsichtlich ihrer Kanzerogenität veröffentlicht (Tabelle 1):

Tabelle 1: Einteilung von Stoffen hinsichtlich ihrer Kanzerogenität (IARC, 2013)

Gruppe 1	kanzerogen für den Menschen
Gruppe 2A	wahrscheinlich kanzerogen für den Menschen
Gruppe 2B	möglicherweise kanzerogen für den Menschen
Gruppe 3	nicht klassifizierbar hinsichtlich kanzerogener Wirkung beim Menschen
Gruppe 4	wahrscheinlich nicht kanzerogen für den Menschen

Zu den derzeit als gesundheitlich bedenklichsten Mykotoxinen werden Aflatoxine, Trichothecene, Fumonisine, Zearalenon, Ochratoxin A und Ergotalkaloide gezählt (JECFA, 2002). Erkrankungen bei Mensch und Tier, die von Mykotoxinen ausgelöst werden, bezeichnet man als Mykotoxikosen (Peraica et al., 1999; Bryden, 2009). Der Schweregrad einer Mykotoxikose hängt von der Toxizität des Mykotoxins, der Höhe der Exposition sowie dem Alter und Ernährungszustand des Betroffenen ab. Als generelle Symptome von Mykotoxikosen beim Menschen treten oft Übelkeit, Durchfall sowie allgemein gastro-intestinale Probleme auf; Mykotoxine sind auch als immunsuppressiv bekannt (Bhat et al., 2010).

Gemäß VO (EG) Nr. 1881/2006 wurden Mykotoxin-abhängige Höchstgehalte für Getreide, Getreideerzeugnisse, getrocknete Weintrauben, Röstkaffee, Wein, Traubensaft und Lebensmittel für Säuglinge und Kleinkinder vereinzelt festgelegt, da alle diese Erzeugnisse in erheblichem Umfang zur allgemeinen Exposition des Menschen gegenüber Mykotoxinen bzw. zur Exposition gefährdeter Verbrauchergruppen, wie z. B. Kindern, beitragen. Besonders für Aflatoxine, Ochratoxin A, Fumonisine und Trichothecene liegen Höchstmengen vor, die die Verkehrsfähigkeit betroffener Produkte regeln. Die meisten dieser gesetzlich regulierten Mykotoxine werden von *Aspergillus*-, *Penicillium*- und *Fusarium*-Arten gebildet. Obwohl *Alternaria*-Pilze am häufigsten auf Früchten vorkommen, sind derzeit weltweit keine gesetzlichen Regulierungen bzw. Höchstmengen für deren Toxine vorgeschrieben (van Egmond, Jonker, 2008).

Etwa 8 % der Mykoflora auf Trauben wurden als mögliche Mykotoxin-bildende Pilzarten identifiziert, wovon etwa 0,3 % Aflatoxine, 6,0 % Ochratoxin A, 0,5 % Patulin und 1,2 % Trichothecene bilden können (Serra et al., 2005). El Khoury et al. (2004) isolierten von libanesischen Trauben hauptsächlich Schimmelpilze der Stämme *Aspergillus* und *Penicillium*, wobei Isolate von *Aspergillus spp.* mit einem Anteil von 89,1 % und *Penicillium spp.* mit 10,9 % vorlagen. Die am häufigsten isolierten *Aspergillus*-Stämme zählten zur Sektion *Nigri* (87,3 %), zu der die Gattungen *A. niger aggregates* (81,4 %), *A. carbonarius* (1,8 %) und *A. japonicus* (4,1 %) zählen. *A. flavus* wurde mit einem Anteil von 12,7 % nachgewiesen.

Auch Korkstopfen stellen günstige Substrate für viele Pilze dar, u. a. für *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* und *Botrytis*. Auf ihnen konnten toxinogene Citrinin-, Alternariatoxine- und Fumonisin B₁-produzierende Stämme (*Penicillium citrinum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium verticillioides*, *F. solani*) identifiziert werden. Es ist daher nicht auszuschließen, dass es durch Abgabe aus dem Korkstopfen ebenfalls zu einer Kontamination von Getränken, speziell Wein, mit den entsprechenden Mykotoxinen kommen kann (Scussel et al., 2013).

Nachfolgend sind für die untersuchten Mykotoxine die Eigenschaften, produzierenden Mikroorganismen, Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze, Vorkommen, Gehalte, Behandlungsmaßnahmen, Wirkungen/toxikologische Effekte, rechtliche Regelungen sowie Exposition/Aufnahmemengen des Menschen aufgeführt, wenn verfügbar und bekannt.

4.6.1.2 Ochratoxine

Eigenschaften

Bei Ochratoxinen handelt sich um Dihydroisocumarinderivate, die mit einem L-Phenylalanin-Rest über eine Peptidbindung verknüpft sind (Abbildung 30) (Theilmann, Weber, 1997). Ochratoxin A (OTA; 7-(L-b-Phenylalanyl-carbonyl)-carboxyl-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydro-3R-methylisocumarin) ist die toxischste Verbindung dieser Gruppe, weshalb sie von großer Bedeutung ist (Bellí et al., 2002). Unter natürlichen Bedingungen können OTA und auch Ochratoxin B gebildet werden (Petzinger, Ziegler, 2000). Durch saure Hydrolyse wird OTA in Phenylalanin und Ochratoxin alpha gespalten (Monaci, Palmisano, 2004). OTA ist bspw. während des Würzekochens (Temperaturen >80 °C) und der Pasteurisation (60-90 °C) bei der Bierherstellung stabil (Scott, 1984).

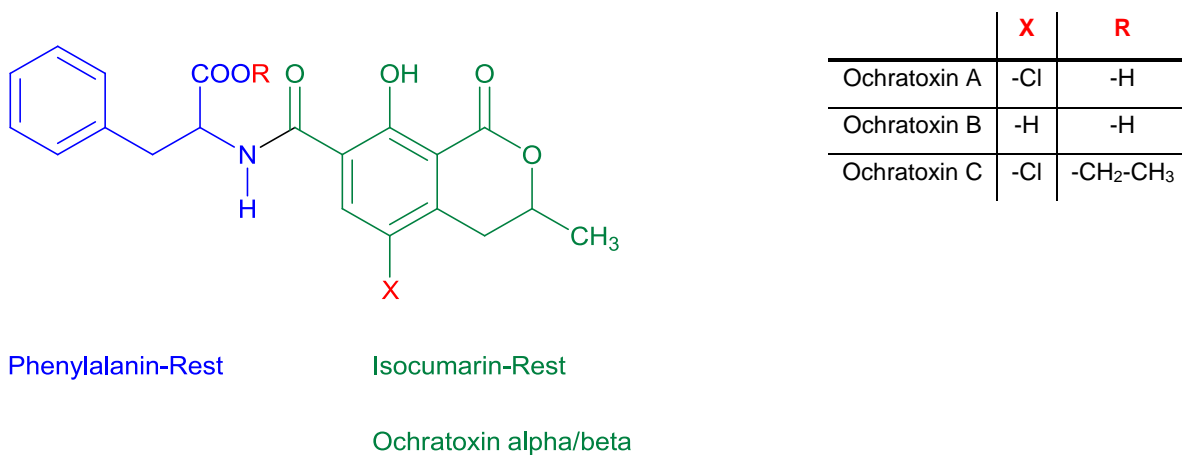


Abbildung 30: Grundstruktur der Ochratoxine

Produzierende Mikroorganismen

Aspergillus ochraceus, *Aspergillus* section *Nigri*, wozu *A. carbonarius* und *A. niger* zählen (Serra et al., 2005), und *Penicillium verrucosum* stellen die wichtigsten OTA-Produzenten auf Trauben dar (Bellí et al., 2002). Treten *A. carbonarius* und *Botrytis cinerea* zusammen auf, kann die OTA-Bildung im Vergleich zur Bildung durch *A. carbonarius* alleine gehemmt werden. Dies könnte auf die von *Botrytis* gebildeten hydrolytischen Enzyme zurückgeführt

werden, wodurch *Botrytis* mit *A. carbonarius* bei geeigneten Bedingungen konkurrieren und so die OTA-Bildung verhindern kann (Magan et al., 2010).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

OTA-bildende Arten der Gattung *Penicillium* können in einem großen Temperaturbereich zwischen 4-31 °C wachsen, wohingegen die Arten der Gattung *Aspergillus* höhere Temperaturen zwischen 12-39 °C erfordern (Zimmerli, Dick, 1996). Demzufolge kommen *Penicillium* spp. in gemäßigeren Klimazonen vor, wohingegen *Aspergillus*-Spezies in wärmeren Klimazonen überwiegen. Diese Situation kann sogar bei saisonalen Klimaänderungen im Weinberg auftreten (Zimmerli, Dick, 1996). Die optimale OTA-Bildung wird bei Temperaturen zwischen 15-20°C und a_w -Werten zwischen 0,95-0,98 erreicht (Battilani et al., 2008). Schwärzepilze, zu denen auch *A. carbonarius* zählt, sind gegenüber Sonnen- und UV-Strahlung resistent (JECFA, 2001). Von Bellí et al. (2005) konnte ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Schwärzepilzen und der Temperatur im Weinberg festgestellt werden; es bestand jedoch kein Zusammenhang zu weiteren meteorologischen Faktoren wie Luftfeuchtigkeit oder Regen. In den untersuchten Mosten konnte kein OTA nachgewiesen werden (Bellí et al., 2005).

Viele Studien zeigen, dass die geographische Herkunft der Weine einen starken Einfluss auf die Kontamination mit OTA hat. In Weinen aus südlicheren Regionen (u. a. Mittelmeerraum) konnten höhere Gehalte an OTA im Vergleich zu Weinen aus nördlicheren Regionen gefunden werden (Zimmerli, Dick, 1996; Woese, 2001). Dies kann mit den charakteristischen Klimabedingungen der südlicheren Regionen erklärt werden, die sich durch hohe Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten auszeichnen, wodurch die OTA-Produktion auf Trauben begünstigt wird (Battilani, Pietri, 2002; Bellí et al., 2002). Otteneder und Majerus (2000) stimmen dieser Tendenz bei Rotweinen zu, jedoch nicht bei Weißweinen. Der Nord-Süd-Gradient wird in der Literatur nicht einheitlich bestätigt, da Soleas et al. (2001) höhere OTA-Gehalte in Weinen aus nördlicheren im Vergleich zu südlicheren Regionen fanden.

Vorkommen

OTA kommt natürlicherweise in pflanzlichen Lebensmitteln vor, hauptsächlich in Getreide und daraus hergestellten Produkten, Gewürzen, Rohkaffee, Kaffee, Bier, Traubensaft und Wein (Majerus, Otteneder, 1996; Zimmerli, Dick, 1996; Aish et al., 2004; Pardo et al., 2004; Zöllner, Mayer-Helm, 2006).

Das Vorkommen von OTA in Wein hängt meist mit einem Schimmelbefall der Trauben zusammen. Schadhafte Beeren stellen günstige Substrate dar, da sie die Bildung von OTA durch *Aspergillus niger* ermöglichen, indem die zerstörte Beerenhaut deren

Einwachsen in die Beeren begünstigt (Battilani et al., 2004). *A. carbonarius* dagegen ist sehr invasiv und kann auch ohne beschädigte Beerenhaut in die Beeren eindringen (Barkai-Golan, 2008). Zu Beginn der Reifephase der Trauben konnten nur geringe bzw. keine Gehalte an OTA im Vergleich zur Kontamination bei der Ernte nachgewiesen werden. Daher ist die Zeit zwischen beginnender Reife und Ernte als kritisch einzustufen (Battilani et al., 2004). OTA-bildende Schimmelpilze kommen aber auch auf unbeschädigten Trauben vor, wodurch OTA demnach auch in diesen Trauben vorliegen kann, insgesamt aber in kleineren Mengen als in beschädigten Früchten (Paster, 2008). OTA-produzierende Schimmelpilze können auch in Tanks und Fässern wachsen und so in den Wein gelangen (Blesa et al., 2006).

Gehalte

Bei Weinen nehmen sowohl die Häufigkeit des Vorkommens als auch die Konzentrationen an OTA in der Reihenfolge Rotwein > Roséwein > Weißwein ab, was in vielen Studien gezeigt werden konnte (Zimmerli, Dick, 1996; Visconti et al., 1999; Soleas et al., 2001; Scussel et al., 2013). In Rotweinen wurden durchschnittliche Gehalte zwischen 0,01-7,0 µg/L, in Roséweinen zwischen 0,01-2,4 µg/L und in Weißweinen zwischen 0,01-1,2 µg/L ermittelt (Majerus, Otteneder, 1996; Zimmerli, Dick, 1996; Ospital et al., 1998). Die unterschiedlichen OTA-Konzentrationen dieser Rebsorten werden auf die unterschiedlichen Weinbereitungen zurückgeführt, da längere Maischestandzeiten und höhere Temperaturen das Wachstum von OTA-produzierenden Pilzen und auch die OTA-Bildung begünstigen können (Majerus et al., 2000; Otteneder, Majerus, 2000; Blesa et al., 2006, Scussel et al., 2013). Aus aktuellen Untersuchungen von Walter et al. (2013) geht hervor, dass von 315 untersuchten Weinen aus Deutschland nur 7 % mit OTA in einem niedrigen Konzentrationsbereich von 0,02-0,42 µg/L belastet waren. In der von Valero et al. (2008) durchgeführten Studie konnte in Weinen aus *Botrytis*-infizierten Beeren kein OTA nachgewiesen werden.

Die von Zimmerli und Dick (1996) untersuchten roten Traubensäfte enthielten höhere OTA-Gehalte mit 0,188 µg/L im Vergleich zu den weißen Traubensäften mit Gehalten von weniger als 0,005 µg/L. In Mosten, die aus Beeren mit unterschiedlich starker Fäulnisbelastung hergestellt wurden, konnte kein OTA ermittelt werden (Zimmerli, Dick, 1996).

Beim Vergleich der OTA-Gehalte von Traubenmosten und Weinen wurde beobachtet, dass OTA sowohl gegenüber der Gärung als auch den folgenden Verarbeitungsschritten des Weines eine relativ hohe Stabilität aufzeigt (Majerus et al., 2000; Bellí et al., 2002; Delage et al., 2003). Die OTA-produzierenden Schimmelpilze werden zwar durch Ethanol und die generell anaeroben Gärungsbedingungen gehemmt, das Mykotoxin selbst

hingegen ist resistent gegenüber Alkohol und wird damit während der Gärung und der Lagerung nicht abgebaut (Blesa et al., 2006). Auch von Leong et al. (2006b) konnte gezeigt werden, dass OTA nicht von Hefen während der Vergärung metabolisiert wird. Der OTA-Gehalt von Weißwein war zwar nach Abstich der Hefe deutlich reduziert, was aus der Bindung von OTA an die Biomasse der Hefe resultierte. Das gebundene OTA konnte jedoch im Heferückstand unverändert wiedergefunden werden, womit bestätigt ist, dass keine Metabolisierung des OTA durch die Hefe stattgefunden hat (Leong et al., 2006b).

Zum Vergleich der Kontaminationssituation sei darauf verwiesen, dass in anderen pflanzlichen Lebensmitteln, vor allem in Getreide und -erzeugnissen, OTA-Konzentrationen zwischen 0,1-17,7 µg/kg mit einem Mittelwert von 1,3 µg/kg bestimmt werden können (Majerus et al., 1993).

Behandlungsmaßnahmen

Behandlungsmittel wie Bentonite, Chitin, Chitosan und Aktivkohle stellen wirksame Mittel zur Reduktion von OTA in Wein dar (Kurtbay et al., 2008; Quintela et al., 2012; Walter et al., 2013). Auch bestimmte Bakterien, Pilze und Enzyme können OTA abbauen bzw. adsorbieren; OTA kann auch während der malolaktischen Gärung abgebaut werden (Jackson, 2008). Die Adsorption von OTA durch Hefezellwandprodukte beruht sowohl auf polaren als auch unpolaren, nicht-kovalenten Wechselwirkungen. Bei OTA handelt es sich um eine schwache Säure (pK_s der Carboxylgruppe des Phenylalaninrestes liegt bei 4,4), sodass OTA bei den pH-Bedingungen des Weines teilweise dissoziiert vorliegt und aufgrund seiner negativen Ladung Wechselwirkungen (u. a. Wasserstoffbrückenbindungen) mit positiv geladenen Teilchen eingehen kann. Daher kann OTA u. a. mit Phenolen und Proteinen eine Bindung eingehen (Paster, 2008). Neueste Untersuchungen zeigen, dass das Schimmelpilzwachstum und die Biosynthese von OTA und OTB durch Licht bestimmter Wellenlängen beeinflusst werden kann, was einen neuen Ansatz zur Vermeidung dieser Mykotoxine darstellt (Schmidt-Heydt et al., 2012).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

OTA ist die toxischste aller Ochratoxin-Verbindungen; sie zeigt nephrotoxische, immunsuppressive, teratogene und kanzerogene Effekte in allen getesteten Tierspezies (Peraica et al., 1999; JECFA, 2001; Zöllner, Mayer-Helm, 2006). Es konnten synergistische toxische Effekte von OTA mit Citrinin nachgewiesen werden (Petzinger, Ziegler, 2000). Von der IARC (1993) wurde OTA als mögliches Humankarzinogen in Gruppe 2B eingestuft. Vom EFSA Scientific Panel (2006) wurde ein TWI (tolerable weekly intake) von 120 ng/kg KG ermittelt.

Ochratoxin B ist *in vivo* von geringerer toxischer Potenz als OTA und hat eine geringere Fähigkeit, in der Niere zu akkumulieren (Petzinger, Ziegler, 2000; EFSA, 2006).

Das Abbauprodukt Ochratoxin alpha ist nicht toxisch (Chu et al., 1972).

Rechtliche Regelungen

Laut VO (EG) Nr. 1881/2006 gelten für OTA Höchstgehalte von 0,5-10 µg/kg je nach Erzeugnis; speziell für Wein und Traubensaft gilt ein Höchstgehalt von 2 µg/kg.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Expositionsabschätzungen zufolge tragen Getreideprodukte ungefähr zwischen 50-70 % und Wein, Kaffee und Bier zwischen 7-15 % zur täglichen Aufnahme von OTA über die Nahrung bei (Petzinger, Ziegler, 2000). Auf Grundlage europäischer Daten wird die Exposition des Menschen gegenüber OTA aus Nahrungsmitteln auf 43 ng/kg KG/Woche geschätzt, wobei 58 % (25 ng/kg KG/Woche) der Gesamtexposition auf die Aufnahme über Getreideprodukte entfallen (JECFA, 2007).

4.6.1.3 Aflatoxine

Eigenschaften

Bei Aflatoxinen handelt es sich um relativ stabile Toxine der Gruppe der Difuranocumarine (Abbildung 31) (IARC, 1993). Aflatoxine sind sehr hitzestabil und nicht leicht zersetzbar, sodass sie durch Kochen nur bei extremen Bedingungen zerstört werden können (IARC, 1993; Rasch et al., 2010).

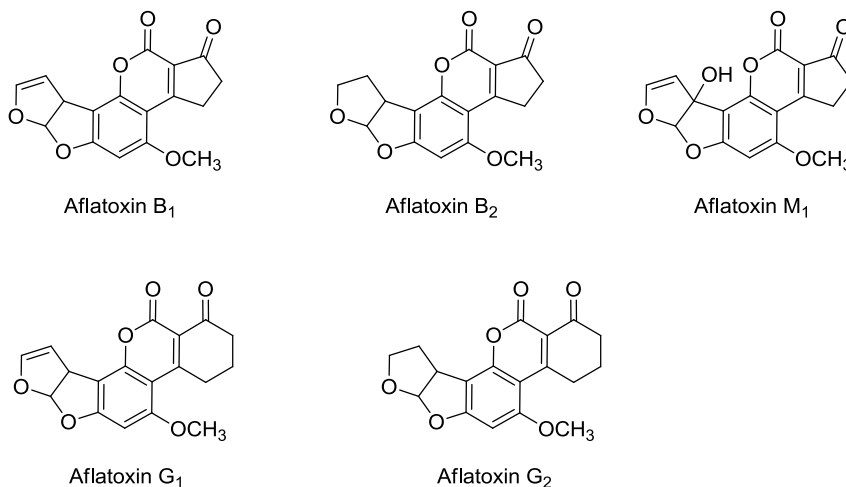


Abbildung 31: Strukturen der Aflatoxine B₁, B₂, M₁, G₁, und G₂

Produzierende Mikroorganismen

Aflatoxine werden von Schimmelpilzen der Stämme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* und in geringerem Ausmaß von *Aspergillus nomius* gebildet. *A. flavus*, der die Aflatoxine B₁ und B₂ produziert, kommt weltweit vor; *A. parasiticus*, der die Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ (Abbildung 31) bildet, kommt hauptsächlich in Amerika und Afrika vor (IARC, 1993).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Aflatoxin-produzierende Mikroorganismen benötigen hohe Temperaturen und Luftfeuchtigkeit zum Wachstum. Sie kommen daher in den feucht-heißen Klimazonen der Tropen und Subtropen vor (IARC, 1993; Bath et al., 2010). *A. flavus* und *A. parasiticus* können zwischen 10-43 °C wachsen; optimale Wachstumsbedingungen liegen bei Temperaturen von 32-33 °C und a_w-Werten von 0,95 vor. Die Aflatoxinbildung kann zwischen 12-40 °C und einem a_w-Wert von 0,99 stattfinden. Der optimale pH-Wert-Bereich für eine Aflatoxin-Bildung liegt zwischen 3,5-8 (Sweeney, Dobson, 1998; Jackson, Al-Taher, 2008).

A. flavus kann mittels eines Monooxygenase-Enzymsystems Aflatoxine abbauen und so seine eigene Toxizität und mögliche Mutagenität reduzieren (Sweeney, Dobson, 1998).

Vorkommen

Zu den am häufigsten mit Aflatoxinen kontaminierten Lebensmitteln zählen Erdnüsse, Haselnüsse, Mandeln, Pistazien, Walnüsse, getrocknete Früchte und Gewürze. Aflatoxin B₁ kommt dabei gewöhnlich in den höchsten Konzentrationen vor (IARC, 1993; Jović et al., 2009). Die Aflatoxine B₂ und G₂ sind vergleichsweise in deutlich geringeren Konzentrationen vertreten. Bei Abwesenheit von Aflatoxin B₁ konnte auch kein Aflatoxin G₁ bestimmt werden. Aflatoxin M₁, das hauptsächlich in Milchprodukten vorkommt, stellt ein Hydroxylierungsprodukt von Aflatoxin B₁ dar und kann auch bei Abwesenheit der anderen Aflatoxine vorkommen (IARC, 1993).

Gehalte

Da die Gehalte an OTA in Weinen und Traubensäften überwiegend von Schimmelpilzen der Gattung *Aspergillus* gebildet werden, könnte auch die Bildung von Aflatoxinen durch diese Pilzgattung möglich sein (Zimmerli, Dick, 1996). Im Gegensatz zu OTA scheinen Aflatoxine in Wein und während der Weinherstellung nicht so stabil zu sein (Zimmerli, Dick, 1996). In Weinen wurden bisher noch keine Aflatoxine nachgewiesen (Lemperle et al., 1975; Serra et al., 2005). Drawert und Barton (1973) untersuchten verschiedene Weißweine, die aus edelfaulen Lesegut (überwiegend Spätlese, Auslese, Beerenauslese)

hergestellt wurden und damit für einen Aflatoxingehalt prädestiniert gewesen wären. Jedoch konnten in keinem dieser Weine Aflatoxine nachgewiesen werden. Bei neueren Untersuchungen libanesischer Moste konnten Aflatoxin B₁-Gehalte zwischen 0,01-0,46 µg/L nachgewiesen werden, die durch Kontamination der Beeren mit *Aspergillus flavus* gebildet wurden (El Khoury et al., 2008).

Im Vergleich zum Wein sind bei der Untersuchung von Mais und Maisprodukten internationaler Herkunft mittlere Gehalte von < 0,1-80 µg/kg an Gesamtaflatoxinen bestimmt worden. Analysen von Erdnüssen in Nord-, Mittel- und Südamerika sowie in Europa und Australien ergaben, dass die mittleren Gesamtaflatoxingehalte meist unter 20 µg/kg lagen (IARC, 1993).

Behandlungsmaßnahmen

Aflatoxine können von verschiedenen Mikroorganismen, u. a. von Bakterien, metabolisiert werden (Smith, Harran, 1993). Die Untersuchungen von Rahaie et al. (2010) zeigen, dass mittels immobilisierter *Saccharomyces cerevisiae*-Zellen hohe Aflatoxin B₁-Gehalte auf Pistazien (bis 20 µg/kg) gebunden und so die Toxinbelastungen deutlich reduziert werden können. Erfahrungen zu Behandlungsmaßnahmen bei Aflatoxinkontaminationen in Weinen liegen in der Literatur nicht vor.

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Die Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ stellen die toxischsten natürlich vorkommenden Mykotoxine dar. Sie zeigen bei Mensch und Tier akut toxische, immunsuppressive, mutagene, teratogene und kanzerogene Wirkungen, wobei die Leber als Hauptzielorgan für die Toxizität und Kanzerogenität gilt (Peraica et al., 1999; Perrone et al., 2007). Natürlich vorkommende Aflatoxine sind als Humankanzerogene in Gruppe 1 eingestuft. Aflatoxin M₁ wird als mögliches Humankanzerogen angesehen und wurde daher in Gruppe 2B eingestuft (IARC, 1993). Im menschlichen Organismus wird Aflatoxin B₁ zum 8,9-Epoxid metabolisiert und bildet hauptsächlich die DNA- und Albumin-Addukte Aflatoxin B₁-N₇-Guanin und -Lysin (IARC, 1993).

Rechtliche Regelungen

Gemäß der Kontaminanten-Verordnung (2010) gelten für Lebensmittel, ausgenommen die in Abschnitt 2 Nr. 2.1 des Anhangs der VO (EG) Nr. 1881/2006 bezeichneten Lebensmittel, Höchstgehalte von 2,0 µg/kg für Aflatoxin B₁ sowie 4,0 µg/kg für die Summe aus den Aflatoxinen B₁, B₂, G₁ und G₂.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Die Exposition des Menschen gegenüber Aflatoxinen aus Nahrungsmitteln wird in Europa auf 0,93-2,4 ng/kg KG/d, in Afrika auf 3,5-180 ng/kg KG/d, in Asien auf 0,3-53 ng/kg KG/d und in den USA auf 2,7 ng/kg KG/d geschätzt (JECFA, 2007).

4.6.1.4 Sterigmatocystin

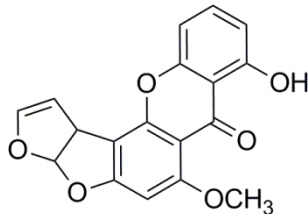


Abbildung 32: Struktur von Sterigmatocystin

Produzierende Mikroorganismen

Aspergillus versicolor gilt als Hauptproduzent von Sterigmatocystin (Abbildung 32) in Lebensmitteln (Sweeney, Dobson, 1998; Frisvad et al., 2006). Daneben wird es aber auch als Stoffwechselprodukt der Schimmelpilze *A. nidulans*, *A. rugulosus*, *A. chevalieri*, *A. versicolor*, *Bipolaris* sp., *A. flavus* sowie *A. parasiticus* gebildet. Bei den letztgenannten beiden Arten, die auch als Aflatoxinbildner bekannt sind, konnte in vielen Fällen die gleichzeitige Bildung von Aflatoxinen und Sterigmatocystin (als Zwischenprodukt bei der Biosynthese von Aflatoxinen) festgestellt werden (Cole, Schweikert, 2003a).

Vorkommen

A. versicolor kommt wie viele andere toxinogene Schimmelpilze ubiquitär vor und kann häufig auf Getreide, Käse, Brot, Marmeladen, Grapefruit-Saft sowie Wurst- und Fleischwaren nachgewiesen werden (Paul, Thurm, 1979; Klaffke, 2010). Auf Weintrauben konnten die Sterigmatocystin-bildenden *Aspergillus*-Pilze *A. flavus* und *A. versicolor* detektiert werden (Serra et al., 2005).

Gehalte

Von Paul und Thurm (1979) wurde untersucht, inwieweit Obst ein geeignetes Substrat für die Bildung von Sterigmatocystin darstellt. Dazu wurden verschiedene Obsterzeugnisse mit der Sporensuspension eines toxinogenen Stammes von *Aspergillus versicolor* beimpft. Sterigmatocystin wurde auf allen festen Früchten in unterschiedlicher Menge nachgewiesen. Die höchsten Gehalte wurden auf Stachelbeeren mit 9,4 µg/g und auf Weintrauben mit 10 µg/g gefunden. Geringere Gehalte mit 1,25 µg/g wurden auf Pflaumen, 1,4 µg/g auf Süßkirschen und 2 µg/g in Apfelmus bestimmt. In den

untersuchten Obstsaften konnte jedoch kein Sterigmatocystin nachgewiesen werden, was damit erklärt wurde, dass es sich um ein endogenes Toxin handelt, das nicht in das Substrat diffundiert. Demgegenüber steht jedoch der positive Befund mit 0,066 µg/mL Sterigmatocystin in Traubensaft, was auf eine eventuell lösungsvermittelnde Wirkung bestimmter Inhaltsstoffe des Traubensaftes zurückgeführt wurde. Daher sind Weintrauben unter dem Aspekt der Sterigmatocystinbildung als lebensmitteltoxikologisch besonders bedenklich anzusehen, da bei der Herstellung von Wein auch angeschimmelte Ware verarbeitet wird (Paul, Thurm, 1979).

Im Vergleich dazu konnten Northolt et al. (1980) in den Randschichten der Käsesorten Gouda und Edamer, auf denen *Aspergillus versicolor* vorkam, Sterigmatocystingehalte zwischen 5-600 µg/kg nachweisen.

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Sterigmatocystin zeigt teratogene und hautreizende Wirkungen beim Tier (Klaffke, 2010); nach oraler Gabe konnten auch kanzerogene Wirkungen beobachtet werden (IARC, 1987). Hinsichtlich der Kanzerogenität beim Menschen liegen keine Fallstudien oder epidemiologische Studien vor. Es wurde daher in Gruppe 2B mit möglicherweise kanzerogener Wirkung für den Menschen eingestuft (IARC, 1987).

4.6.1.5 Patulin

Eigenschaften

Bei Patulin handelt es sich um die antibiotisch wirksame Verbindung 4-Hydroxy-4H-furo[3,2-c]pyran-2(6H)-on, ein α,β -ungesättigtes γ -Lacton. In Abbildung 33 ist ein Ausschnitt der Biosynthese von Patulin dargestellt (Ough, Corison, 1980; Moake et al., 2005).

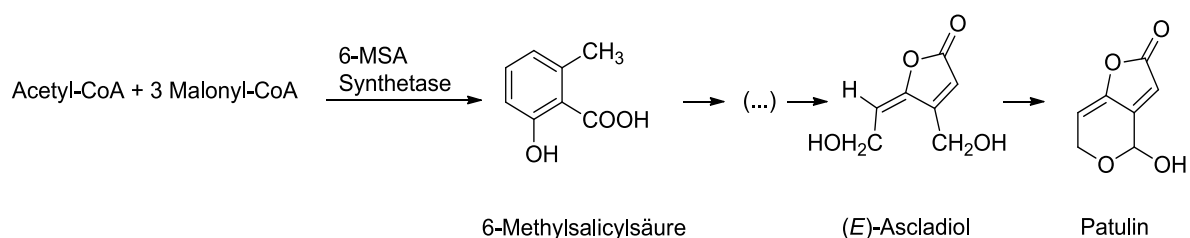


Abbildung 33: Ausschnitt der Biosynthese von Patulin (6-MSA Synthetase: 6-Methylsalicylsäure Synthetase) (modifiziert nach Ough, Corison, 1980; Moake et al., 2005)

Patulin ist bis 125 °C thermostabil und im pH-Bereich von 3-6,5 säureresistent, jedoch alkalilabil (Ough, Corison, 1980; Eder et al., 1994; Moake et al., 2005).

Produzierende Mikroorganismen

Patulin kann u. a. von Schimmelpilzen der Arten *Penicillium expansum*, *P. roqueforti*, *P. claviforme*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus giganteus*, *Alternaria alternata* und *Byssosclamyces nivea* gebildet werden (Frank et al., 1977; Altmayer et al., 1982; Moake et al., 2005), wobei *P. expansum* den bedeutendsten Patulinbildner darstellt (Sabino, 2008).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Die Anwesenheit eines Patulin-produzierenden Schimmelpilzes führt nicht automatisch auch zur Patulinbildung (Moake et al., 2005). Der Temperatureinfluss auf Wachstum und Toxinbildung ist bei verschiedenen Pilzstämmen sehr unterschiedlich; zwischen 5-25 °C ist aber fast immer mit einer Patulinsynthese zu rechnen (Frank et al., 1977). Obwohl die Patulinproduktion mit fallender Temperatur abnimmt, kann Patulin auch bei niedrigen Temperaturen zwischen 0-4 °C gebildet werden. Folglich kann die Patulinbildung in Früchten nicht durch eine Lagerung bei tiefen Temperaturen verhindert werden (Sommer et al., 1974). Der Toxingehalt und die -bildung sind desweiteren vom pH-Wert und der Wasseraktivität abhängig (Moake et al., 2005). Bei der Untersuchung des Einflusses der Wasseraktivität (a_w) von Getreide auf den Patulinabbau konnte beobachtet werden, dass bei einem Anstieg des a_w -Wertes von 0,7 auf 0,9 der Patulinabbau doppelt so schnell verlief (Harwig et al., 1977).

Vorkommen

Als Hauptkontaminationsquellen von Patulin gelten Äpfel und daraus hergestellte Produkte. Darüber hinaus kann Patulin auf vielen verschimmelten Früchten (z. B. Trauben, Grapefruit, Pfirsich, Birne), die u. a. einen Befall mit *Penicillium expansum* (Braunfäule) aufzeigen, und daraus hergestellten Produkten, Gemüse, Getreide sowie weiteren Nahrungsmitteln vorkommen (Frank et al., 1977; Sabino, 2008; Jović et al., 2009). Übersteigen die Patulingehalte in Apfelsäften den gesetzlichen Höchstwert von 50 µg/L, ist dies ein Anzeichen für eine schlechte Produktqualität und mangelhafte Verarbeitungstechnologie (Dombrink-Kurtzman, 2008; Jović et al., 2009). In Bier und Wein wurde *P. carneum* gefunden; jedoch konnte noch keine Patulinproduktion, ausgehend von diesem Schimmelpilz, in diesen Lebensmitteln nachgewiesen werden (Jović et al., 2009).

Gehalte

In österreichischen Apfelsäften wurden Patulingehalte von <2-50 µg/L detektiert, wovon 41 % einen Gehalt im Bereich von 10-25 µg/L aufzeigten (Eder et al., 1994).

In nur 3 von 68 handelsüblichen Erzeugnissen (u. a. Apfelsaft, Apfelkompott, Fruchtsaftgetränke, Aprikosennektar) konnte Patulin in Gehalten von 2,6 µg/L (Apfelsaft aus Apfelsaftkonzentrat), 24 µg/L (Birnsaft) und 52 µg/L (Apfelkompott) nachgewiesen werden (Bergner-Lang et al., 1983).

Altmayer et al. (1982) konnten in 62 % der 55 untersuchten Moste (Ertragsanlagen mit Pflanzenschutz, hauptsächlich die Sorten Müller-Thurgau und Riesling) kein Patulin nachweisen; 22 % der Positivbefunde lagen unter der WHO-Toleranz von 50 µg/L und 16 % enthielten mehr als 50 µg/L, mit einem Maximalwert von 230 µg/L. In den Mosten aus den Versuchsanlagen ohne Pflanzenschutz konnte in allen Proben Patulin in einem Konzentrationsbereich von 50-2200 µg/L, mit einem Maximalgehalt von 18,2 mg/L (Saft aus fast reinen „*Penicillium*-Trauben“), nachgewiesen werden. Die Forschergruppe konnte weiterhin ein rebsortenabhängiges Patulinvorkommen beobachten, da von 13 Mosten der Rebsorte Müller-Thurgau 9 patulinhaltig waren, beim Riesling dagegen nur 2 von 19. Sie führten dies sowohl auf die Beschaffenheit der Beere als auch auf den frühen Reifetermin dieser Traubensorte zurück. *P. expansum* besiedelt bevorzugt verletzte Traubenbeeren. Alle patulinhaltigen Moste stammten in dieser Studie von Lesegut, das auch einen mehr oder weniger hohen Anteil *Botrytis*-fauler Trauben aufwies.

Bei der Untersuchung von Traubenmosten überwiegend weißer Rebsorten konnten Woller und Majerus (1986) nur in wenigen Proben Patulingehalte von 16-370 µg/L bestimmen. Neuere Ergebnisse von Majerus et al. (2008) zeigen, dass in 60 % der untersuchten Riesling-Moste Patulingehalte zwischen 3,5-48,5 µg/L mit einem Mittelwert von 13,2 µg/L vorkamen. Von den insgesamt 96 Mosten verschiedener Rebsorten und Qualitätsstufen konnten in 54 % dieser Proben Patulingehalte von 3,5-80 µg/L mit einem Mittelwert von 15,6 µg/L bestimmt werden. Bei den Qualitätsstufen der Weine konnte ein Anstieg des Patulinvorkommens von 32 % auf 80 % vom Stadium der Spätlese über Auslese, Beerenauslese und Trockenbeerenauslese beobachtet werden. Da die Mittelwerte der Patulingehalte der unterschiedlichen Qualitätsstufen jedoch vergleichbar waren und keinen Trend aufzeigten, scheinen die Patulingehalte nicht notwendigerweise mit dem Schimmelbefall zu korrelieren (Majerus et al., 2008). Diesen Befund bestätigen auch die Ergebnisse der Studie von Netzer et al. (1998). Bei der Untersuchung von authentischen Traubenmosten war kein eindeutiger Rückschluss aus der visuellen Bonitierung des Lesegutes hinsichtlich des Patulingehaltes von Traubenmost möglich.

Behandlungsmaßnahmen

Die Patulinstabilität wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Ough und Corison (1980) fanden heraus, dass Patulin in Traubensaft über einen Zeitraum von einem Monat stabil ist, aber in Gegenwart von Schwefeldioxid innerhalb von 15 Minuten um über die Hälfte

reduziert werden kann. Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Scott und Somers (1968), die nach 5-wöchiger Lagerungszeit von Traubensaft bei 22 °C nur noch die Hälfte an zugesetztem Patulin nachweisen konnten.

Auch der Einfluss von Schwefeldioxid auf den Patulinabbau lieferte unterschiedliche Ergebnisse. Einerseits beobachteten Altmayer et al. (1982), dass Patulin durch eine Mostschwefelung mit 200 mg/L Kaliumpyrosulfit innerhalb eines Zeitraumes von mehr als 20 Tagen entfernt werden kann. Burroughs (1977) hingegen fand heraus, dass die Affinität von Patulin zu SO₂ pH-Wert abhängig ist und die im Modellversuch eingesetzte SO₂-Konzentration (200 ppm) nur von geringer Bedeutung bei der Patulinabbindung ist. Eine solche Anlagerung von Schwefeldioxid an Patulin kann auf zweierlei Arten erfolgen, reversibel durch Addition des SO₂ oder irreversibel durch SO₂-Anlagerung an die konjugierte Doppelbindung des Lactonrings. Abbauprodukte von Patulin in Apfelsäften mittels Natriumsulfit verliefen sehr langsam und zeigten Abbaugrade von 35 % (bei 20 mg/L SO₂) bzw. 21 % (bei 100 mg/L SO₂). Dies wurde auf Substanzen zurückgeführt, die den Angriff von Natriumsulfit an die konjugierte Doppelbindung des Patulinmoleküls behindern (Steiner et al., 1999).

Auch im Verlauf der alkoholischen Gärung durch Hefen der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* wird Patulin laut Ergebnis mehrerer Studien abgebaut und ist im Gärprodukt nicht mehr nachweisbar (Ough, Corison, 1980; Woller, Majerus, 1986; Moss, Long, 2002). Während der alkoholischen Gärung von Most wird Patulin bei höheren Temperaturen schneller abgebaut (Woller, Majerus, 1986). Als Abbauprodukte von Patulin konnten hierbei (*E*)- und (*Z*)-Ascladiol identifiziert werden (Abbildung 34) (Moss, Long, 2002). Von Ricelli et al. (2007) konnte der Patulinabbau erstmals auch auf *Gluconobacter oxydans* zurückgeführt werden.

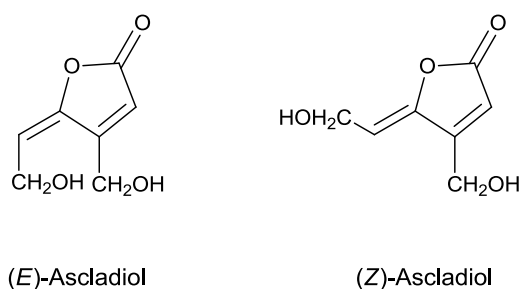


Abbildung 34: (*E*)- und (*Z*)-Ascladiol

Durch Verwendung der Behandlungsmittel Bentonit bzw. Aktivkohle konnten die Patulingehalte in Apfelsäften/-weinen stark reduziert bzw. vollständig entfernt werden (Sands et al., 1976; Bissessur et al., 2001; Dietrich, 2005).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Patulin ist stark gesundheitsschädlich; es ist genotoxisch, neurotoxisch, immuntoxisch und mutagen im Tierversuch (Delage et al., 2003; Moake et al., 2005; Jović et al., 2009). Von der IARC (1987) wurde Patulin in Gruppe 3 eingestuft, da nur unzureichende Daten über das kanzerogene Potential von Patulin aus Tierversuchen vorliegen.

Rechtliche Regelungen

Laut VO (EG) Nr. 1881/2006 gelten je nach Erzeugnis Höchstgehalte von 10-50 µg/kg (überwiegend Apfelprodukte).

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Als maximale Aufnahmemengen an Patulin über Apfelsaft wurden 0,2 µg/kg KG/d bei Kindern und 0,1 µg/kg KG/d bei Erwachsenen geschätzt. Es wurde ein PMTDI von 0,4 µg/kg KG für Patulin abgeleitet (JECFA, 1995).

4.6.1.6 Citrinin

Eigenschaften

Citrinin ist in sauren und alkalischen Lösungen sehr instabil und kann durch Erhitzen zerstört werden (Xu et al., 2006; EFSA, 2012).

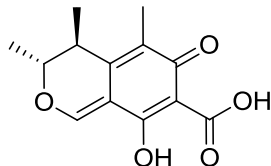


Abbildung 35: Struktur von Citrinin

Produzierende Mikroorganismen

Citrinin (Abbildung 35) wird von verschiedenen Spezies der Gattungen *Penicillium*, vor allem *Penicillium verrucosum* und *P. expansum*, *Aspergillus spp.* sowie *Monascus spp.* gebildet (Xu et al., 2006; EFSA, 2012). In Tabelle 2 sind weitere Citrinin-produzierende Arten der Spezies *Aspergillus spp.* und *Penicillium spp.* sowie andere Mykotoxine, die von diesen Spezies gebildet werden, dargestellt. Aufgrund dessen können in Lebens- und Futtermitteln mögliche additive Effekte von Mykotoxinen auftreten (Frank, 1992).

Tabelle 2: Mykotoxine, die auch von Citrinin-produzierenden Schimmelpilzen gebildet werden (Frank, 1992)

Mykotoxin	Species	Mykotoxin	Species
Patulin	<i>A. terreus</i>	Penicillinsäure	<i>P. canescens</i>
	<i>P. claviforme</i>		<i>P. cyclopium</i>
	<i>P. cyclopium</i>		<i>P. expansum</i>
	<i>P. expansum</i>		<i>P. janthinellum</i>
	<i>P. roqueforti</i>		<i>P. lividum</i>
Ochratoxin A	<i>P. cyclopium</i>		<i>P. palitans</i>
	<i>P. palitans</i>		<i>P. roqueforti</i>
	<i>P. purpurescens</i>		<i>P. viridicatum</i>
	<i>P. viridicatum</i>		
Kojisäure	<i>A. candidatus</i>	Roquefortin C	<i>P. notatum</i>
	<i>P. citrinum</i>		<i>P. roqueforti</i>
Griseofulvin	<i>P. viridicatum</i>		

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Je nach Spezies liegen unterschiedliche, optimale Wachstumsbedingungen vor; die besten Temperaturbedingungen liegen durchschnittlich zwischen 20-30 °C und optimale Wasseraktivitäten zwischen 0,75-0,85 (Frank, 1992). *P. citrinum* kann bei pH-Werten zwischen 2-10 wachsen und bei Temperaturen zwischen 15-37 °C Citrinin bilden (Sweeney, Dobson, 1998). Pravidra et al. (1986) berichten, dass auch die Anwesenheit weiterer Pilzspezies die Citrininbildung beeinflussen kann. So wird von *P. citrinum* bei Anwesenheit von *A. niger* kein Citrinin gebildet, wohingegen eine Citrininsynthese in Anwesenheit anderer Schimmelpilze stattfinden kann.

Vorkommen

Die Citrininbildung findet meist nach der Ernte und bei der Lagerung von Getreide und anderen pflanzlichen Produkten wie Erdnüssen, Früchten, Frucht- und Gemüsesäften, Kräutern und Gewürzen sowie auch auf verdorbenen Lebensmitteln statt. Citrinin entsteht auch als unerwünschte Kontaminante bei der Fermentation von Lebensmitteln mit *Monascus spp.* (bspw. rot verschimmelter Reis), einem Verfahren, das zur Haltbarmachung und Färbung der Lebensmittel in Asien angewendet wird (Xu et al., 2006; EFSA, 2012). Die Belastungssituation von Citrinin in Lebensmitteln ist derzeit aufgrund einer unzureichenden Datenlage nicht abschätzbar (EFSA, 2012).

Gehalte

In den von Meyer et al. (2001) untersuchten Rotweinen konnte kein Citrinin nachgewiesen werden. Bereits nach 5-tägiger Lagerung eines Weines konnten nur noch 63 % des zugesetzten Citrinin-Gehaltes gefunden werden, was die Instabilität von Citrinin anzeigt.

Im Vergleich dazu wurden hohe Citriningehalte zwischen 160-2000 µg/kg auf Gerste in Dänemark bestimmt; auch Reis aus Japan war mit Citrinin-Konzentrationen zwischen 700-1130 µg/kg deutlich belastet (Flajs, Peraica, 2009). Auf Rotschimmelreis (rot fermentierter Reis, von *Monoascus spp.* gebildet) konnten sogar Citriningehalte von 2903 µg/kg gefunden werden (Meister, 2003).

Bisher liegen unzureichende Daten zur Erfassung der Exposition des Menschen gegenüber Citrinin aus Nahrungsmitteln vor (EFSA, 2012).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Citrinin ist hepato- und nephrotoxisch, mutagen und möglicherweise auch kanzerogen (Xu et al., 2006; Klaffke, 2010). Sansing et al. (1976) konnten synergistische nephrotoxische Effekte bei einer kombinierten Mykotoxingabe von Citrinin sowohl mit OTA als auch mit Penicillinsäure im Tierversuch feststellen.

Ebenso wie Patulin wurde auch Citrinin von der IARC (1987) in Kategorie 3 eingestuft.

4.6.1.7 Mycophenolsäure

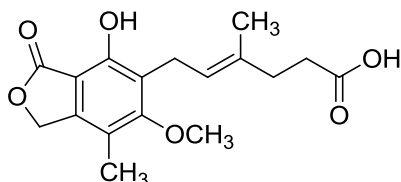


Abbildung 36: Struktur der Mycophenolsäure

Produzierende Mikroorganismen

Mycophenolsäure (Abbildung 36) wird von Spezies der Gattung *Penicillium* gebildet, u. a. von *P. brevi-compactum* und *P. stoloniferum* (Cole, Cox, 1981).

Vorkommen und Gehalte

Meyer et al. (2001) konnten in 91 % der untersuchten Rotweinproben Mycophenolsäure mit Gehalten zwischen 3-20 ng/mL nachweisen. Dabei wurde das Ausmaß der Kontamination eher mit der Herkunft der Weine als mit dem Jahrgang korreliert, da die Weine aus Südeuropa (Griechenland und Spanien) höhere Gehalte aufzeigten. Als Ursache hierfür wurden produktionstechnische Faktoren in Betracht gezogen, z. B.

mangelhaftes Entfernen deutlich fäulnisbefallener Trauben vom Lesegut. Der Mycophenolsäuregehalt im Wein könnte daher als Indikator für die Stärke des Traubenbefalls vor und die Produktionshygiene während der Weinbereitung herangezogen werden (Meyer et al., 2001).

Im Vergleich zum Wein konnten Engel et al. (1982) in französischem Blauschimmelkäse Mycophenolsäure-Gehalte von 250-5000 µg/kg bestimmen.

Wirkungen

Mycophenolsäure besitzt antibiotische und antivirale Wirkungen (Cole, Cox, 1981). Sie stellt die aktive, immunsuppressive Form von Mycophenolatmofetil (MMF) dar, welches in der Medizin zur Prophylaxe von akuten Organ-Transplantatabstoßungsreaktionen eingesetzt wird (Shaw et al., 2003).

4.6.1.8 Alternaria-Toxine

Schimmelpilze der Gattung *Alternaria* kommen auf Pflanzen häufig als Parasiten vor. Für diese Gattung sind bereits mehr als 70 Toxine beschrieben, von denen bisher jedoch nur 30 chemisch charakterisiert sind. Diese lassen sich in fünf Klassen einteilen (EFSA, 2011a; Lorenz et al., 2012):

- Dibenzopyran-Derivate: z. B. Alternariol (AOH), Alternariolmonomethylether (AME) und Altenuen (ALT)
- Perylen-Derivate: z. B. Altertoxine I–III (ATX I–III)
- Tetransäure-Derivate: z. B. L-Tenuazonsäure (TeA)
- Zyklische Tetrapeptide: z. B. Tentoxin
- Aminopentol-Ester: z. B. *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*-Toxine (AAL-Toxine)

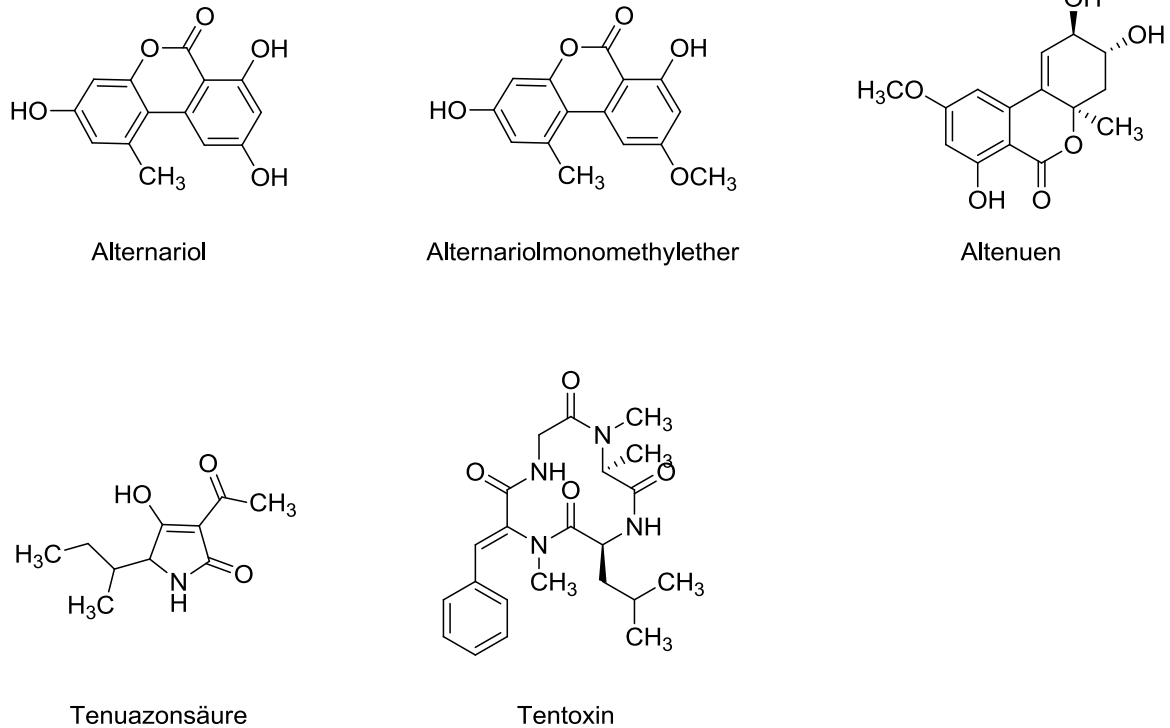


Abbildung 37: Strukturen wichtiger *Alternaria*-Toxine

Produzierende Mikroorganismen

Zu den wichtigsten Vertretern der Gattung *Alternaria* zählen *A. alternata*, *A. brassicae*, *A. cirti*, *A. solani* und *A. tenuissima* (Barkai-Golan, Paster, 2008; Lorenz et al., 2012). *Alternaria alternata* stellt die am häufigsten vorkommende *Alternaria*-Art dar und produziert eine Reihe von Mykotoxinen, einschließlich AOH, AME, ALT, ATX I–III sowie TeA (Abbildung 37) (Scott, 2001; Ostry, 2008). Bei Untersuchungen von Abreu et al. (2012) wurden verschiedene Arten der Gattung *Phomopsis* ebenfalls positiv hinsichtlich der Bildung von AOH, AME und ALT getestet. ALT wird von dem Pilz *Alternaria tenuis* gebildet, der von belastetem Tabak isoliert wurde (Cole, Schweikert, 2003a). Tentoxin wird von den Pilzen *Alternaria alternata* und *Alternaria tenuis* gebildet (Arntzen, 1972; Woodhead et al., 1975).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Die *Alternaria*-Pilze sind sehr flexibel hinsichtlich ihrer Umwelтанforderungen, da sie sowohl in Gebieten mit hoher Niederschlagsmenge als auch unter trockenen Bedingungen gedeihen können. Die Bildung von Mykotoxinen kann während der Ernte, des Transportes und der Lagerung auftreten (Scott, 2001; Jackson, Al-Taher, 2008; Pinto, 2008). Sie wachsen auch bei niedrigen Temperaturen und können daher auch bei kühlen Bedingungen zum Verderb führen (Drusch, Ragab, 2003; EFSA, 2011a; Broggi et al., 2012). Als optimale Wachstumsbedingungen von *Alternaria alternata* werden 25 °C

beschrieben, mit Minima zwischen -5 bis +6,5 °C sowie Maxima bei 36 °C. Bei 25 °C gilt ein a_w -Wert von 0,88 als notwendig. Ein Wachstum findet generell bei pH-Werten zwischen 2,7-8,0 statt (Ostry, 2008). Tournas und Stack (2001) beobachteten die Bildung von AOH und AME auf Trauben nach Inkubation mit *Alternaria alternata*-Pilzen hauptsächlich bei Temperaturen von 10 bzw. 21 °C, wobei Gehalte an AOH von 4,0-3336 µg/g bzw. an AME von 0,8-1716 µg/g auf roten Trauben detektiert wurden. Bei grünen Tafeltrauben wurden geringere AOH- bzw. AME-Gehalte zwischen 13-334 µg/g bzw. zwischen 3-304 µg/g ermittelt.

Vorkommen

Alternaria-Toxine kommen auf Getreide, Zitrusfrüchten und Nachtschattengewächsen (Tomate, Paprika, Kartoffel) vor (Scott, 2001; EFSA, 2011a; Lorenz et al., 2012). Aus der Zusammenstellung von Scott (2001) wurden AOH, AME und TeA (Abbildung 37) auf Äpfeln, Tomaten, Mandarinen, Oliven, Gewürzen sowie auf Weizen und Hirse nachgewiesen. AOH kann u. a. auch in Apfelsäften, Traubensäften, Rotwein und Himbeersäften vorkommen (Lau et al., 2003; Scott et al., 2006; Ostry, 2008).

Scott und Kanhere (2001) untersuchten die Stabilität von AOH und AME in rotem Traubensaft und Weißwein. Im Rotwein zeigte sich eine moderate Stabilität mit 50-75 % Restgehalt nach 7 Tagen bei Raumtemperatur; im Weißwein dagegen waren sie nahezu stabil.

Gehalte

Bei Rotweinen tritt AOH häufiger als bei Weißweinen auf (Scott et al., 2006). Dieser Trend wird ebenfalls für OTA beschrieben (Zimmerli, Dick, 1996; Visconti et al., 1999; Soleas et al., 2001). Dabei lagen die AOH-Gehalte in den untersuchten Rotweinen zwischen 0,03-19,4 ng/mL; es wurden deutlich geringere Konzentrationen an AME mit 0,01-0,23 ng/mL bestimmt. In Weißweinen konnte AOH in Gehalten von 0,67-18 ng/mL und AME in Gehalten von 0,02-0,059 ng/mL nachgewiesen werden. In roten Traubensäften konnten AOH-Gehalte zwischen 0,03-0,46 ng/mL und AME-Gehalte zwischen 0,01-225 ng/mL ermittelt werden (Lau et al., 2003; Scott et al., 2006; Broggi et al., 2012; Scussel et al., 2013).

AOH konnte auch auf Korkstopfen von Rotweinflaschen in Gehalten von 5,8, 7,8 und 101 µg/g nachgewiesen werden. AME wurde auf diesen mit einem Gehalt von 4,9 µg/g bestimmt (Scussel et al., 2013).

Im Vergleich hierzu konnte ALT in Gehalten von 103 µg/g auf Paprika und 1,4 µg/g auf Oliven nachgewiesen werden (Scott, 2001).

TeA wurde in Tomatenmark in Gehalten zwischen 39-111 ng/g und in passierten Tomaten in Gehalten zwischen 29-76 ng/g bestimmt (Motta, Valente Soares, 2001). In 86 % der untersuchten Bierproben wurden durchschnittliche Tenuazonsäuregehalte von 11 µg/kg, mit einem Maximalgehalt von 175±13 µg/kg, bestimmt (Siegel et al., 2010).

Auf argentinischem Weizen wurden AOH-Gehalte zwischen 645-1388 µg/kg, AME-Gehalte zwischen 566-7451 µg/kg und TeA-Gehalte zwischen 1001-8814 µg/kg ermittelt (Azcarate et al., 2008).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

AOH, AME, TeA und ATX induzieren fötotoxische und teratogene Wirkungen in Tierspezies. AOH und AME sind mutagen, clastogen und genotoxisch *in vitro*. Es liegen keine *in vivo*-Daten zur Genotoxizität und Kanzerogenität von *Alternaria*-Toxinen vor (Ostry, 2008; EFSA, 2011a). TeA zeigt starke phytotoxische Effekte vor allem bei der Sojabohne und bei Reis (Cole, Cox, 1981); Tentoxin ist ebenfalls phytotoxisch (Arntzen, 1972; Woodhead et al., 1975). Hinsichtlich der kanzerogenen Wirkung wird ein möglicher Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber *Alternaria*-Toxinen und dem Auftreten von Speiseröhrenkrebs in China vermutet (Liu et al., 1991).

Eine gesundheitliche Bewertung der *Alternaria*-Toxine ist bei derzeitigem Kenntnisstand nicht möglich (BfR, 2003; Lorenz et al., 2012). Es wurden noch keine TDI- bzw. PMTDI-Werte abgeleitet.

Rechtliche Regelungen

Zurzeit existieren in Europa und anderen Staaten aufgrund einer unzureichenden Datenlage betreffend Exposition und toxikologischer Effekte bei Mensch und Tier keine Höchstmengen-Regulationen für *Alternaria*-Toxine in Lebens- und Futtermitteln (EFSA, 2011a).

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

In Europa liegen für die einzelnen *Alternaria*-Toxine folgende Expositionsabschätzungen über die Nahrung vor: AOH 1,9-39 ng/kg KG/d, AME 0,8-4,7 ng/kg KG/d, TeA 36-141 ng/kg KG/d und Tentoxin 0,01-7 ng/kg KG/d (EFSA, 2011a). Als Hauptaufnahmequellen gelten Getreide und Getreideprodukte, Gemüse und daraus hergestellte Produkte (besonders Tomatenprodukte), Obst und Obstprodukte einschließlich Obst- und Gemüsesäfte, Getränke (Bier und Wein) und pflanzliche Öle (hauptsächlich Sonnenblumenöl) (EFSA, 2011a).

4.6.1.9 Trichothecene

Trichothecene werden in zwei Klassen eingeteilt, die einfachen und die makrozyklischen Trichothecene. Von den mehr als 200 identifizierten Trichothecenen stellen die nicht-makrozyklischen Trichothecene die wichtigsten Mykotoxine dar (Frisvad et al., 2006).

Bei den einfachen Trichothecenen unterscheidet man drei Arten: Typ-A, Typ-B und Typ-C (Abbildung 38) (Shank et al., 2011):

- Typ-A Trichothecene sind unsubstituiert, hydroxyliert oder verestert.
- Typ-B Trichothecene sind durch die Ketogruppe an C-8 charakterisiert.
- Typ-C Trichothecene sind durch einen zweiten Epoxidring an C7/8 charakterisiert.

Zu den makrozyklischen Trichothecenen zählt Typ-D, der durch zyklische Diester- oder Triester-Verbindungen an C-4 zu C-15 charakterisiert ist (Abbildung 38).

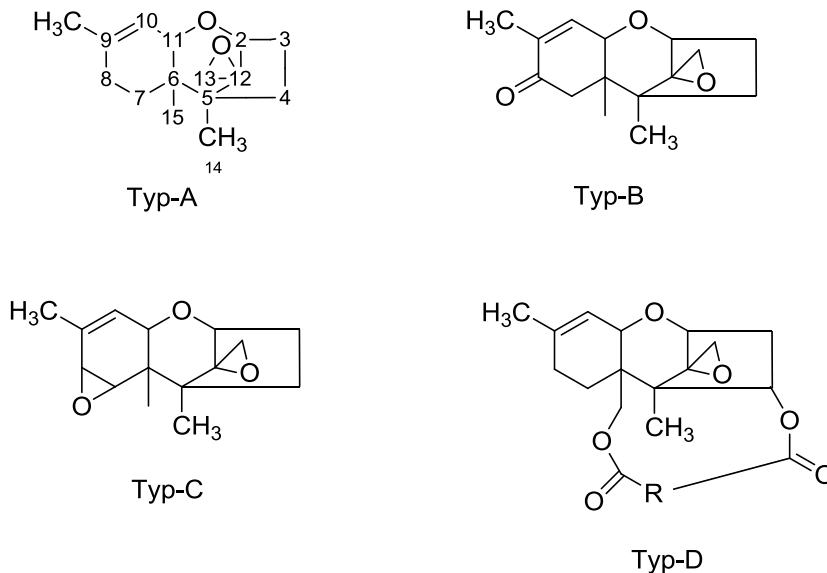


Abbildung 38: Grundstrukturen der Trichothecene der Typen-A, -B, -C und -D

Produzierende Mikroorganismen

Trichothecene werden von vielen Pilzgattungen gebildet, zu denen u. a. *Fusarium*, *Trichoderma*, *Phomopsis* und *Trichothecium* zählen (Cole, Schweikert, 2003a; Cole et al., 2003c). Die Pilze der Gattung *Fusarium*, die zu den Bodenpilzen zählen, sind wahrscheinlich die verbreitetsten Toxin-produzierenden Pilze in den nördlichen, gemäßigten Klimaregionen von Amerika, Europa und Asien (SCF, 1999; Shank et al., 2011). Sie sind charakterisiert durch das gemeinsame Auftreten mehrerer Arten gleichzeitig. Oft können bis zu neun verschiedene *Fusarium*-Arten von einem befallenen Gewebe isoliert werden (Logrieco et al., 2002b). Eine Vielzahl an *Fusarium*-Pilzen bilden

die Mykotoxine Deoxynivalenol, Nivalenol, Zearalenon, T-2 Toxin, HT-2 Toxin und Fumonisine (SCF, 1999).

Vorkommen

Trichothecene-produzierende Schimmelpilze kommen hauptsächlich auf Weizen, Gerste und Mais vor. Die Mykotoxine werden gebildet, wenn diese Getreidearten bei feuchten Klimabedingungen wachsen (IARC, 1993).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Trichothecene sind hämatotoxisch, immunsuppressiv und dermatotoxisch und greifen den Verdauungstrakt an (JECFA, 2002; Logrieco et al., 2002b). Als Hauptsymptome einer Trichothecen-Mykotoxikose beim Menschen werden Unterleibsschmerzen, Übelkeit, Durchfall, Schwindel und Kopfschmerzen beschrieben (Bhat et al., 2010).

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Die Exposition des Menschen gegenüber diesen Mykotoxinen erfolgt hauptsächlich durch Aufnahme von kontaminierten Getreideprodukten (IARC, 1993).

4.6.1.9.1 Trichothecin

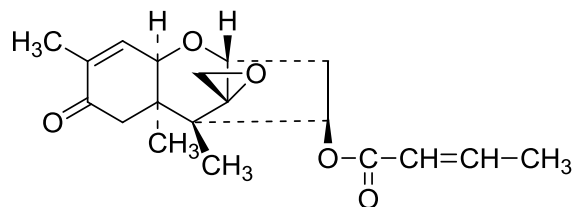


Abbildung 39: Struktur von Trichothecin

Produzierende Mikroorganismen

Trichothecium roseum ist vor allem im Obstbau als Erreger der sogenannten Bitterfäule auf Äpfeln bekannt (Eichhorn, Lorenz, 1978). Unter bestimmten klimatischen Bedingungen tritt dieser Pilz als Sekundärinfektion auf mit *Botrytis*-befallenen Traubenbeeren in Erscheinung (Flesch, Voigt-Scheuermann, 1994). Untersuchungen „rosafauler“ Traubenproben zeigten, dass der Pilz die Mykotoxine Trichothecin (Abbildung 39), Trichothecolon (beides B-Trichothecene) und Rosenonolacton (Gruppe: Diterpenlactone) unter natürlichen Bedingungen bevorzugt auf reifen Trauben bildet, die zur Herstellung von Weinen höherer Qualitätsstufen dienen (Schwenk et al., 1989). Demnach ist eine Kontamination der daraus hergestellten Traubenmoste und Weine mit

diesen Toxinen nicht auszuschließen. Es konnte gezeigt werden, dass *T. roseum* auch im Traubenmost die Eigenschaft besitzt, diese toxischen Stoffwechselprodukte zu bilden (Schwenk et al., 1989).

Vorkommen

Trichothecin konnte in Weinen und Traubenmosten (Schwenk, Altmayer, 1985; Schwenk et al., 1989; Flesch et al., 1990) und auf Getreide nachgewiesen werden (Ishii et al., 1986).

Gehalte

Schwenk et al. (1989) konnten in 10 von über 300 untersuchten Prädikatsweinen (z. B. Beerenauslesen) Trichothecin in Konzentrationen zwischen 50-500 µg/L bestimmen. Majerus und Zimmer (1995) untersuchten das Vorkommen von Trichothecin in Weinen und Mosten aus sauerfaulem Lesegut. Da *Trichothecium* säureempfindlicher als *Botrytis* und *Penicillium* ist, tritt er meist als Folgeparasit von *Botrytis* auf, der im Stadium der Sauerfäule Säure abbaut (Dittrich, Großmann, 2005). In den Rot- und Weißweinen des Jahrgangs 1986 mit einem Fäulnisbefall zwischen 0-80 % konnte kein Trichothecin nachgewiesen werden. Dagegen konnte in den Proben des Jahrgangs 1987 mit einem Fäulnisbefall von 0-60 % Trichothecin in Gehalten von 1-28 µg/L bestimmt werden. Der im Anbaugebiet dominierende Riesling weist bekanntermaßen im Vergleich zu anderen Rebsorten (Optima, Ortega, Müller-Thurgau, Kerner) höhere Säuregehalte auf, was die Wahrscheinlichkeit eines *Trichothecium*-Befalls beträchtlich verringert. Diese These wurde von Majerus und Zimmer (1995) bestätigt, die in Rieslingweinen kein Trichothecin nachweisen konnten.

In Traubenmosten verschiedener Rebsorten wurden folgende Trichothecingehalte bestimmt: in Spätburgunder 4,8-35,4 mg/L, in Silvaner 21,2-50,2 mg/L und in Riesling 9,7-13,6 mg/L. An Hand dieser Untersuchungen konnten deutliche Unterschiede im Toxingehalt der Sorten, der Lagen und auch der Jahrgänge beobachtet werden. Bei der Vinifikation von Trauben, die unter natürlichen Bedingungen künstlich mit *T. roseum* infiziert worden waren, verblieb ein Großteil der vom Schimmelpilz gebildeten Toxine im Trester bzw. im Rückstand des 1. Abstichs und konnte somit entfernt werden (Flesch et al., 1990).

Im Vergleich zum Wein konnte Trichothecin auch auf Weizen in Gehalten von 270-560 mg/kg nachgewiesen werden (Ishii et al., 1986).

Eigenschaften bei der Weinherstellung

Bei der Weinherstellung kann Trichothecin bereits in Konzentrationen von 2,1 mg/L zu einer messbaren Gärungsverzögerung (4-9 Tage) führen (Schwenk, Altmayer, 1985; Flesch, Voigt-Scheuermann, 1994). Trichothecin wies eine deutliche Stabilität in unbehandeltem Traubensaft und Wein bei einer Lagerungszeit von 29 Tagen im Dunkeln auf. Diese beobachtete Stabilität in den untersuchten Matrices korreliert mit den in der Literatur (Freeman, Morrison, 1948) angegebenen Stabilitätseigenschaften von Trichothecin in wässrigen Lösungen bei pH 1-10 und einer Temperaturstabilität bis 100 °C (über eine Stunde). Der Zusatz von 200 mg/L Kaliumdisulfit hatte keinen Einfluss auf die Toxinkonzentration. Auch nach Vergären von trichothecinhaltigem Traubensaft wurden durchschnittlich 92,2 % des Gehaltes wiedergefunden; Trichothecin wird demnach während der Gärung nicht abgebaut. Mit dem Behandlungsmittel Bentonit (4 g/L) konnte Trichothecin nicht aus dem Wein entfernt werden. Aktivkohle (200 mg/L) bewirkte wegen ihrer unselektiven Adsorptionseigenschaften eine Verringerung der Konzentration um 40 % im Modellversuch (Schwenk, Altmayer, 1985).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Trichothecin wirkt zytotoxisch auf Zelllinien des menschlichen Darm- und Lebergewebes (Schwenk et al., 1989) sowie stark dermatotoxisch und mutagen *in vivo* (Flesch, Stockinger, 1987).

4.6.1.9.2 Deoxynivalenol

Eigenschaften

Deoxynivalenol (DON, Vomitoxin), ein Epoxysesquiterpenoid (Abbildung 40), und seine acetylierten Derivate (3- und 15-Acetyl-DON) stellen die bedeutendsten Trichothecene dar, die zur Gruppe der B-Trichothecene gehören (Frisvad et al., 2006).

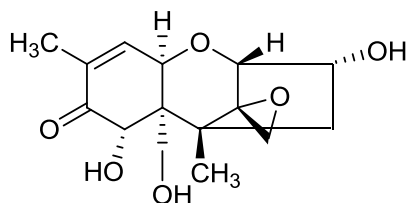


Abbildung 40: Struktur von Deoxynivalenol

DON ist während Lagerungs-, Vermahlungs-, Verarbeitungs- und Kochprozessen sehr stabil und wird auch bei höheren Temperaturen nicht abgebaut (SCF, 1999). Im Gegensatz zu Zearalenon wird DON nicht von Hefen metabolisiert (Böswald et al., 1995).

Produzierende Mikroorganismen

DON wird hauptsächlich von *Fusarium graminearum* und *F. culmorum* gebildet, die Ährenfusariosen verursachen (JECFA, 2002).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Als optimale Wachstumsbedingungen für *F. graminearum* werden Temperaturen von 25 °C und eine Wasseraktivität von 0,88 und für *F. culmorum* Temperaturen von 21 °C und eine Wasseraktivität von 0,87 beschrieben. *F. graminearum* stellt die verbreitetste Art dar und kommt in wärmeren Klimaregionen vor (JECFA, 2002). Es konnte gezeigt werden, dass *F. graminearum* über *F. culmorum* dominiert, unabhängig von den Umweltbedingungen (Magan et al., 2010).

Vorkommen und Gehalte

In europäischem Bier konnten maximale DON-Gehalte von 57 µg/L nachgewiesen werden; in Bier aus Argentinien lagen deutlich höhere Gehalte bis zu 221 µg/L vor (Scott, 2008). Weder Wein noch getrocknete Früchte enthielten DON (CFIA, 2010/2011). Besonders Getreide sind mit DON belastet. DON wurde in Gehalten zwischen 4-760 µg/kg auf Hafer, 4-9000 µg/kg auf Gerste, 1-5700 µg/kg auf Weizen, 13-240 µg/kg auf Roggen, 3-3700 µg/kg auf Mais und 6-5100 µg/kg auf Reis bestimmt (JECFA, 2002). Maismehl enthielt 58-240 µg/kg DON (LAVES, 2006).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

DON zeigt immun- und neurotoxische Wirkungen *in vivo* auf (SCF, 1999; Klaffke, 2010). In Asien traten bei Menschen nach Verzehr von DON-haltigem Getreide in Konzentrationen zwischen 3-93 mg/kg sowie mit *Fusarium spp.* belastetem Getreide Nebenwirkungen wie Übelkeit, gastrointestinale Störungen, Durchfall und Kopfschmerzen auf (JECFA, 2002). DON wurde von der IARC (1993) in Gruppe 3 eingestuft. Als PMTDI für DON wurde 1 µg/kg KG festgelegt (JECFA, 2002).

Rechtliche Regelungen

Nach VO (EG) Nr. 1881/2006 sind für DON Höchstgehalte von 0,2-1,75 mg/kg je nach Erzeugnis festgesetzt.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Die tägliche Aufnahme von DON wird mit 0,7 µg/kg KG in Afrika und bis zu 2,4 µg/kg KG im mittleren Osten geschätzt (JECFA, 2002).

4.6.1.9.3 Nivalenol

Eigenschaften

Nivalenol (NIV; Abbildung 41) gehört zur Gruppe der B-Trichothecene.

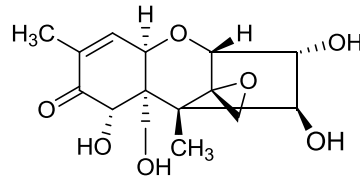


Abbildung 41: Struktur von Nivalenol

Produzierende Mikroorganismen

NIV wird von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet, u. a. von *F. cerealis*, *F. poae* und zu einem geringeren Anteil von *F. culmorum* und *F. graminearum* (SCF, 2000b).

Vorkommen/Gehalte

In Bierproben aus Kanada lagen maximale NIV-Konzentrationen von 0,12 µg/L vor; wohingegen Bierproben aus Korea mit bis zu 38 µg/L belastet waren (Scott, 2008). NIV konnte in keinem der untersuchten Getreideprodukte (u. a. Gerste, Hafer, Teigwaren) nachgewiesen werden (LAVES, 2006).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

In Tierversuchen zeigte NIV toxische Wirkungen auf das Knochenmark (IARC, 1993). NIV wurde von der IARC (1993) in Gruppe 3 eingestuft. Es wurde ein t-(temporary)-TDI von 0-0,7 µg/kg KG für NIV abgeleitet (SCF, 2000b).

4.6.1.9.4 T-2 Toxin und HT-2 Toxin

Eigenschaften

T-2 Toxin und HT-2 Toxin gehören zur Gruppe der A-Trichothecene (Abbildung 42). Diese Toxine sind während Koch- und Backprozessen stabil (EFSA, 2011b).

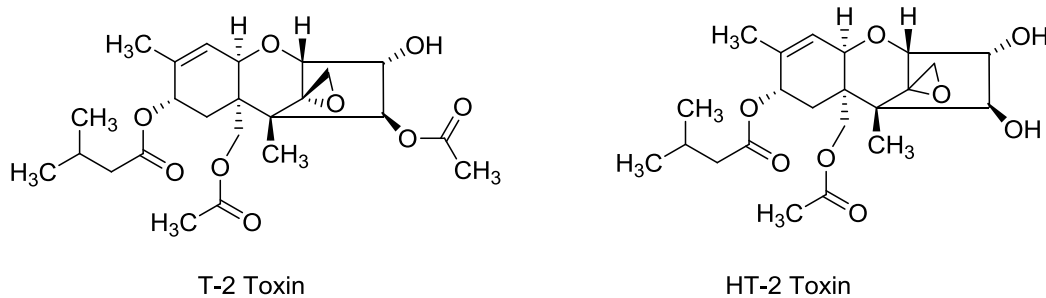


Abbildung 42: Strukturen von T-2 Toxin und HT-2 Toxin

Produzierende Mikroorganismen

T-2 Toxin wird hauptsächlich von *Fusarium sporotrichioides* bzw. *F. langsethiae* gebildet (IARC, 1993), HT-2 Toxin zusätzlich auch von *F. poae* (Cole et al., 2003c).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Üblicherweise kommen *Fusarium*-Spezies auf Getreide vor und produzieren die beiden Mykotoxine HT-2 Toxin und T-2 Toxin bei feucht-kalten Bedingungen (EFSA, 2011b).

Vorkommen und Gehalte

T-2 Toxin und HT-2 Toxin konnten nur in wenigen Getreideprodukten nachgewiesen werden, wobei hauptsächlich Hafer und Haferprodukte mit Gehalten von 83-165 µg/kg bzw. 149-215 µg/kg belastet waren (LAVES, 2006). Die in Teigwaren ermittelten Gehalte lagen durchschnittlich zwischen 16,1-23,8 µg/kg (CVUA Stuttgart, 2012). In brasilianischem Bier wurden vergleichsweise höhere Konzentrationen von 249 µg/L bestimmt (Scott, 2008).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

T-2 und HT-2 Toxin beeinträchtigen die Protein- und DNA-Synthese und führen zu Häm- und Myelotoxizität. Zu weiteren toxischen Effekten *in vivo* zählen Dermato-, Entwicklungs-, Reproduktions-, Neuro-, Immun- und Genotoxizität (EFSA, 2011b). Beim Menschen kann das T-2 Toxin zur ernährungsbedingten Alimentären Toxischen Aleukie (hochgradige Verminderung der Granulozyten und Blutplättchen) führen.

Es liegen keine Daten zur Kanzerogenität beim Menschen durch Toxine von *F. sporotrichioides* vor, sodass eine Einstufung in Gruppe 3 vorgenommen wurde (IARC, 1993).

Humane Leberenzyme können T-2 Toxin zu HT-2 Toxin *in vitro* deacetylieren, was auch bei *in vivo*-Untersuchungen an Tieren nachgewiesen wurde (IARC, 1993). Aufgrund des schnellen Metabolismus von T-2 zu HT-2 Toxin wurde von der EFSA (2011b) ein TDI-Wert von 100 ng/kg KG für die Summe aus T-2 und HT-2 Toxin abgeleitet.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Getreide und Getreideprodukte wie Brot, Backwaren und Frühstückscerealien, stellen die Hauptaufnahmequellen für die beiden Mykotoxine dar. Die geschätzte tägliche Aufnahme des T-2 Toxins liegt bei 7,6 ng/kg KG und die des HT-2 Toxins bei 8,7 ng/kg KG für die europäische Bevölkerung; die durchschnittliche tägliche Exposition gegenüber beiden Toxinen liegt bei 17 ng/kg KG (EFSA, 2011b).

4.6.1.9.5 Diacetoxyscirpenol

Eigenschaften

4,15-Diacetoxyscirpenol (DAS) gehört zur Gruppe der A-Trichothecene (Abbildung 43).

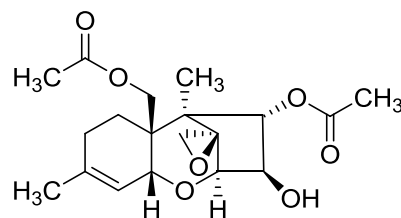


Abbildung 43: Struktur von Diacetoxyscirpenol

Produzierende Mikroorganismen

Diacetoxyscirpenol wird u. a. von *Fusarium roseum*, *F. sambucinum*, *F. tricinctum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. sulphureum*, *F. poae* und *F. cerealis* gebildet (Logrieco et al., 2002b; Cole et al., 2003c; Schollenberger et al., 2007).

Vorkommen/Gehalte

Auf kanadischem Weizen konnten DAS-Gehalte zwischen 50-80 µg/kg bestimmt werden; deutlich höhere Gehalte von 600 bzw. 793 µg/kg konnten auf Weizen aus Brasilien und Argentinien nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu konnte DAS weder auf Getreide, Obst, Gemüse, Nüssen oder Ölsamen aus Deutschland gefunden werden. Auf Kartoffelprodukten aus Deutschland konnte DAS hingegen in Mengen von 21 µg/kg und

auf Sojabohnen aus den USA in Mengen von 15-230 µg/kg bestimmt werden. Basierend auf den Ergebnissen von über 3400 untersuchten Getreideproben kam DAS jedoch nur auf 1,1 % der Proben vor (Schollenberger et al., 2007). Auf österreichischen Maisproben wurden NIV, DON und ZEA zusammen mit DAS nachgewiesen (Logrieco et al., 2002b).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

DAS zeigt dermatotoxische Effekte im Tierversuch und ist stark phytotoxisch (Cole et al., 2003c; Schollenberger et al., 2007). Die Toxizität von DAS wird als vergleichbar mit der Toxizität des T-2 Toxins angesehen (Schollenberger et al., 2007).

4.6.1.10 Fumonisine

Zu den am häufigsten, natürlicherweise vorkommenden Fumonisininen zählen Fumonisin B₁ (FB₁), Fumonisin B₂ (FB₂) und Fumonisin B₃ (FB₃) (Abbildung 44). Bisher ist FB₁ das vorherrschende Fumonisin in der menschlichen Nahrung (Logrieco et al., 2011).

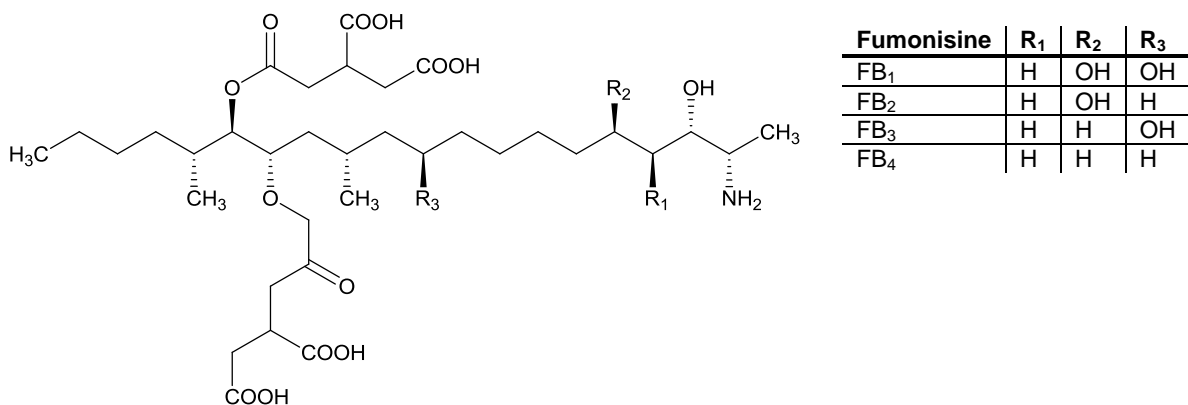


Abbildung 44: Grundstruktur der Fumonisine FB₁-FB₄

Produzierende Mikroorganismen und Vorkommen

Als Hauptproduzenten von Fumonisininen gelten *F. verticillioidis* (früher *F. moniliforme*), *F. proliferatum* und *F. subglutinans*, die hauptsächlich auf Mais vorkommen (Noser et al., 2001; Frisvad et al., 2006). Von *F. dlamini* wurden geringe Fumonisinegehalte, u. a. auf Reis, gebildet (Frisvad et al., 2006). FB₁ wurde nicht nur auf Mais, sondern auch auf Hirse, Reis, Weizen sowie Getreideprodukten nachgewiesen (IARC, 2002).

Aspergillus niger und *A. carbonarius* stellen die wichtigsten Schimmelpilze dar, die auf Trauben zur FB₂-Bildung (und auch zur OTA-Bildung) führen, wobei vor allem *A. niger* als Hauptverursacher einer Kontamination mit FB₂ auf Trauben und daraus hergestellten Produkten gilt (Frisvad et al., 2007; Mogensen et al., 2010a & 2010b; Logrieco et al.,

2011). *A. niger* ist ein bedeutender Organismus, der in der Industrie u. a. zur Produktion von Ascorbinsäure verwendet wird, sodass hier ein mögliches Risiko durch Kontamination mit Mykotoxinen besteht (Frisvad et al., 2007).

Bennett und Richard (1996) berichten, dass FB₁ während der alkoholischen Gärung stabil ist. Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Scott et al. (1995), die den Abbau von FB₁ und FB₂ um 3-28 % bzw. 9-17 % in Bierwürze durch *Saccharomyces cerevisiae* beobachteten.

Gehalte

In Rotweinen konnte FB₂ häufiger in Gehalten von 1-25 µg/L bestimmt werden als in Weißweinen, in denen geringere Gehalte von 1 µg/L detektiert wurden (Logrieco et al., 2010; Mogensen et al., 2010a). Daraus kann abgeleitet werden, dass Fumonisin B₂ in Rotweinen ein größeres Problem darzustellen scheint als in Weißweinen, was mit den Ergebnissen der OTA- und AOH-Studien vergleichbar ist (Mogensen et al., 2010a). FB₄ kam in den untersuchten Weinen nicht vor (Logrieco et al., 2010).

Das hohe Vorkommen von FB₂ verdeutlicht das häufige Wachstum von *A. niger* auf Trauben und damit auch das Risiko des Verbrauchers gegenüber einer FB₂-Exposition durch Trauben und Weine (Logrieco et al., 2011). Logrieco et al. (2009) beimpften gesunde Beeren mit verschiedenen *Aspergillus*-Spezies und fanden heraus, dass in den daraus hergestellten Suspensionen FB₂ nur von den drei getesteten *Aspergillus niger* Stämmen mit Gehalten zwischen 0,15-2,5 µg/mL produziert wurde; FB₂ wurde hingegen in keiner Beeren-Suspension gefunden, die mit *A. tubingensis*, *A. carbonarius* oder *A. uvarum* beimpft wurde. Weiterhin enthielten nur 2 der 12 untersuchten Mostproben der roten Rebsorte Primitivo FB₂-Gehalte zwischen 0,01-0,4 µg/mL (Logrieco et al., 2009).

Im Vergleich zu den geringen Gehalten in Weinen ist bspw. Mais aus Nordamerika (Kanada, USA) mit FB₁-Gehalten von 0,08-37,8 mg/kg deutlich stärker belastet. Auf Maisproben aus Europa (u. a. Österreich, Ungarn, Polen, Portugal, Deutschland) wurden ebenfalls deutlich höhere Gehalte von 0,007-250 mg/kg detektiert (IARC, 2002).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Bei Fumonisininen handelt es sich um neuro-, leber- und lungentoxische sowie kanzerogene Verbindungen *in vivo* (EFSA, 2005; Klaffke, 2010). Fumonisine werden als starke krebsinduzierende Verbindungen beschrieben; FB₁ spielt als starker Krebs-Promotor eine wichtige Rolle bei der Kanzerogenese des Menschen (Bath et al, 2010). Von der IARC (1993) wurden Fumonisine (B₁ und B₂/B₃) als mögliche Kanzerogene für den Menschen in Gruppe 2 B eingestuft.

Bei Menschen aus Indien konnten nach Aufnahme von verschimmelter Hirse bzw. Mais mit FB₁-Gehalten von bis zu 64 mg/kg Krankheiten des Gastrointestinaltraktes beobachtet werden. Es wurde ein PMTDI von 2 µg/kg KG für die Fumonisine B₁, B₂ und B₃ (einzeln oder in Kombination) abgeleitet (JECFA, 2002).

Rechtliche Regelungen

Laut VO (EG) Nr. 1881/2006 sowie VO (EG) Nr. 1126/2007 gelten für Fumonisine (Summe aus B₁ und B₂) Höchstgehalte von 0,2-2 mg/kg je nach Erzeugnis.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Aus den geschätzten Aufnahmemengen an FB₁ über Maisprodukte von durchschnittlich 0,2 µg/kg KG/d bei einer typisch europäischen Ernährung und 2,4 µg/kg KG/d bei einer typisch afrikanischen Ernährung geht hervor, dass international große Unterschiede vorliegen (JECFA, 2002). Bei einer täglichen Aufnahme von 200 mL Wein mit einer Kontamination von 1 ng/mL an FB₂ durch eine Person mit einem Körpergewicht von 70 kg würde die tägliche Exposition gegenüber Fumonisinen durch Weinkosum durchschnittlich bei 0,003 µg/kg KG/d liegen. Die tägliche Aufnahme von Fumonisinen über Wein kann daher als vernachlässigbar angesehen werden (Logrieco et al., 2011).

4.6.1.11 Zearalenon

Eigenschaften

Bei Zearalenon (ZEA) handelt es sich um ein Resorcylsäurelacton (Abbildung 45). Es wird als nichtsteroidales, östrogenes Mykotoxin beschrieben (SCF, 2000a). ZEA ist während Lagerungs-, Vermahlungs-, Verarbeitungs- und Kochprozessen sehr stabil und wird auch bei höheren Temperaturen nicht abgebaut. Es konnte keine Konzentrationsänderung von ZEA beim Erhitzen bis 120 °C über 4 Stunden beobachtet werden. Beim Brotbacken (Weizenmehl) können jedoch Verluste an ZEA bis 40 % auftreten (Kuiper-Goodman et al., 1987; SCF, 2000a).

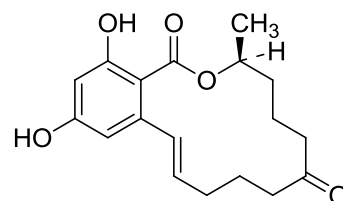


Abbildung 45: Struktur von (S)-Zearalenon

Böswald et al. (1995) zeigten, dass viele Hefen, u. a. auch die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae*, ZEA zu α - und β -Zearalenol metabolisieren können, wobei das β -Isomer überwiegt (Abbildung 46). Bei Konzentrationen von 80 μg ZEA/mL konnte eine mäßige Hemmung des Wachstums bestimmter *Saccharomyces*-Arten beobachtet werden, was sich in einem verzögerten Wachstumsbeginn äußerte (Böswald et al., 1995).

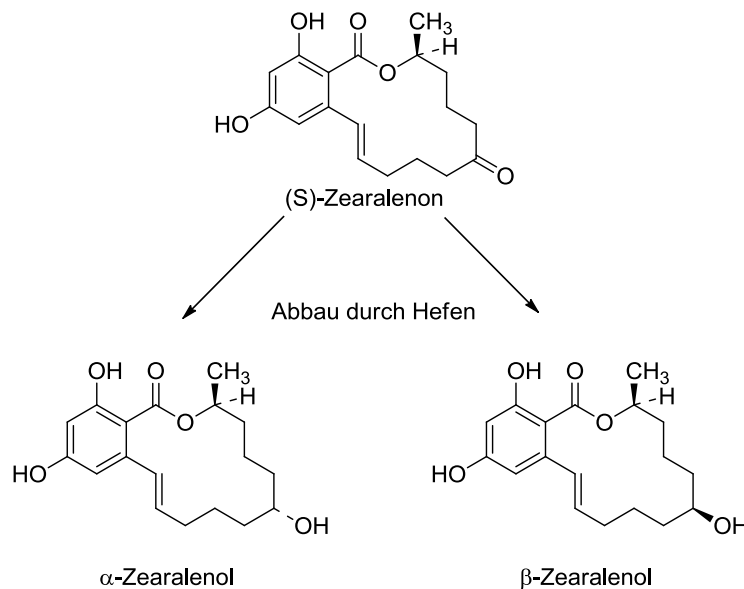


Abbildung 46: Abbau von Zearalenon zu alpha- und beta-Zearalenol

Produzierende Mikroorganismen

Fusarium graminearum und *F. culmorum* gelten als die Hauptbildner von ZEA auf Getreide (SCF, 2000a). Diese Pilzarten produzieren auch Trichothecene wie DON und NIV (EFSA, 2011c). Zu weiteren ZEA-Bildnern zählen auch *Fusarium moniliforme*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. cerealis* sowie *F. solani* (Kuiper-Goodman et al., 1987).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Fusarium-Spezies wachsen auf Getreide überwiegend bei feucht-kalten Bedingungen. Eine Toxinbildung kann auch bei schlechten Lagerbedingungen stattfinden (JECFA, 2000a; EFSA, 2011c). Hohe Konzentrationen (1000 ppm) an organischen Säuren (Ameisen-, Essig-, Propion- und Buttersäure) verhindern das Wachstum von *F. graminearum* und die Bildung von ZEA auf Getreidekulturen (Sherwood, Peberdy, 1974).

Vorkommen

ZEA gilt als das weitverbreitetste Mykotoxin auf landwirtschaftlichen Erzeugnissen (Logrieco et al., 2002b), vor allem auf Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Hafer, Hirse und Futtermitteln (Kuiper-Goodman et al., 1987; Frisvad et al., 2006).

Gehalte

Auf Getreideprodukten wie Brot, Frühstückscerealien und Nudeln wurden ZEA-Gehalte bis 50 µg/kg ermittelt (JECFA, 2000a). Von Noser et al. (2001) wurden auf Maisproben durchschnittliche ZEA-Gehalte von 30 µg/kg detektiert. Der Höchstgehalt einer Probe lag bei 100 µg/kg; fünf Proben enthielten Gehalte zwischen 44-100 µg/kg. Auf Tomaten konnten Gehalte von 6 µg/kg bestimmt werden. Dagegen konnte auf getrockneten Pflaumen, Rosinen und in kanadischem Bier kein ZEA nachgewiesen werden (JECFA, 2000a). Kappenstein (2007) konnte in 96 % der untersuchten Maiskeimöle durchschnittliche ZEA-Gehalte von 176 µg/kg bestimmen, wohingegen bei 92 % der Weizenkeimöle nur durchschnittlich 13 µg ZEA/kg detektiert wurden.

Wirkungen/Toxikologische Effekte

ZEA hat schleimhautreizende und östrogene Wirkungen (Klaffke, 2010). Bei Frauen wurden in endometrialem Gewebe Adenokarzinome und endometriale Hyperplasien nach ZEA-Aufnahme über die Nahrung festgestellt (SCF, 2000a). Bei vielen Versuchstieren führte ZEA zu Veränderungen der Fortpflanzungsorgane (IARC, 1993; SCF, 2000a). ZEA wurde von der IARC (1993) in Gruppe 3 eingestuft.

Die JECFA hat einen PMTDI für ZEA von 0,5 µg/kg KG abgeleitet, die SCF einen TDI von 0,2 µg/kg KG (JECFA, 2000a; SCF, 2000a).

Rechtliche Regelungen

Nach VO (EG) Nr. 1881/2006 sind für ZEA je nach Erzeugnis Höchstgehalte von 50-200 µg/kg festgesetzt.

Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Getreide und daraus hergestellte Nahrungsmittel wie Brot, Backwaren und Frühstückscerealien stellen die Hauptexpositionsquellen des Menschen gegenüber ZEA dar, wobei auch pflanzliche Öle, speziell Maiskeimöl und Weizenkeimöl, einen bedeutenden Beitrag zur Exposition gegenüber ZEA leisten (EFSA, 2011c).

In Europa liegt die durchschnittliche tägliche Exposition gegenüber ZEA aus der Nahrung beim Erwachsenen bei 4-29 ng/kg KG (EFSA, 2011c). Nach oraler Aufnahme wird ZEA zu

α - und β -Zearalenol metabolisiert und in glucuronidierter Form über den Urin ausgeschieden (JECFA, 2000b).

4.6.1.12 Penicillinsäure

Eigenschaften

Bei Penicillinsäure handelt es sich um ein kleines toxisches Polyketid, das in der Keto- bzw. Lactonform vorkommen kann (Abbildung 47) (Cole, Schweikert, 2003b).

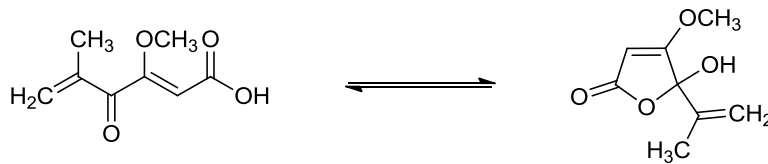


Abbildung 47: Struktur der Penicillinsäure in der Keto- bzw. Lactonform

Produzierende Mikroorganismen

Penicillinsäure kann von Arten der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* gebildet werden, u. a. von *P. canescens*, *P. cyclopium*, *P. expansum*, *P. janthinellum*, *P. lividum*, *P. palitans*, *P. roqueforti*, *P. viridicatum*, *Aspergillus ochraceus*, *A. alliaceus* und *A. melleus* (Ciegler et al., 1971; Cole, Schweikert, 2003b).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Penicillinsäure wird bei Temperaturen zwischen 5-32 °C gebildet, wobei die maximale Bildung bei Temperaturen zwischen 15-20 °C stattfindet (Ciegler et al., 1971). Die Penicillinbildung ist stark vom Substrat abhängig (Lieu, Bullerman, 1977).

Vorkommen

Penicillinsäure wurde auf verschimmeltem Mais nachgewiesen, der als Futtermittel verwendet wurde (Ciegler et al., 1971). In weiteren Studien fanden Ciegler et al. (1972) heraus, dass rund 10 % der von Salami isolierten *Penicillium*-Spezies Penicillinsäure im Kulturmedium bildeten. Es konnte jedoch keine Penicillinsäurebildung nach Beimpfung von Wurstwaren mit Penicillinsäure-bildenden Spezies beobachtet werden. Dies wurde auf eine mögliche Reaktion der Penicillinsäure mit vorhandenen Aminosäuren zurückgeführt (Ciegler et al., 1972).

Gehalte

In Weinen konnte keine Penicillinsäure nachgewiesen werden. Jedoch konnten auf zwei Korken von Rotweinflaschen Gehalte von 10,8 bzw. 19,4 µg/g nachgewiesen werden (Scussel et al., 2013).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Penicillinsäure hat antibakterielle, antivirale, antitumorale und zytotoxische Wirkungen (Cole, Schweikert, 2003b). *In vivo* konnten hepato-, nephro- und neurotoxische sowie mutagene Effekte beobachtet werden (Weidenbörner, 2001). Penicillinsäure wurde in Gruppe 3 eingestuft (IARC, 1987).

4.6.1.13 Griseofulvin

Eigenschaften

Bei Griseofulvin (Abbildung 48) handelt es sich um eine antifungielle Verbindung (Cole, Cox, 1981).

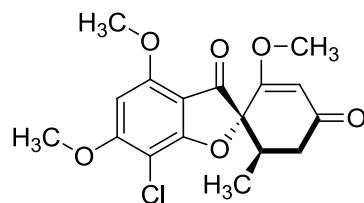


Abbildung 48: Struktur von Griseofulvin

Produzierende Mikroorganismen

Griseofulvin wird während des Wachstums von verschiedenen *Penicillium*-Arten, u. a. *P. griseofulvum*, *P. patulum*, *P. urticae* und *P. viridi-cyclopium*, gebildet (Cole, Cox, 1981).

Vorkommen

Griseofulvin wird zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet, da es nach oraler Gabe beim Menschen antibiotisch und fungistatisch wirksam gegen Dermatophyten und Ringelflechte ist. Es wird auch als antifungielles Veterinärmedikament eingesetzt (IARC, 2001). Es liegen keine Daten über ein natürliches Vorkommen von Griseofulvin vor.

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Beim Menschen kann Griseofulvin dosisabhängig zu Beeinträchtigungen des zentralen Nervensystems mit Schlafstörungen, Schwindel, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Übelkeit und Erbrechen führen (MedlinePlus, 2013). Es liegen unzureichende Beweise über

kanzerogene Effekte von Griseofulvin auf den Menschen vor, wohingegen die Kanzerogenität und auch teratogene sowie genotoxische Wirkungen in Tierversuchen gezeigt werden konnten. Griseofulvin wurde daher in Gruppe 2B als möglicherweise kanzerogen für den Menschen eingestuft (IARC, 2001).

4.6.1.14 Roquefortin C

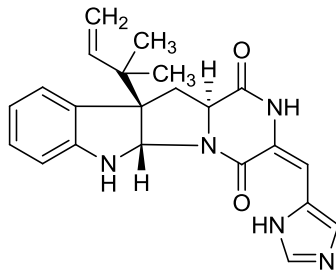


Abbildung 49: Struktur von Roquefortin C

Produzierende Mikroorganismen

Bei Roquefortin C (Abbildung 49) handelt es sich um einen weitverbreiteten Pilzmetaboliten, der von einer Vielzahl an *Penicillium*-Spezies gebildet wird, u. a. von *P. expansum*, *P. griseofulvum*, *P. roqueforti*, *P. commune* und *P. urticae* (Cole, Schweikert, 2003a).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

Roquefortin C kann von *P. roqueforti* bei Temperaturen von 15-25 °C gebildet werden (Scott et al., 1977). *P. roqueforti* führt häufig zum Verderben von kühl gelagerten Nahrungs- und Futtermitteln (Hägglom, 1990).

Vorkommen und Gehalte

Auf Blauschimmelkäse konnten Roquefortin C-Gehalte zwischen 0,8-12 mg/kg nachgewiesen werden (Kokkonen et al., 2005). In einer Studie enthielt Futtergetreide aus Schweden durchschnittliche Roquefortin C-Gehalte von 25,3 mg/kg (Hägglom, 1990).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Roquefortin C zeigt neurotoxische Wirkungen im Tierversuch (Hägglom, 1990; Frisvad et al., 2006).

4.6.1.15 Citreoviridin

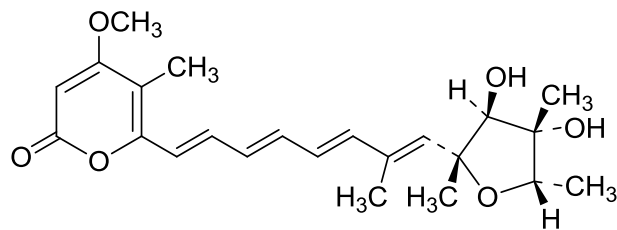


Abbildung 50: Struktur von Citreoviridin

Produzierende Mikroorganismen

Citreoviridin (Abbildung 50) kann von *Penicillium toxicarium*, *P. citreo-viride*, *P. ochrosalmoneum*, *P. pulvillorum*, *P. fellutanum* und *P. citreonigrum* gebildet werden (Cole, Cox, 1981).

Vorkommen und Gehalte

P. citreonigrum kann auf „gelbem Reis“ vorkommen (Frisvad et al., 2006). Auf Mais aus den USA, der mit *Eupenicillium ochrosalmoneum* belastet war, wurden Citreoviridingehalte zwischen 19-2790 µg/kg ermittelt (Wicklow et al., 1988).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Citreoviridin führt zu Lähmungen der Gliedmaßen, Übelkeit, Krämpfen, Herz- und Gefäßschäden sowie Atemstillstand. Der Konsum von „gelbem Reis“ verursachte beim Menschen die neurotoxische Krankheit Beriberi, die bis 1929 in Ostasien vorkam (Scott, 2004).

4.6.1.16 Moniliformin

Eigenschaften

Moniliformin kommt als Natrium- bzw. Kaliumsalz vor (Abbildung 51).

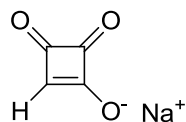


Abbildung 51: Struktur des Natriumsalzes von Moniliformin

Moniliformin ist in wässrigen Pufferlösungen und bei einem pH-Wert von 4 am stabilsten. Beim Erhitzen bis 150 °C über einen Zeitraum von 60 Minuten konnte nur eine 5 %ige Verringerung von Moniliformin festgestellt werden. Mit steigendem pH-Wert und

steigender Temperatur nimmt die Moniliforminabnahme jedoch deutlich zu (Pineda-Valdes, Bullerman, 2000).

Produzierende Mikroorganismen

Für die Bildung von Moniliformin sind Spezies der Gattung *Fusarium* verantwortlich. Dazu zählen u. a. die Arten *F. moniliforme*, *F. proliferatum* und *F. subglutinans*, die häufig auf Mais, *F. avenaceum*, *F. tricinctum* und *F. proliferatum*, die auf Hartweizen, *F. fujikuroi*, die auf Reis und *F. thapsinum* und *F. proliferatum*, die auf Hirse vorkommen (Schütt et al., 1998). *F. oxysporum* kann unter Laborbedingungen beträchtliche Mengen an Moniliformin bilden, wobei es noch keine detaillierte Information zur Moniliforminbildung auf Obst und Gemüse gibt (Frisvad et al., 2006).

Wachstums- und Bildungsbedingungen der Pilze

F. moniliforme kann zwischen 2-37 °C wachsen, wobei Temperaturen zwischen 22-27 °C und a_w -Werte $>0,87$ als optimal gelten (Sweeney, Dobson, 1998).

Vorkommen

Moniliformin wurde weltweit auf Getreideprodukten, vor allem auf Mais und Weizen, gefunden (Schütt et al., 1998; Frisvad et al., 2006).

Gehalte

Auf 15 % österreichischer Maisproben konnte Moniliformin mit Gehalten zwischen 50-290 µg/kg gefunden werden (Lew et al., 2001). In den USA waren 50 % der kommerziell erhältlichen Maisproben mit Moniliformingehalten zwischen 26-774 µg/kg kontaminiert; 68 % der aus Mais hergestellten Produkte zeigten Moniliformingehalte zwischen 31-858 µg/kg auf (Gutema et al., 2000). Auf Maisproben aus der Schweiz konnten sogar Gehalte bis zu 1340 µg/kg bestimmt werden (Noser et al., 2001).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Moniliformin ist herz-, leber- und lungenschädigend *in vivo* (Zöllner, Mayer-Helm, 2006; Klaffke, 2010), zeigt wachstumsregulierende Effekte bei Pflanzen und ist phytotoxisch (Cole, Cox, 1981).

4.6.1.17 Beauvericin

Eigenschaften

Bei Beauvericin handelt es sich um ein Cyclohexadepsipeptid, das aus drei D-Hydroxyisovaleryl- und drei N-Methylphenylalanyl-Resten in alternierendem Aufbau besteht (Wang, Xu, 2012) und als Ionophor für ein- und zweiwertige Kationen wirkt (Abbildung 52) (Jestoi et al., 2004).

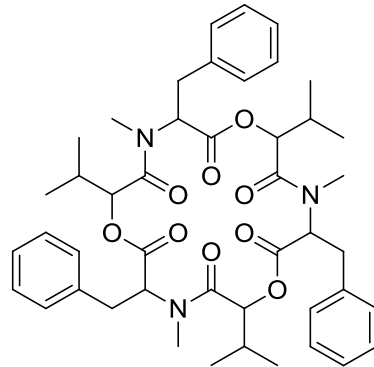


Abbildung 52: Struktur von Beauvericin

Produzierende Mikroorganismen

Beauvericin wird von verschiedenen *Fusarium*-Spezies, u. a. von *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. ygamai*, *F. dlamini*, *F. verticillioides*, sowie von den Gattungen *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Polyporus* und *Isaria* gebildet (Frisvad et al., 2006; Wang, Xu, 2012).

Vorkommen

Beauvericin-produzierende Mikroorganismen kommen auf Mais, Getreide und Früchten vor (Frisvad et al., 2006). Das Vorkommen von *F. dlamini* KF-338 auf Weintrauben wird beschrieben (Logrieco et al., 1998).

Gehalte

Auf Weizen, der durch *F. avenaceum* mit Ährenfusariosen belastet war, konnten Beauvericin-Gehalte zwischen 0,64-3,5 µg/g ermittelt werden (Logrieco et al., 2002a). Jestoi et al. (2004) fanden in 95 % der untersuchten Getreideproben meist nur Spuren an Beauvericin; eine Gerstenprobe enthielt einen Maximalgehalt von 19 µg/kg. Noser et al. (2001) detektierten in 3 Maisproben Beauvericingehalte zwischen 120-450 µg/kg. Hier wurde Beauvericin zusammen mit Moniliformin und Fumonisin nachgewiesen, was auch von Logrieco et al. (2002b) beschrieben wird. Bei Abschätzung einer möglichen

Gefährdung für den Menschen sollten daher synergistische Effekte mit diesen gleichzeitig auftretenden Mykotoxinen berücksichtigt werden (Scott, 2004).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Beauvericin zeigt insektizide Wirkungen, antitumorale Effekte auf menschliche Krebszellen (Lungen-, Brust- und Leukämiekrebszellen) sowie antibakterielle Wirkungen (Wang, Xu, 2012). Beauvericin wirkt toxisch auf humane blutbildende, epitheliale und fibroblastäre Zellen (Logrieco et al., 1997).

4.6.1.18 Wortmannin

Eigenschaften

Wortmannin zeichnet sich durch eine sterol-ähnliche chemische Struktur aus (Abbildung 53) (Scott, 2004).

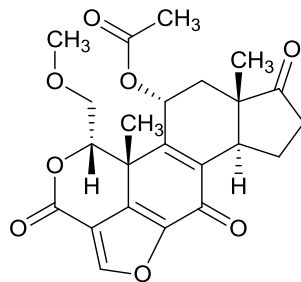


Abbildung 53: Struktur von Wortmannin

Produzierende Mikroorganismen

Wortmannin kann von *Fusarium oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. sambucinum*, *Penicillium wortmannii*, *P. funiculosum* und *Myrothecium roridium* gebildet werden (Brian et al., 1957; Abbas, Mirocha, 1988).

Vorkommen

Wortmannin-produzierende Schimmelpilze sind weit verbreitet und kommen auf Pflanzen und Getreide vor, die zur Herstellung von Nahrungs- und Futtermitteln genutzt werden (Gunther et al., 1989). Es liegen jedoch keine Daten zum Vorkommen von Wortmannin auf landwirtschaftlichen Erzeugnissen vor (Scott, 2004).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Wortmannin besitzt antifungielle und antiinflammatorische Wirkungen und ist zytotoxisch (Römpp, 2013). Als toxisches Zielorgan bei der Ratte wird das Herz beschrieben.

Wortmannin bzw. mit *F. oxysporum* belastetes Reis-Medium zeigten beim Verfüttern an Nagetiere immunsuppressive Effekte (Gunther et al., 1989).

4.6.1.19 Kojisäure

Eigenschaften

Bei Kojisäure (Abbildung 54) handelt es sich um eine natürlich vorkommende, antibiotische Verbindung (IARC, 2001).

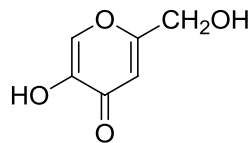


Abbildung 54: Struktur der Kojisäure

Produzierende Mikroorganismen

Kojisäure wird von verschiedenen Mikroorganismenstämmen wie *Penicillium*, *Aspergillus*, u. a. von den Arten *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* und *A. oryzae*, sowie von *Gluconoacetobacter* gebildet (IARC, 2001).

Vorkommen

Kojisäure kommt auf Kojimalz vor. Sie wird weiterhin als Lebensmittelzusatzstoff und Konservierungsmittel (0,05-1 %), in Kosmetikprodukten zur Hautaufhellung und Depigmentierung (0,5-1 %) sowie als Pflanzenwachstumsregulator verwendet. In Japan wurde sie lange zur Herstellung von Miso (japanische Paste, die hauptsächlich aus Sojabohnen mit Anteilen von Reis, Gerste oder anderem Getreide besteht), Sojasauce und Sake verwendet (IARC, 2001).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Bei Einsatz der Substanz zur Hautbleichung im Gesichtsbereich bei einer Konzentration von bis zu 1 % und 2-maliger Anwendung pro Tag kann keine gesundheitliche Gefährdung für den Verbraucher aus toxikologischer Sicht abgeleitet werden (BfR, 2008; SCCS, 2012). Aufgrund mangelnder Beweise von kanzerogenen Effekten beim Menschen wurde Kojisäure in Gruppe 3 eingestuft (IARC, 2001).

4.6.1.20 Fumagillin

Produzierende Mikroorganismen

Fumagillin (Abbildung 55) wird von *Aspergillus fumigatus* gebildet (Cole, Cox, 1981).

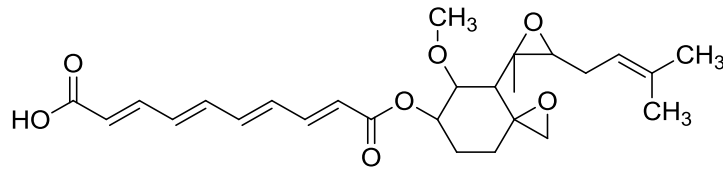


Abbildung 55: Struktur von Fumagillin

Wirkung

Fumagillin besitzt schwache antifungielle und antibakterielle Wirkungen (Cole, Cox, 1981).

4.6.1.21 Cytochalasine H und J

Eigenschaften

Cytochalasine sind durch einen stark substituierten, hydrogenierten Isoindolring charakterisiert, an den ein makrozyklischer Ring gebunden ist. Bei Cytochalasin J handelt es sich um die deacetylierte Form des Cytochalasin H (Abbildung 56).

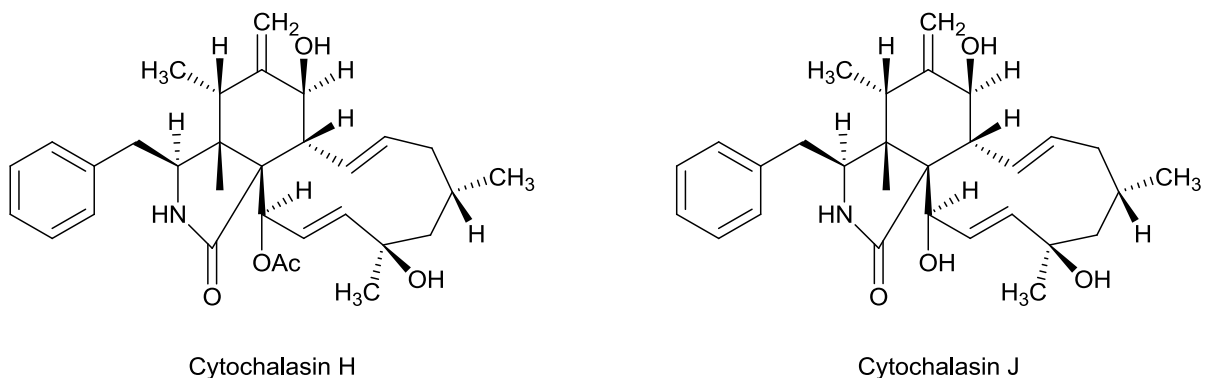


Abbildung 56: Strukturen der Cytochalasine H und J

Produzierende Mikroorganismen

Die Cytochalasine H und J stellen Metabolite der Gattungen *Phomopsis*, u. a. *Phomopsis paspalli* und *Phomopsis sojae* dar (Burres et al., 1992; Cole, Schweikert, 2003a). *Phomopsis paspalli* wurde auf *Paspalum scrobiculatum* Linn. (eine in Indien konsumierte, minderwertige Hirsesorte, genannt Kodrava) gefunden (Patwardhan et al., 1974).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

Zu den Hauptsymptomen einer Kodrava-Vergiftung beim Menschen, die durch *Phomopsis paspalli* ausgelöst wird, zählen Übelkeit, Beschwerden beim Schlucken und Bewusstlosigkeit (Patwardhan et al., 1974).

Cytochalasin H zeigt *in vitro* antibakterielle, antifungielle, nematizide und antitumorale Wirkungen. Diese Wirkungen sind bei Cytochalasin J weniger stark ausgeprägt (Burrell et al., 1992).

4.6.1.22 Cyclosporin A

Eigenschaften

Bei Cyclosporin A (CsA) handelt es sich um ein unpolares, zyklisches Oligopeptid, das aus 11 Aminosäureresten besteht (Abbildung 57).

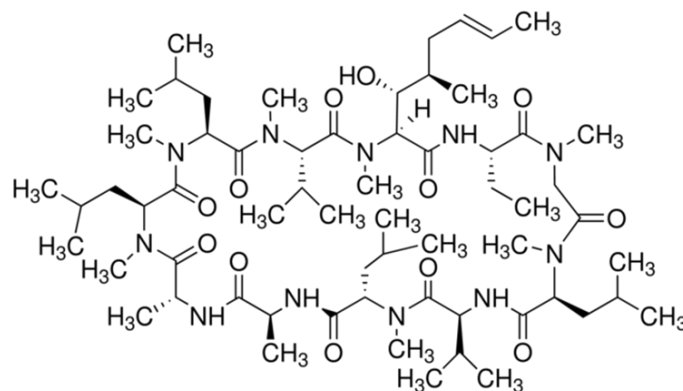


Abbildung 57: Struktur des Cyclosporin A

Produzierende Mikroorganismen

Cyclosporin A stellt einen Metaboliten der Pilze *Tolypocladium inflatum*, *Tolypocladium cylindrosporum*, *Trichoderma polysporum* und *Cylindrocarpon lucidum* dar (IARC, 1990).

Wirkungen/Toxikologische Effekte

CsA ist ein starkes Immunsuppressivum und wird als Medikament zur Verhinderung von Abstoßungsreaktionen infolge einer Organ- bzw. Knochenmarkstransplantation eingesetzt (IARC, 1990). CsA ist weiterhin nephro- und hepatotoxisch beim Menschen; es wurden Tumore des Lymphgewebes sowie Kaposi-Sarkome (eine im Zusammenhang mit AIDS auftretende Krebserkrankung) bei einer Exposition mit CsA beobachtet. Daher wurde diese Verbindung von der IARC (1990) als kanzerogen für den Menschen in Gruppe 1 eingestuft.

4.6.2 Biogene Amine

4.6.2.1 Eigenschaften, Bildung und Vorkommen

Bei biogenen Aminen handelt es sich um niedermolekulare, organische Basen mit biologischen Wirkungen. Sie können sowohl anhand ihrer chemischen Struktur in aliphatische (Putrescin, Cadaverin), aromatische (Tyramin) und heterozyklische biogene Amine (Histamin), als auch hinsichtlich ihrer Zahl an Aminogruppen in Monoamine, Diamine oder Polyamine eingeteilt werden (EFSA, 2011; Esselen, Schrenk, 2012). Biogene Amine werden in Lebensmitteln meist durch spezielle Aminosäure-Decarboxylasen gebildet (Soufleros et al., 1998; Lonvaud-Funel, 2001; Beneduce et al., 2010). Weitere mögliche Bildungswege sind die Aminierung von Aldehyden und Ketonen durch Transaminasen und der enzymatische Abbau verschiedener stickstoffhaltiger Verbindungen (Scholten, Friedrich, 1998).

Biogene Amine kommen in vielen Lebensmitteln und Getränken mit erwünschten Fermentationsprozessen (Käse 5-4500 mg/L, Wein 5-130 mg/L, Bier 2,8-13 mg/L, Sauerkraut 110-300 mg/L), aber auch in unsachgemäß aufbewahrten und folglich mikrobiell infizierten Lebensmitteln (Fisch 2400-5000 mg/L, zubereitetes Fleisch 10-700 mg/L) vor (Soufleros et al., 1998; Lonvaud-Funel, 2001; Landete et al., 2007). Bei letzteren kann der Gehalt an biogenen Aminen daher als Verderbnisindikator angesehen werden (Römpp Online, 2013). Sowohl zwischen den einzelnen Lebensmittelgruppen als auch innerhalb einer Gruppe schwanken die Konzentrationen an biogenen Aminen in einem großen Bereich (Silla Santos, 1996; Ladero et al., 2010).

Im Wein können Agmatin, Cadaverin, Histamin, Phenylethylamin, Putrescin, Spermidin, Spermin, Tryptamin und Tyramin vorkommen (Soufleros et al., 1998; Beneduce et al., 2010), wobei Histamin, Putrescin und Tyramin als Hauptvertreter im Wein gelten (Glória et al., 1998; Lonvaud-Funel, 2001; Landete et al., 2005 & 2007; Martín-Álvarez et al., 2006).

Die Anwesenheit biogener Amine im Wein kann auf drei mögliche Ausgangspunkte zurückgeführt werden (Anli, Bayram, 2009):

- sie kommen bereits im Most vor
- sie werden während der alkoholischen Gärung von Hefen produziert
- sie werden im Wein bei der malolaktischen Gärung von daran beteiligten Milchsäurebakterien gebildet

Einige Amine, wie Putrescin und weitere Polyamine, kommen bereits auf der Traube vor, wobei der Gehalt von der Rebsorte und dem Reifegrad abhängig ist (Del Prete et al.,

2009; Galgano et al., 2011). Im Perikarp von Trauben der Rebsorte Cabernet Sauvignon konnten u. a. hohe Gehalte an Putrescin gefunden werden (Broquedis et al., 1989); ebenso konnten hohe Putrescinkonzentrationen in Traubenkernen ermittelt werden (Broquedis et al., 1989; Kiss et al., 2006).

Putrescin (1,4-Diaminobutan) entsteht sowohl durch Decarboxylierung der Aminosäure Ornithin als auch durch Decarboxylierung der Aminosäure Arginin. Arginin wird zu Agmatin decarboxyliert, welches über die Zwischenstufe des N-Carbamoylputrescin zu Putrescin enzymatisch umgesetzt wird. Weiterhin kann Arginin über den Arginin-Deiminase-Weg über die Zwischenstufen Citrullin und Ornithin zu Putrescin umgesetzt werden (Abbildung 58) (Bauza et al., 1995; Bouchereau et al., 1999; Mangani et al., 2005).

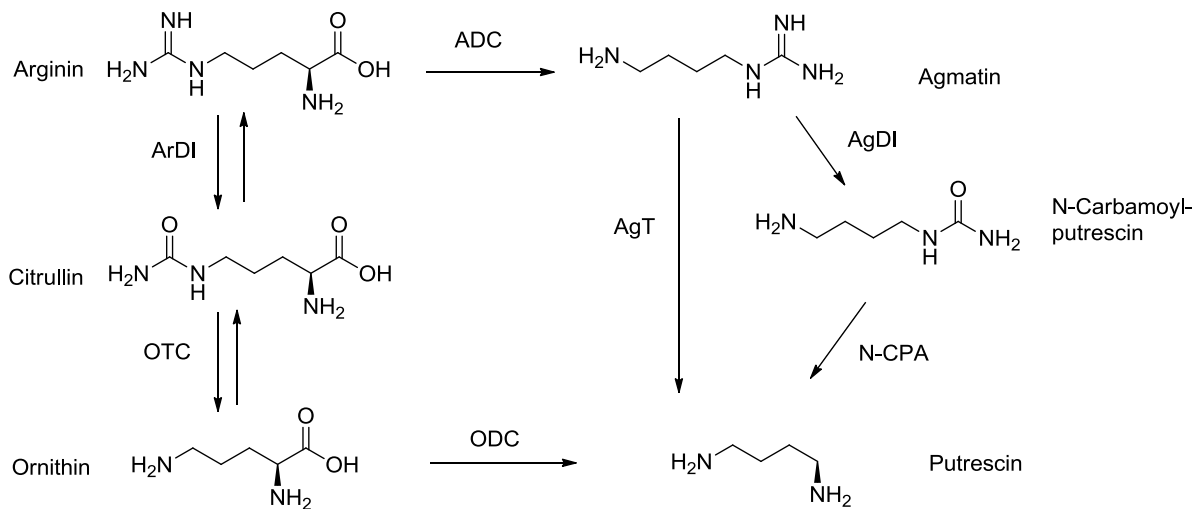


Abbildung 58: Bildungsmechanismen von Putrescin, ausgehend von Arginin bzw. Ornithin; ArDI: Arginin-Deiminase; OTC: Ornithin-Transcarbamylase; ODC: Ornithin-Decarboxylase; ArDC: Arginin-Decarboxylase; AgDI: Agmatin-Deiminase; N-CPA: N-Carbamoylputrescin-Aminohydrolase; PCT: Putrescin-Carbamoyltransferase; AgT: Agmatinase (modifiziert nach Bouchereau et al., 1999; Arena, Manca de Nadra, 2001)

Histamin (2-(4-Imidazolyl)ethylamin) entsteht durch die Decarboxylierung von Histidin mittels der Histidindecarboxylase (Abbildung 59) (Lonvaud-Funel, 2001).

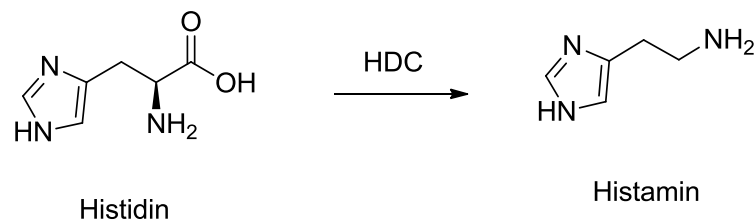


Abbildung 59: Bildung von Histamin, ausgehend von Histidin; HDC: Histamin-Decarboxylase

Die Decarboxylase-Aktivitäten können durch den pH-Wert und Ethanol im Wein gehemmt werden, was ab Ethanolkonzentrationen über 12 %, die üblicherweise im Wein vorkommen, beobachtet werden konnte. Andererseits kann die Histamindecarboxylase-Aktivität und folglich die Histaminproduktion bei einem pH-Wert von 3,5 und Ethanolkonzentrationen bis 10 % gesteigert werden (Smit et al., 2008).

Die Verarbeitung der Trauben hat einen großen Einfluss auf die Gehalte an biogenen Aminen in Mosten und Weinen. Während des Prozesses der Weinherstellung, beginnend mit der Mostbehandlung, alkoholischer Gärung, malolaktischer Gärung bis hin zur Lagerung, können verschiedene Amine entstehen bzw. deren Gehalte ansteigen (Eder, 2007; Galgano et al., 2011). Die Konzentration an biogenen Aminen im Wein wird weiterhin von Faktoren wie der Qualität des Ausgangsmaterials, Reifegrad der Beeren und mikrobieller Kontamination während der Vinifikation beeinflusst. Durch die Verwendung von SO₂ kann die Produktion biogener Amine aufgrund der Hemmung der Mikroorganismenaktivität und des -wachstums verhindert werden (Smit et al., 2008).

4.6.2.2 Einfluss der alkoholischen Gärung

Das Verhältnis der Konzentration an biogenen Aminen zu ihren Vorläufer-Aminosäuren während der Gärung ist vom eingesetzten Hefestamm abhängig (Goñi, Azpilicueta, 2001). Die Aminosäurekonzentration wiederum hängt stark von der Zusammensetzung des Traubenmostes ab, die von der Rebsorte und den Nährstoffen beeinflusst wird (Soufleros et al., 1998; Marques et al., 2008). Von Caruso et al. (2002) konnte gezeigt werden, dass die Hefestämme *Saccharomyces cerevisiae* und *Brettanomyces bruxellensis* an der Bildung biogener Amine beteiligt sind, wobei der erste Hefestamm höhere Gehalte bildete. Auch die Ergebnisse von Wallbrunn et al. (2011) verdeutlichen, dass biogene Amine während der alkoholischen Gärung von Hefen gebildet, aber auch abgebaut werden können, wobei dies stammspezifisch ist. Putrescin kann bspw. von Hefen metabolisiert werden, sodass es nach einer alkoholischen Gärung in geringeren Konzentrationen im Vergleich zur Ausgangskonzentration im Most vorliegt (Del Prete et al., 2009). Bedingungen wie Temperatur, pH-Wert und Sauerstoffeintrag während der Gärung können sowohl die Menge und Vielfalt an Mikroorganismen im Wein als auch die Aktivität von Decarboxylasen beeinflussen (Lonvaud-Funel, 2001; Martín-Álvarez et al., 2006; Smit et al., 2008; Anli, Bayram, 2009).

4.6.2.3 Einfluss der malolaktischen Gärung

Die Anwesenheit von Aminen im Wein steht in enger Relation zur vorkommenden Mikroflora und zur Zusammensetzung der Aminosäurekonzentration im Wein nach alkoholischer Gärung (Lonvaud-Funel, 2001).

Im Allgemeinen kommen biogene Amine häufiger in Weinen nach malolaktischer Gärung vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Der Gehalt an biogenen Aminen ist nach alkoholischer Gärung im Wein eher gering und steigt während der malolaktischen Gärung je nach Rebsorte auf unterschiedliche Gehalte an (Soufleros et al., 1998). Diesbezüglich konnte von Cañas et al. (2008) eine Verdopplung des Gehaltes an biogenen Aminen beobachtet werden. Die Fähigkeit einer Decarboxylierung ist hierbei vom Bakterienstamm abhängig (Coton et al., 1998). Der pH-Wert des Mostes sollte daher kleiner als 3,6 sein, um ein unerwünschtes Wachstum von spontanen Milchsäurebakterien zu unterdrücken (Eder et al., 2002b; Wallbrunn et al., 2011). Aus diesem Grund sind insbesondere Weine aus sehr reifem Lesegut mit geringem Säuregehalt und hohem pH-Wert gefährdet (Eder, 2007). Landete et al. (2007) fanden heraus, dass Bakterienstämme wie *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus mali*, *Leuconostoc mesenteroides* und *Pediococcus parvulus* an der Histaminbildung im Wein beteiligt sind, wobei von den Stämmen *Lactobacillus hilgardii* und *Pediococcus parvulus* die höchsten Histamingehalte gebildet wurden.

Da hauptsächlich bei Rotweinen eine malolaktische Gärung durchgeführt wird, werden in diesen höhere Gehalte an biogenen Aminen erwartet als bei Weißweinen, bei denen in Abhängigkeit der Rebsorte und des Weinstils (bspw. Riesling) in der Regel kein biologischer Säureabbau praktiziert wird. Zudem enthalten Weißweine geringere Gehalte an Aminosäure-Vorstufen und weisen im Allgemeinen geringere pH-Werte auf, woraus sich auch die geringeren Konzentrationen an biogenen Aminen ergeben (Zee et al., 1983; Glória et al., 1998). Bei Rotweinen ist auch die Maischegärung zu berücksichtigen, wodurch es u. a. zu einer erhöhten Extraktion an Proteinen und Aminosäuren kommt (Smit et al., 2008). Soleas et al. (1999) konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen einer verlängerten Mazerationszeit der Beerenhaut beim Maischeprozess und der Konzentration an biogenen Aminen feststellen. Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Martín-Álvarez et al. (2006), die verdeutlichen, dass eine längere Mazerationszeit die Produktion biogener Amine begünstigen kann.

4.6.2.4 Einfluss phenolischer Verbindungen

Bei Anwesenheit der Phenole Kaffeesäure, Vanillinsäure und Protocatechusäure, die die Zellen der Trauben vor oxidativem Stress schützen, konnte eine Abnahme der Putrescinproduktion, ausgehend von Agmatin, beobachtet werden. Einige phenolische Substanzen im Wein scheinen daher die von Mikroorganismen ausgehende Putrescinproduktion regulieren und reduzieren zu können (Galvano et al., 2011). Es kann bei der Decarboxylierung von Agmatin zu Putrescin zur Konkurrenz mit der Decarboxylierung phenolischer Substanzen durch das Enzym N-Carbamoylputrescin-Aminohydrolase kommen und so folglich die Bildung von Putrescin verhindern (Smit et al., 2008).

4.6.2.5 Einfluss von Fäulnisbelastungen

Der Einfluss einer *Botrytis*-Infektion auf den Gehalt an biogenen Aminen in Weinen wurde in mehreren Studien untersucht (Scholten, Friedrich, 1998; Kiss et al., 2006). Insgesamt konnten hier nur geringe Konzentrationen an Histamin mit durchschnittlich <1 mg/L und Putrescin mit Gehalten bis zu 7,7 mg/L bestimmt werden. Der Befall mit *Botrytis cinerea* führt nicht zwangsläufig zu Problemen mit biogenen Aminen (Scholten, Friedrich, 1998).

4.6.2.6 Aminosäuregehalte

Die Aminosäuregehalte von Mosten und Jungweinen aus gesunden und *Botrytis*-infizierten Beeren zeigen, dass im faulen Lesegut die Aminosäurekonzentrationen um bis zu 50 % geringer sein können. Auch bei Betrachtung der Aminosäuren Histidin und Arginin, die zu Histamin und Putrescin umgewandelt werden können, ist dieser Trend zu beobachten. Während der Vergärung von gesundem Most der Rebsorte Riesling können 40 % des Histidingehaltes durch Hefen abgebaut werden. Bei *Botrytis*-infizierten Mosten wurde Histidin im Verlauf der Gärung vollständig durch die Hefen verstoffwechselt (Dittrich, Großmann, 2005). Auch Dittrich und Sponholz (1975) zeigten, dass Histidin bereits mit 23 % höheren Gehalten im gesunden Most verglichen mit faulem Most vorkam. Während der Vergärung wurden 44 % des Histidingehaltes des gesunden Mostes und 77 % des faulen Mostes durch die Hefen abgebaut. In den gesunden Weinen lagen somit erhöhte Histidinkonzentrationen vor, wobei der Gehalt mit 34 mg/L dennoch sehr gering war. Auch bei Arginin zeigten die Moste mit *Botrytis*-Befall 40 % geringere Gehalte im Vergleich zu gesunden Mosten auf.

4.6.2.7 Wirkungen/Toxikologische Effekte

Biogene Amine kommen natürlicherweise im menschlichen Körper vor, wo sie für die Regulation der Körpertemperatur, Volumen des Bauchraumes, pH-Wert des Magens und die Gehirnaktivität verantwortlich sind (Ten Brink et al., 1990). Histamin ist im Körper an Schlüsselreaktionen wie allergischen Reaktionen, der Neurotransmission und der Gefäßpermeabilität beteiligt (Smit et al., 2008).

Bei Aufnahme einer geringen Konzentration an biogenen Aminen kann es im Körper zu einer schnellen Detoxifizierung durch Aminoxidasen oder Konjugationsreaktionen kommen. Aminoxidasen, die je nach Anzahl der zu oxidierenden Aminogruppen in Mono- und Diaminoxidase unterteilt werden, katalysieren die oxidative Deaminierung der biogenen Amine zu einem Aldehyd, Wasserstoffperoxid und Ammoniak (Ladero et al., 2010). Bei Alkoholaufnahme kann die Monoaminooxidase gehemmt werden, sodass auch geringe Konzentrationen an biogenen Aminen eine toxikologische Reaktion auslösen können (Gardini et al., 2005).

In zahlreichen Studien konnten toxikologische Effekte für einige biogene Amine, ausgehend von einer bereits geringen oralen Aufnahmemenge, beobachtet werden. Biogene Amine können u. a. an allergischen Reaktionen, der Karzinogenese (Polyamine, die durch Umwandlung aus Ornithin entstehen, und Histamin), Immunreaktionen und neurologischen Störungen (Histamin) sowie der Bildung kanzerogener Nitrosamine durch die Reaktion von Nitrit mit sekundären Aminen (Putrescin, Agmatin) beteiligt sein (Ten Brink et al., 1990; Halász et al., 1994).

Histamin wird oft als das wichtigste biogene Amin beschrieben, da es eines der biologisch aktivsten Amine darstellt (Halász et al., 1994). Histamin kann zur Erweiterung der peripheren Blutgefäße, der Kapillaren und Arterien führen, wodurch es zu einem niedrigen Blutdruck, Hitzewallungen und Kopfschmerzen kommen kann (Silla Santos, 1996). Es verursacht auch Kontraktionen der intestinalen glatten Muskelzellen, was zu Bauchkrämpfen, Durchfall und Erbrechen führen kann (Taylor, 1986). Ethanol, Acetaldehyd und Putrescin können zu einer Verstärkung der schädlichen Wirkungen von Histamin führen (Silla Santos, 1996; Önal, 2007; Ladero et al., 2010). Eine Histaminvergiftung wird auch mit der Scombroidvergiftung in Zusammenhang gebracht, da es hierbei zu einer Anreicherung von Histamin infolge einer bakteriellen Verunreinigung von Fischen kommt (Taylor, 1986).

Der toxische Level biogener Amine ist von der individuellen Toleranz gegenüber diesen Stoffen sowie der Gesamtkonzentration biogener Amine abhängig (Ten Brink et al., 1990). Allgemein konnten bei Histamingehalten von 25-50 mg (pro Person und Mahlzeit) keine gesundheitlich unerwünschten Wirkungen bei gesunden Menschen beobachtet werden.

Für Putrescin liegen bisher nur unzureichende Daten vor, um Gehalte anzugeben, die gesundheitlich nachteilige Wirkungen aufzeigen (EFSA, 2011).

4.6.2.8 Exposition/Aufnahmemengen des Menschen

Laut EFSA (2011) liegen für Histamin und Putrescin folgende Expositionswerte für den Menschen vor: 0,1-3,9 mg/d für Histamin über Weißwein und 2,5-12,4 mg/d über Rotwein; 1,9-11,5 mg/d für Putrescin über Weißwein und 0,2-6,5 mg/d über Rotwein. Demgegenüber stehen die höheren Expositionswerte z. B. über Käse mit 13-32,1 mg/kg an Histamin und 14,3-35,3 mg/d für Putrescin.

4.6.2.9 Höchstmengen

Es gibt derzeit selbst auf internationaler Ebene wie der OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin) keine Höchstmengen-Diskussion für biogene Amine im Wein (Großmann, 2012). Daher sollten die in der Literatur beschriebenen länderspezifischen Höchstmengen mit Vorsicht betrachtet werden. Lediglich in der Schweiz galt bis 2010 eine Histamin-Höchstmenge von 10 mg/L im Wein.

4.6.2.10 Sensorik

Eine Studie von Rohn et al. (2005) deutet darauf hin, dass Histamin im Wein von geschulten Sensorikern wahrgenommen werden kann. Der Geschmacksschwellenwert für Histamin in Wasser lag hier bei 0,43 mg/L. „Reizung des Rachens“ und „Prickeln auf der Zunge“ wurden als Attribute des Mundgefühls für Histamin beschrieben. Es wurde jedoch kein Geschmacksattribut für Histamin gefunden. Wantke et al. (2008) fanden heraus, dass die sensorische Qualität eines Weines nicht vom Histamingehalt beeinflusst wird.

Putrescin kann in Konzentrationen von 15-20 mg/L in Weißwein und 20-30 mg/L in Rotwein die sensorische Qualität des Weines herabsetzen (Arena, Manca de Nadra, 2001). In Anwesenheit hoher Putrescinkonzentrationen kann ein unangenehmer Geruch nach verfaulten Früchten mit ranzigen, unsauberen Tönen auftreten (Cañas et al., 2008).

4.6.3 Phenolische Inhaltsstoffe

4.6.3.1 Allgemeines

Zu phenolischen Verbindungen zählen einfache Moleküle, z. B. Phenolsäuren, wie auch polymere Verbindungen, z. B. Tannine (Bravo, 1998). Phenole kommen ubiquitär in Pflanzen vor und zählen daher zu den sogenannten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Als natürliche Pestizide schützen sie die Pflanze vor Pathogenen und Parasiten (Drewnowski, Gomez-Carneros, 2000). Im Lebensmittel sind sie u. a. für Farbe, Geschmack, Verhinderung der Lipidoxidation (antioxidative Wirkung) und Schutz der Vitamine und Enzyme verantwortlich (Yao et al., 2004).

Der Phenolgehalt pflanzlicher Lebensmittel zeigt einen großen Schwankungsbereich (Bravo, 1998). Hohe Phenolgehalte kommen in Kaffee, Tee, Schokolade, Obst und daraus hergestellten Produkten, wie bspw. Wein, sowie in Ölen und Gewürzen vor (Waterhouse, 2002b). In Grünem Tee wurden Phenolgehalte mit Anteilen von bis zu 35 % der Trockenmasse ermittelt (Bravo, 1998).

Phenole spielen bei der Beurteilung der Qualität von Weinen eine besondere Rolle, da sie an der oxidativen Bräunung von Mosten und Weinen weißer Rebsorten (Chinonbildung, siehe Abbildung 67 in Kapitel 4.6.3.6) beteiligt sind (Cheynier et al., 1988) und dadurch die sensorischen Eigenschaften, speziell Farbe und Geschmack des Weines, beeinflussen (Lee, Jaworski, 1987; Harbertson, Spayd, 2006; Komes et al., 2007; Kennedy, 2008). Im Weißwein sind daher erhöhte Phenolgehalte aufgrund der Bräunung und der verstärkten Bitterkeit eher unerwünscht (Waterhouse, 2002b). Phenole sind auch für die sensorischen Unterschiede von Weißwein und Rotwein verantwortlich, wobei die für die Farbe der Weine verantwortliche Phenolfraction nur 0,5 % der Weininhaltsstoffe ausmacht (Harbertson, Spayd, 2006; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Im Vergleich zu Rotweinen sind die Phenolgehalte in Weißweinen deutlich geringer, da hier die Trauben direkt nach der Lese gepresst werden und oftmals keine Mazeration stattfindet. Bei der Rotweinbereitung kommt es durch die längere Kontaktzeit des Saftes mit den Schalen und Kernen, in denen der Hauptanteil der Rotwein-Phenole vorliegt, zur verstärkten Extraktion der Phenole und somit zu höheren Gehalten (Waterhouse, 2002b; Mitić et al., 2010). Zudem kommt es während der Maischegärung von Rotweinen zu einem steigenden Alkoholgehalt, der ebenfalls zur besseren Extraktion der phenolischen Traubeninhaltsstoffe führt (Würdig, Woller, 1989). Die Zusammensetzung der Phenole in Weinen hängt zudem von der Rebsorte und der geographischen Herkunft der Weine ab (Singleton, 1966; Singleton 1982).

4.6.3.2 Einteilung der phenolischen Verbindungen

Bei Polyphenolen handelt es sich um phenolische Verbindungen mit meist mehr als 2 Phenol- (Polyole) oder Phenoether-Gruppen, die unterschiedlichen Stoffklassen angehören (Römpp Online, 2013). Bei den Weinphenolen unterscheidet man zwischen Flavonoiden und Nichtflavonoiden. Zu den wichtigsten Flavonoiden ($C_6-C_3-C_6$ -Grundkörper) zählen hier die Flavanole, Flavonole und die Anthocyane (mit dem Flavylium-Kation als Grundstruktur) (Abbildung 60).

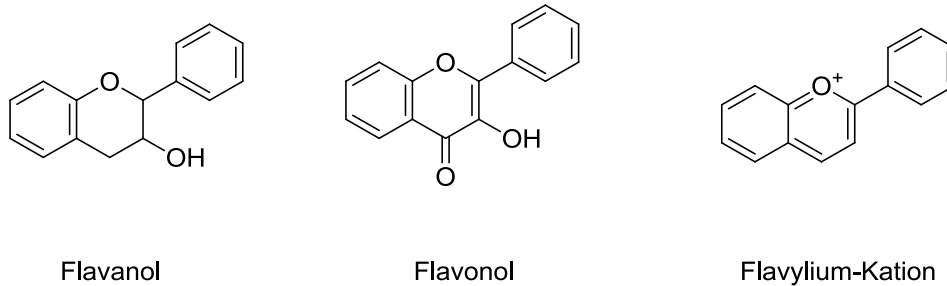


Abbildung 60: Grundstrukturen wichtiger flavonoider Verbindungen im Wein

Zu den Nichtflavonoiden zählen die Hydroxyzimtsäuren und ihre Derivate (C_6-C_3 -Grundkörper; Abbildung 61), Hydroxybenzoesäuren und -aldehyde (C_6-C_1 -Grundkörper; Abbildung 62), hydroxylierte Stilbene (z. B. Resveratrol mit $C_6-C_2-C_6$ -Grundkörper; Abbildung 64) und hydrolysierbare Tannine (Ester der Gallussäure) (Rodríguez-Bernaldo de Quirós et al., 2009).

Polyphenole kommen hauptsächlich in konjugierter Form mit Mono-, Di- und auch Oligosacchariden vor, wobei überwiegend Glucose als Zuckerrest dominiert. Weiterhin existieren auch Verbindungen mit organischen Säuren, Aminen, Lipiden sowie weiteren Phenolen (Bravo, 1998).

4.6.3.3 Nichtflavonoide-Allgemeines

Zu den Phenolsäuren zählen die polyhydroxylierten Derivate der Hydroxyzimtsäuren und -benzoesäuren. Sie sind in verdünnten alkoholischen Lösungen farblos und tragen erst nach Oxidation zur gelben Farbe von Weißweinen bei. Sie haben keinen spezifischen Geschmack oder Geruch (Waterhouse, 2002a; Harbertson, Spayd, 2006; Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

4.6.3.3.1 Hydroxyzimtsäuren und Derivate

Die Hydroxyzimtsäuren Kaffee-, p-Coumar- und Ferulasäure stellen zusammen mit ihren Weinsäureestern Caftar-, Coutar- und Fertarsäure den Hauptanteil der nicht-flavonoiden Polyphenole im Weißwein dar (Abbildung 61) (Lee, Jaworski, 1987; Adams, 2006; Mozetič et al., 2006).

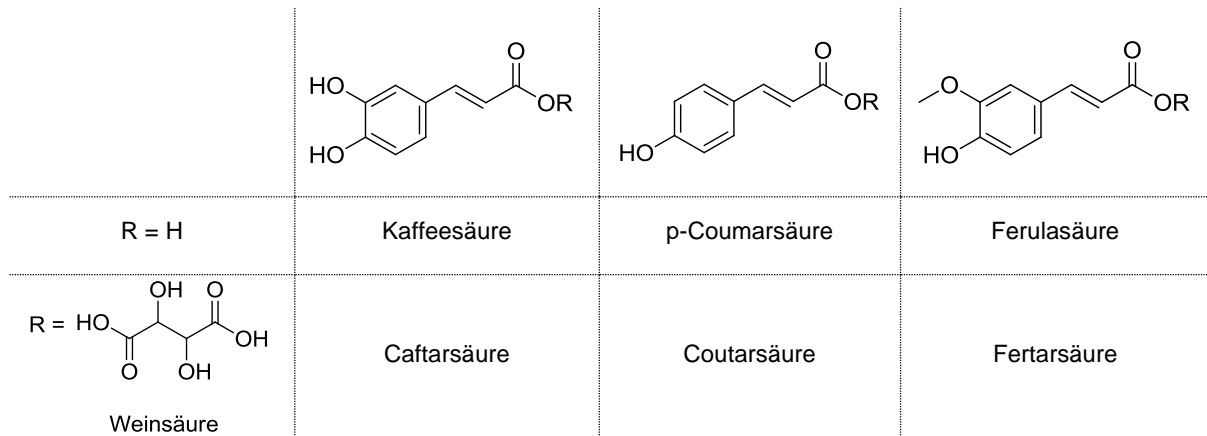


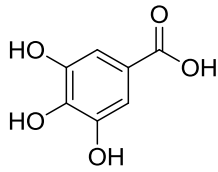
Abbildung 61: Strukturen wichtiger Hydroxyzimtsäuren und -Derivate im Wein

Hydroxyzimtsäuren kommen hauptsächlich im Fruchtfleisch als trans-Isomere vor und spielen bei der visuellen Beurteilung der Qualität eines Weines eine besondere Rolle (Goldberg, 1999; Adams, 2006; Kennedy et al., 2006; Kennedy, 2008), da sie leicht oxidieren können und somit zur Bräunung des Weines führen (Waterhouse, 2002a). In Trauben konnten bisher keine Glucoseester oder Glykoside der Hydroxyzimtsäuren nachgewiesen werden (Ong, Nagel, 1978b).

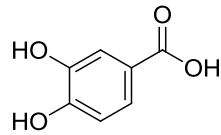
Zu Beginn der Reifephase liegt ein Maximalgehalt an Hydroxyzimtsäuren in der Beere vor. Dieser nimmt während des Reifeprozesses infolge der Volumenzunahme der Beere ab (Adams, 2006). Ong und Nagel (1978a, 1978b) untersuchten diesen Effekt bei unreifen und reifen Rieslingbeeren bezüglich der Gehalte an Caftar-, p-Coutar- und Fertarsäure. Die Caftarsäure nahm von 393 mg/L in unreifen Beeren auf 198 mg/L in reifen Beeren ab; bei der p-Coutarsäure sank der Gehalt von 63 mg/L auf 21 mg/L und bei der Fertarsäure von 31 mg/L auf 16 mg/L.

4.6.3.3.2 Hydroxybenzoesäuren und Derivate

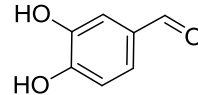
Zu den wichtigsten Hydroxybenzoesäuren und –aldehyden im Wein zählen u. a. Gallussäure, Protocatechusäure, Protocatechualdehyd, Vanillinsäure, Syringasäure und Syringaaldehyd (Abbildung 62).



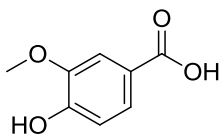
Gallussäure



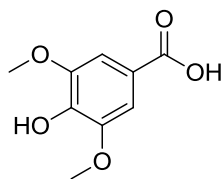
Protocatechusäure



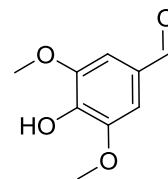
Protocatechualdehyd



Vanillinsäure



Syringasäure



Syringaaldehyd

Abbildung 62: Strukturen wichtiger Hydroxybenzoesäuren und -Derivate im Wein

Im Wein liegen sie überwiegend in ihrer freien Form vor (Peña-Neira et al., 2000). Die Gehalte an Hydroxybenzoesäuren im Wein hängen u. a. von der Rebsorte und den Wachstumsbedingungen ab (Rentzsch et al., 2010).

4.6.3.3.3 Phenole

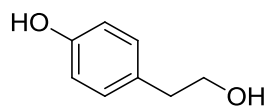


Abbildung 63: Struktur von Tyrosol

Tyrosol (4-(2-Hydroxyethyl)phenol) (Abbildung 63) wird während der Gärung aus Tyrosin gebildet, wobei der Gehalt von der eingesetzten Hefespezies sowie der Konzentration an Zucker und Tyrosin abhängig ist (Peña-Neira et al., 2000). In vielen Weißweinen stellt Tyrosol die Haupt-Phenolkomponente mit Gehalten von 6-25 mg/L dar (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Peña-Neira et al. (2000) fanden höhere Tyrosolgehalte in den untersuchten Weißweinen im Vergleich zu Rotweinen. Die gesundheitlich positiven Wirkungen dieser Phenolverbindung sind in Kapitel 4.6.3.7 beschrieben.

4.6.3.3.4 Hydroxystilbene

Stilbene sind Phytoalexine und gehören zur Gruppe der 1,2-Diarylethenen. Sie kommen überwiegend in Trauben und daraus hergestellten Produkten sowie in Erdnuss-Produkten vor (Cassidy et al., 2000).

Resveratrol (3,4,5-Trihydroxystilben) ist das bedeutendste Hydroxystilben im Wein. Die Gehalte im Wein sind von der Rebsorte, den klimatischen Bedingungen bei der Ernte und den kellertechnischen Behandlungen, wie eingesetzter Hefespezies und Behandlungsmittel, abhängig (Cassidy et al., 2000). Es existieren sowohl cis- und trans-Resveratrol (Abbildung 64) als auch die Glycoside beider Isomere (Piceide), wobei cis-Resveratrol nicht bzw. nur in geringen Mengen im Wein vorkommt (Waterhouse, 2002a).

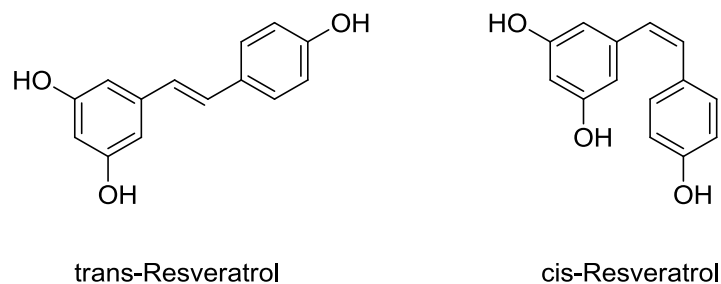


Abbildung 64: Strukturen von trans- und cis-Resveratrol

Resveratrol wird in den Beeren infolge einer *Botrytis*- oder Schimmelpilzinfektion zur Resistenz der Rebe gegenüber diesen Infektionen gebildet (Dittrich, 1989; Jeandet et al., 1991; Jackson, 2008). Jeandet et al. (1995a, 1995b) fanden jedoch heraus, dass bei hoher *Botrytis*-Belastung (40-80 %) die geringsten Resveratrolgehalte gemessen wurden und umgekehrt. Bei einer verstärkten *Botrytis*-Belastung kommt es folglich auch zu einer verstärkten Laccase-Aktivität (von *Botrytis* gebildete Phenoxidase, siehe Kapitel 4.6.3.6), die wiederum für den Abbau des Resveratrols verantwortlich gemacht wird. Die höchsten Resveratrolgehalte wurden im Wein aus gesunden Trauben bestimmt.

Resveratrol-derivate sind hauptsächlich in der Beerenhaut lokalisiert, wohingegen nur ein geringer Gehalt im Fruchtfleisch vorliegt (Galgano et al., 2011). Resveratrol wird während der Fermentation von Rotweinen aus der Schale gelöst und kommt mit 1-3 mg/L im Wein vor (Vitrac et al. 2002). Durch Mazeration der Beerenhäute konnten 10-fach höhere Resveratrolgehalte in den entsprechenden Weinen im Vergleich zu Weinen ohne Mazeration nachgewiesen werden (Jeandet et al., 1995b).

4.6.3.4 Flavonoide

Flavonoide stellen die weitverbreitetste Gruppe der Polyphenole dar. Die Flavonoidgehalte in pflanzlichen Lebensmitteln sind von vielen Faktoren wie bspw. Sonneneinstrahlung, Reifezustand und Behandlungsverfahren nach der Ernte abhängig (Bravo, 1998). Antioxidative und chelatbildende Eigenschaften sowie Interaktionen mit Enzymsystemen werden als grundlegende Funktionen der Flavonoide beschrieben. Obst und Gemüse stellen die Hauptnahrungsmittelquellen für Flavonoide, gefolgt von Tee und Wein, dar (Yao et al., 2004).

Flavan-3-ole kommen als Monomere sowie auch als Oligomere und Polymere vor (Terrier et al., 2010). Zu den wichtigsten Flavan-3-ol-Monomeren (Catechinen) in Trauben und im Wein zählen (+)-Catechin, (-)-Epicatechin und (-)-Epicatechin-3-gallat (Abbildung 65) (Su, Singleton, 1969; Singleton, 1982).

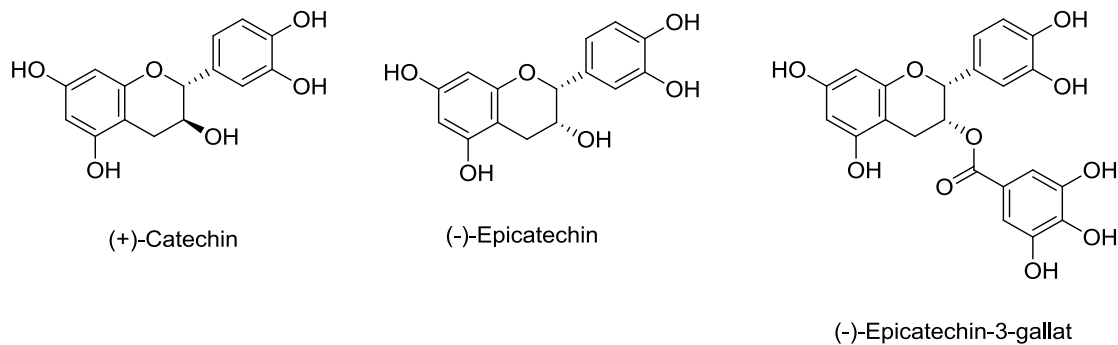


Abbildung 65: Wichtige Flavan-3-ol-Monomere (Catechine) in Trauben und Wein

Im Wein kommen keine glykosidischen Flavan-3-ole vor, wohingegen Veresterungen mit Gallussäure auftreten. Catechine sind hauptsächlich in den Kernen und der Schale lokalisiert. Längere Extraktionszeiten, höhere Temperaturen und höhere Alkoholgehalte führen zu einem Konzentrationsanstieg der Catechine im Wein (Kennedy et al., 2006). Da diese Bedingungen bei der Rotweinherstellung (mittels Maischegärung) gegeben sind, können hier entsprechend höhere Gehalte ermittelt werden. Im Rotwein werden Catechingehalte zwischen 40-120 mg/L erreicht, wobei (+)-Catechin den Hauptanteil ausmacht (Waterhouse, 2002a). Die Flavan-3-ole liegen hier hauptsächlich als Oligomere (Proanthocyanidine) und Polymere (kondensierte Tannine) vor (Waterhouse, 2002a). Die sensorischen Einflüsse der Catechine sind in Kapitel 4.6.3.9 dargestellt.

4.6.3.5 Anthocyane

Bei Anthocyanen handelt es sich um rote Farbstoffe, die bei roten Rebsorten hauptsächlich in der Beerenhaut vorkommen und für deren Farbe verantwortlich sind (Harbertson, Spayd, 2006). Sie stellen somit den visuell deutlichsten Unterschied zwischen Weißweinen und Rotweinen dar. Die fünf bedeutendsten Anthocyane im Rotwein sind Cyanidin, Peonidin, Delphinidin, Petunidin und Malvidin, wobei Malvidin (Abbildung 66) als Hauptverbindung in allen roten Rebsorten gilt.

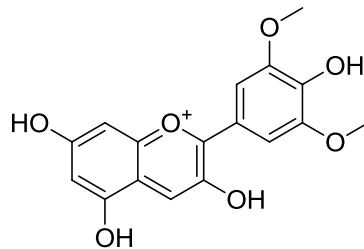


Abbildung 66: Struktur von Malvidin

In den Beeren und im Wein kommen sie als monoglucosidische bzw. acyliert-monoglucosidische Anthocyane vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Meral, 2008). Die Farbe der Anthocyane ist pH-Wert abhängig. Anthocyane können mit anderen Mostinhaltsstoffen, wie Acetaldehyd, Ketosäuren und Zimtsäuren, zur Bildung polymerer Verbindungen und damit zu einer Intensivierung der roten Farbe führen (Harbertson, Spayd, 2006). Die durch Anthocyane verursachte Farbe ist ein wichtiges und charakteristisches Qualitätskriterium der Rotweine. Durch Oxidation der Anthocyane kommt es bei Weinen aus *Botrytis*-befallenen Beeren zu einer Farbänderung von rot nach braunrot und schließlich zur Bildung eines bräunlichen Niederschlags, was zu einer deutlichen Qualitätsminderung führt. Hervorgerufen werden diese Veränderungen durch die Oxidationsenzyme des *Botrytis*-Pilzes (vor allem durch die Laccase) (Würdig, Woller, 1989).

4.6.3.6 Oxidation von Phenolen

Bei Weißweinen wirkt sich der Sauerstoffeinfluss vor allem auf den visuellen Eindruck (Farbe) des Weines aus (Singleton, 1987). Phenolische Substanzen werden in Anwesenheit von Oxidantien sehr schnell zu den entsprechenden Chinonen oxidiert, was im Wein sowohl über die nichtenzymatische Autoxidation vicinaler Dihydroxyphenole (Abbildung 67) als auch die enzymatische Oxidation von 1,2-Dihydroxy- und 1,4-Dihydroxybenzolen ablaufen kann (Singleton, 1987).

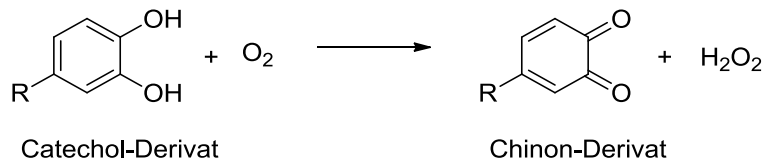


Abbildung 67: Autoxidation eines Catechol-Derivates zu einem Chinon-Derivat (modifiziert nach Singleton, 1987)

Beim Pressen von Trauben werden Phenoloxidasen freigesetzt, die zu einer schnellen Oxidation der Hydroxyzimtsäuren zu Chinonen und somit zur Bräunung führen (Abbildung 68) (Waterhouse, 2002a; Dewey et al., 2008). Diese enzymatische Oxidation erfolgt in gesunden Trauben mittels Tyrosinase (o-Diphenyloxidoreduktase), die von der Beere gebildet wird; in fäulnisbelasteten Trauben überwiegend mittels Laccase (p-Diphenyloxidoreduktase), die durch *Botrytis cinerea* gebildet wird (Singleton, 1987; Slomczynski et al., 1995).

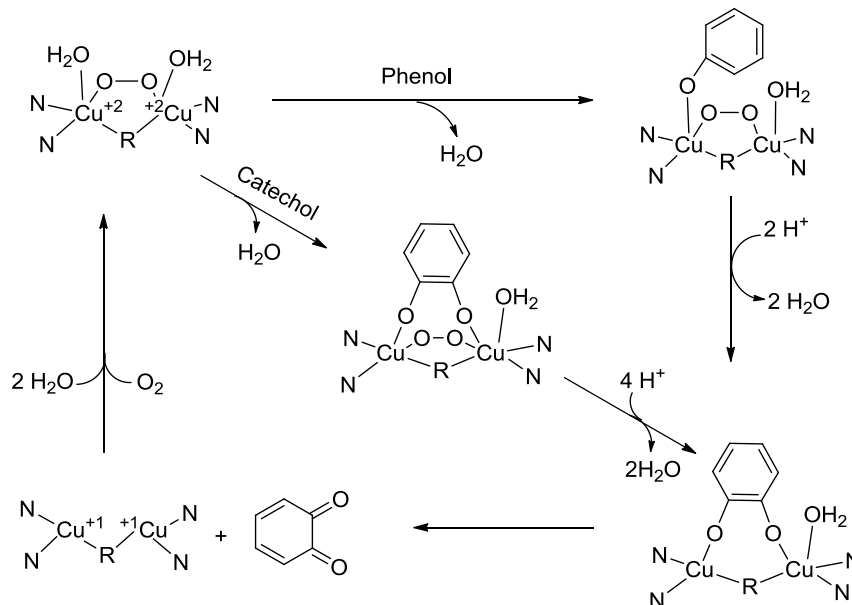


Abbildung 68: Aktives Zentrum der Tyrosinase mit Umsetzung von Phenol und Catechol zu Chinonen (modifiziert nach Singleton, 1987)

Die Laccase ist gegenüber Anthocyanen und Gerbstoffen des Weines etwa 30-mal aktiver als die Tyrosinase (Ribéreau-Gayon et al., 1980). Infolge dessen haben Moste und Weine aus *Botrytis*-infizierten Beeren eine viel höhere Bräunungsbereitschaft als solche aus gesunden Beeren. Dies zeigt sich auch an der stärkeren Farbintensität und den stärkeren Absorptionen bei 420 nm der Weine der Negativfraktionen (siehe Anhang A.1.1). Gegen die Oxidation durch dieses Enzym sind Moste und Weine aus faulen Beeren nur geschützt, wenn sie ausreichend freie SO_2 enthalten (Dittrich, 1989) oder erhitzt wurden (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Besonders leicht oxidierbar sind Verbindungen mit einer Catechol- (1,2-Dihydroxybenzol) oder 1,4-Dihydroxybenzolgruppe. Diese Verbindungen zeichnen sich durch ihre antioxidative Wirkung im Wein aus und gelten als Radikalfänger und natürliche Konservierungsstoffe. Durch den Einsatz von Sulfiten wird diese antioxidative Wirkung verstärkt, da die gebildeten Chinone wieder zu den ursprünglichen Phenolen reduziert werden. Werden die Chinone jedoch nicht abgebaut, kann es zur Polymerisation und Reaktion mit anderen Nucleophilen kommen, was zur Bräunung des Weines führt (Singleton, 1987; Waterhouse, 2002a).

4.6.3.7 Gesundheitliche Aspekte

Flavonoide zeichnen sich durch ihre gesundheitsfördernden Eigenschaften aus, da sie bakterizide und antioxidative Wirkungen haben (Yao et al., 2004). Sie wirken zudem entzündungshemmend, antiviral, antiproliferativ und antikanzerogen. Ihnen werden u. a. chelatbildende Eigenschaften sowie Interaktionen mit Enzymsystemen als grundlegende Funktionen zugeschrieben (Ren et al., 2003; Yao et al., 2004). Vaquero et al. (2007) konnten in ihrer Studie zeigen, dass Phenole im Wein mit zunehmender Konzentration antimikrobielle Eigenschaften gegenüber gesundheitsschädlichen Bakterien besitzen.

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass ein moderater Weinkonsum der Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs und Demenz vorbeugen kann (Renaud, de Lorgeril, 1992; Vitrac et al., 2005). Speziell für Resveratrol sind viele gesundheitsfördernde Wirkungen beschrieben. Es gilt als Thrombozyten-Aggregationshemmer, verhindert die LDL-Oxidation sowie die Proliferation von Tumorzellen und zeigt chemopräventives Potenzial, da es die zellulären Abläufe der drei Hauptstufen der Karzinogenese unterbinden kann (Cassidy et al., 2000, Shrikhande, 2000). Weitere Studien haben gezeigt, dass bei der französischen Bevölkerung trotz hoher Aufnahmemengen an gesättigten Fettsäuren eine geringe Sterblichkeitsrate durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen vorliegt. Dies wird auf den höheren Konsum an Wein, speziell Rotwein, und das darin enthaltene Resveratrol zurückgeführt und mit dem Begriff „French Paradox“ beschrieben (Renaud, de Lorgeril, 1992; Catagol et al., 2012).

Tyrosol, das im Wein in hohen Konzentrationen vorkommt, kann Zellen durch seine antioxidativen Wirkungen vor Schädigungen durch Oxidationen schützen (Giovannini et al., 1999). In der Studie von Samuel et al. (2008) konnten positive gesundheitliche Wirkungen durch kardioprotektive Effekte des Tyrosols beobachtet werden.

4.6.3.8 Toxikologische Effekte

Phenole mit Catecholstruktur, wie Tannine und Kaffeesäure sowie deren Ester Chlorogensäure und Neochlorogensäure, werden als die weitverbreitetsten natürlichen Pestizide beschrieben (Ames et al., 1990). Trotz vieler positiver Effekte der Phenole wurden Kaffeesäure und Chlorogensäure von Ariza et al. (1988) als mutagen getestet; Kaffeesäure führte zu Magenkarzinomen am Nagetier (Hirose et al., 1990). Kaffeesäure wurde von der IARC (1993) in Gruppe 2B als möglicherweise kanzerogen für den Menschen eingestuft (Kapitel 4.6.1.1).

4.6.3.9 Sensorik

Im Allgemeinen können Phenole die in der Mundhöhle vorkommenden Proteine denaturieren, sodass eine adstringente Wahrnehmung auftritt (Delcour et al., 1984). Bitterkeit und Adstringenz sind zwei wichtige Attribute zur Beschreibung des Weines. Bitterkeit zählt zu den Geschmacksempfindungen, die hauptsächlich am hinteren Zungenabschnitt auftreten, wohingegen Adstringenz als fühlbarer Sinneseindruck mit austrocknendem und zusammenziehendem Charakter in der gesamten Mundhöhle wahrgenommen wird. Im Wein werden Bitterkeit und Adstringenz hauptsächlich durch Flavonoide ausgelöst, die aus den Schalen und Kernen der Beeren überwiegend während der Rotwein-Fermentation herausgelöst werden (Robichaud, Noble, 1990).

In Weißweinen werden Phenole für qualitätsmindernde Eigenschaften, wie den unerwünschten Bittergeschmack und mögliche Nachbräunungs- und Nachtrübungserscheinungen verantwortlich gemacht. Daher werden im Weißwein geringe Phenolgehalte angestrebt, wohingegen ein hoher Anthocyangehalt im Rotwein für die Farbintensität erwünscht ist (Pour-Nikfardjam et al., 1998).

In der Studie von Vérette et al. (1988) führten Hydroxymzimtsäuren bei den vorkommenden Gehalten im Wein nicht zu bitteren oder adstringenten Wahrnehmungen. Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Ong und Nagel (1978b) sowie Okamura und Watanabe (1981), die die bitteren Geschmacksschwellenwerte dieser Verbindungen in Wasser dokumentierten. Bei einer Caftar säurekonzentration von 80 ppm (Ong, Nagel, 1978b) bzw. Caftar- und Coutarsäurekonzentrationen von 50 und 25 ppm in Wasser (Okamura, Watanabe, 1981) wurde ein bitterer und adstringenter Geschmack beschrieben. Die von Nagel et al. (1979) untersuchten Weine wiesen höhere Gehalte dieser Ester auf. Es konnten jedoch keine bitteren Geschmackseindrücke festgestellt werden, sodass andere Weinhaltstoffe für die Reduktion des bitteren Geschmacks verantwortlich gemacht wurden.

Catechine sowie Gallussäure sind für die Bitterkeit und auch die Adstringenz eines Weines verantwortlich (Robichaud, Noble, 1990), wobei niedermolekulare Verbindungen (meist aus Kernen) zur Bitterkeit und höhermolekulare Verbindungen (meist aus der Schale) zur Adstringenz beitragen (Kennedy, 2008). (-)-Epicatechin wurde bitterer und adstringenter bewertet als (+)-Catechin (Thorngate, Noble, 1995). Delcour et al. (1984) ermittelten u. a. für (+)-Catechin einen Geschmacksschwellenwert von 46,1 mg/L in deionisiertem Wasser. In einer 5 %-igen wässrigen Ethanollösung sank dieser Schwellenwert auf 5 mg/L bei der Dreiecksprüfung und auf 20 mg/L bei der Rangordnungsprüfung. Folglich scheint Ethanol den Schwellenwert von (+)-Catechin zu senken. Auch Noble (1994) und Fischer und Noble (1994) zeigten eine deutliche Verstärkung der bitteren Wahrnehmung von Phenolen bei erhöhten Ethanolkonzentrationen.

4.6.4 Mostgewicht

Das Mostgewicht kennzeichnet das Gewichtsverhältnis von einem Liter Most zu einem Liter Wasser bei 20 °C, das meist in Oechsle-Graden (°Oechsle) angegeben wird. Es handelt sich somit um die spezifische Dichte des Mostes. Das Mostgewicht resultiert in erster Linie aus dem Zuckergehalt, woraus sich der maximal mögliche Alkoholgehalt ableiten lässt und für die Einstufung des späteren Weines in Güteklassen maßgeblich ist (DWI, 2013b). Diese Qualitätsstufen sind durch Mindestmostgewichte in der VO (EG) Nr. 607/2009 Anhang XII Teil A rechtlich festgelegt.

In Tabelle 3 sind die Mindestmostgewichte für Qualitäts- und Prädikatsweine des Anbaugebietes Mosel angegeben (Schick, 2012).

Tabelle 3: Mindestmostgewichte für Qualitäts- und Prädikatsweine des Anbaugebietes Mosel (Schick, 2012)

Güteklasse	Mindestmostgewicht Weißwein [°Oechsle]	Mindestmostgewicht Rotwein [°Oechsle]
Qualitätswein	55-60*	60-68*
Kabinett	70-73*	73
Spätlese	80-85*	80
Auslese	88-93*	88
Eiswein / Beerenauslese	110	110
Trockenbeerenauslese	150	150

* in Abhängigkeit von der Rebsorte

4.6.5 Gluconsäure und Glycerin

4.6.5.1 Gluconsäure

Bei Gluconsäure handelt es sich um ein Oxidationsprodukt der Glucose. Sie wird als schwach saure, geruchlose, nicht toxische, wasserlösliche und nichtflüchtige organische Säure mit einem erfrischend säuerlichen Geschmack charakterisiert, die verglichen mit Citronensäure einen Säuregrad von rund 1/3 aufweist. In Nahrungsmitteln kann Gluconsäure das Auftreten eines bitteren Geschmacks unterdrücken (Ramachandran et al., 2006). Sie wird in der Nahrungsmittelindustrie als mildes Säuerungsmittel und als Säureregulator bei Süßwaren und Dessertspeisen sowie als Komplexbildner verwendet (Römpp Online, 2013). Glucono- δ -lacton, der zyklische Ester der Gluconsäure, vermittelt anfänglich einen süßen Geschmackseindruck, der sich zu einem leicht säuerlichen Eindruck verändert, wodurch er die organoleptischen Eigenschaften von Flüssigkeiten beeinflussen kann (McCloskey, 1974; Ramachandran et al., 2006).

Gluconsäure kann in Trauben sowohl von Pilzen als auch von Bakterien, speziell von Essigsäurebakterien, gebildet werden, wobei unterschiedliche Reaktionswege ablaufen (Sponholz, Dittrich, 1985; Barbe et al., 2001; Ramachandran et al., 2006).

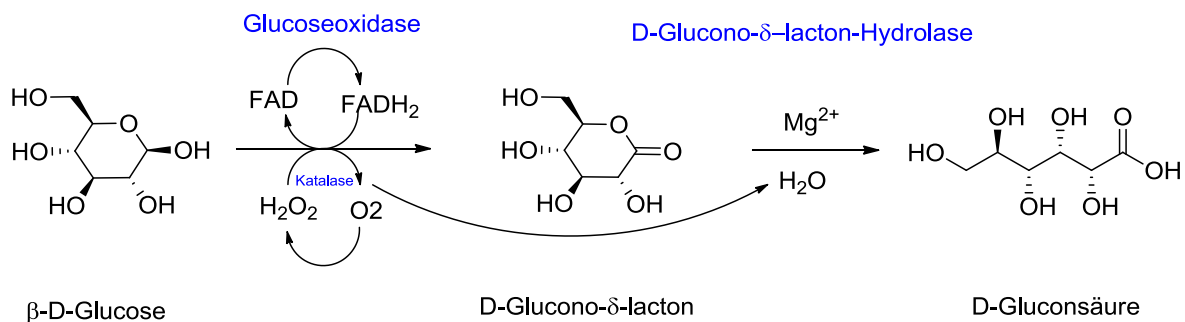


Abbildung 69: Enzymatische Oxidation der D-Glucose zu D-Gluconsäure durch Schimmelpilze (modifiziert nach Ramachandran et al., 2006)

Die Oxidation der Glucose zu D-Glucono- δ -lacton verläuft enzymatisch mittels der Glucoseoxidase (Abbildung 69), die von den Schimmelpilzen *Botrytis cinerea* und *Aspergillus niger* bereitgestellt wird (McCloskey, 1974; Ramachandran et al., 2006; Larcher et al., 2009). D-Glucono- δ -lacton wird durch Einlagerung von Wasser mittels der D-Glucono- δ -lacton-Hydrolase oder spontan zu Gluconsäure umgesetzt. Bei den pH-Bedingungen des Weines liegt die Gluconsäure im Gleichgewicht mit Glucono- δ -lacton und Glucono- γ -lacton vor (Ramachandran et al., 2006; Römpp Online, 2013).

Als allgemein optimale Voraussetzungen zur Gluconsäurebildung gelten u. a. ein Glucosegehalt zwischen 110-250 g/L und ein pH-Wert zwischen 4,5-6,5 (Ramachandran et al., 2006).

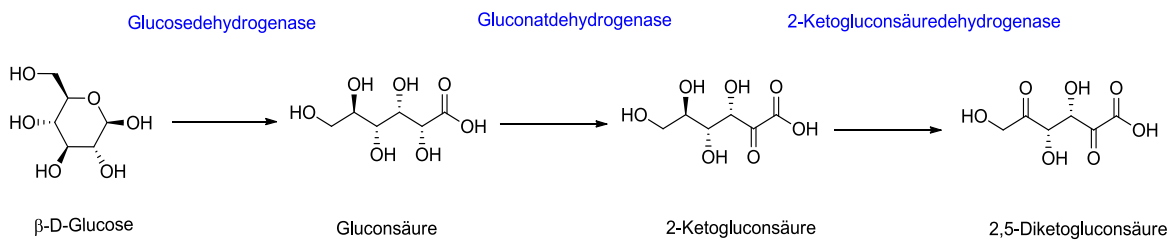


Abbildung 70: Enzymatische Oxidation der D-Glucose zu D-Gluconsäure und weiteren Verbindungen durch Bakterien (modifiziert nach Ramachandran et al., 2006)

Die Bildung der Gluconsäure aus Glucose erfolgt bei einer Bakterieninfektion, u. a. bei *Gluconobacter oxydans*, überwiegend mittels der Glucosedehydrogenase. Die Gluconsäure kann hier weiter zu 2-Ketogluconat mittels der Gluconsäuredehydrogenase oxidiert werden, die zum Endprodukt 2,5-Diketogluconsäure mittels der 2-Ketogluconatdehydrogenase umgesetzt werden kann (Abbildung 70) (Ramachandran et al., 2006).

Bei Wein ist Gluconsäure als Leitsubstanz für gefaultes Lesegut anzusehen. Bezüglich der Beurteilung des Zustandes des verwendeten Ausgangsmaterials ist daher der Gluconsäuregehalt des Weines von wesentlichem Interesse, weshalb insbesondere bei der Begutachtung von qualitativ hochwertigen und edelfaulen Produkten auch dieser Weininhaltsstoff berücksichtigt werden muss (Bandion et al., 1980). Im Most und Wein werden hohe Gluconsäuremengen von mehr als 300 mg/L als Nachweis einer *Botrytis*-Infektion angesehen (Holbach, Woller, 1976; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). In Auslesen konnten teilweise mehr als 6 g/L Gluconsäure gefunden werden, sodass die Gluconsäure in diesen Weinen sogar den größten Anteil an der Gesamtsäure aufzeigt (Dittrich, Großmann, 2005). Mit steigendem Mostgewicht und damit steigender Qualitätsstufe der Weine wurde eine kontinuierliche Gluconsäurezunahme beobachtet (Wagner et al., 1989). In der Schale von *Botrytis*-befallenen Beeren wurden doppelt so hohe Gluconsäuregehalte im Vergleich zur Pulpe gefunden (Hong et al., 2012). Zusätzlich ist der Gluconsäuregehalt auch bei der Untersuchung von qualitativ minderwertigen Weinen im Hinblick auf die Verwendung von sauerfaulem Lesegut (siehe Kapitel 4.5.2.1) von Bedeutung (Bandion et al., 1980).

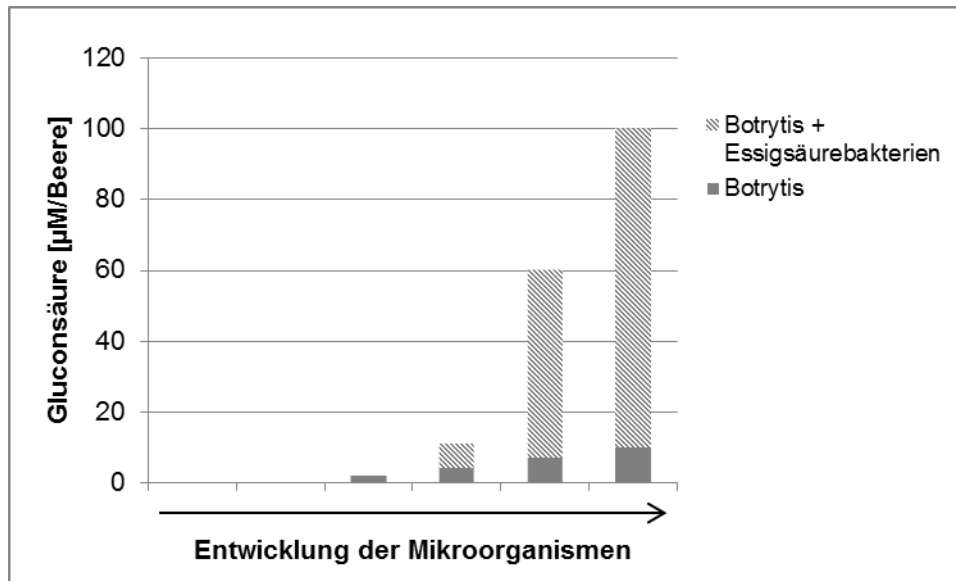


Abbildung 71: Entwicklung der Gluconsäurekonzentration in Trauben infolge der Ausbreitung von *Botrytis cinerea* oder von *Botrytis cinerea* zusammen mit Essigsäurebakterien (modifiziert nach Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

Abbildung 71 (modifiziert nach Ribéreau-Gayon et al., 2006a) zeigt, dass eine zusätzliche Infektion mit Essigsäurebakterien zu einem starken Anstieg der Gluconsäurekonzentration in Trauben führt, was auch von Sponholz und Dittrich (1985), Barbe et al. (2001) sowie Ramachandran et al. (2006) bestätigt wird. Reinkulturen von Essigsäurebakterien der Gattung *Gluconobacter oxydans* bildeten im Most zwischen 31-72 g/L Gluconsäure, wohingegen von *Botrytis cinerea*-Kulturen nur maximal 4,7 g/L gebildet wurden (Sponholz, Dittrich, 1985). Da Essigsäurebakterien häufig als Folgeinfektanten einer *Botrytis*-Infektion auftreten, ist die von ihnen ausgehende Gluconsäurebildung hauptsächlich von den klimatischen Bedingungen abhängig, die ihre Vermehrung und damit die Glucoseoxidation regulieren (Dittrich, 1989).

4.6.5.2 Glycerin

Glycerin ist eine farb- und geruchlose, süßlich schmeckende viskose Flüssigkeit, die das mengenmäßig wichtigste Gärungsnebenprodukt darstellt. Sensorisch trägt Glycerin zum „Körper“ des Weines bei (siehe Kapitel 4.7.2.5) (Dittrich, 1989; Dittrich, Großmann, 2005).

Weine aus edelfaulen Lesegut weisen neben erhöhten Gluconsäurekonzentrationen auch hohe Glycerinkonzentrationen auf (Dittrich et al., 1974; Holbach, Woller, 1976; Brinkmann et al., 2003). *Botrytis cinerea* bildet neben Gluconsäure auch Glycerin aus Glucose. Diese beiden Verbindungen spielen eine wichtige Rolle bei der Charakterisierung des *Botrytis*-Stadiums und damit der „Fäulnisqualität“ des *Botrytis*-Pilzes. Glycerin wird zu Beginn der *Botrytis*-Entwicklung gebildet. Die Glycerinkonzentrationen steigen an, je mehr sich der *Botrytis*-Pilz hin zur sogenannten Edelfäule entwickelt. Gluconsäure wird erst später in

hohen Konzentrationen gebildet und deutet auf eine minderwertige Fäulnisentwicklung hin. Ein hohes Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis zeigt ein frühes Entwicklungsstadium und damit eine bessere „Fäulnisqualität“ des *Botrytis*-Pilzes (Edelfäulezustand) an (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Außer *Botrytis* und anderen Schimmelpilzen bilden auch Essigsäurebakterien viel Gluconsäure, aber kein Glycerin (Eschenbruch, Dittrich, 1986).

Moste aus *Botrytis*-infiziertem Lesegut enthalten üblicherweise zwischen 5-7 g/L Glycerin (Ribéreau-Gayon et al., 2006a), Auslesetrauben bis zu 30 g/L (Dittrich, 1989). Zu diesem von *Botrytis* gebildeten „Most-Glycerin“ kommt dann das bei der Gärung entstehende „Gärungs-Glycerin“ (~ 10 % und mehr) hinzu (Dittrich, Großmann, 2005). Moste aus gesunden Beeren erreichen selten einen Gehalt über 1 g/L Glycerin (Dittrich, 1989).

4.6.5.3 Höchstmengen für Glycerin und Gluconsäure

Nach der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung (ZZuIV, 1998, Anlage 4 Teil A) dürfen Gluconsäure (E574) und Glucono- δ -lacton (E575) ohne Höchstmengenangaben (quantum satis) in Lebensmitteln verwendet werden.

Für Gluconsäure im Wein existiert im aktuell geltenden Weingesetz (Fassung der Bekanntmachung vom 18. Januar 2011) bisher noch keine Höchstmenge.

Bei der Herstellung von Traubensäften darf nur gesundes Lesegut verwendet werden. Hinweise auf verdorbenes Lesegut liefern die Gehalte an Gluconsäure und Glycerin, die von Mikroorganismen beim Faulen des Lesegutes gebildet werden (Brinkmann et al., 2003). Als Beurteilungswerte hierfür werden die Gehalte an Gluconsäure und Glycerin herangezogen, die im Jahr 2003 erstmalig im „Reference Guideline for Grape Juice“ der A. I. J. N. (Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Union) spezifisch für roten und weißen Traubensaft veröffentlicht wurden (Tabelle 4) (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, 2012).

Tabelle 4: Gluconsäure- und Glyceringehalte als Beurteilungswerte für verdorbenes Lesegut (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, 2012)

Gluconsäure in weißem Traubensaft	maximal 0,7 g/L
Gluconsäure in rotem Traubensaft	maximal 1,0 g/L
Glycerin	maximal 1,0 g/L

4.6.6 Säuren

Bei der Gesamtsäure eines Mostes bzw. Weines handelt es sich um die Summe aller Säuren, zu denen anorganische und organische Säuren wie auch Aminosäuren zählen. Der Beitrag letzterer zur titrierbaren Säure ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Die Gesamtsäure wird analytisch durch Neutralisation mittels Natriumhydroxid ermittelt und als Weinsäure berechnet (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

4.6.6.1 pH-Wert

Die organischen Säuren des Weines liegen im Gleichgewicht mit ihren Salzen vor und wirken daher als Puffersubstanzen, die den pH-Wert des Weines zwischen 2,9-4,0 regulieren (Dartiguenave et al., 2000). Damit lassen sich die relativ geringen Veränderungen des pH-Wertes während der alkoholischen Gärung erklären (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Organische Säuren tragen zur mikrobiellen und physikochemischen Stabilität von Weinen bei (Caccamo et al., 1986; López-Tamames et al., 1996; Ribéreau-Gayon et al., 2006b), da sie das Wachstum von potenziell gefährlichen Mikroorganismen, die zu einem Verderb des Weines führen können, hemmen bzw. verlangsamen können (Zotou et al., 2004; Volschenk et al., 2006). Folglich beeinflusst der Säuregehalt des Weines dessen Haltbarkeit und Alterungspotential (Volschenk et al., 2006).

Traubenmost bzw. -saft mit niedrigem pH-Wert (<3,5) ist zu Beginn der alkoholischen Gärung besser gegenüber mikrobiellem Verderb geschützt. Niedrige pH-Werte hemmen das Wachstum von vielen Verderbnisbakterien und Hefespezies, wohingegen eine Proliferation der Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* erfolgen kann (Volschenk et al., 2006). Bei höheren pH-Werten (>3,5) kann es zur verfrühten Vermehrung von Milchsäurebakterien (u. a. *Lactobacilli*, *Pediococci*, *Oenococcus oeni*) kommen, die Glucose zu Milchsäure, Essigsäure und CO₂ abbauen, wodurch es zu höheren Gehalten an flüchtiger Säure, geringeren Ethanolkonzentrationen im Wein sowie zu einer langsamen bzw. stockenden Gärung kommen kann (Narendranath et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.6.2 Organische Säuren

Organische Säuren beeinflussen hauptsächlich die Zusammensetzung, Stabilität und sensorischen Eigenschaften insbesondere von Weißweinen und stellen somit ein wichtiges Qualitätsmerkmal im Wein dar (Caccamo et al., 1986; López-Tamames et al., 1996; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Herkunft, Rebsorte, Alter und Herstellungsprozess des Weines (bspw. alkoholische, malolaktische Gärung) wirken sich auf die Zusammensetzung und die Gehalte der organischen Säuren im Wein aus (Mato et al., 2007; Zheng et al., 2009).

Mittels der organischen Säuren im Wein können Mikroorganismenaktivitäten festgestellt werden, was sich an einer veränderten Zusammensetzung der Gehalte im Wein, bspw. von Essigsäure oder Milchsäure, erkennen lässt (Mato et al., 2007).

Moste und Weine aus *Botrytis*-infiziertem Lesegut zeigen höhere Konzentrationen an Säuren auf, die aus der Oxidation von Aldehyden oder primären Alkoholfunktionen von Ketosen entstehen. Insbesondere Gluconsäure dient als Nachweis einer *Botrytis*-Infektion (siehe Kapitel 4.6.5.1) (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Im Wein wird zwischen Säuren, die natürlicherweise in den Beeren vorkommen (Wein-, Äpfel- und Citronensäure, Abbildung 72) und Säuren, die während der Gärung gebildet werden (Bernstein-, Milch-, Essig- und Brenztraubensäure, Abbildung 73), unterschieden (Mato et al., 2007; Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

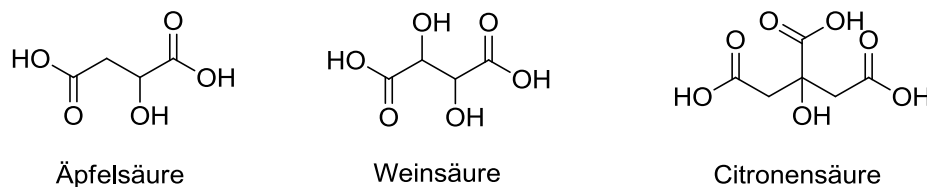


Abbildung 72: Beerentypische Säuren

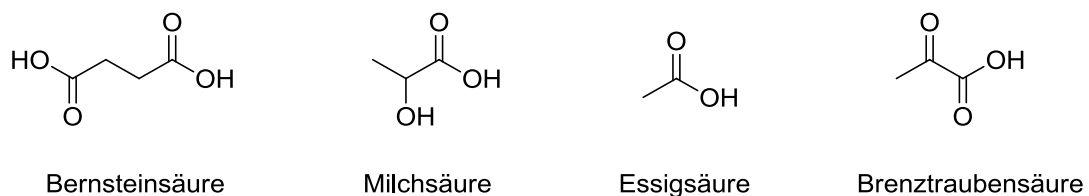


Abbildung 73: Während der Gärung gebildete Säuren

In Trauben stellen Weinsäure und Äpfelsäure mit einem Anteil von bis zu 90 % die bedeutendsten organischen Säuren dar (Dartiguenave et al., 2000; Mato et al., 2007). Der Gesamtsäuregehalt (hauptsächlich durch Wein- und Äpfelsäure beeinflusst) und der Zuckergehalt werden als Parameter zur Beurteilung des Reifeszustandes der Trauben

herangezogen (López-Tamames et al., 1996). Je nach Rebsorte und Reifezustand der Beeren schwankt das Äpfelsäure/Weinsäureverhältnis deutlich (siehe Kapitel 4.6.6.2.1 und 4.6.6.2.2) (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Possner und Kliewer (1985) untersuchten die Verteilung der Wein- und Äpfelsäure innerhalb der Beere (Abbildung 74). Die Weinsäurekonzentration nimmt von der Haut zum inneren Fruchtfleisch leicht zu. Die Äpfelsäure liegt überwiegend im äußeren Bereich der Haut vor und zeigt im innersten Bereich des Fruchtfleisches um die Kerne vergleichbare Gehalte wie die Weinsäure auf.

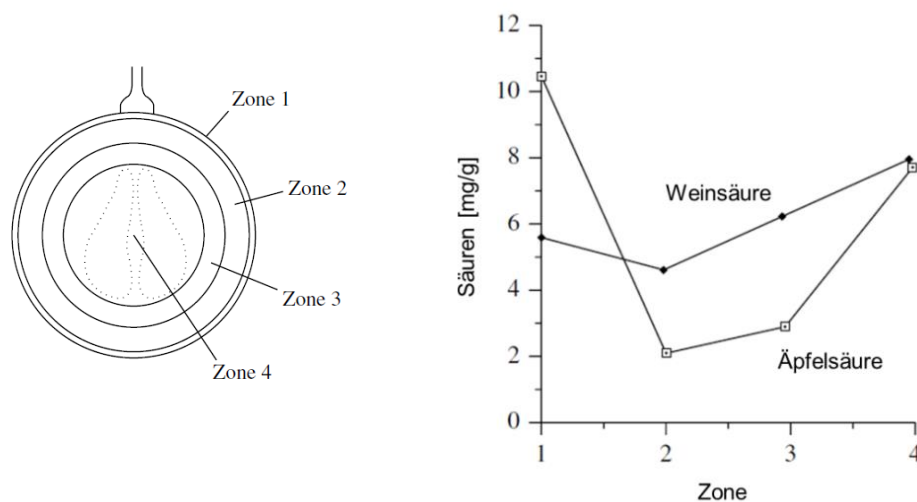


Abbildung 74: Verteilung der Wein- und Äpfelsäure innerhalb der Beere (Angaben in mg pro g Frischgewicht) (modifiziert nach Possner, Kliewer, 1985; Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

4.6.6.2.1 Weinsäure

Die Weinsäure (Dihydroxybernsteinsäure) ist in der Natur nicht weit verbreitet und kommt spezifisch in Trauben vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Sie liegt in natürlicher Form als L(+)-Weinsäure vor (Würdig, Woller, 1989; Römpf Online, 2013). Es handelt sich um eine starke Säure ($pK_{S1}=2,98$, $pK_{S2}=4,34$), die für einen pH-Wert von 3,0-3,5 im Wein verantwortlich ist (Zotou et al., 2004; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Während der Reife der Beeren bleibt die Weinsäurekonzentration relativ konstant. Dennoch kommt es hierbei zu einer geringen Abnahme des Weinsäuregehaltes infolge des Verdünnungseffektes durch die Volumenzunahme der Beeren (Schrader et al., 1976; Possner, Kliewer, 1985; Ribéreau-Gayon et al., 2006a). In nördlichen Weinbaugebieten kommt sie in Mosten in Gehalten von über 6 g/L vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Der Weinsäuregehalt wird während der Gärung nicht von den Hefen verändert. Es können jedoch während und nach der Gärung in zunehmend alkoholischer Lösung zwischen 0,5-1,5 g/L Weinsäure in Form von Weinstein (Kaliumsalze (Kaliumhydrogentartrat, Kaliumbitartrat) bzw. Calciumsalze (Calciumtartrat) der Weinsäure) ausfallen, da durch die Alkoholzunahme die Löslichkeit

des Weinstein verringert wird. Auch eine Temperatureniedrigung führt zur verringerten Löslichkeit des Weinstein. Insgesamt kommt es im Zuge dieser Prozesse zur Verringerung des Weinsäuregehaltes im Wein (Würdig, Woller, 1989).

Neben ihrer pH-Wert-senkenden Funktion als Weinhaltstoff hat Weinsäure auch Bedeutung als Lebensmittelzusatzstoff. Die Salze der Weinsäure (Tartrate) werden in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie (u. a. Limonaden, Schokolade) sowie in der Kosmetikindustrie verwendet (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

4.6.6.2.2 L(-)-Äpfelsäure

L(-)-Äpfelsäure (Monohydroxybernsteinsäure) kommt in allen lebenden Organismen vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Bei der natürlichen Äpfelsäure handelt es sich um L(-)-Äpfelsäure ($pK_{S1}=3,46$; $pK_{S2}=5,10$) (Würdig, Woller, 1989; Römpf Online, 2013). Vor allem in grünen Äpfeln kommt sie in hohen Gehalten vor, womit sich auch der Name erklären lässt (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Im Gegensatz zur Weinsäure kommt es bei der Äpfelsäure zu einer starken Konzentrationsabnahme zu Beginn der Reifephase der Beeren (Possner, Kliewer, 1985), was vor allem durch höhere Temperaturen bedingt wird (Jackson, 2008). Dabei kommt es zur Verdünnung der Äpfelsäurekonzentration infolge der Volumenzunahme der Beeren sowie auch zum Abbau durch Malatdehydrogenasen. Äpfelsäure wird dabei zu Brenztraubensäure decarboxyliert, die wie Glucose ebenfalls zur Energiegewinnung beiträgt (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Im Zuge der Beerenentwicklung kommt es auch zu einer Veränderung der Verteilung der Äpfelsäure in der Beere. Zu Beginn der Fruchtbildung liegen zunächst höhere Konzentrationen in der Pulpe vor; mit zunehmendem Reifeprozess kommt es zur Anreicherung der Äpfelsäure unter der Beerenhaut (Possner, Kliewer, 1985; Coombe, 1987). Während des Reifeprozesses dient die Äpfelsäure als Energiespeicher und als Fraßschutz (durch Vergällung) vor der Kernreife der Trauben (Lipps, 2013). Im Most kommt Äpfelsäure in Konzentrationen zwischen 4-6,5 g/L (je nach Reife und Rebsorte) vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Während der malolaktischen Gärung bei Weinen kommt es zum bakteriellen Äpfelsäureabbau (siehe Kapitel 4.6.6.2.5). Dieser führt zu einer Säureverringerng, die den pH-Wert des Weines anhebt (Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.6.2.3 Citronensäure

Citronensäure ist in der Natur weit verbreitet. Der Citratzyklus spiegelt ihre wichtige biochemische und metabolische Funktion wider. Im Wein (vor der malolaktischen Gärung) kommt sie in Konzentrationen zwischen 0,5-1,0 g/L vor (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). In Mosten aus gesunden Trauben liegen die Gehalte zwischen 100-200 mg/L, wohingegen

Moste aus *Botrytis*-infiziertem Lesegut Konzentrationen von mehr als 600 mg/L beinhalten können (Dittrich, 1974; Dittrich, 1989). Die Citronensäure hat im Wein eine besondere Bedeutung, da durch ihren Abbau während der malolaktischen Gärung Essigsäure und Diacetyl gebildet werden können, wodurch das Weinaroma beeinflusst wird (Dittrich et al., 1980; Zotou et al., 2004; Constantini et al., 2010). Die Zugabe von Citronensäure zur Schwermetallkomplexierung ist bis zum Erreichen der Höchstmenge von 1 g/L im Wein erlaubt (VO (EG) Nr. 606/2009, Anhang IA) (KIS RNH Nr. 7, 2009).

4.6.6.2.4 Milchsäure

L-Milchsäure (2-Hydroxypropionsäure) kommt in Mosten aus gesundem Traubenmaterial nicht vor (Würdig, Woller, 1989; Jakob et al., 1997). Im Wein wird sie aus der L-Äpfelsäure während der malolaktischen Gärung durch Milchsäurebakterien gebildet (López-Tamames et al., 1996) und führt zu einem milden Säuregeschmack (Zotou et al., 2004).

Daneben kann im Wein auch **D-Milchsäure** vorkommen, die ab 1 g/L als Verderbnisindikator angesehen wird (Bandion, Valenta, 1977). Diese kann von homo- bzw. heterofermentativen (heterolaktischen) Milchsäurebakterien, u. a. von *Oenococcus oeni*, aus Glucose gebildet werden (Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.6.2.5 Flüchtige Säure/Essigsäure

Die flüchtige Säure stellt im Wein einen wichtigen Parameter zur Qualitätsbestimmung dar. Hohe Gehalte an flüchtiger Säure werden sensorisch als negativ bewertet, was hauptsächlich auf hohe Konzentrationen an Essigsäure zurückzuführen ist (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Moreno-Arribas, 2010). Der „Essigstich“ ist der häufigste und folgenschwerste Weinefehler (Dittrich, 1984), da betroffene Weine vom Verbraucher nicht mehr akzeptiert werden und beim Überschreiten der gesetzlichen Richtlinien nicht mehr vermarktbar sind.

Nach VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I C gelten folgende Grenzwerte für den Gehalt der Weine an flüchtiger Säure: 18 Milliäquivalent (=1,08 g/L) bei teilweise gegorenem Traubenmost, Weißwein und Roséwein, 20 Milliäquivalent (=1,20 g/L) bei Rotwein, 30 Milliäquivalent (=1,8 g/L) bei Beerenauslesen/Eisweinen und 35 Milliäquivalent (=2,1 g/L) bei Trockenbeerenauslesen.

Erhöhte Gehalte an Essigsäure werden insbesondere durch Essigsäurebakterien (siehe Kapitel 4.5.2.9), Milchsäurebakterien und „wilde Hefen“ (z. B. *Hanseniaspora/Kloeckera*, *Candida*) verursacht (Drysdale, Fleet, 1988).

Während in essigstichigen Beeren erst wenig Ethanol vorliegt, der zu Essigsäure oxidiert werden kann, ist im Wein neben wenig Zucker viel Alkohol vorhanden, der den Essigsäurebakterien als Substrat dient. Alkohol wird von der Alkohol-Dehydrogenase (ADH) zu Acetaldehyd oxidiert, der von der Aldehyd-Dehydrogenase (AIDH) zu Essigsäure weiteroxidiert wird (Abbildung 75) (Dittrich, Großmann, 2005).

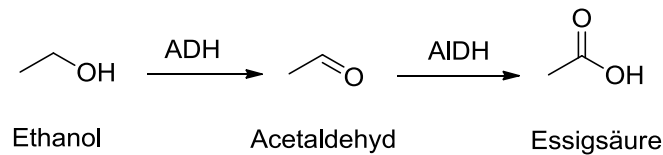


Abbildung 75: Bildung der Essigsäure durch Essigsäurebakterien (mit: ADH: Alkohol-Dehydrogenase, AIDH: Aldehyd-Dehydrogenase) (Dittrich, Großmann, 2005)

Für alle Stämme von *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti* und *Acetobacter pasteurianus* ist dieser Metabolismus beschrieben, wobei sich die Stämme in der Intensität dieser Umsetzung unterscheiden (Drysdale, Fleet, 1988).

Essigsäurebakterien produzieren neben der Essigsäure noch andere geruchs- und geschmacksaktive Stoffe, wie bspw. Essigsäureethylester, die am sensorischen Eindruck des Essigstichs beteiligt sind (Dittrich, Großmann, 2005). Bei höheren Essigsäuregehalten kommt es zur verstärkten Esterbildung, was durch den sauren pH-Wert des Weines begünstigt wird. Hohe Konzentrationen an Essigsäureethylester zeichnen sich durch einen deutlichen Ester- bzw. „Klebstoff“-Geruch aus. Als Verursacher hierfür werden auch „wilde Hefen“ beschrieben (Sponholz et al., 1982).

Während der Gärung des Mostes ist die Zunahme der Essigsäure mit dem Zuckergehalt korreliert. Mit steigendem Zuckergehalt des Mostes nimmt auch die Bildung von Essigsäure durch die Hefe zu, unabhängig vom verwendeten Hefestamm (Erasmus et al., 2004). Hefen der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* bilden bei der Weinbereitung 0,2-0,4 g/L Essigsäure. In deutschen Weinen normaler Qualität sind mehr als 0,5 g/L flüchtige Säure ein Zeichen für die Bildung der Essigsäure durch schädliche Mikroorganismen wie Wildhefen (z. B. *Hanseniaspora uvarum*) oder durch Bakterien (Dittrich, Großmann, 2005).

Abbildung 76 zeigt den möglichen Bildungsweg der Essigsäure durch Hefen; dieser ist jedoch noch nicht vollständig geklärt (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

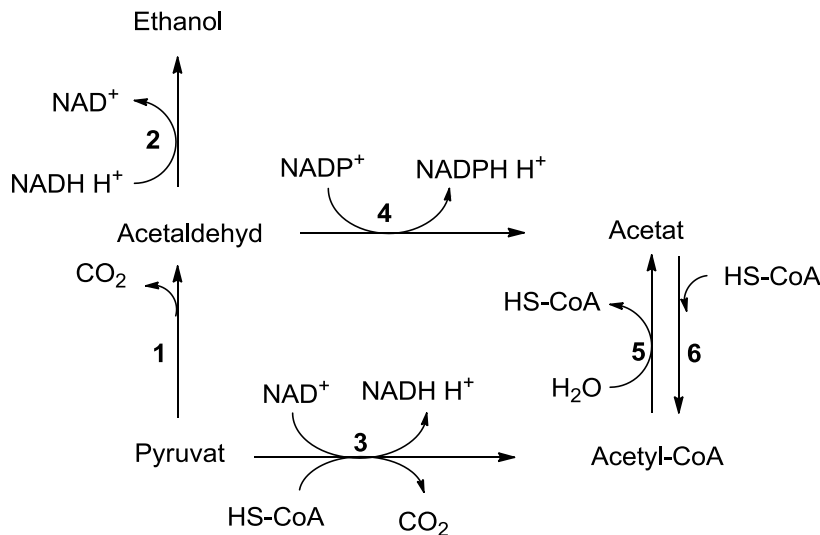


Abbildung 76: Bildungsweg der Essigsäure durch Hefen (mit: 1: Pyruvatdecarboxylase; 2: Alkoholdehydrogenase; 3: Pyruvatdehydrogenase; 4: Aldehyddehydrogenase; 5: Acetyl-CoA Hydrolase; 6: Acetyl-CoA Synthetase) (modifiziert nach Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

Demnach kann Essigsäure auch durch Hydrolyse von Acetyl-CoA gebildet werden. Ausgehend von Brenztraubensäure findet zunächst eine oxidative Decarboxylierung zu Acetyl-CoA mittels der Pyruvatdehydrogenase statt. Daneben ist durch Oxidation von Acetaldehyd mittels der Acetaldehyddehydrogenase ebenso die Bildung von Essigsäure möglich (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Essigsäurebakterien, bei denen es sich um obligat aerobe Mikroorganismen handelt (Drysdale, Fleet, 1988; Ribéreau-Gayon et al., 2006a), werden durch SO_2 stark gehemmt (Dittrich, Großmann, 2005), da SO_2 gelösten Sauerstoff bindet (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Dadurch entstehen anaerobe und somit ungünstige Bedingungen für diese Bakterien. Die Bildung von Essigsäure nimmt ab Alkoholkonzentrationen von 6 % Vol. deutlich ab (Rosell et al., 1968); Ethanolkonzentrationen von mehr als 10 % Vol. hemmen das Wachstum von Essigsäurebakterien und auch ihre Fähigkeit, Ethanol zu oxidieren. Zusätzlich ist die Aldehyddehydrogenase bei diesen Konzentrationen weniger stabil als die Ethanoldehydrogenase, sodass es zu einem Anstieg der Acetaldehydkonzentration kommen kann (Muraoka et al., 1983).

Im Zuge der heterofermentativ-heterolaktischen Milchsäuregärung von Glucose, Fructose und Pentosen kann es im Jungwein oder Most auf dem Pentosephosphat-(Hexosemonophosphat)-Weg ebenfalls zur Bildung von Essigsäure kommen; daneben entstehen zudem D-Milchsäure, CO_2 , Mannit und Ethanol (Dittrich, Großmann, 2005). Bestimmte Milchsäurebakterien können nach dem Abbau der Äpfelsäure bei der malolaktischen Gärung auch Citronensäure verstoffwechseln, wodurch u. a. ebenfalls Essigsäure gebildet wird (Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.6.3 Malolaktische Gärung (Biologischer Säureabbau)

Während der malolaktischen Gärung (biologischer Säureabbau = BSA) wird L-Äpfelsäure mithilfe von Milchsäurebakterien durch enzymatische Decarboxylierung zu L-Milchsäure umgewandelt (Abbildung 77) (Lonvaud-Funel, 1999; Constantini et al., 2010). Vor allem beim Rotwein ist dies ein wichtiger Schritt zur Säureharmonisierung.

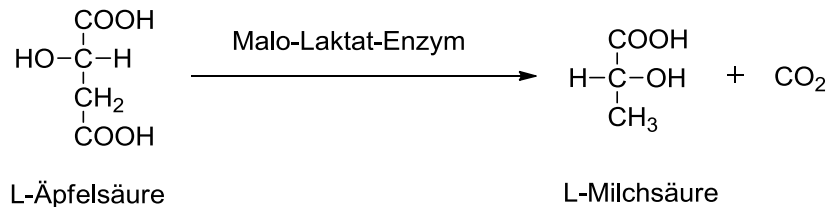


Abbildung 77: Umsetzung der L-Äpfelsäure zu L-Milchsäure während der malolaktischen Gärung

Dieser Prozess findet üblicherweise nach der alkoholischen Gärung statt und wird ebenso als Gärung bezeichnet, obwohl es sich um eine enzymatische Reaktion der Milchsäurebakterien handelt (Constantini et al., 2010). Die autolysierenden Hefen bilden die Nahrungsgrundlage für die Milchsäurebakterien (Jakob et al., 1997). Die malolaktische Gärung wird hauptsächlich von *Oenococcus oeni* durchgeführt, da diese Spezies der Milchsäurebakterien gegenüber den pH-Bedingungen (<3,5), hohen Alkoholgehalten (>10 Vol. %) und hohen SO₂-Gehalten (50 mg/L) des Weines im Vergleich zu anderen Spezies resistenter ist (Capucho et al., 1994; Constantini et al., 2010).

Die malolaktische Gärung stellt vor allem bei Rotweinen die bevorzugte Methode zur Entsäuerung dar. Infolge der pH-Wert-Erhöhung nach der malolaktischen Gärung kommt es häufig zu einer verstärkten Ausfällung von Kaliumhydrogentartrat, was zu einer zusätzlichen Säurereduktion beiträgt (Volschenk et al., 2006).

Zudem führt die malolaktische Gärung zu weiteren charakteristischen Veränderungen, u. a. zur Zunahme der Essigsäure, Abnahme der Citronensäure, des reduktionsfreien Extraktes und der Schwefelbindungspartner Acetaldehyd, Brenztraubensäure und 2-Ketoglutarensäure (Dittrich et al., 1980).

Die malolaktische Gärung beeinflusst vier unterschiedliche, miteinander verbundene Qualitätsparameter des Weines: Säure, mikrobielle Stabilität, sensorische Komplexität (siehe Kapitel 4.6.6.4) und hygienische Qualität (Volschenk et al., 2006) und hat daher einen großen Einfluss auf die Weinqualität.

Die malolaktische Gärung wird auch als ausschlaggebender Faktor bei der Bildung der biogenen Amine im Wein angesehen, wobei es sich hierbei hauptsächlich um Putrescin, Histamin und Tyramin handelt (siehe Kapitel 4.6.2.3) (Soufleros et al., 1998; Martín-Álvarez et al., 2006).

4.6.6.4 Sensorik

Speziell der Gehalt an Zuckern und organischen Säuren sowie deren Gleichgewicht beeinflussen maßgeblich die organoleptischen Eigenschaften des Weines und stellen einen wichtigen sensorischen Qualitätsparameter dar (Martin, 2002; Muñoz-Robredo et al., 2011). Weine mit einer guten Säurebalance werden sensorisch als erfrischend wahrgenommen, wohingegen Weine mit hohem Säuregehalt als grün, grasig, säuerlich und unreif bezeichnet werden (Volschenk et al., 2006). Die Zusammensetzung der organischen Säuren im Wein legt den spezifischen pH-Wert des Weines fest, was indirekt auch die Geschmackswahrnehmung des Weines beeinflusst (Volschenk et al., 2006).

Bei Spitzenweinen aus edelfaulen Trauben ist der pH-Wert im Vergleich zu Kabinettweinen meist etwas erhöht, was diese Weine sensorisch weicher und voller macht (Dittrich, 1989).

Die malolaktische Gärung führt sensorisch zu einem angenehmeren Mundgefühl und einem verlängerten Abgang im Vergleich zu Weinen ohne malolaktische Gärung (Volschenk et al., 2006). Fruchtige und florale Eindrücke werden infolge des Abbaus von Estern und anderen Aromakomponenten reduziert. Stattdessen treten nach malolaktischer Gärung Aromaeindrücke wie buttrig, nussig und hefig in den Vordergrund (Laurent et al., 1994; Darting et al., 2012). Es besteht aber auch das Risiko der Bildung von unerwünschten Off-flavour-Verbindungen, u. a. flüchtige Säure und flüchtige Phenole (Constantini et al., 2010). Ein detaillierter sensorischer Einfluss einer malolaktischen Gärung auf den Wein ist sehr schwierig zu bewerten, da dies von sehr vielen Faktoren abhängt. Die Anzahl an Aromaverbindungen, die während der malolaktischen Gärung gebildet wird, ist abhängig vom Ausgangs-pH-Wert des Weines und der Gärungstemperatur, welche die Geschwindigkeit der malolaktischen Gärung festlegt (Volschenk et al., 2006).

4.6.7 Kationen

Kationen spielen bei der Weinbereitung eine große Rolle. Sie sind an Trübungsreaktionen beteiligt, von denen mengenmäßig besonders die Bildung von Kaliumhydrogentartrat und Calciumtartrat (siehe Kapitel 4.6.6.2.1) eine entscheidende Rolle spielen (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Der Gesamtmineralstoffgehalt in Traubenmost liegt zwischen 3-5 g/L; während der Gärung nimmt dieser Gehalt ab, da die Hefe Mineralstoffe zum Aufbau ihrer Zellsubstanz verbraucht und die bei den betreffenden Kationen genannten Fällungsreaktionen auftreten können. Weine sind daher mineralstoffärmer als Moste (Jakob et al., 1997).

Auf der Maische vergorene oder aus erhitzter Maische gewonnene Rotweine enthalten mehr Mineralstoffe als Weißweine, da zahlreiche mineralische Bestandteile aus den Beerenhäuten der Trauben durch längere Kontaktzeit bzw. erhöhte Temperatur herausgelöst werden und Phenole eine Ausfällung des Weinsteins verhindern (Würdig, Woller, 1989; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Daneben enthalten auch Beeren- und Trockenbeerenauslesen aufgrund der *Botrytis*-Infektion höhere Mineralstoffkonzentrationen, was auf die Konzentrierung infolge des Wasserverlustes der Traubenbeeren zurückzuführen ist (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Kalium nimmt mit 40-60 % den Hauptanteil der Mineralien im Wein ein und liegt in Konzentrationen von 0,5-2 g/L (durchschnittlich 1 g/L) vor. Während der Beerenreife nimmt der Kaliumgehalt mit steigendem Mostgewicht zu (Schrader et al., 1976; Trogus, Pohl, 1978; Würdig, Woller, 1989; Coombe, 1992; Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

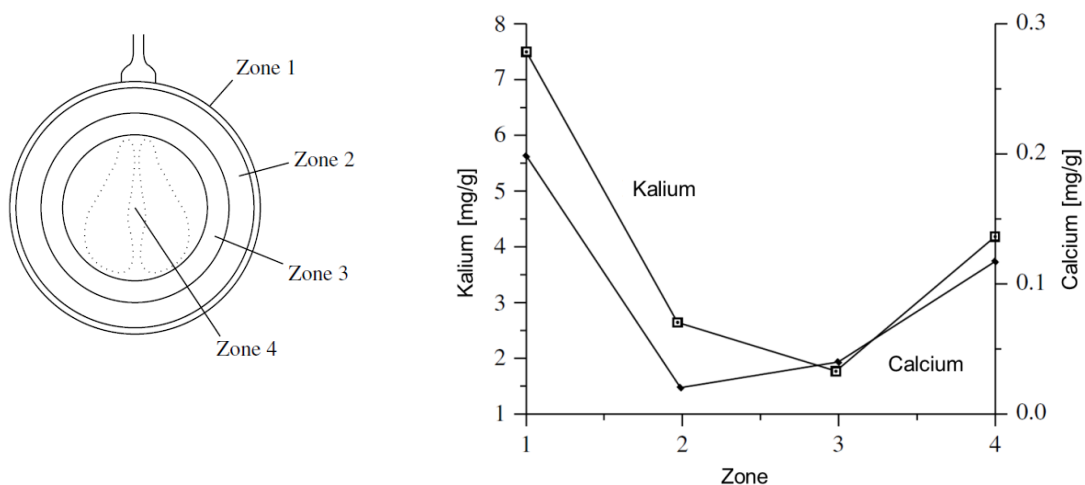


Abbildung 78: Verteilung von Kalium und Calcium innerhalb der Beere (Angaben in mg pro g Frischgewicht) (modifiziert nach Possner, Kliewer, 1985; Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

In der Beere liegt Kalium ungleichmäßig verteilt vor, wobei die Beerenhaut etwa viermal mehr Kalium als die entsprechende Pulpe enthält (Trogus, Pohl, 1978; Coombe, 1987; Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Aber auch die Pulpe speziell im Bereich der Kerne ist kaliumhaltig, wobei hier etwa die Hälfte des Gehaltes im Vergleich zur Haut vorliegt (Abbildung 78) (Possner, Kliwer, 1985). Eine verstärkte Extraktion von Kalium aus der Schale führt zu einer verstärkten Ausfällung von Kaliumhydrogentartrat (Volschenk, 2006).

Weine, die aus konzentrierten, edelfaulen Trauben hergestellt werden, weisen die höchsten Kaliumgehalte auf (siehe oben) (Wagner et al., 1989; Jakob et al., 1997; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Der Saftvorlauf enthält weniger Kalium als der Pressmost (Trogus, Pohl, 1978; Jakob et al., 1997). Beim Pressmost findet infolge der zeitlichen Verschiebung ein enzymatischer Aufschluss der Beerenhaut statt, wodurch Kalium extrahiert wird und in Lösung geht (Christmann, 2001).

Kalium wirkt im Wein als Regulator auf den sauren Geschmack. Je höher der Kaliumgehalt eines Weines ist, umso stärker ist die Abpufferung der Säuren, wodurch die Weine sensorisch harmonischer und gehaltvoller werden. Damit verbunden ist die Beeinflussung des pH-Wertes, da höhere Kaliumkonzentrationen zu einem Anstieg des pH-Wertes (durch Ausscheidung von Weinsäuresalzen) führen können (Trogus, Pohl, 1978).

In Weißweinen liegt **Calcium** in Konzentrationen zwischen 80-140 mg/L vor, wohingegen im Rotwein etwas geringere Gehalte vorkommen (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Mit zunehmender Beerenreife nimmt der Calciumgehalt in der Weinbeere ab, was durch den Verdünnungseffekt des Beerenwachstums hervorgerufen wird (Schrader et al., 1976; Jakob et al., 1997).

Die Verteilung des Calciums innerhalb der Beere entspricht der des Kalium, mit den höchsten Gehalten in der Beerenhaut (Abbildung 78) (Possner, Kliwer, 1985; Cabanne, Donèche, 2003). Das Calciumkation bildet im Wein viele relativ unlösliche Salze. Dazu zählt vor allem Calciumtartrat, das besonders bei Anwesenheit von Ethanol relativ unlöslich ist. Durch Entsäuerung der Weine mit Calciumcarbonat steigt der Calciumgehalt stark an (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Weine enthalten zwischen 60-150 mg/L **Magnesium** (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Während der Beerenreife nimmt der Magnesiumgehalt infolge des Verdünnungseffektes durch das Beerenwachstum geringfügig ab (Schrader et al., 1976). Die Magnesiumgehalte nehmen während der Gärung und des Alterungsprozesses hingegen nicht ab, da alle Magnesiumsalze im Wein löslich sind (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

4.6.8 Schwefelbindungspartner

4.6.8.1 Schwefelung - Allgemeines

Die Schwefelung stellt eine der wichtigsten önologischen Maßnahmen zur Sicherung der Weinqualität dar. Die Zugabe von Schwefeldioxid (SO_2 ; in Form von bspw. Kaliumdisulfit, Flüssig- SO_2 , gasförmiges SO_2) erfüllt im Most und Wein vier Hauptaufgaben (Ribéreau-Gayon et al., 2006a):

- Hemmung des Mikroorganismenwachstums
- antioxidative Wirkung
- enzymhemmende Wirkung (Tyrosinase, Laccase)
- Schutzfunktion für Aromaverbindungen durch Bindung von Gärungsnebenprodukten (z. B. Bindung des sensorisch nachteiligen Acetaldehyds)

Die Gesamtmenge an SO_2 im Wein ergibt sich aus gebundenem und freiem SO_2 (Jakob et al., 1997; Barbe et al., 2001). In wässriger Lösung liegen molekulares SO_2 , Bisulfit (HSO_3^-) und Sulfid (SO_3^{2-}) vor; diese drei Formen des SO_2 bezeichnet man als freies SO_2 . In wässriger Lösung liegen folgende Dissoziationsgleichgewichte vor (Abbildung 79) (Ribéreau-Gayon et al., 2006a):

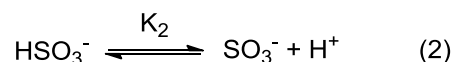
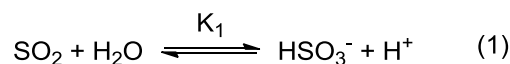


Abbildung 79: Dissoziationsgleichgewichte der schwefligen Säure in wässriger Lösung ($\text{p}K_{\text{S}1}=1,81$; $\text{p}K_{\text{S}2}= 6,91$)

Beim pH-Wert des Weines (zwischen 3,0-4,0) ist vor allem das Gleichgewicht aus Gleichung (1) entscheidend. Hier ist die Menge an molekularem SO_2 für die reduzierenden und antimikrobiellen Eigenschaften verantwortlich. Der Anteil der jeweiligen Verbindungen ist stark vom pH-Wert abhängig. Bei pH 3,0 liegen etwa 6 % als molekulares SO_2 und 94 % als Bisulfitionen (HSO_3^-) vor. Bei pH 4,0 sind nur noch 0,6 % in molekularer Form und 99,4 % in der Bisulfitform vorhanden. Dies erklärt den höheren Bedarf an schwefliger Säure bei Mosten und Weinen mit höheren pH-Werten (Jakob et al., 1997; Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Die Einstellung des freien SO_2 sollte demnach je nach Weinstil erfolgen. Bei trockenen Weinen mit pH-Werten von 3,0-3,4 (Weißwein) ist ein stabiler Wein mit 35-45 mg/L freiem

SO₂ zu erreichen. Bei restsüßen Weinen sollte ein Wert zwischen 45-60 mg/L freiem SO₂ eingestellt werden (KIS Mosel Nr. 5, 2010).

Die Sulfidverbindungen können mit Inhaltsstoffen des Weines, wie Acetaldehyd, Brenztraubensäure, 2-Ketoglutarensäure, Glucose und Polphenolen, reagieren. In dieser gebundenen Form sind sie nicht mehr an den Gleichgewichtsreaktionen beteiligt. Im Wein werden insgesamt geringere Gesamt-SO₂-Gehalte angestrebt, da gesetzliche Höchstmengen vorgeschrieben sind und geringere SO₂-Gehalte auch zu einer gesteigerten Bevorzugung durch den Verbraucher führen (Barbe et al., 2001; Frivik, Ebeler, 2003). Wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, sind für Ökoweine bereits deutlich geringere Gesamt-SO₂-Höchstgrenzen festgesetzt, was diesen Trend veranschaulicht. Konzentrationen von mehr als 50 mg/L freier schwefeliger Säure wirken sich nachteilig auf die Sensorik des Weines aus (Dittrich, Großmann, 2005).

Im Folgenden sind die gesetzlichen Gesamt-SO₂-Höchstgrenzen für konventionelle sowie Öko-Weiß- und -Rotweine (Qualitätsweine) aufgelistet (Tabelle 5; VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I B; VO (EG) Nr. 889/2008 Anhang VIIIa; Schick, 2012).

Tabelle 5: Gesamt-SO₂-Höchstmengen für konventionelle sowie Öko-Weiß- und -Rotweine (Qualitätsweine) (VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I B; VO (EG) Nr. 889/2008 Anhang VIIIa; Schick, 2012)

konventionelle Weine	Weiß- /Roséwein SO₂-Höchstmenge [mg/L]	Rotwein SO₂-Höchstmenge [mg/L]
< 5 g/L Restzucker	200	150
> 5 g/L Restzucker	250	200

Ökoweine	Weiß- /Roséwein SO₂-Höchstmenge [mg/L]	Rotwein SO₂-Höchstmenge [mg/L]
< 2 g/L Restzucker	150	100
> 2 g/L und < 5 g/L Restzucker	170	120
> 5 g/L Restzucker	220	170

Auch Hefen können während der Gärung bis zu 37 mg/L Schwefeldioxid bilden, wobei dies stammabhängig ist (Weeks, 1969). Weine enthalten somit immer Schwefeldioxid, auch wenn dieses während der Verarbeitung nicht zugegeben wurde (Fugelsang, Edwards, 2010).

Schwefeldioxid kann zu allergischen und anderen Unverträglichkeitssymptomen führen. Zum Schutz empfindlicher Personen muss gemäß der Richtlinie 2003/89/EG der Zusatz von Schwefeldioxid oder Sulfiten ab Konzentrationen von 10 mg/L auf dem Etikett kenntlich gemacht werden.

4.6.8.2 Schwefelbindungspartner- Allgemeines

Acetaldehyd (Ethanal), Brenztraubensäure (Pyruvat) und 2-Ketoglutarensäure (2-Ketoglutarat) stellen die wichtigsten Bindungspartner für die schweflige Säure dar (Abbildung 80) (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

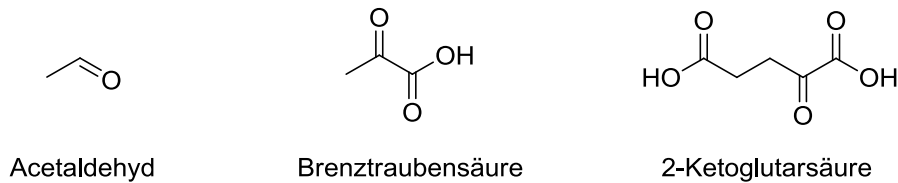


Abbildung 80: Hauptbindungspartner der schwefligen Säure im Wein

Bei Acetaldehyd und Brenztraubensäure handelt es sich um primäre Gärungsnebenprodukte, die im Verlauf der Glykolyse durch die Weinhefe entstehen (Jakob et al., 1997; Liu, Piloni, 2000); 2-Ketoglutarensäure entsteht dabei im Citratzyklus der Hefe (Abbildung 81) (Jakob et al., 1997).

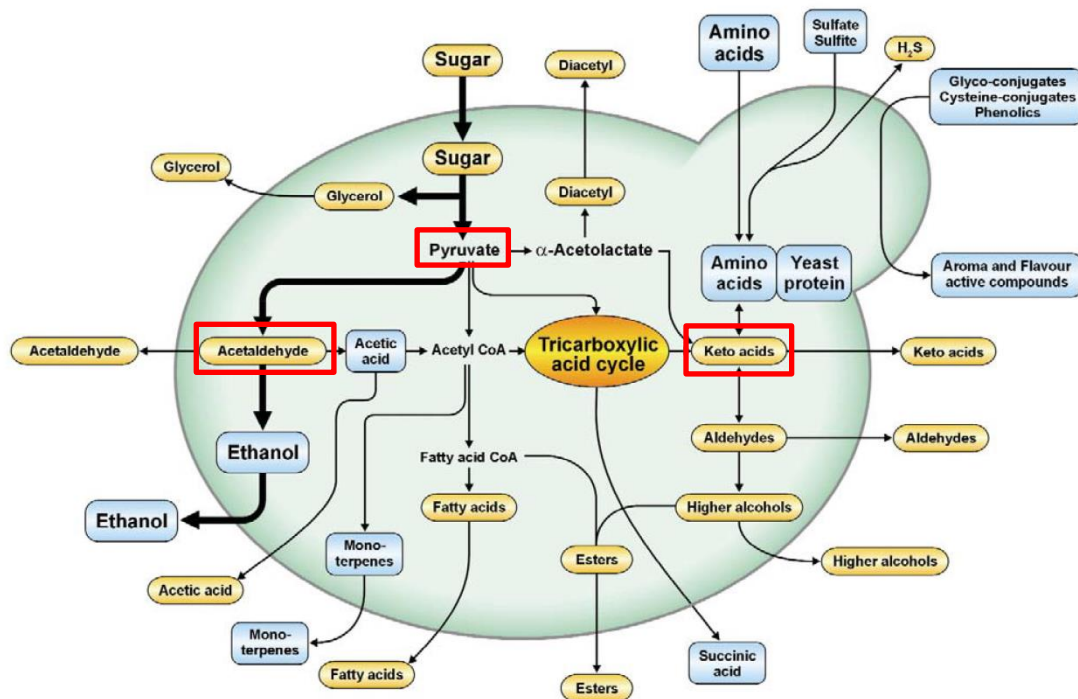


Abbildung 81: Bildung der wichtigsten SO₂-Bindungspartner während der Glykolyse durch die Weinhefe (modifiziert nach Swiegers et al., 2005)

Diese drei Schwefelbindungspartner können im Hinblick auf niedrigere Schwefeldioxidgehalte des Weines in ihrer Konzentration vermindert werden, wenn die Gärung vollständig abläuft. Gegen Ende der Gärung werden diese Ketoverbindungen zum Teil wieder von der Hefe aufgenommen und weiterverarbeitet (Jakob et al., 1997).

Die Bildung dieser Metaboliten ist vom Hefestamm und den Gärungsbedingungen sowie von der Zusammensetzung des Mostes, besonders von seinem Thiamingehalt und seinem Zuckergehalt, abhängig (Barbe et al., 2000; Dittrich, Großmann, 2005). Thiamin gewährleistet die Decarboxylierung von Brenztraubensäure zu Acetaldehyd (Thiaminpyrophosphat als prosthetische Gruppe der Pyruvatdecarboxylase), was einen bedeutenden Schritt der alkoholischen Fermentation darstellt. Die Pyruvatdecarboxylase decarboxyliert teilweise auch 2-Ketoglutarensäure. Bei Anwesenheit von Thiamin sinken die Konzentrationen dieser Säuren und folglich auch die Bindung von SO_2 . Die Anreicherung von Ketosäuren im Wein ergibt sich somit als Folge eines Thiaminmangels. Thiamin stellt auch einen wichtigen Nährstoff für den *Botrytis*-Pilz dar, sodass es bei einer solchen Infektion zu einem starken Thiaminabbau kommt (Dittrich et al., 1974; Jakob et al., 1997; Ribéreau-Gayon et al., 2006a). In gesunden Mosten wurden Thiamingehalte von 318 ng/mL gefunden; in faulen Mosten dagegen nur noch 35 ng/mL (Dittrich, Großmann, 2005).

Bei gesunden Mosten ist die durchschnittliche SO_2 -Bindung geringer als bei den faulen (Dittrich et al., 1974). Bei ungünstigem Witterungsverlauf verursachen *Botrytis cinerea* und Essigsäurebakterien bereits im Weinberg einen erhöhten Gehalt an SO_2 -bindenden Substanzen in den Trauben (Dittrich, Großmann, 2005), wobei die SO_2 -Bindung der Weine aus *Botrytis*-infiziertem Traubenmaterial bis zu zweieinhalb mal höher als die der Weine aus gesunden Trauben sein kann (Dittrich et al., 1974). Das höhere Ketosäureaufkommen verursacht einen höheren SO_2 -Bedarf der Jungweine aus edelfaulen Lesegut (Barbe et al., 2000; Dittrich, Großmann, 2005). Höhere Temperaturen und pH-Werte fördern ebenso die Bildung dieser Ketosäuren (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Als Aldehyd bindet Acetaldehyd stärker (1 mg bindet 1,45 mg SO_2) als die Ketoverbindungen Brenztraubensäure (1 mg bindet 0,5 mg SO_2) und 2-Ketoglutarensäure (1 mg bindet 0,2 mg SO_2). Der SO_2 -Gehalt der Weine ist gesetzlich begrenzt (siehe Kapitel 4.6.8.1), daher sind die Weinerzeuger bestrebt, möglichst SO_2 -arme Weine zu produzieren (Dittrich, Großmann, 2005).

Durch irreversible Bindung von Bisulfit an Acetaldehyd entsteht 1-Hydroxyethansulfonsäure, was auch als Bisulfit-Acetaldehyd-Komplex bezeichnet wird. In Abbildung 82 ist das Schema der SO_2 -Bindung an die Schwefelbindungspartner dargestellt (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

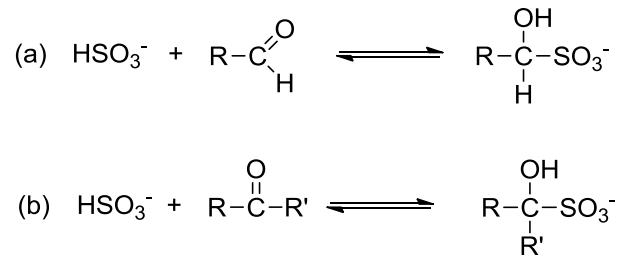


Abbildung 82: Schematische Darstellung der SO₂-Bindung an Aldehyde (a) und Ketosäuren (b) (Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

Solange freier Acetaldehyd vorliegt, wird zugegebene schweflige Säure bei typischen Wein-pH-Werten vollständig in den Bisulfit-Acetaldehyd-Komplex überführt. Erst ab pH-Werten > 8,5 kommt es zur Dissoziation dieses Komplexes (McCloskey, Mahaney, 1981). Sobald Acetaldehyd abgebunden ist, erfolgen auch Reaktionen mit anderen Bindungspartnern; dabei handelt es sich aber um schwächere reversible Bindungen. Demnach können sich die Bindungen wieder lösen; das so gebundene SO₂ wird deshalb auch als Depot-SO₂ bezeichnet und steht zum Teil als „freies SO₂“ zur Verfügung (Funk, 2009).

4.6.8.2.1 Acetaldehyd

Die Bindung des SO₂ durch Acetaldehyd erfolgt schnell. Bei einem pH-Wert von 3,3 können 98 % SO₂ innerhalb von 90 Minuten gebunden werden; nach 5 Stunden liegt eine vollständige Bindung vor (McCloskey, Mahaney, 1981; Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Der Gehalt von Acetaldehyd im Weißwein kann zwischen 11-493 mg/L mit durchschnittlich 83 mg/L und im Rotwein zwischen 4-212 mg/L mit durchschnittlich 32 mg/L liegen (McCloskey, Mahaney, 1981; Liu, Pilone, 2000). Während der Gärung erreicht die Acetaldehydkonzentration ein Maximum, die im Verlauf der Gärung jedoch wieder deutlich abnimmt (Jakob et al., 1997). Dittrich et al. (1974) fanden heraus, dass bei der Gärung von faulen Mosten im Durchschnitt 58 % mehr Acetaldehyd im Vergleich zu gesunden Mosten gebildet wird.

Acetaldehyd wird als vorletzte Stufe der alkoholischen Gärung durch die Pyruvatdecarboxylase (mit Thiaminpyrophosphat als prosthetische Gruppe) aus Brenztraubensäure gebildet. In Anwesenheit von NADH und der Aldehyddehydrogenase erfolgt die weitere Reduktion zu Ethanol (Abbildung 83) (Jakob et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005; Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

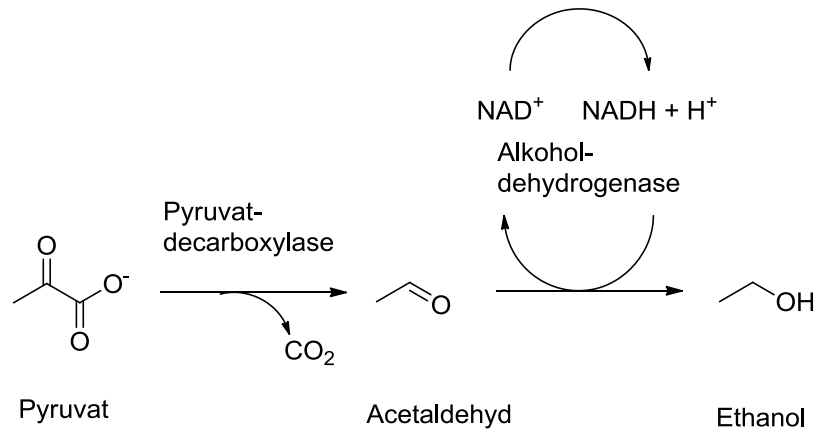


Abbildung 83: Enzymatische Decarboxylierung von Brenztraubensäure zu Acetaldehyd und anschließender Reduktion zu Ethanol während der alkoholischen Gärung (modifiziert nach Ribéreau-Gayon et al., 2006a)

Der Acetaldehydgehalt im Wein wird hauptsächlich von der SO_2 -Zugabe vor, während und nach der Gärung beeinflusst, da SO_2 die Aldehyddehydrogenase hemmt und so den weiteren Abbau zu Ethanol verhindert, oder auch direkt an Acetaldehyd bindet, sodass weniger Acetaldehyd zur weiteren Umsetzung zu Ethanol vorliegt (Frivik, Ebeler, 2003). Höhere Mengen an Acetaldehyd bewirken damit einen erhöhten Bedarf an schwefeliger Säure, da die Bindung von SO_2 zu dessen verringerter antimikrobieller und antioxidativer Wirksamkeit führt (Jakob et al., 1997; Liu, Pilone, 2000). Thiamin beeinflusst im Gegensatz zu den Ketosäuren nicht den Gehalt an Acetaldehyd (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Die Acetaldehydbildung ist auch stark von der Hefespezies und vom Hefestamm abhängig. *Saccharomyces cerevisiae* kann zwischen 0,5-286 mg/L Acetaldehyd bilden und *Kloeckera apiculata* zwischen 9,5-66 mg/L (Barbe et al. 2000; Liu, Pilone, 2000). Auch im Zuge der Essigsäurebildung durch Essigsäurebakterien fällt als Zwischenstufe Acetaldehyd an. Acetaldehyd reichert sich bei geringem Sauerstoffeinfluss und/oder Ethanolkonzentrationen von mehr als 10 % an, statt zu Essigsäure oxidiert zu werden (Drysdale, Fleet, 1989; Liu, Pilone, 2000; Dittrich, Großmann, 2005).

Acetaldehyd ist eine der wichtigsten sensorischen Carbonylverbindungen, die während der Gärung gebildet werden, und trägt bis zu 90 % zum Gesamtaldehydgehalt im Wein bei (Nykänen, 1986). Acetaldehyd stellt im Wein eine stark flüchtige Aromaverbindung dar (Liu, Pilone, 2000). In geringen Konzentrationen verleiht es ein angenehm fruchtiges Aroma nach Aprikose, Banane und Pfirsich, in höheren Konzentrationen kommt es zu einem stechenden, grün-grasigen und apfelähnlichen Geruch (Miyake, Shibamoto, 1993; Ott et al., 1998; Liu, Pilone, 2000). Um eine sensorische Beeinflussung dieser Komponente in den Weinen zu vermeiden, ist es erforderlich, die Weine auf ausreichend

hohe freie SO₂-Gehalte einzustellen, um Acetaldehyd abzubinden (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Im Zusammenhang mit dem Konsum alkoholischer Getränke wurde Acetaldehyd von der IARC in Gruppe 1 als kanzerogen für den Menschen eingestuft (IARC, 2012).

4.6.8.2.2 Brenztraubensäure

Brenztraubensäure entsteht während der Gärung als Vorstufe des Acetaldehyds. Durch Decarboxylierung von Brenztraubensäure entsteht Acetaldehyd (Abbildung 83) (Jakob et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005). Sie wird zu Beginn der Gärung gebildet, wobei ihr Gehalt zum Ende der Gärung abnimmt (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Brenztraubensäure ist in deutschen Weinen zwischen 0-290 mg/L nachgewiesen worden (Jakob et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005).

Die bedeutendsten Einflussfaktoren auf den Brenztraubensäuregehalt stellen der eingesetzte Hefestamm, der pH-Wert, die Rebsorte und der Thiamingehalt dar, wobei der Hefestamm ausschlaggebend ist (Rankine, 1967; Rankine, Pocock, 1969; Weeks, 1969; Graham, 1979; Barbe et al., 2000). Eine Verringerung der von der Hefe gebildeten Brenztraubensäure erfolgt durch Milchsäurebakterien bei Ablauf einer malolaktischen Gärung. Brenztraubensäure wird dann oft vollständig zu Lactat hydriert. Auch die beiden anderen SO₂-Bindungspartner werden dann hydriert, sodass Acetaldehyd zu Alkohol und 2-Ketoglutar Säure zu Hydroxyglutarat reduziert werden. Der SO₂-Bedarf dieser Weine wird dadurch deutlich verringert (Dittrich et al., 1980). Auch Mayer (1979) konnte bei allen drei Schwefelbindungspartnern nach einer malolaktischen Gärung deutlich geringere Konzentrationen bestimmen.

Zur Senkung der Brenztraubensäurebildung während der Gärung bzw. zur Verminderung der im Jungwein verbleibenden Brenztraubensäurereste ist laut VO (EG) Nr. 606/2009 Anhang I A ein Zusatz von max. 0,6 mg/L Thiamin zum Most zulässig. Dieser Zusatz ist insbesondere bei von *Botrytis* befallenem Lesegut wichtig (Jakob et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.8.2.3 2-Ketoglutarat

2-Ketoglutarat entsteht im Citratzyklus der Hefe während der Glykolyse (Abbildung 84) (Jakob et al., 1997).

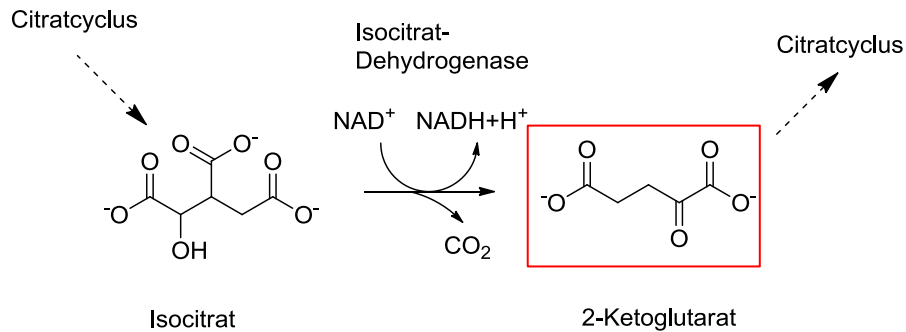


Abbildung 84: Entstehung des 2-Ketoglutarats während des Citratzyklus (Ausschnitt)

Die Hefe synthetisiert diese Verbindung während der Vermehrungsphase zum Aufbau eigener Zellsubstanzen. In deutschen Weinen wurden Konzentrationen von 7-150 mg/L nachgewiesen (Jakob et al., 1997). Wie Brenztraubensäure wird auch Ketoglutarat in Mosten aus *Botrytis*-befallenen Beeren infolge der Thiaminreduktion vermehrt gebildet (Dittrich et al., 1974; Dittrich, Großmann, 2005).

4.6.9 Aromastoffe

4.6.9.1 Weinaroma

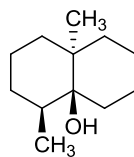
Das Aroma eines Weines setzt sich aus flüchtigen Verbindungen, die für den Geruch verantwortlich sind, und aus nichtflüchtigen Verbindungen, die die Geschmackseindrücke süß, sauer, salzig und bitter hervorrufen, zusammen (Rapp, Mandery, 1986). Die charakteristischen Geruchs- und Geschmacksstoffe fasst man unter dem Ausdruck „Bouquetstoffe“ zusammen (Jakob et al., 1997). Zu den Geruchsstoffen zählen u. a. Ester, Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Säuren, Terpene und Thiole (Martí et al., 2003), während zu den Geschmacksstoffen polare Verbindungen wie organische Säuren, phenolische Verbindungen oder Zucker zählen (Jakob et al., 1997).

Beim Weinaroma unterscheidet man zwischen

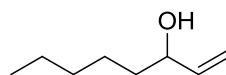
- den primären Traubenaromastoffen
- den sekundären Aromastoffen, die während der Gärung entstehen (Gärungsaroma) und
- den tertiären Aromastoffen: sogenanntes Lagerbouquet, das sich durch Umwandlung des Aromas während der Weinalterung entwickelt (Rapp, Mandery, 1986; Jakob et al., 1997).

4.6.9.2 Off-flavour-Verbindungen (Geosmin)

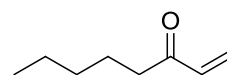
Traubenfäulnis, die durch *Botrytis cinerea*, *Penicillium* und *Aspergillus* verursacht wird, führt oft zu „pilzigen“, muffigen oder erdigen Fehlparmen in Trauben und daraus hergestellten Weinen (La Guerche et al., 2006; Jackson, 2008). Einige Verbindungen, die diese Fehlparmen auslösen, konnten identifiziert werden. Dazu zählen u. a. 1-Octen-3-ol, 1-Octen-3-on sowie Geosmin (trans-1,10-dimethyl-trans-9-decalol) (Abbildung 85) (Siegmond, Pöllinger-Zierler, 2006). (-)-Geosmin riecht intensiver als (+)-Geosmin (Darriet et al., 2001). Es konnte gezeigt werden, dass die Bildung dieser Komponenten u. a. vom untersuchten Pilzstamm abhängig ist (La Guerche et al., 2006).



(-)-Geosmin



1-Octen-3-ol



1-Octen-3-on

Abbildung 85: Strukturen der Off-flavour-Verbindungen (-)-Geosmin, 1-Octen-3-ol und 1-Octen-3-on

Geosmin ist hauptsächlich in der Innenhaut von Beeren lokalisiert (La Guerche et al., 2007). Es wurde in Gehalten oberhalb des Geruchsschwellenwertes in Mosten und Weinen aus teilweise verfaulten Trauben detektiert (Darriet et al., 2000). Der Geruchsschwellenwert von Geosmin ist sehr niedrig und liegt in Wasser bei 0,01-0,36 µg/L; für 1-Octen-3-ol ist ein Schwellenwert von 0,005-100 µg/L beschrieben (Siegmond, Pöllinger-Zierler, 2006). Für die Bildung von Geosmin auf Trauben ist das Zusammenwirken bestimmter *Botrytis cinerea*-Stämme (bot +) und *Penicillium expansum* notwendig. Dies verdeutlicht die Komplexität der Geosminproduktion während der Fäulnisentwicklung auf Trauben (La Guerche et al., 2005 & 2007). La Guerche et al. (2005) beimpften Traubensaft mit bot (+)-Stämmen vor Beimpfung mit *P. expansum*. Dabei stieg die Geosminproduktion innerhalb von 7-8 Tagen an. Dies stellt die optimale Kultivierungszeit von *Botrytis cinerea* dar, um eine maximale Geosminproduktion durch *P. expansum* zu fördern. Der Metabolismus von *Botrytis cinerea* löst die Geosminproduktion durch *P. expansum* durch Veränderung der Traubensaftzusammensetzung und/oder durch Produktion einiger Aktivierungsprodukte aus. Danach kam es wieder zu einer schnellen Abnahme der Gehalte, was auf die schwächere Entwicklung von *P. expansum* infolge des Nährstoffabbaus durch *Botrytis* erklärbar ist (La Guerche et al., 2005).

Von Lisanti et al. (2009) wurde der Einfluss von Behandlungsmitteln auf den Abbau von Geosmin untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass zugelassene Behandlungsmittel den Geosmingehalt nur begrenzt reduzieren können.

4.7 Sensorik

4.7.1 Allgemeines

Die Sensorik ist die Wissenschaft vom Einsatz menschlicher Sinnesorgane zu Prüf- und Messzwecken (DIN 10950; Lawless, Heymann, 2010). Kein technisches Analysegerät kann bisher die Komplexität der menschlichen Sinneswahrnehmungen und die vielfältigen Vernetzungen und Interaktionen bei der Verkostung von Lebensmitteln erreichen bzw. übertreffen. Da bei der Sensorik Menschen die Produkte prüfen, schwanken die Ergebnisse aufgrund der Einschätzung der Testpersonen im Vergleich zu technischen Messgeräten stärker. Daher muss eine sensorische Entscheidung immer auf einem Gruppenergebnis basieren und je nach Methode eine entsprechende Anzahl von Prüfpersonen einbinden (Jacob et al., 2012). Die Auswahl und Schulung der Prüfer ist entscheidend (Lawless, 2013). Werden geschulte Prüfer für analytische Sensorik-Prüfungen eingesetzt, sind deren sensorische Bewertungen objektiv und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist somit gewährleistet (Jacob et al., 2012).

Bei den analytischen Methoden der Sensorik werden häufig einfache Unterschiedsprüfungen (diskriminativ) wie die Dreiecks- und die Rangordnungsprüfung sowie beschreibende Prüfungen (deskriptiv) mit Intensitätsabfrage angewendet. In der Önologie stellen diese beiden sensorischen Verfahren wichtige wissenschaftliche Bewertungsmethoden dar (Jackson, 2009).

Die sensorischen Eigenschaften eines Lebensmittels sind ein sehr wesentliches Qualitätskriterium (Derndorfer, 2008). Beim Wein handelt es sich um eine komplexe Mischung von Verbindungen, die für die sensorischen Eigenschaften wie Farbe, Aroma, Geschmack und Mundgefühl (Haptik, Textur) im Wein verantwortlich sind.

4.7.2 Sensorik-Attribute

Unter dem Begriff „Aromatik“ eines Weines sind alle Stoffe zusammengefasst, die ausschließlich von der Nase als flüchtige Stoffe aufgenommen werden und mehr als 90 % der Typizität (Stilistik) eines Weines ausmachen (Darting, 2012).

Die Aromakomponenten eines Weines lassen sich in fruchtige, blumige, vegetabile, würzige, röstaromatische, holzige, erdig-balsamische, animalische und „chemische“ (Lösungsmittel) Noten einteilen. Zur Klassifikation von Aromen wird häufig das Aromarad von Anne Noble herangezogen. Dabei werden im Wein riechbare Aromen in Gruppen eingeteilt, denen wiederum exakte Aromenbenennungen zugeordnet sind (Darting, 2012).

Das Aroma eines Weines wird von vielen Faktoren beeinflusst, wobei der Jahrgang, die Vergärung und die Reifebedingungen den rebsortentypischen Charakter eines Weines verändern. Bei den Weißweinen sind vor allem trockene Weine mit einem sauberen, frischen und fruchtigen Bouquet beliebt (Jackson, 2009).

Die im Folgenden dargestellten Attribute für die deskriptive Prüfung mit Intensitätsbewertung in diesem Projekt wurden anhand des Gesundheitszustandes der Trauben (gesundes und faules Lesegut) und der damit verbundenen möglichen positiven und negativen Ausprägungen auf die Weine ausgewählt.

4.7.2.1 Dumpf/muffig

Dumpf ist eine abwertende Bezeichnung bei Wein, mit dem eine sensorische „Unsauberkeit“, die man nicht direkt zuordnen kann, bezeichnet wird (Jakob, 2012).

Beim Schimmelton/-geschmack, der auch als „Muffton“ bezeichnet wird, handelt es sich um einen Weinefehler, der von den Traubenschimmeligattungen und -arten *Aspergillus*, *Botrytis cinerea*, *Oidium*, *Penicillium* und *Trichothecium* ausgelöst werden kann (Jakob, 2012).

Ein Pilzbefall der Trauben mit *Botrytis cinerea* führt zu signifikanten Veränderungen der chemischen Zusammensetzung der Beeren und des daraus hergestellten Weines. Im Gegensatz zur Edelfäule, die reitsüßen Weißweinen ihr spezifisches Aroma („*Botrytis*-Ton“: Aprikosen, Honig, Rosinen) verleiht, bewirkt Graufäule oft unerwünschte und negative Effekte hinsichtlich der Weinqualität, was hauptsächlich durch die Maskierung und den Abbau von Aromastoffen sowie der Bildung von „Off-flavour“-Verbindungen verursacht wird. Diese Trauben und Weine sind durch dumpf-muffige, erdige und „pilzige“ Gerüche charakterisiert, die u. a. durch 1-Octen-3-on, 1-Octen-3-ol oder Geosmin verursacht werden. Kontaminierte Trauben sind oft auch extrem bitter. Die gebildeten Stoffwechselprodukte können meist nicht aus dem Wein (bspw. mittels Behandlungsmittel) entfernt werden, was zu einer erheblichen Qualitätsminderung der Weine führt (Ribéreau-Gayon et al., 2006a & 2006b; Hong et al., 2011).

4.7.2.2 Essigsäure (Flüchtige Säure)

Essigsäurebakterien sind für die Bildung von Essigsäure in wahrnehmbaren Mengen verantwortlich. Die Essigsäure, die den größten Anteil (mindestens 85 %) an den flüchtigen Säuren im Wein ausmacht, zählt ab Konzentrationen von 300 mg/L (Erkennungsschwelle) zu einem häufigen Weinefehler. Die Wahrnehmungs- und Erkennungsschwelle für Essigsäure sind rund 100-mal höher als die für Ethylacetat. Nach Essig riechende Weine sind scharf sauer und zeichnen sich durch einen reizenden

Geruch aus einer Kombination von Essigsäure und Ethylacetat aus. Essigsäurekonzentrationen im Wein sollten 0,7 g/L nicht übersteigen (Jackson, 2009).

4.7.2.3 Ethylacetat

Verderbnisorganismen sind die häufigste Quelle des Fehlromas „Ethylacetat“ im Wein. Ethylacetat kommt häufiger in Weißweinen als in Rotweinen vor. Je nach Konzentration entstehen unterschiedliche Geruchs- und Geschmacksempfindungen. Bei Konzentrationen unter 50 mg/L führt Ethylacetat zu einer Duftnote, die von der Mehrheit der Konsumenten als positiv empfunden wird. Bei Konzentrationen über 100 mg/L beginnt es, einen negativen Einfluss auf den Wein auszuüben; ab 150 mg/L wird Ethylacetat als deutlicher Weinefehler in Form eines Lösungsmittel- bzw. Klebstoffgeruchs wahrgenommen (Jackson, 2009).

4.7.2.4 Fruchtig/klar/sauber

Fruchtig ist ein Ausdruck für das Aroma eines Weines, der sich auf den Geruch und den Geschmack bezieht. Besonders aromatische Rebsorten liefern Weine mit einem an Obstarten erinnernden Ton (z. B. Pfirsich, Erdbeere).

Zur Beschreibung des Rieslingaromas werden häufig die Attribute Apfel, Grapefruit, Weinbergspfirsich, Rosenblüte, Honig und frisches Gras verwendet.

Weine der Rebsorte Müller-Thurgau werden mit Begriffen wie grüner Apfel, Zitrone, schwarze Johannisbeere, Geranie, Muskatnuss und grüne Paprika beschrieben.

Bei Grauburgunder werden typischerweise Ananas, Aprikose, Zitrone und grüne Bohne zur Aromabeschreibung herangezogen.

Die rote Rebsorte Spätburgunder wird mit Aromabeschreibungen nach Erdbeeren, Brombeeren und Veilchen charakterisiert (Jakob, 2012).

Die genannten Aromaeindrücke sind jedoch stark von der Vinifikationsart abhängig (Darting, 2012).

Frische Weine sind junge, lebendig wirkende Weine, die meist aus gesundem Lesegut hergestellt werden. Sie können durch die enthaltene Kohlensäure „spritzig“ sein (Jakob, 2012).

Reintönig/sauber ist ein Wein, bei dem keinerlei den Geruch und Geschmack beeinträchtigende Vorgänge stattgefunden haben (Jakob, 2012).

4.7.2.5 Körper/Dichte/Komplexität

Die Produktion und Akkumulation von Glycerin führt zu einer Steigerung des Mundgefühls („Körper“) *Botrytis*-belasteter Weine, da es die Weine schwer und viskos erscheinen lässt. Glycerin schmeckt süßlich und hinterlässt ein cremiges Mundgefühl (Jackson, 2008; Darting, 2012). Dünn bzw. leicht ist ein Wein, bei dem man „Körper“ (Alkohol und/oder Extrakt) vermisst (Jakob, 2012). „Komplexität“ ist im Wein sehr erwünscht und bezeichnet das Vorhandensein vieler Aroma- und Geschmacksverbindungen (Jackson, 2009).

4.7.2.6 Farbe

Die Farbe ist vor allem bei der Beurteilung von Rotweinen sehr wichtig, sodass der Gewinnung ausreichenden Farbstoffes und dessen Stabilisierung bei der Weinherstellung sehr viel Aufmerksamkeit geschenkt wird. Dies kann u. a. durch weinbauliche Anbaumethoden, wie Selektion gesunder Trauben und Verhinderung von Fäulnis, sowie optimale Extraktion der Farbe aus den Trauben bei der Verarbeitung, erreicht werden. Die Anthocyane sind beim Rotwein die bedeutendsten Farbträger (Jakob, 2012). Durch einen *Botrytis*-Befall der Beeren kommt es durch die Laccase zur Oxidation der Anthocyane und damit zur Braunfärbung der Weine (siehe Kapitel 4.6.3.6) (Jakob et al., 1997).

Die Farbe von Weißweinen kann von hellgrün bis goldgelb reichen. Fehlerhaft ist jedoch eine Braunfärbung der Weißweine durch *Botrytis* (Hochfärbigkeit, siehe Kapitel 4.5.2.1) (Jakob, 2012).

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Allgemeines zur Ergebnisdarstellung und Diskussion

Durch die Fraktionierung großer Mengen (Tonnen) an Trauben mittels **vollautomatisch-optischer Traubensortierung** konnten **erstmalig** Ergebnisse hierzu unter **authentischen Bedingungen** generiert werden, d. h. Moste und Weine im üblichen **Praxismaßstab** erzeugt werden. Neben den Mosten konnten die korrelierenden Weine der einzelnen Fraktionen aller Versuche aufgrund deren standardisierter Herstellung gegenübergestellt und bewertet werden. Demgegenüber beziehen sich die zur Diskussion herangezogenen Werte aus der Literatur meist auf Moste bzw. Weine, die nur in geringen Mengen (im Labormaßstab) hergestellt bzw. als Handelsware (oft ohne bekannten Hintergrund) erworben wurden.

5.1.1 Probenbezeichnung

Zur detaillierten Probenbeschreibung wurde folgende Kennzeichnung gewählt: Die Versuchsproben (V) des Jahrgangs 2010 sind mit V1-2010 bis V6-2010 und des Jahrgangs 2011 mit V1-2011 bis V9-2011 gekennzeichnet. Die Versuchszahlen ergeben sich aus dem Zeitpunkt der Lese in aufsteigender Reihenfolge. Die nachfolgenden Abkürzungen stehen für folgende Rebsorten: Rsl=Riesling, GrB=Grauburgunder, MTh=Müller-Thurgau und SpB=Spätburgunder. Die Versuchsfractionen sind mit Kon=Kontrolle, Saft=Saftvorlauf, pos=Positivfraktion und neg=Negativfraktion bezeichnet. Zum Überblick sind die untersuchten weißen bzw. roten Rebsorten mit „weiß“ und „rot“ in der Diagrammfläche gekennzeichnet.

5.1.2 Ergebnisdarstellung

Die **Kontrolle** sowie die zugehörigen Sortierfraktionen **Saftvorlauf**, **Positiv** und **Negativ** eines Versuches werden im folgenden Ergebnis- und Diskussionsteil hinsichtlich der untersuchten analytischen Parameter sowohl einzeln, als auch im Vergleich, diskutiert. Durch die Gegenüberstellung der Ergebnisse der einzelnen Fraktionen kann die Effizienz der vollautomatisch-optischen Traubensortierung hinsichtlich einer Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit bewertet werden.

Bei den einzelnen Parametern kann eine Rebsortenabhängigkeit in den Versuchen aus statistischen Gründen nicht nachvollzogen werden. Vermutlich lassen sich die vereinzelt auftretenden Differenzen auf die unterschiedlich fortgeschrittenen Fäulnisbelastungen, bedingt durch die unterschiedlichen Lesezeitpunkte, zurückführen.

Sowohl die Gärgut- als auch die Weinfraktionen jedes Versuches wurden getrennt auf statistisch signifikante Unterschiede (Konfidenzintervall 95 %; $p=0,05$) hin untersucht. Die Bezeichnungen a, b, c und d beziehen sich auf die Signifikanzen der Gärgutfraktionen; A, B, C und D auf die Signifikanzen der Weinfraktionen. Von einer statistischen Betrachtung der Signifikanzen zwischen Gärgut- und Weinproben der einzelnen Fraktionen wurde abgesehen.

5.2 Ergebnisse der Bonitur/Selektionsquoten

Tabelle 6: Ergebnisse der Bonitur der Sortiersversuche der Jahrgänge 2010 und 2011

Versuchs- bezeichnung	Fäulnisart	Selektions- quote	Anteil negativer Beeren in Kontrolle	Anteil positiver Beeren in Negativ- fraktion	Anteil negativer Beeren in Positiv- fraktion	Anteil Saft
		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
V1-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	99,5	44,0	16,6	0,2	5,1
V2-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	99,2	49,7	15,6	0,4	1,0
V3-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	98,3	23,1	12,6	0,4	6,3
V4-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	95,3	24,2	35,7	1,1	33,2
V5-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	98,5	44,7	8,4	0,7	1,4
V6-2010-Rsl	<i>Botrytis</i>	96,7	13,3	21,8	0,4	15,9
<hr/>						
V1-2011-GrB	<i>Botrytis</i>	59,2	24,5	38,8	10,0	13,0
V2-2011-MTh	<i>Botrytis</i> +Schwarzfäule	98,0	10,8	13,6	0,2	14,6
V3-2011-MTh	<i>Botrytis</i> + <i>Peronospora</i>	98,6	7,0	19,9	0,1	20,4
V4-2011-SpB	<i>Botrytis</i>	71,5	24,1	11,9	6,8	18,3
V5-2011-Rsl	<i>Botrytis</i> +Essigfäule	99,4	18,8	11,5	0,1	6,2
V6-2011-Rsl	<i>Botrytis</i>	97,5	4,9	15,4	0,1	16,5
V7-2011-GrB	<i>Botrytis</i> +Essigfäule	68,8	5,7	57,2	1,8	8,6
V8-2011-Rsl	<i>Botrytis</i>	89,6	9,8	20,1	1,0	7,4
V9-2011-Rsl	<i>Botrytis</i>	89,5	12,7	52,9	1,3	36,9

In Tabelle 6 sind die Boniturergebnisse der Jahrgänge 2010 und 2011 dargestellt. Im Jahr 2010 wurden nur Trauben der Rebsorte Riesling sortiert. Neben einem *Botrytis*-Befall konnten keine weiteren Fäulnisarten festgestellt werden. Mit Fäulnisgehalten von 13,3-49,7 % (durchschnittlich 33,2 %) war die Befallsrate sehr hoch. Dennoch konnten hier sehr hohe Selektionsquoten von über 95 % mittels vollautomatisch-optischer Traubensortierung erreicht werden, d. h. 95 % der faulen Trauben konnten aus dem ursprünglichen Lesegut (Kontrolle) entfernt werden.

Im Jahr 2011 wurden neben Riesling-Trauben auch Grauburgunder-, Müller-Thurgau- und Spätburgunder-Trauben sortiert. Neben einem *Botrytis*-Befall konnten hier Sekundärinfektionen, vor allem mit Essigfäule (V5 und V7), auf den Trauben festgestellt werden. Die Fäulnisgehalte waren hier mit 4,9-24,5 % (durchschnittlich 13,1 %) jedoch geringer im Vergleich zu 2010. Bei der Rebsorte Riesling konnten auch hier hohe Selektionsquoten von über 90 % erzielt werden. Bei den Grauburgunder-Versuchen V1-2011 und V7-2011 lagen demgegenüber geringere Selektionsquoten von 59,2 bzw. 68,8 % vor. Grund hierfür sind die schleichenden Farbübergänge der Grauburgunder-

Beeren (gesund-bräunlich zu faul-bräunlich), wodurch auch bei der Bonitur eine subjektive Bewertung vorlag. Auffällig bei diesen Versuchen waren auch die hohen Anteile positiver Beeren in den Negativfraktionen. Hier muss berücksichtigt werden, dass viele gesunde, aber unreife Beeren beim Grauburgunder vorhanden waren. Da bei der durchgeführten Bonitur nur eine Klassifizierung zwischen faulem und gesundem Lesegut vorgenommen wurde, wurden die unreifen, aber gesunden Beeren hier auch als negativ definiert. Dadurch entstanden die hohen Anteile „positiver“ (unreif-gesunder) Beeren in den Negativfraktionen.

Beim Riesling-Versuch V9-2011 wurden ebenfalls hohe Anteile gesunder Beeren in der Negativfraktion festgestellt. Bei diesem Versuch wurde das Lesegut im Verfahrensablauf durch eine Drehkolbenpumpe befördert, wodurch das Lesegut mechanisch stärker beansprucht wurde. Folglich lagen viele Beerenhäute auch gesunder Beeren einzeln vor, die während des Sortierprozesses am Sortierförderband hafteten. Infolge der maschinellen Konstruktion „fielen“ diese in die Negativfraktion.

Beim Spätburgunder sind die Farbunterschiede zwischen faulen und gesunden Beeren im Allgemeinen sehr gering, wodurch die Detektion mittels Kamera sehr schwierig ist. Daher wurde der NIR-Laser zugeschaltet, der zusätzlich die Strukturen der Beeren erkennt (Kapitel 4.1.2.4). Insgesamt konnte auch hier nur eine geringere Selektionsquote von 71,5 % erreicht werden. Im Vergleich zur Kameradetektion alleine, bei der nur eine Selektionsquote von 40 % erreicht wurde, führte die kombinierte Verwendung von Kamera und NIR-Laser somit zu einer deutlich höheren Selektionsquote.

Bei Betrachtung des Saftanteils kann festgestellt werden, dass beim Maschinenlesegut höhere Saftanteile vorlagen als beim Handlesegut, was mit der erhöhten mechanischen Belastung der Beeren bei der maschinellen Lese erklärt werden kann. Bei den Burgunder-Rebsorten waren auch bei der Handlese höhere Saftanteile festzustellen. Die Beeren dieser Rebsorten sind bei einem gewissen Reifegrad sehr groß und lösen sich leicht von den Rappen ab, wodurch beim Transport des Lesegutes auch Saft austreten kann. Vor allem bei den handgelesenen Riesling-Versuchen des Jahres 2010 war der Saftanteil nur gering, was sich aus der Kompaktheit der Trauben sowie der kleineren Beerengröße ergibt.

Fazit

Der Traubensortierer wurde bei allen Rebsorten bestmöglich eingestellt und kalibriert, um optimale Sortierergebnisse zu erzielen. Bei den weißen Rebsorten Riesling und Müller-Thurgau konnten Selektionsquoten von über 90 % erreicht werden. Bei Grauburgunder und beim Spätburgunder lagen schwierigere Selektionsbedingungen vor, woraus folglich niedrigere Selektionsquoten resultierten.

5.3 Mykotoxine

5.3.1 Methoden-Etablierung zur Bestimmung von Mykotoxinen in Mosten und Weinen

Die Etablierung der im Folgenden dargestellten Multi-Mykotoxin-Methode und die Bestimmung der Mykotoxine in Mosten und Weinen erfolgte in Kooperation mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Berlin im Nationalen Referenzlabor für Mykotoxine unter Betreuung von Herrn Dr. Horst-Stefan Klaffke.

5.3.1.1 Überblick

Aufgrund ihrer Toxizität und ihres Vorkommens sowie der weltweiten Höchstmengen-Regelungen besteht ein großer Bedarf an selektiven und genauen Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung von Mykotoxinen. Mittels des HPLC-MS/MS-Messverfahrens kann eine große Bandbreite an Verbindungen unterschiedlicher Molekülmasse und Polarität gleichzeitig bestimmt werden (Zöllner, Mayer-Helm, 2006; Capriotti et al., 2012).

In der Literatur sind bereits einige Multi-Mykotoxin-Methoden beschrieben, die u. a. für Getreideerzeugnisse und Gewürze angewendet werden. Die komplexen Lebensmittel- und Futtermittel-Matrizes sind jedoch der Grund, dass diese Methoden auf die jeweilige Matrix hinsichtlich Probenaufarbeitung und HPLC-MS/MS-Bedingungen angepasst bzw. neu entwickelt werden müssen. Speziell für Moste und Weine ist nach derzeitigem Kenntnisstand keine Multi-Mykotoxin-Methode vorhanden, weshalb die im Folgenden dargestellte Methode mittels HPLC-MS/MS und zugehöriger Probenaufarbeitung zur Bestimmung der Sortierproben entwickelt und validiert wurde. Da es bei einer Multi-Methode, bei der eine Vielzahl an Analyten mit unterschiedlichen Eigenschaften untersucht werden soll, nicht möglich ist, vor allem bei der Aufarbeitung optimale Extraktionsbedingungen für jedes einzelne Mykotoxin zu schaffen, sollte eine solche Methode als Screening-Verfahren angesehen werden. Bei einem Positivbefund sollten daher Einzelmethoden zur genaueren Verifizierung herangezogen werden.

Im Folgenden werden zunächst Eigenschaften sowie Vor- und Nachteile ausgewählter Methoden zur Bestimmung einzelner Mykotoxine dargestellt, die bei Mosten/Traubensäften und Weinen angewendet werden.

5.3.1.1.1 Bestimmung von Ochratoxin A (OTA)

In der Literatur sind zahlreiche Methoden zur Bestimmung von OTA beschrieben. Zur Probenaufarbeitung von Weinen werden häufig Immunoaffinitätssäulen (IA) verwendet (Thellmann, Weber, 1997), aber auch SPE-Säulen mit C18-Phasen (Zöllner et al., 2000; Siantar et al., 2003) und OASIS HLB-Phasen (Sáez et al., 2004). IA-Säulen zeichnen sich durch ihre hohe Wiederfindung aus (Leitner et al., 2002); sie sind aber kostenintensiv und nicht lange haltbar.

Die Bestimmung von OTA in unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes erfolgt häufig mittels HPLC-FLD (Thellmann, Weber, 1997; Festas et al., 2000; Siantar et al., 2003; §64 LFGB L 36.00-13), aber auch mittels HPLC-MS/MS (Zöllner et al., 2000).

Gemäß der offiziellen Methode 2001.01 der AOAC (Association of Analytical Communities) sowie der DIN EN 14133:2009 erfolgt die Bestimmung von Ochratoxin A in Bier und Wein mittels IA-Aufarbeitung und anschließender Detektion mittels HPLC-FLD.

5.3.1.1.2 Bestimmung von Patulin

In der Literatur sind mehrere Methoden zur Probenaufarbeitung und quantitativen Bestimmung von Patulin beschrieben, wobei es sich meist um zeitaufwendige Extraktionsverfahren mit hohem Lösungsmittelverbrauch handelt (Bergner-Lang et al., 1983; Eder et al., 1994). Als offizielle Bestimmungsmethode für Patulin in Apfelsäften mittels HPLC-UV gilt die AOAC Methode 2000.02, die für Patulinkonzentrationen >25 ng/g geeignet ist. Da Patulin in alkalischen Lösungen nicht stabil ist, müssen bestimmte Verfahrensschritte dieser Methode schnell durchgeführt werden, um Patulin-Verluste zu vermeiden. Aufgrund möglicher Verluste während der Probenaufarbeitung wird derzeit nach alternativen Methoden zur Patulin-Bestimmung geforscht (Klaffke, 2013).

Patulin und 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) zeigen vergleichbare chromatographische Eigenschaften auf, bedingt durch ihre ähnlichen Molekülstrukturen (Abbildung 86), weshalb HMF als Hauptstörschubstanz bei der Bestimmung von Patulin gilt (Da Silva et al., 2007). HMF entsteht bei thermischer Behandlung von Lebensmitteln (Maillard-Reaktion) (u. a. auch bei Traubensaft und Rotwein infolge der Maischeerhitzung); bei Fruchtsäften wird HMF als Indiz für eine zu starke, technologisch vermeidbare Hitzebelastung angesehen. HMF entsteht aber auch bei der Lagerung der Säfte (Römpp Online, 2013).

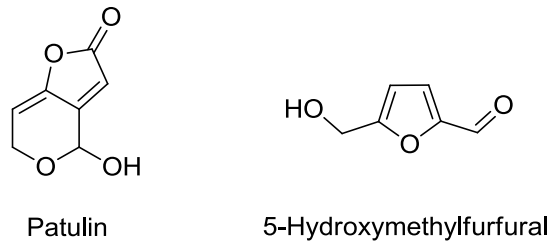


Abbildung 86: Strukturen von Patulin und 5-Hydroxymethylfurfural

5.3.1.1.3 Bestimmung von Citrinin

Für Citrinin existieren zahlreiche Bestimmungsmethoden, die sich jedoch stark in ihrer Empfindlichkeit und Genauigkeit unterscheiden. Aufgrund der Instabilität von Citrinin schwanken die Wiederfindungsraten nach der Probenaufarbeitung in der Literatur zwischen 28-99 % und die Variationskoeffizienten zwischen 21-113 % (Xu et al., 2006; EFSA, 2012).

5.3.1.1.4 Bestimmung von *Alternaria*-Toxinen

Aufgrund der Unterschiede in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Analyten und der strukturellen Variabilität der *Alternaria*-Toxine (organische Säuren, Peptide, aliphatische und aromatische Zyklen) ergeben sich Probleme bei der Probenaufreinigung und der Analyt-Extraktion. Nach derzeitigem Kenntnisstand wird auf einfache Extraktionen und Probenverdünnungen zurückgegriffen, da noch keine Immunoaffinitätssäulen für die *Alternaria*-Toxine verfügbar sind (Lorenz et al., 2012).

5.3.1.2 Probenaufarbeitung – Verfahrenstests

Im Rahmen der Etablierung einer geeigneten Aufarbeitungsmethode zur Bestimmung von Mykotoxinen in Mosten und Weinen wurden verschiedene Verfahren getestet. Bei den im Folgenden beschriebenen Verfahren wurden jeweils ein Standard (50 ng/mL Multi-Mykotoxin-Mix in 10 % Ethanol), eine Leerprobe (weißer Traubensaft bzw. Rieslingwein; siehe Tabelle 7) und zwei aufdotierte Proben (weißer Traubensaft und Rieslingwein mit Multi-Mykotoxin-Mix aufdotiert; wiederzufindende Konzentration nach Aufarbeitung unter Berücksichtigung von Verdünnungen: 50 ng/mL) aufgearbeitet.

Tabelle 7: Etikett-Angaben der verwendeten Säfte und Weine zur Validierung der Multi-Mykotoxin-Methode

Weißwein	Riesling trocken, Staatsweingut Mosel, Bernkastel-Kues, 2010, 0,75 L
Weißer Traubensaft	Weinbaudomäne Trier, 2010, 0,75 L
Rotwein	Lemberger trocken, Württemberg, Württembergische Weingärtner Zentralgenossenschaft Möglingen, 2010, 0,75 L
Roter Traubensaft	Merlot Traubensaft rot, Demeter Voelkel, Merlot-Trauben aus Italien, 0,7 L

5.3.1.2.1 Aufreinigung mittels SPE

In Anlehnung an die Methode von Romero-González et al. (2009) wurden die beiden SPE-Phasen Sep Pak Plus C18 (360 mg) und OASIS plus HLB (225 mg) getestet. Mit dieser Methode wurden jedoch keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt.

5.3.1.2.2 Aufreinigung mittels MonoSpin C18

Bei MonoSpin C18 handelt es sich um monolithische Säulen zur Aufreinigung und Anreicherung kleiner Probevolumen, was durch Zentrifugation leicht und schnell erreicht wird (Abbildung 87). Jedoch konnten auch hier wie bei der konventionellen SPE keine zufriedenstellenden, reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden.

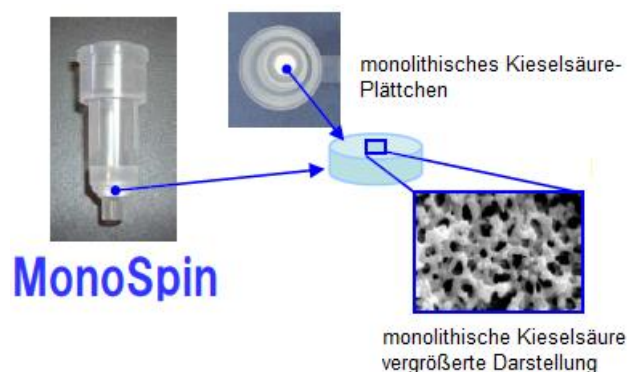


Abbildung 87: Aufbau einer monolithischen SPE-Säule (modifiziert nach: <http://www.glsciences.com/c-product/sample/solid/monospin-series>)

5.3.1.2.3 Aufreinigung mittels Zentrifugation

Bei der Zentrifugation wurden die Proben bei 14500 rpm und 10 °C für 10 min zentrifugiert und der Überstand in Vials überführt. Hier war die Messstabilität des Systems aufgrund der Matrixeffekte nicht gewährleistet. Bei der Direktinjektion von Traubensaft- und Weinproben wäre folglich die Standzeit des Gerätes zu lang; weiterhin könnten durch Verschleppung „falsch-positive“ Ergebnisse erhalten werden. Aufgrund der genannten Nachteile wurde auch von dieser Aufreinigungsmethode abgesehen.

5.3.1.2.4 Abdampfen

Die Proben wurden unter Stickstoff (45 °C, 3 h) zur Trockne eingeengt und in 10 % Ethanol aufgenommen. Auch hier kam es zu Störungen der Messgenauigkeit durch Matrixeffekte, weshalb diese Methode zur Aufarbeitung ungeeignet war.

5.3.1.2.5 QuEChERS

Die von Anastassiades et al. (2007) entwickelte QuEChERS-Methode (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe) wurde zur Aufarbeitung der Gärgut- und Weinproben getestet. Dieses Verfahren wird hauptsächlich zur Pestizid-Rückstands-Analytik eingesetzt. Die QuEChERS-Aufarbeitung stellt eine Vereinfachung der traditionellen Flüssig-Flüssig-Extraktion dar. Als Vorteile dieses Verfahrens gelten dessen Schnelligkeit, Einfachheit und Robustheit (wenige, einfache Schritte), geringer Lösungsmittelverbrauch (10 mL Acetonitril), geringe Kosten, Eignung der Acetonitril-Extrakte für GC- und HPLC-Applikationen und hohe Wiederfindungsraten innerhalb eines großen Polaritätsbereiches der Verbindungen (Anastassiades et al., 2007; Jiang et al., 2009). Zur Phasentrennung werden u. a. grobkörniges Magnesiumsulfat (wasserfrei, MgSO₄) und Natriumchlorid (NaCl) verwendet (Anastassiades et al., 2007). Die hohe Salzkonzentration in der wässrigen Phase führt zum Übergang der polaren Analyten in die etwas unpolare Acetonitrilphase (Rasmussen et al., 2010).

Eine modifizierte QuEChERS-Methode zur Multi-Mykotoxin-Analytik von Maisproben wurde erstmals von Rasmussen et al. (2010) erfolgreich angewendet. Die Eignung dieser Aufarbeitungsmethode zur Extraktion der gewünschten, strukturell sehr unterschiedlichen Mykotoxine aus den Gärgut- und Weinproben des Sortierprojektes konnte in Testversuchen bestätigt werden, weshalb diese Extraktionsmethode für die eigenen Untersuchungen modifiziert wurde.

5.3.1.3 Etablierung einer QuEChERS-Aufarbeitungsmethode zur Bestimmung von Mykotoxinen in Mosten und Weinen

5.3.1.3.1 Stabilisierung der Gärgutproben

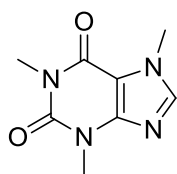
Die Gärgutproben wurden bis zur Aufarbeitung bei -25 °C gelagert, da eine Stabilität von Patulin bei Temperaturen von -22 °C gewährleistet ist (Netzer et al., 1998). In Anlehnung an die Beobachtungen von Majerus et al. (2008) wurden die Gärgutproben (50 mL) direkt zu Beginn des Auftauprozesses durch Zugabe einer Natriumazid-Tablette (1 Tablette mit 8 mg Natriumazid; c=160 mg/L) stabilisiert, um den Abbau des Patulins während des

Auftauprozesses und der Lagerung bei Raumtemperatur bis zum Aufarbeitungszeitpunkt zu verhindern.

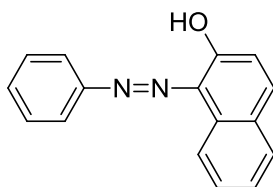
5.3.1.3.2 Herstellung der Lösungen der Internen Standards

Methodenkorrigierende Interne Standards

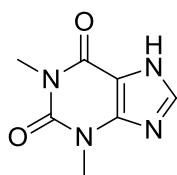
Als methodenkorrigierender Interner Standard wurde eine Lösung mit den Verbindungen Coffein, Theophyllin, Nicarbazin und Sudanrot I (Abbildung 88) der Konzentration 1 µg/mL in Acetonitril (ACN) hergestellt, um den weitreichenden Polaritätsbereich der Trennung abdecken zu können. Coffein und Sudanrot sollten im positiven Ionisationsmodus und Theophyllin und Nicarbazin im negativen Ionisationsmodus zur Korrektur möglicher Verluste während der Probenaufarbeitung herangezogen werden. Diese Verbindungen zeichnen sich durch strukturelle Ähnlichkeiten mit den Mykotoxinen aus. Weiterhin wurden sie gewählt, um innerhalb der Messlaufzeit von 10 min eine Korrektur sowohl der polaren Mykotoxine mit kurzen als auch der unpolaren Mykotoxine mit längeren Retentionszeiten zu gewährleisten. Wie sich jedoch bei der Auswertung der Ergebnisse gezeigt hat, war die Stabilität dieser Verbindungen in den untersuchten Matrices nicht gegeben, weshalb von deren Verwendung bei der Ergebnisermittlung abgesehen wurde.



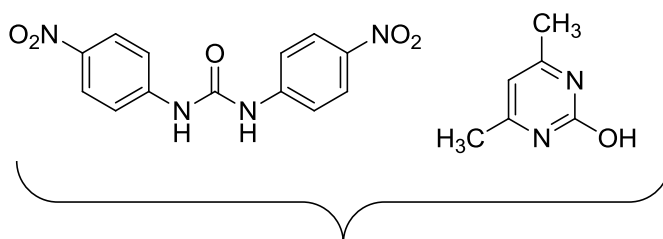
Coffein



Sudanrot I



Theophyllin



Nicarbazin

Abbildung 88: Strukturen der Verbindungen, die als methodenkorrigierende Interne Standards getestet wurden

Ionisationskorrigierende ^{13}C -stabilisotopenmarkierte Interne Standards

Ionen-Suppression und -Enhancement sind matrixbedingt und haben eine negative Auswirkung auf die Messung mittels HPLC-MS in Hinsicht auf bspw. Nachweis- und Bestimmungsgrenze, Präzision und Richtigkeit (Boyd et al., 2008).

Bei der vorliegenden Methodenetablierung wurden ^{13}C -stabilisotopenmarkierte Standards zur Ermittlung von Suppression bzw. Enhancement bei der Ionisation eingesetzt. Dazu wurde eine Lösung der Konzentration 1 mg/mL in ACN mit folgenden ^{13}C -markierten Isotopen (Lösungsmittel der Stammlösungen siehe Kapitel 8.1.4) angesetzt:

$^{13}\text{C}_{15}$ -Deoxynivalenol, $^{13}\text{C}_{34}$ -Fumonisin B₁, $^{13}\text{C}_{34}$ -Fumonisin B₂, $^{13}\text{C}_{17}$ -Mycophenolsäure, $^{13}\text{C}_{15}$ -Nivalenol, $^{13}\text{C}_{20}$ -Ochratoxin A, $^{13}\text{C}_7$ -Patulin, $^{13}\text{C}_{22}$ -HT-2 Toxin, $^{13}\text{C}_{24}$ -T-2 Toxin, $^{13}\text{C}_{18}$ -Zearalenon

5.3.1.3.3 Modifizierte QuEChERS-Aufarbeitung für Moste und Weine

Zur Bestimmung der Mykotoxine in den Gärgut- und Weinproben wurde die im Folgenden dargestellte, modifizierte QuEChERS-Methode nach Rasmussen et al. (2010) angewendet (Schema siehe Abbildung 89).

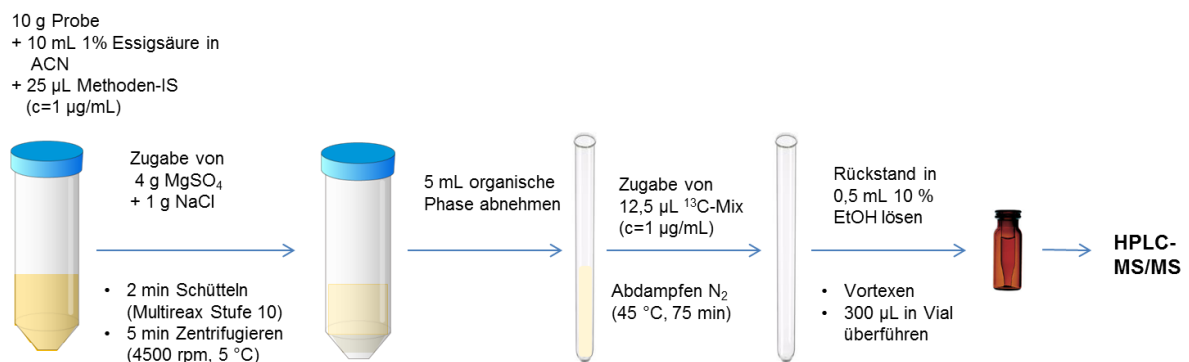


Abbildung 89: Schema der Durchführung der modifizierten QuEChERS-Methode

10 g Gärgut bzw. Wein wurden in ein 50 mL Falcon eingewogen (hier wurde kein Volumen von 10 mL pipettiert, um mögliche Dichteunterschiede der Gärgut- und Weinproben auszugleichen) und mit 25 µL des methodenkorrigierenden Internen Standards (Methoden-IS; c=1 µg/mL) versetzt. Zur Probe wurden 10 mL 1%-ig essigsäures ACN pipettiert (Ansäuerung zur Pufferung des pH-Wertes). Nach Zugabe des Salzgemisches, bestehend aus 4 g MgSO_4 und 1 g NaCl, wurde der Ansatz mittels Multireax für 2 min bei Stufe 10 geschüttelt. Anschließend wurden die Proben bei 4500 rpm und 5 °C für 5 min zentrifugiert. Nach Überführung von 5 mL der organischen Phase in ein silanisieretes Reagenzglas und Zugabe von 12,5 µL an ^{13}C -markiertem Standardmix (mit c=1 µg/mL) wurde mittels Vortex gemischt. Die Proben wurden bei

45 °C unter Stickstoff zur Trockne (ca. 75 min) eingeengt. Der Rückstand wurde in 500 µL 10 %-igem EtOH aufgenommen und mittels Vortex vollständig gelöst. 300 µL des Überstandes wurden in Vials mit Inserts überführt und zur Messung eingesetzt.

5.3.1.3.4 Synthese von Methyl-/Ethyl-OTA/OTB

Die Derivatisierung von OTA bzw. OTB zu den entsprechenden Methyl- und Ethylderivaten erfolgte nach der Methode von Zimmerli und Dick (1995), mit geringen Modifikationen.

Hierzu wurden je 1 mL OTA der Konzentration 1 mg/mL bzw. je 400 µL OTB der Konzentration 1 mg/mL bei 40 °C mittels Stickstoff zur Trockne eingeengt. Zur Herstellung der Methylderivate wurden die OTA- bzw. OTB-Rückstände in 2,5 mL MeOH aufgenommen, 0,1 mL HCl (37 %, rauchend) hinzugefügt und 3 Tage bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Herstellung der Ethylderivate erfolgte analog mittels Aufnahme der Rückstände in EtOH. Zur weiteren Aufarbeitung wurden die Lösungsmittel bei 40 °C unter Stickstoff zur Trockne eingeengt. Bei Methyl-/Ethyl-OTA wurde der Rückstand in 1 mL ACN zur Herstellung der entsprechenden Stammlösungen der Konzentration 1 mg/mL aufgenommen; bei Methyl-/Ethyl-OTB wurde der Rückstand in 800 µL ACN zur Herstellung der entsprechenden Stammlösungen der Konzentration 0,5 mg/mL aufgenommen. Zur Überprüfung der vollständigen Reaktion wurden Verdünnungen der Konzentration 333 ng/mL hergestellt und mittels HPLC-MS/MS vermessen. Da bei den Retentionszeiten von OTA bzw. OTB keine Peaks identifiziert wurden, konnte von einer vollständigen Reaktion der beiden Ochratoxine zu den entsprechenden Derivaten ausgegangen werden. Damit war die Umsetzung bei den durchgeführten Derivatisierungen höher als die in der Literatur (Zimmerli, Dick, 1995) beschriebene Umsetzung von 85 %, was auf die längere Reaktionszeit von 3 Tagen zurückgeführt werden kann.

5.3.1.3.5 Kalibrierung

Je nach Mykotoxin wurden in Abhängigkeit der Messempfindlichkeit bzw. der in Mosten/Weinen erwarteten Konzentrationen unterschiedliche Kalibrierbereiche gewählt. Zur externen Kalibrierung der zu untersuchenden Analyten wurde zunächst eine Multi-Stammlösung der Konzentrationen 1 µg/mL bzw. 2 µg/mL (je nach Mykotoxin) in 10 % EtOH angesetzt. Hierfür wurden die entsprechenden Volumina aus den Stammlösungen der einzelnen Mykotoxine (überwiegend in ACN, MeOH und EtOH gelöst, siehe Tabelle 8 und Tabelle 9) in einen 10 mL Messkolben pipettiert, die Lösungsmittel unter Stickstoff abgedampft und die Rückstände in 10 % EtOH aufgenommen. Für den Kalibrierbereich

von 1-50 ng/mL in 10 % EtOH wurden folgende Konzentrationsstufen gewählt: 1, 5, 10, 20, 30, 40 und 50 ng/mL; für den Kalibrierbereich von 2-100 ng/mL ergaben sich die doppelten Konzentrationsstufen mit 2, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ng/mL. Die kleinsten Kalibrierstandards der Konzentrationen 1 und 5 ng/mL (bzw. entsprechend 2 und 10 ng/mL) wurden aus einer Zwischenverdünnung der Konzentration 100 ng/mL angesetzt; die Standards mit den höheren Konzentrationen wurden aus der Multi-Stammlösung angesetzt. In Tabelle 8 und Tabelle 9 sind die untersuchten Mykotoxine mit den zugehörigen Lösungsmitteln, Kalibrierbereichen, Kalibrierfunktionen, Bestimmtheitsmaßen, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen angegeben.

Tabelle 8: Lösungsmittel, Kalibrierbereiche, Kalibrierfunktionen, Bestimmtheitsmaße, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Mykotoxine im positiven ESI-Modus

Mykotoxin ESI ⁺	Lösungs- mittel Stamm- lösung	Kalibrier- bereich [ng/mL]	Kalibrierfunktion	Bestimm- theitsmaß R ²	Nachweis- grenze [ng/mL]	Erfassungs- grenze [ng/mL]	Bestimmungs- grenze [ng/mL]
Aflatoxin B ₁	ACN	1-50	y=1853,2x+60,995	0,9989	1,28	2,55	4,62
Aflatoxin B ₂	ACN	1-50	y=1101,2x-78,908	0,9985	1,51	3,01	5,42
Aflatoxin G ₁	ACN	1-50	y=1268,9x-54,99	0,9989	1,27	2,54	4,61
Aflatoxin G ₂	ACN	1-50	y=757,24x+171,44	0,9984	1,53	3,06	5,49
Altenuen	MeOH	1-50	y=3510,4x+786,11	0,9992	1,10	2,21	4,03
Beauvericin	ACN	1-50	y=1322x-1365,1	0,9994	1,39	2,78	5,33
Citreoviridin	ACN	10-100	y=214,8x+350,87	0,9992	2,53	5,06	9,38
Citrinin	MeOH	1-50	y=2526,4x+2382,5	0,9989	1,30	2,59	4,70
Cytochalasin H	EtOH	10-100	y=617,04x+1810,7	0,9980	3,45	6,90	12,32
Cytochalasin J	EtOH	10-100	y=2778,5x+957,05	0,9996	1,62	3,23	5,97
Diacteoxyascirpenol	ACN	1-50	y=4105,3x+317,42	0,9992	1,06	2,11	3,86
Deoxynivalenol	ACN	1-50	y=141,11x-81,789	0,9991	1,40	2,80	5,16
Fumonisin B ₃	ACN/H ₂ O 50/50	1-50	y=61,523x+149,93	0,9989	1,51	3,03	5,52
Fumonisin B ₁	ACN/H ₂ O 50/50	1-50	y=75,248x+11,05	0,9994	1,12	2,25	4,19
Fumonisin B ₂	ACN/H ₂ O 50/50	1-50	y=86,001x+44,18	0,9994	1,28	2,57	4,93
Griseofulvin	MeOH	1-50	y=3416,3x-1104,3	0,9987	1,40	2,81	5,07
HT-2 Toxin	ACN	1-50	y=1313,8x-405,21	0,9991	1,23	2,47	4,57
Roquefortin C	ACN	10-100	y=1561,9x+1677,2	0,9997	1,42	2,84	5,27
Sterigmatocystin	EtOH	1-50	y=1417x+1043,8	0,9993	1,07	2,14	3,99
T-2 Toxin	ACN	1-50	y=2515,8x+1151,3	0,9992	1,26	2,51	4,63
Tentoxin	EtOH	10-100	y=3467,6x+532,14	0,9990	2,47	4,94	8,97
Wortmannin	ACN	1-50	y=22,005x+47,271	0,9981	2,01	4,03	7,27

Tabelle 9: Kalibrierbereiche, Kalibrierfunktionen, Bestimmtheitsmaße, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Mykotoxine im negativen ESI-Modus

Mykotoxin ESI	Lösungsmittel Stamm-lösung	Kalibrierbereich [ng/mL]	Kalibrierfunktion	Bestimmtheitsmaß R ²	Nachweisgrenze [ng/mL]	Erfassungsgrenze [ng/mL]	Bestimmungsgrenze [ng/mL]
Alternariol	EtOH	1-50	$y=194,8x+566$	0,9994	1,08	2,16	3,98
Alternariolmonomethylether	EtOH	1-50	$y=44,191x+421,02$	0,9979	2,38	4,75	8,49
Moniliformin	MeOH	1-50	$y=532,69x+1022,6$	0,9980	1,72	3,44	6,13
Mycophenolsäure	ACN	10-100	$y=126,95x-311,08$	0,9976	5,55	11,09	19,55
Nivalenol	ACN	1-50	$y=33,673x-609,83$	0,9920	7,41	14,82	20,04
Ochratoxin alpha	ACN	1-50	$y=568,24x-201,78$	0,9994	1,17	2,33	4,34
OTA	ACN	1-50	$y=535,07x+701,82$	0,9985	1,80	3,61	6,55
Ethyl-OTA (OTC)	ACN	1-50	$y=421,76x-63,164$	0,9996	0,79	1,59	2,93
Methyl-OTA	ACN	1-50	$y=234,87x+196,88$	0,9985	1,79	3,59	6,52
OTB	ACN	1-50	$y=1421,4x+1414,7$	0,9982	1,61	3,21	5,76
Ethyl-OTB	ACN	1-50	$y=618,37x-541,82$	0,9986	1,30	2,60	4,73
Methyl-OTB	ACN	1-50	$y=334,06x+384,36$	0,9978	2,71	5,42	9,58
Patulin	ACN	10-100	$y=676,78x+379,81$	0,9991	2,68	5,36	9,83
Penicillinsäure	MeOH	1-10	$y=416,87x-474,88$	0,9995	0,89	1,78	3,28
Zearalenon	ACN	1-50	$y=739,17x+338,59$	0,9991	1,15	2,31	4,21

Die Toxine Fumagillin, Kojisäure, Tenuazonensäure, Cyclosporin A und Trichothecin waren ebenfalls in den Kalibrierstandards erhalten; jedoch konnten diese Analyten chromatographisch nicht erfasst werden, was möglicherweise auf unzureichende Methodenbedingungen für diese Toxine zurückzuführen ist. Trichothecin ist weltweit kommerziell nicht mehr verfügbar; der zur Verfügung stehende Standard wies aufgrund der langen Lagerung nicht mehr die entsprechende Qualität auf.

5.3.1.4 Chromatographische Erfassung der Mykotoxine

5.3.1.4.1 Überblick

Zur chromatographischen Bestimmung von Trichothecenen, Ochratoxinen, Zearalenon, Aflatoxinen, Beauvericin, Fumonisin und Mycophenolsäure mittels HPLC-MS/MS werden üblicherweise Reversed-Phase Materialien (u. a. RP-18) mit Methanol/Wasser und Acetonitril/Wasser-Mischungen als mobile Phase, sowohl im isokratischen als auch im Gradientenmodus, verwendet (Zöllner, Mayer-Helm, 2006; Capriotti et al., 2012).

Methanol kann im Vergleich zu Acetonitril die Empfindlichkeit des Massenspektrometers speziell bei B-Trichothecenen (u. a. DON, NIV) erhöhen. Ammoniumacetat und Essigsäure werden der mobilen Phase zugegeben, um den Ionisationsprozess im positiven und negativen Modus über Adduktbildung zu unterstützen und die chromatographische Trennung zu verbessern.

Die RP-Chromatographie von Ochratoxinen ist stark pH-Wert abhängig, weshalb der mobilen Phase Säuren, wie Essigsäure, für eine ausreichende chromatographische Retention zugesetzt werden. Auch bei der Mycophenolsäure können Essigsäure und deren Ammoniumsalze zu einem verbesserten Retentionsverhalten der Säure beitragen.

Bei Fumonisin wird der mobilen Phase ebenfalls Essigsäure zugesetzt, um die Analytretention und die chromatographische Trennleistung durch Protonierung der Carboxylgruppen zu verbessern. Mittels Massenspektrometrie werden die Fumonisine fast ausschließlich über ESI analysiert. Es werden hauptsächlich stabile deprotonierte $[M+H]^-$ im negativen oder protonierte $[M+H]^+$ Moleküle im positiven Ionisationsmodus mit keinem oder sehr geringem Fragmentierungsgrad gebildet.

Essigsäure und Ammoniumsalze werden auch bei der Bestimmung der Aflatoxine zur Unterstützung der Ionisation und zur Verbesserung der Trennung der mobilen Phase zugefügt. Durch Zugabe von Ammoniumsalzen zur mobilen Phase kann bei Aflatoxinen und bei Beauvericin eine gesteigerte Empfindlichkeit der MS-Detektion durch die Bildung von Ammonium-Addukt-Ionen erzielt werden.

Trotz des geringen Molekulargewichtes kann Patulin auf RP-Säulen gut von Matrixverbindungen getrennt werden. Wegen seines sauren Charakters kann Patulin besser im negativen als im positiven Ionisationsmodus ionisiert werden (Zöllner, Mayer-Helm, 2006).

Positive und negative ESI werden häufig in aufeinanderfolgenden Messungen angewendet, wenn eine Vielzahl an Verbindungen analysiert werden soll (Capriotti et al., 2012).

Basierend auf diesen Feststellungen wurden die genannten Bedingungen bei der eigenen Methoden-Etablierung berücksichtigt.

5.3.1.4.2 Etablierung der HPLC-MS/MS-Methode

Gerätespezifische Parameter

In Tabelle 10 sind die verwendeten Parameter zur analytischen Erfassung der Mykotoxine mittels HPLC-MS/MS dargestellt.

Tabelle 10: Geräteparameter zur Bestimmung der Mykotoxine

Geräte	HPLC-MS/MS: Agilent 1100 Series API 4000: Applied Biosystems MDS Sciex		
Software	Analyst 1.5.2 Software 2011 ABSciex Mass Spectrometry Toolkit Version 3.3; 1998-2000 Sierra Analytics, LLC.		
Säule	Ascentis Express C18 75 x 2,1 mm, 5 µm, Sigma-Aldrich		
Eluent A	90/10 Wasser/Methanol (v/v) + 0,1 % (v) Eisessig + 5 mM Ammoniumacetat		
Eluent B	2/98 Wasser/Methanol + 0,1 % (v) Eisessig + 5 mM Ammoniumacetat		
Gradient	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
	0,00	70	30
	1,00	70	30
	3,00	5	95
	6,00	5	95
	6,01	70	30
	10,00	70	30
Flussrate	250 µL/min		
Injektionsvolumen	10 µL		
Säulentemperatur	30 °C		
Equilibrierungszeit	5 min		
Curtain Gas	30 psi		
Nebulizer Gas	20 psi		
Turbo-Heizgas	60 psi		
CAD-Gas	7 psi		
Temperatur	350 °C		
Spannung ESI ⁺	5000 V		
Spannung ESI ⁻	-4200 V		
MRM-Detektionsfenster	60 s		

Ionenpaar-Übergänge der massenspektrometrischen Methoden

Gemäß Entscheidung der Kommission (2002/657/EG) zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates, betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen, müssen Bestätigungsmethoden für organische Rückstände oder Kontaminanten in tierischen Produkten Aufschluss über die chemische Struktur des Analyten liefern. Mykotoxine zählen laut Anhang I der Richtlinie 96/23/EG zu den ausgewählten Stoffen, die mittels HPLC-MS/MS identifiziert werden können. Demnach muss bei HPLC-MS-Verfahren die chromatographische Trennung mit geeigneten LC-Säulen durchgeführt werden. Der massenspektrometrische Nachweis muss mit MS-Verfahren wie bspw. der Aufzeichnung von vollen Massenspektren (Full-Scan) oder der

Einzelmassenregistrierung (SIM) sowie MS-MSⁿ-Verfahren wie dem Selected Reaction Monitoring (SRM) oder anderen geeigneten MS- oder MS-MSⁿ-Verfahren in Kombination mit entsprechenden Ionisierungsarten durchgeführt werden. Erfolgt die massenspektrometrische Bestimmung mittels Fragmentografie, muss das Molekül-Ion vorzugsweise eines der ausgewählten diagnostischen Ionen sein (Molekül-Ion, charakteristische Addukte des Molekül-Ions, charakteristische Fragment-Ionen und alle ihre Isotopen-Ionen). Aufgrund dieser Festlegungen wurden im Rahmen dieser Arbeit für alle nachzuweisenden Mykotoxine die in Tabelle 11 und Tabelle 13 aufgeführten Übergänge etabliert; in Tabelle 12 und Tabelle 14 finden sich die Übergänge zu den eingesetzten ¹³C-stabilisotopenmarkierten Standards. Abbildung 90 und Abbildung 91 zeigen die Extracted Ion Chromatogramme mit den MRM-Übergängen aller Analyten im positiven bzw. negativen Ionisationsmodus. Weitere substanzspezifische MS-Parameter wie Declustering Potential (DP), Cell Entrance Potential (CEP), Collision Energy (CE) und Cell Exit Potential (CXP) sind den Tabellen in Anhang A.1.4 zu entnehmen.

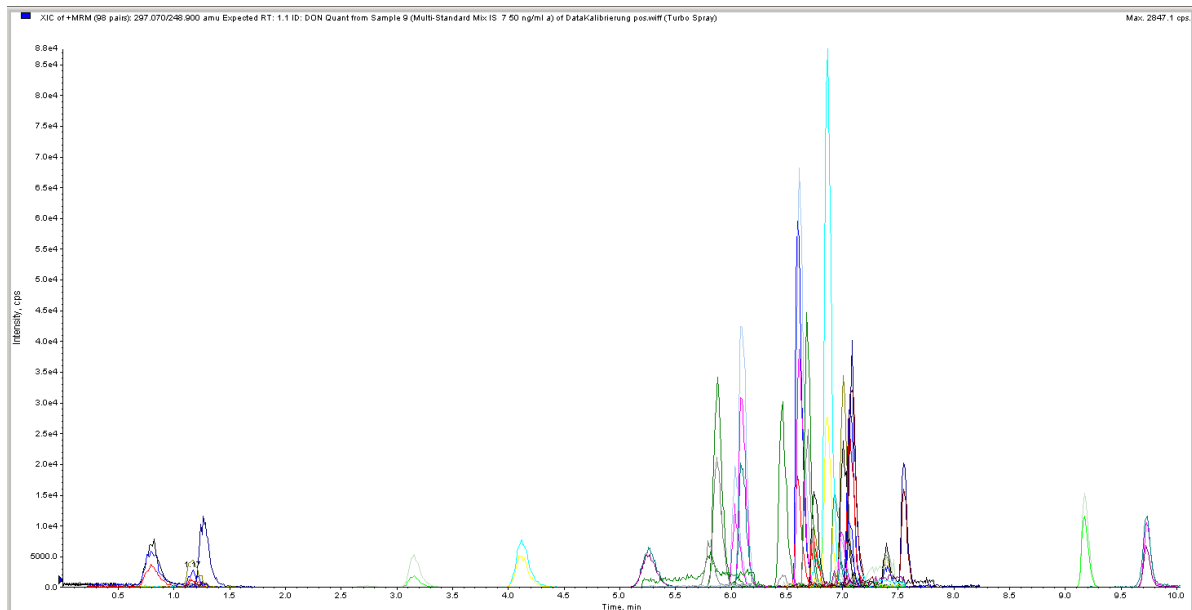


Abbildung 90: Extracted Ion Chromatogramm mit den MRM-Übergängen aller Analyten im positiven ESI-Modus des Multi-Standards der Konzentration 50 (100) ng/mL

Tabelle 11: Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus (fett markierte m/z-Verhältnisse der Produktionen stellen die Quantifizierungsionen dar)

Analyt	Rt [min]	M [g/mol]	Ausgangsign	Ausgangsign m/z	Produktionen m/z
Deoxynivalenol (DON)	1,16	296,1	[M+H] ⁺	297,1	203,3
					248,9
Aflatoxin G ₂	3,15	330,1	[M+H] ⁺	331,2	313,1
					188,7
Aflatoxin G ₁	4,12	328,1	[M+H] ⁺	329,1	242,7
					311,2
Aflatoxin B ₂	5,26	314,1	[M+H] ⁺	315,2	287,1
					259,2
Altenuen (ALT)	5,88	292,1	[M+H] ⁺	293,1	257,2
					274,9
Aflatoxin B ₁	6,04	312,1	[M+H] ⁺	313,2	285,1
					240,8
Diacetoxyscirpenol	6,09	366,2	[M+NH ₄] ⁺	384,1	307,2
					246,9
					199,0
Wortmannin	6,22	428,1	[M+NH ₄] ⁺	446,2	355,0
					428,9
Citrinin	6,45	250,1	[M+H] ⁺	251,1	233,3
					205,2
Cytochalasin J	6,62	451,3	[M+H] ⁺	452,2	434,2
					416,4
Griseofulvin	6,68	352,1	[M+H] ⁺	353,1	164,8
					285,1
HT-2 Toxin	6,75	424,2	[M+NH ₄] ⁺	442,3	214,8
					263,0
Fumonisin B ₁	6,85	721,4	[M+H] ⁺	722,3	704,3
					352,0
Tentoxin	6,86	414,5	[M+H] ⁺	415,3	312,1
					256,4
Cytochalasin H	6,93	493,3	[M+H] ⁺	494,3	434,0
					434,5
T-2 Toxin	7,07	466,2	[M+NH ₄] ⁺	483,8	305,1
					244,8
Roquefortin C	7,09	389,2	[M+H] ⁺	390,1	321,9
					192,8
Fumonisin B ₃	7,17	705,4	[M+H] ⁺	706,4	336,5
					688,5
Citreoivridin	7,39	402,2	[M+NH ₄] ⁺	420,1	315,0
					403,0
Fumonisin B ₂	7,53	705,4	[M+H] ⁺	706,4	336,5
					688,5
Sterigmatocystin	7,55	324,1	[M+H] ⁺	325,1	310,2
					281,2
Beauvericin	9,22	783,9	[M+H] ⁺	784,3	243,8
					133,9

Tabelle 12: ^{13}C -stabilisotopenmarkierte Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus (fett markierte m/z-Verhältnisse der Produktionen stellen die Quantifizierungsionen dar)

Analyt	Rt [min]	M [g/mol]	Ausgangsign	Ausgangsign m/z	Produktionen m/z
^{13}C -HT-2 Toxin	6,75	446,2	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	464,4	278,1
					132,8
					145,0
^{13}C -FB ₁	6,80	755,6	$[\text{M}+\text{H}]^+$	756,6	356,4
					738,7
					374,2
^{13}C -T-2 Toxin	7,06	490,2	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	508,3	322,2
					229,2
					491,3
^{13}C -FB ₂	7,42	739,6	$[\text{M}+\text{H}]^+$	740,4	358,4
					340,6
					376,2

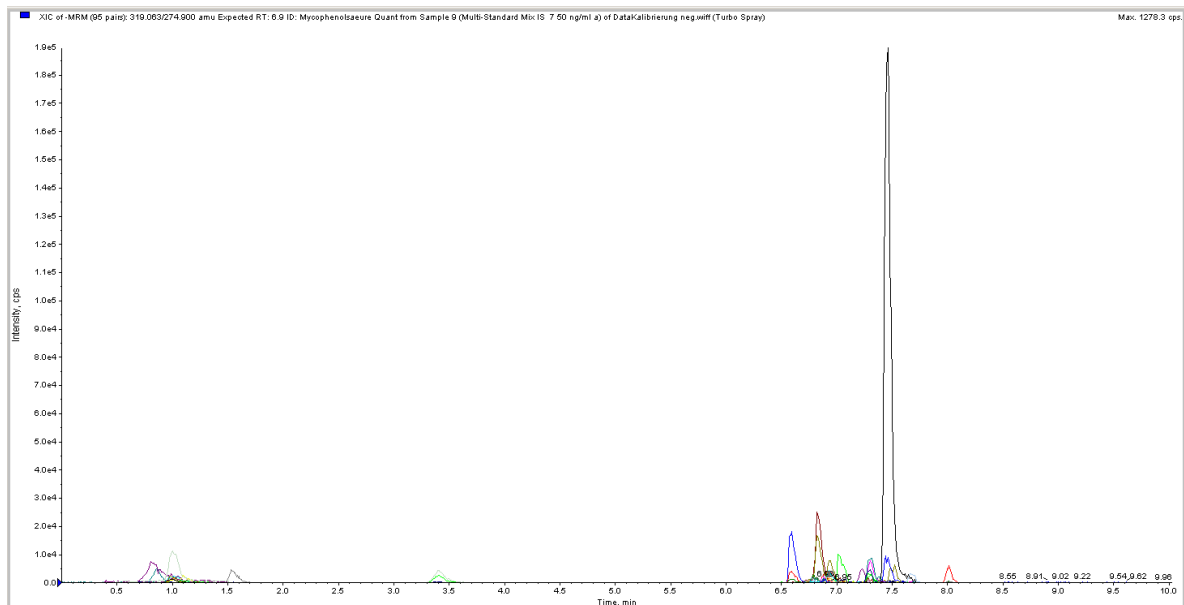


Abbildung 91: Extracted Ion Chromatogramm mit den MRM-Übergängen aller Analyten im negativen ESI-Modus des Multi-Standards der Konzentration 50 (100) ng/mL

Tabelle 13: Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im negativen ESI-Modus (fett markierte m/z-Verhältnisse der Produktionen stellen die Quantifizierungsionen dar)

Analyt	Rt [min]	M [g/mol]	Ausgangsign	Ausgangsign m/z	Produktionen m/z
Moniliformin	0,87	120,0 (Na-Salz)	[M-H] ⁻	97,0	41,2
					79,8
					45,0
Nivalenol	0,94	312,1	[M-H] ⁻	311,0	281,2
					175,0
Patulin	1,01	154,0	[M-H] ⁻	153,1	108,9
					108,5
					80,8
					134,3
Penicillinsäure	1,54	170,1	[M-H] ⁻	169,0	109,6
					92,9
					139,0
Ochratoxin alpha	3,41	256,5	[M-H] ⁻	255,1	210,5
					166,8
					123,1
OTB	6,59	369,1	[M-H] ⁻	368,0	323,8
					132,6
					176,1
Alternariol (AOH)	6,79	258,1	[M-H] ⁻	257,0	214,7
					147,1
					184,9
Mycophenolsäure	6,89	320,1	[M-H] ⁻	319,1	190,5
					204,9
					274,9
OTA	6,94	403,1	[M-H] ⁻	402,0	358,2
					166,9
					358,0
Methyl-OTB	7,23	383,1	[M-H] ⁻	382,0	214,7
					176,2
					148,1
Zearalenon (ZEA)	7,31	318,1	[M-H] ⁻	317,1	175,0
					131,1
Ethyl-OTB	7,51	397,1	[M-H] ⁻	396,1	214,6
					306,1
					231,9
Alternariolmethylester (AME)	7,59	272,1	[M-H] ⁻	271,0	228,0
					256,0
Methyl-OTA	7,68	417,1	[M-H] ⁻	416,3	249,0
					210,0
					182,0
Ethyl-OTA	8,01	431,1	[M-H] ⁻	430,0	248,8
					339,2
					181,9

Tabelle 14: ¹³C-stabilisotopenmarkierte Analyten, MRM-Übergänge und substanzspezifische Parameter im positiven ESI-Modus (fett markierte m/z-Verhältnisse der Produktionen stellen die Quantifizierungsionen dar)

Analyt	Rt [min]	M [g/mol]	AusgangSION	AusgangSION m/z	Produktionen m/z
¹³ C-Nivalenol	0,94	327,1	strukturell nicht ableitbares Fragment	288,1	255,3
					241,9
					241,3
¹³ C-Patulin	0,99	161,1	[M-H] ⁺	159,9	114,8
					85,8
¹³ C-Mycophenolsäure	6,88	337,2	[M-H] ⁺	336,1	200,8
					215,7
					201,5
¹³ C-OTA	6,93	423,7	[M-H] ⁺	422,1	376,8
					174,9
					220,9
¹³ C-Zearalenon	7,30	336,2	[M-H] ⁺	335,3	139,6
					184,8
					289,9

Auswertung

Die Identifizierung der Toxine erfolgte durch:

- Vergleich der Retentionszeit in der Probe mit derjenigen der Standardsubstanz
- das Auftreten der Produktionen, wobei die Qualifier nur zur qualitativen Überprüfung herangezogen wurden und
- durch Vergleich der Intensitätsverhältnisse der Produktionen zueinander im Vergleich zur Standardsubstanz.

5.3.1.4.3 Validierungsparameter

Zur Ermittlung der matrixbedingten Retentionszeiten-Verschiebung, der Variationskoeffizienten, der Prozess-Wiederfindungen, des Matrix-Effektes sowie der Extraktions-Wiederfindungen wurden die vier Matrices Weißwein, weißer Traubensaft, Rotwein und roter Traubensaft (Tabelle 7) mit 35 (70) µg/L Multi-Mykotoxinlösung aufdotiert und gemäß der QuEChERS-Methode analog zu den Proben je dreifach aufgearbeitet und doppelt mittels HPLC-MS/MS gemessen (n=6). Die vier Matrices wurden stellvertretend für die Matrices der Sortierproben gewählt, um damit repräsentative Validierungsparameter zu bestimmen.

Retentionszeiten-Verschiebung

Zur Ermittlung des Matrixeinflusses der Säfte und Weine auf die Retentionszeiten wurde die maximale Abweichung der Retentionszeiten (in Matrix) zur Retentionszeit des Kalibrierstandards der Konzentration 50 µg/L berechnet.

Wie aus Tabelle 15 und Tabelle 16 hervorgeht, kann von einer matrixbedingten Retentionszeiten-Verschiebung abgesehen werden, da die Retentionszeiten aller Analyten in den vier Matrices meist um weniger als 0,1 min im Vergleich zum Kalibrierstandard differierten. Die Methode zeichnet sich somit durch eine hohe Retentions-Stabilität aus und gewährleistet damit eine hinreichend exakte Identifikation der Analyten.

Variationskoeffizienten

Die Variationskoeffizienten aller Verbindungen schwankten in einem großen Bereich von 0,6-59,3 %, mit einem Extremwert von 106,8 % (Beauvericin in Rotwein). Die hohen Variationskoeffizienten resultierten sowohl aus stärkeren Abweichungen der Dreifach-Aufarbeitung, aber auch aus stärkeren Abweichungen der Doppelmessungen einer Aufarbeitungsprobe. Letzteres deutet auf Matrixpräpositionen der Ionisationsquelle (Matrix-Interferenz-Stabilisierung) hin, d. h. nach der ersten Messung hat sich ein Matrix-Analyt-Gleichgewicht in der Ionenquelle adaptiert.

Beim Rotwein und roten Traubensaft konnten häufig höhere Variationskoeffizienten im Vergleich zu den „weißen“ Matrices beobachtet werden; beim Vergleich von Weißwein mit weißem Saft und Rotwein mit rotem Saft waren meist auch höhere Variationskoeffizienten in den Säften zu finden. Diese Beobachtungen lassen sich mit den unterschiedlichen Zusammensetzungen der Säfte und Weine, u. a. hinsichtlich der Zucker-, Phenol- und Alkoholgehalte, erklären, die bei der Extraktion bzw. Ionisation die Bestimmung der gewünschten Analyten beeinflussen können.

Prozess-Wiederfindung (Prozess-Effizienz, PE)

Zur Ermittlung der PE (Probenaufarbeitungs- und Ionisationseinflüsse) und damit der gesamten Prozess-Wiederfindung wurde folgende Formel herangezogen (Boyd et al., 2008):

$$PE [\%] = \frac{\text{Peak Area (zugesetzte bekannte Menge des Analyten in Leerwertmatrix)}}{\text{Peak Area (zugesetzte bekannte Menge des Analyten in 10 \% Ethanol)}} \cdot 100$$

Die Prozess-Wiederfindungen, die die Extraktions-Wiederfindungen und Matrix-Effekte bei der Ionisation einschließen, schwankten zwischen 1,2-422,4 % mit einem errechneten mittleren Wert von 60,9 % (Tabelle 15 und Tabelle 16). In der Studie von Tamura et al. (2011) lagen die Wiederfindungsraten der untersuchten Mykotoxine in Bier nach der QuEChERS-Extraktion und anschließender SPE über 70 %, mit Ausnahme der Fumonisine und OTA, die absorbiert wurden. Diese höheren Wiederfindungsraten im Vergleich zu den eigenen Wiederfindungsraten lassen sich mit der zusätzlichen Aufreinigung mittels SPE nach der QuEChERS-Extraktion und auch mit den unterschiedlichen Auswirkungen der verschiedenen Proben-Matrizes erklären. Bei Betrachtung der Wiederfindungen von Citrinin bspw. konnten deutliche Matrixeinflüsse beobachtet werden. Dies kann mit der Instabilität von Citrinin begründet werden; auch in der Literatur wurden für Citrinin Wiederfindungsraten nach der Probenaufarbeitung zwischen 28-99 % und Variationskoeffizienten von 21-113 % angegeben (Xu et al., 2006; EFSA, 2012).

Bei Sterigmatocystin, Cytochalasin H, Beauvericin und Roquefortin C lagen die ermittelten Wiederfindungen in allen Matrizes unter 10 %; demzufolge sind die gewählten Aufarbeitungsbedingungen nicht geeignet, um diese Mykotoxine mit der vorliegenden Methode zu bestimmen. Da es sich um eine Multi-Methode handelt und die Extraktions- und Chromatographie-Bedingungen somit nicht für jedes Mykotoxin individuell angepasst werden können, wie dies bei Einzelbestimmungen möglich ist, sind die Wiederfindungen demzufolge von den Eigenschaften der Toxine bei den gewählten Bestimmungsbedingungen abhängig.

Matrix-Effekt (ME)

Matrix-Effekte (ME) können zu Ionisations-Suppression bzw. -Enhancement des Analytsignals führen. Dabei handelt es sich überwiegend um Verbindungen, die bei der chromatographischen Trennung coeluieren und den Ionisationsprozess verändern. Hierbei kann es sich um Verbindungen aus der Probe, um während der Probenaufarbeitung freigesetzte Verbindungen, oder um Verbindungen, die der mobilen Phase zwecks Verbesserung der chromatographischen Trennung zugesetzt werden, handeln (Gosetti et al., 2010).

Im Rahmen der vorliegenden Methoden-Etablierung wurde der ME auf verschiedene Mykotoxine mit deren ¹³C-stabilisotopenmarkierten Standards untersucht. Die Zugabe der ¹³C-stabilisotopenmarkierten Standards erfolgte nach der Probenextraktion und vor der Einengung mittels Stickstoff (siehe Kapitel 5.3.1.3.3). Da nicht zu jedem Mykotoxin ein entsprechender ¹³C-stabilisotopenmarkierter Standard existiert, konnte die Auswirkung

eines ME nur bei einigen der analysierten Mykotoxine untersucht werden. Der ME, der die Wiederfindung nach der Ionisation beschreibt, wurde wie folgt ermittelt (Boyd et al., 2008):

$$\text{ME [\%]} = \frac{\text{Peak Area } (^{13}\text{C} \text{ stabilisotopenmarkierter Analyt in Leerwertmatrix})}{\text{Peak Area } (^{13}\text{C} \text{ stabilisotopenmarkierter Analyt in 10 \% Ethanol})} \cdot 100$$

Wenn der ME größer als 100 % ist, handelt es sich um Ionisations-Enhancement, bei einem ME kleiner als 100 % um Ionisations-Suppression. Die jeweilige Differenz des ME zu 100 % entspricht der prozentualen Suppression bzw. Enhancement (Boyd et al., 2008).

Mit Ausnahme der Fumonisine, bei denen ein Ionisations-Enhancement von 131,6-594,1 % beobachtet wurde, konnte bei allen anderen Analyten, die zusätzlich in Form ihrer ^{13}C -markierten Isotope zugesetzt wurden, eine Suppression um 5,8-85,8 % festgestellt werden (Tabelle 15 und Tabelle 16). Solche Matrixeffekte treten auf, wenn Verbindungen aus der Matrix zusammen mit den gewünschten Analyten coeluieren und dadurch die Ionisations-Effizienz der ESI verändern (Taylor, 2006). Im vorliegenden Fall spielten u. a. die bei den Variationskoeffizienten erwähnten Verbindungen, insbesondere die Phenole, eine entscheidende Rolle bei der Ionisations-Beeinflussung. Die hohen Matrix-Effekte bei den Fumonisinen waren für die hohen Prozess-Wiederfindungen verantwortlich. Auch Al-Taher et al. (2013) untersuchten den Matrix-Effekt auf die Ionisation bei Weiß- und Rotweinen. Durch die Gegenüberstellung der Wiederfindungsraten mit und ohne Korrektur durch ^{13}C -markierte Isotope konnten deutliche Matrixeffekte auf die Ionisation beobachtet werden. Insbesondere bei Deoxynivalenol lag die Wiederfindung ohne Korrektur durch einen internen Standard nur bei etwa 18 % (Al-Taher et al., 2013), was die eigenen Prozess-Wiederfindungen für dieses Mykotoxin im Bereich von 8,3-27,1 % (je nach Matrix) bestätigten. Bei den eigenen Untersuchungen wurden auch ^{13}C -markiertes Deoxynivalenol und ^{13}C -markiertes Nivalenol zugesetzt; jedoch konnten die Signale nicht ausgewertet werden, was auf eine starke Suppression durch die Matrizes Wein bzw. Saft hindeutet.

Extraktions-Wiederfindung (Extraktions-Effizienz, EE)

Aus den Ergebnissen der PE und ME konnte die Extraktions-Effizienz (EE) nach folgender Gleichung ermittelt werden (Boyd et al., 2008):

$$EE [\%] = \frac{PE [\%]}{ME [\%]} \cdot 100$$

Zu beachten ist hierbei, dass alle Werte des ME, die größer als 50 % sind, direkt in die Gleichung eingesetzt werden können. Bei ME-Werten kleiner 50 % muss die Differenz zu 100 % als ME-Wert in der Gleichung verwendet werden (mathematisch abgeleitet aus der Gauß-Funktion mit dem Maximalwert bei x=50 %).

Die berechneten Wiederfindungen des Extraktions-Prozesses schwankten zwischen 39,1-125,1 % mit einer errechneten mittleren Wiederfindung von 67,0 % (Tabelle 15 und Tabelle 16). Diese ergaben sich aus den unterschiedlichen Eigenschaften der Analyten, bei den gewählten Extraktions-Bedingungen in die angesäuerte Acetonitrilphase überzugehen.

Tabelle 15: Retentionszeit-Verschiebung, Variationskoeffizienten, Prozess-Effizienzen, Matrix-Effekte und Extraktions-Effizienzen der Analyten im positiven ESI-Modus

Verbindung ESI ⁺	Matrix	Rt-Verschiebung [min]	Variationskoeffizient [%]	Prozess-Effizienz [%]	Matrix-Effekt [%]	Extraktions Effizienz [%]
Aflatoxin B ₂	Weißwein	±0,02	0,57	82,50		
	Weißer Saft	±0,01	2,56	97,63		
	Rotwein	±0,10	1,68	60,36		
	Roter Saft	±0,06	8,45	67,18		
Aflatoxin G ₂	Weißwein	±0,01	4,78	64,04		
	Weißer Saft	±0,01	2,51	94,47		
	Rotwein	±0,09	1,21	28,32		
	Roter Saft	±0,08	12,97	77,41		
Altenuen	Weißwein	±0,01	1,46	51,31		
	Weißer Saft	±0,01	1,58	66,48		
	Rotwein	±0,01	2,27	32,30		
	Roter Saft	±0,01	2,52	55,24		
Beauvericin	Weißwein	±0,08	8,09	5,29		
	Weißer Saft	±0,03	4,04	4,35		
	Rotwein	±0,06	13,48	1,71		
	Roter Saft	±0,06	106,84	1,95		
Citrinin	Weißwein	-	-	-		
	Weißer Saft	±0,03	12,41	14,18		
	Rotwein	±0,04	11,92	7,53		
	Roter Saft	±0,02	5,19	38,36		
Citreoivridin	Weißwein	±0,11	21,96	12,24		
	Weißer Saft	±0,12	10,33	19,66		
	Rotwein	±0,14	59,29	4,24		
	Roter Saft	±0,11	10,06	2,30		
Cytochalasin H	Weißwein	±0,04	28,29	3,02		
	Weißer Saft	±0,03	44,18	2,46		
	Rotwein	±0,10	31,72	1,61		
	Roter Saft	±0,05	31,56	5,39		
Deoxynivalenol	Weißwein	±0,12	10,35	22,13		
	Weißer Saft	±0,09	12,48	11,24		
	Rotwein	±0,12	5,84	8,34		
	Roter Saft	±0,11	29,55	27,11		
Diacetoxyscirpenol	Weißwein	±0,03	4,08	35,91		
	Weißer Saft	±0,02	2,08	51,25		
	Rotwein	±0,04	6,30	21,69		
	Roter Saft	±0,02	2,74	39,65		
Fumonisin B ₁	Weißwein	±0,08	9,47	222,83	231,58	96,22
	Weißer Saft	±0,07	13,39	272,87	694,09	39,31
	Rotwein	±0,08	9,67	173,36	384,08	45,14
	Roter Saft	±0,09	10,29	225,98	442,49	51,07
Fumonisin B ₂	Weißwein	±0,07	4,81	251,29	483,41	51,98
	Weißer Saft	±0,12	5,42	264,54	645,28	41,00
	Rotwein	±0,10	10,57	212,05	676,25	31,36
	Roter Saft	±0,10	14,74	245,84	557,52	44,09
Fumonisin B ₃	Weißwein	±0,09	2,49	355,44	483,41	73,84
	Weißer Saft	±0,10	5,31	422,38	645,28	64,53
	Rotwein	±0,10	6,04	300,95	676,25	46,16
	Roter Saft	±0,11	3,26	393,22	557,52	74,58
Griseofulvin	Weißwein	±0,02	4,16	22,82		
	Weißer Saft	±0,03	3,95	36,31		
	Rotwein	±0,03	6,71	15,81		
	Roter Saft	±0,04	6,45	38,00		
HT-2 Toxin	Weißwein	±0,03	9,03	26,00	45,83	47,99
	Weißer Saft	±0,04	6,71	28,60	42,75	49,95
	Rotwein	±0,04	6,20	16,42	30,54	23,64
	Roter Saft	±0,06	10,29	24,87	36,42	39,11
Roquefortin C	Weißwein	±0,06	5,97	2,46		
	Weißer Saft	±0,05	20,92	3,04		
	Rotwein	±0,10	9,08	6,58		
	Roter Saft	±0,10	28,97	6,34		
Sterigmatocystin	Weißwein	±0,18	7,36	3,51		
	Weißer Saft		-	-		
	Rotwein	±0,22	13,83	1,19		
	Roter Saft		-	-		

Verbindung ESI*	Matrix	Rt- Verschiebung [min]	Variations- koeffizient [%]	Prozess- Effizienz [%]	Matrix- Effekt [%]	Extraktions- Effizienz [%]
T-2 Toxin	Weißwein	±0,05	8,13	24,74	50,70	48,79
	Weißer Saft	±0,06	4,89	42,90	58,41	73,44
	Rotwein	±0,08	6,12	26,10	44,59	47,11
	Roter Saft	±0,08	5,88	37,54	54,70	68,61
Tentoxin	Weißwein	±0,05	3,31	72,75		
	Weißer Saft	±0,05	2,82	72,30		
	Rotwein	±0,06	3,54	41,42		
	Roter Saft	±0,06	2,84	61,03		

Tabelle 16: Retentionszeit-Verschiebung, Variationskoeffizienten, Prozess-Effizienzen, Matrix-Effekte und Extraktions-Effizienzen der Analyten im negativen ESI-Modus

Verbindung ESI	Matrix	Rt- Verschiebung [min]	Variations- koeffizient [%]	Prozess- Effizienz [%]	Matrix Effekt [%]	Extraktions- Effizienz [%]
Alternariol	Weißwein	±0,03	14,31	56,19		
	Weißer Saft	±0,07	10,94	45,76		
	Rotwein	±0,05	7,54	50,24		
	Roter Saft	±0,07	27,33	73,22		
Alternariolmono- methylether	Weißwein	±0,05	42,13	41,90		
	Weißer Saft	±0,08	15,74	51,29		
	Rotwein	±0,11	18,83	36,29		
	Roter Saft	±0,07	34,57	60,04		
Ethyl-OTA	Weißwein	±0,03	1,91	44,02		
	Weißer Saft	±0,07	18,26	38,53		
	Rotwein	±0,08	6,70	30,00		
	Roter Saft	±0,08	41,49	40,29		
Ethyl-OTB	Weißwein	±0,03	7,52	46,03		
	Weißer Saft	±0,07	7,30	34,65		
	Rotwein	±0,08	15,45	25,72		
	Roter Saft	±0,08	26,23	27,41		
Methyl-OTA	Weißwein	±0,04	5,13	55,34		
	Weißer Saft	±0,07	8,64	40,27		
	Rotwein	±0,09	10,79	24,12		
	Roter Saft	±0,10	33,26	27,38		
Methyl-OTB	Weißwein	±0,04	25,25	22,70		
	Weißer Saft	±0,07	15,88	15,77		
	Rotwein	±0,09	29,17	9,29		
	Roter Saft	±0,08	32,93	10,68		
Mycophenolsäure	Weißwein	±0,04	7,22	45,81	67,86	67,51
	Weißer Saft	±0,11	10,91	38,19	49,40	77,30
	Rotwein	±0,06	16,93	21,83	35,42	61,62
	Roter Saft	±0,09	26,51	27,71	55,39	50,03
Ochratoxin alpha	Weißwein	±0,03	4,40	69,25		
	Weißer Saft	±0,02	1,77	67,13		
	Rotwein	±0,04	2,43	53,25		
	Roter Saft	±0,05	10,45	60,53		
OTA	Weißwein	±0,04	6,54	91,53	94,17	97,19
	Weißer Saft	±0,08	3,20	79,26	65,72	120,61
	Rotwein	±0,07	11,17	69,48	60,38	115,08
	Roter Saft	±0,08	17,82	74,32	64,99	114,36
OTB	Weißwein	±0,03	2,20	54,04		
	Weißer Saft	±0,06	6,29	56,39		
	Rotwein	±0,05	7,81	33,52		
	Roter Saft	±0,06	16,55	46,94		
Penicillinsäure	Weißwein	±0,02	6,25	17,27		
	Weißer Saft	±0,02	4,81	25,47		
	Rotwein	±0,05	22,62	4,58		
	Roter Saft	±0,01	7,46	16,29		
Patulin	Weißwein	±0,06	1,64	87,95	70,30	125,10
	Weißer Saft	±0,05	2,75	72,59	26,26	98,45
	Rotwein	±0,05	2,41	27,92	40,82	47,18
	Roter Saft	±0,05	2,41	87,25	14,20	116,03
Zearalenon	Weißwein	±0,03	6,52	43,11	60,73	70,99
	Weißer Saft	±0,07	7,88	41,05	56,07	73,21
	Rotwein	±0,08	8,63	30,59	48,18	59,02
	Roter Saft	±0,07	17,99	43,29	72,13	60,01

Die Analyten Moniliformin, Nivalenol, Aflatoxin B₁, Aflatoxin G₁, Cytochalasin J und Wortmannin konnten nach der QuEChERS-Extraktion in den aufdotierten Matrices nicht mehr detektiert werden. Als mögliche Ursachen hierfür könnten bspw. starke Ionisations-Suppressionen durch Matrixbestandteile, Umwandlungen (Veresterungen) der Verbindungen durch Matrixbestandteile oder ungeeignete Aufarbeitungsbedingungen (pH-Wert, Extraktionsmittel, Absorptionen) betrachtet werden. Aufarbeitungsmethoden wie QuEChERS, mittels derer eine Vielzahl von Analyten extrahiert werden kann, führen auch zur Extraktion vieler Matrixverbindungen, die die Identifikation und Quantifizierung der Zielanalyte stören (Capriotti et al., 2012).

Bei Deoxynivalenol konnte ein matrixbedingter Spurenwechsel beobachtet werden; bei Patulin wurde eine matrixbedingte Spurenerstörung von zwei Qualifikationsübergängen festgestellt.

Bei den Fumonisinen konnten in den Gärgut- und Weinproben stärkere Retentionszeiten-Verschiebungen beobachtet werden.

Berechnung der Gehalte in den Proben

Die Berechnung der Gehalte der untersuchten Mykotoxine in den Proben erfolgte mittels externer Kalibrierung der einzelnen Analyten unter Einbezug der Probenverdünnung und der Prozess-Effizienz als Korrekturfaktor.

Fazit

Die entwickelte Multi-Mykotoxin-Methode für Moste und Weine zeigte sich als geeignetes Screening-Verfahren. Die Ergebnisse verdeutlichten, dass der Matrixeffekt bei Weinen und Traubensäften einen großen Einfluss auf die Wiederfindung der Mykotoxine hat und daher ein Zusatz von ¹³C-stabilisotopenmarkierten Analyten zur Korrektur erforderlich ist. In den durchgeführten Untersuchungen wurden die ¹³C-stabilisotopenmarkierten Analyten eingesetzt, um die Wiederfindung nach Ionisation zu bestimmen. Um die gesamte Prozess-Wiederfindung bei Proben zu berücksichtigen, sollten die ¹³C-stabilisotopenmarkierten Analyten bereits vor der Probenaufarbeitung zugesetzt werden. Da bisher nur zu wenigen Mykotoxinen die entsprechenden ¹³C-markierten Isotope erhältlich und diese kostenintensiv sind, sollten bei nachfolgenden Bestimmungen geeignete „methodenkorrigierende“ Verbindungen in die Methode integriert werden. Die getesteten Verbindungen Theophyllin, Nicarbazin, Coffein und Sudanrot I haben sich aufgrund ihrer Instabilität hierfür als ungeeignet herausgestellt.

5.3.2 Gehalte in den Proben

Aspekte der Qualitätssicherheit

Viele Mykotoxine haben stark toxische Wirkungen, weshalb sie in Lebensmitteln möglichst nicht oder nur in geringen Gehalten vorkommen sollten. Für viele Lebensmittel sind gesetzliche Grenz-/Höchstmengenwerte festgelegt; für Traubenmost/-saft und Wein existieren derzeit nur für OTA Höchstgrenzen. Da vor allem faule Trauben ein optimales Habitat für die Ansiedlung von Schimmelpilzen darstellen, wurde untersucht, ob in den Mosten und Weinen der Sortiersversuche Mykotoxine nachgewiesen werden können und welchen Einfluss die vollautomatisch-optische Traubensortierung auf mögliche Gehalte ausübt.

Aspekte der Qualitätssicherung und –steigerung

Es wurde geprüft, ob faule Beeren zu erhöhten Mykotoxin-Gehalten in den entsprechenden Sortierfraktionen der Moste und Weine führen. Durch die Aussonderung belasteter Beeren könnte nicht nur eine Qualitätssicherung gewährleistet werden, sondern auch eine gesteigerte Verbraucherakzeptanz durch eine deutliche Qualitätssteigerung erreicht werden.

Analytik

Die Mykotoxine wurden gemäß der etablierten QuEChERS-Aufarbeitung und HPLC-MS/MS-Methode (siehe Kapitel 5.3.1.3.3 und 5.3.1.4.2) bestimmt.

5.3.2.1 **Patulin**

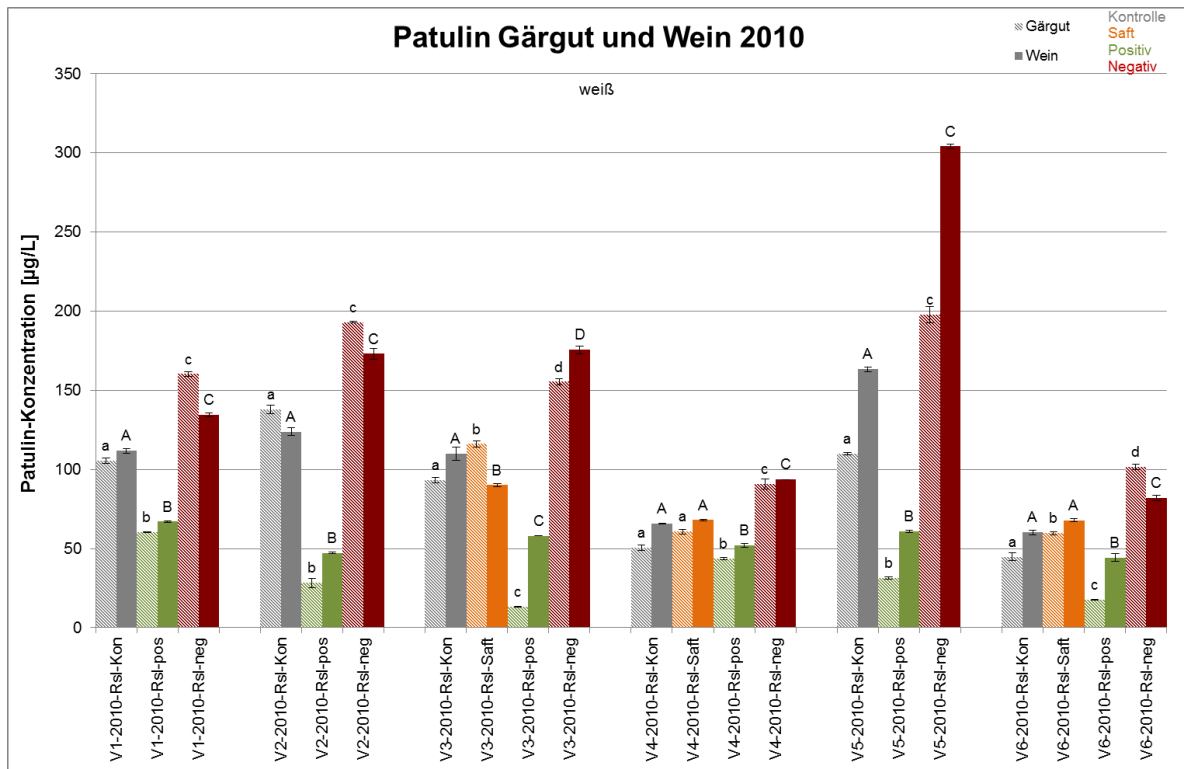


Abbildung 92: Patulingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05)

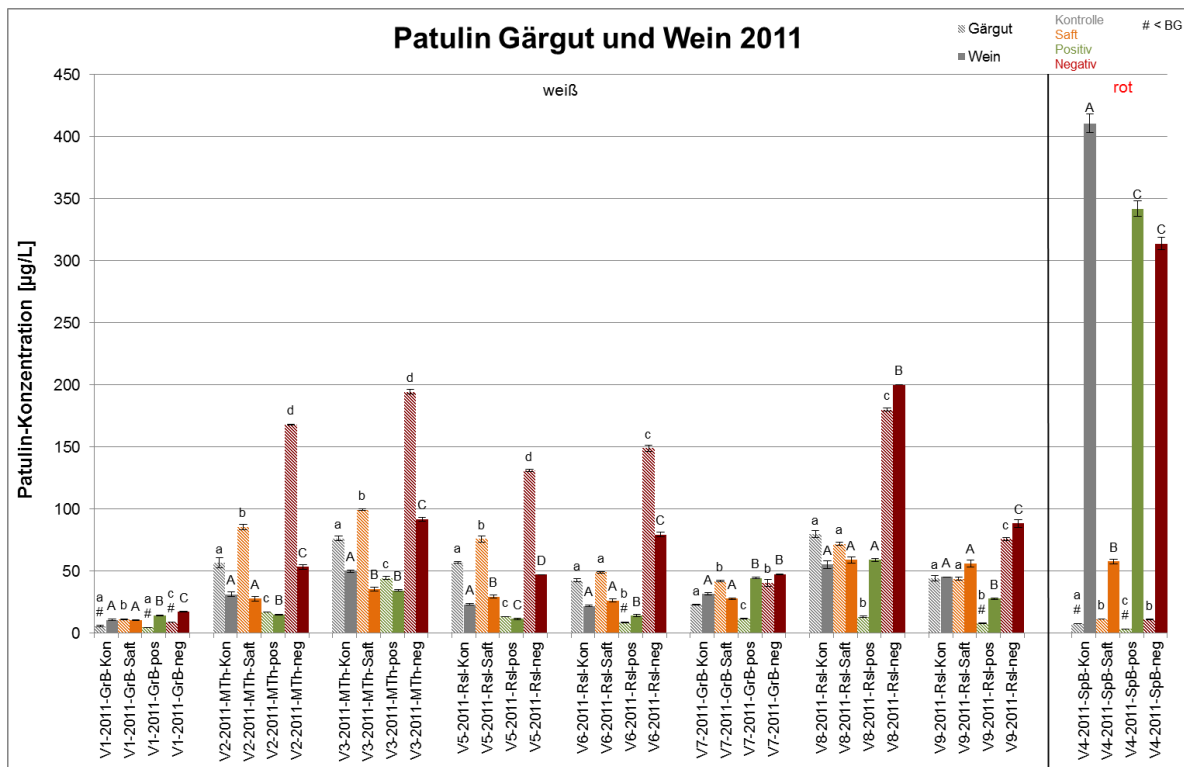


Abbildung 93: Patulingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

In allen untersuchten Gärgut- und Weinproben konnte Patulin in Gehalten über der Nachweisgrenze (NG) von 2,68 µg/L bestimmt werden. Obwohl die Gehalte mancher Proben unter der Bestimmungsgrenze (BG) von 9,83 µg/L lagen, wurden diese dennoch bei der grafischen Darstellung berücksichtigt (gekennzeichnet mit #), um Vergleiche mit den anderen Fraktionen zu ermöglichen.

Patulingehalte im Gärgut

Die Patulingehalte der 2010er Proben schwankten bei Betrachtung aller Ergebnisse in den Gärgutproben zwischen 13,2-197,8 µg/L und in den Weinproben zwischen 44,4-304,0 µg/L (Abbildung 92). Mit Patulinkonzentrationen zwischen 3,5-194,5 µg/L in den Gärgutproben und 10,4-410,7 µg/L in den Weinproben konnten durchschnittlich vergleichbare Konzentrationen auch in den 2011er Proben ermittelt werden (Abbildung 93).

Bei Betrachtung der Gärgutproben der einzelnen Versuche in beiden Jahren lagen die höchsten Gehalte meist in der Negativfraktion vor, gefolgt vom Saftvorlauf, der Kontrolle und der Positivfraktion. Dieser Trend war überwiegend auch bei den Weinproben zu beobachten, mit Ausnahme des Rotweinversuches. Hier lagen die niedrigsten Gehalte im Saftvorlauf und in der Negativfraktion vor. Insgesamt ließ sich aus den Ergebnissen ein deutlicher Sortiereffekt ableiten.

Bei der offiziellen Referenzmethode AOAC 2000.02 (Patulin in Äpfelsäften und Apfelmus) kann es bei der Extraktion von Patulin zu Verlusten kommen, da Patulin in alkalischen Lösungen nicht stabil ist und daher eine schnelle Durchführung der „alkalischen“ Schritte dieser Methode erforderlich ist. Aufgrund dieser Problematik wird die Eignung der Referenzmethode derzeit geprüft (Klaffke, 2013). Infolge dessen könnte es bei früheren Studien zu Verlusten bei der Probenaufarbeitung und damit zu falsch-negativen Ergebnissen gekommen sein. Bei der durchgeführten QuEChERS-Methode wurde angesäuertes Acetonitril zur Extraktion verwendet, wodurch die Stabilität des Patulins gewährleistet war. Dafür sprechen auch die Validierungsdaten für Patulin, vor allem die geringen Variationskoeffizienten von 1,6-2,9 % (Tabelle 16; Kapitel 5.3.1.4.3).

Frühere Untersuchungen über den Patulingehalt von Traubenmosten und Weinen lieferten sehr unterschiedliche Ergebnisse. Woller und Majerus (1986) fanden in 6 von 121 untersuchten weißen Traubenmosten Patulingehalte zwischen 16-370 µg/L. Die davon untersuchten 73 Mostproben des Jahres 1985 waren überwiegend aus gesunden Trauben, mit einem geringen Anteil an Edelfäule (jedoch nicht prozentual angegeben), hergestellt; 4 dieser Proben enthielten Patulin in Konzentrationen zwischen 16-57 µg/L (weiße Rebsorten) und 1 Probe 315 µg/L (rote Rebsorte). Bei den eigenen Untersuchungen der Positivfraktionen der weißen Gärgutproben wurden in allen Proben

vergleichbare Patulingehalte von $32,4 \pm 15,9 \mu\text{g/L}$ in 2010 und $17,9 \pm 11,7 \mu\text{g/L}$ in 2011 bestimmt. Die Belastung der Positivfraktionen aus gesundem Lesegut könnten mit einer nicht sichtbaren Kontamination durch Kontakt der gesunden mit den faulen Beeren infolge der Kompaktheit der Trauben bzw. infolge des frei werdenden Saftes als „Verteilungsmedium“ erklärt werden. Durch mikrobielle Untersuchungen hinsichtlich Patulin-produzierender Schimmelpilze, wie bspw. *Penicillium expansum*, könnte dieser Befund in zukünftigen Untersuchungen geklärt werden.

Auch Altmayer et al. (1982) untersuchten weiße Traubensäfte auf deren Patulingehalte. 22 % der untersuchten Säfte enthielten weniger als $50 \mu\text{g/L}$ (Grenzwert Apfelsaft) und 16 % enthielten mehr als $50 \mu\text{g/L}$ mit einem maximalen Gehalt von $230 \mu\text{g/L}$. Alle patulinhaltigen Moste stammten von Lesegut, das auch einen mehr oder weniger hohen Anteil *Botrytis*-fauler Trauben (Fäulnisbefall nicht prozentual angegeben) aufwies. Zum Vergleich dieser Beobachtungen mit den eigenen Ergebnissen wurden die Gärgutproben der Kontrollfraktionen mit Anteilen fauler Beeren herangezogen. In allen untersuchten Proben konnte hier Patulin mit Gehalten zwischen $44,9$ - $137,8 \mu\text{g/L}$ im Jahr 2010 und $5,8$ - $79,8 \mu\text{g/L}$ im Jahr 2011 nachgewiesen werden; auch hier wurde demnach die Höchstmenge von $50 \mu\text{g/L}$ in einigen Fällen deutlich überschritten.

Traubenmoste aus rein faulem Lesegut, wie sie bei den eigenen Untersuchungen in Form der Negativfraktion erhalten wurden, wurden nach derzeitigem Kenntnisstand der Literatur noch nicht explizit auf deren Patulingehalte hin untersucht. Lediglich bei den Untersuchungen von Majerus et al. (2008), die u. a. Traubenmoste der Qualitätsstufen Beerenauslesen und Trockenbeerenauslesen auf deren Patulingehalt analysierten, ist davon auszugehen, dass diese Moste aus Lesegut mit einem höheren Fäulnisanteil hergestellt wurden (Fäulnisbefall nicht prozentual angegeben). Hier lagen die mittleren Patulingehalte der Qualitätsstufen Spätlese, Auslese, Beerenauslese und Trockenbeerenauslese zwischen $11,3$ - $24,7 \mu\text{g/L}$. Im Vergleich mit den Qualitätsstufen QbA und Kabinett mit mittleren Patulingehalten von $13,2$ und $21,9 \mu\text{g/L}$ wurde gefolgert, dass die Patulingehalte nicht notwendigerweise mit der Befallsrate zu korrelieren scheinen (Majerus et al., 2008). Auch bei der Untersuchung von Traubenmosten in der Studie von Netzer et al. (1998) war anhand der visuellen Bonitierung des Lesegutes kein eindeutiger Rückschluss auf den Patulingehalt des Traubenmostes möglich. Hier konnten hohe Patulingehalte zwischen 68 - $107 \mu\text{g/L}$ in Mosten aus minimal fäulnisbelasteten Beeren detektiert werden, wohingegen in Mosten aus faulen Beeren vergleichsweise kein Patulin oder nur geringere Konzentrationen von bspw. $35 \mu\text{g/L}$ bei Mosten aus Lesegut mit 80 % Fäulnis bestimmt wurden. Hierbei handelte es sich aber um Einzelbetrachtungen und nicht um Gegenüberstellungen der gesunden und faulen Beeren desselben Lesegutes, wie dies bei den eigenen Untersuchungen der Fall war. Bei den

Sortierversuchen konnte Patulin in allen Negativfraktionen der weißen Gärgutproben in den höchsten Gehalten nachgewiesen werden. Dabei schwankten die Konzentrationen in 2010 zwischen 90,7-197,8 µg/L und in 2011 zwischen 8,7-194,5 µg/L. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass der Patulingehalt allgemein mit der Fäulnis der Beeren korrelierte, da bei der Reduktion der faulen Beeren durch Sortierung die Patulingehalte in den entsprechenden Positivfraktionen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant sanken (20,8-83,5 %). Auch in den Saftfraktionen konnten hohe Patulingehalte bestimmt werden. Demzufolge stammte diese Fraktion größtenteils aus den negativ sortierten Beeren, da hier aufgrund der perforierten Beerenhaut infolge der *Botrytis*-Belastung und der mechanischen Belastung, u. a. durch den Entrappungsvorgang, ein Saftaustritt aus den faulen Beeren möglich war. Die Fäulnisintensität der Trauben korrelierte jedoch nicht zwingend mit dem Patulingehalt, da teilweise bei geringeren Befallsstärken höhere Patulingehalte beim Vergleich der Kontrollfraktionen bestimmt wurden. Demnach scheinen die Art der auftretenden Mikroorganismen und deren Wachstumsbedingungen die Patulinbildung zu regulieren.

Als durchschnittliche tägliche Aufnahme an Patulin wurden bei Erwachsenen 3,0 ng/kg KG und bei Kindern (3-6 Jahre) 28 ng/kg KG ermittelt. Apfelsäfte sind hier als Hauptaufnahmequelle in vielen Ländern anzusehen; nach Bewertung der Daten tragen Traubensäfte jedoch nur minimal zur täglichen Aufnahmemenge an Patulin bei (SCOOP Task Report 3.2.8, 2002). Im Hinblick auf die ermittelten Ergebnisse und die Problematik bei der Patulinbestimmung mittels der Referenzmethode könnten möglicherweise auch Traubensäfte in einem größeren Umfang zur täglichen Aufnahmemenge an Patulin beitragen, was jedoch durch Untersuchungen mit neuen analytischen Methoden geklärt werden müsste.

Patulin im Wein

Patulin konnte auch in allen untersuchten Weinen nachgewiesen werden. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen früherer Studien, wonach im Traubenmost/Apfelmost vorhandenes Patulin während der alkoholischen Gärung vollständig abgebaut wurde und daher im Wein/Apfelwein nicht mehr nachweisbar war (Ough, Corison, 1980; Altmayer et al., 1982; Woller, Majerus, 1986; Moss, Long, 2002). Als Patulin-abbauende Mikroorganismen konnten *Saccharomyces cerevisiae* und auch *Gluconobacter oxydans* identifiziert werden, wobei als Abbauprodukte (*E*)- und (*Z*)-Ascladiol auftraten (Moss, Long, 2002; Ricelli et al., 2007). Beim Vergleich der Patulingehalte der untersuchten Weißweine mit den entsprechenden Gärgutproben konnte vereinzelt eine Zunahme, überwiegend aber eine Abnahme beobachtet werden. Der allgemeine Trend mit den höchsten Gehalten in den Negativfraktionen (81,8-304,0 µg/L in 2010 und 17,6-199,7 µg/L

in 2011) und den niedrigsten Gehalten in den Positivfraktionen (44,4-67,0 µg/L in 2010 und 11,4-59,1 µg/L in 2011) war wie bei den Gärgutproben auch bei den Weinproben festzustellen. Die Abnahme der Patulingehalte in den Weinen könnte einerseits auf den Abbau während der alkoholischen Gärung durch Mikroorganismen und andererseits auf die Abbindung durch Schwefeldioxid zurückgeführt werden. Die Patulinabbindung durch Schwefeldioxid ist in der Literatur jedoch stark umstritten. Einerseits wird von einer fast vollständigen „Entfernung“ des Patulins durch SO₂ (200 mg/L) berichtet (Altmayer et al., 1982); andererseits beobachtete Burroughs (1977), dass die im Modellversuch eingesetzte SO₂-Konzentration (200 mg/L) nur von relativ geringer Bedeutung bei der Patulinreduktion ist. Da bei den eigenen Untersuchungen durchschnittlich nur 110 mg/L SO₂ im Wein zugegeben wurden, kann vermutet werden, dass die Schwefelung der Weine auch hier nur eine geringere Rolle bei der Abbindung von Patulin spielte.

Eine Zunahme des Patulingehaltes in den Weinen nach alkoholischer Gärung wurde bisher in der Literatur noch nicht beschrieben, da meist von einem starken bis vollständigen Abbau berichtet wurde. Die teilweise beobachtete Zunahme könnte mit einer möglichen Bindung von Patulin an Trubstoffe im Gärgut und der Freisetzung durch das entstehende Kohlenstoffdioxid während der Gärung erklärt werden.

Die Ergebnisse der Sortierfraktionen des Spätburgunders zeigten, dass die Patulinkonzentrationen in den Weinproben deutlich höher waren als in den korrelierenden Gärgutproben. Demnach scheinen der längere Kontakt von den Schalen zum Saft während der Maischegärung und die zusätzliche malolaktische Gärung zu einer enormen Steigerung der Patulinbildung geführt zu haben. Da jedoch nur ein Rotweinversuch durchgeführt wurde, muss diese Beobachtung durch weitere Untersuchungen von Rotweinen geklärt werden.

Bei der Herstellung von Apfelsäften/Apfelweinen konnte durch die Verwendung von Bentonit oder Aktivkohle eine starke (>70 %) bis vollständige Patulinreduktion erzielt werden (Sands et al., 1976; Bissessur et al., 2001; Dietrich, 2005). Die Wirkung dieser Zusätze bezüglich einer Patulinreduktion in Mosten und Weinen sollte in zukünftigen Versuchen erforscht werden, um so möglicherweise erhöhte Patulinkonzentrationen zu senken.

Fazit

Insgesamt konnte ein deutlicher Sortiereffekt festgestellt werden, da die Patulingehalte nach Sortierung in den Positivfraktionen der weißen Gärgutproben beider Jahrgänge um 20,8-83,5 % im Vergleich zur Kontrolle reduziert wurden. Damit kann die vollautomatisch-optische Traubensortierung als Maßnahme für die Gewährleistung der Qualitätssicherheit genutzt werden. In den vorliegenden Proben konnte Patulin auch in den Weinproben

bestimmt werden; ein vollständiger Abbau bzw. eine Abbindung durch Schwefeldioxid oder durch die Hefe während der alkoholischen Gärung konnte im Gegensatz zur Literatur nicht beobachtet werden.

Ausgehend von den positiven Patulin-Befunden in allen untersuchten Proben und dem oft überschrittenen Höchstgehalt für Apfelsäfte von 50 µg/L sollten in den kommenden Jahren weitere Untersuchungen mit internationalen Most- und Weinproben durchgeführt werden. Je nach Trend sollte dann über die standardmäßige Bestimmung von Patulin in Mosten und Weinen sowie die Erhebung einer Höchstmenge für Patulin in Mosten/Traubensäften und Weinen nachgedacht werden, da vor allem bei Kindern durch eine erhöhte Traubensaftaufnahme eine größere Gefahr, als aus den bisher vorhandenen Daten abgeleitet, bestehen könnte.

5.3.2.2 Deoxynivalenol

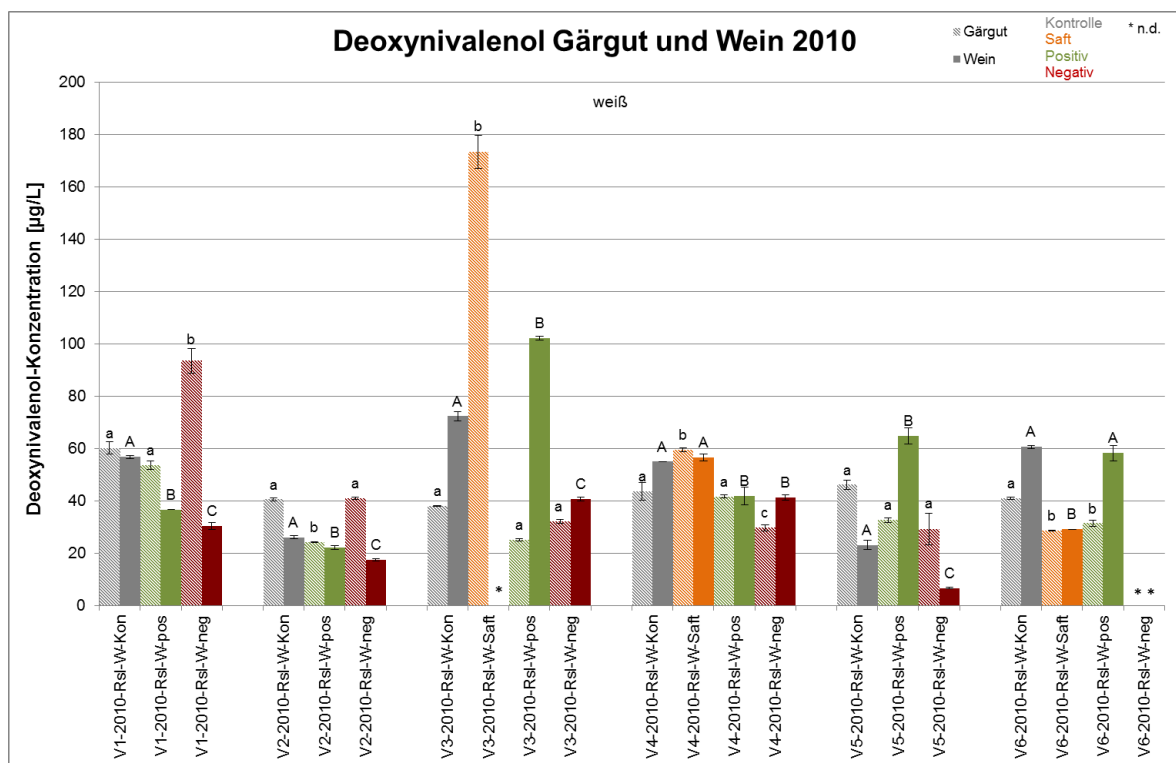


Abbildung 94: DON-Gehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05)

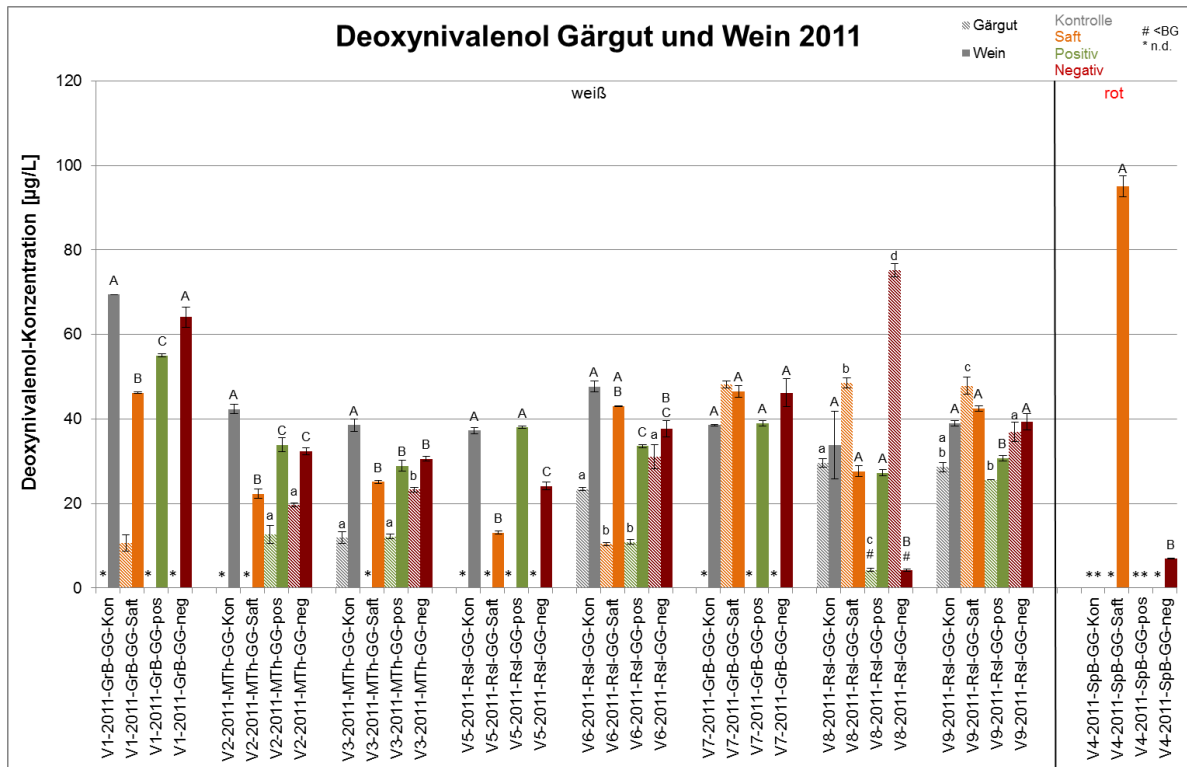


Abbildung 95: DON-Gehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Wie die Ergebnisse beider Jahrgänge verdeutlichten, konnte sowohl in den untersuchten Gärgut- als auch Weinproben DON bestimmt werden. Nach derzeitigem Kenntnisstand der Literatur handelt es hierbei um die ersten Positivbefunde von DON in Mosten und Weinen, da dieses Mykotoxin üblicherweise auf Getreide, u. a. auf Weizen, Gerste, Hafer, Roggen und Mais, vorkommt (JECFA, 2002). Die Canadian Food Inspection Agency (CFIA, 2010/2011) konnte weder in den untersuchten Weinproben noch in getrockneten Früchten DON nachweisen. In europäischem Bier konnten maximale DON-Gehalte von 57 µg/L bestimmt werden; in Bier aus Argentinien lagen maximale Gehalte von zu 221 µg/l vor (Scott, 2008). Demgegenüber stehen jedoch die hohen DON-Gehalte von 4-9000 µg/kg auf Getreide (JECFA, 2002).

DON wird hauptsächlich von *Fusarium graminearum* und *F. culmorum* bevorzugt bei Temperaturen von 21 bzw. 25 °C und Wasseraktivitäten größer 0,87 gebildet (JECFA, 2002). Aufgrund von feucht-warmen Klimabedingungen, die bedingt durch den Klimawandelverstrkt während der Reifephase der Trauben in den letzten Jahren festzustellen waren, könnte das Vorkommen dieser bzw. weiterer Schimmelpilze, die auch endophytisch wachsen können, auf Trauben und so die Bildung von DON möglich gewesen sein.

Im Jahrgang 2010 konnten in den Gärgut- und Weinproben aller Versuche DON-Gehalte (NG: 1,40 µg/L; BG: 5,16 µg/L) zwischen 24,2-173,3 µg/L respektive zwischen

6,8-102,1 µg/L bestimmt werden (Abbildung 94); im Jahr 2011 lagen die DON-Gehalte zwischen 4,3-72,2 µg/L in den Gärgutproben und zwischen 4,2-69,4 µg/L in den Weinproben der weißen Rebsorten (Abbildung 95). Beim vorliegenden Rotwein (V4-SpB) konnte nur im Wein des Saftvorlaufes und der Negativfraktion DON bestimmt werden. Der Saftvorlauf wies deutlich höhere Gehalte auf. Dies könnte mit der unterschiedlichen Vinifikation der Rotweinfractionen zusammenhängen (siehe Kapitel 8.2.2), da der Saftvorlauf des Spätburgunders wie die Weißweine vinifiziert wurde (siehe Kapitel 8.2.2.2). Insgesamt konnte kein Zusammenhang zwischen den DON-Gehalten und den einzelnen Versuchsfraktionen, d. h. den Fäulnisintensitäten, beobachtet werden, da nur vereinzelt die geringsten Gehalte in der Positiv- und die höchsten in der Negativfraktion bzw. im Saftvorlauf im Vergleich zur Kontrolle (u. a. V1-2010, V4/V6/V8/V9-2011) bestimmt wurden. Demzufolge konnte daraus kein allgemeingültiger Sortiereffekt abgeleitet werden. Die Gehalte lagen alle unterhalb der in der VO (EG) Nr. 1881/2006 festgelegten DON-Höchstgehalte von 0,2-1,75 mg/kg (je nach Erzeugnis).

Von Bedeutung ist auch der Vergleich der korrelierenden Gärgut- und Weinproben einer Fraktion. Es konnten sowohl geringere als auch höhere DON-Konzentrationen im Wein bestimmt werden, wobei eine Zunahme deutlich öfter zu beobachten war. Der Abbau von DON könnte auf die metabolische Aktivität von Mikroorganismen oder die Abbindung durch Mostinhaltsstoffe bzw. durch Mikroorganismen während der Gärung zurückzuführen sein. Jedoch kann ein Hefeeinfluss eher ausgeschlossen werden, da DON im Gegensatz zu Zearalenon nicht von Hefen metabolisiert wurde (Böswald et al., 1995). Die Zunahme der DON-Gehalte in den Weinen könnte damit erklärt werden, dass DON-produzierende Schimmelpilze im Most beständig sind und zu Beginn der alkoholischen Gärung eventuell durch den entstehenden Alkohol unter „Stress“ geraten, infolge dessen sie DON bilden. Bei den als Rotwein vinifizierten Fraktionen des Spätburgunders (Kontrolle, Positiv, Negativ) konnte nur im Wein der Negativfraktion ein geringe Zunahme des DON-Gehaltes bestimmt werden, was im Vergleich zur Saftfraktion und den Weißweinen mit der unterschiedlichen Vinifikation (u. a. Maischegärung, malolaktische Gärung) zusammenhängen könnte.

Fazit

Anhand der Ergebnisse der DON-Bestimmungen konnte kein allgemeingültiger Sortiereffekt abgeleitet werden. Da in fast allen untersuchten Proben DON gefunden wurde, sollten wie beim Patulin auch hier zukünftige Untersuchungen von Mosten und Weinen angestrebt werden, um eine fundierte Datenlage über DON-Gehalte in diesen Erzeugnissen zu schaffen. Weiterhin sollten die möglichen Derivate 3-Acetyl- und 15-Acetyl-DON bei der Analytik mit berücksichtigt werden.

5.3.2.3 Alternariol

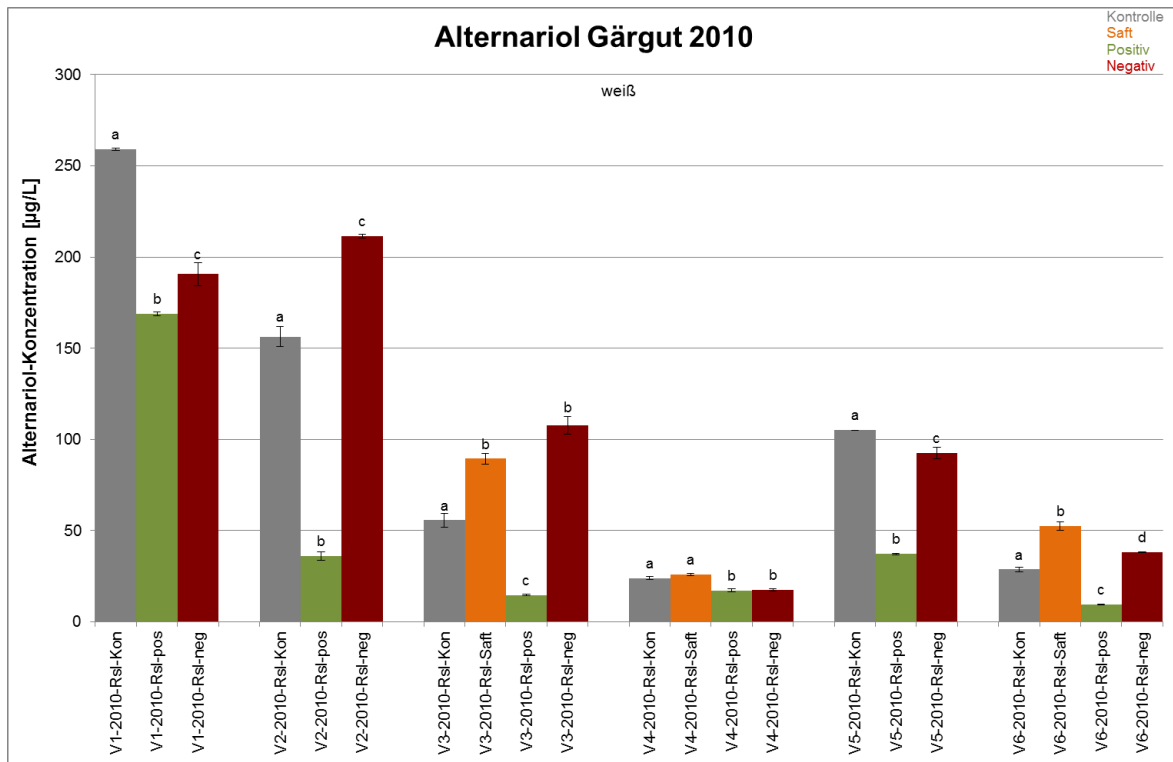


Abbildung 96: AOH-Gehalte der Gärutproben des Jahrgangs 2010 (n=2; p=0,05)

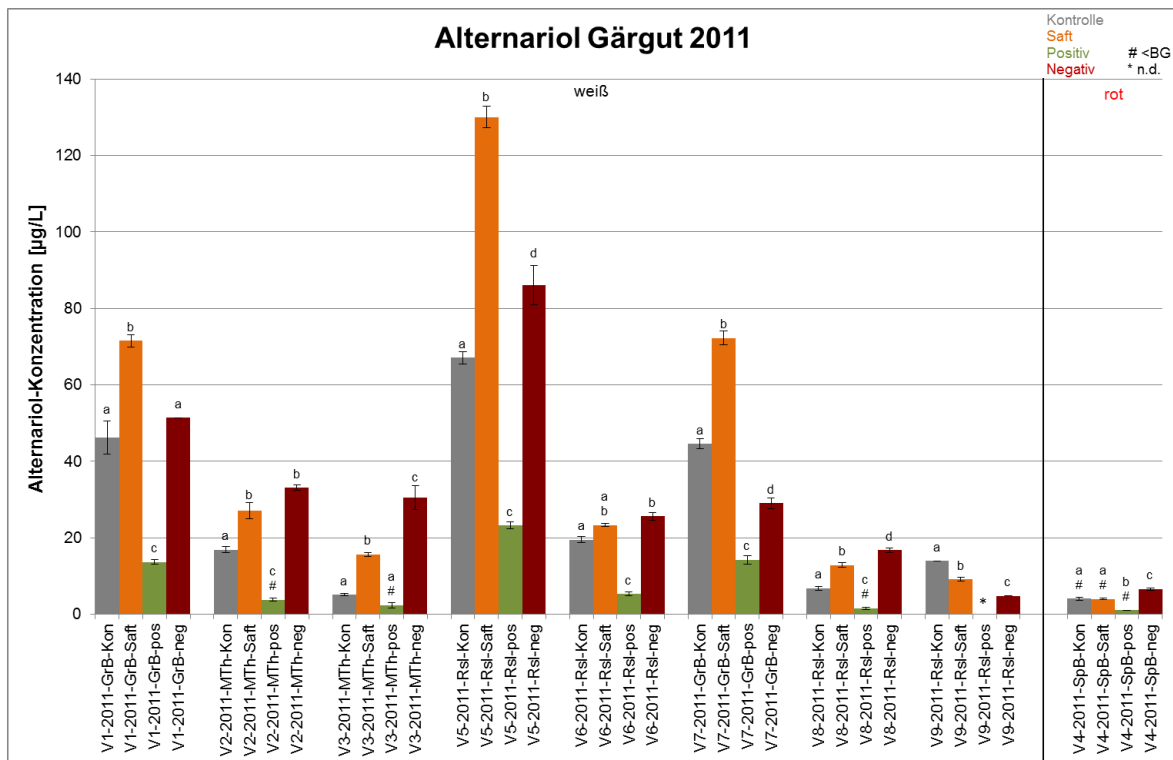


Abbildung 97: AOH-Gehalte der Gärutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Die AOH-Gehalte (NG: 1,08 µg/L; BG: 3,98 µg/L) schwankten in den Gärgutproben des Jahres 2010 zwischen 9,4-259,0 µg/L (Abbildung 96) und in den Weinproben, wenn nachweisbar, zwischen 1,1-4,2 µg/L (grafisch nicht dargestellt). Auch beim Vergleich der Gärgut- und Weinproben des Jahres 2011 waren deutliche Unterschiede zu erkennen; die Gehalte schwankten hier zwischen 1,1-130,0 µg/L (Abbildung 97) bzw. zwischen 1,1-2,4 µg/L (grafisch nicht dargestellt). Gründe für die deutliche Reduktion des AOH in den Weinproben könnten die Filtration der Weine (0,45 µm) bei Abfüllung, Adsorption des AOH durch Hefen und Abbau während der alkoholischen Gärung sein. Die Adsorption an Membranfilter (0,45 µm) konnte bereits bei unabhängigen AOH-Bestimmungen am BfR beobachtet werden (Klauffke, 2013). Eine Grobfiltration (5-10 µm), wie sie bei den Gärgutproben durchgeführt wurde, scheint demnach nicht für eine Adsorption und damit für die Abtrennung des AOH auszureichen.

Bei Betrachtung der Versuchsfraktionen der Gärgutproben konnte festgestellt werden, dass in den Positivfraktionen immer die geringsten Gehalte bestimmt wurden; die höchsten Gehalte konnten meist in den Negativfraktionen bzw. in den Safffraktionen, aber auch in den Kontrollfraktionen, beobachtet werden. Insgesamt lässt sich daraus ableiten, dass fäulnisbefallene Trauben zu höheren Gehalten in den entsprechenden Fraktionen führen; die Fäulnisintensität scheint hier jedoch nicht entscheidend zu sein.

Die ermittelten AOH-Gehalte in den Gärgutproben lagen deutlich über den in der Literatur gefundenen Gehalten in Traubensäften mit 0,46 µg/L-1,6 µg/L (Lau et al., 2003; Scott et al., 2006). Dies könnte auf unterschiedliche Verfahren sowie Schärpen bei der Filtration der Traubensäfte (u. a. Membranfiltration, Anschwemmfiltration) zurückgeführt werden. Weiterhin könnten diese geringeren Literatur-Gehalte von AOH auch mit der Adsorption an möglicherweise verwendete Behandlungsmittel erklärt werden.

Die geringen AOH-Gehalte in den Weinen der Sortiersuche korrelierten mit den folgenden Befunden aus der Literatur. Scott et al. (2006) untersuchten Weine auf deren AOH-Gehalt; in nur zwei Weißweinen konnten AOH-Gehalte von 0,67 bzw. 1,48 µg/L und in mehreren Rotweinen Gehalte von 0,13 µg/L-19,4 µg/L (durchschnittlich 2,6 µg/L) analysiert werden. Broggie et al. (2012) fanden im Vergleich dazu höhere AOH-Gehalte bis zu 18 µg/L in Weißweinen und bis zu 13 µg/L in Rotweinen. Von Scussel et al. (2013) wurden AOH-Gehalte zwischen 0,6-13,2 µg/L in den untersuchten Weinen (Rot-, Weiß- und Roséwein) detektiert. AOH konnte auch auf Korkstopfen von Rotweinflaschen in Gehalten von 5,8, 7,8 und 101 µg/g nachgewiesen werden (Scussel et al., 2013).

Die ermittelten Gehalte in den vorliegenden Proben waren deutlich geringer belastet verglichen mit argentinischem Weizen, auf dem AOH-Gehalte von 645-1388 µg/kg bestimmt wurden (Azcarate et al., 2008). Trotz der toxischen Effekte der *Alternaria*-Toxine

gibt es derzeit in Europa oder anderen Regionen der Welt keine Höchstmengen-Regulationen für Lebens- und Futtermittel (EFSA, 2011a). Ausgehend von den geringen AOH-Gehalten in filtrierten Traubensäften/Weinen kann scheinbar mittels Feinfiltration eine deutliche Reduktion der AOH-Gehalte erzielt werden, wodurch sich die toxischen Effekte minimieren.

Fazit

Durch Aussortieren von fäulnisbefallenen Beeren kann eine deutliche Reduktion der AOH-Gehalte in Mosten, die als Ausgangsmaterial für unfiltrierte Säfte/Weine dienen, erzielt werden. Ohne eine nachfolgende Feinfiltration könnte somit eine Sortierung als Maßnahme zur Gewährleistung der Qualitätssicherheit und auch -steigerung genutzt werden. Durch eine Feinfiltration kann das Risiko einer AOH-Belastung von Traubensäften und Weinen durch Adsorption aber ebenso effektiv minimiert werden.

5.3.2.4 Weitere Mykotoxine

Die Untersuchung der Proben hinsichtlich der Kontamination durch weitere Mykotoxine lieferte die im Folgenden dargestellten Ergebnisse. Da die Gehalte oft unter der jeweiligen Bestimmungsgrenze lagen, wurde von einer grafischen Darstellung abgesehen; es wurde nur die Anzahl der Proben, deren Gehalte zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze lagen, aufgelistet.

5.3.2.4.1 Mycophenolsäure

Im Jahr 2010 konnte die Mycophenolsäure (NG: 5,55 µg/L; BG: 19,55 µg/L) in 6 Gärgutproben mit Gehalten zwischen 5,84-10,96 µg/L bestimmt werden. Im Jahr 2011 lagen 3 Proben mit Gehalten zwischen 6,05-11,34 µg/L vor; der Gehalt der Probe V5-2011-Rsl-GG-neg lag mit 20,22 µg/L knapp über der Bestimmungsgrenze. Jedoch konnte in keiner Weinprobe Mycophenolsäure nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu konnten Meyer et al. (2001) in Rotweinen unterschiedlicher Herkunft und Jahrgänge in 91 % dieser Proben Mycophenolsäure-Gehalte von 3-20 µg/L nachweisen, mit einem Maximalwert von 130 µg/L. Dabei wurde das Ausmaß der Kontamination eher mit der Herkunft der Weine als mit dem Jahrgang korreliert, da die Weine aus Südeuropa (Griechenland und Spanien) höhere Gehalte aufzeigten. Als Ursache hierfür wurden produktionstechnische Faktoren in Betracht gezogen, z. B. mangelhaftes Entfernen deutlich fäulnisbefallener Trauben vom Lesegut. Laut Meyer et al. (2001) könnte der Mycophenolsäuregehalt im Wein als Indikator für die Stärke des Traubenbefalls vor und die Produktionshygiene während der Weinbereitung herangezogen werden.

5.3.2.4.2 Fumonisine

Auch die Fumonisine B₁ (NG: 1,12 µg/L; BG: 4,19 µg/L), B₂ (NG: 1,28 µg/L; BG: 4,93 µg/L) und B₃ (NG: 1,51 µg/L; BG: 5,52 µg/L) konnten in den Gärgut- und Weinproben der Sortiersversuche nachgewiesen werden.

Von den Proben des Jahrgangs 2010 war nur 1 Gärgutprobe mit 1,69 µg/L und 4 Weinproben mit 1,23-3,83 µg/L an Fumonisin B₁ belastet. Demgegenüber konnten in den Proben aus 2011 nur Spuren an Fumonisin B₁ (kleiner NG) beobachtet werden.

Fumonisin B₂ war in keiner Gärgutprobe, aber in 7 Weinproben des Jahrgangs 2010 in Konzentrationen von 1,28-4,12 µg/L nachweisbar. In den Proben des Jahres 2011 waren nur Spuren an Fumonisin B₂ (kleiner NG) vorhanden.

Auch Fumonisin B₃ kam in 3 Weinproben des Jahres 2010 in Konzentrationen von 1,83-4,25 µg/L vor; in den Gärgutproben waren auch hier Spurengehalte messbar. Wie auch bei den anderen beiden Fumonisinen konnte Fumonisin B₃ in den Sortierproben aus 2011 nur in Spuren detektiert werden.

Die beobachteten Jahrgangsunterschiede könnten darauf hindeuten, dass im Jahrgang 2010 minimal bessere Wachstumsbedingungen (u. a. klimatische Bedingungen, Traubenbeschaffenheit) zur Ansiedlung von Fumonisin-produzierenden Mikroorganismen vorherrschten.

Die in den Proben der weißen Rebsorten gefundenen Fumonisingehalte sind mit den folgenden Literaturwerten vergleichbar. Mogensen et al. (2010a) untersuchten u. a. Weißweine internationaler Herkunft auf deren Gehalt an Fumonisin B₂, wovon nur ein Weißwein mit einem Gehalt von 1,0 µg/L belastet war. Logrieco et al. (2010) konnten in keinem untersuchten Weißwein aus unterschiedlichen Regionen Italiens Fumonisin B₂ nachweisen; es konnten nur in den Rotweinen Fumonisin B₂-Gehalte zwischen 0,5-2,4 µg/L detektiert werden. Weiterhin enthielten nur 2 von 11 untersuchten roten Mostproben Fumonisin B₂-Gehalte zwischen 0,01-0,4 µg/mL (Logrieco et al., 2009). Im Vergleich dazu waren Maisproben aus Europa (u. a. Österreich, Ungarn, Polen, Portugal, Deutschland) mit Gehalten von 0,007-250 mg/kg deutlich höher belastet.

Aus der Risikoabschätzung von Logrieco et al. (2011) folgt, dass bei einer täglichen Aufnahme von 200 mL Wein mit einer Konzentration von 1 µg/L an Fumonisin B₂ durch eine Person mit einem Körpergewicht von 70 kg die tägliche Exposition gegenüber Fumonisinen durch Weinkonsum bei durchschnittlich 0,003 µg/kg KG/d liegen würde. Ausgehend davon kann der Beitrag durch Wein zur täglichen Aufnahme an Fumonisinen als vernachlässigbar angesehen werden (Logrieco et al., 2011).

5.3.2.4.3 T-2 Toxin

Auch das T-2 Toxin (NG: 1,26 µg/L; BG: 4,63 µg/L) konnte in 11 Gärgutproben des Jahres 2010 mit Gehalten zwischen 1,76-4,34 µg/L und in 4 Gärgutproben des Jahres 2011 mit 1,27-1,44 µg/L nachgewiesen werden. Die Weinproben beider Jahrgänge hingegen enthielten kein T-2 Toxin. T-2 Toxin wird bevorzugt bei feucht-kalten Bedingungen gebildet (EFSA, 2011b). Die kühleren klimatischen Bedingungen während des Herbstes 2010 im Vergleich zu den warmen klimatischen Bedingungen des Herbstes 2011 könnten demnach für das „häufigere“ Vorkommen dieses Mykotoxins in den 2010er Proben verantwortlich sein. Nach derzeitigem Kenntnisstand der Literatur handelt es sich erstmals um Positivbefunde des T-2 Toxins in Mosten/Gärgut. Üblicherweise kommt dieses Mykotoxin auf Getreide vor, u. a. auf Hafer in Konzentrationen von 83-215 µg/kg (LAVES, 2006); es konnte sogar in Gehalten bis zu 249 µg/L in brasilianischem Bier detektiert werden (Scott, 2008). Verglichen damit waren die eigenen Proben nur minimal belastet.

5.3.2.4.4 Tentoxin

Tentoxin (NG: 2,47 µg/L; BG: 8,97 µg/L) konnte in den 2010er Gärgutproben und in den 2011er Gärgut- und Weinproben in Spuren (kleiner NG) nachgewiesen werden. Wie bei AOH handelt es sich bei Tentoxin auch um ein *Alternaria*-Toxin. Da in den Gärgutproben erhöhte AOH-Gehalte gemessen wurden, könnte möglicherweise von der gleichen Schimmelpilz-Spezies (eventuell *Alternaria alternata*, die am häufigsten vorkommende *Alternaria*-Art) auch das in Spuren bestimmte Tentoxin gleichzeitig auf den Beeren gebildet worden sein. In der Literatur liegen bisher keine Daten über das Vorkommen von Tentoxin in Wein vor (EFSA, 2011a).

5.3.2.4.5 Abschlussbetrachtung

Alle weiteren untersuchten Mykotoxine konnten in den Versuchsfaktionen nicht nachgewiesen werden. Auch das am häufigsten in Mosten und Weinen untersuchte Ochratoxin A war nicht in den vorliegenden Proben, auch nicht in den fäulnisbelasteten Mosten und Weinen (Kontrolle, Saftvorlauf, Negativfraktion), enthalten. Ebenso konnten die Methyl- und Ethyl-Derivate von OTA bzw. OTB und auch das Abbauprodukt Ochratoxin alpha nicht nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse deckten sich mit den Befunden von Eder et al. (2002a), die in keinem edelsüßen, *Botrytis*-infizierten Prädikatswein aus Österreich OTA nachweisen konnten, was auf mehrere mögliche Ursachen zurückgeführt wurde. Einerseits ist es möglich, dass es zu keiner Infektion mit OTA-produzierenden Schimmelpilzen kam, da die klimatischen Bedingungen nicht

geeignet waren bzw. der angewandte Pflanzenschutz im Weinberg einen ausreichenden Schutz geboten hatte. Andererseits könnte es auch sein, dass zwar eine Infektion stattgefunden hatte, aber die Schimmelpilze aus bisher ungeklärten Gründen kein OTA bildeten. Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass OTA in den Beeren gebildet wurde, aber anschließend wieder von OTA-metabolisierenden Mikroorganismen (möglicherweise Hefen, *Botrytis*) abgebaut wurde (Eder et al., 2002a). Aufgrund der chemischen Eigenschaften kann OTA auch mit Phenolen und Proteinen eine Bindung eingehen (Paster, 2008), sodass es in gebundener Form nicht mehr erfasst wird. Diese Gründe könnten die Abwesenheit von OTA und dessen Derivate bei den eigenen Untersuchungen erklären. Diesbezüglich besteht jedoch noch ein großer Forschungsbedarf.

Auch das Fehlen weiterer Mykotoxine in den Versuchsproben könnte mit der Abwesenheit der entsprechenden Mykotoxin-bildenden Spezies oder mit möglichen Interaktionen vorkommender Schimmelpilze erklärt werden. Bei Letzterem könnten die Pilze um die verfügbaren Nährstoffe konkurrieren, was zur Reduzierung der Toxinkonzentration oder der Verhinderung der Bildung im Substrat führen kann (Bath et al., 2010; Magan et al., 2010).

5.4 Biogene Amine

Aspekte der Qualitätssicherung und –steigerung

Biogene Amine werden vor allem durch Mikroorganismen gebildet. Da faule Trauben ein sehr gutes Habitat für Mikroorganismen darstellen, wurde geprüft, ob faule Trauben zu einer Erhöhung der Gehalte an biogenen Aminen im Most bzw. Wein führen. Biogene Amine können sich in bestimmten Konzentrationen auch sensorisch nachteilig auf den Wein auswirken. Die Reduzierung von biogenen Aminen im Most bzw. Wein könnte neben der Qualitätssicherung vor allem zu einer deutlichen Qualitätssteigerung führen.

Qualitätssicherheit

Biogene Amine führen je nach Verträglichkeit bereits in geringen Gehalten zu Unwohlsein, weshalb in Weinen möglichst geringe Gehalte angestrebt werden.

Analytik

Nach Membranfiltration und Ansäuerung der Proben wurden Putrescin und Histamin mittels Ionenchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektion (LD) bestimmt (siehe Kapitel 8.2.4).

5.4.1 Histamin

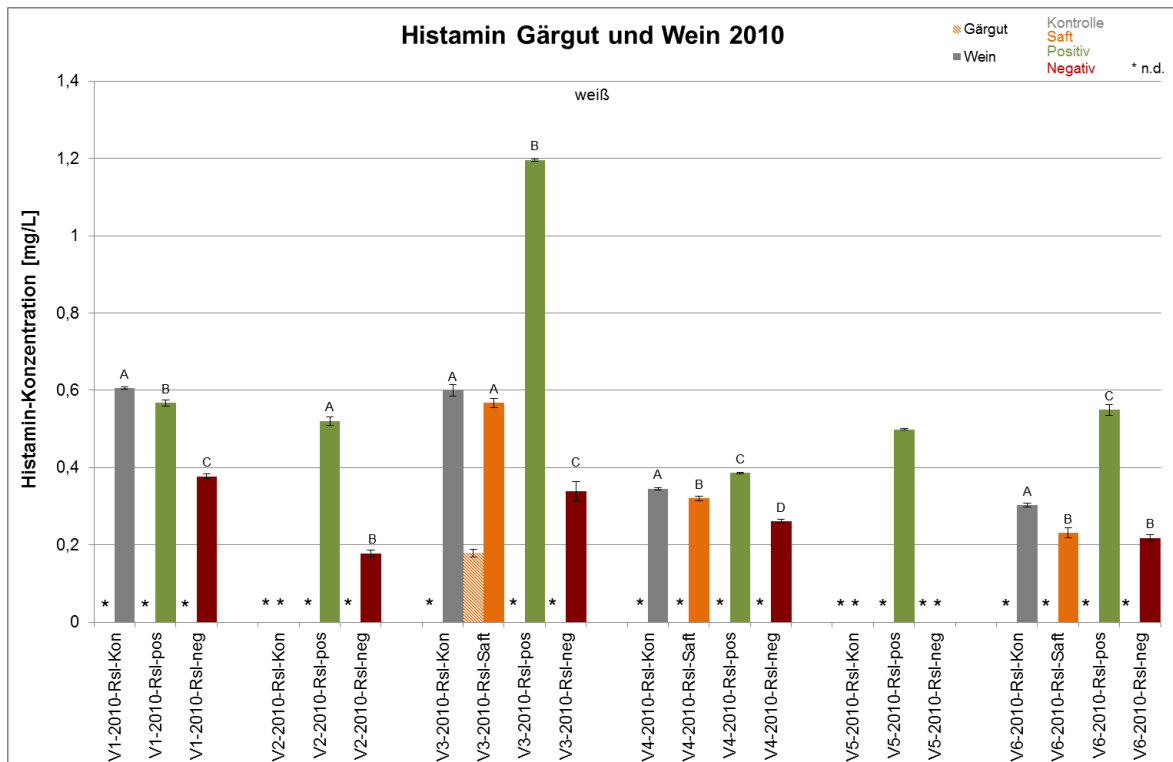


Abbildung 98: Histamingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05)

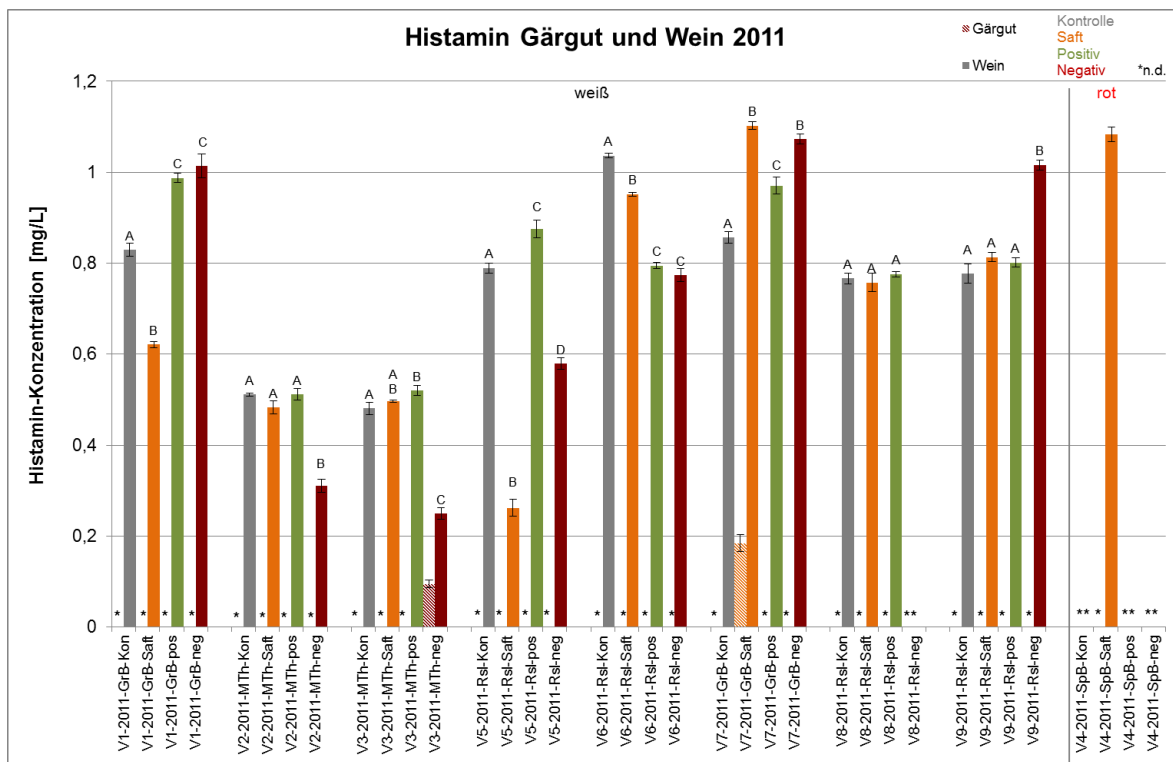


Abbildung 99: Histamingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (bei V4-2011-SpB vor malolaktischer Gärung) (n=3; p=0,05)

Die Histamingehalte der Gärgutproben unterschieden sich deutlich von den Histamingehalten der korrelierenden Weinproben beider Jahrgänge (Abbildung 98 und Abbildung 99). Im Jahrgang 2010 war nur im Gärgut von V3-2010-Rsl-Saft ein Histamingehalt von 0,18 mg/L ermittelbar; in allen anderen Gärgutproben konnte kein Histamin detektiert werden. Auch im Jahrgang 2011 konnte nur im Gärgut der Versuche V3-2011-MTh-neg und V7-2011-GrB-Saft ein Histamingehalt von 0,10 bzw. 0,18 mg/L bestimmt werden.

Die zugehörigen Weine des Jahrgangs 2010 enthielten Histamin in Konzentrationen von 0,18-1,20 mg/L mit durchschnittlich 0,44 mg/L; auch hier war Histamin teilweise nicht detektierbar (Weine der Versuche V2-2010-Rsl-Kon; V5-2010-Rsl-Kon/neg). Die Histaminkonzentrationen der Weine lagen 2011 zwischen 0,25-1,10 mg/L mit einem Durchschnitt von 0,74 mg/L. Bei V8-2011-Rsl-neg und bei den Rotweinfractionen V4-2011-SpB-Kon/pos/neg konnte im Wein kein Histamin detektiert werden.

Die Ergebnisse der Versuche zeigten, dass Histamin während der alkoholischen Gärung gebildet wurde. Dies konnte bei allen Versuchen hauptsächlich auf die Aktivität der verwendeten Hefe während der alkoholischen Gärung zurückgeführt werden, was die Ergebnisse mehrerer Studien bestätigen. Wallbrunn et al. (2011) zeigten, dass biogene Amine während der alkoholischen Gärung von Hefen gebildet, aber auch abgebaut werden können, wobei dies stammspezifisch ist. Mit einer Ausgangskonzentration von 0,3 mg/L Histamin im Most konnte hier eine Bildung von bis zu 1 mg/L beobachtet werden, ebenso ein Abbau um 0,2 mg/L. Auch Goñi und Azpilicueta (2001) beschreiben, dass das Verhältnis der Konzentration an biogenen Aminen und ihren Vorläufer-Aminosäuren während der Gärung vom eingesetzten Hefestamm abhängig ist. Caruso et al. (2002) fanden heraus, dass die Hefestämme *Saccharomyces cerevisiae* und *Brettanomyces bruxellensis* an der Bildung biogener Amine beteiligt sind, wobei der erste Hefestamm höhere Gehalte bildete. Da dieser auch bei den vorliegenden Proben verwendet wurde, kann damit die Bildung des Histamins bei den eigenen Untersuchungen erklärt werden. Weiterhin konnte in den untersuchten Rotweinfractionen Kontrolle, Positiv und Negativ Histamin weder im Gärgut noch im Wein (nach alkoholischer Gärung) nachgewiesen werden. Dies bestätigt klar die Abhängigkeit der Histaminbildung vom eingesetzten Hefestamm, da für die alkoholische Vergärung dieser Rotweinfractionen ein Hefestamm der Art *Saccharomyces cerevisiae* für Rotweine eingesetzt wurde. Im Vergleich dazu wurde zur Vergärung der Saffraktion des Rotweins ein Hefestamm der Art *Saccharomyces cerevisiae* für Weißweine verwendet, da es sich hier nur um „Saft“ ohne Traubenbestandteile handelte und folglich keine Maischegärung durchgeführt werden konnte (siehe Kapitel 8.2.2.2.2). Hier war aufgrund der unterschiedlichen Vinifikation und eingesetzten Hefespezies ein Histamingehalt ermittelbar.

Im Gegensatz zu Soufleros et al. (1998), Landete et al. (2007) und Cañas et al. (2008) konnte auch nach malolaktischer Gärung kein Anstieg des Histamingehaltes in den eigenen Rotweinproben nachgewiesen werden (grafisch nicht dargestellt). Dies könnte mit unterschiedlichen Bedingungen bei der Vinifikation wie bspw. Temperatur, pH-Wert und Sauerstoffeintrag während der Gärung, erklärt werden, die u. a. die Aktivität von Decarboxylasen beeinflussen (Lonvaud-Funel, 2001; Martín-Álvarez et al., 2006; Smit et al., 2008; Anli, Bayram, 2009).

Bei den Histamingehalten 2010 lagen die höchsten Gehalte tendenziell in den positiven Fraktionen der Weine vor, was möglicherweise auf höhere Histidinkonzentrationen in den gesunden Beeren und einen höheren Fruchtfleischanteil dieser Fraktion im Vergleich zur negativen Fraktion aus faulen Beeren zurückgeführt werden kann. Dittrich und Sponholz (1975) zeigten, dass Histidin bereits in 23 % höheren Konzentrationen im gesunden Most verglichen mit faulem Most vorkam. Bei einer solchen Ausgangssituation stünde den decarboxylierenden Mikroorganismen bereits weniger Substrat in den befallenen Mosten zur Verfügung, womit die geringeren Histamingehalte in den Negativfraktionen der Weine dieses Projektes erklärt werden könnten.

Diese Tendenz signifikant höherer Histamingehalte in den Positivfraktionen im Vergleich zu den Negativfraktionen war 2011 nur vereinzelt erkennbar (Versuche V2/V3/V5/V8). Bei den Versuchen V2-2011 und V3-2011 handelte es sich um die Rebsorte Müller-Thurgau. Im Vergleich mit den anderen Sortierversuchen lagen die Histamingehalte mit durchschnittlich 0,44 mg/L deutlich unter dem Durchschnittsgehalt von 0,81 mg/L bei den Rebsorten Riesling (Versuche V5/V6/V8/V9) und Grauburgunder (Versuche V1/V7). Dieses Ergebnis ließe sich möglicherweise mit der Abhängigkeit der Aminosäurekonzentration von der Rebsorte und der daraus resultierenden Unterschiede in der Bildung der biogenen Amine erklären (Soufleros et al., 1998; Marques et al., 2008).

5.4.2 Putrescin

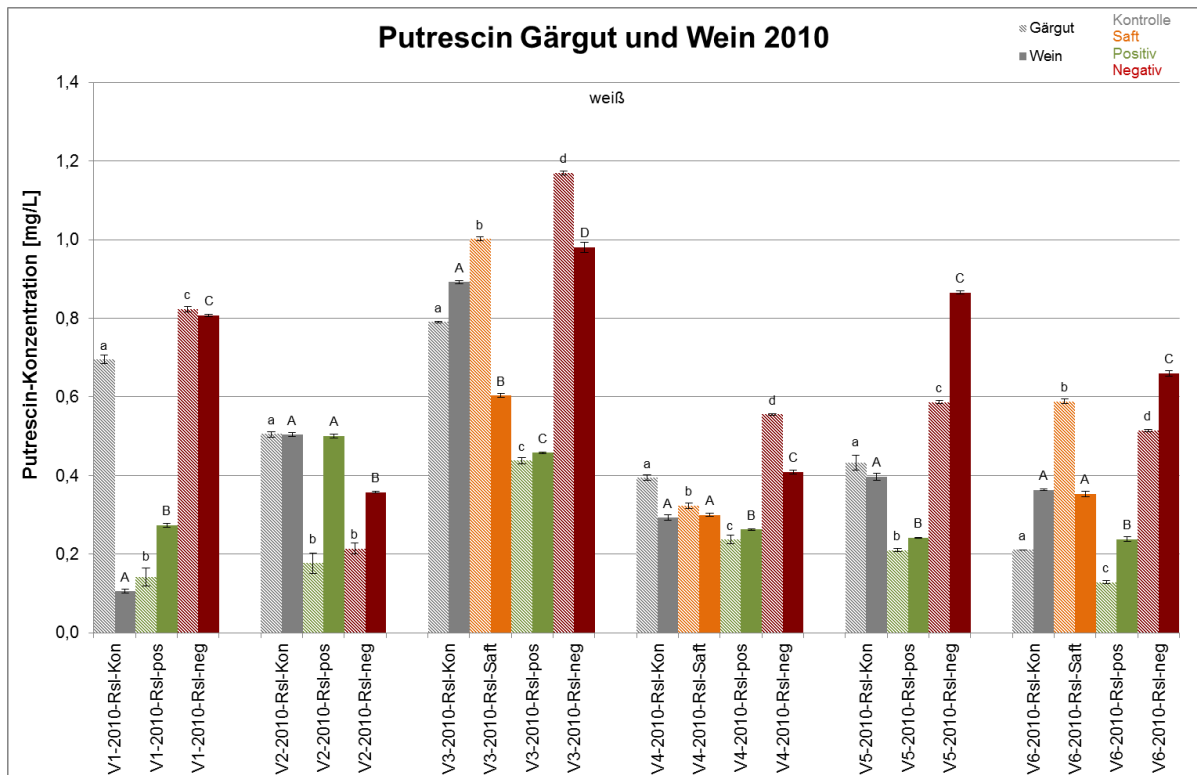


Abbildung 100: Putrescingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05)

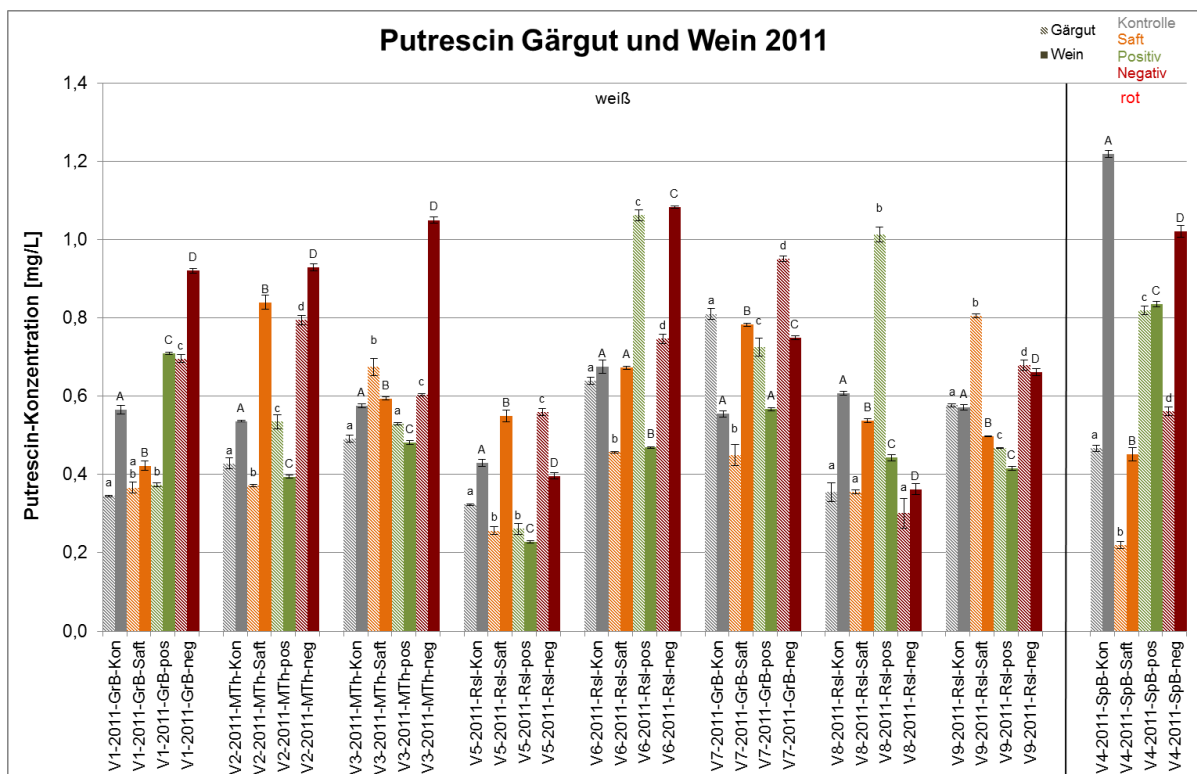


Abbildung 101: Putrescingehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (bei V4-2011-SpB vor malolaktischer Gärung) (n=3; p=0,05)

Die Putrescingehalte des Jahrgangs 2010 lagen in den Gärgutproben im Bereich von 0,13-1,17 mg/L mit durchschnittlich 0,48 mg/L und in den Weinproben in einem vergleichbaren Bereich von 0,11-0,98 mg/L mit durchschnittlich 0,47 mg/L (Abbildung 100). Im Jahr 2011 konnten ähnliche Konzentrationsbereiche von 0,22-1,07 mg/L mit einem Durchschnitt von 0,58 mg/L im Gärgut und von 0,23-1,22 mg/L mit einem Durchschnitt von 0,61 mg/L im Wein bestimmt werden (Abbildung 101). Bei beiden Jahrgängen konnte keine allgemeingültige Aussage bezüglich der Putrescingehalte im Gärgut und den entsprechenden Weinen beim Vergleich der einzelnen Fraktionen getroffen werden, da nach der alkoholischen Gärung sowohl eine Zu- als auch eine Abnahme der Putrescingehalte im Wein, unabhängig der Fraktionen, beobachtet werden konnte. Im Gegensatz zu Histamin konnte beim Putrescin demnach nicht gefolgert werden, dass die Putrescinbildung fast ausschließlich während der Gärung stattgefunden hat. Wallbrunn et al. (2011) konnten feststellen, dass bei Verwendung verschiedener Reinzuchthefen eine durchschnittlich geringe Putrescinbildung (0,5-1,7 mg/L) während der Vergärung stattfindet.

Mit Ausnahme der Versuche V1 und V4 des Jahrgangs 2011 war bei der Positivfraktion der Trend einer abnehmenden Putrescinkonzentration während der Gärung zu beobachten. Da Putrescin auch von Hefen metabolisiert werden kann, sind nach einer alkoholischen Gärung geringere Putrescinkonzentrationen im Vergleich zur Ausgangskonzentration im Most möglich (Del Prete et al., 2009).

Bei den Versuchen V1/V3/V4/V5/V6 des Jahrgangs 2010 zeigten sich signifikant höhere Gehalte in den Negativfraktionen der Gärgut- und Weinproben im Vergleich zu den anderen Fraktionen. Dieser Trend war auch bei Betrachtung der Negativfraktionen der 2011er Weine der Versuche V1/V2/V3/V6 und V9 erkennbar. Die Negativfraktionen der Sortierversuche zeichneten sich durch einen hohen Schalen- und Kern-, aber geringeren Saftanteil aus, bedingt durch die Konzentrierung durch den *Botrytis*-Befall. Broquedis et al. (1998) und Kiss et al. (2006) konnten in ihren Untersuchungen hohe Putrescingehalte in diesen Traubenbestandteilen bestimmen, womit folglich die höheren Gehalte in den Negativfraktionen erklärt werden können.

Wie beim Histamin konnten auch beim Putrescin in den Rotweinproben keine erhöhten Gehalte nach malolaktischer Gärung (grafisch nicht dargestellt) im Vergleich zu den Weißweinproben aus den bereits genannten Gründen (siehe Kapitel 5.4.1) bestimmt werden.

Bei Anwesenheit der Polyphenole Kaffeesäure, Vanillinsäure und Protocatechusäure, die die Zellen der Trauben vor oxidativem Stress schützen, konnte eine Abnahme der Putrescinproduktion, ausgehend von Agmatin, beobachtet werden (Galgano et al., 2011).

Da Vanillinsäure in den Sortierfraktionen in vergleichsweise höheren Gehalten vorlag (Kapitel 5.5.2.2), könnte hier durch die enzymatische Decarboxylierung dieses Phenols durch die N-Carbamoylputrescin-Aminohydrolase die Bildung von Putrescin im Zuge einer Konkurrenzreaktion verringert worden sein.

5.4.3 Diskussion Histamin und Putrescin: Fäulniseinfluss und önologische Auswirkungen

In Anlehnung an die Literatur wurden die Fäulniseinflüsse und die önologischen Auswirkungen auf die Gehalte an Putrescin und Histamin gemeinsam betrachtet und diskutiert.

Die ermittelten geringen Gehalte an Putrescin und Histamin in den einzelnen Sortierfraktionen spiegelten die in der Literatur beschriebenen geringen Gehalte in Weißweinen wider, wobei die Putrescingehalte oft noch unterhalb der Literaturwerte lagen.

Scholten und Friedrich (1998) untersuchten den Einfluss einer *Botrytis*-Infektion auf den Gehalt an biogenen Aminen in 31 Rieslingweinen der Qualitätsstufen Auslese, Beerenauslese sowie Trockenbeerenauslese mit einem deutlichen *Botrytis*-Ton. Histamin und Putrescin wurden hier nur in geringen Konzentrationen und geringen Konzentrationsbereichen ermittelt. Die Putrescingehalte lagen durchschnittlich zwischen 0,1-0,6 mg/L mit einem Höchstwert von 1,1 mg/L; die Histamingehalte lagen teilweise unter 0,1 mg/L mit einem durchschnittlichen Konzentrationsbereich zwischen 0,2-0,8 mg/L; auch hier traten zwei Höchstwerte von 1,1 bzw. 1,4 mg/L auf. Der Befall mit *Botrytis cinerea* führt demzufolge nicht zwangsläufig zu Problemen mit biogenen Aminen (Scholten, Friedrich, 1998).

Auch Eder et al. (2002b) untersuchten Moste und Weine aus gesundem und faulem Lesegut und konnten ebenfalls eine Zu- bzw. Abnahme an Putrescin und Histamin während der Gärung beobachten. Putrescin wurde in Mosten bzw. Weinen aus gesundem Lesegut mit durchschnittlich 2,17 mg/L bzw. 2,36 mg/L bestimmt. Nur geringfügig höher waren die durchschnittlichen Gehalte in den Mosten und Weinen aus faulem Lesegut mit 2,49 bzw. 2,69 mg/L. Histamin wurde in Mosten bzw. Weinen aus gesundem Lesegut mit durchschnittlich 0,73 bzw. 1,13 mg/L bestimmt, wohingegen leicht höhere Gehalte von 1,28 bzw. 1,81 mg/L in Mosten und Weinen aus faulen Trauben nachgewiesen wurden. Die insgesamt niedrigen Durchschnittsgehalte korrelieren mit den eigenen Befunden aus den Sortierversuchen. Trotz teilweise leicht erhöhter Putrescingehalte in den Negativfraktionen konnte insgesamt bei Betrachtung beider biogener Amine kein

allgemeingültiger Trend zwischen den einzelnen Sortierfraktionen beobachtet werden. Demnach kann gefolgert werden, dass der Gehalt der biogenen Amine Putrescin und Histamin in den untersuchten Proben nicht zwingend vom Grad der Fäulnisbelastung abhängig war.

Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass eine Vielzahl önologischer Faktoren (wie bspw. eine malolaktische Gärung) einen Einfluss auf die Gehalte an biogenen Aminen im Wein ausüben kann. Die im Folgenden aufgeführten Studien aus der Literatur verdeutlichen, dass Putrescin und Histamin in Mosten und Weinen in großen Konzentrationsbereichen zu finden sind und demzufolge die ermittelten Gehalte der eigenen Untersuchungen als niedrig einzustufen sind. Aus der Übersicht von Ladero et al. (2010) ist zu erkennen, dass sich die Gehalte an Histamin und Putrescin im Most und Wein deutlich unterscheiden, wobei auch die Gehalte in Rot- und Weißwein deutlich unterschiedlich sind. Für Histamin sind im Most keine Gehalte beschrieben; die Gehalte im Weißwein liegen bei 1,1 mg/L und im Rotwein bei 19,6 mg/L. Für Putrescin werden bereits im Most durchschnittlich 12,3 mg/L beschrieben, im Weißwein 9,7 mg/L und im Rotwein 99,9 mg/L. Demgegenüber war in den untersuchten Pinot Noir Weinen von Jeromel et al. (2012) Histamin das am häufigsten vorkommende Amin in deutlich geringeren Gehalten von 3,26-3,49 mg/L. Auch Putrescin wurde in deutlich geringeren Gehalten zwischen 0,39-0,46 mg/L bestimmt. Enorme Schwankungen der Gehalte an Putrescin und Histamin in Rotweinen zeigen auch die Ergebnisse von Konakovsky et al. (2011). Die durchschnittlichen Histamingehalte lagen hier bei 8,5 mg/L mit einer Schwankungsbreite von 0,52-27 mg/L, was mit den Ergebnissen von Wantke et al. (2008) übereinstimmt. Die Putrescinkonzentrationen lagen zwischen 2,93-122 mg/L, mit einem durchschnittlichen Gehalt von 19,4 mg/L (Konakovsky et al., 2011).

Im Vergleich zu Käse mit durchschnittlichen Histamingehalten von 20,9-62,0 mg/kg und Putrescingehalten von 25,4-65,0 mg/kg (EFSA, 2011) ist die Aufnahme dieser beiden biogenen Amine über Wein mit den ermittelten Maximalgehalten von 1,2 mg/L in den Sortierfraktionen als gering anzusehen. Es muss jedoch beachtet werden, dass die im Wein enthaltenen Verbindungen wie Ethanol, Acetaldehyd und Putrescin zu einer Verstärkung der gesundheitlich nachteiligen Wirkungen von Histamin führen können (Silla Santos, 1996; Önal, 2007; Ladero et al., 2010), was beim gemeinsamen Konsum von Wein und Lebensmitteln mit hohen Histamingehalten, wie bspw. Käse, zu berücksichtigen ist.

Fazit

Die analysierten Gehalte an biogenen Aminen der beiden Versuchsjahrgänge 2010 und 2011 waren in den Gärgut- und Weinproben auch aus fäulnisbelasteten Beeren sehr gering (<1,2 mg/L). Sensorisch unerwünschte Einflüsse konnten daher ausgeschlossen werden. In den untersuchten Proben konnten Qualitätsbeeinflussungen durch biogene Amine demnach als vernachlässigbar angesehen werden.

In den Gärgutproben konnte meist kein Histamin nachgewiesen werden. Die Fäulnisbelastungen der Versuchsjahre wirkten sich somit nicht auf die Histaminbildung aus. Die geringen Histamingehalte in den Weinen waren vor allem auf Mikroorganismenaktivitäten während der alkoholischen Gärung zurückzuführen.

Putrescin konnte in einigen Negativfraktionen in leicht erhöhten Gehalten bestimmt werden. Das Aussortieren der faulen Beeren (Positivfraktion) zeigte im Vergleich zur Kontrolle hingegen oft keine wesentliche Reduzierung.

5.5 Phenolische Inhaltsstoffe

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Phenole zählen zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und spielen bei der Beurteilung der Qualität von Weinen eine besondere Rolle, da sie an der oxidativen Bräunung von Mosten und Weinen insbesondere weißer Rebsorten beteiligt sind (Cheynier et al., 1988) und dadurch die sensorischen Eigenschaften, speziell die Farbe des Weines, beeinflussen (Lee, Jaworski, 1987; Komes et al., 2007). Besonders Moste und Weine aus *Botrytis*-infizierten Beeren haben eine viel höhere Bräunungsbereitschaft als solche aus gesunden Beeren, was mit der enzymatischen Oxidation phenolischer Verbindungen, ausgehend von der durch *Botrytis* freigesetzten Laccase, erklärt werden kann. Durch Aussortieren des faulen Lesegutes sollte untersucht werden, ob die sensorischen Eigenschaften der Moste und Weine qualitativ verbessert werden können.

5.5.1 Gesamtphenolgehalte

Analytik

Zur Untersuchung der Auswirkungen eines Fäulnisbefalls wurden die Gesamtphenolgehalte in den Gärgutproben der Sortierversuche beider Jahrgänge nach der Folin-Ciocalteu-Methode bestimmt und als Gallussäure-Äquivalente (GAE) berechnet (siehe Kapitel 8.2.5).

Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 102 und Abbildung 103 zeigen die Ergebnisse der Gärgutproben der weißen Rebsorten. Bei der Rotweinbereitung zielt die Verfahrenstechnik (Maischegärung) im Allgemeinen hauptsächlich auf die Extraktion der Zellen der Beerenhaut ab, vor allem auf die Extraktion der darin enthaltenen Phenole (farbgebende Anthocyane). Bei den Gärgutproben des Rotweins des Jahrgangs 2011 handelte es sich um unmittelbar vor Beginn der Extraktion gezogene Mostproben. Aufgrund der fehlenden Extraktion wurde daher von der Betrachtung des Gesamtphenolgehaltes der Versuchsfractionen des Rotweins abgesehen.

Bei Weinen kann u. a. Schwefeldioxid zu erhöhten Gesamtphenolgehalten bei der Bestimmung mittels der Folin-Ciocalteu-Methode beitragen (Waterhouse, 2002b). Daher wurde auf die Darstellung und Diskussion der Ergebnisse der Weinproben verzichtet.

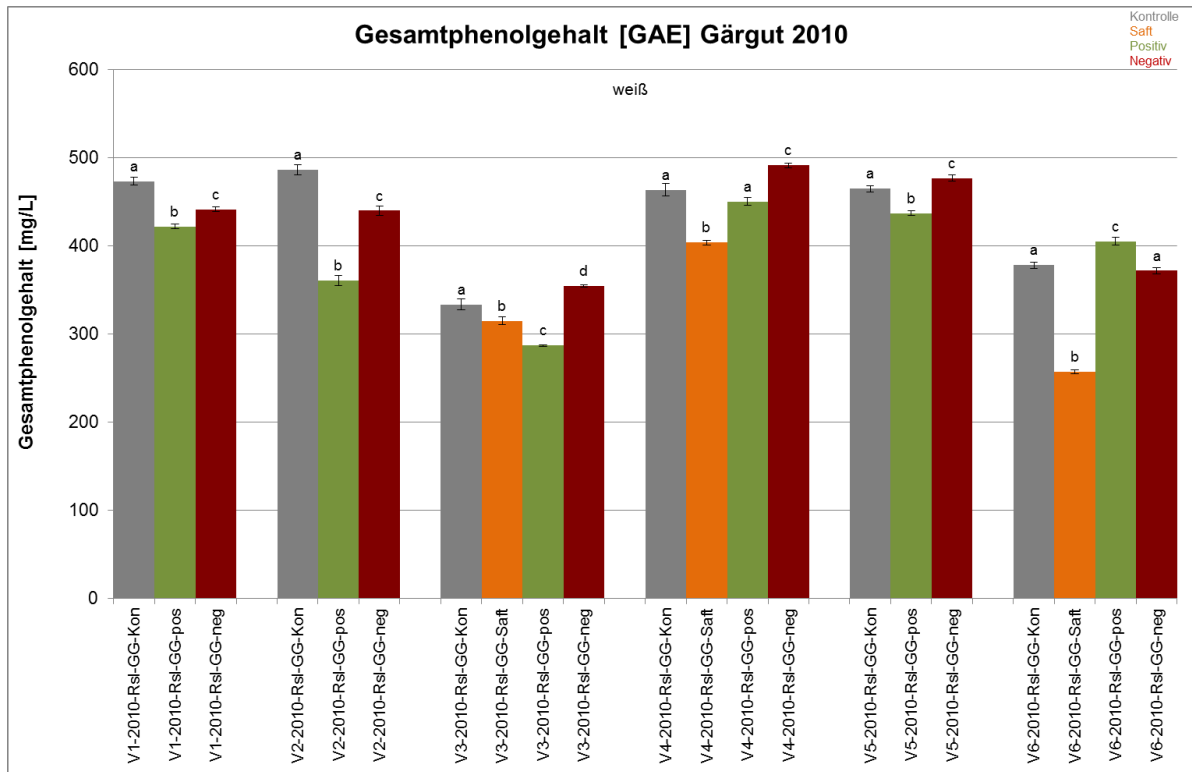


Abbildung 102: Gesamtphenolgehalte (berechnet als Gallussäure-Äquivalente) der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05)

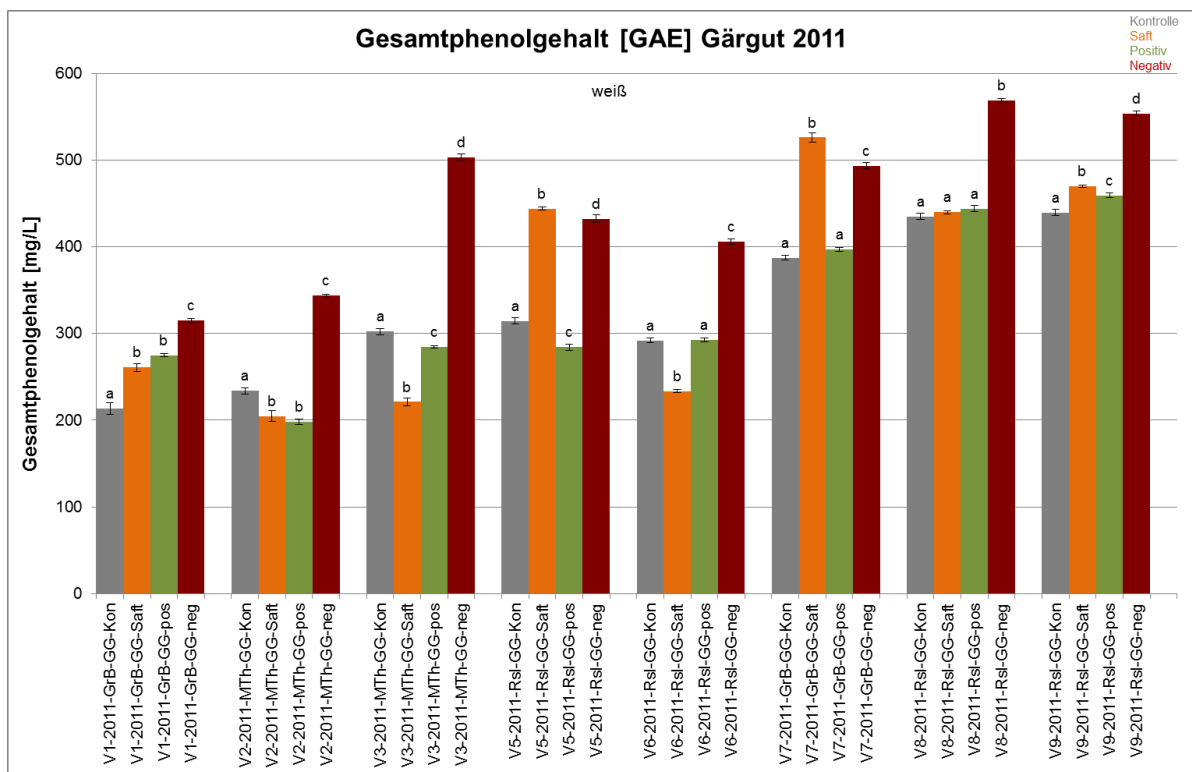


Abbildung 103: Gesamtphenolgehalte (berechnet als Gallussäure-Äquivalente) der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05)

Die Gesamtphenolgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 lagen zwischen 257-491 mg GAE/L. Im Vergleich zu den Kontroll- und Negativfraktionen konnten in den Positivfraktionen oft nur geringfügig geringere Gesamtphenolgehalte ermittelt werden. Über alle Versuche betrachtet war demnach keine allgemeingültige Tendenz zwischen den einzelnen Fraktionen Kontrolle, Saft, Positiv und Negativ erkennbar.

Die Gesamtphenolgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 zeigten einen Schwankungsbereich zwischen 198-568 mg GAE/L auf. Hier war ersichtlich, dass die höchsten Phenolgehalte überwiegend in den Negativfraktionen bestimmt wurden. Bei den Fraktionen Kontrolle, Saftvorlauf und Positiv lagen oft keine signifikanten Unterschiede vor und es konnte dementsprechend auch hier keine allgemeingültige Tendenz, basierend auf dem Gesamtphenolgehalt, abgeleitet werden.

Beim Vergleich der Kontrollfraktionen mit den Positivfraktionen beider Jahrgänge konnten trotz unterschiedlicher Fäulnisanteile in den Kontrollfraktionen insgesamt nur minimale Unterschiede in den Gesamtphenolgehalten beobachtet werden, was mit einem ähnlichen Anteil von Saft zu Schale bzw. Kernen, in denen die Phenole enthalten sind, bei beiden Fraktionen erklärt werden kann.

Eigentlich wären in den Negativfraktionen geringere Gesamtphenolgehalte zu erwarten gewesen, da bei einem *Botrytis*-Befall der Beeren im Allgemeinen eine verstärkte enzymatische Oxidation der Phenole durch die vom Pilz freigesetzte Laccase festgestellt werden kann (Ribéreau-Gayon et al., 1980). Die überwiegend höheren Phenolgehalte in den Negativfraktionen des Jahrgangs 2011 könnten im vorliegenden Fall mit dem erhöhten Kern- und Schalenanteil und den daraus gelösten Phenolen erklärt werden. Während des Sortierprozesses haften viele Kerne aus aufgeplatzten Beeren am Sortierband und werden folglich als negative Bestandteile ausgeschleust. Zu dem hohen Phenolgehalt tragen hier dann vor allem Catechine bei, die überwiegend in den Kernen und der Schale vorkommen (Kennedy et al., 2006). Im Gegensatz dazu lagen im Jahrgang 2010 in den Negativfraktionen überwiegend rosinenartig eingetrocknete Beeren vor, wodurch auch nicht bei jedem Versuch ein Saftvorlauf erhalten wurde. Aufgrund des geringen Saftanteils in den faulen Beeren konnten hier weniger Phenole aus den Kernen und Schalen im Vergleich zu 2011 herausgelöst werden.

Bei den Versuchen V2-2011, V3-2011, V6-2011 und V9-2011 handelte es sich um Maschinenlesegut. Bei Maschinenlesegut kann es zu einer stärkeren mechanischen Belastung der Trauben durch das Rüttelwerk der Erntemaschine und damit zu einer verstärkten Extraktion der Phenole kommen. Insgesamt konnte jedoch kein deutlicher Unterschied in den Phenolgehalten des Maschinenleseguts im Vergleich zum Handlesegut festgestellt werden.

Fazit

Entgegen der erwarteten Reduktion der Phenolgehalte durch fäulnisbedingte Oxidationen lagen in den Kontrollfraktionen oft keine geringeren Gesamtphenolgehalte im Vergleich zu den Positivfraktionen vor. Unter den getesteten Bedingungen kam es in den einzelnen Fraktionen, insbesondere in der Negativfraktion, zu einer verfahrens- und fäulnisbedingten Verhältnisverschiebung von Schalen-, Kern- sowie Saftanteilen. Vor allem in den Negativfraktionen kamen erhöhte Gesamtphenolgehalte vor, die insbesondere durch einen höheren Kernanteil (mit hohen Phenolgehalten) in dieser Fraktion bedingt waren. Die Beurteilung eines Fäulniseinflusses anhand des Gesamtphenolgehaltes war demnach nicht möglich.

5.5.2 Einzelphenolgehalte

Zur detaillierten Untersuchung der Auswirkung eines Fäulnisbefalls auf phenolische Verbindungen wurden die Gärgut- und Weinproben beider Versuchsjahre hinsichtlich ausgewählter einzelner Phenole untersucht, da die Auswirkung eines Fäulnisbefalls auf den Gesamtphenolgehalt keine eindeutige Tendenz zeigte. Dazu wurde die im Folgenden dargestellte Methode zur Bestimmung einzelner Phenole in Mosten und Weinen mittels HPLC-UV entwickelt. Die Proben wurden nur einfach bestimmt, um generelle Trends einer Fäulnisbelastung auf die einzelnen Phenole herauszuarbeiten. Die Ergebnisse sind daher als Screening anzusehen. Überprüfungen auf statistische Signifikanzen liegen folglich nicht vor.

5.5.2.1 Analytik: Methodenentwicklung

Zur Quantifizierung wichtiger phenolischer Verbindungen in Mosten und Weinen wurde eine HPLC-UV-Methode entwickelt; die Trennung der phenolischen Verbindungen konnte unter den in Tabelle 17 dargestellten Bedingungen erzielt werden.

5.5.2.1.1 Chromatographie-Parameter

Tabelle 17: Geräteparameter zur Bestimmung phenolischer Verbindungen

HPLC	HPLC-UV, Agilent Technologies		
Säule	Phenomenex Kinetex PFP		
Material	Pentafluorphenyl, TMS endcapped, 75 x 4,6 mm, 2,6 µm		
Säulentemperatur	25 °C		
Fluss	1 mL/min		
Fließmittel	A: Wasser/Phosphorsäure (99,5/0,5 % v/v) B: Acetonitril/Wasser/Phosphorsäure (50/49,5/0,5 % v/v) (Rechner et al., 1998; Bonerz et al., 2008)		
Injektionsvolumen	20 µL		
Gradientensystem	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
	0	90	10
	13	62	38
	20	60	40
	22	0	100
	27	0	100
	28	90	10
	35	90	10
Detektionswellenlängen	280 / 320 nm		

Das verwendete Säulenmaterial kann (Abbildung 104) sowohl mit den aromatischen als auch den polaren Molekülbestandteilen der phenolischen Verbindungen Wechselwirkungen ausbilden.

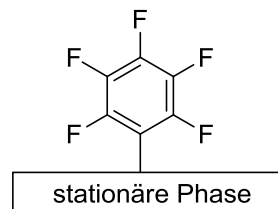


Abbildung 104: Strukturelement Pentafluorphenyl (PFP) der stationären Trennphase der Kinetex-PFP-Säule

Weiterhin zeichnet sich die verwendete Säule durch die kurze Trennlänge (75 mm) und die geringe Partikelgröße der stationären Phase (2,6 µm) aus, wodurch eine verkürzte Trenndauer der phenolischen Verbindungen erreicht werden kann. Im Gegensatz zu vollporösen Partikeln bestehen die Partikel der verwendeten Kinetex-Säule aus einem festen Kern mit einer porösen Hülle. Dadurch wird eine reduzierte Diffusionsstrecke der Analyten erreicht, was zu einer verbesserten Auflösung und einer verkürzten Trenndauer führt (Abbildung 105) (Phenomenex, Torrance, CA/USA).

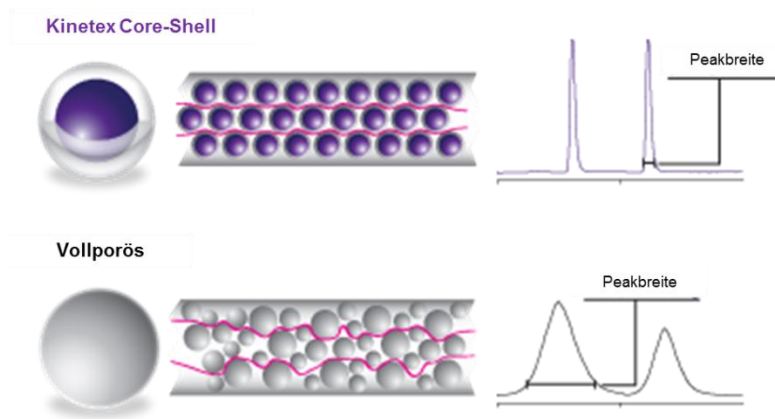


Abbildung 105: Core-Shell Material der Kinetex Säule (modifiziert nach Phenomenex: <http://www.phenomenex.com/Kinetex/CoreShellTechnology>, 27.09.13)

Bei den bisher in der Literatur beschriebenen Methoden wurden meist Säulen mit C18- (Komes et al., 2007) bzw. Fluofix-Phasen (Rechner et al., 1998) mit 250 mm Länge verwendet, bei denen die Trennung phenolischer Verbindungen pro Lauf 45-75 Minuten dauert. Durch die Verwendung der Kinetex-PFP-Säule konnte die Trenndauer der untersuchten phenolischen Verbindungen auf weniger als 20 Minuten verkürzt werden. Die anschließenden 15 Minuten des Gradientenprogramms dienen der Spülung und Equilibrierung der Säule (Tabelle 17).

Die verwendeten Eluenten Wasser/Phosphorsäure (99,5/0,5 % v/v) und Acetonitril/Wasser/Phosphorsäure (50/49,5/0,5 % v/v) (Rechner et al., 1998; Bonerz et al., 2008) haben sich im Gegensatz zu anderen in der Literatur beschriebenen Eluenten aus beispielsweise Wasser und Methanol (Goldberg et al., 1996; Komes et al., 2007) für die Trennung der phenolischen Verbindungen auf der Kinetex-PFP-Säule als geeignet herausgestellt.

Die Absorptionsmaxima der einzelnen Phenole wurden mittels Wellenlängenscan im Bereich von 200-450 nm photometrisch ermittelt. In Tabelle 18 sind die untersuchten Phenole sowie deren HPLC-Parameter aufgelistet.

Tabelle 18: Absorptionsmaxima, Retentionszeiten und Stammlösungen der phenolischen Analyten

Analyt	Wellenlänge Absorptionsmaximum [nm]	Retentionszeit [min]	Stammlösung
Gallussäure	280	1,85	1
Protocatechusäure	280	3,50	1
Tyrosol	280	3,98	1
Protocatechualdehyd	280	4,95	2
Caftarsäure	320	5,80	einzel
(+)-Catechin	280	6,21	2
Vanillinsäure	280	6,41	2
Kaffeesäure	320	7,05	4
Syringasäure	280	7,24	3
(-)-Epicatechin	280	8,00	3
p-Coumarsäure	320	9,44	einzel
Syringaaldehyd	320	9,91	4
Ferulasäure	320	10,83	4
(-)-Epicatechingallat	280	12,45	3
trans-Resveratrol	320	17,36	einzel

Nach Messung einer Probe bei beiden Wellenlängen wurde zur Spülung der Säule Acetonitril (100 %) injiziert.

5.5.2.1.2 Probenaufarbeitung

Die Gärgutproben wurden zur Vermeidung einer beginnenden Gärung beim Auftauen durch Zugabe einer Spatelspitze Natriumazid (ca. 0,5 mg/mL) stabilisiert.

Zur Aufarbeitung wurden die Gärgut- und Weinproben membranfiltriert und direkt zur Messung eingesetzt. Je Probe wurde eine Einfachbestimmung durchgeführt. Die Messungen erfolgten bei den Wellenlängen 280 und 320 nm.

5.5.2.1.3 Validierungsparameter

Kalibrierung

Zur quantitativen Bestimmung der phenolischen Verbindungen wurden Mix-Stammlösungen der Konzentration 4 g/L in 100 % EtOH (Tabelle 18) aus den jeweiligen phenolischen Verbindungen angesetzt. Um Konzentrationsniederschläge zu verhindern, enthielt jeder Kalibriermix maximal nur drei Analyten. Die Stammlösungen von Caftarsäure, p-Coumarsäure und trans-Resveratrol wurden in Hinblick auf eine gesicherte, vollständige Löslichkeit einzeln in 100 % Ethanol angesetzt. Aus diesen Stammlösungen wurden Verdünnungen in den Konzentrationen 0,1 / 0,2 / 0,5 / 1 / 2 / 5 / 10 / 20 / 50 / 100 / 200 mg/L in 10 % EtOH angesetzt, um einen möglichen Matrixeffekt von EtOH im Wein bei der Messung auszugleichen. Die Standards wurden analog der Probenaufarbeitung membranfiltriert.

Die folgenden Abbildungen veranschaulichen die Trennung einer Phenol-Standardlösung der Konzentration 10 mg/L bei 280 nm (Abbildung 106) und 320 nm (Abbildung 107).

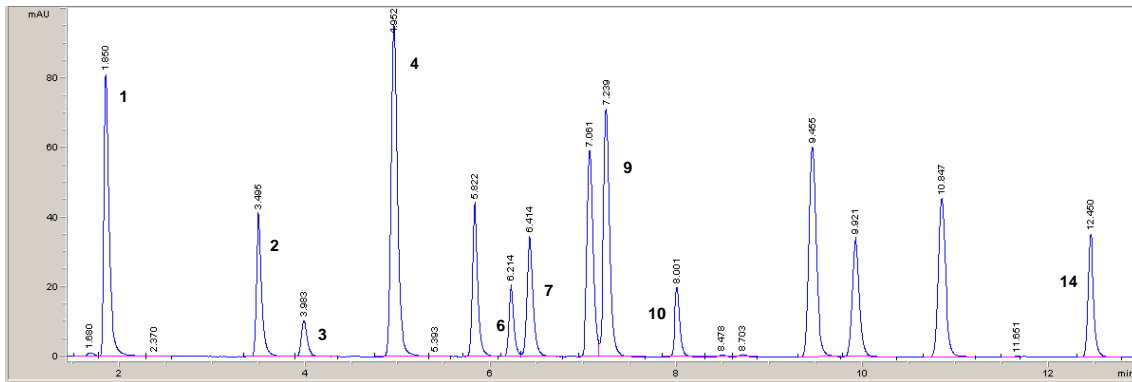


Abbildung 106: Chromatogramm der Phenol-Standardlösung der Konzentration 10 mg/L bei 280 nm: 1 Gallussäure, 2 Protocatechusäure, 3 Tyrosol, 4 Protocatechualdehyd, 6 (+)-Catechin, 7 Vanillinsäure, 9 Syringasäure, 10 (-)-Epicatechin, 14 (-)-Epicatechingallat

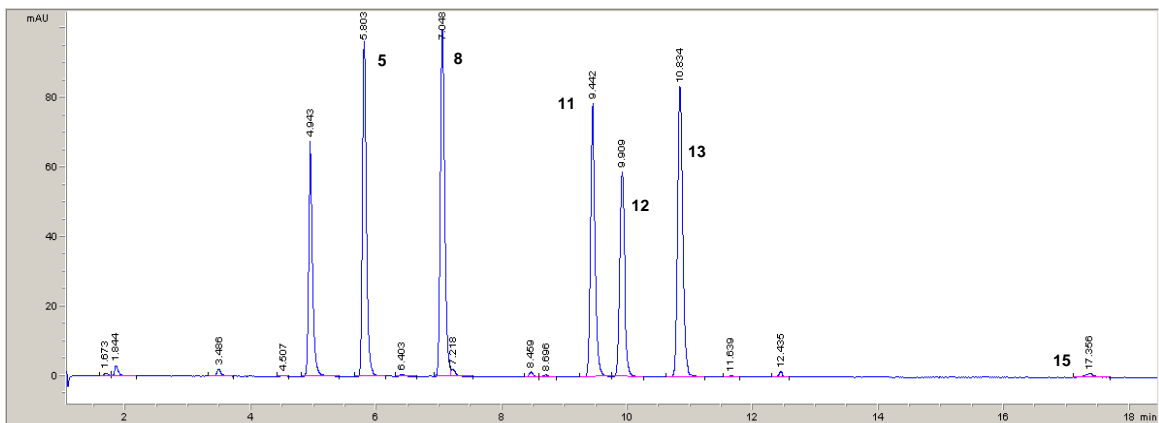


Abbildung 107: Chromatogramm der Phenol-Standardlösung der Konzentration 10 mg/L bei 320 nm: 5 Caftaräure, 8 Kaffeesäure, 11 p-Coumaräure, 12 Syringaldehyd, 13 Ferulasäure, 15 trans-Resveratrol

Zur Untersuchung der Matrixeinflüsse des Weines wurde zusätzlich eine Weißweinprobe (Pilotwein) mit 10 mg/L der aufgeführten phenolischen Verbindungen aufdotiert und die Retentionszeiten verglichen (Abbildung 108).

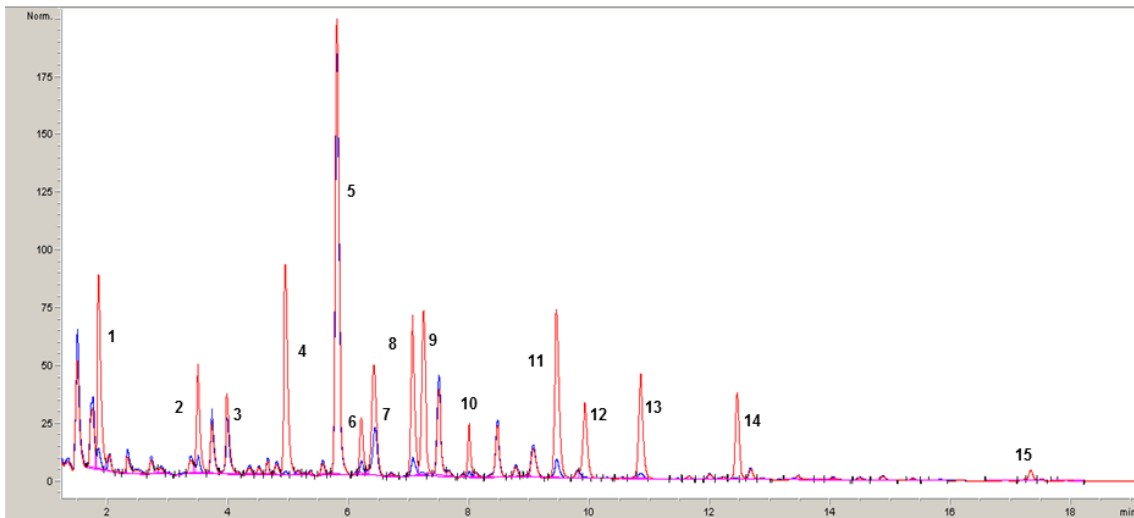


Abbildung 108: Weißweinprobe (blau) und mit 10 mg/L aufdotierte Weißweinprobe (rot)

Die ermittelten Retentionszeiten der phenolischen Verbindungen der aufdotierten Weinprobe im Vergleich zur wässrigen Standardlösung der Phenole zeigten, dass von einer matrixbedingten Retentionszeiten-Verschiebung abgesehen werden kann.

Zur Überprüfung der Eignung der Kinetex-PFP-Säule zur Bestimmung des Phenolgehaltes in Weißweinen unterschiedlicher Rebsorten und mit unterschiedlichen Alkohol- und Zuckergehalten wurden die Weine aus Tabelle 19 herangezogen.

Tabelle 19: Etikettangaben der verwendeten Weine zur Überprüfung der Trennleistung der Kinetex-PFP-Säule

Etikettangaben	Jahrgang	Alkoholgehalt [% Vol.]	Restzucker [g/L]
Bernkasteler Badstube Riesling trocken	2010	11,5	8,1
Riesling feinherb	2010	11	22,1
Riesling Zeltinger Schlossberg fruchtsüß	2010	11	69,7
Rivaner QbA trocken	2011	12	6,4
Blanc de Noir QbA trocken	2011	13	7,7
Gewürztraminer QbA trocken	2011	13,5	1,8

Die Ergebnisse der Phenolgehalte in Weißweinen mit unterschiedlichen Zucker- und Alkoholgehalten zeigten, dass von einem Matrix-bedingten Einfluss auf die Trennleistung der entwickelten Bestimmungsmethode abgesehen werden kann (siehe Anhang A.1.2).

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden gemäß Kapitel 8.2.1.4.4 ermittelt. Hierbei wurden die Peakhöhen des Grundrauschens des kleinsten Standards mit $c=0,1$ mg/L betrachtet. Bis auf Tyrosol, bei dem erst der zweite Standard mit der Konzentration $c=0,2$ mg/L das erforderliche Signal/Rausch-Verhältnis für die Bestimmungsgrenze erfüllte, war dies bei allen weiteren untersuchten Phenolen bereits beim kleinsten Standard gegeben.

Wiederfindungsrate

Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten der verwendeten phenolischen Verbindungen wurde der Kalibrierstandard der Konzentration 10 mg/L als Probe gemessen. Die Wiederfindungsraten lagen im Bereich von 99,1-115,8 % (Tabelle 20).

Verfahrens-Standardabweichung

Zur Ermittlung der Verfahrens-Standardabweichungen (s) der phenolischen Verbindungen wurde die mit 10 mg/L aufdotierte Weinprobe 10-fach gemessen. Es zeigten sich nur geringe prozentuale Variationskoeffizienten im Bereich von 0,06-0,90 %, wodurch sich für die entwickelte Methode eine sehr gute Wiederholpräzision ergab (Tabelle 20).

Tabelle 20: Validierungsparameter der phenolischen Verbindungen

Phenol	s [ppm]	Variationskoeffizient [%]	Wiederfindungsraten [%]
Gallussäure	0,0394	0,37	101,9
Protocatechusäure	0,0513	0,40	102,7
Tyrosol	0,0753	0,32	100,6
Protocatechualdehyd	0,0142	0,14	99,3
Caftarsäure	0,0284	0,07	100,1
(+)-Catechin	0,0629	0,54	99,1
Vanillinsäure	0,0133	0,09	104,2
Kaffeesäure	0,0060	0,06	110,6
Syringasäure	0,0163	0,16	104,6
(-)-Epicatechin	0,0753	0,49	100,7
p-Coumarsäure	0,0133	0,09	115,8
Syringaaldehyd	0,0068	0,07	105,1
Ferulasäure	0,0092	0,09	111,9
(-)-Epicatechingallat	0,0886	0,90	99,9
trans-Resveratrol	0,0153	0,16	102,1

Fazit

Zur Bestimmung der wichtigsten phenolischen Verbindungen im Weißwein mittels HPLC-UV hat sich die PFP-Phase als stationäre Trennphase als geeignet herausgestellt. Sowohl die ausgewählten Selektivitätseigenschaften als auch die geringe Partikelgröße der verwendeten Kinetex-Säule haben zu einer verkürzten Trenndauer von weniger als 20 Minuten und damit zu einer deutlichen Optimierung der bisherigen Phenol-Trennmethode geführt.

5.5.2.2 Ergebnisse und Diskussion der Gehalte in den Proben

Zur besseren Übersicht werden im Folgenden die Ergebnisse der beiden Jahrgänge zunächst einzeln betrachtet und anschließend gemeinsam diskutiert. Aufgrund der Vielzahl der Ergebnisse wird von einer tabellarischen und grafischen Darstellung der Ergebnisse an dieser Stelle abgesehen und stattdessen generelle Tendenzen und Beobachtungen erläutert. Die Tabellen mit den Einzelwerten befinden sich im Anhang A.1.3.

5.5.2.2.1 Jahrgang 2010 - Weißweine

In den Gärgutproben des Jahrgangs 2010 kamen die **Caftarsäure**, **Vanillinsäure** und **p-Coumarsäure** in den höchsten Konzentrationen vor. Die Konzentrationsbereiche lagen bei der Caftarsäure zwischen 0-24 mg/L, bei der Vanillinsäure zwischen 2-10 mg/L und bei der p-Coumarsäure zwischen 0-3 mg/L. Es konnte jedoch keine allgemeingültige Tendenz zwischen gesundem und faulem Lesegut anhand der Gehalte dieser Phenole abgeleitet werden. Bei der Caftarsäure konnte nach der alkoholischen Gärung vereinzelt eine Zunahme um bis zu 10 mg/L in der zugehörigen Weinfraction beobachtet werden. Bei der Vanillinsäure konnte beim Vergleich vom Gärgut zum Wein sowohl eine Zu- als auch eine Abnahme der Konzentration nach der Fermentation ermittelt werden. Bei der p-Coumarsäure war eine Zunahme des ursprünglichen Gehaltes im Gärgut um bis zu 6 mg/L im entsprechenden Wein feststellbar.

Tyrosol kam in den untersuchten Gärgutproben nicht vor und erreichte in den Weinproben Konzentrationen von 5-20 mg/L mit einem durchschnittlichen Gehalt von 13 mg/L. Tyrosol wurde demnach während der Gärung gebildet.

Bei der **Protocatechusäure**, die im Gärgut nur in maximalen Konzentrationen von 2 mg/L bestimmt wurde, konnte in den Negativfraktionen der Weine in Gehalten bis zu 8,7 mg/L nachgewiesen werden.

Kaffee- und **Ferulasäure**, die in der Literatur zu den mengenmäßig am häufigsten vorkommenden Polyphenolen in Trauben zählen, konnten nur in Gehalten bis maximal 2 mg/L in den Sortierproben aus 2010 ermittelt werden.

Alle weiteren Phenole, auch die Catechine, kamen nicht oder nur in geringen Mengen von weniger als 2 mg/L in den Sortierfraktionen sowohl im Gärgut- als auch Weinstadium vor.

5.5.2.2 Jahrgang 2011 – Weißweine

Auch bei den Proben des Jahrgangs 2011 stellten **Vanillinsäure** mit 0-11,3 mg/L, **Caftarsäure** mit 0-9,7 mg/L und **p-Coumarsäure** mit 0-2,7 mg/L die Hauptvertreter im Gärgut dar.

Tyrosol kam wie auch bei den Proben aus 2010 nicht im Gärgut vor und wurde während der Gärung in Konzentrationen von 7-27 mg/L gebildet.

(+)-Catechin, **(-)-Epicatechin** und **(-)-Epicatechingallat** kamen durchschnittlich nur in Gehalten von weniger als 1 mg/L sowohl im Gärgut als auch im Wein vor. Jedoch wurden bei den Versuchen V3, V5 und V7 in den Saft- und Negativfraktionen höhere (+)-Catechingehalte bis zu 5,6 mg/L bestimmt.

Trans-Resveratrol konnte überwiegend nicht detektiert werden; vereinzelt wurden geringe Gehalte von 0,1 mg/L ermittelt.

Die **Protocatechusäure** zeigte in den Negativfraktionen der Weine leicht höhere Gehalte mit bis zu 4,3 mg/L im Vergleich zu den anderen Sortierfraktionen auf.

Alle weiteren Phenole kamen nicht oder nur in geringen Mengen von weniger als 2 mg/L in den Sortierfraktionen sowohl im Gärgut- als auch Weinstadium vor.

5.5.2.3 Jahrgang 2011 - Rotweinprobe V4-2011-SpB

Bei der Rotweinprobe V4-2011-SpB konnten hohe Gehalte an Gallussäure, (+)-Catechin und (-)-Epicatechin bestimmt werden.

Die **Gallussäure** konnte weder im Gärgut noch im Wein in den Saftfraktionen detektiert werden; bei den Fraktionen Kontrolle, Positiv und Negativ waren im Gärgut ebenfalls keine Gallussäuregehalte ermittelbar. Im Wein wurde der geringste Gehalt in der Positivfraktion mit 12 mg/L und der höchste Gehalt in der Negativfraktion mit 42 mg/L ermittelt. Die Kontrollfraktion enthielt 15 mg/L.

Die Konzentrationen an **(+)-Catechin** und **(-)-Epicatechin** lagen im Gärgut sowie in der Saftfraktion des Weines meist unter 1 mg/L. An **(+)-Catechin** enthielt der Wein der Positivfraktion 30 mg/L, der Wein der Kontrollfraktion 33 mg/L und der Wein der Negativfraktion mit 96 mg/L mit Abstand den höchsten Gehalt. Bei **(-)-Epicatechin** konnte diese Tendenz ebenfalls beobachtet werden, mit Konzentrationen von 18 mg/L in der Positivfraktion, 21 mg/L in der Kontrollfraktion und 64 mg/L in der Negativfraktion des Weines. Verglichen damit waren die Gehalte an **(-)-Epicatechingallat** mit durchschnittlich 3 mg/L nur schwach vertreten.

Die **Tyrosol**konzentrationen schwankten wie bei den Weißweinen auch in den Rotweinfractionen zwischen 7-23 mg/L, wobei die höchsten Gehalte in der positiven Weinfraction sowie der Kontrollfraction des Rotweines mit 22 bzw. 23 mg/L vorkamen und die Negativfraction und die Safffraction nur geringere Konzentrationen von 12 bzw. 7 mg/L enthielten. In den Gärgutproben des Spätburgunders war wie bei den Weißweinen kein Tyrosol detektierbar.

Die **Caftarsäure** kam in der positiven Weinfraction mit einem hohen Gehalt von 42 mg/L vor; in der Kontrolle und der Negativfraction der Weine wurden nur vergleichsweise geringe Gehalte von 2 bzw. 7 mg/L ermittelt. In den Gärgutproben des Rotweines konnte Caftarsäure nicht detektiert werden.

Ebenfalls hohe Konzentrationen konnten bei der **Kaffeesäure** in der Kontroll- und Negativfraction der Weine mit 28 bzw. 14 mg/L gefunden werden; in der positiven Weinfraction lagen nur 7 mg/L vor. In den Gärgutproben und in der Safffraction des Weines lagen die Gehalte unter 1 mg/L.

Mit 15 mg/L konnten auffällig hohe Gehalte an **Vanillinsäure** in der Positivfraction des Weines gemessen werden. In der Negativfraction und der Kontrollfraction des Weines waren nur die Hälfte bzw. ein Drittel dieses Gehaltes bestimmbar.

Bei der **p-Coumarsäure** lagen in allen Fractionen der Gärgutproben Gehalte von 2,6 mg/L vor; in den entsprechenden Weinen kam es in der Kontrollfraction zu einem Anstieg auf über 8 mg/L, bei der Positiv- auf 4 mg/L und bei der Negativfraction auf fast 6 mg/L; die Safffraction des Weines zeigte keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Gärgut auf.

Protocatechusäure und **Protocatechualdehyd** waren mit ca. 5 mg/L in der Negativfraction des Weines vertreten und wichen damit deutlich von den weiteren Versuchsfractionen mit nur geringen Gehalten ab.

Bei der **Syringasäure** konnten Gehalte von über 5 mg/L in der positiven und negativen Weinfraction ermittelt werden.

Bei den Polyphenolen **Syringaldehyd** und **Ferulasäure** konnten nur geringe Konzentrationen von weniger als 1 mg/L bzw. weniger als 2 mg/L in den Gärgut- und Weinproben ermittelt werden.

Trans-Resveratrol wurde im Spätburgunder nicht nachgewiesen.

5.5.2.2.4 Diskussion

In den Gärgut- und Weinproben der weißen Rebsorten der Jahrgänge 2010 und 2011 konnten insgesamt nur geringe Phenolgehalte von durchschnittlich weniger als 2 mg/L ermittelt werden, wobei manche Phenole auch gar nicht enthalten waren. Diese geringen Phenolgehalte in Weißweinen spiegeln die in der Literatur berichteten Gehalte wider (Betés-Saura et al., 1996; Peña–Neira et al., 2000; Komes et al., 2007). Dies betrifft vor allem die Verbindungen Gallussäure, Protocatechusäure, Protocatechualdehyd, Syringasäure und Syringaaldehyd.

Nichtflavonoide

In vielen Weißweinen ist **Tyrosol** als Haupt-Phenolkomponente mit Gehalten von 6-25 mg/L vertreten (Ribéreau-Gayon et al., 2006b), was die Ergebnisse der Sortierweine mit vergleichbaren Gehalten bestätigten. In der Literatur sind für Rieslingweine Tyrosolkonzentrationen bis zu 53,8 mg/L beschrieben (Ritter et al., 1994). Tyrosol wird während der Gärung aus Tyrosin gebildet, wobei der Gehalt von der eingesetzten Hefespezies sowie der Konzentration an Zucker und Tyrosin abhängig ist (Peña-Neira et al., 2000). Von Betés-Saura et al. (1996) konnte Tyrosol demzufolge im Most nicht nachgewiesen werden, aber im resultierenden Wein mit einer Konzentration von 11 mg/L. Diesen Befund bestätigten auch die eigenen Untersuchungen.

Die Hydroxycimtsäuren Kaffee-, p-Coumar- und Ferulasäure stellen zusammen mit ihren Weinsäureestern Caftar-, Coutar- und Fertarsäure laut Literatur den Hauptanteil der nicht-flavonoiden Polyphenole im Weißwein dar (Lee, Jaworski, 1987; Adams, 2006; Mozetič et al., 2006). Bei den eigenen Untersuchungen enthielten die Weißweinproben des Jahrgangs 2010 mit maximal 24 mg/L höhere **Caftarsäure**gehalte als die des Jahrgangs 2011 mit maximal 9,7 mg/L. In der Literatur sind für die Rebsorte Riesling vergleichbare Caftarsäurekonzentrationen von 8 mg/L (Komes et al., 2007) bzw. von 12-76 mg/L (Ritter et al., 1994) beschrieben. Im Jahrgang 2010 lagen die höchsten Caftarsäuregehalte meist in den Kontrollfraktionen der Weine vor. Bei den Proben des Jahrgangs 2011 ließ sich diese Tendenz nicht erkennen, da hier bei den Versuchen V3-2011-MTh, V6-2011-Rsl und V7-2011-GrB die höchsten Gehalte in den negativen Weinfractionen vorkamen. Demzufolge ließ sich die Fäulnisintensität nicht mit dem Caftarsäuregehalt korrelieren. Von Nagel et al. (1979) konnte festgestellt werden, dass in allen untersuchten Weinen die Caftarsäuregehalte während der Vergärung mehr als halbiert wurden, was auf mögliche Hefeaktivitäten zurückgeführt wurde. Bei den eigenen Versuchen konnte jedoch eine Zunahme der Caftarsäurekonzentrationen vom Gärgut- zum Weinstadium beobachtet werden. Auch Komes et al. (2007) konnten eine Zunahme der Caftarsäurekonzentration

infolge der Gärung beobachten. Demnach könnten unterschiedliche Hefespezies für diese Abweichungen verantwortlich sein.

Die geringen Gehalte an **Kaffee-** und **Ferulasäure** in allen Sortierproben bestätigten die Ergebnisse von Ritter et al. (1994), die ebenfalls nur durchschnittlich 2,3 bzw. 1,7 mg/L dieser Phenolcarbonsäuren in Rieslingweinen bestimmen konnten.

Vanillinsäure stellte mit bis zu 10 mg/L ebenfalls ein mengenmäßig wichtiges Phenol in den untersuchten Gärgut- und Weinproben dar, das bei manchen Versuchen einen tendenziell höheren Gehalt in der Negativfraktion aufwies. Auch Komes et al. (2007) fanden Vanillinsäurekonzentrationen von 12 mg/L in Rieslingweinen.

Die hohen **Gallussäure**gehalte in der Negativfraktion des Rotweins mit 42 mg/L stammten ebenso wie die Flavonoide überwiegend aus dem hohen Kernanteil dieser Fraktion. Yilmaz und Toledo (2004) konnten in Kernen der Rebsorte Merlot bis zu 100 mg Gallussäure/kg Trockenmasse nachweisen.

Trans-Resveratrol wurde in den untersuchten Proben überwiegend nicht bzw. nur selten in geringen Gehalten (0,1 mg/L) detektiert; auch nicht in den Fraktionen der Rotweinprobe V4-2011-SpB. Dies korrelierte mit Beobachtungen aus der Literatur, in der ebenfalls nur geringe Resveratrolgehalte von weniger als 1 mg/L im Weißwein beschrieben sind (Vitrac et al., 2002; Waterhouse, 2002a). Auch Pour-Nikfardjam et al. (1999) fanden in 120 deutschen Weinen durchschnittlich geringe Resveratrolgehalte von 0,3 mg/L im Weißwein und 2,9 mg/L im Rotwein. Die Resveratrolgehalte im Wein sind von der Rebsorte, den klimatischen Bedingungen bei der Ernte und den kellertechnischen Behandlungen, wie eingesetzter Hefespezies und Behandlungsmittel, abhängig (Cassidy et al., 2000). Infolge einer „Stressreaktion“, die durch einen Pilzbefall ausgelöst werden kann, kommt es zur Resveratrolbildung in den Beeren (Jackson, 2008). Im Zuge der *Botrytis*-bedingten höheren Laccase-Freisetzung findet jedoch wiederum ein Resveratrol-Abbau statt (siehe Kapitel 4.6.3.3.4) (Jeandet et al., 1995a, 1995b; Sbaghi et al., 1996; Dewey et al., 2008). Trotz der nur geringen Gehalte von 0,1 mg/L in wenigen Sortierproben kann die Schlussfolgerung von Jeandet et al. (1995a, 1995b) herangezogen werden, da in keiner Negativfraktion der Gärgut- bzw. Weinproben Resveratrol detektiert werden konnte und somit dessen enzymatischer Abbau durch die Laccase naheliegt.

Flavonoide

Sensorisch wichtige Phenole stellen die Catechine dar, da sie für die Bitterkeit und auch die Adstringenz eines Weines verantwortlich sind (Kennedy, 2008). In den untersuchten Gärgut- und Weinproben der weißen Rebsorten beider Jahrgänge lagen die Gehalte der untersuchten Catechin-Verbindungen im Durchschnitt unter 1 mg/L. Auch Peña-Neira et al. (2000) fanden in ihren Weißweinen **(+)-Catechingehalte** von nur 0,4 mg/L; Goldberg et al. (1999) ermittelten in deutschem Riesling leicht höhere (+)-Catechingehalte von ungefähr 4 mg/L, aber auch nur 1 mg/L an **(-)-Epicatechin**. Höhere (+)-Catechingehalte von bis zu 5 mg/L wurden bei den eigenen Untersuchungen in den Saft- bzw. Negativfraktionen der Versuche V3-2011-MTh, V5-2011-Rsl und V7-2011-GrB im Gärgut bzw. Wein gemessen. Catechine kommen hauptsächlich in den Kernen und der Schale vor (Goldberg et al., 1999; Yilmaz, Toledo, 2004; Kennedy et al., 2006). In den Negativfraktionen waren die Schalen- und Kernanteile im Vergleich zu den Positivfraktionen verfahrenstechnisch bedingt deutlich höher (siehe Kapitel 5.5.1). Zudem waren die Schalen bereits enzymatisch durch *Botrytis* aufgeschlossen, wodurch (+)-Catechin gut aus der Schale herausgelöst wurde. Anhand dieser Bedingungen lassen sich die erhöhten (+)-Catechingehalte in den Negativfraktionen erklären.

Im Gegensatz zum Weißwein sind in der Literatur für Rotweine deutlich höhere (Gesamt)-Catechingehalte zwischen 40-120 mg/L beschrieben, wobei (+)-Catechin den Hauptanteil ausmacht (Waterhouse, 2002a). Dies konnte mit den Ergebnissen der eigenen Rotweinflaktionen bestätigt werden. (-)-Epicatechin war bei den eigenen Untersuchungen ebenfalls in bedeutenden Mengen (bis 64 mg/L) enthalten. Verantwortlich für höhere Catechingehalte sind längere Extraktionszeiten, höhere Temperaturen und höhere Alkoholgehalte, die zu einem Konzentrationsanstieg der Catechine im Wein führen (Kennedy et al., 2006). Da diese Bedingungen (hauptsächlich durch die Maischegärung) bei der Rotweinbereitung des sortierten Spätburgunders V4-2011-SpB vorlagen, konnten hier entsprechend höhere Gehalte dieser Catechine im Vergleich zu den Weißweinen ermittelt werden.

Gesamtbetrachtung

Mit Ausnahme der Caftar Säure, die in den Gärgutproben des Jahrgangs 2010 bereits in Konzentrationen von über 20 mg/L enthalten war, ergaben sich als Summe der einzelnen bestimmten Phenole im Gärgut nur maximale Gehalte von ca. 10 mg/L. Daher wurde von einer Betrachtung der prozentualen Anteile der einzelnen Phenolverbindungen vom ermittelten Gesamtphenolgehalt (in Form der GAE) abgesehen.

Bei den Screenings der Proben der weißen Rebsorten konnte insgesamt kein signifikanter Einfluss der aufgetretenen Fäulnisbelastungen auf die Gehalte bestimmter Phenole

festgestellt werden, was auch in der Literatur bei Gegenüberstellung eines trockenen und eines aus *Botrytis*-Beeren hergestellten Weißweines gezeigt werden konnte (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Fazit

Insgesamt ließ sich anhand der Ergebnisse der einzelnen Phenole bei den Sortierversuchen der weißen Rebsorten kein deutlicher Fäulniseinfluss ableiten.

Im Gegensatz dazu konnte beim Rotwein ein deutlicher Trend anhand der flavonoiden Verbindungen und der Gallussäure beobachtet werden, da in der Negativfraktion die höchsten und in der Positivfraktion die geringsten Gehalte bestimmt wurden. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass es sich beim Rotwein um die Ergebnisse nur eines Sortierversuches handelte. Weitere Sortierversuche mit roten Rebsorten müssten demnach durchgeführt werden, um die beobachteten Trends bewerten zu können.

5.6 Mostgewicht

Das Mindestmostgewicht dient zur Differenzierung der Qualitätsstufen der Trauben bzw. späteren Weine und ist rechtlich festgelegt (VO (EG) Nr. 607/2009).

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Das natürliche Mostgewicht ist önologisch bedeutend für die Weinstilfrage, da es neben der Qualitätsstufe auch den potenziellen Alkoholgehalt des Weines bedingt. Durch *Botrytis* wird der Zuckergehalt in den Beeren konzentriert, wodurch die gewünschten Zielalkoholwerte bei Weinen, insbesondere bei trockenen, fruchtigen Weißweinen, deutlich überschritten werden können. Es wurde daher geprüft, ob die Sortierung zur Differenzierung von Mostgewichten und somit zur Erzeugung unterschiedlicher Qualitätsstufen und Weinstile genutzt werden kann.

Analytik

Die Mostgewichte wurden mittels FTIR bestimmt (siehe Kapitel 8.2.6).

Ergebnisse und Diskussion

Wie aus Abbildung 109 hervorgeht, lagen trotz unterschiedlicher durchschnittlicher Fäulnisgehalte in beiden Jahren vergleichbare Mostgewichte in den Kontrollfraktionen der Sortierversuche vor.

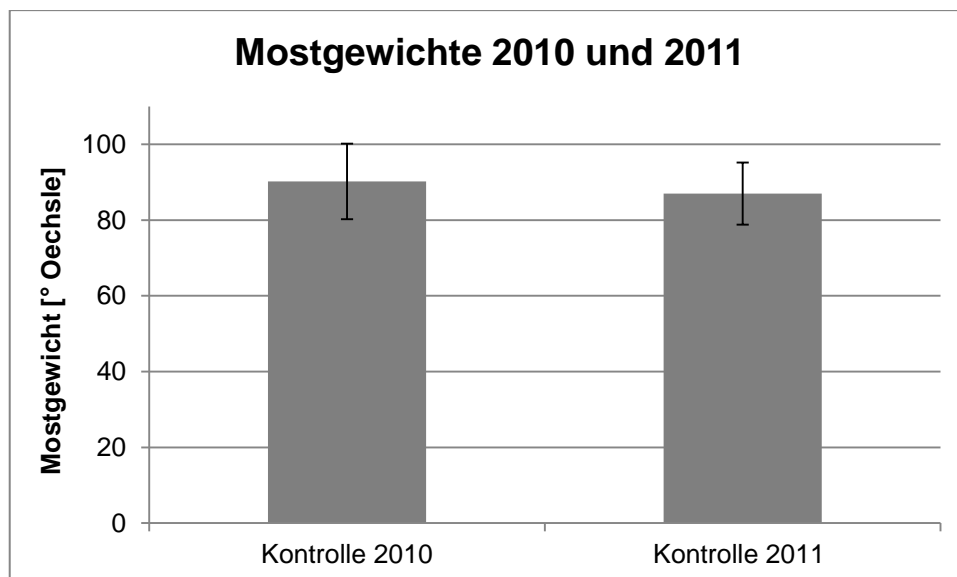


Abbildung 109: Durchschnittliche Mostgewichte der Kontrollfraktionen der Versuchsjahre 2010 (n=6) und 2011 (n=9)

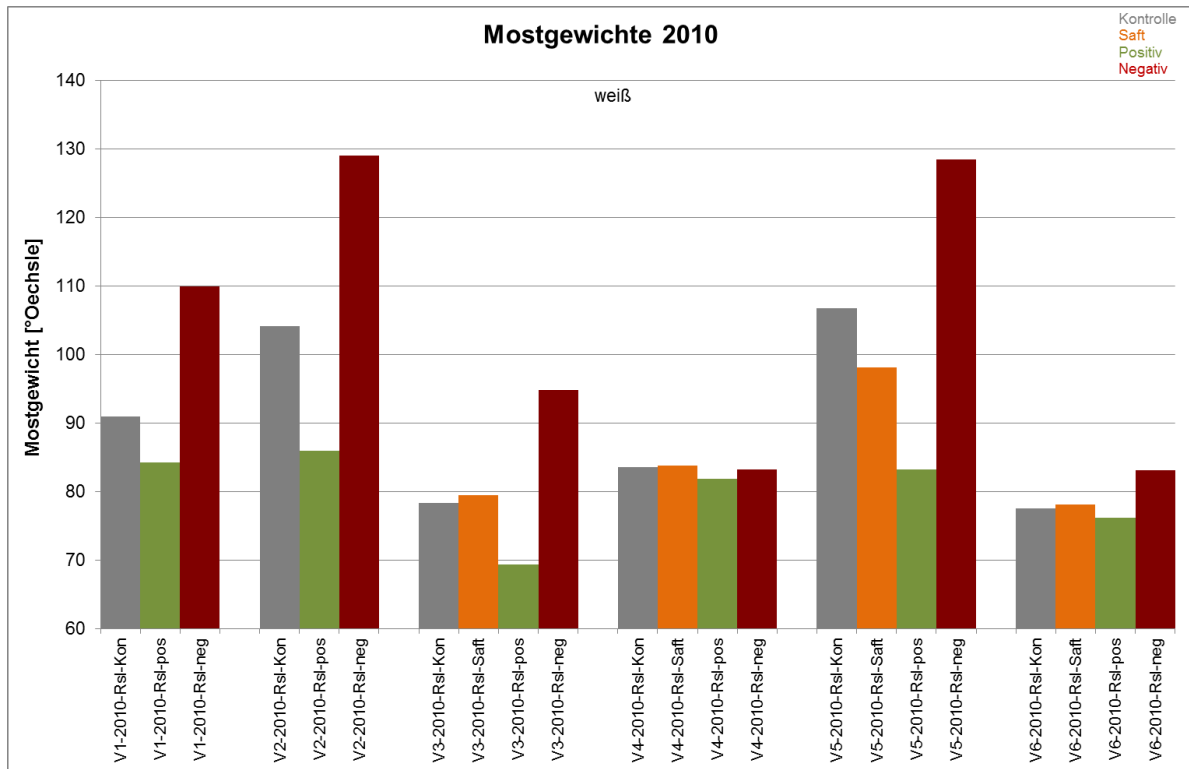


Abbildung 110: Mostgewichte der Sortierfraktionen des Jahrgangs 2010 (n=1)

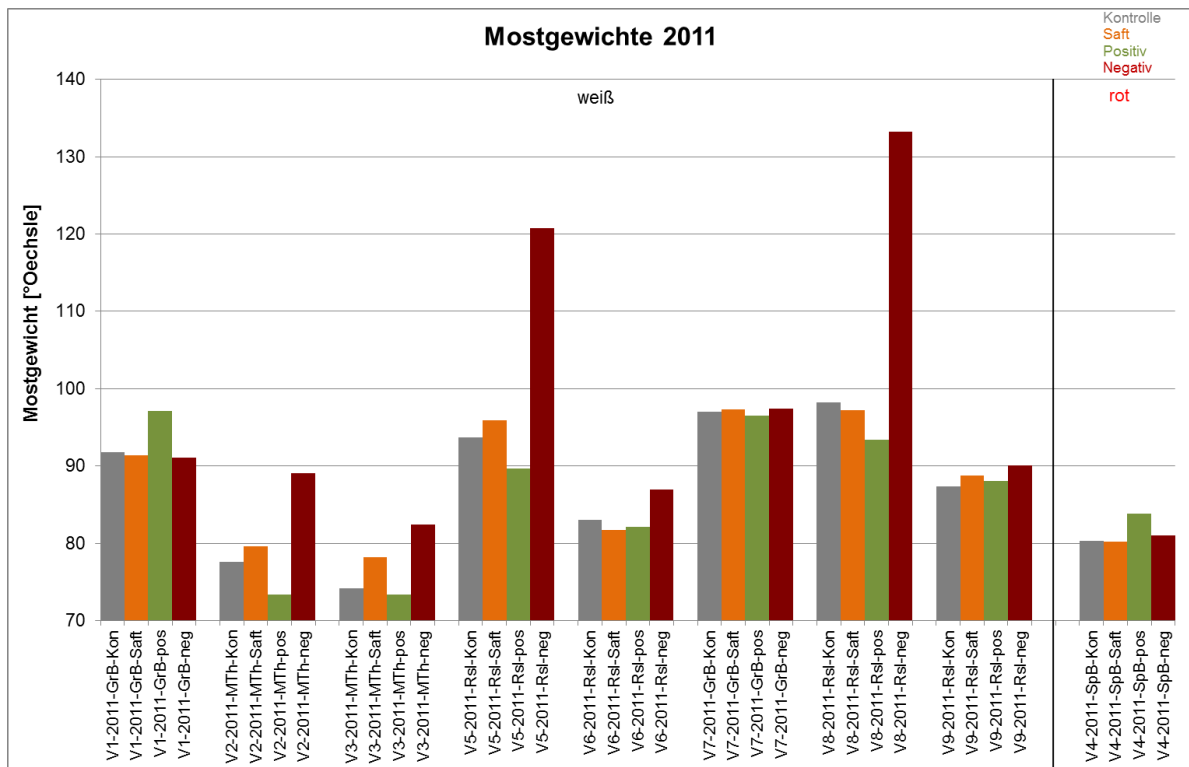


Abbildung 111: Mostgewichte der Sortierfraktionen des Jahrgangs 2011 (n=1)

Das Entwicklungsstadium von *Botrytis* war im Jahr 2010 zum größten Teil als „edelfaul“ zu bewerten (sowohl optisch als auch analytisch, siehe Kapitel 5.7.2). Önologisch

bedeutend für die Weinstilfrage sind vor allem die Mostgewichtsunterschiede der einzelnen Fraktionen. Die zum Teil hohe Befallsrate des Lesegutes mit *Botrytis* (13,3-49,7 %) führte vor allem durch die *Botrytis*-bedingte Konzentrierung der Beereninhaltsstoffe zu hohen Mostgewichten in den Kontrollfraktionen (78-106 °Oe). Wurden die *Botrytis*-befallenen Beeren durch Sortierung abgetrennt, so differenzierten sich die Mostgewichte in den Positivfraktionen zu geringeren Mostgewichten (69-86 °Oe) und in den Negativfraktionen zu höheren Mostgewichten (83-129 °Oe). Bei solchen Bedingungen kann die Traubensortierung zur Qualitätssteigerung durch Produktdifferenzierung im Vergleich zur unsortierten Kontrolle eingesetzt werden. Zum einen können aus den gesunden Beeren klare, fruchtige, sensorisch rebsortentypische Weißweine, welche keinen natürlich überhöhten Alkoholgehalt aufweisen, zum anderen durch edelfaule *Botrytis* konzentrierte Weinspezialitäten (Qualitäten wie Auslesen, Beerenauslesen, Trockenbeerenauslesen) produziert werden. Hierbei muss beachtet werden, dass in solchen Ausleseweinen auch höhere Mykotoxingehalte auftreten können. Da insgesamt aber vergleichsweise geringere Mengen dieser Weine konsumiert werden, werden auch keine bedenklich höheren Toxinmengen aufgenommen.

Im Gegensatz zu 2010 wurden im Jahr 2011 neben Riesling- auch Müller-Thurgau- sowie Grauburgunder- und Spätburgunder-Trauben sortiert. Die Fäulnisentwicklung in diesem Jahrgang war wesentlich heterogener (siehe Kapitel 4.4.3). Bei den Versuchen V2, V3, V5, V6 und V8 führte der Fäulnisbefall zur Konzentrierung des Zuckers in den Beeren und damit zur Mostgewichtssteigerung (Abbildung 111). Der Fäulnisbefall von V4 und V9 führte hingegen zu keinen deutlichen Differenzen der Mostgewichte in den Sortierfraktionen. Niederschläge jeweils vor der Ernte bedingten bei diesen Versuchen die Entwicklung des Fäulnisbefalls hin zur Schwundfäule (Kapitel 4.5.2.1). Bei den Versuchen V1 und V7 handelte es sich um Grauburgunder-Lesegut, in dem neben den reifen, grauroten und fäulnisbelasteten Beeren auch unreifere, grüne Beeren zu finden waren. Letztere wurden durch die Sortierung zusammen mit den fäulnisbelasteten Beeren als Negativfraktion abgetrennt (siehe Kapitel 8.2.3), wodurch auch hier keine Mostgewichtsunterschiede in den Fraktionen beobachtet werden konnten.

Fazit

Je nach Fäulnis auf den Beeren kann die Traubensortierung zur Herstellung und Qualitätssteigerung unterschiedlicher Weinstile genutzt werden. Besonders im Versuchsjahr 2011 wurde deutlich, dass das Mostgewicht nur bedingt zur Beurteilung einer Qualitätssteigerung herangezogen werden kann. Es war daher entscheidend, durch weitere analytische sowie sensorische Untersuchungen die Traubensortierung als Maßnahme zur Qualitätssicherung und/oder -steigerung zu bewerten.

5.7 Gluconsäure und Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis

5.7.1 Gluconsäure

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Gluconsäure wird infolge eines Befalls der Beeren durch *Botrytis* und/oder Bakterien verstärkt gebildet und daher als Indikator für fäulnisbelastetes Lesegut in Mosten und Weinen herangezogen. In Anlehnung daran sollten Weine ohne Fäulnisbelastung keine bzw. nur sehr wenig Gluconsäure enthalten. Eine Verringerung der Gluconsäuregehalte in Mosten und Weinen durch Aussortieren fauler Beeren könnte demnach zur Qualitätssteigerung führen. Durch den Vergleich der Gehalte dieses Parameters in den unterschiedlichen Sortierfraktionen sollte zudem überprüft werden, ob die Sortiereffektivität neben der aufwendigen optischen Bonitur auch analytisch bestimmt werden kann.

Analytik

Die Gluconsäurekonzentrationen der Gärgut- und Weinproben wurden enzymatisch bestimmt. Da die Gluconsäure in wässrigem Medium bei den pH-Bedingungen der Moste und Weine im Gleichgewicht mit Glucono- δ -lacton und Glucono- γ -lacton vorliegt (Ramachandran et al., 2006; Römpp Online, 2013), wurde bei der Probenaufarbeitung durch alkalische Hydrolyse der Lactone das Gleichgewicht auf die Seite der freien Säure gelenkt, um so die gesamte Gluconsäure zu erfassen (siehe Kapitel 8.2.7).

Ergebnisse und Diskussion

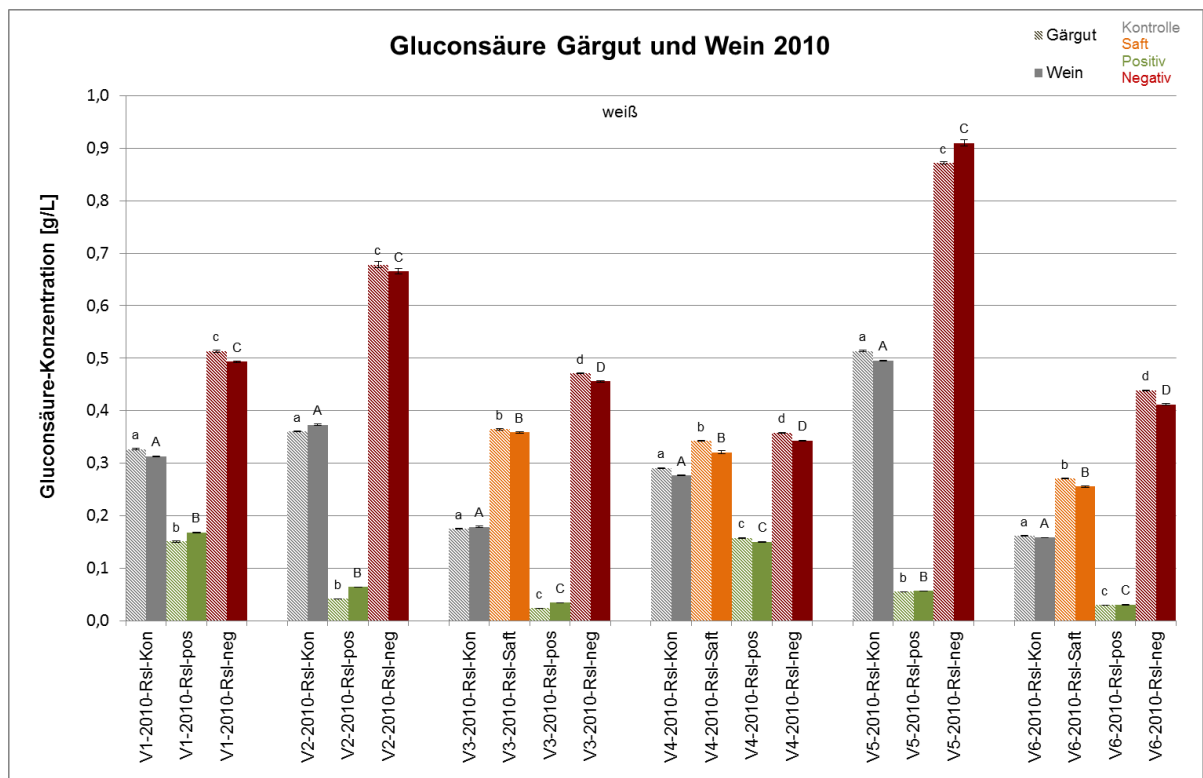


Abbildung 112: Gluconsäuregehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 (n=3; p=0,05)

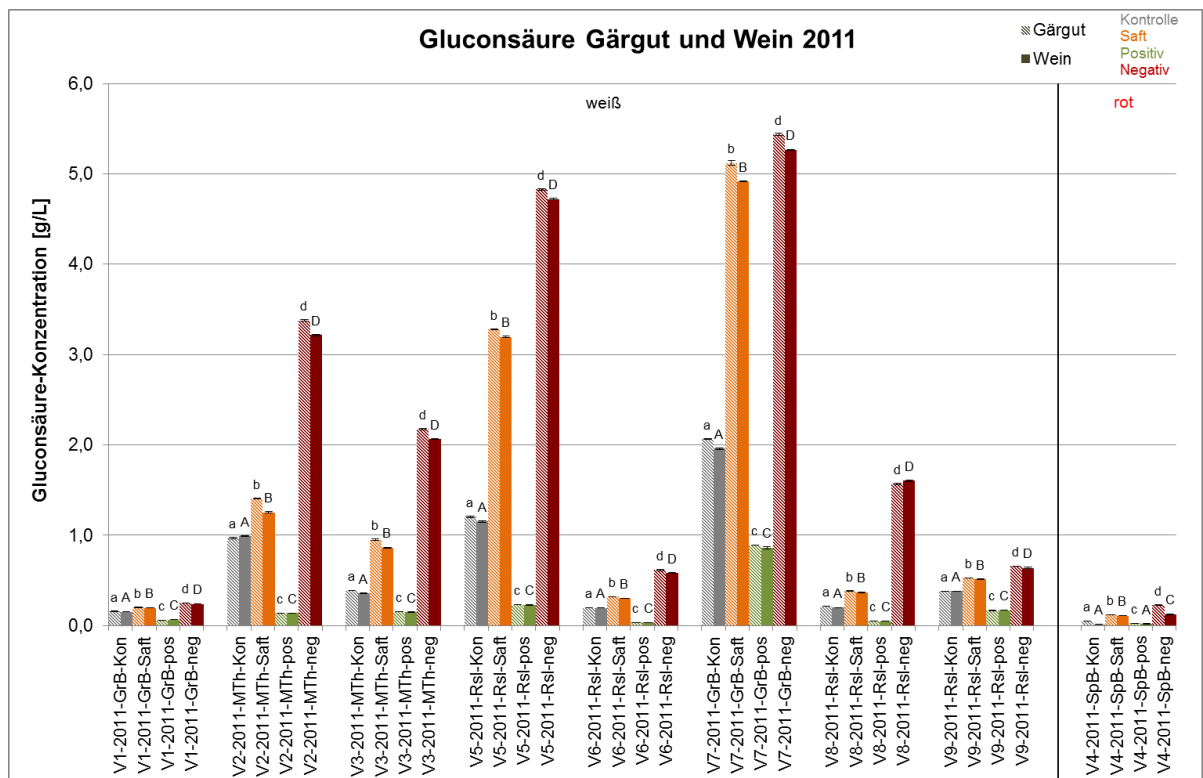


Abbildung 113: Gluconsäuregehalte der Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05)

Anhand der Gluconsäuregehalte der Jahrgänge 2010 und 2011 (Abbildung 112 und Abbildung 113) konnte festgestellt werden, dass bei den Sortiersversuchen in den Negativfraktionen die höchsten Gluconsäuregehalte gemessen wurden, gefolgt von den Saftvorläufen, den Kontroll- und den Positivfraktionen. Sowohl die Gehalte in den Gärgut- als auch in den Weinfraktionen jedes Versuches unterschieden sich in beiden Jahren signifikant ($p=0,05$) voneinander, mit Ausnahme des Rotweins, bei dem keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollfraktion und der Positivfraktion vorlagen. Hier konnten bereits in der Kontrollfraktion nur geringe Gluconsäuregehalte bestimmt werden. Im Vergleich zu weißen Rebsorten mit durchschnittlichen Selektionsquoten von über 95 % konnte bei diesem Rotwein nur eine Selektionsrate von rund 72 % erreicht werden (siehe Kapitel 5.2), womit sich die nicht signifikanten Abweichungen erklären lassen.

Bei Betrachtung aller Ergebnisse konnten korrelierende Gluconsäuregehalte im Gärgut und zugehörigen Wein beobachtet werden. Während der Vergärung kam es somit zu keiner Änderung der Gluconsäurekonzentrationen, was mehrere Studien bestätigen (Holbach, Woller, 1978; Bandion et al., 1980; Dittrich, 1989; Barbe et al., 2000).

In der Literatur wird bereits eine Gluconsäurekonzentration von mehr als 0,3 g/L als Nachweis einer *Botrytis*-Infektion angesehen (Holbach, Woller, 1976 & 1978). In den beiden untersuchten Jahrgängen kam *Botrytis cinerea* als Primärinfektion auf den Trauben vor, was mit den hohen Gluconsäuregehalten von 0,36-0,87 g/L (2010) und 0,23-5,44 g/L (2011) und in den Negativfraktionen aus faulem Lesegut bestätigt werden kann.

Hong et al. (2012) fanden in den Schalen von *Botrytis*-befallenen Beeren doppelt so hohe Gluconsäuregehalte im Vergleich zur Pulpe. Da sich die Negativfraktionen durch einen hohen Schalen- und Kernanteil sowie einen geringeren Pulpeanteil auszeichneten, lassen sich die hohen Gluconsäuregehalte in dieser Fraktion zusätzlich auch mit deren Lokalisation in der Beere erklären.

Die Saftfraktionen enthielten die zweithöchsten Gluconsäurekonzentrationen mit 0,26-0,36 g/L (2010) und 0,11-5,12 g/L (2011). Demzufolge stammte diese Fraktion größtenteils aus den negativ sortierten Beeren, da hier aufgrund der perforierten Beerenhaut infolge des *Botrytis*-Befalls und der mechanischen Belastung, u. a. durch den Entrappungsvorgang, ein Saftaustritt aus den faulen Beeren möglich war.

Demgegenüber standen die geringen Gluconsäuregehalte in den Positivfraktionen beider Jahrgänge mit 0,02-0,17 g/L (2010) und 0,02-0,23 g/L (Ausnahme V7-2011-GrB: 0,89 g/L) (2011), die mit den Literaturwerten von 0,01-0,25 g/L Gluconsäure in Weinen aus gesundem Lesegut durchschnittlich korrelierten (Dittrich et al., 1974).

Die unterschiedlichen Gluconsäuregehalte in den Kontrollfraktionen mit 0,16-0,51 g/L (2010) und 0,02-2,06 g/L (2011) ergaben sich aus den unterschiedlichen Fäulnisanteilen, wobei die Art und Intensität der vorliegenden Fäulnis entscheidend waren.

Die Höchstgehalte an Gluconsäure lagen 2010 mit 0,9 g/L und 2011 mit 5,4 g/L jeweils in Negativfraktionen vor. Dieser deutliche Konzentrationsunterschied lässt sich mit den unterschiedlichen Klimabedingungen beider Jahrgänge und den dadurch bedingten Sekundär- und Tertiärinfektionen auf den Trauben, u. a. mit Essigsäurebakterien bei den Versuchen V5-2011 und V7-2011, erklären. Diesen Befund bestätigen auch die Ergebnisse von Sponholz und Dittrich (1985), Barbe et al. (2001), Ramachandran et al. (2006) und Ribéreau-Gayon et al. (2006a). Da Essigsäurebakterien häufig als Folgeinfektanten einer *Botrytis*-Infektion auftreten, ist die von ihnen ausgehende Gluconsäurebildung hauptsächlich von den klimatischen Bedingungen abhängig, die ihre Vermehrung regulieren (Dittrich, 1989). Sponholz und Dittrich (1985) konnten darauf basierend Gluconsäurekonzentrationen von mehr als 6 g/L im Most nachweisen. Im Vergleich dazu sind für Weißweine aus Bordeaux, die nur eine *Botrytis*-Belastung aufzeigten, geringere Gluconsäurekonzentrationen von 0,29-2,46 g/L beschrieben (McCloskey, 1974).

Die Art und Ausprägung der jeweils vorliegenden Mikroorganismeninfektion auf den Beeren scheint somit der ausschlaggebende Faktor bei der Gluconsäurebildung zu sein, was u. a. stark von den klimatischen Bedingungen abhängig ist. Diese unterschieden sich in den Jahrgängen 2010 und 2011 deutlich (siehe Kapitel 4.4.2 und 4.4.3). Aufgrund der kalten Temperaturen vor der Lese im Jahr 2010 waren das Wachstum des *Botrytis*-Pilzes auf den Trauben und die daraus resultierende Gluconsäurebildung gehemmt, sodass die Gehalte insgesamt geringer waren als im Jahr 2011. Bei feuchtwarmer Witterung und Temperaturen über 20 °C, wie sie 2011 vorlagen, verbreitet sich die Krankheit sehr rasch (Held, 2009), womit sich u. a. die hohen Gehalte der Versuche auch ohne Essigsäurebakterienbefall in 2011 erklären lassen.

Fazit

Aufgrund der signifikanten Unterschiede der einzelnen Sortierfraktionen untereinander konnte die Gluconsäure als analytischer Parameter zur Beurteilung eines Fäulnisbefalls und folglich auch zur Beurteilung der Sortiereffektivität herangezogen werden. Im Vergleich zu den Kontrollen konnten die Gehalte in den Positivfraktionen deutlich gesenkt werden. Neben den deutlich erhöhten Gluconsäurekonzentrationen in den Negativfraktionen wiesen auch die Safffraktionen erhöhte Konzentrationen auf, was die Herkunft des Saftes aus faulen Beeren erklärte. Da die Gluconsäurebildung vom Stadium des *Botrytis*-Pilzes sowie weiterer Mikroorganismenbelastungen abhängig ist, konnte

anhand des Gehaltes jedoch nicht die Befallsintensität des Lesegutes (Kontrolle) abgeleitet werden.

5.7.2 Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis

Das Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis kann zur Beurteilung des Entwicklungsstadiums des *Botrytis*-Pilzes und somit zur Bestimmung der „Fäulnisqualität“ des *Botrytis*-Pilzes herangezogen werden (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). In den vorliegenden Versuchen wurden die Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der Kontroll- und der Negativfraktionen der weißen Gärgutproben gegenübergestellt, da auch in den Kontrollen faule Trauben enthalten waren. Ein hohes Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis spiegelt ein frühes Entwicklungsstadium des Pilzes und damit dessen Entwicklung zur gewünschten Edelfäule wider, wohingegen ein geringes Glycerin/Gluconsäure-Verhältnis die Entwicklung des Pilzes zur unerwünschten Graufäule anzeigt. Es wurden die mittels FTIR bestimmten Glyceringehalte verwendet (siehe Anhang A.1.6). Der Rotwein wurde aufgrund der abweichenden Vinifikation hier nicht dargestellt.

Ergebnisse und Diskussion

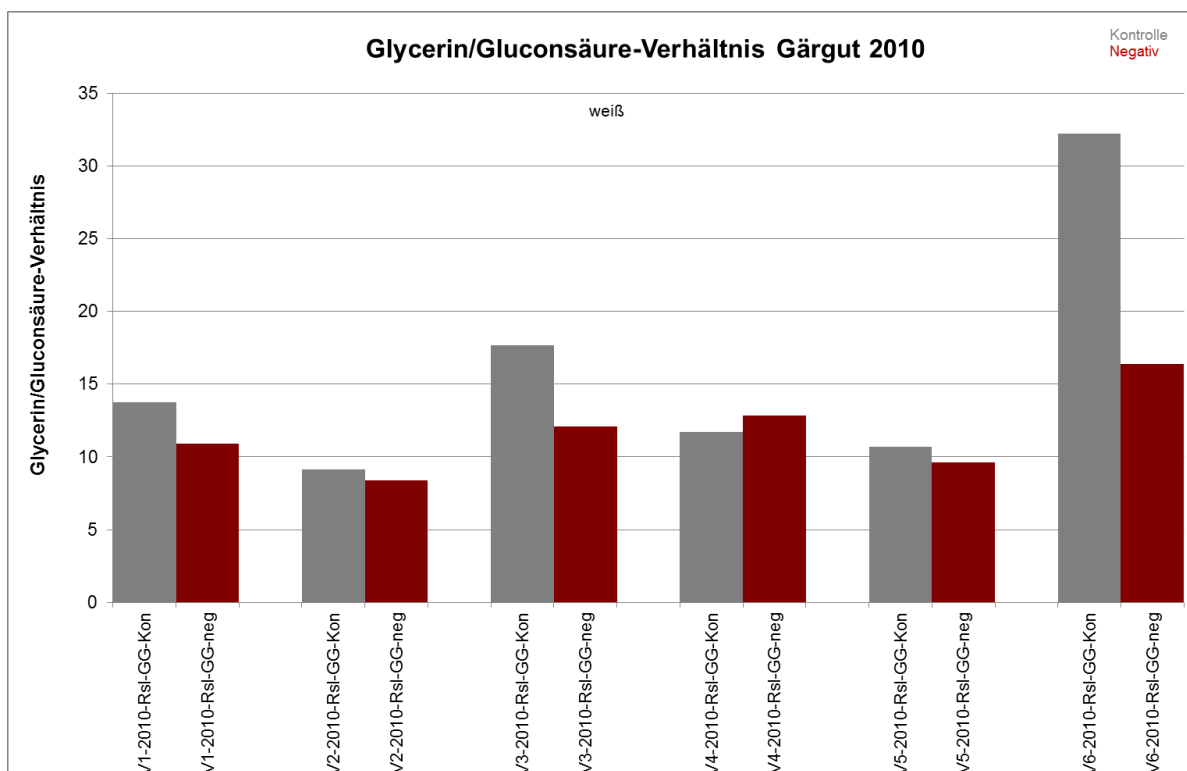


Abbildung 114: Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der Gärgutproben der Kontroll- und Negativfraktionen des Jahrgangs 2010 (Glycerin: n=1; Gluconsäure: n=3)

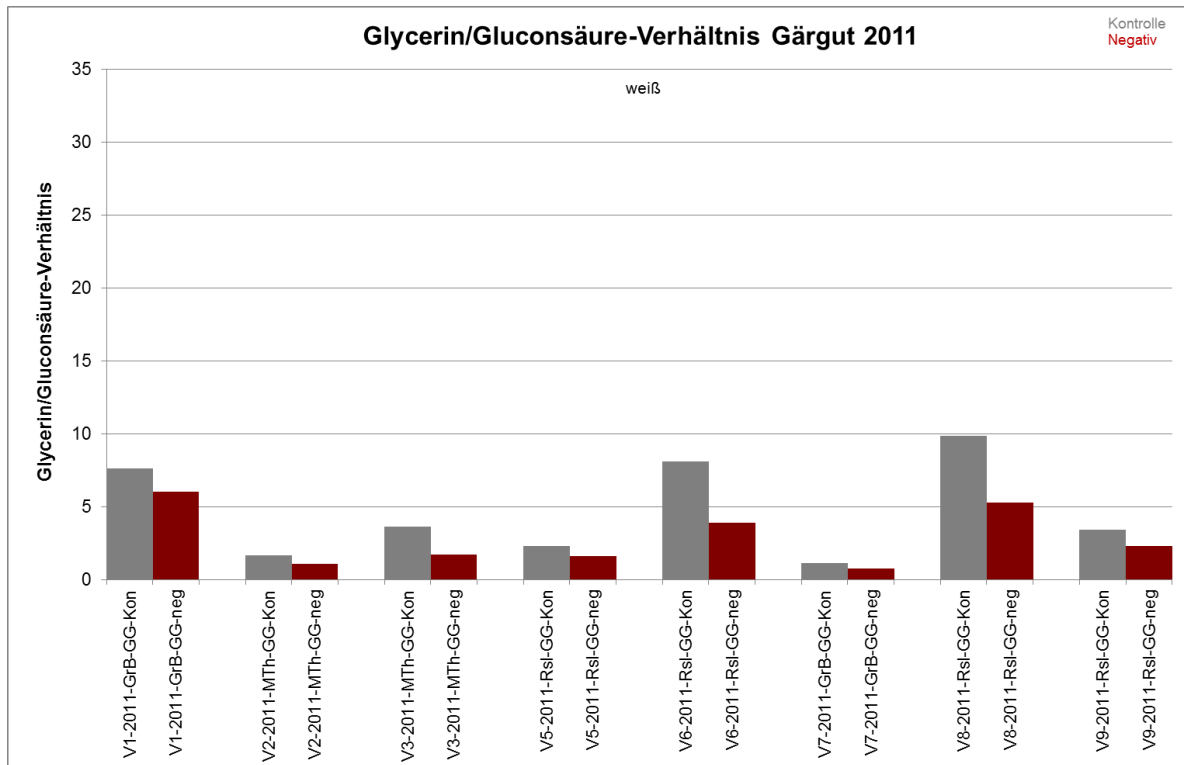


Abbildung 115: Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der weißen Gärgutproben der Kontroll- und Negativfraktionen des Jahrgangs 2011 (Glycerin: n=1; Gluconsäure: n=3)

Die Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse der Kontroll- und Negativfraktionen in 2010 lagen zwischen 9,2-32,2 respektive 8,4-16,4 (Abbildung 114). Demgegenüber waren die Glycerin/Gluconsäure-Quotienten in 2011 deutlich geringer; in den Kontrollfraktionen lagen sie zwischen 1,1-9,9 und in den Negativfraktionen zwischen 0,8-6,0 (Abbildung 115). Trotz der höheren Fäulnisbelastungen mit 13-50 % in 2010 konnte man folgern, dass sich in diesem Jahrgang der *Botrytis*-Pilz hin zur gewünschten Edelfäule entwickelte, was mit den höheren Glycerin- und den geringeren Gluconsäurekonzentrationen erklärt werden kann. Auch in der Literatur sind zahlenmäßig vergleichbare Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse für Edelfäule (Quotient >10) beschrieben (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). In 2011 hingegen zeigten die geringeren Glycerin- und die höheren Gluconsäurekonzentrationen das fortgeschrittene Stadium des *Botrytis*-Pilzes hin zur Graufäule und damit zur unerwünschten "Fäulnisqualität" an. Besonders bei den Versuchen V2, V3, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 wurden die niedrigsten Verhältnisse ermittelt. Bei diesen Versuchen kam es neben der Primärinfektion mit *Botrytis* zu weiteren Sekundär/Tertiärinfektionen, u. a. mit Essigfäule. Wie bereits mehrfach in Studien gezeigt werden konnte, kommt es bei einem zusätzlichen Befall mit Essigsäurebakterien zu einem erhöhten Anstieg der Gluconsäurekonzentration (Sponholz, Dittrich, 1985; Barbe et al., 2001; Ramachandran et al., 2006; Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Diese Bakterien können jedoch im Vergleich zu *Botrytis* nicht gleichzeitig auch Glycerin bilden

(Eschenbruch, Dittrich, 1986). Demzufolge führten hauptsächlich die hohen Gluconsäuregehalte zu den geringen Glycerin/Gluconsäure-Verhältnissen in 2011.

Fazit

Botrytis-befallenes Lesegut wird meist zur Herstellung der Prädikatsweine Beerenauslesen und Trockenbeerenauslesen verwendet. Durch die Bildung des Glycerin/Gluconsäure-Quotienten bietet sich somit die Möglichkeit, das Entwicklungsstadium des *Botrytis*-Pilzes und damit die tendenzielle Qualität des Weines aus solchem Lesegut abzuschätzen.

5.8 Säuren

Aspekte der Qualitätssicherung

Die durch vollautomatisch-optische Traubensortierung erhaltenen Sortierfraktionen unterschieden sich fäulnisbedingt hinsichtlich ihrer Anteile an Pulpe und Schale. Aufgrund der unterschiedlichen Lokalisation von Wein-, Äpfel- und Citronensäure in der Beere sollte durch Bestimmung dieser Parameter in den verschiedenen Sortierfraktionen die Auswirkung eines Fäulnisbefalls auf den Most/Wein untersucht werden. Je nach Säureverhältnis in den Fraktionen könnten somit entsprechende Vinifikationsschritte, wie z. B. unterschiedliche Entsäuerungsverfahren, ausgewählt werden.

Überblick Gesamtsäure

Die durchschnittlichen Gesamtsäuregehalte (analysiert mittels FTIR, siehe Kapitel 8.2.6) der Kontrollfraktionen der Moste waren in den Versuchsjahren 2010 und 2011 vegetationsbedingt sehr unterschiedlich, was deutlich aus Abbildung 116 hervorgeht. Im Jahr 2010 war die Gesamtsäure um durchschnittlich 75 % höher als im Jahr 2011.

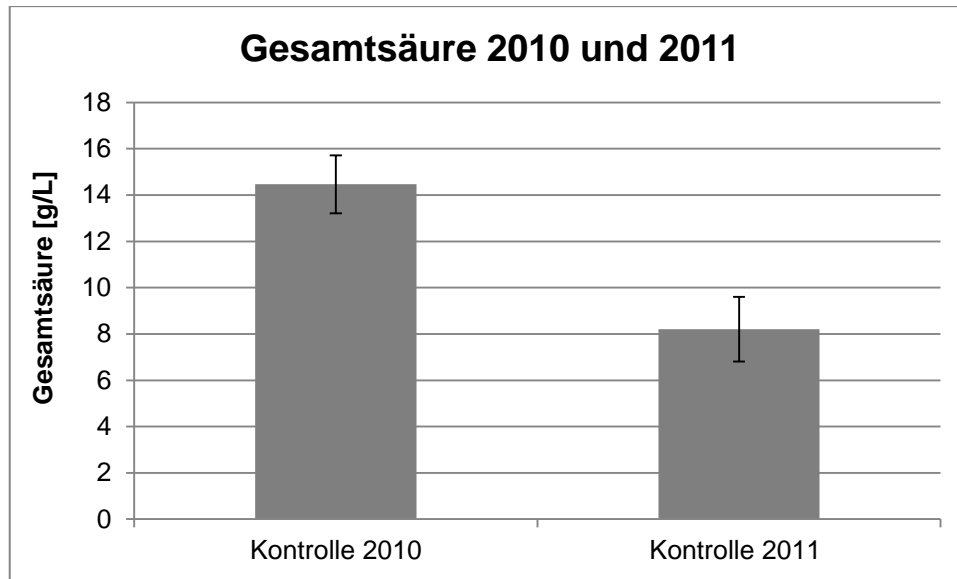


Abbildung 116: Gesamtsäuregehalte der Kontrollfraktionen der Moste der Jahrgänge 2010 (n=6) und 2011 (n=9)

Analytik

Die Gehalte an Weinsäure, Äpfelsäure und Citronensäure wurden mittels IC-LD bestimmt (siehe Kapitel 8.2.8).

Ergebnisse und Diskussion

Zur Betrachtung der Wein-, Äpfel- und Citronensäure wurden die Gehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 herangezogen. Während der alkoholischen Gärung kann es zu Veränderungen dieser Säuren kommen, sodass eine Aussage bezüglich der Traubenbeschaffenheit und des Einflusses einer Fäulnisbelastung bei Betrachtung der entsprechenden Weinproben nicht mehr möglich wäre: Weinsäure kann während und nach der Gärung in Form von Weinstein in Mengen von 0,5-1,5 g/L ausfallen (Würdig, Woller, 1989); Äpfelsäure kann von bestimmten *Saccharomyces*-Stämmen während der Gärung abgebaut werden (Dittrich, Großmann, 2005); Citronensäure kann während der Gärung gebildet werden, aber auch als Substrat für Stoffwechselprozesse von Mikroorganismen dienen (Zotou et al., 2004).

Die Gehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 wurden nicht diskutiert, da aufgrund hoher Säuregehalte dieser Versuchsmoste eine chemische Entsäuerung mit Calciumcarbonat erforderlich war, wodurch die ursprünglichen Gehalte verändert wurden.

5.8.1 Weinsäure

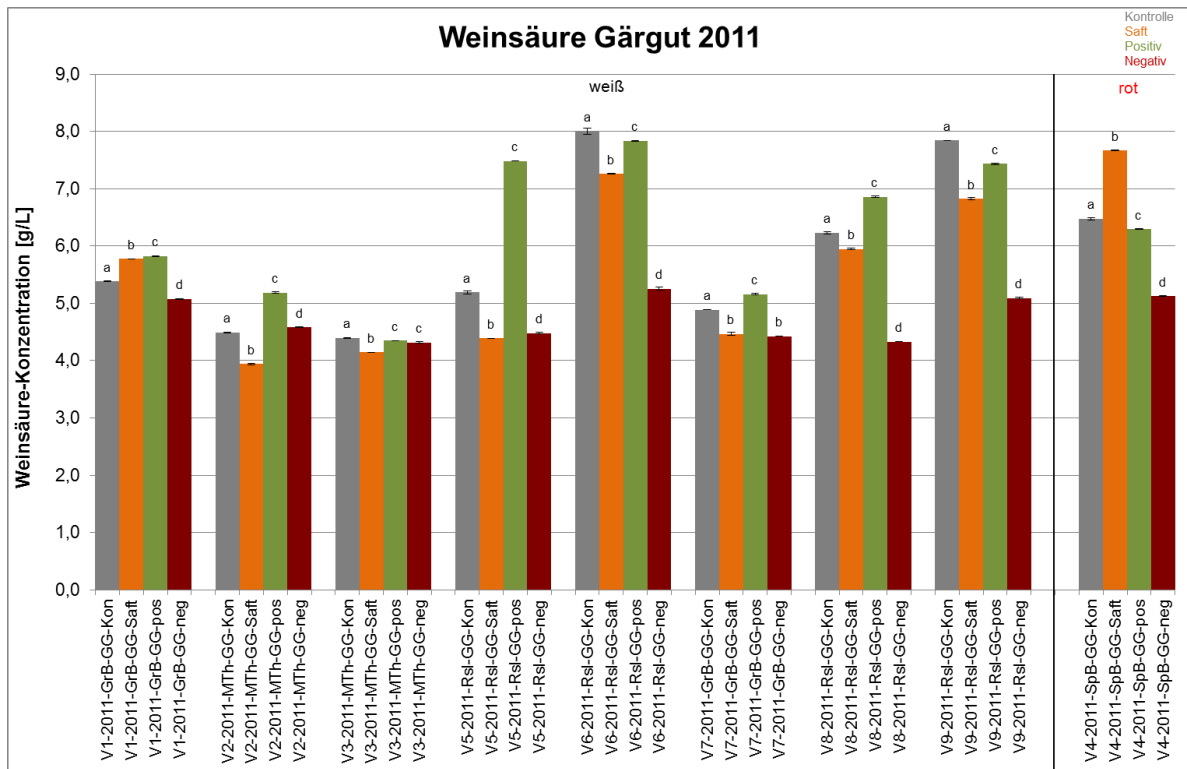


Abbildung 117: Weinsäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Vor allem in den Negativfraktionen konnten im Vergleich zu den Positivfraktionen oft geringere Weinsäurekonzentrationen mit 4,3-5,3 g/L bestimmt werden. Die Gehalte in den Positivfraktionen lagen in einem Konzentrationsbereich von 4,3-7,8 g/L; in den Kontrollen konnten Gehalte zwischen 4,3-8,0 g/L und in den Saftfraktionen zwischen 3,9-7,7 g/L bestimmt werden (Abbildung 117). Diese ermittelten Gehalte mit bis zu 8,0 g/L Weinsäure im Gärgut liegen nur minimal über den in der Literatur beschriebenen maximalen Konzentrationen von ca. 7,5 g/L (Romero et al., 1993; Soyer et al., 2003).

Die Weinsäure ist relativ gleichmäßig in der Beere verteilt; hin zum Kern findet man leicht erhöhte Gehalte (Possner, Kliewer, 1985). Die unterschiedlichen Weinsäurekonzentrationen innerhalb der Fraktionen eines Versuches lassen sich mit einer bereits stattgefundenen Kaliumhydrogentartratbildung während der Trauben- und Mostverarbeitung erklären. Da in den Kontroll- und Negativfraktionen Beeren mit zerstörten Schalen vorlagen, aus denen mehr Kalium herausgelöst wurde (siehe Kapitel 5.9.1), war die Weinsteinbildung in diesen Fraktionen begünstigt. In den Negativfraktionen konnten daher nur 4,3-5,3 g/L Weinsäure bestimmt werden, was durchschnittlich 1,5 g/L geringeren Weinsäuregehalten im Vergleich zu den Positivfraktionen entspricht, mit einem Schwankungsbereich von 0,03 g/L (V3) bis zu 3 g/L (V5). Eine Verringerung der

Weinsäure in *Botrytis*-befallenen Mosten im Vergleich zu gesunden Mosten konnte in gleichem Maße von Dittrich et al. (1974) sowie von Altmayer (1983) beobachtet werden.

Fazit

Eine Traubensortierung kann in Jahrgängen mit geringen Weinsäuregehalten zur Säureerhaltung beitragen. Werden unsortierte Beeren mit einem bestimmten Anteil an faulen Beeren vinifiziert, kann es, wie in den Kontrollfraktionen gezeigt, durch die fäulnisbedingt höheren Kaliumgehalte zu einer Reduktion der Weinsäure durch Ausscheiden von Weinstein kommen. Durch Aussortieren der faulen Beeren und Vinifikation der gesunden Beeren kann somit der in den Beeren vorhandene Weinsäuregehalt gesichert werden.

5.8.2 Äpfelsäure

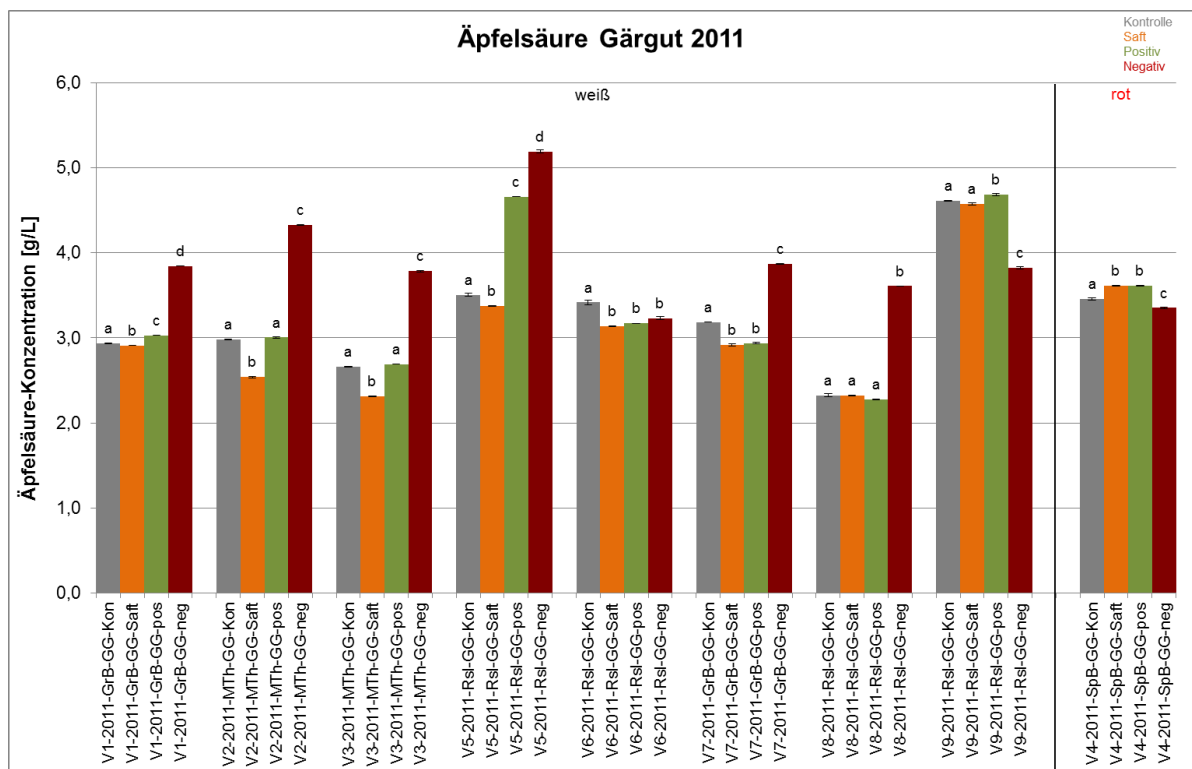


Abbildung 118: Äpfelsäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Mit Ausnahme der Versuche V4 und V9 wurden beim Vergleich der Fraktionen aller Versuche die höchsten Äpfelsäurekonzentrationen mit 3,2-5,2 g/L in den Negativfraktionen bestimmt. Die Konzentrationen in den Kontrollen, Saftvorlauf- und Positivfraktionen erreichten bei Betrachtung der einzelnen Versuche überwiegend vergleichbare Gehalte im Bereich von 2,2-3,6 g/L (Abbildung 118). Durchschnittlich

wurden 0,88 g/L mehr an Äpfelsäure in den Negativfraktionen im Vergleich zu den Positivfraktionen analysiert.

Die durchschnittlich ermittelten Äpfelsäurekonzentrationen aller Fraktionen im Bereich von 2,2-5,2 g/L spiegeln die Reife- und Rebsortenunterschiede des Jahrgangs 2011 wider. Die hohen Äpfelsäurekonzentrationen in den Negativfraktionen lassen sich mit der Fäulnisbelastung, insbesondere der *Botrytis*-Infektion, begründen. Pektinasen, die bei diesem Pilzbefall freigesetzt werden, verflüssigen die Pulpe der Beeren. Da sich die Äpfelsäure überwiegend im äußeren Bereich der Haut und im innersten Bereich des Fruchtfleisches um die Kerne konzentriert (Possner, Kliewer, 1985), kommt es durch die Verflüssigung der Pulpe zu einer verbesserten Löslichkeit der Äpfelsäure. Der eigentlich stattfindende Malatabbau durch *Botrytis* wird vom Konzentrierungseffekt infolge der Wasserverdunstung der *Botrytis*-Beeren überlagert (Dittrich et al., 1974).

Fazit

Die Säurestruktur und dementsprechend die Anteile an Wein- und Äpfelsäure sind für eventuelle Säurereduktionen von wichtiger Bedeutung, da angepasst an die Art der vorliegenden Säuren das passende Verfahren ausgewählt werden muss. Die Sortierung bietet somit die Möglichkeit, während der Vinifikation individuell auf die einzelnen Sortierfraktionen einzugehen, um somit auch den gewünschten Weinstil zu erhalten.

5.8.3 Citronensäure

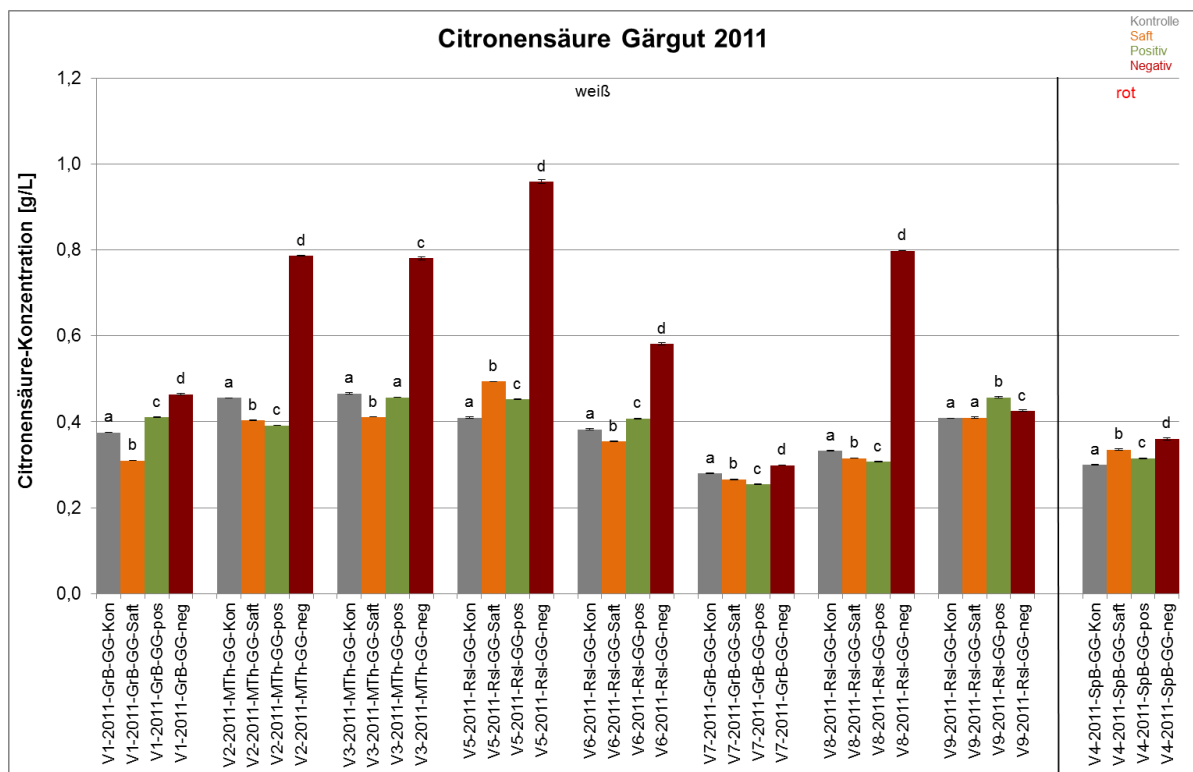


Abbildung 119: Citronensäuregehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Mit Ausnahme von Versuch V9 wurden beim Vergleich der Fraktionen aller Versuche die höchsten Citronensäurekonzentrationen mit 299-959 mg/L in den Negativfraktionen ermittelt (Abbildung 119). Dies lässt sich mit der Fäulnisbelastung der Beeren begründen, da in Mosten aus *Botrytis*-infiziertem Lesegut Gehalte von mehr als 600 mg/L analysiert werden können (Dittrich, 1989; Würdig, Woller, 1989). Dittrich et al. (1974) ermittelten doppelt so hohe Citronensäurekonzentrationen in faulen Mosten verglichen mit gesunden Mosten. Dies konnte mit den Versuchen V2, V3, V5 und V8 bestätigt werden.

Die Konzentrationen der Kontroll-, Saft- und Positivfraktionen lagen durchschnittlich bei 250-450 mg/L (Abbildung 119). Dieser Schwankungsbereich lag leicht über den in der Literatur beschriebenen Gehalten zwischen 200-350 mg/L (Romero et al., 1993; Sabir et al., 2010), was mit möglichen Rebsortenunterschieden bzw. klimatischen Einflüssen zusammenhängen könnte.

Fazit

Wird bei Weinen mit Anteilen *Botrytis*-fauler Beeren eine malolaktische Gärung durchgeführt, um den gewünschten Weinstil zu erhalten, besteht aufgrund des höheren Citronensäuregehaltes die Gefahr, dass durch die Bildung von Essigsäure und Diacetylverbindungen aus Citronensäure durch Milchsäurebakterien sensorische

Beeinträchtigungen entstehen können. Dies ist stark von den Wachstumsbedingungen dieser Bakterien, wie bspw. dem pH-Wert, abhängig (Dittrich et al., 1980; Zotou et al., 2004; Constantini et al., 2010). Durch Aussortieren des fäulnisbelasteten Lesegutes und Vinifikation der gesunden Beeren könnten diese Auswirkungen minimiert werden.

5.8.4 Flüchtige Säure

Unter flüchtiger Säure versteht man die Summe aller flüchtigen, organischen Säuren, berechnet als Essigsäure, da diese den Hauptanteil der flüchtigen Säuren in Mosten und Weinen ausmacht (Matissek, Steiner, 2006).

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Flüchtige Säure kann von Essigsäurebakterien auf faulen Trauben produziert werden. Bereits geringe Konzentrationen an flüchtiger Säure führen im Wein sensorisch zu negativen Wahrnehmungen. Für die flüchtige Säure gibt es gesetzliche Grenzwerte, deren Überschreitung den Verlust der Verkehrsfähigkeit der betroffenen Weine zur Folge hat. Es wurde daher geprüft, ob die Entfernung fäulnisbefallener Beeren aus dem Lesegut zu einer Reduktion dieses Parameters und damit zu einer Qualitätssicherung bzw. -steigerung der Moste und resultierenden Weine führen kann.

Analytik

Die Bestimmung der flüchtigen Säure wurde nach der modifizierten OIV-Methode durchgeführt (siehe Kapitel 8.2.9).

Ergebnisse und Diskussion

Im Vergleich zu 2010 konnte 2011 ein Befall mit Essigsäure festgestellt werden, weshalb diese Proben zusätzlich auf den Gehalt an flüchtiger Säure untersucht wurden.

Zur Untersuchung des Einflusses der Fäulnisbelastungen auf den Gehalt an flüchtiger Säure in den Sortierfraktionen wurden im Folgenden die Ergebnisse der Gärgutproben zur Diskussion herangezogen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 120 dargestellt.

Da es im Verlauf der Gärung zur Bildung von 0,2-0,4 g/L Essigsäure durch die verwendete Hefe der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* kommen kann (Dittrich, Großmann, 2005), lässt eine alleinige Betrachtung der Gehalte an flüchtiger Säure im Wein keinen Rückschluss auf die Fäulnisbelastung zu. Da bei der sensorischen Untersuchung hingegen der Einfluss der flüchtigen Säure auf die Weine beurteilt wurde, wurden auch in den Weinen die Gehalte an flüchtiger Säure bestimmt (Abbildung 121).

5.8.4.1 Flüchtige Säure in den Gärgutproben

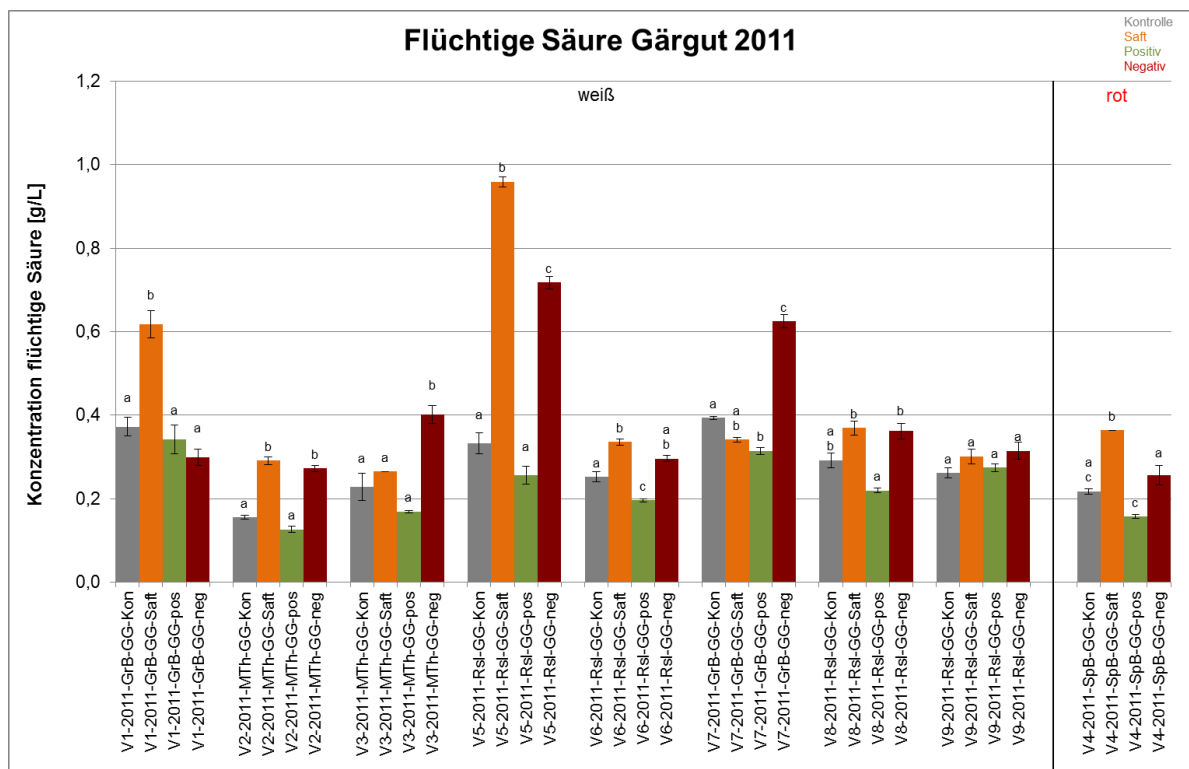


Abbildung 120: Konzentration der flüchtigen Säure in den Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Die höchsten Gehalte an flüchtiger Säure wurden bei allen Versuchen in den Negativ- und/oder Saftfraktionen ermittelt. Hierbei konnten in den Fraktionen V1-Saft, V5-Saft, V5-neg und V7-neg die höchsten Gehalte mit 618-959 mg/L bestimmt werden (Abbildung 120). Vor allem bei den Versuchen V5 und V7 konnte neben *Botrytis* ein zusätzlicher Befall mit Essigfäule festgestellt werden, da ein vom Lesegut ausgehender Essiggeruch deutlich wahrnehmbar war. In Mosten aus faulen Beeren können Essigsäurebakterien mit Keimzahlen von bis zu 10^5 cfu/mL vorkommen, wohingegen im Most aus gesundem Lesegut nur Keimzahlen von etwa 10^4 cfu/mL vorliegen. Moste aus essigfaulen Beeren können daher schon mehr als 0,8 g flüchtige Säure /L beinhalten (Dittrich, Großmann, 2005). Die höheren Konzentrationen in den Saftvorläufen können wie auch bei der Gluconsäure (Kapitel 5.6) damit erklärt werden, dass der Saft überwiegend aus den fäulnisbefallenen Trauben stammte, deren Beerenhaut infolge der Infektionen zerstört wurde.

Bei allen weiteren Versuchsfraktionen konnten Gehalte an flüchtiger Säure in einem Bereich zwischen 127-402 mg/L bestimmt werden. Mit Ausnahme der Versuche V1 und V9 lagen die geringsten Gehalte in den Positivfraktionen vor.

5.8.4.2 Flüchtige Säure in den Weinproben

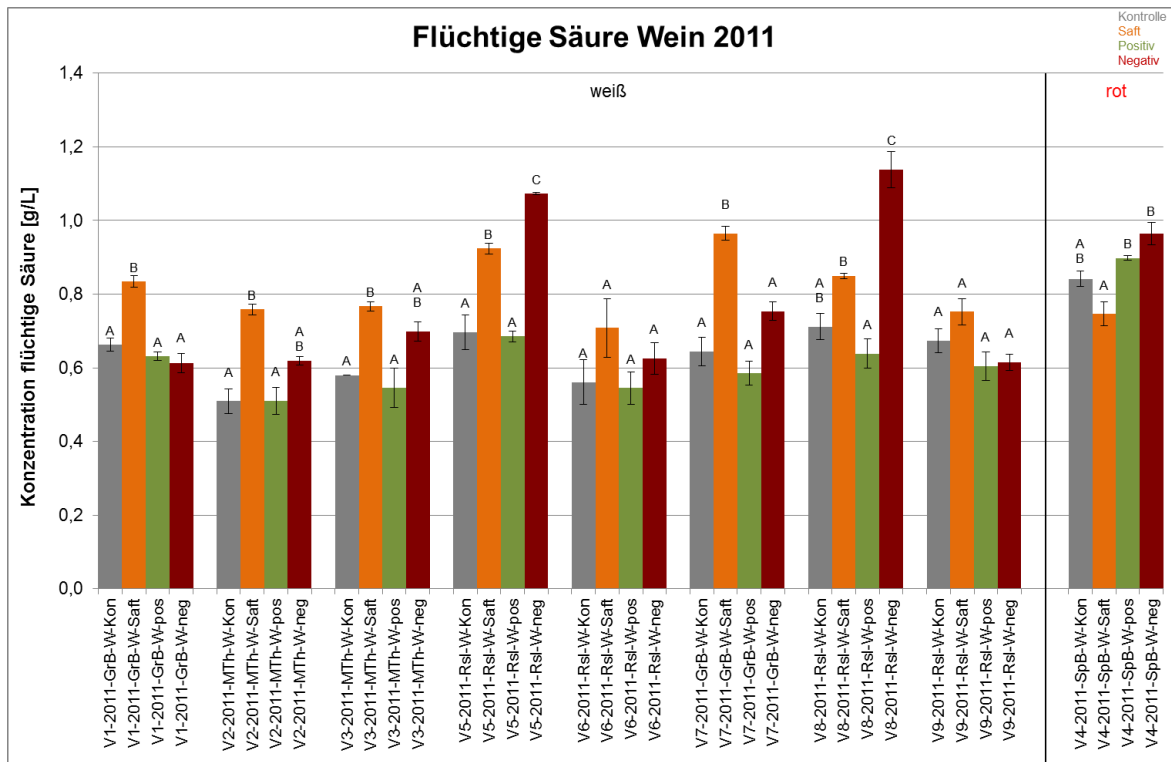


Abbildung 121: Konzentration der flüchtigen Säure in den Weinproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Bei Betrachtung aller Weine des Jahrgangs 2011 konnten Gehalte an flüchtiger Säure in einem Konzentrationsbereich von 0,5-1,1 g/L bestimmt werden, wobei der Durchschnitt im Bereich von 0,5-0,8 g/L lag (Abbildung 121). Wie bereits in der Literatur beschrieben, können Hefen der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* bei der Weinbereitung 0,2-0,4 g/L Essigsäure bilden (Dittrich, Großmann, 2005), was auch mit den vorliegenden Versuchen beim Vergleich der korrelierenden Gärgut- und Weinproben bestätigt werden konnte.

In den untersuchten Weißweinen wurden die höchsten Gehalte überwiegend in den Negativfraktionen bzw. in den Saftvorläufen gemessen. Mengen über 0,6 g/L Essigsäure gelten als Anzeichen für mikrobiellen Verderb des Weines, u. a. durch Fremdhefen (z. B. *Hanseniaspora uvarum*) oder durch Bakterien (Jakob, 1997; Dittrich, Großmann, 2005). Dies ist vor allem bei den Versuchen V5, V7 und V8 der Fall. Bei V5 und V7 lassen sich die erhöhten Gehalte an flüchtiger Säure mit der Anwesenheit von Essigsäurebakterien erklären, da bereits auf den Beeren und folglich auch im Gärgut erhöhte Konzentrationen dieser Säure nachgewiesen werden konnten (siehe Kapitel 5.8.4.1). Während der Gärung des Mostes ist die Zunahme der Essigsäure auch mit dem Zuckergehalt korreliert. Mit steigendem Zuckergehalt des Mostes nimmt auch die Bildung von Essigsäure durch die Hefe zu, unabhängig vom verwendeten Hefestamm (Erasmus et al., 2004). Der signifikant hohe Gehalt an flüchtiger Säure der Fraktion V8-2011-W-Rsl-neg konnte auf die erhöhten

Zuckergehalte im entsprechenden Gärgut im Vergleich zu den anderen Versuchen zurückgeführt werden. Ziel während der Vinifikation waren durchgegorene Weine ohne Restzucker. Während der alkoholischen Gärung konnten bei dieser Fraktion 13,3 % Vol. Ethanol gebildet werden, bis es zu Gärschwierigkeiten kam und somit erhöhte Restzuckergehalte nicht weiter durch die Hefe verstoffwechselt werden konnten. Durch diese hohen Alkoholkonzentrationen wurden die Hefen inaktiviert und Milchsäurebakterien konnten aktiv werden. Der hohe pH-Wert von 3,8 in dieser Fraktion begünstigte zudem das Wachstum der Milchsäurebakterien, was auch am gebildeten Milchsäuregehalt (1,1 g/L) nachvollziehbar war (siehe Anhang A.1.7). Weiterhin kann es hier auch durch eine heterofermentativ-heterolaktische Milchsäuregärung von Glucose, Fructose und Pentosen im Jungwein oder Most auf dem Pentosephosphat-(Hexosemonophosphat)-Weg zur Bildung von Essigsäure gekommen sein (Dittrich, Großmann, 2005).

Die geringsten Gehalte an flüchtiger Säure wurden meist in den Positivfraktionen bestimmt, wobei jedoch meist kein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle vorlag. Dies bestätigte sich auch bei den Versuchen V5 und V7 mit Essigfäule. Die Fäulnisgehalte von 18,8 bzw. 5,7 % bei diesen Versuchen bezogen sich auf die „gesamte“ Fäulnis; eine separate Bonitur hinsichtlich des Merkmals „Essigfäule“ wurde nicht durchgeführt. Demnach wirkte sich die Essigfäule als Teil der Gesamtfäulnis nicht so drastisch auf die Gehalte in den unsortierten Fraktionen (Kontrollen) aus. Durch Aussortieren des schadhaften Lesegutes kann allgemein in der Positivfraktion dieses Risiko gesenkt werden. Die sensorischen Ergebnisse zeigten (siehe Kapitel 5.12), dass trotz nur geringer Unterschiede in den Gehalten an flüchtiger Säure in den Kontroll- und Positivfraktionen eine Sortierung zu einer qualitativen Verbesserung der Weine führte.

Bei den Rotweinflaktionen des Versuches V4 wurden leicht erhöhte Konzentrationen an flüchtiger Säure im Vergleich zu den Weißweinflaktionen bestimmt, was mit der zusätzlichen malolaktischen Gärung beim Rotwein und damit der Anwesenheit von Milchsäurebakterien zusammenhing. Die zur Einleitung der malolaktischen Gärung beimpften Milchsäurebakterien der Gattung *Oenococcus oeni* waren Citrat-positive Standardkulturen zur Rotweinabereitung. Solche Milchsäurebakterien können nach dem Abbau der Äpfelsäure bei der malolaktischen Gärung auch Citronensäure verstoffwechseln, wodurch Essigsäure gebildet werden kann (Dittrich, Großmann, 2005).

Fazit

Die höchsten Gehalte an flüchtiger Säure wurden meist in den Negativ- und den Safffraktionen bestimmt, was die Aktivität von Essigsäure-produzierenden Mikroorganismen vor allem auf faulen Beeren bestätigte. Tendenziell konnte bei Betrachtung der Positivfraktionen zur entsprechenden Kontrolle eine Reduzierung des

Gehaltes beobachtet werden, sodass die Ergebnisse insgesamt einen positiven Sortiereffekt bei diesem Parameter erkennen ließen. Durch Aussortieren von faulen und mit Essigsäurebakterien belasteten Beeren aus dem Lesegut können somit nachteilige sensorische Auswirkungen erhöhter Essigsäuregehalte in den resultierenden Weinen vermieden werden.

5.9 Kationen

Die durch vollautomatisch-optische Traubensortierung erhaltenen Sortierfraktionen unterschieden sich fäulnisbedingt hinsichtlich ihrer Anteile an Pulpe und Schale. Wie die organischen Säuren sind auch die Kationen, speziell Kalium und Calcium, in den einzelnen Bereichen der Beere mengenmäßig unterschiedlich lokalisiert. Durch Bestimmung dieser Parameter in den verschiedenen Sortierfraktionen sollte die Auswirkung eines Fäulnisbefalls auf die Gehalte an Kationen in den Mosten untersucht werden.

Analytik

Die Kationen Kalium, Magnesium und Calcium wurden mittels IC-LD bestimmt (siehe Kapitel 8.2.4).

Ergebnisse und Diskussion

Zur Betrachtung des Mineralstoffgehaltes wurden die Ergebnisse der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 herangezogen. Während und nach der Gärung können zwischen 0,5-1,5 g/L Weinsäure in Form von Weinstein (Kaliumhydrogentartrat) ausfallen, infolge dessen vor allem die Kaliumkonzentrationen abnehmen (Würdig, Woller, 1989). Daher wurde von einer Betrachtung der Konzentrationen in den Weinproben abgesehen. Ausgehend von den Mineralstoffgehalten im Wein wäre demnach eine Aussage bezüglich der Traubenbeschaffenheit und des Einflusses der Fäulnisbelastung nicht mehr möglich.

Die Gehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2010 wurden nicht diskutiert, da aufgrund hoher Säuregehalte der Versuchsmoste (durchschnittlich 10,9 g/L) eine chemische Entsäuerung mit Calciumcarbonat durchgeführt (siehe Kapitel 8.2.2.2.1) und daher vor allem die Calciumkonzentrationen beeinflusst wurden.

5.9.1 Kalium

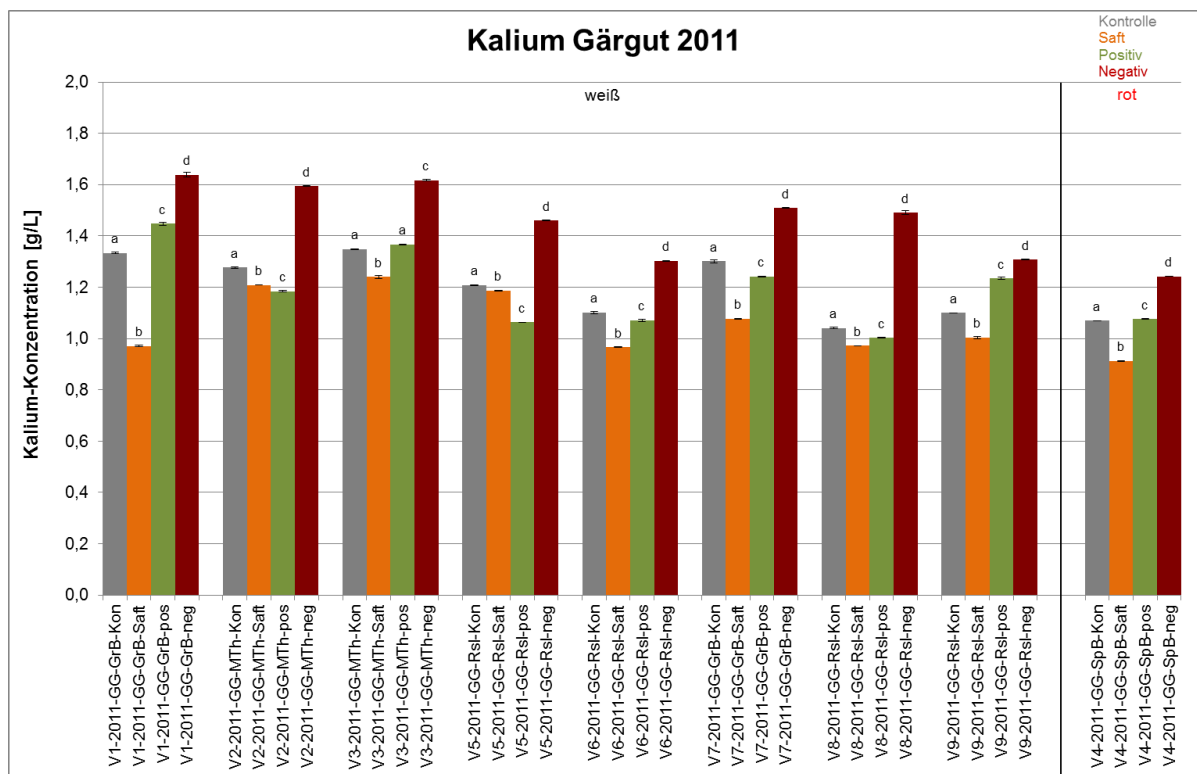


Abbildung 122: Kaliumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Die höchsten Kaliumkonzentrationen wurden in den Negativfraktionen mit 1,2-1,6 g/L bestimmt (Abbildung 122). Die Negativfraktion zeichnete sich allgemein durch einen erhöhten Schalen- und geringeren Saftanteil aus, was durch den Konzentrierungseffekt infolge der Perforation der Beerenhaut bei einer *Botrytis*-Infektion bedingt wurde. Weine, die aus konzentrierten, edelfaulen Trauben hergestellt werden und damit einen hohen Schalen- zu Saftanteil haben, weisen die höchsten Kaliumgehalte auf (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Zudem enthält die Beerenhaut etwa viermal mehr Kalium als die Pulpe, womit sich ebenfalls die hohen Kaliumgehalte in dieser Fraktion mit hohem Schalenanteil begründen lassen (Trogus, Pohl, 1978; Coombe, 1987; Possner, Kliwer, 1985; Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Mit Ausnahme der Versuche V2 und V5 konnten im Saftvorlauf die geringsten Kaliumkonzentrationen zwischen 0,9-1,2 g/L analysiert werden. Die niedrigen Gehalte in dieser Fraktion ließen sich auf den geringen Schalenanteil (meist nur kleine Schalenbruchstücke) und eine fehlende Pressung zurückführen, wodurch weniger Kalium aus den Schalen in den Most gelangte. Dies wurde auch von Trogus und Pohl (1978) sowie Jakob et al. (1997) beschrieben.

Bei den Versuchen V1, V3, V4 und V9 waren die Kaliumkonzentrationen in den Positivfraktionen höher als in den Kontrollfraktionen; bei den anderen Versuchen zeigte sich die umgekehrte Tendenz. Die Gehalte in diesen Fraktionen lagen zwischen 1,0-1,5 g/L. Die Unterschiede könnten bspw. einer Kristallisationsbildung bei der Traubenverarbeitung bis zum Gärgut zugeschrieben werden, woraus geringere Gehalte resultierten.

5.9.2 Magnesium und Calcium

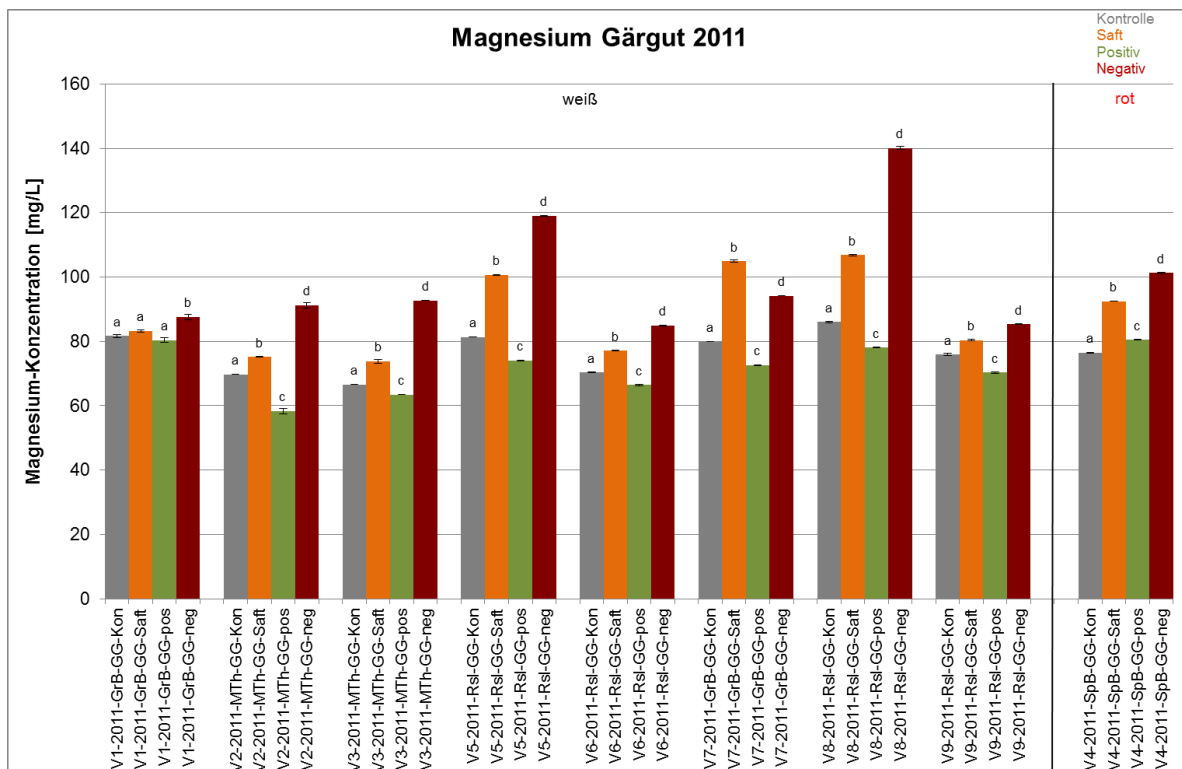


Abbildung 123: Magnesiumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Die Magnesiumgehalte im Gärgut lagen bei Betrachtung aller Versuche zwischen 58-140 mg/L (Abbildung 123), die Calciumgehalte zwischen 51-151 mg/L (Abbildung 124). Die ermittelten Gehalte an Magnesium und Calcium entsprachen den in der Literatur angegebenen Schwankungsbereichen (Schrader et al., 1976; Würdig, Woller, 1989; Jakob et al., 1997), wobei in diesen Fällen keine Angaben bezüglich einer Fäulnisbelastung der untersuchten Moste vorliegen.

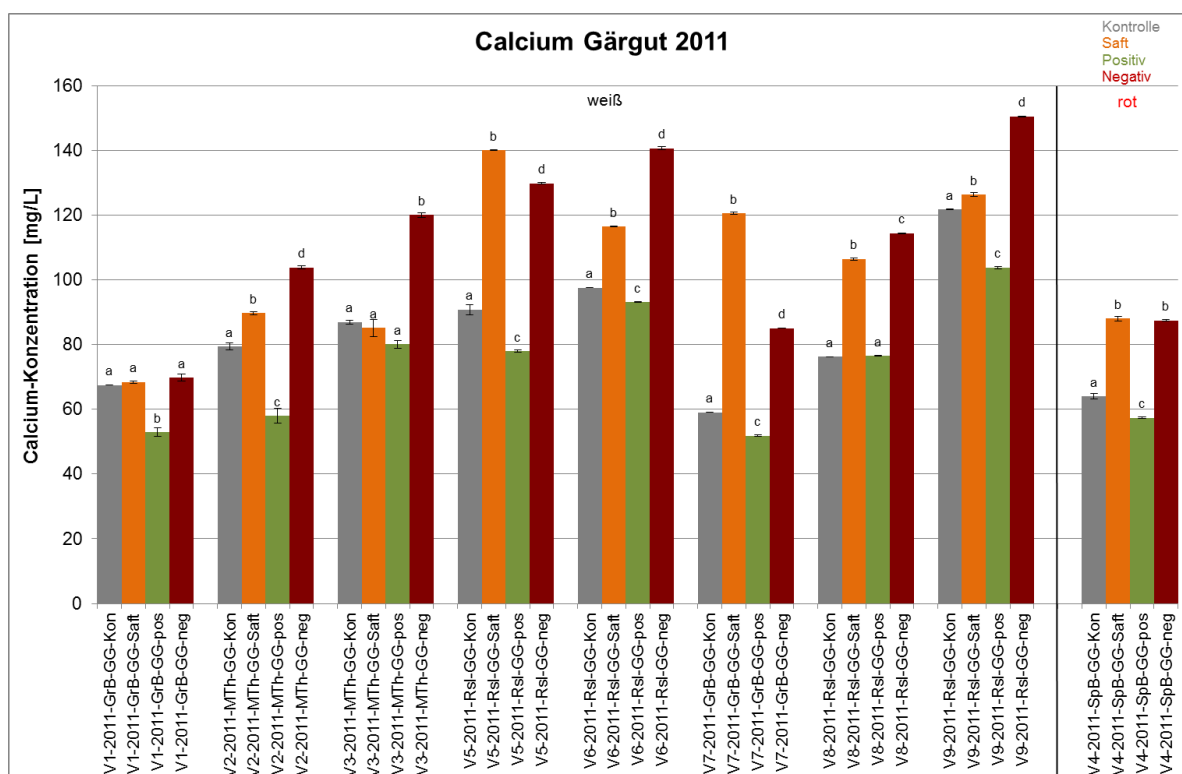


Abbildung 124: Calciumgehalte der Gärgutproben des Jahrgangs 2011 (n=2; p=0,05)

Die höchsten Magnesium- und Calciumgehalte konnten in den Saftvorlauf- und den Negativfraktionen bestimmt werden, die niedrigsten in den Positivfraktionen. Die hohen Gehalte in den Negativfraktionen korrelierten mit der *Botrytis*-Infektion, was auf die Anreicherung der beiden Erdalkali-Ionen durch den Wasserverlust der Traubenbeeren zurückzuführen ist (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Daher enthalten auch Beeren- und Trockenbeerenauslesen, die aus *Botrytis*-befallenen Beeren hergestellt werden, höhere Magnesiumgehalte (Wagner et al., 1989; Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Calcium kommt ebenso wie Kalium hauptsächlich in der Schale vor (Possner, Kliewer, 1985; Cabanne, Donèche, 2003), womit sich zusätzlich die hohen Gehalte in den Negativfraktionen mit hohem Schalenanteil erklären lassen.

Die Saftfraktionen enthielten auch hohe Konzentrationen an Magnesium und Calcium. Infolge der *Botrytis*-Infektion und der damit verbundenen Freisetzung pektolytischer Enzyme kam es hier zum Aufschluss der Zellwände (Ribéreau-Gayon et al., 2006a) und damit zur Verflüssigung der Pulpe. Dadurch konnten die Magnesium- und Calciumionen, vor allem im Bereich der Schale, verstärkt gelöst werden, was folglich durch den Saftaustritt aus der Beere zu den erhöhten Gehalten in den Saftfraktionen geführt hat (KIS Mosel Nr. 14, 2012).

Weine, deren Calciumgehalt über 80-120 mg/L liegt, neigen erfahrungsgemäß zur Ausscheidung kristalliner Verbindungen. In der Regel handelt es sich hierbei um

Calciumtartrat. In Weinen aus *Botrytis*-faulem Lesegut kann sich zudem schwerlösliches Calciummucate (Calciumsalz der Galactarsäure/Schleimsäure) bilden (Würdig, Woller, 1989).

Fazit

Wie die Ergebnisse der Versuche zeigten, führten faule Beeren zu erhöhten Kalium-, Magnesium- und Calciumgehalten in den Gärgutproben. Durch die hohen Kaliumgehalte in den Negativfraktionen wurden auch deren Säuregehalte durch Bildung von Kaliumhydrogentartrat beeinflusst, was die geringsten Weinsäuregehalte in den Negativfraktionen bestätigten (siehe Kapitel 5.8.1). Vor allem in Jahrgängen mit geringen Weinsäuregehalten kann das Aussortieren von faulen Beeren zur Säureerhaltung beitragen, da eine Reduktion der Weinsäure durch vermehrtes Ausscheiden von Weinstein verhindert werden kann. Zudem kann bspw. der Ausgangs-Calciumgehalt (Kontrolle) reduziert (Positivfraktion) werden. Die Gefahr der Bildung von schwerlöslichen Calciumsalzen, welche ein önologisches Problem nach der Flaschenabfüllung der Weine darstellen, kann dadurch ebenfalls minimiert werden.

5.10 Schwefelbindungspartner

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Für die Gesamt-SO₂-Gehalte im Wein liegen gesetzliche Höchstmengen vor. Ein *Botrytis*-Befall auf Trauben führt zur Reduzierung von Thiamin, welches bei der alkoholischen Gärung von der Hefe benötigt wird, um einen störungsfreien Stoffwechsel zu betreiben. Dadurch kommt es zur erhöhten Bildung an Schwefelbindungspartnern, die wiederum zur Erhöhung des SO₂-Bedarfs der Weine beitragen. Weine mit einem geringeren Gehalt an Schwefelbindungspartnern und damit einem insgesamt geringeren SO₂-Bedarf können sich bei Weißweinen in einer positiveren Sensorik äußern, wodurch solche Weine qualitativ höherwertig sind. Um die Vermarktbarkeit der Weine zu gewährleisten, bedarf es der Einhaltung der Höchstmengen an SO₂; daher dienen Maßnahmen zur Reduzierung des SO₂ im Wein als Qualitätssicherung.

Es wurde daher geprüft, wie groß der Einfluss fäulnisbelasteter Beeren auf den Gehalt an Schwefelbindungspartnern in den Gärgut- und Weinproben dieses Sortierprojektes war.

Analytik

Acetaldehyd, Brenztraubensäure und 2-Ketoglutarensäure wurden enzymatisch bestimmt (siehe Kapitel 8.2.10, 8.2.11, 8.2.12); das gebundene SO₂ wurde potentiometrisch bestimmt (siehe Kapitel 8.2.13)

5.10.1 Gehalte im Gärgut

Zur Betrachtung der Gehalte an Schwefelbindungspartnern wurden zunächst die Gärgutproben der Versuche V2-MTh, V5-Rsl und V7-GrB herangezogen, um zu untersuchen, ob ein Fäulnisbefall der Traube zu erhöhten Gehalten an Schwefelbindungspartnern führt. Diese Versuche wurden exemplarisch gewählt, da es sich hierbei um die drei untersuchten weißen Rebsorten Müller-Thurgau, Riesling und Grauburgunder des Jahrgangs 2011 handelte.

5.10.1.1 Acetaldehyd in den Gärgutproben

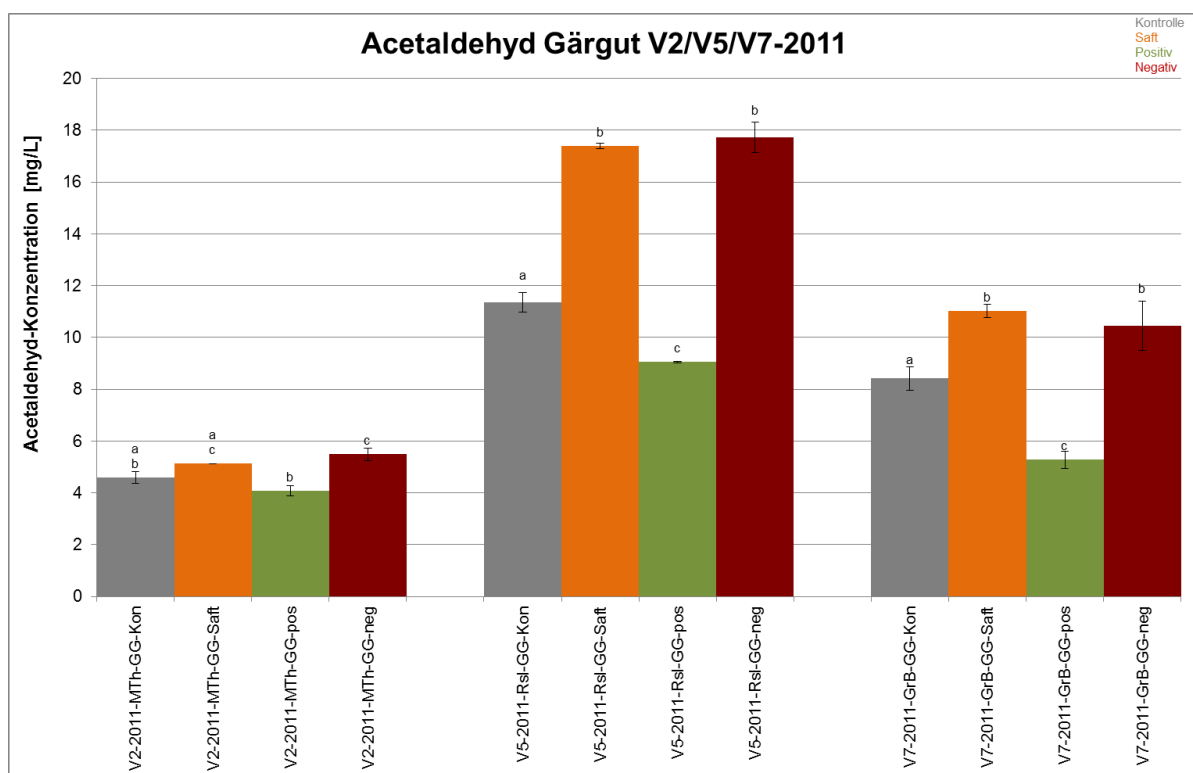


Abbildung 125: Acetaldehydgehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3, p=0,05)

Wie Abbildung 125 zu entnehmen ist, schwankten die Acetaldehydgehalte der Gärgutproben der untersuchten Rebsorten Müller-Thurgau, Riesling und Grauburgunder im Bereich von 4,1-17,7 mg/L.

Bei den Versuchen V5-Rsl und V7-GrB zeigten sich deutlich erhöhte Gehalte im Saftvorlauf und der Negativfraktion im Vergleich zur Kontrolle und Positivfraktion. In den Negativfraktionen zeigten sich hier um 49 % höhere Gehalte im Vergleich zu den Positivfraktionen. Damit wird deutlich, dass bereits im Moststadium Acetaldehyd verstärkt in den faulen Beeren gebildet wurde. Durch Aussortieren der faulen Beeren konnte im Vergleich zur Kontrolle eine Reduktion des Acetaldehydgehaltes um 11-37 % in den

Positivfraktionen erreicht werden. Diese Ergebnisse ließen sich bei Versuch V2-MTh nicht bestätigen, da hier insgesamt die geringsten Acetaldehydgehalte mit einem geringen Schwankungsbereich von 4,1-5,5 mg/L vorlagen, was möglicherweise auf die Rebsorte und den früheren Lesezeitpunkt zurückgeführt werden kann. Bei Müller-Thurgau handelt es sich um eine frühe Rebsorte, sodass hier die *Botrytis*-Infektion trotz einer Befallsstärke von 11 % möglicherweise noch nicht so weit fortgeschritten war („junge *Botrytis*“) wie bei den Versuchen V5-Rsl und V7-GrB mit späteren Lesezeitpunkten und fortgeschrittenen *Botrytis*-Infektionen mit Befallsstärken von 19 % bzw. 6 % sowie weiteren Mikroorganismenaktivitäten (Befall mit Essigsäurebakterien).

Die ermittelten Gehalte wichen deutlich von den Ergebnissen in der Literatur ab. Dittrich et al. (1974) konnten keine Unterschiede im Acetaldehydgehalt zwischen gesundem und faulem Lesegut feststellen. Zudem lagen alle ermittelten Gehalte unter 3 mg/L. Sie schließen jedoch nicht aus, dass die Acetaldehydbildung in den Beeren und folglich auch im Most höher war, dass es jedoch durch den niedrigen Siedepunkt des Acetaldehydhaltes (20,4 °C; Sicherheitsdatenblatt Merck Millipore) und bei der Aufbereitung der Beeren zu einem Substanzverlust kam. Die Abweichungen zu den eigenen Beobachtungen könnten sich somit aus unterschiedlichen Klimabedingungen und auch Verarbeitungsprozessen ableiten lassen.

5.10.1.2 Brenztraubensäure in den Gärgutproben

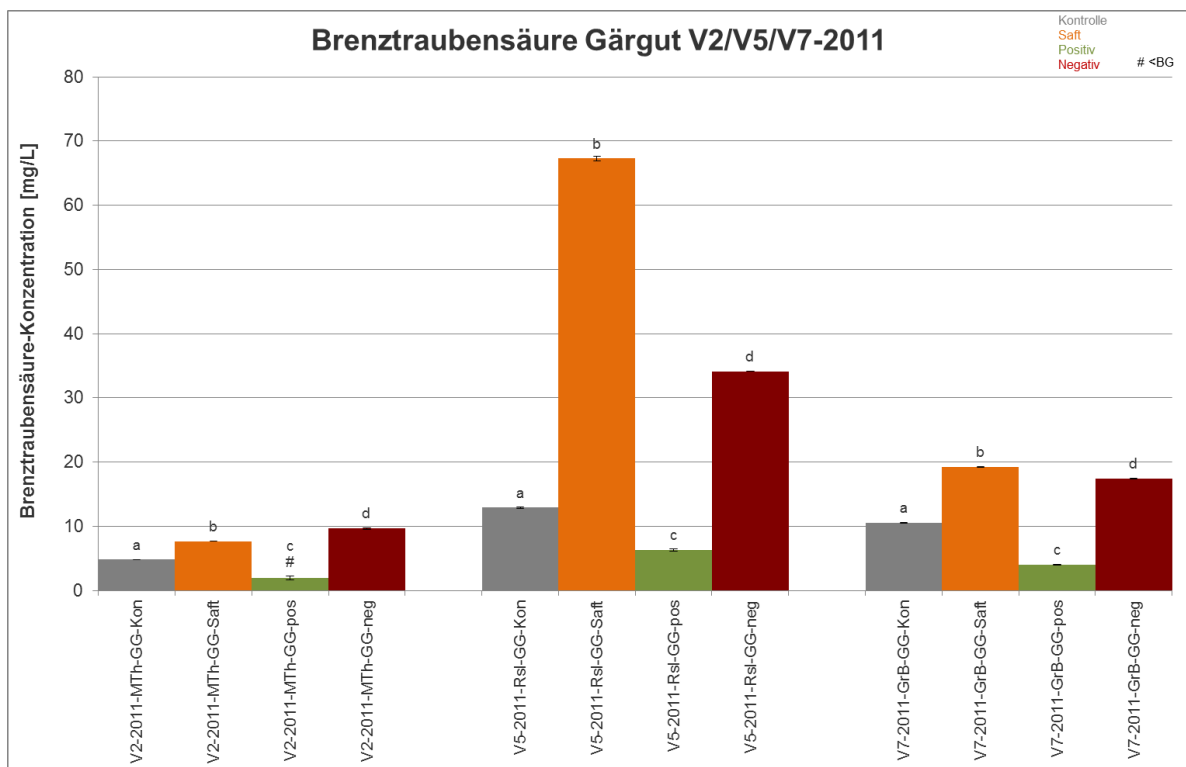


Abbildung 126: Brenztraubensäuregehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3; p=0,05)

Die Brenztraubensäuregehalte im Gärgut zeigten je nach Versuch deutlich unterschiedliche Konzentrationsbereiche auf (Abbildung 126). Bei den Versuchen V2-MTh und V7-GrB schwankten die Gehalte in relativ engen Grenzen zwischen 2,0-9,7 mg/L bzw. 4,0-19,2 mg/L. Demgegenüber steht Versuch V5-Rsl mit Konzentrationen zwischen 6,3-67,3 mg/L. Bei allen drei Versuchen lagen die Brenztraubensäuregehalte der Negativfraktionen um 77-81 % höher verglichen mit den Positivfraktionen. Diese Ergebnisse wichen von den Literaturdaten von Dittrich et al. (1974) deutlich ab, die nur durchschnittlich 50 % höhere Brenztraubensäuregehalte in Mosten aus faulem Lesegut im Vergleich zu Mosten aus gesundem Lesegut ermittelten. Dies könnte auf unterschiedliche Mikroorganismenaktivitäten auf den untersuchten Trauben infolge unterschiedlicher klimatischer Bedingungen zurückgeführt werden. Bereits im Gärgutstadium konnten somit durch Aussortieren der faulen Beeren zwischen 51-62 % geringere Brenztraubensäuregehalte in den Positivfraktionen im Vergleich zu den Kontrollen erzielt werden.

5.10.1.3 2-Ketoglutarensäure in den Gärgutproben

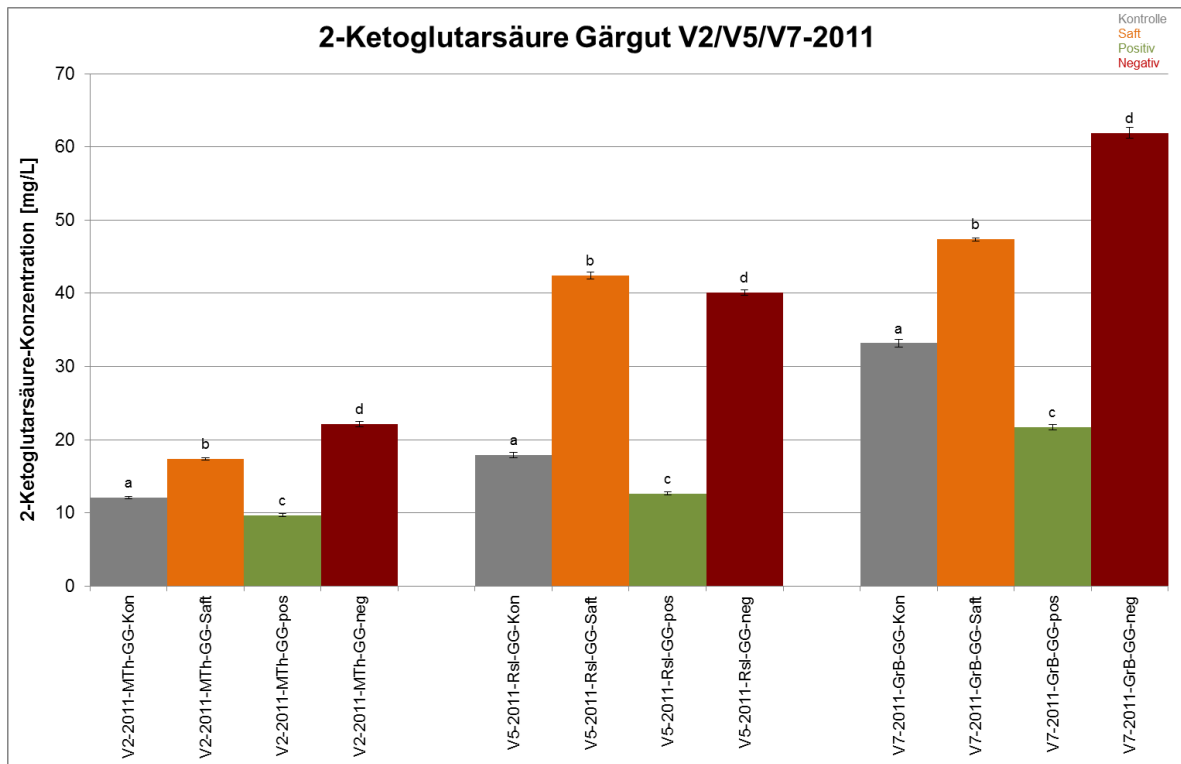


Abbildung 127: 2-Ketoglutar Säuregehalte in den Gärgutproben der Versuche V2, V5 und V7 des Jahrgangs 2011 (n=3; P=0,05)

In den Gärgutproben des Jahrgangs 2011 konnten 2-Ketoglutar Säuregehalte in einem großen Schwankungsbereich von 9,7-61,9 mg/L bestimmt werden, was in Abbildung 127 dargestellt ist. Bei allen drei Rebsorten konnten gleiche Tendenzen bezüglich der Gehalte in den Sortierfraktionen beobachtet werden.

In den Negativfraktionen konnten hier bei allen Versuchen zwischen 46-68 % höhere Konzentrationen im Vergleich zur entsprechenden Positivfraktion bestimmt werden. Der hohe Konzentrationsbereich der Negativfraktionen mit 22,1-61,9 mg/L korrelierte annähernd mit dem in der Literatur beschriebenen Schwankungsbereich von 6,1-46,0 mg/L, den Dittrich et al. (1974) in Mosten aus faulen Beeren bestimmten. Verglichen damit enthielten die gesunden Moste in deren Studie durchschnittlich nur die Hälfte dieser Gehalte, was auch die eigenen Ergebnisse zeigten. Durch Selektion der faulen Beeren konnten die Ketoglutar Säuregehalte um 20-35 % in den Positivfraktionen im Vergleich zu den Kontrollen reduziert werden. Die Unterschiede in den Konzentrationsbereichen der drei Versuche könnten auf die unterschiedlichen Fäulnisintensitäten infolge der zunehmend späteren Lesezeitpunkte zurückgeführt werden. Bei den Versuchen V5-Rsl und V7-GrB konnte diesbezüglich ein Sekundärbefall durch Essigsäurebakterien auf den Trauben beobachtet werden.

Fazit

Die Ergebnisse der Schwefelbindungspartner in den Gärgutproben zeigten deutlich, dass bereits in faulen Beeren erhöhte Gehalte im Vergleich zu gesunden Beeren vorlagen, was auf die Aktivität von Mikroorganismen auf faulen Beeren hinwies. Bei einer *Botrytis*-Infektion kommt es zur verstärkten Vermehrung von Mikroorganismen wie Hefen und Bakterien. Diese Hefen beginnen, den aus den beschädigten Zellen austretenden Most zu vergären, wobei die untersuchten Schwefelbindungspartner gebildet werden (Würdig, Woller, 1989).

Bei Durchführung einer Mostschwefelung zur Unterdrückung einer unerwünschten Mikroorganismenaktivität tragen bereits vorhandene Schwefelbindungspartner zu höheren Gehalten an gebundenem SO₂ im resultierenden Wein bei. Durch Aussortieren des schadhaften/faulen Lesegutes und Verwendung nur gesunder Beeren zur Vinifikation kann die Zugabe an SO₂ aufgrund geringerer Gehalte aller drei untersuchten Schwefelbindungspartner deutlich reduziert werden. Dadurch ist eine Qualitätssicherung möglich, da die gesetzlich festgelegten Höchstmengen nicht so schnell erreicht werden und die Vermarktbarkeit der resultierenden Weine gesichert werden kann.

5.10.2 Gehalte im Wein

Zur Betrachtung der Schwefelbindungspartner im Weinstadium wurden die Gehalte der Weißweine des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung herangezogen. Aufgrund der unterschiedlichen Vinifikation von Weiß- und Rotwein (siehe Kapitel 8.2.2) konnten die Ergebnisse hinsichtlich der Schwefelbindungspartner nicht verglichen werden, weshalb von der Darstellung des Rotweins abgesehen wurde.

Es wurde ein doppelter Versuchsausbau der Fraktionen vorgenommen (siehe Kapitel 8.2.2). Dargestellt sind die Mittelwerte aus beiden Ausbauten, die je dreifach bestimmt wurden, woraus sich die dargestellten Mittelwerte aus 6 Messwerten ergeben. Die teilweise höheren Standardabweichungen können durch unterschiedliche Gärverläufe der beiden Ausbauten erklärt werden (siehe Daten-CD), wodurch Unterschiede in der Bildung der Schwefelbindungspartner möglich sind.

Die Gehalte der Schwefelbindungspartner in den Weinproben des Jahrgangs 2010 wurden nicht diskutiert, da hier noch keine standardisierte Probenahme vor Schwefelung durchgeführt wurde. Die Proben des Jahrgangs 2011 wurden standardisiert sieben Tage nach vollendeter Gärung gezogen.

5.10.2.1 Acetaldehyd in den Weinproben

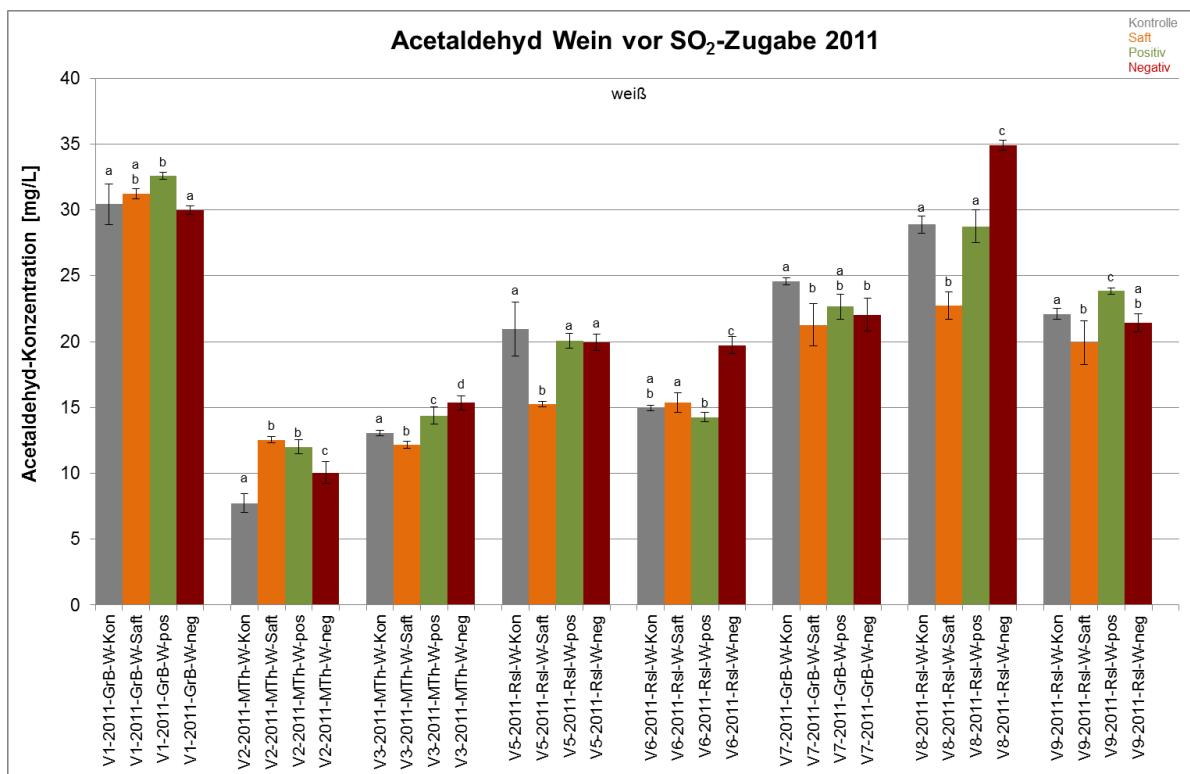


Abbildung 128: Acetaldehydgehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05)

Die Acetaldehydgehalte in den Weinproben schwankten insgesamt zwischen 7,7-34,9 mg/L, wie in Abbildung 128 dargestellt. Der ermittelte Schwankungsbereich des Acetaldehyds aller Versuche stimmte mit den Ergebnissen von Dittrich et al. (1974) überein. Sie bestimmten Acetaldehydgehalte von 4,8-27,6 mg/L in Weinen aus gesundem und faulem Lesegut. Tendenziell unterschieden sich die Gehalte der einzelnen Fraktionen innerhalb eines Versuches oft nicht signifikant (95 %) voneinander. Die maximale Schwankungsbreite innerhalb eines Versuches bei den Weißweinen betrug 12,2 mg/L zwischen der Negativfraktion und dem Saftvorlauf bei Versuch V8-Rsl. Höhere Mengen an Acetaldehyd führen zu einem erhöhten Bedarf an schwefliger Säure (Jakob et al., 1997); im vorliegenden Fall könnten bis zu 50,6 mg/L SO₂ durch Acetaldehyd abgebunden werden (1 mg Acetaldehyd bindet 1,45 mg SO₂).

Die Ergebnisse der Sortierversuche zeigten, dass die ermittelten Acetaldehydgehalte weit unter den durchschnittlichen Gehalten der Weißweine der Literatur lagen. Der Gehalt an Acetaldehyd im Weißwein kann zwischen 11-493 mg/L mit durchschnittlich 83 mg/L und im Rotwein zwischen 4-212 mg/L mit durchschnittlich 32 mg/L liegen (McCloskey, Mahaney, 1981; Liu, Pilone, 2000). Da die Bildung des Acetaldehyds vom Hefestamm, den Gärungsbedingungen und der Zusammensetzung des Mostes abhängig ist (Dittrich, Barth, 1984; Barbe et al., 2000; Dittrich, Großmann, 2005) und Acetaldehyd auch

während der Gärung mit dem entstehenden CO₂ ausgetragen werden kann (Michel, Raddatz, 2013), könnten mit diesen Einflussfaktoren die Unterschiede zu den genannten Literaturgehalten erklärt werden.

Der Einfluss des Fäulnisbefalls mit Intensitäten zwischen 5-24 % bei den Versuchen des Jahres 2011 schlug sich kaum auf den Gehalt an Acetaldehyd nieder. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen von Dittrich et al. (1974), die herausfanden, dass während der Gärung von faulen Mosten im Durchschnitt 58 % mehr Acetaldehyd im Vergleich zu gesundem Most gebildet werden. In einzelnen Fällen waren in deren Studie aber ebenfalls keine Abweichungen des Acetaldehydgehaltes in Weinen aus gesunden und faulen Beeren zu erkennen.

5.10.2.2 Brenztraubensäure in den Weinproben

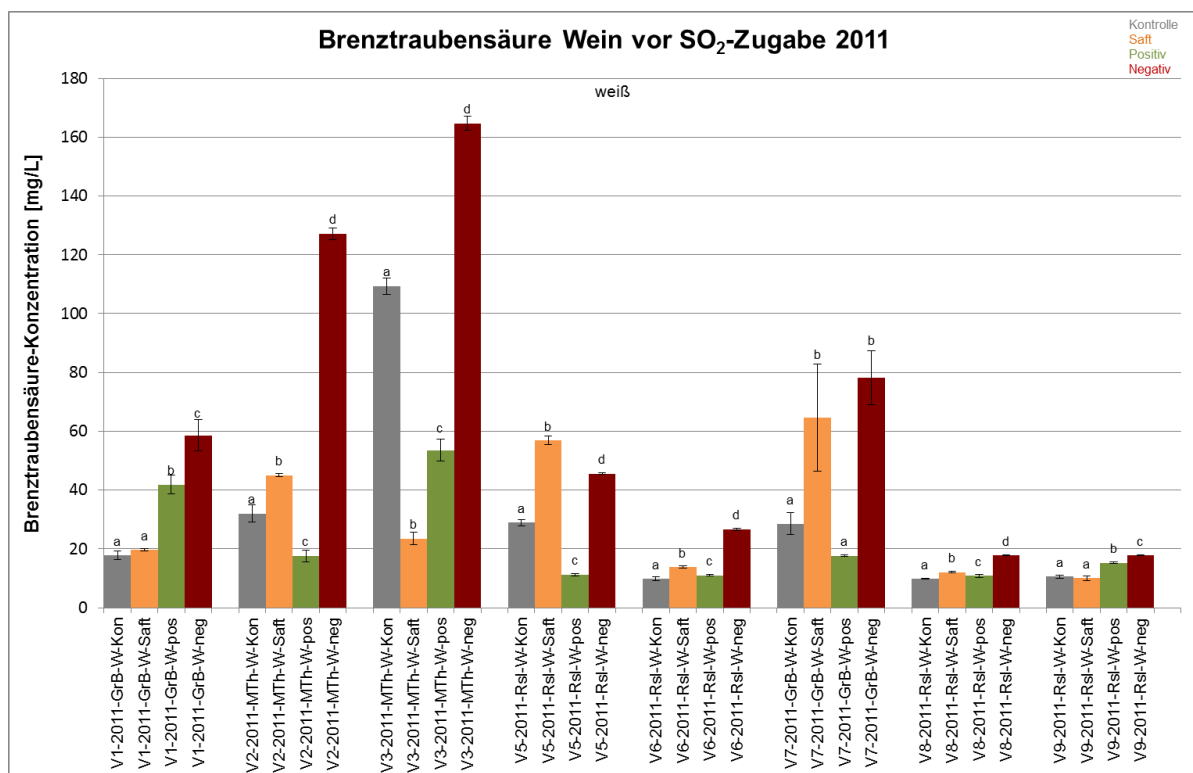


Abbildung 129: Brenztraubensäuregehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05)

In den Weißweinen konnten Brenztraubensäuregehalte zwischen 10-165 mg/L mit oft deutlich signifikanten (95 %) Unterschieden zwischen den einzelnen Sortierfraktionen eines Versuches bestimmt werden (Abbildung 129). Brenztraubensäure ist in deutschen Weinen im Bereich von 0-290 mg/L gefunden worden (Jakob et al., 1997; Dittrich, Großmann, 2005). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen lagen damit durchschnittlich in der unteren Hälfte der in der Literatur berichteten Schwankungsbreite,

was bspw. mit unterschiedlichen Vinifikationstechniken (verwendete Hefe, Gärungsbedingungen, verfügbarer Thiamingehalt) erklärt werden kann (Barbe et al., 2000; Dittrich, Großmann, 2005).

Die höchsten Gehalte lagen oft in der Negativfraktion und im Saftvorlauf vor. Anhand dieser Ergebnisse konnte der Einfluss einer Fäulnisbelastung auf die Brenztraubensäuregehalte in den vorliegenden Versuchen deutlich festgestellt werden. Die durchschnittlich rund 3-fach höheren Brenztraubensäuregehalte in den Negativfraktionen im Vergleich zu den Positivfraktionen deckten sich mit den Ergebnissen von Dittrich et al. (1974), die ebenfalls 3,5-fach höhere Pyruvatgehalte in Weinen aus faulem verglichen mit gesundem Lesegut beobachteten. Dies kann auf einen Thiaminmangel während der alkoholischen Gärung zurückgeführt werden. *Botrytis* verbraucht Thiamin als Nährstoff, so dass es nicht mehr als Coenzym der Pyruvatdecarboxylase zur Verfügung steht. Infolge der nicht stattfindenden Decarboxylierung des Pyruvats zu Acetaldehyd kommt es zur Anreicherung des Pyruvates (Dittrich et al., 1974; Jakob et al., 1997). Dies ist bei den vorliegenden Versuchen anzunehmen, da kein Thiamin zugesetzt wurde. Bei den Fraktionen der Versuche V6-Rsl, V8-GrB und V9-Rsl konnten deutlich geringere Schwankungsbreiten der Brenztraubensäuregehalte sowie insgesamt die geringsten Gehalte im Vergleich zu den anderen Versuchen festgestellt werden, was ebenso bspw. auf unterschiedliche Nährstoffgehalte zurückgeführt werden könnte.

5.10.2.3 2-Ketoglutar Säure in den Weinproben

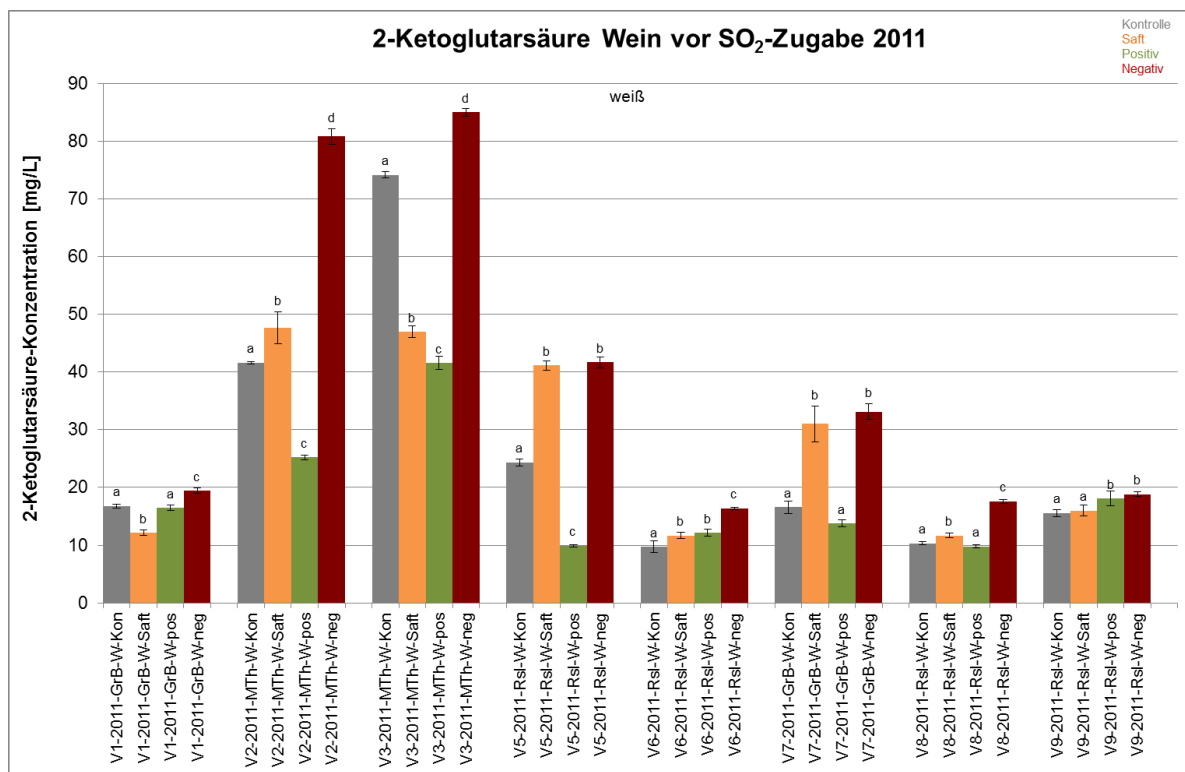


Abbildung 130: 2-Ketoglutar Säuregehalte in den Weißweinproben des Jahrgangs 2011 vor Schwefelung (n=6; p=0,05)

Abbildung 130 zeigt, dass die 2-Ketoglutar Säuregehalte aller Weißweinproben zwischen 10-119 mg/L schwankten. Verglichen mit den Acetaldehydgehalten wiesen die 2-Ketoglutar Säuregehalte einen deutlich größeren Schwankungsbereich auf.

Bei den Versuchen V1-Grb, V6-Rsl, V8-Rsl und V9-Rsl unterschieden sich die Gehalte der einzelnen Fraktionen kaum voneinander. Bei den Versuchen V2-MTh, V3-MTh, V5-Rsl und V7-GrB zeigten die Negativfraktionen die höchsten 2-Ketoglutar Säuregehalte auf. Die durchschnittlich 3-fach höheren Konzentrationen in den Negativfraktionen dieser Versuche verglichen mit den Positivfraktionen korrelierten mit den Beobachtungen aus der Literatur. Dittrich et al. (1974) beobachteten eine rund 2,5-fache Erhöhung des 2-Ketoglutar Säuregehaltes während der Vergärung von faulem Most im Vergleich zu gesundem Most von durchschnittlich 50 mg/L in gesundem auf 119 mg/L in faulem Lesegut. 2-Ketoglutar Säure wird in Mosten aus *Botrytis*-befallenen Beeren vermehrt gebildet (Dittrich, Barth, 1984; Dittrich, Großmann, 2005), wofür auch hier der *Botrytis*-bedingte Thiaminmangel als Hauptursache verantwortlich gemacht wird (Dittrich et al., 1974, Jakob et al., 1997). Infolgedessen kann 2-Ketoglutar Säure ebenso wie Brenztraubensäure nicht weiter verstoffwechselt werden, wodurch es zu dessen Anreicherung kommt.

5.10.3 Gebundenes SO₂ in den Weinproben

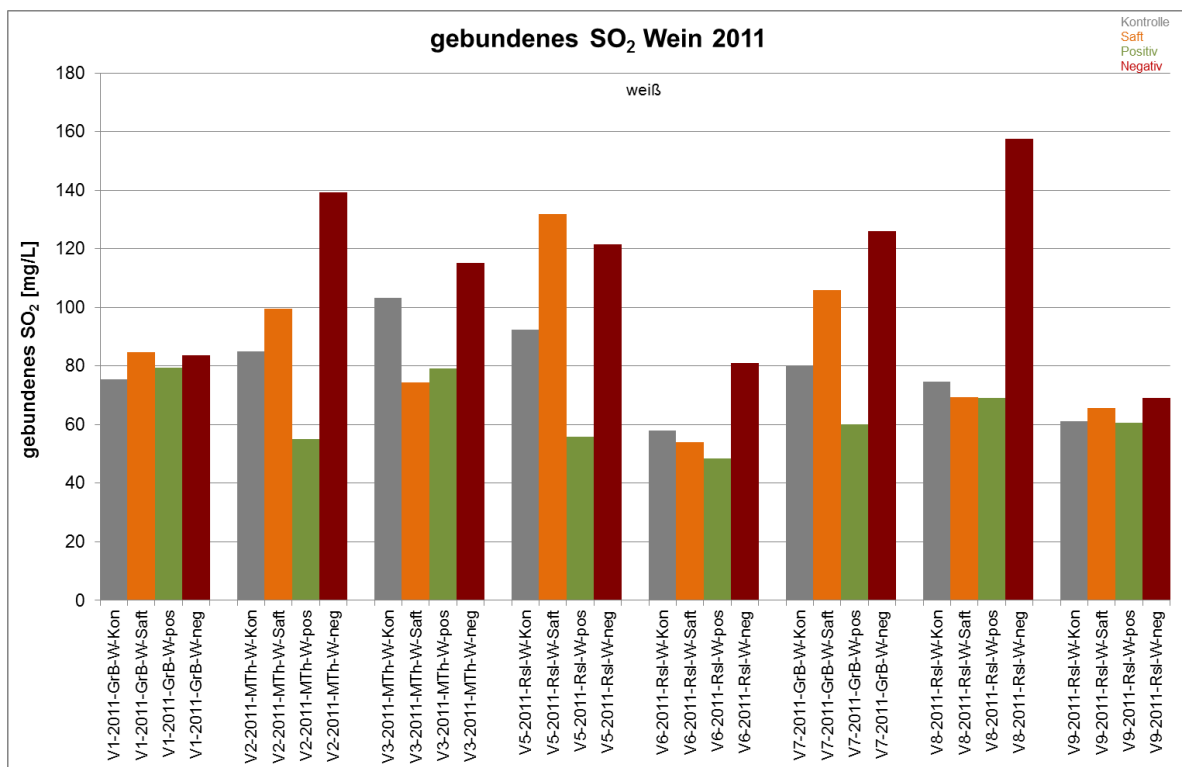


Abbildung 131: Gehalte an gebundenem SO₂ in den Weißweinen des Jahrgangs 2011 (n=1)

Die gebundenen SO₂-Gehalte waren mit Ausnahme der Versuche V1-GrB und V5-Rsl in den Negativfraktionen mit Gehalten zwischen 69-158 mg/L (durchschnittlich 112 mg/L) am höchsten. Demgegenüber lagen deutlich geringere Gehalte in den Positivfraktionen mit durchschnittlich 63 mg/L vor (Abbildung 131). Diese Befunde korrelierten mit den Untersuchungen von Dittrich et al. (1974). Sie ermittelten eine durchschnittliche SO₂-Bindung von 77 mg/L in gesunden Mosten und von 116 mg/L in faulen Mosten. Bei ungünstigem Witterungsverlauf verursachen *Botrytis cinerea* und Essigsäurebakterien bereits im Weinberg einen erhöhten Gehalt an SO₂-bindenden Substanzen in den Trauben (Dittrich, Großmann, 2005). Dies bestätigten die Gehalte der Schwefelbindungspartner in den Gärgutproben (siehe Kapitel 5.10.1). Das höhere Ketosäureaufkommen verursacht einen höheren SO₂-Bedarf der Jungweine aus edelfaulen Lesegut (Dittrich, Großmann, 2005). Die SO₂-Bindung der Weine aus *Botrytis*-infiziertem Traubenmaterial ist bis zu 2,5-mal höher als die der Weine aus gesunden Trauben (Dittrich et al., 1974), was auch die eigenen Befunde zeigten. Auch die Saftvorläufe der Versuche V1-GrB, V2-MTh, V5-Rsl, V7-GrB und V9-Rsl enthielten hohe Konzentrationen an gebundenem SO₂ und schwankten über alle Versuche betrachtet zwischen 54-132 mg/L. Die Herkunft des Saftvorlaufs aus überwiegend fäulnisbelasteten Beeren lässt sich demnach auch hier erkennen.

Acetaldehyd, Brenztraubensäure und 2-Ketoglutarensäure stellen die wichtigsten SO₂-Bindungspartner im Wein dar (Jakob et al., 1997; Liu, Pilone, 2000). Bei Betrachtung der eigenen Ergebnisse konnte ein Trend zwischen den Gehalten an gebundenem SO₂ und den ermittelten Gehalten der einzelnen Schwefelbindungspartner unter Berücksichtigung der jeweiligen Bindungsstärke beobachtet werden.

Fazit

Anhand der Gehalte an gebundenem SO₂ sowie der Gehalte an Brenztraubensäure und 2-Ketoglutarensäure kann gefolgert werden, dass eine Reduktion von fäulnisbelasteten Trauben durch die Sortierung zu einer verringerten Dosierung an SO₂ im Wein beitragen kann. Ein geringerer SO₂-Gehalt der Weine erfüllt nicht nur die gesetzlichen Vorgaben, sondern wirkt sich auch auf eine gesteigerte Verbraucherakzeptanz (sensorische Verbesserung) aus.

5.11 Geosmin

Aspekte der Qualitätssicherung und -steigerung

Traubenfäulnis, die durch *Botrytis cinerea*, *Penicillium* und *Aspergillus* verursacht ist, führt oft zu pilzigen, muffigen oder erdigen Fehlparfums in Trauben und daraus hergestellten Weinen (La Guerche et al., 2006; Jackson, 2008). Zu diesen Fehlparfums zählt u. a. Geosmin (Siegmund, Pöllinger-Zierler, 2006). Daher sollte untersucht werden, ob durch Aussortieren fäulnisbefallener Beeren möglicherweise vorkommendes Geosmin reduziert werden kann und die Sortierung damit eine qualitätssichernde bzw. -steigernde Maßnahme darstellt.

Analytik

Die Bestimmung der Gehalte an (±)-Geosmin erfolgte mittels SPME-GC-MS/MS (siehe Kapitel 8.2.15; Durchführung der Analysen: CRP Gabriel Lippmann, Belvaux, Luxemburg)

Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 21: Geosmingehalte in Proben des Jahrgangs 2011

Probe	Geosmingehalt im Gärgut [ng/L]	Geosmingehalt im Wein [ng/L]
V4-2011-SpB-neg	-	11,6
V5-2011-Rsl-Saft	6,5	-
V5-2011-Rsl-neg	14,6	8,5
V6-2011-Rsl-neg	8,8	7,6

Die Gehalte an (\pm)-Geosmin in den Gärgut- und Weinproben des Jahrgangs 2010 lagen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 5,5 ng/L. In Tabelle 21 sind die Proben des Jahrgangs 2011 aufgelistet, in denen Geosmin bestimmt werden konnte. Wie daraus ersichtlich, konnte nur in wenigen Versuchsfraktionen Geosmin nachgewiesen werden. Hauptsächlich in den Negativfraktionen der 2011er Versuche V4, V5 und V6 kam Geosmin sowohl im Gärgut als auch im Wein in Gehalten zwischen 6,5-14,6 ng/L vor. Bei V5-2011-Rsl-neg wurde der höchste Geosmingehalt detektiert; hier konnte auch in der Saftfraktion Geosmin nachgewiesen werden. Dies zeigte wieder, dass der Saftvorlauf hauptsächlich aus den fäulnisbefallenen Beeren stammte. In der Literatur wurden Gehalte in einem deutlich größeren Konzentrationsbereich zwischen 4-300 ng/L Geosmin in verschiedenen Mosten und Weinen weißer und roter Rebsorten bestimmt (Darriet et al., 2000). Dieser Unterschied könnte auf verschiedene Mikroorganismen auf den untersuchten Trauben, wie Bakterien (*Streptomyces sp.*) oder Pilze (*Penicillium sp.*), zurückgeführt werden, die Geosmin produzieren können. Auf Trauben ist für die Geosmin-Bildung sowohl das Zusammenwirken bestimmter *Botrytis cinerea* Stämme (bot+) mit *Penicillium expansum* notwendig, als auch deren Entwicklungszeit (La Guerche et al., 2005 & 2007). Dementsprechend könnten die unterschiedlichen Konzentrationsbereiche der eigenen und der Literatur-Ergebnisse mit unterschiedlichen Arten und Intensitäten des Mikroorganismenbefalls sowie deren unterschiedlichen Entwicklungsstadien zum Zeitpunkt der Traubenlese begründet werden. Da nur wenige Versuchsfraktionen Geosmin aufzeigten, obwohl als Primärinfektion bei allen Versuchen ein *Botrytis*-Befall vorlag, könnten „ungeeignete“ *Botrytis*-Stämme (bot-) bzw. die Abwesenheit von *P. expansum* als Erklärung hierfür herangezogen werden.

Nach der Gärung konnte bei V4 eine Zunahme des Geosmingehaltes detektiert werden, wohingegen bei den Versuchsfraktionen V5 und V6 eine Abnahme von 14-100 % beobachtet wurde. Dies steht im Gegensatz zur Aussage von La Guerche et al. (2006), deren Geosmingehalte sich in Übereinstimmung mit vorherigen Studien relativ stabil während der alkoholischen Gärung und Lagerung verhielten. Unterschiedliche Bedingungen während der Vinifikation könnten hierfür verantwortlich sein.

Fazit

Nur in wenigen Gärgut- bzw. Weinproben konnte Geosmin in geringen Gehalten in den Fraktionen aus faulem Lesegut bestimmt werden. Im Hinblick auf die sensorischen Ergebnisse könnten diese geringen Gehalte aber wegen der geringen Geruchsschwellenwerte zu den dumpf/muffigen Eindrücken bei diesen Weinen beigetragen haben (siehe Kapitel 5.12).

5.12 Sensorik

Die Ergebnisse der sensorischen Analysen der einzelnen Versuchsfraktionen des Jahrgangs 2011 sollten die Auswirkung der Fraktionierung von Beeren auf die resultierenden Weine verdeutlichen. Dies wurde von geschulten Prüfern mittels diskriminativer und deskriptiver Sensorik untersucht (siehe Kapitel 8.2.16). Die Weine des Jahrgangs 2010 konnten sensorisch nicht bewertet werden, da die stark unterschiedlichen Mostgewichte der Fraktionen innerhalb eines Versuches eine Anpassung der Zuckergehalte im Moststadium und die daraus resultierenden stark unterschiedlichen Alkoholgehalte in den Weinen eine sensorische Vergleichbarkeit nicht ermöglichten. Die zum Teil sehr hohen Mostgewichte in den Negativfraktionen führten zudem zu Schwierigkeiten bei der Endvergärung, sodass mitunter restsüße Weine erhalten wurden.

5.12.1 Allgemeine Auswertung der sensorischen Ergebnisse aller Versuche des Jahrgangs 2011

Die Tendenz aller sensorischen Auswertungen war ähnlich (siehe Anhang A.1.5). In Abhängigkeit der Fäulnisart und -entwicklung sowie der Befallsstärke waren die Differenzen der Intensitätsbewertungen der Attribute größer oder kleiner. Es zeigte sich jedoch immer, dass die Weine der positiv sortierten Fraktion mit den gesunden Trauben zu einem klar-sauberem Geruch sowie fruchtig-sauberem Geschmack führten. Wie in Kapitel 4.4.3 beschrieben, entwickelte sich der *Botrytis*-Pilz im Jahr 2011 eher zur „negativen“ Graufäule. Die durch Bonitur bestimmte Befallsstärke konnte nur bedingt mit der sensorischen Wahrnehmung von dumpf/muffig bzw. erdig/muffig in den Fraktionen Kontrolle, Saftvorlauf und Negativ korreliert werden. Entscheidender scheinen die Art und Entwicklung der aufgetretenen Fäulnis, u. a. auch von *Botrytis*, zu sein, die diese Geruchs- und Geschmacksattribute („Off-flavour“-Verbindungen wie bspw. Geosmin) verursacht haben (Ribéreau-Gayon et al., 2006a & 2006b; Hong et al., 2011; Jakob, 2012). Andererseits kann *Botrytis* auch fruchtige Wahrnehmungen, wie Aprikose oder reife Beerenfrüchte, ausprägen (Jackson, 2009). Dies zeigte sich vor allem in der intensiven Bewertung der sauber-fruchtigen Geruchs- und Geschmacksattribute einiger Kontrollfraktionen.

Das Geschmacksattribut Körper/Dichte/Komplexität wurde bei den Weinen mit Anteilen fauler Trauben als ausgeprägter empfunden. Dies ist u. a. auf die Produktion von Glycerin durch *Botrytis* zurückzuführen, was zu einer Steigerung des Mundgefühls („Körpers“) beiträgt, indem es die Weine schwer und viskos erscheinen lässt (Jackson, 2008; Darting, 2012).

Flüchtige Säure/Ethylacetat wurden ebenfalls in Abhängigkeit der Fäulnisart auf den Trauben im resultierenden Wein deutlich von den Prüfern erkannt und in ihrer Intensität bewertet. Dies war im Jahrgang 2011 auf Essigsäurebakterien bei den Versuchen V5 und V7 zurückzuführen, die für diese Geruchseindrücke verantwortlich sind (Dittrich, Großmann, 2005; Jackson, 2009; Barata et al., 2011a). Die Ergebnisse der sensorischen Wahrnehmung korrelierten in diesem Fall auch mit den analytischen Ergebnissen der flüchtigen Säure (siehe Kapitel 5.8.4).

Das Attribut Geruchsintensität spiegelte nicht nur die positive Aromaintensität, sondern auch die negativen Ausprägungen wider. Auch hierbei war klar ersichtlich, dass negative Aromakomponenten von faulen Trauben deutlich stärker in den entsprechenden Fraktionen wahrgenommen wurden. Dies kann mit den geringen Geruchsschwellenwerten dieser Verbindungen erklärt werden (siehe Kapitel 4.6.9.2).

Die Ergebnisse der Rangfolge bestätigten die Ergebnisse der deskriptiven Bewertung der Weine. Bei der Rangordnungsprüfung mit der Frage nach der „Reintönigkeit“ der Weine wurde die Positivfraktion tendenziell als Beste bewertet. Eine signifikante Abweichung dieser Fraktion zur Kontrolle korrelierte mit der Fäulnisintensität der Kontrolle. Lag in der Kontrollfraktion nur ein geringer Anteil an faulen Trauben sowie „nur“ *Botrytis*-Fäule vor, reduzierten sich die Differenzen in der Rangfolge zwischen Kontrolle und Positivfraktion.

Bei der Rangordnungsprüfung des „Gesamteindruckes“ handelte es sich eher um eine Weinstilfrage, wodurch sich die Bewertung der Prüfer vom objektiven zum subjektiven veränderte. Hierbei wurde der Zuwachs an Körper/Dichte/Komplexität durch *Botrytis* durchaus als positiv bewertet, wodurch sich bei allen Versuchen nur geringe Unterschiede zwischen der Kontrolle und der Positivfraktion ergaben.

5.12.2 Detaillierte Auswertung der sensorischen Ergebnisse der Sortierversuche V4-2011-SpB und V5-2011-Rsl

Zur Verdeutlichung der Effizienz der vollautomatisch-optischen Traubensortierung zur Qualitätssicherung/-steigerung der Weine werden im Folgenden die Ergebnisse der Versuche V4-2011-SpB und V5-2011-Rsl detailliert dargestellt. Die signifikanten Unterschiede (Fisher LSD) der Sortierfraktionen hinsichtlich der einzelnen Attribute finden sich in den zugehörigen Tabellen.

5.12.2.1 Sensorische Ergebnisse des Sortierversuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel)

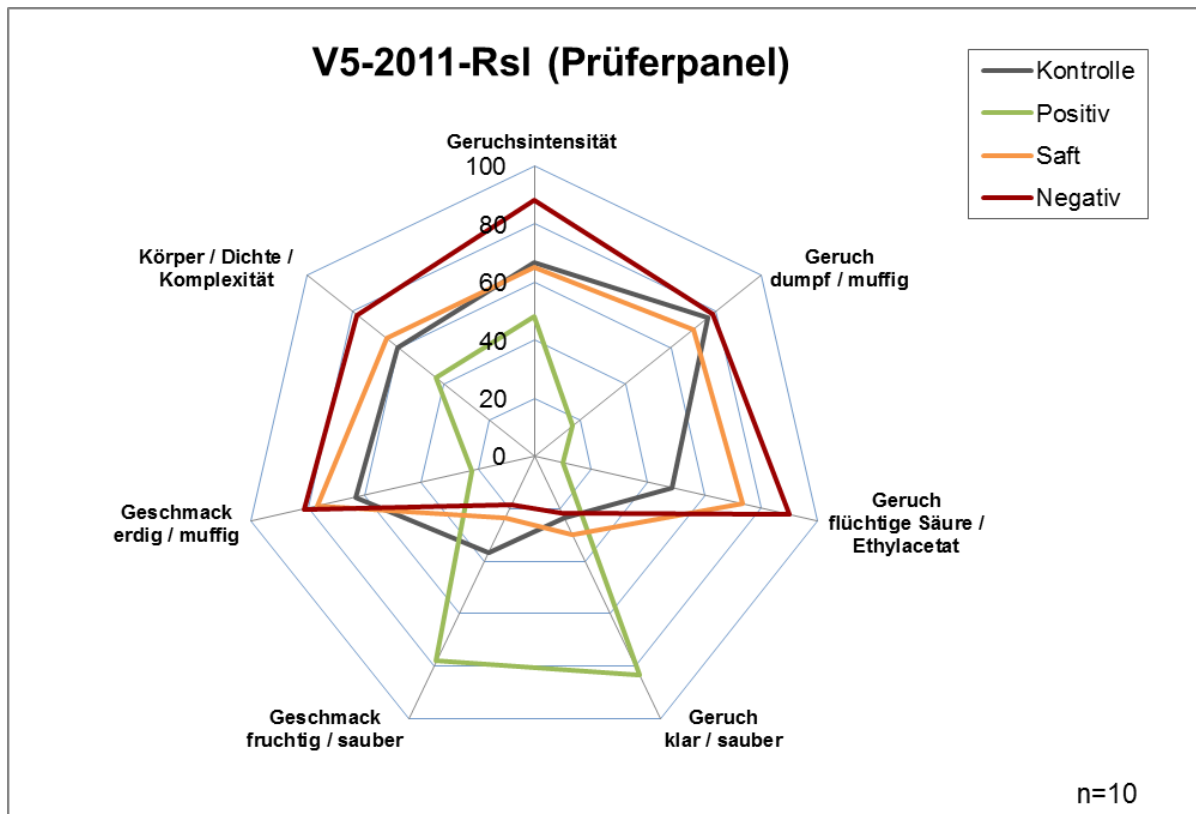


Abbildung 132: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)

Tabelle 22: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10; Fisher-LSD-Signifikanzniveau: A' < 99,9% ; A < 99% ; a < 95% ; a' < 90%)

	Kontrolle (K)	Saft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Geruchsintensität	66,59 p'	65,01 p'	48,3	88,12 k-P'-s
Geruch dumpf / muffig	76,5 P'	70,05 P'	16,91	78,45 P'
Geruch flüchtige Säure / Ethylacetat	48,57 P'	73,28 K-P'	10,17	89,96 K'-P'-s'
Geruch klar / sauber	23,55	29,99	83,23 K'-S'-N'	21,61
Geschmack fruchtig / sauber	36,71 n'	23,5	78,11 K'-S'-N'	18,39
Geschmack erdig / muffig	63,28 P'	76,64 P'	21,96	81,57 k'-P'
Körper / Dichte / Komplexität	60,15 p'	65 p	43,5	78,17 k'-P

Tabelle 23: Ergebnisse der Dreiecksprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)

Fractionen V5-2011-Rsl	Anzahl der Prüfer	richtige Antworten	falsche Antworten	Signifikanzniveau [%]
Kontrolle zu Positiv	10	7	3	95
Kontrolle zu Negativ	10	10	-	99,9
Positiv zu Negativ	10	10	-	99,9

Die Kontrolle des Rieslings des Versuches V5 wies 18,8 % Fäulnis auf. Neben *Botrytis* konnte auch Essigfäule im Lesegut erkannt werden, was die analytischen Ergebnisse aus Kapitel 5.8.4.2 bestätigten. Der Einfluss der Fäulniskombination aus *Botrytis* und Essigfäule auf die Sensorik der Weine wurde vom Prüferpanel deutlich wahrgenommen (Abbildung 132; Tabelle 22). Die Kontrolle wurde als geruchsintensiv nach den Attributen dumpf/muffig sowie flüchtige Säure/Ethylacetat beschrieben; geschmacklich wurde die Kontrolle ebenso als erdig/muffig bewertet. Der Wein aus den faulen Trauben wurde hinsichtlich aller negativen Attribute am schlechtesten bewertet. Dies verdeutlicht, dass die nachteiligen Geruchs- und Geschmacksattribute als Folge der negativen Stoffwechselprodukte der Fäulnis anzusehen sind. Auch in der Literatur sind diese Attribute als Weinefehler beschrieben, die von verschiedenen Schimmelpilzen bzw. Essigsäurebakterien auf den Trauben gebildet werden (Barata et al., 2011a; Jakob, 2012). Die Ergebnisse der Dreiecksprüfung bestätigten die Befunde der Intensitätsprüfung, da eindeutige Unterschiede (99,9 %) beim Vergleich der Negativfraktion zur Kontrolle bzw. zur Positivfraktion und auch beim Vergleich der Kontrolle zur Positivfraktion (95 %) erkannt wurden (Tabelle 23).

Der Wein der Positivfraktion wurde demgegenüber als deutlich klar/sauber im Geruch sowie fruchtig/sauber im Geschmack beschrieben. Die negativen Geruchs- und Geschmacksattribute konnten in dieser Fraktion durch Aussortieren der faulen Beeren signifikant reduziert werden, wodurch der Wein qualitativ verbessert wurde. Da die negativen Geruchsattribute in den Fraktionen Kontrolle, Saftvorlauf und Negativ sehr dominant waren, wurden diese von den Prüfern auch als geruchsintensiver wahrgenommen. Dies lässt sich mit den geringen Geruchsschwellenwerten der negativen

Verbindungen, wie bspw. 1-Octenol erklären (siehe Kapitel 4.6.9.2). Im Vergleich dazu sind die Geruchsschwellenwerte für fruchtige Ester- und Terpenverbindungen oft höher (Jackson, 2009), womit sich die geringer bewertete Geruchsintensität der Positivfraktion begründen lässt.

Die komplexitätsfördernden Stoffwechselprodukte von *Botrytis* (siehe Kapitel 5.12.1) wurden von den Prüfern beim Geschmacksattribut Körper/Dichte/Komplexität intensiv wahrgenommen. Der Wein der Positivfraktion ohne *Botrytis*-Einflüsse wurde bei diesem Attribut folglich am Schwächsten bewertet.

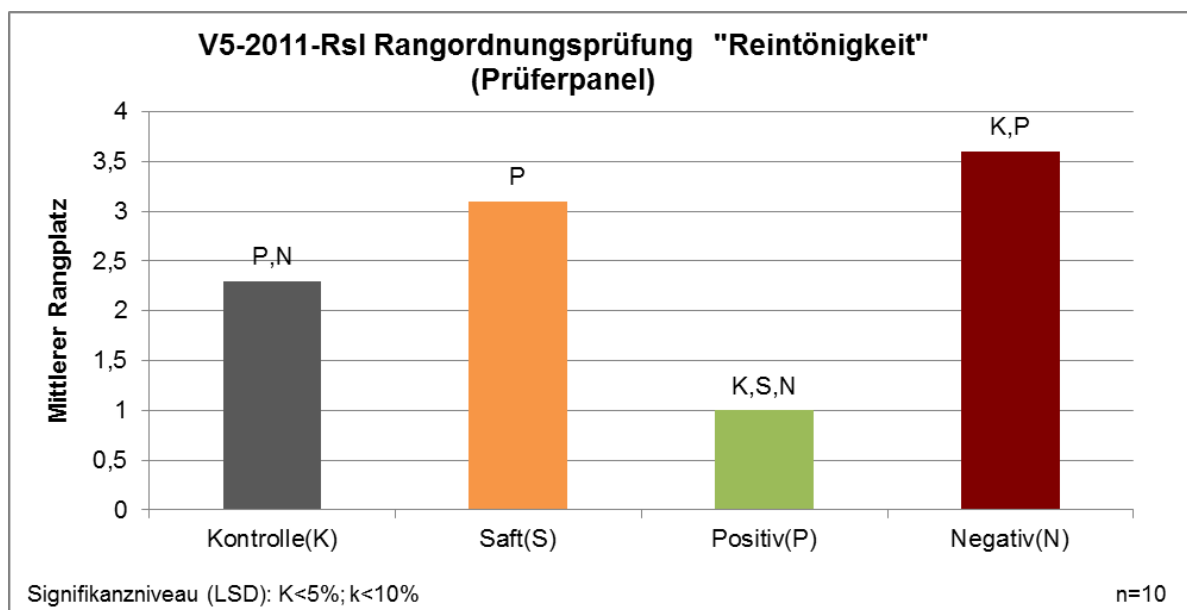


Abbildung 133: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)

Bei der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ der Weine wurde die Positivfraktion von allen Prüfern mit dem ersten und damit besten Rang bewertet (Abbildung 133). Die Reintönigkeit dieser Fraktion ergab sich aus der Abwesenheit von fäulnisbefallenen Beeren, wodurch keinerlei den Geruch und Geschmack beeinträchtigende Vorgänge bei der Vinifikation stattgefunden hatten. Dies zeigte sich auch im signifikanten Unterschied dieser Fraktion zu Kontrolle, Saftvorlauf sowie Negativfraktion mit entsprechenden Fäulniseinflüssen. Die Kontrolle wurde auf den zweiten Rang, der Saftvorlauf auf den dritten und die Negativfraktion auf den letzten Rang gesetzt (Abbildung 133). Das Ergebnis der Rangordnungsprüfung bestätigte damit die deskriptive Bewertung der Prüfer.

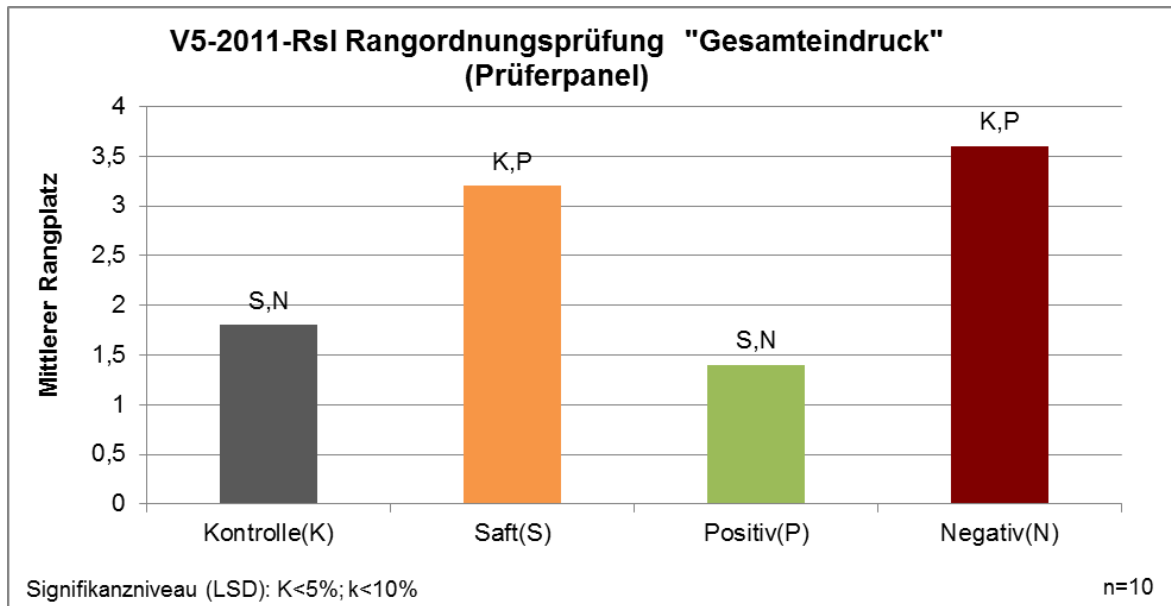


Abbildung 134: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=10)

Bei der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ wurde ebenso wie bei der „Reintönigkeit“ der Wein der Positivfraktion am besten bewertet (Abbildung 134). Hier war jedoch der Unterschied der Positivfraktion zur Kontrolle nicht signifikant, was mit der gesteigerten Komplexität der Kontrolle erklärt werden kann. Im Vergleich zu diesen beiden Fraktionen wurde die Negativfraktion sowie der Saftvorlauf im Gesamteindruck als signifikant schlechter von den Prüfern bewertet. Auch die Ergebnisse der Sensorik bestätigten die Herkunft des Saftvorlaufes aus den faulen Beeren, was sich anhand der ähnlichen Bewertung des Saftvorlaufs und der Negativfraktion bei Versuch V5 zeigte (Abbildung 134).

5.12.2.2 Sensorische Ergebnisse des Sortierversuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel)

Neben dem geschulten Prüferpanel wurden die Weine aus der Versuchsreihe V5-2011 auch von einem ungeschulten Verbraucherpanel mit 32 Probanden nach dem gleichem Verkostungsschema bewertet.

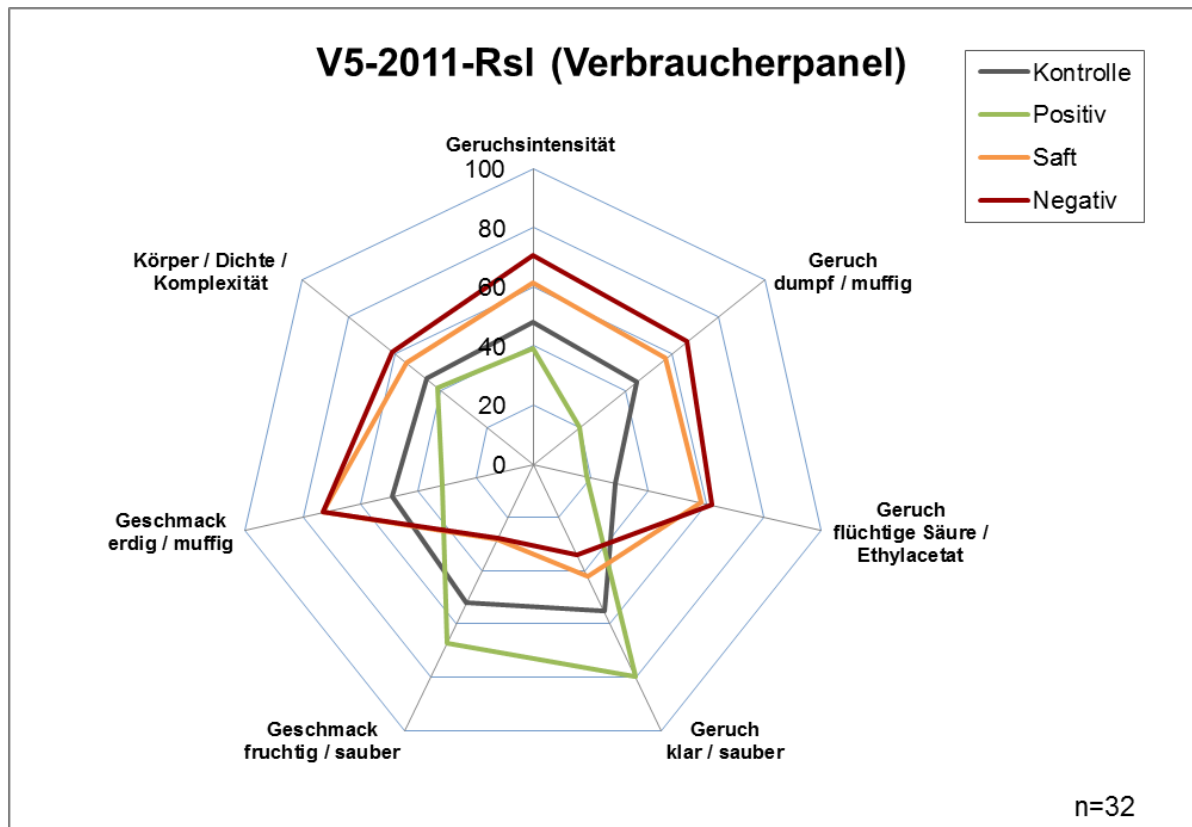


Abbildung 135: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)

Tabelle 24: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32; Fisher-LSD-Signifikanzniveaus: A'<99,9% ; A<99% ; a<95% ; a'<90%)

	Kontrolle (K)	Positiv (P)	Saft (S)	Negativ (N)
Geruchsintensität	48,04 p'	39,12	61,48 K-P'	70,77 K'-P'-s'
Geruch dumpf / muffig	44,96 P'	20	57,31 k-P'	66,58 K'-P'
Geruch flüchtige Säure / Ethylacetat	28,31 p'	18,44	58,34 K'-P'	61,97 K'-P'
Geruch klar / sauber	55,16 s-N'	79,56 K'-S'-N'	42,3	33,99
Geschmack fruchtig / sauber	52,07 S'-N'	67,26 K-S'-N'	28,16	27,68
Geschmack erdig / muffig	49,08 P	31,78	72,99 K'-P'	72,88 K'-P'
Körper / Dichte / Komplexität	46,33	41,25	54,76 p	60,9 K-P'

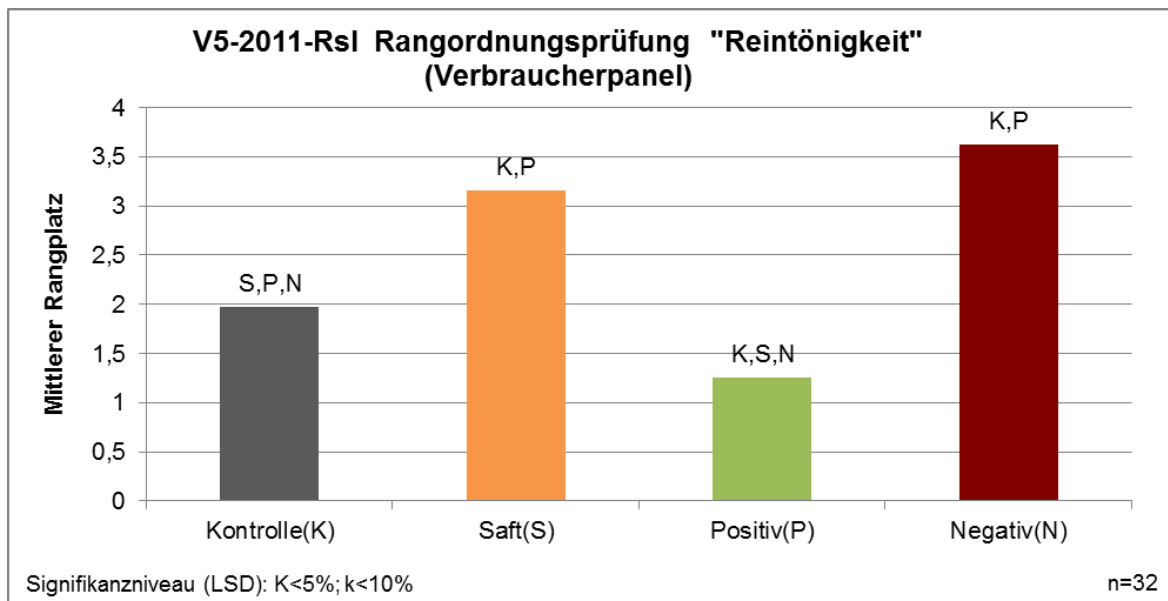


Abbildung 136: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)

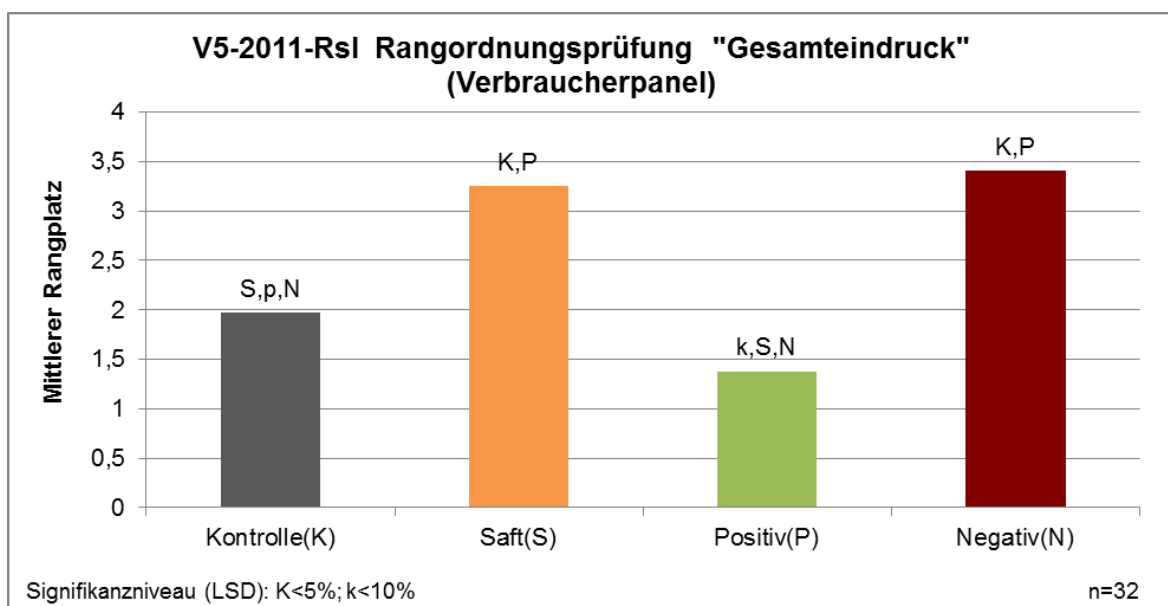


Abbildung 137: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V5-2011-Rsl (Verbraucherpanel, n=32)

Die deskriptiven (Abbildung 135) und diskriminativen Bewertungen (Abbildung 136, Abbildung 137) der Verbraucher zeigten die gleichen Tendenzen wie beim geschulten Prüferpanel. Die Intensitätsspanne wurde im Vergleich zum geschulten Panel jedoch nicht ausgereizt, wodurch geringere, aber dennoch oft signifikante Differenzen zwischen den Sortierfraktionen vorlagen (Tabelle 24). Bei der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ (Abbildung 136) wurde der Sortiereffekt auch von den Verbrauchern deutlich festgestellt. Wie beim Prüferpanel wurde beim „Gesamteindruck“ (Abbildung 137) ebenso die Positivfraktion als signifikant (90 %) bester Wein bewertet.

5.12.2.3 Sensorische Ergebnisse des Sortierversuches V4-2011-SpB

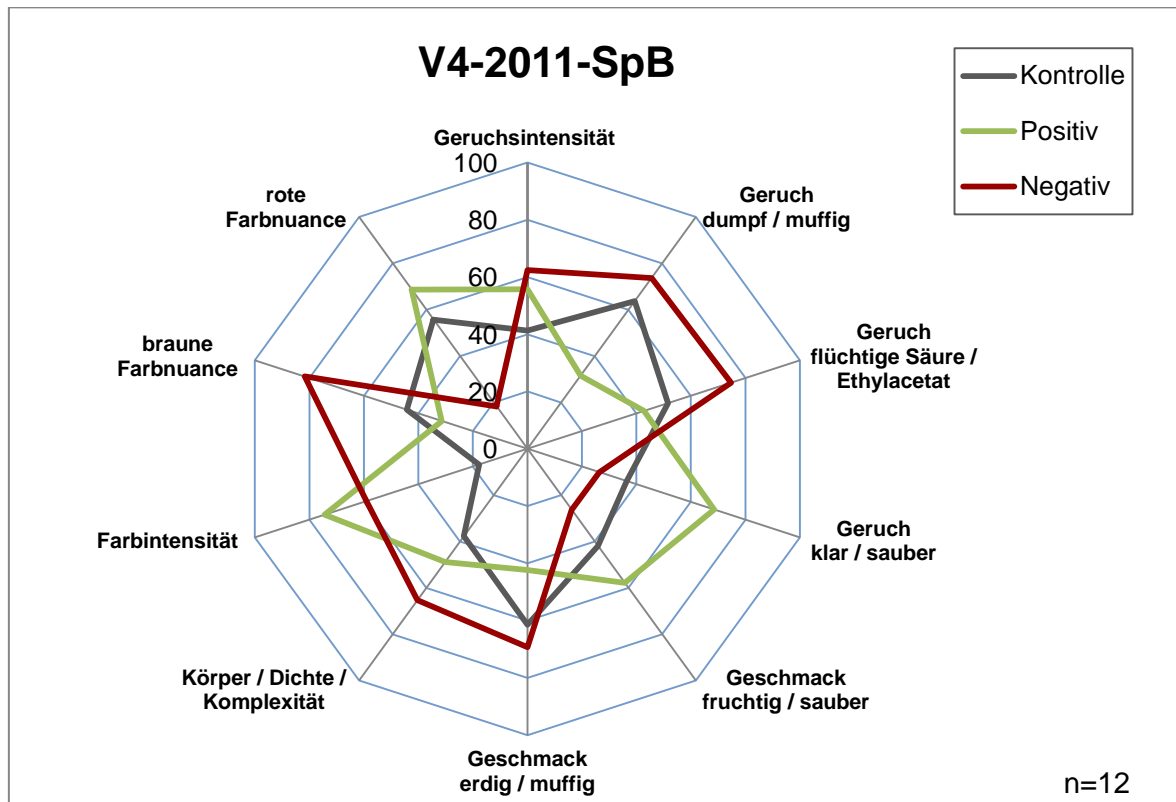


Abbildung 138: Ergebnisse der deskriptiven Sensorik-Intensitätsprüfung des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)

Tabelle 25: Ergebnisse der Signifikanzprüfungen des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12; Fisher-LSD-Signifikanzniveaus: A'<99.9% ; A<99% ; a<95% ; a'<90%)

	Kontrolle (K)	Positiv (P)	Negativ (N)
Geruchsintensität	41,33	55,67 k'	62,42 k
Geruch dumpf / muffig	63,67 P	31,58	73,75 P'
Geruch flüchtige Säure / Ethylacetat	51,67	42,83	74,75 k-P
Geruch klar / sauber	36,5	68,5 K-N'	26,42
Geschmack fruchtig / sauber	41,92	57,83 N	26,25
Geschmack erdig / muffig	61,42	42,25	69,17 p
Körper / Dichte / Komplexität	37,67	48,83	65,33 k
Farbintensität	17,75	74,42 K'-n	59,08 K'
braune Farbnuance	44,25	31,42	81,75 K-P'
rote Farbnuance	55,75 N	68,67 N'	18,33

Tabelle 26: Ergebnisse der Dreiecksprüfungen des Versuches V5-2011-Rsl (Prüferpanel, n=12)

Fractionen V4-2011-SpB	Anzahl der Prüfer	richtige Antworten	falsche Antworten	Signifikanzniveau [%]
Kontrolle zu Positiv	10	10	-	99,9
Kontrolle zu Negativ	10	10	-	99,9
Positiv zu Negativ	10	10	-	99,9

Wie bei allen verkosteten Weißweinen waren auch beim Rotwein (Spätburgunder) vergleichbare Tendenzen hinsichtlich der geprüften Attribute feststellbar (Abbildung 138, Tabelle 25). Im Vergleich zum Weißweinausbau hatte der Traubenmost beim Rotweinausbau (siehe Kapitel 8.2.2.2.2) durch die Maischegärung einen sehr intensiven Kontakt zu den Beerenschalen. Zusammen mit dem gebildeten Alkohol begünstigte dies die Extraktion sensorisch negativer Stoffwechselprodukte aus faulen Beeren in der Kontrolle und der Negativfraktion. Der Saftvorlauf wurde nicht zur sensorischen Bewertung herangezogen, da hier aufgrund des unterschiedlichen Weinausbaus (siehe Kapitel 8.2.2.2.2) eine sensorische Vergleichbarkeit nicht möglich war.

Der Einfluss der Fäulnis auf den Wein war deutlich erkennbar, da in der Negativfraktion auch hier alle nachteiligen Geruchs- und Geschmacksattribute am stärksten ausgeprägt waren. Bereits in der Kontrolle mit 24,1 % Fäulnisanteil (überwiegend *Botrytis*) waren diese dumpf/muffigen und erdig/muffigen Ausprägungen deutlich wahrnehmbar. Verglichen mit diesen beiden Fraktionen konnte bei der Positivfraktion eine signifikante Verbesserung hin zu sauber/klaren und fruchtig/sauberen Attributen beobachtet werden. Auch die Ergebnisse der Dreiecksprüfung bestätigten, dass die Fraktionen Kontrolle, Positiv und Negativ eindeutig (mit 99,9 %-iger Signifikanz) voneinander unterschieden werden konnten (Tabelle 26).

Die sortierten Spätburgunderfraktionen wurden zusätzlich hinsichtlich der Farbnuance sowie -intensität geprüft, da die Farbe beim Rotwein einen wichtigen Qualitätsfaktor darstellt (Jakob, 2012). Die Negativfraktion zeichnete sich durch intensiv braune Farbnuancen aus, wohingegen die Positivfraktion die stärkste Rotfärbung aufzeigte (Abbildung 139). Die Farbintensität wurde bei der Positivfraktion am stärksten wahrgenommen, gefolgt von der Negativfraktion. Die Kontrolle lag bei den Farbnuancen jeweils zwischen positiver und negativer Fraktion, was mit den analytischen Ergebnissen der Farbnuance korrelierte (Tabelle 27). Die *Botrytis*-Belastung des Rotweines führte durch die Oxidation der Anthocyane infolge der Laccase-Aktivität zur Braunfärbung (Abbildung 139) (Jakob et al., 1997).

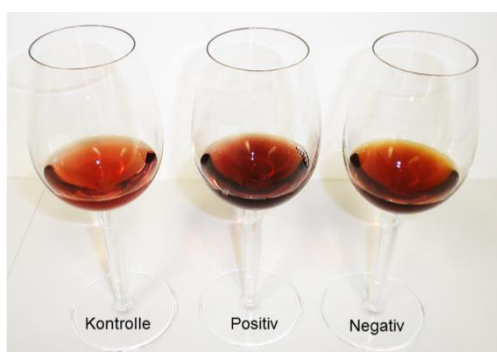


Tabelle 27: Farbintensitäten und Farbnuancen der Versuchsfraktionen des Rotwein V4-2011-SpB

Probe	Farbintensität (E1+E2+E3)	Farbnuance E420 (braun)/ E520 (rot)
V4-2011-SpB-W-Kon	1,7194	1,1845
V4-2011-SpB-W-pos	2,3702	1,1334
V4-2011-SpB-W-neg	2,8032	1,3486

Abbildung 139: Farbe der Versuchsfraktionen des Rotweins V4-2011-SpB

Diese beobachteten Effekte bei der deskriptiven Beschreibung zeigten sich auch bei der Rangordnungsprüfung der „Farbe“ (Abbildung 140). Die Positivfraktion wurde hier mit dem ersten Rangplatz am besten bewertet, was auf deren intensive Rotfärbung zurückzuführen ist (Abbildung 138). Trotz der Braunfärbung des Weines der Negativfraktion wurde dieser auf den zweiten Rangplatz gesetzt, was mit dessen Farbintensität zusammenhängt. Dies kann mit den hohen Schalenanteilen in dieser Fraktion erklärt werden. Zwar wurden durch *Botrytis* viele Anthocyane, welche hauptsächlich in der Beerenschale lokalisiert sind, zerstört; der Anteil an noch vorhandenen Anthocyanen im Verhältnis zum geringen Saftanteil führte dennoch zu einer stärkeren Farbintensität im Vergleich zur Kontrolle (Tabelle 27) (Harbertson, Spayd, 2006). Die Kontrolle wurde am schlechtesten bewertet, was mit der farbschwachen Erscheinung zusammenhing. Durch den Fäulnisgehalt wurde zum einen der Anthocyanengehalt reduziert, zum anderen beinhaltete die Kontrolle den kompletten Saftanteil aller Beeren (gesund und faul). Dadurch verringerte sich das Verhältnis von Farbe (nur von gesunden Beeren) zu Saft (von gesunden und faulen Beeren), sodass die geringe Farbintensität als Folge dieses Verdünnungseffektes anzusehen ist.

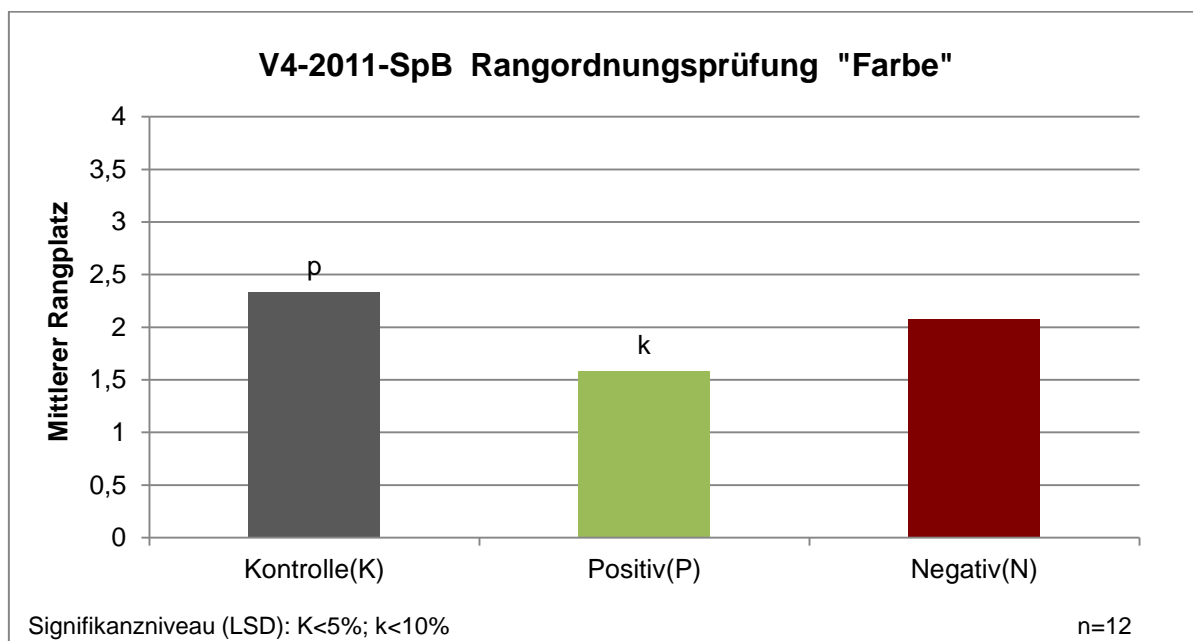


Abbildung 140: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Farbe“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)

Wie beim Riesling des Versuches V5 (siehe Kapitel 5.12.2.1) wurde auch beim Spätburgunder des Versuches V4 sowohl bei der Rangordnungsprüfung der „Reintönigkeit“ (Abbildung 141) als auch des „Gesamteindrucks“ (Abbildung 142) der Wein der Positivfraktion am besten und der Wein der Negativfraktion am schlechtesten bewertet.

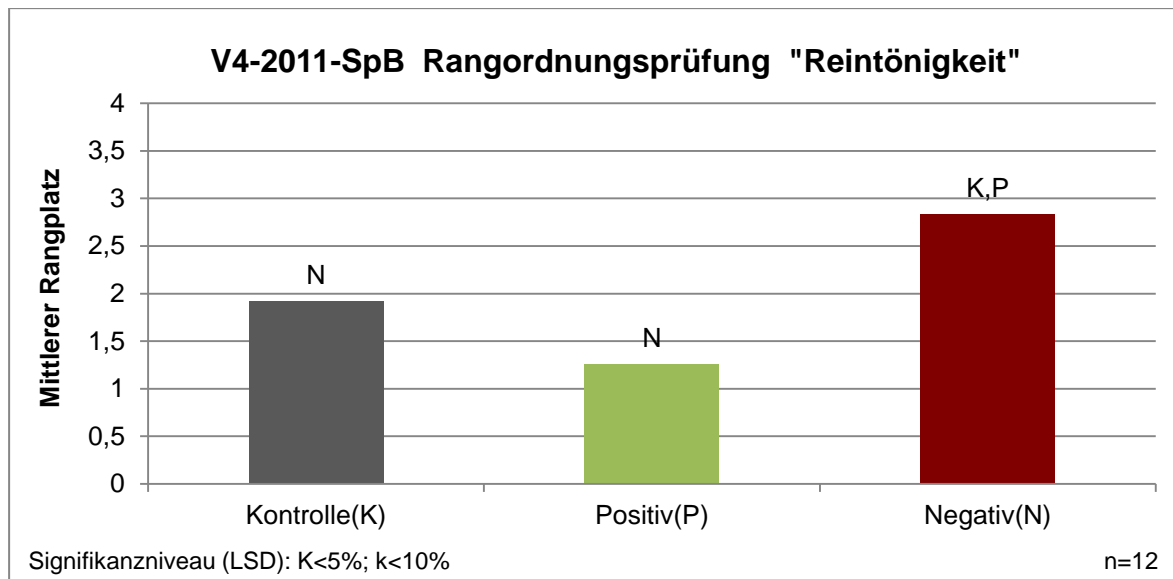


Abbildung 141: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Reintönigkeit“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)

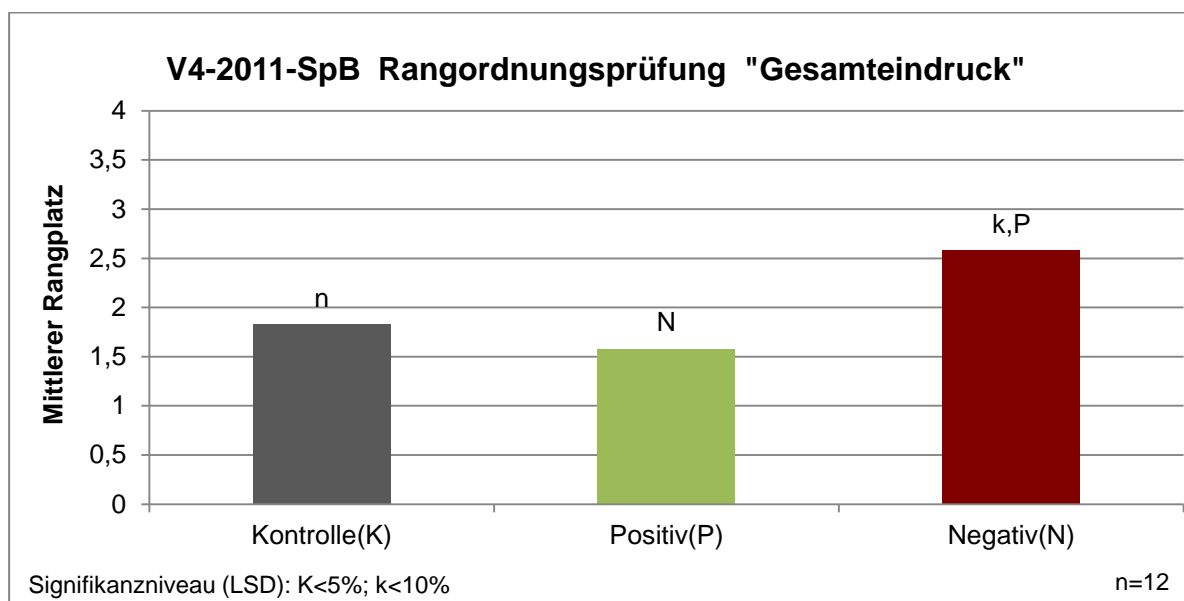


Abbildung 142: Ergebnisse der Rangordnungsprüfung „Gesamteindruck“ des Versuches V4-2011-SpB (Prüferpanel, n=12)

Fazit

Bei Betrachtung aller sensorischen Ergebnisse konnte wie auch bei den analytischen Ergebnissen gefolgert werden, dass durch Aussortieren von fäulnisbelastetem Lesegut sowohl eine Qualitätssicherung als auch -steigerung hin zu fruchtigen und klar/sauberen Weinen erreicht werden kann.

6 Zusammenfassung

Die Klimaveränderung und die damit einhergehende verstärkte Fäulnisdynamik auf Trauben stellt eine Herausforderung für die nördlichen Weinbauregionen Europas dar. Daher wurde die **vollautomatisch-optische Traubensortierung**, eine **innovative Verfahrenstechnik** bei der Traubenverarbeitung, erstmals zur maschinellen Selektion fauler Beeren aus Hand- und Maschinenlesegut unter **Praxisbedingungen** in den Jahrgängen 2010 und 2011 eingesetzt. Im zugrundeliegenden Projekt wurden 15 Sortierversuche mit durchschnittlich **zwei Tonnen Lesegut** mit **unterschiedlichen Fäulnisarten und -intensitäten** der Rebsorten Riesling, Müller-Thurgau, Grauburgunder und Spätburgunder des Weinanbaugebietes Mosel durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei der Sortierung der weißen Rebsorten Riesling und Müller-Thurgau mittels Kameradetektion eine durch Bonitur belegte Selektionsquote von durchschnittlich 95 % erreicht werden konnte. Beim Grauburgunder und Spätburgunder wurden durch Kopplung der Kamera- und Laserdetektion Selektionsquoten von bis zu 71,5 % erzielt. Die vollautomatisch-optische Traubensortierung ermöglichte somit eine **effektive und effiziente Fraktionierung der Trauben** in Saftvorlauf (aus geöffneten Beeren austretender Saft), Positivfraktion (gesunde Beeren) und Negativfraktion (faule Beeren), welche im Vergleich zur unsortierten Kontrolle repräsentative Aussagen über den Fäulniseinfluss von Beeren auf die standardisiert verarbeiteten Moste und Weine lieferten.

Ziel dieser Arbeit war es, mittels vielseitiger analytischer und sensorischer Untersuchungen der einzelnen Fraktionen die vollautomatisch-optische Traubensortierung als Maßnahme zur Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit der Moste und korrelierenden Weine zu bewerten.

Ein besonderer Fokus lag auf der Evaluierung gesundheitlich bedenklicher Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, wie **Mykotoxinen** und **biogenen Aminen**. Durch die **Entwicklung und Validierung einer bisher für die Most- und Weinuntersuchung nicht vorhandenen HPLC-MS/MS-Multi-Mykotoxin-Methode** mit 31 Analyten konnte erstmals ein breites Spektrum an Mykotoxinen in Mosten und Weinen analysiert werden. Die Positivbefunde einiger Mykotoxine in den Mosten und Weinen zeigten, dass Mykotoxin-bildende Schimmelpilze auf den untersuchten Beeren vorkamen. Insgesamt konnte ein deutlicher Sortiereffekt festgestellt werden, da die Patulin- und Alternariolgehalte nach Sortierung in den Positivfraktionen der Gärgutproben beider Jahrgänge im Vergleich zur Kontrolle reduziert wurden. Damit kann die vollautomatisch-optische Traubensortierung als Maßnahme zur **Qualitätssicherheit** von Mosten als

Grundlage für die daraus hergestellten Weine genutzt werden. Erstmals konnte auch Deoxynivalenol in den Most- und Weinproben nachgewiesen werden; es konnte jedoch kein Bezug zur Fäulnis hergestellt und daher kein Sortiereffekt abgeleitet werden.

Bei den **biogenen Aminen** konnte das gesundheitlich bedenkliche Histamin meist nicht in den Mostfraktionen nachgewiesen werden. Es wurde erst im Zuge der alkoholischen Gärung relativ gleichmäßig in nur geringen Mengen (<1,2 mg/L) in allen Fraktionen in Abhängigkeit der verwendeten Hefe (Weißwein-/Rotweihefe) gebildet. Die Putrescingehalte waren in allen Most- bzw. Weinfraktionen, auch in den Fraktionen mit fäulnisbelasteten Beeren, ebenfalls nur sehr gering (<1,2 mg/L). Insgesamt konnte kein allgemeiner Trend bezüglich eines Fäulniseinflusses auf die Bildung von Histamin und Putrescin beobachtet und damit keine qualitative Auswirkung der Sortierung festgestellt werden.

Bei den spezifischen, traubeneigenen Inhaltsstoffen, insbesondere bei den **Phenolen**, konnte sowohl bei Betrachtung des Gesamtphenolgehaltes als auch der Einzelphenolgehalte, die mittels der **eigens neu entwickelten und validierten HPLC-UV-Methode** bestimmt wurden, aufgrund verfahrenstechnischer Einflüsse der vollautomatisch-optischen Traubensortierung keine Reduktion der Gehalte durch fäulnisbedingte Enzymaktivitäten in den entsprechenden Sortierfraktionen festgestellt werden. Die deutliche unerwünschte Braunfärbung dieser Weine, die auch mittels **Farbbestimmung** analytisch detektiert wurde, deutete jedoch auf die Oxidation phenolischer Verbindungen hin.

Bei Betrachtung **weiterer, fäulnisverursachter Verbindungen** konnten vielfältige **qualitätssichernde** und damit verbunden auch **qualitätssteigernde Effekte** durch die vollautomatisch-optische Traubensortierung erzielt werden.

Ein deutlicher Sortiereffekt zeigte sich vor allem bei der **Gluconsäure**, die fäulnisbedingt vermehrt in den befallenen Beeren gebildet wurde. Die unterschiedlichen Gluconsäuregehalte in den Most- und Weinfraktionen eines Versuches wirkten sich nicht auf die sensorische Qualität der Weine aus. Anhand der analytischen Ergebnisse konnte Gluconsäure jedoch deutlich als Indikator für einen Fäulnisbefall, nicht jedoch für die Befallsstärke, herangezogen werden. Das Entwicklungsstadium der vorhandenen (*Botrytis*-) Fäulnis auf den Beeren konnte analytisch anhand der **Glycerin/Gluconsäure-Verhältnisse** abgeleitet werden. Demzufolge entwickelte sich der *Botrytis*-Pilz im Jahr 2010 hin zur Edelfäule und im Jahr 2011 hin zur Graufäule. Die durch Graufäule gebildeten Stoffwechselprodukte führten sensorisch zu stark dumpf/muffigen Ausprägungen und damit zu einer starken Qualitätsminderung. Durch die Selektion

konnten diese Wahrnehmungen in den Weinen aus gesunden Beeren deutlich reduziert und die Weinqualität damit wesentlich verbessert werden.

Der Einfluss der Fäulnis auf die traubeneigenen Inhaltsstoffe wurde bei der Analytik der Standardparameter **Mostgewicht, Kationen und organische Säuren** in den Sortierfraktionen deutlich. Im Vergleich zur Kontrolle konnten fäulnisbedingte Unterschiede in den Gehalten dieser Parameter in den Sortierfraktionen festgestellt werden; diese konnten aber nur selten mit der Fäulnisart sowie -stärke korreliert werden. Dies spiegelt die Problematik der Praxisbedingungen wider, bei denen multifaktorielle Einflüsse auftreten können.

Vor allem das **Mostgewicht** ist neben der gesetzlichen Einordnung der Qualitätsstufen insbesondere entscheidend für den Weinstil. Bei der Sortierung speziell von edelfaulen *Botrytis*-Trauben besteht damit die Möglichkeit, zum einen aus den gesunden Beeren (Positivfraktionen) klare, fruchtige, sensorisch rebsortentypische Weine zu erzeugen und zum anderen aus edelfaulen *Botrytis*-Beeren (Negativfraktionen) Weinspezialitäten wie Auslesen, Beerenauslesen bis hin zu Trockenbeerenauslesen mit sensorisch charakteristischen Attributen - wie der „*Botrytis*-Note“ - zu produzieren. Eine Sortierung kann in diesen Fällen zur Qualitätssteigerung beider entstehender Weinstile führen. Hierbei muss zwar auch mit höheren Mykotoxingehalten in den Ausleseweinen gerechnet werden; insgesamt werden aber vergleichsweise geringere Mengen dieser Weine konsumiert.

Der vereinzelte Sekundärbefall mit Essigsäurebakterien im Jahr 2011 zeigte sich bei den jeweiligen Versuchen in erhöhten Gehalten an **flüchtiger Säure** in den Fraktionen mit essigfaulen Beeren. Durch Sortierung konnte eine Reduktion dieses Parameters in den Positivfraktionen aus gesunden Beeren erzielt werden, was sich insbesondere sensorisch in einer qualitativ deutlich verbesserten Wahrnehmung hinsichtlich dieses Attributes äußerte.

Die Ergebnisse der **Schwefelbindungspartner** in den exemplarisch untersuchten Gärgutproben zeigten deutlich, dass bereits auf den faulen Beeren durch die Aktivität von Mikroorganismen erhöhte Gehalte dieser Verbindungen im Vergleich zu gesunden Beeren vorlagen. Auch die Gehalte an gebundenem SO₂ waren, bedingt durch das erhöhte Brenztraubensäure- und 2-Ketoglutarensäure-Vorkommen in den Weinen mit Fäulniseinfluss, oft erhöht. Eine Reduktion von fäulnisbelasteten Beeren durch Sortierung kann demnach zu einer verringerten Dosierung an SO₂ im Wein beitragen, wodurch die gesetzlichen Vorgaben bezüglich der SO₂-Gehalte eingehalten und die Vermarktbarkeit gesichert werden können.

Die Art und Entwicklung der auf Trauben auftretenden Fäulnis führt überwiegend zu qualitativ negativen Beeinflussungen der rebsortentypischen Weinstilistik. Die effiziente Selektion der fäulnisbelasteten Beeren mittels vollautomatisch-optischer Traubensortierung und die hierdurch ermöglichte, individuelle Handhabung der einzelnen Sortierfraktionen tragen zur Sicherung, Steigerung und Sicherheit der Qualität von Weinen bei. Hierdurch kann die Kontinuität der Weinstilistik sichergestellt werden, was sowohl für die Kundenzufriedenheit, die Vermarktung und damit den betriebswirtschaftlichen Erfolg von zentraler Bedeutung ist.

Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass diese Ergebnisse nur den Zustand zweier Jahrgänge widerspiegeln. Zukünftige Untersuchungen über mehrere Jahre sollten daher angestrebt werden, um die beobachteten Trends zu bestätigen.

7 Summary

The climate change and the concomitant increasing rot infections on grapes represents a challenge for the northern European wine regions. Therefore, **automated optical grape sorting** as an **innovative method during grape-processing** was used for the first time to select rotten grapes which had been harvested manually or mechanically in the vintages of 2010 and 2011 under **practical (authentic) conditions**. In this project, 15 sorting experiments of the grape varieties '**Riesling**', '**Müller-Thurgau**', '**Pinot gris**' and '**Pinot noir**' with **different types and intensities of rot infections** were performed. For each experiment **two tons of grapes on average** were sorted. The results showed that an average accuracy level of sorting of 95 % with the camera detection could be achieved with the white grape varieties '**Riesling**' and '**Müller-Thurgau**', which was verified by optical assessment. The combination of the camera and the laser detection for the sorting of the grape varieties '**Pinot gris**' and '**Pinot noir**' resulted in accuracy levels of sorting up to 71.5 % with these grape varieties. Automated optical grape sorting thus enabled an effective and efficient fractionation of tons of grapes into the fractions 'free-run' (juice from opened berries), 'positive' (healthy berries) and 'negative' (rotten berries) providing representative statements about the influence of rotten berries on the standardised prepared must and wine fractions compared to the control fraction.

The objective of this thesis was to assess automated optical grape sorting as an option for quality control, quality improvement and quality assurance of musts and wines by various analytical and sensory tests of the sorting fractions.

The main focus was on the evaluation of harmful metabolites of microorganisms on grapes, especially **mycotoxins** and **biogenic amines**. Due to the **development and validation of a hitherto non-existing HPLC-MS/MS multimycotoxin method** for musts and wines with 31 analytes, a broad spectrum of mycotoxins in musts and wines could be analysed for the first time. The positive findings of some mycotoxins in the must and wine fractions showed that mycotoxin producing fungi occurred on the berries. Altogether a significant sorting effect could be determined as the patulin and the alternariol concentrations were reduced in the positive fractions of the must samples compared to the control fractions in both vintages. Therefore, automated optical grape sorting can be used as option for quality assurance of the musts which form the basis for wine production. For the first time deoxynivalenol could be detected in the must and wine samples; however, a relation to the type and intensity of the rot infection couldn't be established and thus a sorting effect could not be deduced.

In case of **biogenic amines** histamine mostly couldn't be detected in the must fractions. It was constantly formed only in small concentrations (<1.2 mg/L) in all fractions during alcoholic fermentation depending on the yeast species (white or red wine yeast species) used for fermentation. The putrescine concentrations were also very low (<1.2 mg/L) in all fractions even in the fractions containing rotten berries. Overall no general trend concerning the influence of rot on the formation of histamine and putrescine could be noticed. A qualitative effect of grape sorting could not be concluded.

Regarding the naturally occurring **phenolic compounds** as special ingredients of the grapes, there was no reduction in total phenol content and no reduction of single phenolic substances (determined by an **HPLC-UV method especially developed and validated** for this purpose) as a consequence of enzymatic activities due to rot infections in the relevant sorting fractions because of procedural influences of automated optical grape sorting. The clear and undesirable brown coloration of these wines (also determined analytically by colorimetric assessment) indicated oxidative influence on phenolic compounds.

The examination of **further substances** caused by rot revealed that automated optical grape sorting had many positive effects on quality control and improvement.

A significant sorting effect could be shown with **gluconic acid** increasingly formed on rotten berries. The different gluconic acid concentrations in the must and wine fractions did not influence the sensory quality of the wines. However, the analytical results showed that gluconic acid can be considered as an indicator for rot infections, but not for the rot intensity. The development stage of the existing (*Botrytis*) rot infection on the berries could analytically be derived from the **glycerol/gluconic acid ratio**. Accordingly, the *Botrytis* fungus developed towards noble rot in the vintage of 2010 and towards grey mould in the vintage of 2011. Grey mould caused mouldy and earthy sensory impressions thus leading to a quality degradation of the wines. By automated optical grape sorting these negative sensory impacts could be significantly reduced in the wines made of healthy berries thus considerably increasing the wine quality.

The influence of rotten berries on natural grape ingredients could be detected by the results of the **must weight, cations** and **organic acids** in the sorting fractions. Compared to the control fraction, rot infections on the berries resulted in different concentrations of these substances in the sorting fractions. There was only little correlation between the type and intensity of the rot infection. This reflects the difficulty of practical experiments in which multifactorial influences can occur.

The **must weight** is especially important for the classification of the quality level of a wine and also for the wine type. By separating noble rotten *Botrytis* berries there are two possibilities. On the one hand, sensorily clear and fruity wines can be produced from the healthy berries (positive fraction) and on the other hand the noble rotten *Botrytis* berries (negative fraction) can be used to produce wines of higher predicates, namely Auslesen, Beerenauslesen and even Trockenbeerenauslesen with sensorily characteristic attributes such as the '*Botrytis* note'. In this case, sorting can lead to a diversification of products and to the improvement of the resulting wine types. In these wines of higher predicates higher contents of mycotoxins can be expected; but there is a comparatively lower intake of such wines.

In 2011 some grapes showed secondary infections with acetic acid bacteria resulting in higher concentrations of **volatile acidity** in the fractions containing acetic berries. Sorting reduced the concentrations of this parameter in the positive fractions of healthy berries leading to a significantly improved sensory perception concerning this attribute.

The results of the **sulfur binding compounds** in the must fractions exemplarily analysed showed that higher concentrations of these compounds were already present on rotten grapes compared to healthy ones as a result of the activity of microorganisms. The results of bound SO₂ were also higher in wines vinified from rotten berries as a consequence of higher concentrations of pyruvic acid and 2-oxoglutaric acid. A reduction of rotten berries by sorting can reduce the dosage of SO₂ in wine thus complying with the legal limits of SO₂ and ensuring the marketability of the wines.

The type and development of rot infections on grapes has mainly qualitatively negative influences on the specific wine type. **Efficient selection of rotten berries by automated optical grape sorting and the resulting individual handling of the sorting fractions during the winemaking process contribute to the control, improvement and assurance of the wine quality.** Thus the continuity of the specific wine type can be guaranteed that is of main importance concerning consumer acceptance, marketability and economic success.

It has to be considered that these results only reflect the situation of two vintages. Further studies over several years should be performed to confirm these results.

8 Material und Methoden

8.1 Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien/Lösungen

8.1.1 Geräte (DLR Mosel)

Dosimat (Gesamtsäure)	Dosimat E 535, Metrohm Herisau
Destillationsapparatur zur Bestimmung des freien und gesamten SO ₂	
Eppendorfpipetten	Eppendorf Research fix 20 / 25 / 50 / 100 / 200 / 250 / 500 / 1000 µL Eppendorf Research variabel 0,5-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL
FTIR	WineScan FT 120, FOSS Software: FT 120 Version: 2.3.0 (11.10.2007) FOSS Analytical A/S 2007
HPLC-UV	Agilent Technologies Series 1200 Degasser G1379B BinPump G1312A ALS G1329A TCC G1316A (thermostatted column compartment) VWD G1314B (variable wavelength detector) Software: LC/MSD ChemStation Rev. B. 04.01 [482] Agilent Technologies 2001-2008
IC-LD	882 Compact IC plus, Metrohm Combi Degasser 837 Compact Autosampler 863 Ofen: Mistral Spark Holland Software: MagIC Net Version 2.0; Metrohm AG Switzerland
Infrarotheizgerät	SELUTECH
Messgerät zur Dichtebestimmung	DMA 35N, Anton Paar
Membranpumpe	KNF, Neuberger
pH-Meter	pH Meter 691, Metrohm Impulsomat 614
Photometer	Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis Software: CaryWin UV Version: 5.0.0.999 Agilent Technologies, Inc.
Photometer (HS Trier)	Lambda XLS+UV/Vis Spectrophotometer, PerkinElmer
SO ₂ -Bestimmung	Titrand 808, Metrohm Stirrer 801 Software: tiamo Version 1.3; Metrohm AG Switzerland
Titratoren	Titrand 888, Metrohm
Titratoren	Titrand 808, Metrohm Doppel-Pt-Elektrode
Trockenschrank	WTC-Binder 0-99 °C
Ultraschallbad	Sonorex RK 100SH, Bandelin electronic
Waagen	Sartorius MC1 (Feinwaage) Sartorius Laboratory LC 12000S (Grobwaage)
Wasseraufbereitungsanlage	TKA-X-CAD, Thermo Scientific Capsule filter 0,2 µm DPL
Wasserbad	E 300, Lauda
Wasserdampf-Destillationsapparatur	Vapodest, Gerhardt

8.1.2 Geräte (BfR)

Abdampfstation Turbovap LV	ST 250, Zymark
Blockthermostat	Reacti-Therm, Pierce
Eppendorfpipetten	Eppendorf Research fix 100 / 200 / 500 µL Eppendorf Research variabel 0,5-10 µL, 2-20 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL
Hamilton Gastight Spritze	1000 µL, Hamilton-Bonaduz, Schweiz
HPLC-MS/MS	Agilent Technologies Series 1100 Turbopumpe HS 602 Pumpe G 1311 A Entgaser G 1379 A ISO-Pumpe G 1310 A Thermostat G 1316 A Autosampler G 1329 A Autosampler-Cooler G 1330 B API 4000, Applied Biosystems
Kältethermostat	RM20B, Lauda
Magnetrührer (einfach)	Variomag Mono Direct, Thermo Scientific
Mehrfachdispenser	Handy Step electronic, Brand
Multireac Schüttler	Multi Reax, Heidolph Instruments
pH Meter	765, Knick
Syringe Pump	Pump 11, Harvard Apparatus
Thermo Tischzentrifuge Mega Fuge 16	Microfuge R; Beckmann
Ultraschallbad	DT 100 H, Bandelin Sonorex Digitec
Vortexer	MX-S, Neo Lab
Vortexer Vibrax IKA	VXR B, IKA
Waagen	YAC01MSA, Sartorius (Präzisionswaage) LA1205 –OCE, Sartorius (Analysenwaage)
Wasseraufbereitungsanlage	HP 5 UV 08.1105, TKA-LAB
Wasserbad	DC 10 / V 26, ThermoHaake

8.1.3 Verwendete Reagenzien/Lösungen (DLR Mosel)

Acetaldehyd-Enzymkit	Megazyme, Bray, Co. Wicklow, Irland Chargen-Nr.: LOT 101103-1 / 90120-7 / 101119-1 / 111101-2
Aceton	Roth, Karlsruhe, D
Acetonitril	Wasserfrei, Gradient Grade für HPLC, BDH Prolabo, Leuven, Belgien
alpha-Ketoglutar säure Dinatriumsalz Dihydrat	AppliChem GmbH, Darmstadt, D
Ammoniumdihydrogenphosphat zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Ammoniumsulfat	Merck KGaA, Darmstadt, D
Brenztraubensäure Natriumsalz für biochemische Zwecke	Merck KGaA, Darmstadt, D
Brenztraubensäure-Enzymkit	Megazyme, Bray, Co. Wicklow, Irland Chargen-Nr.: LOT 90713-4 / 90713-6
Caftarsäure >98%	Phytoplan, Heidelberg, D
(+)-Catechinhydrat >98%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Citronensäure wasserfrei	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
D-Gluconsäure/D-Glucono-δ-lacton- Enzymkit	Megazyme, Bray, Co. Wicklow, Irland Chargen-Nr.: LOT 101107-1 / 101107-4
1,4-Diaminobutandihydrochlorid (Putrescin) ≥99 % AT	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
3,4-Dihydroxybenzaldehyd 97% (Protocatechualdehyd)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
3,4-Dihydroxybenzoesäure >97% (Protocatechusäure)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
di-Natriumhydrogenphosphat Dodecahydrat zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
EDTA Dinatriumsalz Dihydrat	VWR Prolabo, Leuven, Belgien
(-)-Epicatechin >90%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D

(-)-Epicatechingallat	AppliChem, Darmstadt, D
Essigsäure	Titrisol für 1000 mL c(CH ₃ COOH)=0,1 mol/L (0,1N) Merck KGaA, Darmstadt, D
Ethanol absolut	Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, D
Ferulasäure >99%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Folin-Ciocalteus Phenolreagenz 2 M	Sigma Aldrich, Steinheim, D
Gluconsäure-Natriumsalz zur Synthese	Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, D
Glutamat-Dehydrogenase (3000 U; from beef liver)	LOT 11513122 / LOT 12091333 Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, D
Histamindihydrochlorid, minimum 99 % (TLC)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Iodid-Iodatlösung	Titrisol für 1000 mL c(I ₂)=1/128 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
Kaffeesäure >98%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Kaliumdihydrogenphosphat zur Analyse	AppliChem GmbH, Darmstadt, D
L-(-)-Äpfelsäure zur Racematspaltung zur Synthese	Merck KGaA, Darmstadt, D
L-(+)-Milchsäure Lithiumsalz zur Synthese	Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, D
L-(+)-Weinsäure zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Methanol zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
NADH Dinatriumsalz 100 % grade I	LOT 12793534 Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, D
Natriumazid zur Synthese	Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, D
Natriumcarbonat wasserfrei	VWR Prolabo, Leuven, Belgien
Natriumdisulfit zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Natriumhydrogencarbonat zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Natriumhydroxid	Merck KGaA, Darmstadt, D
Natronlauge	Titrisol für 1000 mL c(NaOH)=0,1 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
Natronlauge	Titrisol für 1000 mL c(NaOH)=0,01 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
Natronlauge	Titrisol für 1000 mL c(NaOH)=1 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
ortho-Phosphorsäure 85% zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
p-Coumarsäure >98%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Phenolphthaleinlösung	0,1 % in ETOH
Pilotwein	Riesling Classic Pfalz 2010, Deutscher Qualitätswein Peter Mertes KG Weinkellerei Bernkastel-Kues, D 11,5 % Vol. 25 cl
Salpetersäure	Titrisol für 1000 mL c(HNO ₃)=1 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
Schwefelsäure 95-97 % zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Schwefelsäure	Titrisol für 1000 mL c(H ₂ SO ₄)=0,05 mol/L Merck KGaA, Darmstadt, D
Standardlösung zur Weinanalytik	Standardlösung des Verbandes der Deutschen Weinanalytiker e. V. Aspiseim, D Charge 1040706; Palette C (Aktualisierter Stand der Werte: 01.2011/01.2012)
Sulfosol 200	Ammoniumbisulfidlösung, 200 g SO ₂ /L Lösung, Martin Vialatte, Magenta, Frankreich
Syringaaldehyd 98%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Syringasäure 98%+	Alfa Aesar, Karlsruhe, D
Tashiro Indikatorlösung	Riedel de Haen, USA
trans-Resveratrol	Cayman Chemical Company, Michigan, USA
Tyrosol >99,5%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Vanillinsäure >97%	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Wasserstoffperoxid 30%	Merck KGaA, Darmstadt, D

8.1.4 Verwendete Reagenzien/Lösungen (BfR)

Acetonitril	2,5 L, ACS, Reag. Ph Eur Merck KGaA, Darmstadt, D
Aflatoxin B ₁	10 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Aflatoxin B ₂	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Aflatoxin G ₁	10 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Aflatoxin G ₂	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Altenuen	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Alternariol	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Alternariolmonomethylether	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Ammoniumacetat zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Beauvericin	5 mg, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, D
Citreoviridin	100,3 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Citrinin	5 mg, Fluka Analytical, Steinheim, D
Coffein	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, D
Cyclosporin A	100,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Cytochalasin H	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Cytochalasin J	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Deoxynivalenol	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Diacetoxyscirpenol	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Essigsäure (Eisessig) 100 % wasserfrei zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Ethanol	LiChroSolv gradient grade für LC, 2,5 L, ≥ 99,9 % Merck KGaA, Darmstadt, D
Fumagillin	100,7 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Fumonisin B ₃	53,9 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Fumonisine Mix (FB ₁ +FB ₂)	51/50,3 µg/mL in H ₂ O/ACN 50/50, Biopure, Tulln, Österreich
Griseofulvin	5 g, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
HT-2 Toxin	100,8 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Kojisäure	5 g, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Magnesiumsulfat wasserfrei	Fluka Analytical, Steinheim, D
Methanol	2,5 L, ≥ 99,8 %, Fluka Analytical, Steinheim, D
Moniliformin	0,1 mg/mL in MeOH, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Mycophenolsäure	102,2 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Natriumchlorid zur Analyse	Merck KGaA, Darmstadt, D
Nicarbazin	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Nivalenol	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Ochratoxin A	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Ochratoxin alpha	11,9 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Ochratoxin B	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Patulin	10 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Penicillinsäure	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Roquefortin C	100,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Sudanrot I	TCI Deutschland GmbH, Eschborn, D
Sterigmatocystin	5 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
T-2 Toxin	99,8 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Tentoxin	1 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Tenuazonensäure	10 mg, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Theophyllin	TCI Europe N.V., Zwijndrecht, Belgien
Wortmannin	100,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
Zearalenon	100,8 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₁₅]-Deoxynivalenol	25,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₃₄]-Fumonisin B ₁	25,4 µg/mL in ACN/H ₂ O (50/50), Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₃₄]-Fumonisin B ₂	10,15 µg/mL in ACN/H ₂ O (50/50), Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₂₂]-HT-2 Toxin	24,7 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₁₇]-Mycophenolsäure	25,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₁₅]-Nivalenol	26,5 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₂₀]-Ochratoxin A	10,08 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₇]-Patulin	100 µg/mL in EtOH, Promochem, Wesel, D
[¹³ C ₂₄]-T-2 Toxin	25,1 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich
[¹³ C ₁₈]-Zearalenon	25,0 µg/mL in ACN, Biopure, Tulln, Österreich

8.1.5 Verbrauchsmaterialien (DLR Mosel und BfR)

Einmalküvetten	PMMA, 2,5 mL makro, Brand Wertheim, D
Gefaltetes qualitatives Filterpapier DF 597-150	Hahnemühle, Dassel/ Relliehausen, D
Glas-Pasteurpipetten	150 mm, VWR Darmstadt, D
IC-Probengefäße 11 mL PP	Metrohm Filderstadt, D
Membranfilter	25 mm, Cellulose-Acetat-Membran, 0,45 µm, VWR Darmstadt, D
MonoSpin C18	GL Sciences Inc, Japan
Präzisions-Dispenser-Tips	5 mL, 50 mL, Brand, Wertheim, D
Probengefäße zur Aufbewahrung	100 mL Veral-Klarglas-Flaschen 500 mL Veral-Klarglas-Flaschen 100 mL Weithalsflasche mit Schraubverschluss VWR, Darmstadt, D
SPE-Säulen	Sep Pak Plus C18 (360 mg) OASIS plus HLB (225 mg) Waters GmbH, Eschborn, D
Spritzen Discardit 10 / 20 /50 mL	BD Biosciences Heidelberg, D
Technisches Filterpapier DF 520A 150	Hahnemühle, Dassel/ Relliehausen, D
Vials	2 mL, Braunglas, Schraubverschluss Deckel: PTFE/Silikon Septum Agilent Technologies, Böblingen, D
Zentrifugenröhrchen	50 mL, BD Falcon, VWR Darmstadt, D
Zentrifugenröhrchen	Mikro, 2 mL, Thermo Scientific

8.2 Methoden

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten analytischen Methoden wurden hinsichtlich ausgewählter Validierungsparameter, wie Linearität, Selektivität, Präzision, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze zunächst auf deren Eignung als Bestimmungsmethode für die jeweiligen Parameter überprüft (Kromidas, 1999). Die Ergebnisse sind in den jeweiligen Methodenvorschriften dargestellt.

In der Weinforschung liegen international anerkannte Standard- bzw. Referenzmethoden für eine Vielzahl an Weinparametern vor, die auf den Methoden der OIV basieren. Zur Bestimmung der flüchtigen Säure, des Schwefeldioxids, des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteau und der Farbe wurden diese Methoden herangezogen, wodurch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit Literaturwerten (basierend auf den OIV-Methoden) möglich war.

8.2.1 Allgemeines

Zur Analyse der einzelnen Bestimmungsparemeter wurde jeweils eine noch ungeöffnete Weinflasche bzw. tiefgefrorene Gärgutprobe verwendet, um mögliche Veränderungen der Probenmatrix und des jeweiligen Analyseparameters durch Luftsauerstoff bzw. Mikroorganismenaktivität auszuschließen.

8.2.1.1 Probenaufbewahrung

Nach der jeweiligen kellertechnischen Verarbeitung der Mostproben wurden die daraus resultierenden Gärgutproben bei -25 °C in geeigneten Probegefäßen bis zum Analysezeitpunkt tiefgefroren (Tabelle 28).

Tabelle 28: Aufbewahrungsgefäße der Gärgutproben für die jeweiligen Bestimmungsparameter

Bestimmungsparameter	Aufbewahrungsgefäß
Kationen, Biogene Amine, Gluconsäure, organische Säuren, flüchtige Säure	100 mL Glasgefäß
Phenole	100 mL Polypropylengefäß
Acetaldehyd, 2-Ketoglutarinsäure, Brenztraubensäure	10 mL Polypropylengefäß
Mykotoxine, Fehltonen (Geosmin)	50 mL Polypropylen-Falcon

Zur Hemmung der Mikroorganismenaktivität während und nach dem Auftauprozess und der damit verbundenen möglichen Veränderung der jeweiligen Bestimmungsparameter wurden die in den entsprechenden Methoden beschriebenen Hemmmittel zugegeben.

8.2.1.2 Temperierung

Alle Proben wurden vor der jeweiligen Bestimmung auf 20 °C temperiert.

8.2.1.3 Verdünnungen

Alle beschriebenen Verdünnungen wurden mit demineralisiertem Wasser (20 °C; durchschnittlich 55 µS/cm) angesetzt, wenn keine abweichende Verdünnungslösung angegeben ist.

8.2.1.4 Validierungsparameter

8.2.1.4.1 Kalibrierung

Aus den Regressionsgeraden durch Auftragung der Konzentration gegen die Peakfläche (chromatographische Bestimmungen) bzw. gegen die Extinktion (photometrische Bestimmungen) wurden die entsprechenden Kalibrierfunktionen ermittelt. Diese wurden zur Konzentrationsbestimmung des jeweiligen Parameters herangezogen.

8.2.1.4.2 Präzision (Wiederholstandardabweichung)

Zur Ermittlung der Wiederholstandardabweichung (Verfahrensstandardabweichung) wurden geeignete Proben bzw. Standards zehnfach gemessen. Diese Messwerte wurden mittels des David-Tests auf Normalverteilung geprüft.

8.2.1.4.3 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen

Zur Ermittlung der Nachweis-(NG), Erfassungs-(EG) und Bestimmungsgrenzen (BG) wurde die DIN 32645 (Stand November 2008) und die darauf basierende Excel-Vorlage von Funk et al. (2005) herangezogen. Die jeweiligen Berechnungen erfolgten mittels zugehöriger Gleichungen der Kalibriergeradenmethode.

8.2.1.4.4 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der phenolischen Verbindungen mittels HPLC-UV

Zur Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurde ein Signal/Rausch (S/R)-Verhältnis von 3:1 bzw. 10:1 des kleinsten Kalibrierstandards herangezogen (Kromidas, 1999).

8.2.2 Weinausbau

8.2.2.1 Traubenlese/Sortierung

Die Trauben wurden per Hand- bzw. Maschine gelesen und in Traubenbüten transportiert (Tabelle 29). Die Sortierung erfolgte gemäß dem in Kapitel 4.1.2 beschriebenen Ablauf.

Tabelle 29: Versuchsspezifische Parameter

Versuchsbezeichnung	Lesedatum	Leseart	Fäulnisart	Selektionsquote [%]	Durchsatzmenge [kg/h]
V1-2010-Rsl	11.10.2010	Handlese	<i>Botrytis</i>	99,5	2439
V2-2010-Rsl	13.10.2010	Handlese	<i>Botrytis</i>	99,2	2575
V3-2010-Rsl	19.10.2010	Handlese	<i>Botrytis</i>	98,3	2118
V4-2010-Rsl	20.10.2010	Maschinenlese	<i>Botrytis</i>	95,3	1726
V5-2010-Rsl	27.10.2010	Handlese	<i>Botrytis</i>	98,5	1560
V6-2010-Rsl	28.10.2010	Maschinenlese	<i>Botrytis</i>	96,7	2347
<hr/>					
V1-2011-GrB	21.09.2011	Handlese	<i>Botrytis</i>	59,2	1640
V2-2011-MTh	21.09.2011	Maschinenlese	<i>Botrytis</i> +Schwarzfäule	98,0	3321
V3-2011-MTh	21.09.2011	Maschinenlese	<i>Botrytis</i> + <i>Peronospora</i>	98,6	2452
V4-2011-SpB	21.09.2011	Handlese	<i>Botrytis</i>	71,5	2097
V5-2011-Rsl	26.09.2011/ Sortierung am 27.9.	Handlese	<i>Botrytis</i> +Essigfäule	99,4	2120
V6-2011-Rsl	28.09.2011	Maschinenlese	<i>Botrytis</i>	97,5	2845
V7-2011-GrB	06.10.2011	Handlese	<i>Botrytis</i> +Essigfäule	68,8	1126
V8-2011-Rsl	17.10.2011/ Sortierung am 18.10.	Handlese	<i>Botrytis</i>	89,6	1358
V9-2011-Rsl	18.10.2011	Maschinenlese	<i>Botrytis</i>	89,5	947

8.2.2.2 Önologische Verfahrenstechnik nach der Sortierung

Die einzelnen Versuchsfraktionen (Kontrolle, Saft, Positiv und Negativ) wurden je Weinart (Weißwein oder Rotwein) standardisiert vinifiziert. Die önologische Verfahrenstechnik orientierte sich hierbei an der guten fachlichen Praxis und kann mit einem konventionellen, qualitativ hochwertigen Weinausbau verglichen werden. In Abbildung 143 ist der schematische Ablauf des standardisierten Weinausbaus der Sortierversuche dargestellt.

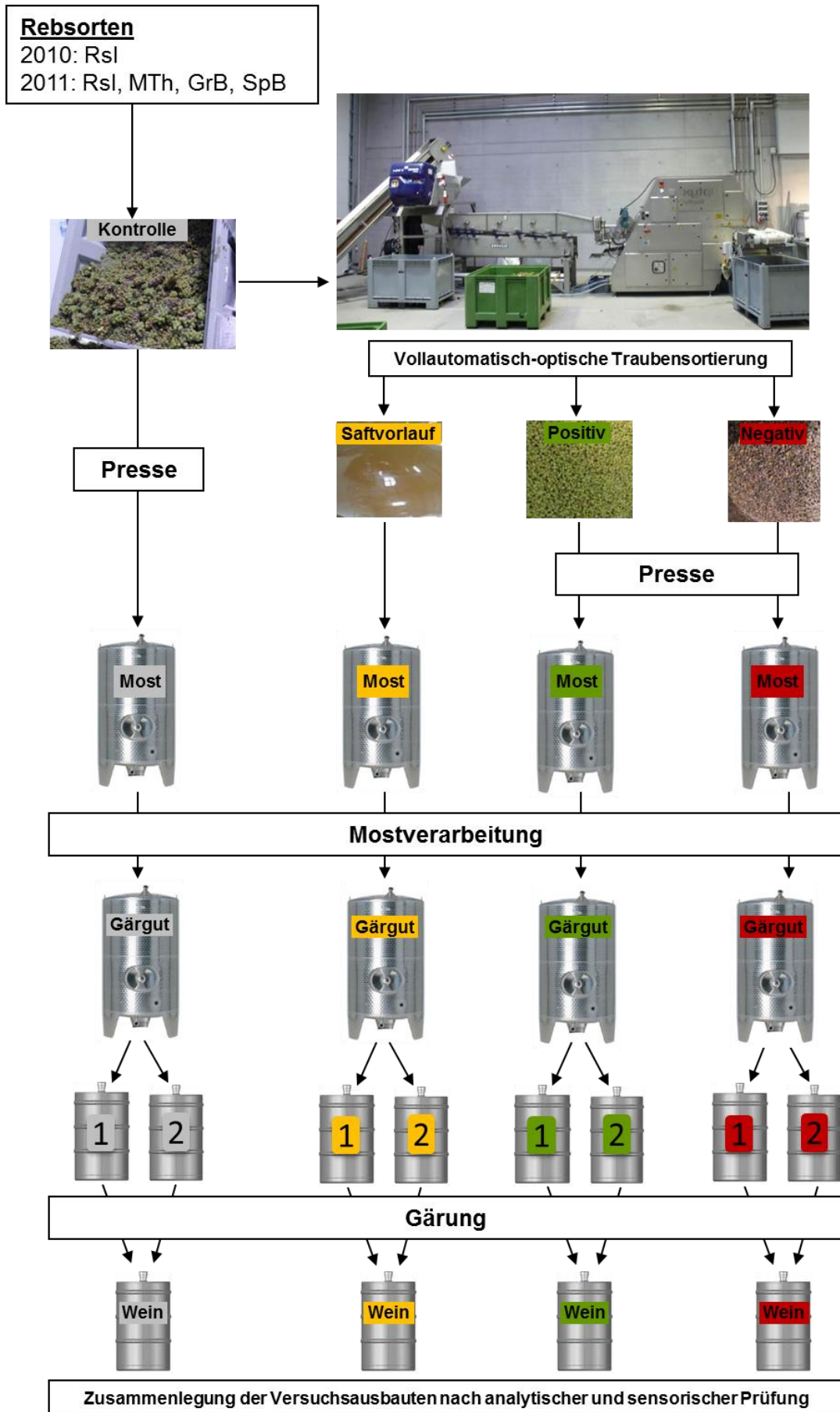


Abbildung 143: Schematische Darstellung des standardisierten Weinausbaus

8.2.2.2.1 Weißweinausbau

Die Trauben der Kontrollfraktionen wurden im Verfahrensablauf mechanisch auf gleiche Weise wie die Trauben der Sortierfraktionen durch Traubenaufschüttung auf ein Förderband (Fa. Scharfenberger) mit anschließender Entrappung (Trommelentrappner Delta E, Bucher Vaslin) bearbeitet.

Die Kontrollen sowie die nach Sortierung erhaltenen Positiv- und Negativfraktionen wurden mittels einer Sternwalzenmühle angequetscht und zügig, ohne lange Maischestandzeiten, mittels einer Membranpresse (halbgeschlitzte 400 L Europress-Traubenpresse, Fa. Scharfenberger) mit dem in Tabelle 30 aufgeführten Programm abgepresst.

Tabelle 30: Pressprogramm für die Fraktionen der weißen Rebsorten

Druckphase	1	2	3	4	5	6	7	8
Zyklen	4	3	1	1	1	1	1	1
Druck [bar]	0,2	0,4	0,6	0,8	1,1	1,4	1,7	2,0

Der Saftvorlauf wurde nach Abtrennung von Kernen etc. über Siebe der weiteren Mostverarbeitung zugeführt. Der Saftanteil war bei einigen Versuchen des Jahrgangs 2010 so gering, dass der Ausbau einer Saftfraktion nicht möglich war.

Den Mosten wurde zur Pektinaufspaltung und damit zur besseren Vorklärung 2 g/hL eines pektolytischen Enzyms (SIHA Panzym Clair Rapide G; Eaton, Langenlonsheim, Deutschland) zugesetzt. Im Anschluss erfolgte eine bis zu 12-stündige Sedimentationszeit des Trubes in 100 L Glasballons. Ziel dieser Mostvorklärung war das Erreichen eines Trübungsgrades von unter 100 NTU (Nephelometric Turbidity Unit). Bei erfolgreicher Vorklärung wurde der geklärte Most abgezogen und weiter verarbeitet. Konnte der Vorklärungsgrad nicht durch die Sedimentation erreicht werden, wurde der Most mithilfe eines Anschwemm-Kammerfilters (Fa. Della Toffola, Filterplatten: 400x400 mm) mit monofilen Filtertüchern (eSan-Filtertuch, Erbslöh AG, Geisenheim Deutschland) und einer Mischung der Filterhilfsmittel Perlite (BECOLITE 5000; Eaton, Langenlonsheim, Deutschland) und Cellulose (CelluFluxx P50; Erbslöh AG, Geisenheim Deutschland) im Verhältnis 80:20 auf einen Trübungsgrad von unter 100 NTU grobfiltriert.

Bei den vorgeklärten Mosten der einzelnen Versuche wurden keine Behandlungs-/Schönungsmaßnahmen wie bei einer konventionellen Mostverarbeitung durchgeführt. Einzig die Anpassung der Parameter Mostgewicht und Säure der einzelnen Fraktionen wurde, wenn nötig, durchgeführt, um vergleichbare Alkoholwerte und Säurewerte im späteren Wein zu erreichen, da zu große Differenzen die sensorische

Auswertung stark beeinflussen könnten. Die Mostgewichts-anpassung zur Erzielung des gewünschten, praxisnahen Alkoholgehaltes im späteren Wein sowie zum sensorischen Ausgleich der Mostgewichtsunterschiede der verschiedenen Fraktionen wurde, wenn nötig, mittels Anreicherung des Mostes mit Saccharose durchgeführt. Zielwert des Mostgewichtes zur Gärung waren mindestens 92 °Oe. Die Säurereduzierung im Jahrgang 2010 erfolgte durch Entsäuerung mit CaCO₃. Je nach Höhe der Entsäuerung wurde eine normale Entsäuerung (Reduzierung der Weinsäure), oder eine Doppelsalzentsäuerung (Reduzierung der Wein- und Äpfelsäure) durchgeführt.

Nach Aufbereitung der Moste wurden diese in einheitlich große Edelstahl-Kegs mit 30 oder 50 L Volumen gefüllt. Je Fraktion wurden zwei Fässer gefüllt, um eine doppelte Vinifikation (zwecks Wiederholung) zu ermöglichen. Da es sich bei der Vergärung um einen mikrobiologischen Prozess mit vielen Einflussparametern handelt, konnte durch den doppelten Versuchsaufbau sichergestellt werden, dass sensorisch fehlerhafte Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen während der Gärung über den analytischen (FTIR) und sensorischen Vergleich der Wiederholungen erkannt und der betroffene Ausbau gegebenenfalls verworfen werden konnten.

Alle Weißweinflaktionen wurden mittels Reinzuchtgärung vinifiziert. Hierbei wurden die Moste nach Aufbereitung mit 20 g/hL einer nach Herstellerangaben rehydratisierten und ans Mostmilieu adaptierten *Saccharomyces cerevisiae* Hefe (Fermicru® VB1, DSM, Heerlen, Niederlande) beimpft. Die ausgewählte Hefe zeichnet sich durch ein gutes Gärvermögen aus und dient der Erzeugung rebsortentypischer Weinausprägungen, vor allem bei Riesling und Grauburgunder (Datenblatt Fermicru® VB1).

Da nicht nur Hefen, sondern insbesondere auch die Gärführung einen großen Einfluss auf den Charakter des Weines hat (Schmidt, 2013), wurde diese durch eine geeignete Temperierung gesteuert.

Ziel war es, einen vergleichbaren Gärverlauf wie in konventionellen Großgebinden zu erreichen. Eine durchschnittliche Abnahme von circa 5 °Oe pro Tag wurde angestrebt. Hierzu wurden die Edelstahl-Kegs in temperierte Räume gestellt; bei 15-16 °C zu Beginn der Gärung bis ca. zur Hälfte des Zuckerabbaus sowie bei 18-20 °C zur Endvergärung. Durch die geringen Volumina, das günstige Verhältnis von Fassoberfläche zu Flüssigkeit, sowie den gut temperaturleitenden Edelstahl, konnte über die Raumlufthemperatur die Temperatur des exothermen Gärprozesses in der Flüssigkeit geregelt werden. Die Gärdauer betrug mit dieser Verfahrenstechnik etwa drei Wochen (siehe Daten-CD).

Zur Nährstoffversorgung der Hefe wurde einzig Diammoniumhydrogenphosphat (Gärsalz, Begerow, Langenlonsheim, Deutschland) in gestaffelten Zugaben von zwei mal 15 g/hL nach 1/3 der Gärphase sowie nach der Hälfte der Gärphase zugesetzt.

Nach der alkoholischen Gärung erfolgte eine Lagerung bei 8 °C. Die Abschwefelung und Einstellung des freien SO₂ auf 40 mg/L (Sulfossil 200, siehe Kapitel 8.1.3) wurde 7 Tage nach Ende der alkoholischen Gärung durchgeführt.

8.2.2.2.2 Rotweinausbau

Die Trauben der Kontrollfraktionen wurden im Verfahrensablauf mechanisch auf gleiche Weise wie die Trauben der Sortierfraktionen durch Traubenaufschüttung auf ein Transportband mit anschließender Entrappung (Trommelentrapper) bearbeitet.

Die Kontrollen sowie die nach Sortierung erhaltenen Positiv- und Negativfraktionen wurden mittels einer Sternwalzenmühle angequetscht und je 100 kg Maische in dickwandige zylindrische PE-Tonnen mit einem Fassungsvermögen von 120 L gefüllt. Je Fraktion wurden zwei Tonnen gefüllt, um eine doppelte Vinifikation (zwecks Wiederholung) zu ermöglichen.

Die Mostgewichts-anpassung zur Erzielung des gewünschten praxisnahen Alkoholgehaltes im späteren Wein sowie zum sensorischen Ausgleich der Mostgewichtsunterschiede der verschiedenen Fraktionen wurde, wenn nötig, mittels Anreicherung der Maische mit Saccharose durchgeführt. Zielwert des Mostgewichtes zur Gärung waren mindestens 100 °Oe.

Zur Pektinaufspaltung sowie optimalen Extraktion der Beereninhaltsstoffe, insbesondere der Anthocyane, wurde der Maische 1 g/100 kg des pektolytischen Enzyms Trenolin Color DF (Erbslöh AG, Geisenheim, Deutschland) zugesetzt.

Der Saftvorlauf wurde nach Abtrennung von Kernen etc. über Siebe der weiteren Mostverarbeitung zugeführt. Der Ausbau erfolgte analog der Verfahrenstechnik der Weißweinbereitung (siehe Kapitel 8.2.2.2.1). Aus der Saffraktion wurde ein Roséwein, aus den anderen Fraktionen jeweils ein Rotwein produziert. Ein Vergleich der Wein- und Sensorikanalysen zwischen der Saffraktion und der Kontroll-, Positiv- und Negativfraktion des Spätburgunderversuches war aufgrund der unterschiedlichen Vinifikation daher nicht möglich.

Die Vinifikation der weiteren Rotweinflaktionen erfolgte mittels Maischegärung. Hierzu wurde die Maische mit 20 g/hL einer nach Herstellerangaben rehydratisierten und an das Maischemilieu adaptierten *Saccharomyces cerevisiae* Hefe (SIHA 8 Burgunderhefe, Eaton, Langenlonsheim, Deutschland) beimpft. Die ausgewählte Hefe zeichnet sich durch ein gutes Gärvermögen mit einem mittleren Nährstoffbedarf sowie einer rebsortentypischen Weinausprägung aus (Begerow Hefenavigator).

Die Gärung erfolgte in einem auf 25 °C temperierten Raum. Ziel war eine Gärtemperatur in der Maische von 25-30 °C zur optimalen Extraktion der Beereninhaltsstoffe (Weiland, 2010). Während der Gärung wurde die Maische mehrmals am Tag durchmischt, um den Kontakt bzw. die Extraktion zwischen Saft und Beerenbestandteilen sicherzustellen. Eine durchschnittliche Abnahme von circa 20 °Oe pro Tag wurde angestrebt. Im Anschluss an die Gärung wurde der Wein praxisüblich eine Woche auf der Maische belassen und einmal am Tag durchmischt. Weitere, sensorisch für den Rotwein wichtige Maischeinhaltsstoffe, insbesondere Phenole, sollten hierdurch extrahiert werden. Im Anschluss wurde der Rotwein mittels einer Membranpresse (halbgeschlitzte 400 L Europress-Traubenpresse, Fa. Scharfenberger) unter dem in Tabelle 31 aufgeführten Pressprogramm abgewirzt (Abtrennung des Rotweines von der Maische).

Tabelle 31: Pressprogramm für die Fraktionen des Spätburgunders

Druckphase	1	2	3	4	5	6
Zyklen	4	3	1	1	1	1
Druck [bar]	0,2	0,4	0,6	0,8	1,1	1,4

Nach einwöchiger Sedimentation bei 8 °C in 100 L Glasballons wurden die Rotweine vom Trub abgestochen. Der geklärte Rotwein wurde in 50 L Edelstahl-Keg-Fässer gefüllt und bei 20 °C Lagertemperatur mit Milchsäurebakterien (*Oenococcus oeni*, Viniflora® CH11, Chr. Hansen, Hørsholm, Dänemark) versetzt. Wie bei der Rotweinbereitung üblich, wurde eine malolaktische Gärung (siehe Kapitel 4.6.6.2.5) bis zum vollständigen Äpfelsäureabbau durchgeführt. Im Anschluss erfolgte eine Lagerung bei 15 °C. Die Abschwefelung und Einstellung des freien SO₂ auf 40 mg/L (Sulfosol 200, siehe Kapitel 8.1.3) erfolgte 8 Wochen nach Beendigung des BSA.

8.2.2.2.3 Filtration und Abfüllung

Nach dreimonatiger Lagerung erfolgte eine schonende Filtration der Weine mittels Tiefenfilterkerze (Beco Protect PG010, Begerow, Langenlonsheim, Deutschland). Im Anschluss wurden die Weine kaltsteril mittels Schichtenfilter (Seitz EK, Pall GmbH, Dreieich, Deutschland) und Membranfilter (Sartobran P 0,2 µm, Sartorius, Göttingen, Deutschland) in 0,75 L grüne Schlegelflaschen abgefüllt und mit MCA (Metal Closure Aluminium)-Schraubverschlüssen verschlossen. Die weitere Flaschenlagerung erfolgte bei relativ konstanten Temperaturen (ca. 15 °C).

8.2.3 Bonitur

Zur Ermittlung der Selektionsquoten des Traubensortierers wurde das im Folgenden dargestellte Boniturschema angewendet (Porten, Feltes, 2013). Die Sortierfraktionen Kontrolle, Positiv und Negativ aller durchgeführten Versuche wurden nach diesem auf Massenverhältnissen basierendem Schema von Matthias Porten (DLR Mosel) bonitiert.

Je Fraktion (Kontrolle, Positiv, Negativ) wurde eine Durchschnittsmenge von 2-3 kg Traubenmaterial entnommen und ausgezählt. Hierzu wurde das entnommene Material auf dem Selektionstisch per Hand homogenisiert und zur statistischen Auswertung in vier etwa gleich große Portionen aufgeteilt. Je Rebsorte wurden unterschiedliche Boniturskriterien festgelegt: Bei Riesling, Müller-Thurgau und Spätburgunder wurde nach den Merkmalen positiv, negativ und traubeneigene Verunreinigungen sowie bei Grauburgunder nach den Merkmalen positiv, negativ und schlecht verfärbte Beeren bonitiert. Zur positiven Fraktion zählten gesunde, befallsfreie und durchgefärbte (bei Grauburgunder) Beeren; als negative Fraktion wurden schadhafte und pilzbefallene Beeren definiert. Da beim Grauburgunder viele ungleichmäßig durchgefärbte, eher unreife Beeren vorlagen, wurden schlecht verfärbte Beeren ebenfalls zur Negativfraktion selektiert. Zu den traubeneigenen Verunreinigungen zählten Stielbruchstücke, Blatt- und Pflanzenteile. Das Gewicht der nach diesen Kriterien handselektierten Fraktionen wurde bestimmt. Die Mengenanteile der vier bonitierten Fraktionen der drei Sortierfraktionen wurden zur Ermittlung der Selektionsquote und der jeweiligen Anteile am gesamten Lesegut herangezogen.

Der Anteil der Negativfraktion an der Gesamtmenge der jeweiligen Auszählung wurde als Befallsstärke definiert. Die Selektionsquote eines Versuches der vollautomatisch-optischen Traubensortierung ergab sich aus dem reziproken Verhältnis des Mittelwertes der Befallsstärken der Positivfraktion und des Mittelwertes der Befallsstärken der Kontrollfraktion.

Um Massenverhältnisse betrachten zu können, wurden die Massen aller Fraktionen bestimmt. Vor der Traubensortierung wurde zunächst die Masse des gesamten Lesegutes bestimmt; nach der Sortierung wurden die Massen der Positiv-, der Negativfraktion und des Saftvorlaufes sowie der nach dem Abbeeren anfallenden Rappen erfasst. Zusammen mit den Werten der Handbonituren konnten damit vielfältige Aussagen über die Massenverhältnisse der Negativ-Anteile in der Positivfraktion („falsch-positiv“), der Positiv-Anteile in der Negativfraktion („falsch-negativ“) oder der Negativ-Anteile im Ausgangsmaterial getroffen werden (Porten, Feltes, 2013).

8.2.4 Kationen und Biogene Amine

8.2.4.1 Allgemeines

Die analytische Bestimmung der biogenen Amine ist aufgrund ihrer Struktur, der komplexen Weinmatrix und der durchschnittlich geringen Gehalte im Wein schwierig (Önal, 2007; Del Prete et al., 2009).

Es wurden viele Methoden zu ihrer Bestimmung entwickelt, wozu die Dünnschichtchromatographie (TLC), Gaschromatographie (GC), Kapillarelektrophorese (CE) sowie Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) zählen. HPLC-Methoden mit Vor- oder Nachsäulenderivatisierung (u. a. mit Dansylchlorid, Fluorescein, o-Phthalaldehyd) sind die am häufigsten beschriebenen Verfahren zur Trennung und Bestimmung der biogenen Amine. Zur Detektion werden meist Fluoreszenz-, UV- und elektrochemische Detektoren eingesetzt. Die Derivatisierungsschritte bei der Probenaufarbeitung sind jedoch sehr zeitaufwendig (Önal, 2007).

Mit der in diesem Projekt angewendeten Ionenchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektion (LD) konnte eine gute Trennung und Bestimmung der biogenen Amine Putrescin und Histamin erzielt werden. Diese Methode zeichnete sich auch durch einen geringen Zeitaufwand bei der Probenaufarbeitung aus, da hier nur eine Membranfiltration sowie Ansäuerung durchgeführt werden musste.

8.2.4.2 Durchführung

8.2.4.2.1 Chromatographie-Parameter

Die chromatographische Trennung der Kationen Kalium, Magnesium und Calcium und der biogenen Amine Putrescin und Histamin konnte mittels Ionenchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion (IC-LD) unter den in Tabelle 32 aufgelisteten Bedingungen erzielt werden (in Anlehnung an Rudy, 2012).

Tabelle 32: Geräteparameter zur Bestimmung der Kationen

Gerät	IC-LD, Metrohm
Säulen	Metrosep C1 Metrosep C4 Guard (Vorsäule)
Material	Silicagel mit Carboxylgruppen 125 x 4,6 mm, 5 µm (Hauptsäule) 5 x 4,0 mm, 5 µm (Vorsäule)
Fluss	1 mL/min
Fließmittel	5 mmol/L HNO ₃
Injektionsvolumen	20 µL

Nach Messung einer Probe zur Bestimmung der biogenen Amine wurde zur Spülung der Säule zweimal 20%-ige Acetonlösung injiziert.

Nach Messung einer Probe zur Bestimmung der Kationen wurde zur Spülung der Säule einmal 20%-ige Acetonlösung injiziert.

8.2.4.2 Probenaufarbeitung

Zur Bestimmung von Histamin und Putrescin wurden die Gärgutproben mit Sulfosol 200 stabilisiert (Ammoniumbisulfidlösung; Proben auf 100 mg/L Gesamt-SO₂ eingestellt) und filtriert. Zu 25 mL Gärgut- bzw. Weinprobe wurden 25 µL HNO₃ (1 mol/L) zugegeben und membranfiltriert. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Zur Bestimmung der Kationen Kalium, Magnesium und Calcium wurden die Gärgut- bzw. Weinproben im Verhältnis 1:5 bzw 1:10 mit Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 0,1 % v/v HNO₃ (1 mol/L) analog zu den Kalibrierstandards wurden die Verdünnungen membranfiltriert und zur Messung eingesetzt. Pro Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die ermittelten Gehalte wurden mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.

8.2.4.3 Validierungsparameter

Kalibrierung

Zur quantitativen Bestimmung der biogenen Amine und der Kationen wurde mit der Standardlösung zur Weinanalytik eine Matrix-Kalibrierung durchgeführt. Die Konzentrationen der Kationen beziehen sich auf die Gehalte der Standardlösung zur Weinanalytik; die biogenen Amine Putrescin und Histamin wurden im Konzentrationsbereich von 0,1-10 mg/L aus einer Stammlösung der Konzentration 1 g/L zudotiert (Tabelle 33). Je Standard wurde ein Gesamtvolumen von 50 mL angesetzt; diese Standards wurden mit 50 µL HNO₃ (1 mol/L) versetzt und membranfiltriert. Abbildung 144 zeigt das Chromatogramm der biogenen Amine der Konzentration 6 mg/L.

Tabelle 33: Standards zur Bestimmung der biogenen Amine

Volumen aus Standardlösung zur Weinanalytik [mL/50 mL]	Volumen aus Stammlösung der biogenen Amine [µL/50 mL]	Konzentration biogene Amine [mg/L]
0,5	5	0,1
1,25	12,5	0,25
2	20	0,4
2,5	25	0,5
5	50	1
12,5	100	2
25	200	4
37,5	300	6
50*	400	8
50*	500	10

*50 mL Messkolben erst nach Zugabe der biogenen Amine mit Standardlösung zur Marke aufgefüllt

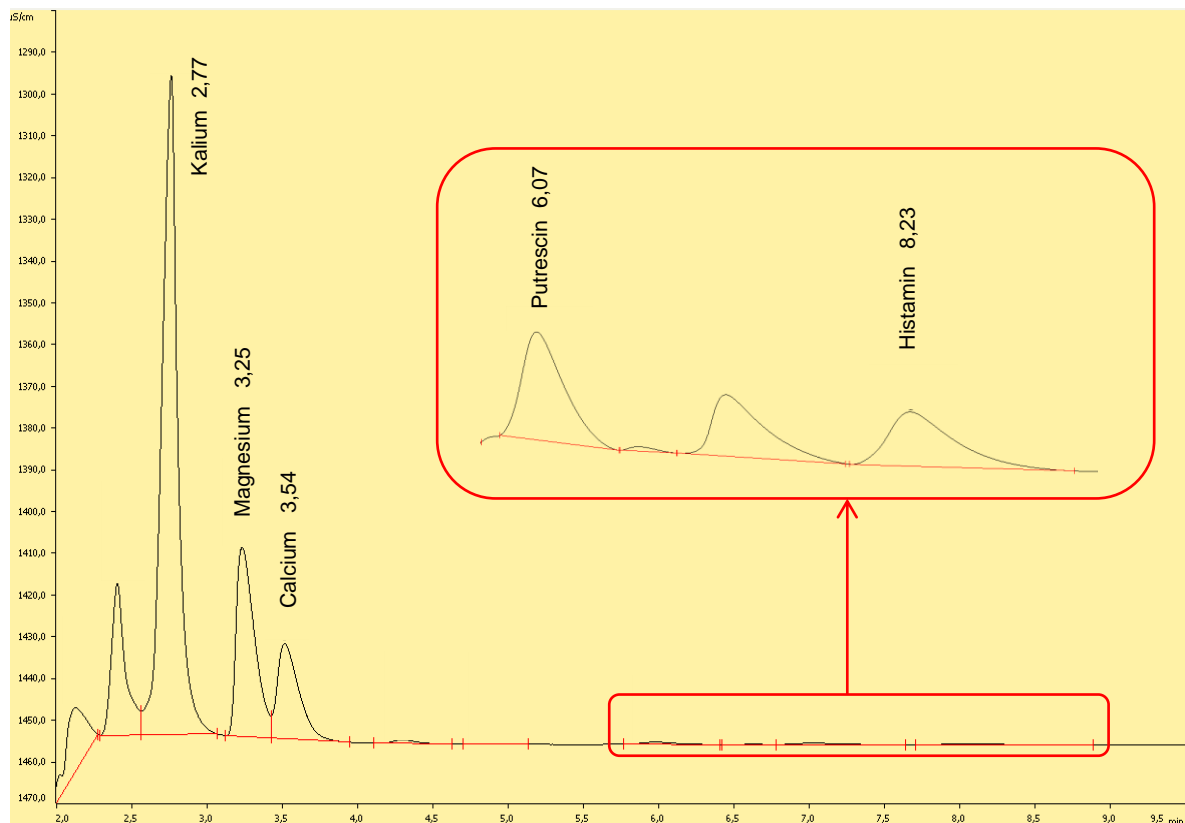


Abbildung 144: Chromatogramm der biogenen Amine der Konzentration 6 mg/L

Zur quantitativen Bestimmung der Kationen wurden die entsprechenden Volumina der Standardlösung zur Weinanalytik mit Wasser verdünnt (Gesamtvolumen 50 mL), mit 50 µL HNO₃ (1 mol/L) versetzt und membranfiltriert. Die entsprechenden Konzentrationen der Kationen in den Standards befinden sich in Tabelle 34.

Tabelle 34: Standards zur Bestimmung der Kationen

Volumen aus Standardlösung zur Weinanalytik [mL/50 mL]	Kalium [mg/L]	Magnesium [mg/L]	Calcium [mg/L]
0,5	9,44	0,95	0,94
1	18,8	1,9	1,88
2,5	47,2	4,8	4,8
5	94,4	9,6	9,4
7,5	141,6	14,2	14,2
10	188,8	19	18,8
12,5	236	24	24
25	472	48	47

Auswertung

Aus den Regressionsgeraden der Auftragung der Konzentration gegen die Peakfläche wurden die Gehalte der Kationen und der biogenen Amine in den Proben ermittelt. Die jeweiligen Retentionszeiten sowie die Kalibrierfunktionen befinden sich in Tabelle 35.

Tabelle 35: Retentionszeiten und Kalibrierfunktionen der Kationen und biogenen Amine

Analyt	Retentionszeit [min]	Kalibrierfunktion Konzentration <-> Peakfläche	Bestimmtheitsmaß R ²
Kalium	2,77	$y=0,0833x+0,1218$	0,9995
Magnesium	3,25	$y=0,2738x+0,0319$	0,9995
Calcium	3,54	$y=0,1649x+0,0033$	0,9986
Putrescin	6,07	$y=0,0785x+0,0028$	0,9989
Histamin	8,23	$y=0,0488x+0,0018$	0,9999

Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wurden gemäß Kapitel 8.2.1.4.3 ermittelt. Da in den Proben die Gehalte an Putrescin und Histamin unter 2 mg/L lagen, wurden zur Ermittlung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen nur die Kalibrierstandards des Bereiches von 0,1-2 mg/L herangezogen (Tabelle 36).

Tabelle 36: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Kationen und biogenen Amine

Analyt	Nachweisgrenze [mg/L]	Erfassungsgrenze [mg/L]	Bestimmungsgrenze [mg/L]
Kalium	6,00	12,0	22,1
Magnesium	0,62	1,24	2,28
Calcium	1,06	2,12	3,84
Putrescin	0,03	0,05	0,10
Histamin	0,02	0,04	0,08

Wiederholstandardabweichung/Variationskoeffizient

Zur Bestimmung der Wiederholstandardabweichungen (s) und der Variationskoeffizienten (VK) der Kationen wurde der Pilotwein zehnfach gemessen; bei den biogenen Aminen wurde der Standard der Konzentration 6 mg/L (mittlerer Gehalt der Kalibrierreihe) zehnfach bestimmt (Tabelle 37).

Tabelle 37: Wiederholstandardabweichungen/Variationskoeffizienten der Kationen und biogenen Amine (n=10)

Analyt	MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
Kalium	185	1,34	0,72
Magnesium	15,8	0,07	0,44
Calcium	11,7	0,06	0,51
Putrescin	5,92	0,13	2,20
Histamin	5,95	0,12	2,02

8.2.5 Folin-Ciocalteu-Index

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes erfolgte analog der Vorschrift MA-E-AS2-10-INDFOL der Methodensammlung der OIV (OIV, 2012). Die Ergebnisse wurden jedoch nicht in Form des Folin-Ciocalteu-Index angegeben, sondern wie im Folgenden erläutert, in Form der Gallussäure-Äquivalente.

Die Folin-Ciocalteu-Methode (FC) zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes spricht gleichmäßig auf die vielen unterschiedlichen Phenole an, sodass exakte Messungen möglich sind (Waterhouse, 2002b). Der analytisch ermittelte Gehalt kann jedoch von den sensorisch ermittelten Eigenschaften wie Adstringenz und Farbe abweichen (De Beer et al., 2004). Da es sich bei der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes um eine Vielzahl unterschiedlicher Verbindungen handelt, wird die Gallussäure als allgemeingültige Referenzsubstanz herangezogen, wodurch ein Datenvergleich ermöglicht wird. Das Ergebnis wird demnach in Form der Gallussäure-Äquivalente (Gallic acid equivalents, GAE) in mg/L dargestellt (Waterhouse, 2002b).

Bei Weinen können Schwefeldioxid und Ascorbinsäure sowie hohe Zuckergehalte zu erhöhten Gesamtphenolgehalten bei Bestimmung mittels der FC-Methode beitragen. In alkalischer Lösung liegen die Zuckermoleküle in ihrer Endiol-Form vor, sodass diese ebenfalls oxidiert werden können (Waterhouse, 2002b).

Die Ermittlung des Gesamtphenolgehaltes mittels FC-Methode liefert einen wichtigen Überblick, was durch Summierung einzelner, mittels HPLC bestimmter Phenolgehalte aufgrund deren Vielfalt nicht möglich wäre (Singleton, Rossi, 1965).

8.2.5.1 Prinzip

Alle im Wein enthaltenen phenolischen Verbindungen ionisieren im Alkalischen vollständig zu ihrer Phenolatstruktur und werden durch das Folin-Ciocalteu-Reagenz zu Chinonen oxidiert. Dieses Reagenz besteht aus der Phosphorwolframsäure ($H_3PW_{12}O_{40}$) und der Phosphormolybdänsäure ($H_3PMo_{12}O_{40}$), die nach Oxidation der Phenole zu intensiv blauen Verbindungen (W_8O_{23} / Mo_8O_{23}) reduziert werden. Speziell mono- und dihydroxylierte Phenole reagieren mit dem FC-Reagenz (Abbildung 145), wohingegen die Reaktion bei Methoxyverbindungen gehemmt wird. Die Blaufärbung weist ein Absorptionsmaximum bei 750 nm auf und ist proportional zum vorliegenden Gesamtphenolgehalt der Probe (OIV, 2012).

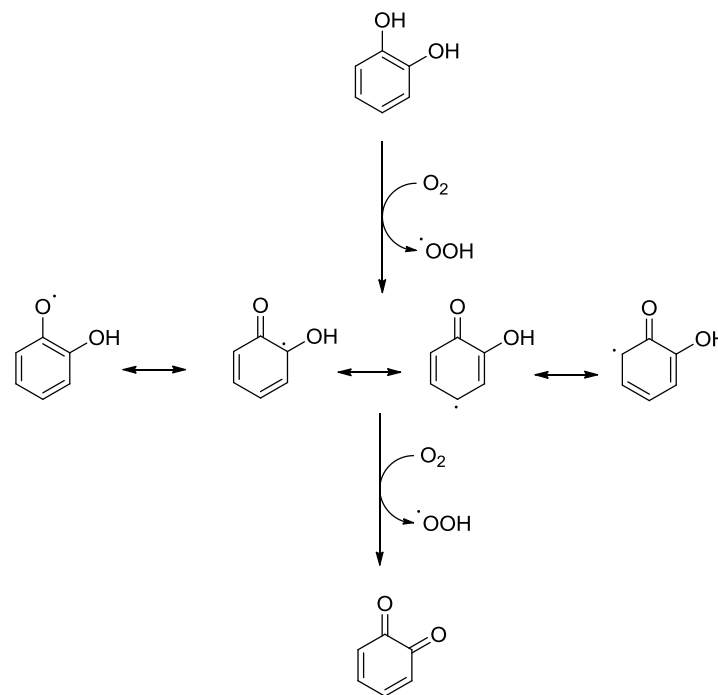


Abbildung 145: Allgemeiner Reaktionsmechanismus der Oxidation einer o-Diphenolverbindung (modifiziert nach Kennedy et al., 2006)

Detaillierte molekulare und elektronische Strukturen der blauen Reaktionsprodukte sind unklar und aufgrund ihrer komplexen Eigenschaften schwierig zu ermitteln. Biologische Proben enthalten keine Verbindungen, die bei 750 nm absorbieren, weshalb diese Wellenlänge für die FC-Methode gewählt wird (OIV, 1990; Singleton et al., 1999).

8.2.5.2 Durchführung

In Tabelle 38 sind die Photometrie-Parameter zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes mittels der FC-Methode dargestellt.

Tabelle 38: Photometrie-Parameter zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes mittels der Folin-Ciocalteau-Methode

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlänge	750 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.5.2.1 Probenaufarbeitung

Die Gärgutproben wurden mit 1 mg/mL Natriumazid stabilisiert.

Vor der Bestimmung wurden die Gärgut- und Weinproben membranfiltriert. In einen 100 mL Messkolben wurden 1 mL Probe, 50 mL Wasser, 5 mL Folin-Ciocalteau-Reagenz und 20 mL Natriumcarbonat-Lösung (gesättigt) unter Einbehaltung der beschriebenen Reihenfolge pipettiert, zur Marke mit Wasser aufgefüllt und geschüttelt. Nach 30 Minuten Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurde die Absorption der Lösung gegen Wasser bestimmt. Bei jeder Bestimmung wurde eine Leerprobe (d. h. nur Reagenzien) mitgeführt. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

8.2.5.2.2 Auswertung

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes als GAE erfolgte über eine externe Kalibrierung mit Gallussäure im Bereich von 25-300 mg/L.

8.2.5.3 Validierungsparameter

Die ermittelten Validierungsparameter zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes sind in Tabelle 39 zusammengefasst. Zur Berechnung der Präzisionsgrößen wurde der Pilotwein 10-fach gemessen.

Tabelle 39: Validierungsparameter der Gesamtphenol-Bestimmung

Konzentrationen Kalibrierstandards [mg/L]	Kalibrierfunktion	NG [mg/L]	EG [mg/L]	BG [mg/L]	Präzision		
					MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
25, 50, 75, 100, 200, 300	$y=0,0012x-0,0031$ ($R^2=0,9997$)	3,6	7,2	13,5	243	1,8	0,7

8.2.6 FTIR-Spektroskopie zur Bestimmung von Most- und Weininhaltsstoffen

Darstellung in Anlehnung an die Verfahrensanweisung VA-MO-0800 des Analyzelabors DLR Mosel

8.2.6.1 Prinzip

Die FTIR (Fourier-Transformations-Infrarot)-Technik besteht darin, dass die unzerteilte polychromatische Infrarot-Strahlung auf zwei ungleich langen Wegen durch die Probe zum Detektor geführt wird. Dabei entsteht ein Interferogramm, das die gesamte Information des Infrarotspektrums enthält. Dieses wird anschließend über das mathematische Verfahren der Fourier-Transformation aus dem Interferogramm berechnet (Baumgartner et al., 2001). Die Messung erfolgt mit der FTIR bei konstanter Schichtdicke in Transmission. Über eine intern (DLR Mosel) erstellte Produktkalibrierung wird der Gehalt der einzelnen Analysenparameter berechnet. Jede Probe wird vom System zweifach gemessen und der Mittelwert ausgegeben.

8.2.6.2 Analyseparameter

Bei den Gärgutproben (Methode: GrapeScan) wurden folgende analytische Parameter mittels FTIR erfasst:

Dichte, Glucose, Fructose, Gesamtsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, pH-Wert, flüchtige Säure, Gluconsäure, Alkohol, Glycerin, NOPA (Reaktionsprodukt der α -Aminogruppe von Aminosäuren mit ortho-Phthaldialdehyd; hefeverwertbarer Stickstoffgehalt im Most)

Bei den Weinproben (Methode: WeinScan) wurden folgende analytische Parameter mittels FTIR erfasst:

Dichte, Alkohol (64-120 g/L), Glucose (1-50 g/L), Fructose (1-50 g/L), Saccharose, pH-Wert, Weinsäure, Äpfelsäure, Citronensäure, Milchsäure, Gesamtsäure (3-13 g/L), flüchtige Säure, Essigsäure, Glycerin

Bei den in Klammern aufgeführten Konzentrationsbereichen handelt es sich um die gültigen Bestimmungsbereiche der AP (Amtliche Prüfungsnummer)-Parameter. Zu allen anderen Parametern liegen keine Bestimmungsbereiche vor. Da bei der FTIR-Spektroskopie nur PLS-Kalibrierungen (partial least squares) und damit keine linearen Beziehungen zwischen den Konzentrationen und Absorptionen existieren, können keine Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Analyten berechnet werden.

8.2.6.3 Probenaufarbeitung

Alle Gärgut- und Weinproben wurden über einen Faltenfilter (DF 520A 150) in ein 50 mL Probengefäß filtriert und dreimal unter kräftigem Schütteln im Ultraschallbad entgast, um CO₂ aus der Probenlösung zu entfernen. Die Proben wurden anschließend mittels FTIR (FOSS WineScan FT 120) bestimmt.

8.2.7 Gluconsäure

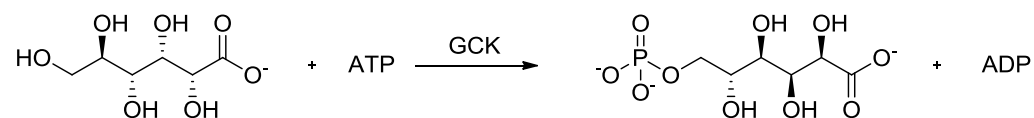
Zur Bestimmung der Gluconsäure wurde das Enzymkit D-Gluconsäure/D-Glucono- δ -Lacton der Firma Megazyme (Begleitbroschüre: K-GATE 11/05) verwendet.

8.2.7.1 Allgemeines

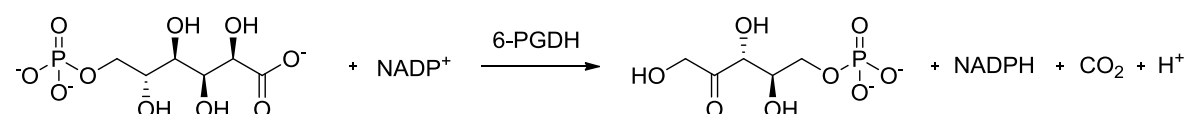
D-Gluconsäure liegt in wässriger Lösung im Gleichgewicht mit D-Glucono- δ -lacton und D-Glucono- γ -lacton vor (Römpp Online, 2013).

8.2.7.2 Prinzip

D-Gluconsäure (D-Gluconat) wird durch das Enzym Gluconat-Kinase (GCK) und Adenosin-5'-Triphosphat (ATP) zu D-Gluconat-6-Phosphat phosphoryliert; dabei entsteht gleichzeitig auch Adenosin-5'-Diphosphat (ADP).



In Verbindung mit Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP⁺) wird D-Gluconat-6-Phosphat durch 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGDH) oxidativ zu Ribulose-5-Phosphat decarboxyliert; dabei entsteht reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADPH).



Die während der Reaktion gebildete Menge an NADPH ist der Menge an Gluconsäure äquivalent und kann bei 340 nm photometrisch gemessen werden.

8.2.7.3 Durchführung

In Tabelle 40 sind die Photometrie-Parameter zur Gluconsäurebestimmung dargestellt.

Tabelle 40: Photometrie-Parameter zur Gluconsäurebestimmung

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlänge	340 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Endvolumen	2,54 mL
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.7.3.1 Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung erfolgte analog der Methodenbeschreibung für Weine (Arbeitsvorschrift Enzymkit D-Gluconsäure / D-Glucono- δ -lacton, Megazyme). Als Modifikation wurde die Volumenänderung durch Zugabe der Natronlauge mittels eines Korrekturfaktors berücksichtigt.

Zur Hydrolyse von D-Glucono- δ -lacton wurden 20 mL der Gärgut- und Weinproben mit 2 mL NaOH (2 mol/L) auf einen pH-Wert größer 11 eingestellt. Nach 10-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Proben membranfiltriert und mit einem Volumen von 0,1-0,4 mL zur Bestimmung eingesetzt. Bei Überschreitung der Gluconsäuremenge von 500 mg/L in der Küvette wurde eine 1:10 Verdünnung der Probe angesetzt. Bei jeder Bestimmung wurden eine Leerprobe (d. h. nur Puffersubstanzen und Enzyme) sowie der Gluconsäure-Standard der Konzentration 100 mg/L als Kontrolle mitgeführt. Die Messungen erfolgten bei 340 nm gegen demineralisiertes Wasser. In Tabelle 41 (modifiziert nach Megazyme) ist der verwendete Bestimmungsansatz dargestellt. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 41: Ablauf-Schema der Gluconsäurebestimmung (modifiziert nach Megazyme)

	Leerversuch [mL]	Probe [mL]
demineralisiertes Wasser	2,10	2,00
Probe	-	0,10
Lösung 1 (TEA Puffer)	0,20	0,20
Lösung 2 (NADP ⁺ /ATP)	0,20	0,20
Suspension 3 (6-PGDH)	0,02	0,02
Mischen, nach 5 Minuten die Absorbanz der Lösungen (A ₁) ablesen und Folgendes hinzufügen, um die Reaktionen zu starten:		
Suspension 4 (GCK)	0,02	0,02
Mischen und am Reaktionsende (nach 6 Minuten) die Absorbanz der Lösungen (A ₂) ablesen.		

8.2.7.3.2 Auswertung

Zur Berechnung der Gluconsäuregehalte wurde der vom Hersteller bereitgestellte Gluconsäure-Calculator (<http://www.megazyme.com>) verwendet. Die zugrundeliegenden Berechnungen sind im Folgenden dargestellt. Weiterhin wurde mittels eines Korrekturfaktors die Konzentrationsänderung durch die Volumenänderung der NaOH-Zugabe berücksichtigt.

Zur Berechnung des Absorptionswertes $\Delta A_{\text{Gluconsäure}}$ wurden die Absorptionsdifferenzen ($A_2 - A_1$) für Probe und Leerwert ermittelt und die Absorptionsdifferenz des Leerwertes von der Absorptionsdifferenz der Probe subtrahiert.

Die D-Gluconsäure-Konzentration wurde wie folgt berechnet:

$$c = \frac{V \cdot MW}{\varepsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A_{\text{D-Gluconsäure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

Variablen:

V = Endmenge [mL]

M = molare Masse von D-Gluconsäure [g/mol]

ε = Extinktionskoeffizient von NADPH bei 340 nm = 6300 [$\text{l} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$]

d = optische Weglänge [cm]

v = Probenmenge [mL]

$$\Delta A_{\text{Gluconsäure}} = (A_2 - A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - A_1)_{\text{Leerwert}}$$

F = Verdünnungsfaktor

Daraus ergibt sich für D-Gluconsäure:

$$c = \frac{2,54 \cdot 196,1}{6300 \cdot 1 \cdot 0,1} \cdot \Delta A_{\text{D-Gluconsäure}} \cdot F = 0,7906 \cdot \Delta A_{\text{D-Gluconsäure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

8.2.7.4 Validierungsparameter

Die ermittelten Validierungsparameter zur Gluconsäurebestimmung sind in Tabelle 42 zusammengefasst. Zur Berechnung der Präzisionsgrößen wurde der Pilotwein zehnfach gemessen.

Tabelle 42: Validierungsparameter der Gluconsäurebestimmung

Konzentrationen Kalibrierstandards [mg/L]	Kalibrierfunktion	NG [mg/L]	EG [mg/L]	BG [mg/L]	Präzision		
					MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
5,10,20,50,100,200,500	$y=0,0025x+0,0017$ ($R^2=1$)	1,02	2,05	3,97	209	0,4	0,2

8.2.8 Organische Säuren

8.2.8.1 Durchführung

8.2.8.1.1 Chromatographie-Parameter

Die chromatographische Trennung der organischen Säuren Citronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure und Milchsäure konnte mittels IC-LD unter den in Tabelle 43 aufgelisteten Bedingungen erzielt werden (in Anlehnung an die IC Application Note No. O-6; Metrohm, 2013. <http://metrohm.de/Branchen/Downloads/AN-O-006.pdf> (27.04.2013))

Tabelle 43: Geräteparameter zur Bestimmung der organischen Säuren

Gerät	IC-LD, Metrohm
Säulen	Metrosep Organic Acids Metrosep Organic Acids Guard (Vorsäule)
Säulenmaterial	Polystyrol/Divinylbenzol Copolymer mit Sulfonsäuregruppen 250 x 7,8 mm; 9 µm (Hauptsäule) 50 x 4,6 mm; 9 µm (Vorsäule)
Fließmittel	1300 mL 0,5 mmol/L H ₂ SO ₄ + 300 mL Aceton
Fluss	1 mL/min
Injektionsvolumen	20 µL

Nach Messung einer Probe zur Bestimmung der organischen Säuren wurde zur Spülung der Säule einmal eine Eluenten-Probe injiziert.

8.2.8.1.2 Probenaufarbeitung

Zur Bestimmung der organischen Säuren wurden die Proben 1:50 verdünnt, mit 100 µL 0,5 molarer H₂SO₄ angesäuert und membranfiltriert. Pro Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die ermittelten Gehalte wurden mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.

8.2.8.2 Validierungsparameter

Kalibrierung

Zur quantitativen Bestimmung der organischen Säuren wurde mit der Standardlösung zur Weinanalytik eine Matrix-Kalibrierung durchgeführt. Die Konzentrationen der organischen Säuren beziehen sich auf die Gehalte der Standardlösung zur Weinanalytik; die Standards 6 und 7 wurden durch Zugabe von Wein-, Äpfel- und Milchsäure (aus Lösungen der Konzentration 1 g/L) hergestellt. Je Standard wurde ein Gesamtvolumen

von 50 mL angesetzt; diese Standards wurden mit 100 μL H_2SO_4 (0,5 mol/L) versetzt und membranfiltriert. Die entsprechenden Konzentrationen der organischen Säuren in den Standards finden sich in Tabelle 44. Abbildung 146 zeigt das Chromatogramm der organischen Säuren des kleinsten Standards.

Tabelle 44: Ansatz der Standards zur Bestimmung der organischen Säuren

Volumen aus Standardlösung zur Weinanalytik [$\mu\text{L}/50\text{ mL}$]	Zugesetztes Volumen aus Stammlösung 1 g/L [mL/50 mL]			Citronensäure [mg/L]	Weinsäure [g/L]	Äpfelsäure [g/L]	Milchsäure [g/L]
	Weinsäure	Äpfelsäure	Milchsäure				
200				140	0,43	0,53	0,37
400				280	0,86	1,06	0,74
600				420	1,28	1,59	1,11
800				560	1,71	2,12	1,48
1000				700	2,14	2,65	1,85
1000	2	2	1	700	4,14	4,65	2,85
1000	4	4	2	700	6,14	6,65	3,85

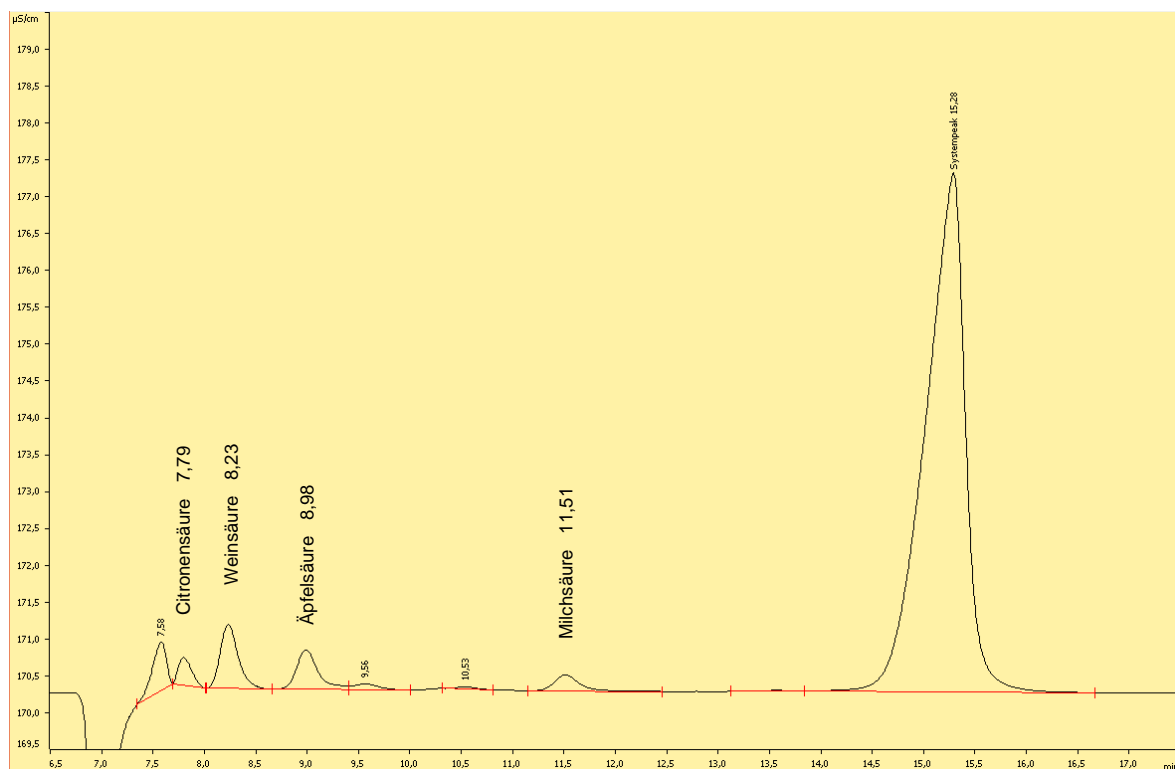


Abbildung 146: Chromatogramm des kleinsten Standards der organischen Säuren

Auswertung

Aus den Regressionsgeraden der Auftragung der Konzentration gegen die Peakfläche wurden die Gehalte der organischen Säuren in den Proben ermittelt. Die jeweiligen Retentionszeiten sowie Kalibrierfunktionen finden sich in Tabelle 45.

Tabelle 45: Retentionszeiten und Kalibrierfunktionen der organischen Säuren

Analyt	Retentionszeit [min]	Kalibrierfunktion Konzentration <-> Peakfläche	Bestimmtheitsmaß R ²
Citronensäure	7,79	$y=0,0008x-0,0417$	0,9955
Weinsäure	8,23	$y=0,0004x+0,0369$	1
Äpfelsäure	8,98	$y=0,0002x+0,0696$	0,9982
Milchsäure	11,51	$y=0,0001x-0,0009$	0,9999

Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen (Tabelle 46) wurden gemäß Kapitel 8.2.1.4.3 ermittelt.

Tabelle 46: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der organischen Säuren

Analyt	Nachweisgrenze [mg/L]	Erfassungsgrenze [mg/L]	Bestimmungsgrenze [mg/L]
Citronensäure	62,0	124,0	194,8
Weinsäure	26,8	53,6	101,4
Äpfelsäure	196,0	392,1	700,0
Milchsäure	14,3	28,5	56,3

Wiederholstandardabweichungen/Variationskoeffizienten

Zur Bestimmung der Wiederholstandardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (VK) der organischen Säuren wurde der Pilotwein zehnfach gemessen (Tabelle 47).

Tabelle 47: Wiederholstandardabweichungen/Variationskoeffizienten der organischen Säuren (n=10)

Analyt	MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
Citronensäure	342	5,80	1,70
Weinsäure	2473	36,0	1,46
Äpfelsäure	3273	23,3	0,71
Milchsäure	1895	11,5	0,61

8.2.9 Flüchtige Säure

Die Bestimmung der flüchtigen Säure wurde von den Mitarbeitern des Labors des DLR Mosel gemäß der in der Methodensammlung der OIV (MA-E-AS313-02-ACIVOL; OIV, 2012) dargestellten Analysenmethode durchgeführt.

Änderungen: evtl. vorhandene schweflige Säure wird mit H_2O_2 zu Sulfat oxidiert
statt 20 mL Probe werden 5 mL verwendet

8.2.9.1 Prinzip

Die flüchtige Säure stellt die Summe aller in der Probe vorkommenden organischen Säuren und ihrer Salze dar, die mit Wasserdampf destilliert werden können. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Ameisen-, Essig- und Propionsäure. Da schweflige Säure auch flüchtig ist, wird diese mit H_2O_2 zur Schwefelsäure oxidiert. Die flüchtigen Säuren werden durch Wasserdampfdestillation von der Most- bzw. Weinprobe getrennt und im Destillat titrimetrisch bestimmt (Würdig, Woller, 1989; OIV, 2012).

Der Anwendungsbereich reicht von 0,1-3 g/L.

8.2.9.2 Durchführung

Kohlensäure ist mit Wasserdampf flüchtig und wird vor der Destillation durch Unterdruck entfernt. Es wurden 5 mL der Probe mit 1 mL H_2O_2 (3 %) und 5 mL Weinsäurelösung (25 g/L) versetzt und mittels Vapodest (Gerhardt) destilliert. Nach Beendigung der Destillation wurde der Kolben bis zur Schlierenbildung kurz auf der Herdplatte erhitzt. Nach Zugabe einiger Tropfen Phenolphthalein wurde die überdestillierte flüchtige Säure durch Titration mit NaOH (0,1 mol/L) bis zum Farbumschlag bestimmt.

8.2.9.3 Auswertung

Flüchtige Säure (berechnet als Essigsäure) [g/L] = Verbrauch NaOH [mL] x 1,2 x Titer

8.2.9.4 Validierungsparameter

Zur Bestimmung der Wiederholstandardabweichung (s) sowie des Variationskoeffizienten (VK) der flüchtigen Säure wurde die Standardlösung zur Weinanalytik zehnfach gemessen (Tabelle 48).

Tabelle 48: Wiederholstandardabweichung/Variationskoeffizient der flüchtigen Säure

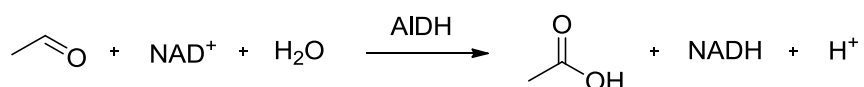
Analyt	MW [g/L]	s [g/L]	VK [%]
flüchtige Säure	0,9422	0,036	3,82

8.2.10 Acetaldehyd

Zur Bestimmung des Schwefelbindungspartners Acetaldehyd wurde das Enzymkit Acetaldehyd der Firma Megazyme (Begleitbroschüren: K-ACHYD 03/11, K-ACHYD 11/05) verwendet.

8.2.10.1 Prinzip

Acetaldehyd wird durch die Aldehyd-Dehydrogenase (AIDH) in Anwesenheit von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD⁺) quantitativ zu Essigsäure oxidiert.



Die während der Reaktion gebildete Menge an NADH ist der Menge an Acetaldehyd äquivalent und kann bei 340 nm photometrisch gemessen werden.

Kriechraten

Die Aldehyd-Dehydrogenase reagiert nicht nur Acetaldehyd, sondern auch mit anderen Aldehyden, jedoch mit einer geringeren Rate. Je nach Probe kann das Vorkommen von Benzaldehyd und Glycerinaldehyd zu Kriechreaktionen (weiterer Anstieg der Extinktion nach regulärem Reaktionsende) führen. Durch die Extrapolation bis zu dem Zeitpunkt, als die Aldehyd-Dehydrogenase hinzugefügt wurde, wird somit nur die gewünschte Verbindung (Acetaldehyd) bei der Ergebnisermittlung erfasst.

8.2.10.2 Durchführung

In Tabelle 49 sind die Photometrie-Parameter zur Acetaldehydbestimmung dargestellt. Da unterschiedliche Enzymkit-Chargen verwendet wurden und es beim Hersteller zur Änderung der Volumenzugabe der Suspension 3 (Aldehyd-Dehydrogenase) kam, ergaben sich unterschiedliche Gesamtvolumina.

Tabelle 49: Photometrie-Parameter zur Acetaldehydbestimmung

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlänge	340 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Endvolumen	2,52 mL / 2,55 mL
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.10.2.1 Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung wurde analog der Methodenbeschreibung für saure Proben durchgeführt (Begleitbroschüre, Megazyme). Dazu wurden die Gärgutproben und die ungeschwefelten Weine membranfiltriert und mit einem Volumen von 0,1 mL zur Bestimmung eingesetzt. Bei jeder Bestimmung wurden eine Leerprobe (d. h. nur Puffersubstanzen und Enzyme) sowie der Acetaldehyd-Standard der Konzentration 50 mg/L als Kontrolle mitgeführt. Die Messungen erfolgten gegen demineralisiertes Wasser. In Tabelle 50 (modifiziert nach Megazyme) ist der verwendete Bestimmungsansatz dargestellt. Die Extinktionen der Proben wurden nach 2, 4, 6, 8 und 10 Minuten detektiert, da eine Kriechreaktion festgestellt wurde. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 50: Ablauf-Schema der Acetaldehydbestimmung (modifiziert nach Megazyme)

	Leerversuch [mL]	Probe [mL]
demineralisiertes Wasser	2,10	2,00
Probe	-	0,10
Lösung 1 (Pyrophosphat Puffer)	0,20	0,20
Lösung 2 (NAD ⁺)	0,20	0,20
Mischen, nach ca. 2 Minuten die Absorbanz der Lösungen (A ₁) ablesen und Folgendes hinzufügen, um die Reaktionen zu starten:		
Suspension 3 (AIDH)	0,02 / 0,05	0,02 / 0,05
Mischen und nach 4, 6, 8 und 10 Minuten die Absorbanz der Lösungen (A ₂) ablesen.		

8.2.10.2.2 Auswertung

Zur Berechnung der Acetaldehydgehalte wurde der vom Hersteller entwickelte Acetaldehyd-Calculator (<http://www.megazyme.com>) verwendet. Dieser berücksichtigte auch die vorliegenden Kriechreaktionen. Die zugrundeliegenden Berechnungen sind im Folgenden dargestellt.

Zur Berechnung von $\Delta A_{\text{Acetaldehyd}}$ wurden die Absorptionsdifferenzen (A₂-A₁) für Probe und Leerwert ermittelt und die Absorptionsdifferenz des Leerwertes wurde von der Absorptionsdifferenz der Probe subtrahiert.

Die Acetaldehyd-Konzentration wurde wie folgt berechnet:

$$c = \frac{V \cdot MW}{\varepsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A_{\text{Acetaldehyd}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

Variablen:

V = Endvolumen [mL]: 2,52 / 2,55 mL

M = molare Masse von Acetaldehyd [g/mol]

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = optische Weglänge [cm]

v = Probenmenge [mL]

$$\Delta A_{\text{Acetaldehyd}} = (A_2 - A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - A_1)_{\text{Leerwert}}$$

F = Verdünnungsfaktor

Daraus ergibt sich für Acetaldehyd:

$$c = \frac{V \cdot 44,05}{6300 \cdot 1 \cdot 0,1} \cdot \Delta A_{\text{Acetaldehyd}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

8.2.10.3 Validierungsparameter

Die ermittelten Validierungsparameter zur Acetaldehyd-Bestimmung sind in Tabelle 51 zusammengefasst. Zur Berechnung der Präzisionsgrößen wurde die Probe V5-2011-Rsl-W-neg-2 zehnfach gemessen.

Tabelle 51: Validierungsparameter der Acetaldehyd-Bestimmung

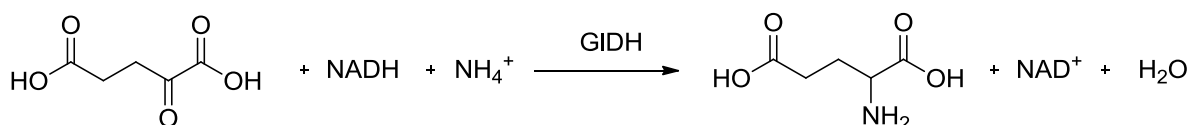
Konzentrationen Kalibrierstandards [mg/L]	Kalibrierfunktion	NG [mg/L]	EG [mg/L]	BG [mg/L]	Präzision		
					MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
5,10,20,50,100,200	y=0,0062x-0,0004 (R ² =1)	0,44	0,89	1,72	21	0,2	1,0

8.2.11 2-Ketoglutar säure

Die Bestimmung der 2-Ketoglutar säure wurde nach der modifizierten Methode von Bergmayer und Bernt (1974) durchgeführt.

8.2.11.1 Prinzip

2-Ketoglutar säure wird durch reduziertes NADH in Gegenwart von NH₄⁺ und des Enzyms Glutamat-Dehydrogenase (GIDH) zu 2-Aminoglutar säure reduziert.



Die während der Reaktion verbrauchte Menge an NADH ist der Menge an 2-Ketoglutar säure äquivalent und kann bei 340 nm photometrisch gemessen werden.

8.2.11.2 Durchführung

In Tabelle 52 sind die Photometrie-Parameter zur 2-Ketoglutar säurebestimmung dargestellt.

Tabelle 52: Photometrie-Parameter zur 2-Ketoglutar säurebestimmung

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlänge	340 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Endvolumen	3,2 mL
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.11.2.1 Herstellung der Lösungen

Ketopuffer: 58,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$, 3,8 g KH_2PO_4 , 11,5 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ und 7,4 g EDTA- Na_2H_2 (Titriplex III) in demineralisiertem Wasser lösen, auf pH=7,6 einstellen und auf 1 L mit demineralisiertem Wasser auffüllen

NADH: 30 mg NADH- Na_2 und 60 mg NaHCO_3 in 6 mL demineralisiertem Wasser lösen

GLDH-Lösung: 10 mg GLDH mit 0,5 mL demineralisiertem H_2O und 4,5 mL 3 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung mischen (3 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 19,82 \text{ g}/50 \text{ mL}$)

Standards: 2-Ketoglutar säure-Dinatriumsalz ($M=226,1 \text{ g}/\text{mol}$) in demineralisiertem Wasser in den gewünschten Konzentrationen lösen

8.2.11.2.2 Probenaufarbeitung

Die Gärgutproben und die ungeschwefelten Weine wurden membranfiltriert und mit einem Volumen von 0,1 mL zur Bestimmung eingesetzt. Bei jeder Bestimmung wurden eine Leerprobe (d. h. nur Puffersubstanzen und Enzyme) sowie der 2-Ketoglutar säure-Standard der Konzentration 20 mg/L als Kontrolle mitgeführt. Die Messungen erfolgten gegen demineralisiertes Wasser. In Tabelle 53 ist der verwendete Bestimmungsansatz dargestellt. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 53: Ablauf-Schema der 2-Ketoglutar säurebestimmung

	Leerversuch [mL]	Probe [mL]
Ketopuffer	3,0	2,9
Probe	-	0,10
NADH	0,10	0,10
Mischen, die Absorbanz der Lösungen (A_1) ablesen und Folgendes hinzufügen, um die Reaktionen zu starten:		
GLDH	0,10	0,10
Mischen und am Reaktionsende (nach 10 Minuten) die Absorbanz der Lösungen (A_2) ablesen.		

8.2.11.2.3 Auswertung

Die 2-Ketoglutarat-Säuregehalte wurden mittels der im Folgenden dargestellten Berechnung ermittelt. Zur Berechnung von $\Delta A_{\text{Ketoglutarat-Säure}}$ wurden die Absorptionsdifferenzen ($A_2 - A_1$) für Probe und Leerwert ermittelt und die Absorptionsdifferenz des Leerwertes wurde von der Absorptionsdifferenz der Probe subtrahiert.

Die 2-Ketoglutarat-Säure-Konzentration wurde wie folgt berechnet:

$$c = \frac{V \cdot MW}{\epsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A_{\text{Ketoglutarat-Säure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

Variablen:

V = Endvolumen [mL]

M = molare Masse von 2-Ketoglutarat-Säure [g/mol]

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = optische Weglänge [cm]

v = Probenmenge [mL]

$$\Delta A_{\text{Ketoglutarat-Säure}} = (A_2 - A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - A_1)_{\text{Leerwert}}$$

F = Verdünnungsfaktor

Daraus ergibt sich für 2-Ketoglutarat-Säure:

$$c = \frac{3,2 \cdot 146,1}{6300 \cdot 1 \cdot 0,1} \cdot \Delta A_{\text{Ketoglutarat-Säure}} \cdot F = 0,7421 \cdot \Delta A_{\text{Ketoglutarat-Säure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

8.2.11.3 Validierungsparameter

Die ermittelten Validierungsparameter zur 2-Ketoglutarat-Säure-Bestimmung sind in Tabelle 54 zusammengefasst. Zur Berechnung der Präzisionsgrößen wurde der Standard der Konzentration 200 mg/L 10-fach gemessen.

Tabelle 54: Validierungsparameter der 2-Ketoglutarat-Säure

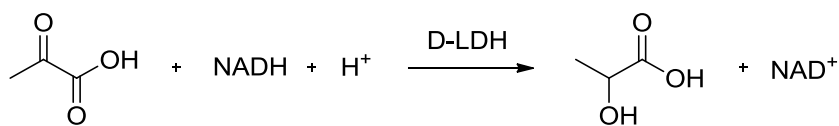
Konzentrationen Kalibrierstandards [mg/L]	Kalibrierfunktion	NG [mg/L]	EG [mg/L]	BG [mg/L]	Präzision		
					MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
5,10,20,50,100,200,400	$y=0,0013x-0,0007$ ($R^2=0,9999$)	2,07	4,14	7,82	196	0,7	0,4

8.2.12 Brenztraubensäure

Zur Bestimmung des Schwefelbindungspartners Brenztraubensäure wurde das Enzymkit Brenztraubensäure (Pyruvat) der Firma Megazyme (Begleitbroschüre: K-PYRUV 03/07) verwendet.

8.2.12.1 Prinzip

Brenztraubensäure/Pyruvat wird bei Anwesenheit der D-Lactat-Dehydrogenase (D-LDH) und reduziertem Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NADH) quantitativ zu D-Milchsäure und NAD⁺ umgesetzt.



Die während der Reaktion verbrauchte Menge an NADH ist der Menge an Brenztraubensäure äquivalent und kann bei 340 nm photometrisch gemessen werden.

8.2.12.2 Durchführung

In Tabelle 55 sind die Photometrie-Parameter zur Brenztraubensäurebestimmung dargestellt.

Tabelle 55: Photometrie-Parameter zur Brenztraubensäurebestimmung

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlänge	340 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Endvolumen	2,82 mL
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.12.2.1 Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung wurde analog der Methodenbeschreibung für Weine durchgeführt (Begleitbroschüre, Megazyme).

Hierzu wurden die Gärgutproben und die ungeschwefelten Weine membranfiltriert und mit einem Volumen von 0,2 mL zur Bestimmung eingesetzt. Bei jeder Bestimmung wurden eine Leerprobe (d. h. nur Puffersubstanzen und Enzyme) sowie der Brenztraubensäure-Standard der Konzentration 10 bzw. 200 mg/L als Kontrolle mitgeführt. Die Messungen erfolgten gegen demineralisiertes Wasser. In Tabelle 56 ist der verwendete Bestimmungsansatz dargestellt. Pro Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 56: Ablauf-Schema der Brenztraubensäurebestimmung (modifiziert nach Megazyme)

	Leerversuch [mL]	Probe [mL]
demineralisiertes Wasser	2,60	2,40
Probe	-	0,20
Lösung 2 (NADH/Tris/HCL-Puffer)	0,20	0,20
Mischen, nach 2 Minuten die Absorbanz der Lösungen (A ₁) ablesen und Folgendes hinzufügen, um die Reaktionen zu starten:		
Suspension 3 (D-LDH)	0,02	0,02
Mischen und am Reaktionsende (nach 3 Minuten) die Absorbanz der Lösungen (A ₂) ablesen.		

8.2.12.2.2 Auswertung

Zur Berechnung der Brenztraubensäuregehalte wurde der vom Hersteller angebotene Brenztraubensäure-Calculator (<http://www.megazyme.com>) verwendet.

Zur Berechnung von $\Delta A_{\text{Brenztraubensäure}}$ wurden die Absorptionsdifferenzen (A₂-A₁) für Probe und Leerwert ermittelt und die Absorptionsdifferenz des Leerwertes wurde von der Absorptionsdifferenz der Probe subtrahiert.

Die Brenztraubensäure-Konzentration wurde wie folgt berechnet:

$$c = \frac{V \cdot MW}{\epsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A_{\text{Brenztraubensäure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

Variablen:

V = Endmenge [mL]

M = molare Masse von Brenztraubensäure [g/mol]

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = optische Weglänge [cm]

v = Probenmenge [mL]

$$\Delta A_{\text{Brenztraubensäure}} = (A_2 - A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - A_1)_{\text{Leerwert}}$$

F = Verdünnungsfaktor

Daraus ergibt sich für Brenztraubensäure:

$$c = \frac{2,82 \cdot 88,06}{6300 \cdot 1 \cdot 0,2} \cdot \Delta A_{\text{Brenztraubensäure}} \cdot F = 0,1971 \cdot \Delta A_{\text{Brenztraubensäure}} \cdot F \quad [\text{g/L}]$$

8.2.12.3 Validierungsparameter

Die ermittelten Validierungsparameter zur Brenztraubensäure-Bestimmung sind in Tabelle 57 zusammengefasst. Zur Berechnung der Präzisionsgrößen wurde die Probe V1-2011-MTh-W-pos-1 zehnfach gemessen.

Tabelle 57: Validierungsparameter der Brenztraubensäure-Bestimmung

Konzentrationen Kalibrierstandards [mg/L]	Kalibrierfunktion	NG [mg/L]	EG [mg/L]	BG [mg/L]	Präzision		
					MW [mg/L]	s [mg/L]	VK [%]
5,10,20,50,100,200,400	$y=0,0049x-0,0023$ ($R^2=1$)	1,07	2,14	4,08	41	0,7	1,7

8.2.13 Iodometrische Bestimmung des freien und gesamten Schwefeldioxids mittels Potentiometrie

Darstellung in Anlehnung an die Verfahrensanweisung VA-MO-0500 des Analyzelabors des DLR Mosel (Anwendung meist bei Weißweinen)

Die Bestimmung des gesamten Schwefeldioxids wurde von den Mitarbeitern des Labors des DLR Mosel gemäß der in der Methodensammlung der OIV (MA-E-AS323-04B: R2009; OIV, 2012) dargestellten Analysenmethode mit folgenden Modifikationen durchgeführt:

OIV-MA-AS323-04B R2009	Modifizierte Methode
10 % H ₂ SO ₄	16% H ₂ SO ₄ (Dichte 1,11 g/ml)
0,5 % Stärkelösung	keine Stärkelösung
0,025 M J ₂ -Lösung	1/128 mol/L Jodid/Jodat-Lösung
EDTA-Na Salz	kein EDTA

8.2.13.1 Prinzip

Das gebundene Schwefeldioxid wird zusammen mit dem freien Schwefeldioxid durch alkalische Hydrolyse in Na₂SO₃ überführt. Durch Zugabe von Schwefelsäure wird aus dem Sulfid die schweflige Säure H₂SO₃ freigesetzt, die durch Titration mit Iodlösung bestimmt wird. Die Endpunktbestimmung erfolgt potentiometrisch.

Anwendungsbereich: Bestimmung des Gehalts von freiem und gesamtem Schwefeldioxid im Gehaltsbereich von 5-500 mg/L

8.2.13.2 Durchführung

8.2.13.2.1 Bestimmung des freien Schwefeldioxids

In ein 50 mL Becherglas wurden 25 mL der zu untersuchenden Flüssigkeit pipettiert. Nach Zugabe von 10 mL verdünnter H_2SO_4 ($\rho=1,11$ g/mL) erfolgten die Titration mit 1/128 mol/L Jodid/Jodat-Lösung und die potentiometrische Endpunktbestimmung automatisch (Metrohm Titrand 808, Doppel-Pt-Elektrode).

8.2.13.2.2 Bestimmung des gesamten Schwefeldioxids

In einen 100 mL Erlenmeyerkolben wurden 25 mL der zu untersuchenden Flüssigkeit pipettiert. Nach Zugabe von 10 mL NaOH (1 mol/L) wurde dieser Ansatz 5 Minuten stehen gelassen. Danach wurden 10 mL verdünnte H_2SO_4 ($\rho=1,11$ g/mL) zugegeben. Die Titration mit 1/128 mol/L Jodid/Jodat-Lösung und die potentiometrische Endpunktbestimmung erfolgten automatisch (Metrohm Titrand 808, Doppel-Pt-Elektrode).

Da die 1. Hydrolyse nicht immer ausreichend ist, um das gesamte SO_2 zu erfassen, wurden die Schritte ab der NaOH-Zugabe wiederholt. Die Ergebnisse von 1. und 2. Hydrolyse wurden summiert und als Gesamtergebnis angegeben.

8.2.13.3 Auswertung

Schwefeldioxid [mg/L]= Verbrauch Iodid/Iodat-Lösung [mL] x 20 x Titer

8.2.14 Farbe

Die Bestimmung der Farbe erfolgte analog der in der Methodensammlung der OIV (MA-E-AS2-07-CARCHR) dargestellten Analysenmethode (OIV, 2012).

8.2.14.1 Durchführung

In Tabelle 58 sind die Photometrie-Parameter zur Farbbestimmung dargestellt.

Tabelle 58: Photometrie-Parameter zur Farbbestimmung

Photometer	Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies
Wellenlängen	420/520/620 nm
Küvette	1 cm PP-Küvette
Messung	gegen demineralisiertes Wasser

8.2.14.1.1 Probenaufarbeitung

Die Gärgut- und Weinproben wurden membranfiltriert und zur Bestimmung eingesetzt. Pro Probe wurde eine Einfachbestimmung durchgeführt.

8.2.14.1.2 Auswertung

Zur Bestimmung der **Farbintensität (I)** wurde die Summe der Absorptionswerte gebildet.

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Die Farbintensität gibt die Farbmenge an, die je nach Wein und Rebsorte in einem Bereich von 0,3 bis 1,8 variiert (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Zur Bestimmung der **Farbtiefe/-nuance (T)** wurde folgendes Verhältnis gebildet:

$$T = A_{420}/A_{520}$$

Die Farbtiefe zeigt die Verschiebung der Farbe hin zum orange-braun-Spektrum. Junge Weine liegen im Bereich von 0,5-0,7; während des Alterungsprozesses nimmt die Farbtiefe zu (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Die Bewertung der Farbe von Weißweinen ist komplexer als die von Rotweinen, da für das Spektrum im sichtbaren Bereich kein definiertes Maximum vorliegt (bei Rotwein: 520 nm). Daher ist es schwierig, die Werte der Absorptionsspektren mit den visuellen Eindrücken trockener, lieblicher und oxidierter Weißweine zu verknüpfen. Als charakteristische Wellenlänge gelblicher Substanzen gelten 420 nm, wobei Messungen der optischen Dichte bei dieser Wellenlänge nur eine annähernd geeignete Farbbewertung darstellen (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

8.2.15 Off-flavour-Verbindungen (Geosmin)

Die Bestimmung der Gehalte an (±)-Geosmin erfolgte mittels SPME-GC-MS/MS nach der Methode von Behr et al. (2013). Die Analysen wurden vom Laborteam des CRP Gabriel Lippmann durchgeführt.

8.2.16 Methoden der sensorischen Qualitätsanalysen - Prüfverfahren

Die sensorische Bewertung der Traubensortierweine des Jahrgangs 2011 basierte auf analytischen Methoden. Dazu wurden sowohl Unterschiedsprüfungen (diskriminativ) in Form der Dreiecks- und der Rangordnungsprüfung als auch beschreibende Prüfungen (deskriptiv) mit Intensitätsabfrage durchgeführt. Die Durchführung und Auswertung der sensorischen Untersuchungen erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Achim Rosch (DLR Mosel).

Als Grundlage dienten die aktuell geltenden DIN-Vorschriften (Sensorische Prüfung- Allgemeine Grundlagen 10950, Rangordnungsprüfung DIN 10963, Dreieckstest DIN EN ISO 4120 und Intensitätsprüfung DIN 10966). Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels der Sensoriksoftware EyeQuestion (Version 3.8.13, Logic8 BV, Elst, Niederlande). Die Ergebnisse wurden in Netz- sowie Balkendiagrammen grafisch dargestellt; statistisch signifikante Unterschiede (Fisher-LSD) sind den zugehörigen Tabellen mit entsprechenden Buchstaben je Signifikanzlevel gekennzeichnet.

8.2.16.1 Durchführung

Die sensorischen Qualitätsanalysen wurden mit einem nach DIN 10961 geschulten Prüferpanel ($n \geq 10$) nach DIN 10950 in einem den Anforderungen der DIN 10962 entsprechenden Prüfraum durchgeführt. Gemäß DIN EN ISO 4120 wurden die Prüfproben bei allen sensorischen Prüfverfahren mit den Zahlen 1 bis 4 zufällig kodiert und verschlüsselt. Somit waren keine Rückschlüsse auf die Fraktionen möglich. Die Verkostung der Prüfproben erfolgte im offiziellen DIN-Prüfglas Sensus Wein (DIN 10960; Schott Zwiesel).

8.2.16.2 Dreiecksprüfung (DIN EN ISO 4120)

Die Dreiecksprüfung wurde zur Feststellung von Unterschieden zwischen zwei Prüfproben angewandt. Hierbei wurden gleichzeitig drei Prüfproben, von denen zwei identisch waren, vom Prüferpanel sensorisch bewertet, wobei die abweichende Probe festzustellen war.

8.2.16.3 Rangordnungsprüfung (DIN 10963)

Der Anwendungsbereich der Rangordnungsprüfung liegt darin, mehrere Prüfmuster in eine Rangfolge zu bringen. Damit kann u. a. ein Einfluss unterschiedlicher Rohware festgestellt werden. Den Prüfpersonen wurden gleichzeitig die vier Prüfproben eines

Sortierversuches vorgelegt, die hinsichtlich der Prüfkriterien „Reintönigkeit“ und „Gesamteindruck“ in eine Rangfolge (1-4 mit 1: am besten, 4: am schlechtesten) gebracht werden sollten.

8.2.16.4 Deskriptive Sensorik-Intensitätsprüfung (DIN 10966)

Mittels dieses Prüfverfahrens wurde eine Bewertung der Sinneseindrücke nach Art und Intensität auf einer Skala von 1-7 (1=schwach, 7=stark) vorgenommen. Folgende sensorische Attribute wurden hierbei abgefragt:

Weißwein/Rotwein

Geruch: dumpf/muffig

Geruch: flüchtige Säure/Ethylacetat

Geruch: klar/sauber

Geschmack: fruchtig/sauber (retronasale Wahrnehmung)

Geschmack: erdig/muffig (retronasale Wahrnehmung)

Körper/Dichte/Komplexität

zusätzliche Attribute beim Rotwein

Farbintensität

rote Farbnuance

braune Farbnuance

9 Literatur

- §64 LFGB (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren, Januar 2010): Bestimmung von Ochratoxin A in Bier: L 36.00-13, 1-13
- Abbas, H. K., Mirocha, C. J. (1988): Isolation and purification of a hemorrhagic factor (wortmannin) from *Fusarium oxysporum* (N17B). *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (5), 1268-1274
- Abreu, Lucas M., Cosat, Sarah S., Pfenning, Ludwig H., Takahashi, Jacqueline A., Larsen, Thomas O., Andersen, Birgitte (2012): Chemical and molecular characterization of *Phomopsis* and *Cytospora*-like endophytes from different host plants in Brazil. *Fungal Biology* 116, 249-260
- Adams, Douglas O. (2006): Phenolics and ripening in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 57 (3), 249-256
- Aish, J. L., Rippon, E. H., Barlow, T., Hattersley, S. J. (2004): Ochratoxin A. In: *Mycotoxins in food. Detection and control* (Magan, N., Olsen, M., eds). Chapter 13, 307-338
- Al-TaHER, Fadwa, Banaszewski, Katie, Jackson, Lauren, Zweigenbaum, Jerry, Ryu, Dojin, Cappozzo, Jack (2013): Rapid method for the determination of multiple mycotoxins in wines and beers by LC-MS/MS using a stable isotope dilution assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 2378-2384
- Altmayer, B. (1983): Beeinflussungen der Most- und Weinqualität durch den Pilzbefall reifer Trauben. *Der Deutsche Weinbau* 31, 1702-1704
- Altmayer, Bernd, Eichhorn, Klaus W., Plapp, Roland (1982): Untersuchungen über den Patulingehalt von Traubenmosten und Wein. *Z Lebensm Unters Forsch* 175, 172-174
- Ambrosi, H., Dettweiler, E., Rühl, E. H., Schmid, J., Schumann, F. (1994): *Farbatlas Rebsorten - 300 Sorten und ihre Weine*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- Ames, Bruce N., Profet, Margie, Gold, Lois Swirsky (1990): Dietary pesticides (99,99 % all natural). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 7777-7781
- Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften (2002/657/EG): Entscheidung der Kommission vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen.
- Anastassiades, Michelangelo, Scherbaum, Ellen, Taşdelen, Bünyamin, Štajnbaher, Darinka (2007): Recent Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis. In: *Pesticide Chemistry. Crop protection, public health, environmental safety* (Ohkawa, Miyagawa, Lee eds.). Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- Anli, R. E., Bayram, M. (2009): Biogenic amines in wines. *Food Reviews International* 25 (86), 86-102
- AOAC (Association of Analytical Communities, 2000): Official Method 2000.02: Patulin in clear and cloudy apple juices and apple puree. Liquid chromatographic method. First action 2000
- AOAC (Association of Analytical Communities, 2002): Official Method 2001.01: Determination of ochratoxin A in wine and beer.
- Arena, M. E., Manca de Nadra, M. C. (2001): Biogenic amine production by *Lactobacillus*. *Journal of Applied Microbiology* 90, 158-162

- Ariza, Rafael R., Dorado, Gabriel, Barbancho, Manuel, Pueyo, Carmen (1988): Study of the causes of direct-acting mutagenicity in coffee and tea using the Ara test in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research* 201, 89-96
- Arntzen, C. J. (1972): Inhibition of phosphorylation by tentoxin, a cyclic tetrapeptide. *Biochimica et Biophysica Acta* 283, 539-542
- Azcarate, M. P., Patriarca, A., Terminiello, L., Fernández Pinto, V. (2008): *Alternaria* toxins in wheat during the 2004 to 2005 Argentinean harvest. *J Food Prot.* 71 (6), 1262-1265
- Bandion, Franz, Valenta, Maria (1977): Zur Beurteilung des D(-)- und L(+)-Milchsäuregehaltes in Wein. *Mitt. Klosterneuburg* 27, 4-10
- Bandion, Franz, Roth, Inge, Mayr, Elisabeth, Valenta, Maria (1980): Zur Beurteilung der Gluconsäuregehalte bei Wein im Hinblick auf mögliche Veränderungen während der Lagerung. *Mitt. Klosterneuburg* 30, 32-36
- Barata, André, Pais, Ala, Malfeito-Ferreira, Manuel, Loureiro, Virgílio (2011a): Influence of sour rotten grapes on the chemical composition and quality of grape must and wine. *Eur Food Res Technol* 233, 183-194
- Barata, André, Campo, Eva, Malfeito-Ferreira, Manuel, Loureiro, Virgílio, Cacho, Juan, Ferreira, Vicente (2011b): Analytical and sensorial characterization of the aroma of wines produced with sour rotten grapes using GC-O and GC-MS: Identification of key aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 2543-2553
- Barata, A., Malfeito-Ferreira, M., Loureiro, V. (2012): The microbial ecology of wine grape berries. *International Journal of Food Microbiology* 153, 243-259
- Barbe, Jean-Christophe, de Revel, Gilles, Joyeux, Annick, Lonvaud-Funel, Aline, Bertrand, Alain (2000): Role of carbonyl compounds in SO₂ binding phenomena in musts and wines from botrytized grapes. *J. Agric. Food Chem* 48, 3413-3419
- Barbe, J.-C., de Revel, G., Joyeaux, A., Bertrand, A., Lonvaud-Funel, A. (2001): Role of botrytized grape micro-organisms in SO₂ binding phenomena. *Journal of Applied Microbiology* 90, 34-42
- Barkai-Golan, R., Paster, N. (2008): Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 1. *World Mycotoxin Journal* 1 (2), 147-159
- Barkai-Golan, Rivka (2008): *Aspergillus* Mycotoxins. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, R., Paster, N., eds.), Chapter 6, 115-151
- Bath, Rajeev, Rai, Ravishankar V., Karim, A. A. (2010): Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9, 57-81
- Battilani, Paola, Pietri, Amedeo (2002): Ochratoxin A in grapes and wine. *European Journal of Plant Pathology* 108, 639-643
- Battilani, P., Pietri, A., Logrieco, A. (2004): Risk assessment and management in practice: ochratoxin in grapes and wine. In: *Mycotoxins in food. Detection and control* (Magan, N., Olsen, M., eds). Chapter 11, 244-261
- Battilani, Paola, Barbano, Carlo, Logrieco, Antonio (2008): Risk assessment and safety evaluation of mycotoxins in fruits. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, R., Paster, N., eds.), Chapter 1, 1-26

- Bauer, K., Fardossi, A. (2008): Auswirkungen des Klimawandels, Teil 1: Herausforderung der Zukunft. Der Winzer 5, 27-32
- Baumgartner, Daniel, Bill, Roland, Roth, Irma (2001): Traubenmostanalyse mit Hilfe der FTIR-Spektroskopie. Schweiz. Z. Obst-Weinbau 2, 46-48
- Bauza, T., Blaise, A., Daumas, F., Cabanis, J. C. (1995): Determination of biogenic amines and their precursor amino acids in wines of the Vallée du Rhône by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorimetric detection. Journal of Chromatography A 707, 373-379
- Begerow Hefenavigator: E. Begerow GmbH & Co.
http://www.begerow.com/uploads/tx_bgproducts/DEU/PDF/2/B2212.pdf (Stand 06.10.2013)
- Behr, Marc, Cocco, Emmanuelle, Lenouvel, Audrey, Guignard, Cédric, Evers, Danièle (2013): Earthy And Fresh Mushroom Off-flavors In Wine: Optimized Remedial Treatments. Am. J. Enol. Vitic. in press. DOI: 10.5344/ajev.2013.13061
- Bellí, N., Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A. J. (2002): Review: Ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: Occurrence, regulations and methods of analysis. Food Science and Technology International 8, 325-335
- Bellí, Neus, Mitchell, David, Marín, Sonia, Alegre, Isabel, Ramos, Antonio J., Magan, Naresh, Sanchis, Vicente (2005): Ochratoxin A-producing fungi in Spanish wine grapes and their relationship with meteorological conditions. European Journal of Plant Pathology 113, 233-239
- Beneduce, L., Romano, A., Capozzi, V., Lucas, P., Barnavon, L., Bach, B., Vuchot, P., Grieco, F., Spano, G. (2010): Biogenic amine in wines. Ann Microbiol 60, 573-578
- Bennett, G. A., Richard, J. L. (1996): Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. Food Technology 50, 235-238
- Bergmayer, H. U., Bernt, E. (1974): 2-Oxoglutarate, MV. Spectrophotometric Determination. In: Methodes of Enzymatic Analysis. 2nd edition, Vol. 3, Weinheim and New York, 1577-1580
- Bergner-Lang, Brigitte, Kächele, Manfred, Stengel, Esther (1983): Zur Analytik von Patulin in Obstsaften und Obsterzeugnissen. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 79 (12), 400-404
- Betés-Saura, Concepción, Andrés-Lacueva, Cristina., Lamuela-Raventos, Rosa M. (1996): Phenolics in white free run juices and wines from Penedès by High-Performance Liquid Chromatography: Changes during vinification. J. Agric. Food Chem. 44, 3040-3046
- BfR (2003): Alternaria-Toxine in Lebensmitteln. Stellungnahme des BfR vom 30. Juli 2003.
http://www.bfr.bund.de/cm/343/alternaria_toxine_in_lebensmitteln.pdf (Stand: 19.07.13)
- BfR (2008): 73., 74. und 75. Sitzung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel.
http://www.bfr.bund.de/cm/343/73_74_und_75_sitzung_der_vorlaeufigen_kommission_fuer_kosmetische_mittel.pdf (Stand: 19.07.2013)
- BfR (2011): Mykotoxine in Lebens- und Futtermitteln. Was muss ich als Verbraucher wissen?
http://www.bfr.bund.de/cm/350/mykotoxine_in_lebens_und_futtermitteln.pdf (Stand: 19.07.13)
- Bhat, Rajeev, Rai, Ravishankar V., Karim, A. A. (2010): Mycotoxins in Food and feed: Present status and future concerns. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 9, 57-81
- Bissessur, J., Permaul, K., Odhav, B. (2001): Reduction of patulin during apple juice clarification. J. Food Prot. 64, 1216-1219

- Blesa, J., Soriano, J. M., Moltó, J. C., Mañes, J. (2006): Factors affecting the presence of Ochratoxin A in wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 473-478
- Bonerz, Daniel P. M., Pour Nikfardjam, Martin S., Creasy, Glen L. (2008): A new RP-HPLC-method for analysis of polyphenols, anthocyanins, and indole-3-acetic acid in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 59 (1), 106-109
- Böswald, Christoph, Engelhardt, Gabriele, Vogel, Herbert, Wallnöfer, Peter R. (1995): Metabolism of the *Fusarium* mycotoxins Zearalenone and Deoxynivalenol by yeast strains of technological relevance. *Natural toxins* 3, 138-144
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., Martin-Tanguy, J. (1999): Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science* 140, 103-125
- Boyd, Robert K., Basic, Cecilia, Bethem, Robert A. (2008): Trace quantitative analysis by mass spectrometry. John Wiley & Sons Ltd, England
- Bravo, Laura (1998): Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56 (11), 317-333
- Brian, P. W., Curtis, P. J., Hemming, H. G., Norris, G. L. F. (1957): Wortmannin, an antibiotic produced by *Penicillium wortmanni*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 40 (3), 365-368
- Brinkmann, B., Otteneder, H., Eichhorn, A., Loch, R. (2003): Aktuelle Untersuchungen zur Beschaffenheit von roten und weißen Traubensäften. *Lebensmittelchemie* 57, 105-128
- Broggi, Leticia, Reynoso, Cora, Resnik, Silvia, Martinez, Fernanda, Drunday, Vanesa, Bernal, Ángela Romero (2012): Occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in beverages from the Entre Rios Province market, Argentina. *Mycotoxin Res.* DOI 10.1007/s12550-012-0147-6
- Broquedis, M., Dumery, B., Bouard, J. (1989): Mise en évidence de polyamines (putrescine, cadaverine, norspermidine, spermidine et spermine) dans les feuilles et les grappes de *Vitis vinifera* L. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 23 (1), 1-6
- Bryden, Wayne L. (2009): Mycotoxins and Mycotoxicoses: Significance, occurrence and mitigation in the food chain. *General and Applied Toxicology*, Online, 1-25. DOI: 10.1002/9780470744307.gat157
- Burres, Neal S., Premachandran, Usha, Humphrey, Patrick E., Jackson, Marianna, Chen, Randal H. (1992): A new immunosuppressive cytochalasin isolated from a *Pestalotia* sp.. *The Journal of Antibiotics* 45 (8), 1367-1369
- Burroughs, Leonard F. (1977): Stability of patulin to sulfur dioxide and to yeast fermentation. *Journal of the AOAC* 60 (1), 100-103
- Cabanne, C., Donèche, B. (2003): Calcium accumulation and redistribution during the development of grape berry. *Vitis* 42 (1), 19-21
- Caccamo, Federica, Carfagnini, Guia, di Corcia, Antonio, Samperi, Roberto (1986): Improved high-performance liquid chromatographic assay for determining organic acids in wines. *Journal of Chromatography* 362, 47-53
- Canadian Food Inspection Agency (CFIA, 2010/2011): Ochratoxin A and Deoxynivalenol in selected foods. Food Safety Action Plan. 2010-2011 Targeted surveys chemistry. <http://www.inspection.gc.ca/food/chemical-residues-microbiology/chemical-residues/ochratoxin-a-and-deoxynivalenol/eng/1348073248340/1348074414907> (Stand: 09.01.2013)

- Cañas, P. M. I., Romero, E. G., Alonso, S. G., Gonzáles, M. F., Herreros, M. L. L. P. (2008): Amino acids and biogenic amines during spontaneous malolactic fermentation in Tempranillo red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 731-735
- Capriotti, Anna Laura, Caruso, Guisepppe, Cavaliere, Chiara, Foglia, Patrizia, Samperi, Roberto, Laganà, Aldo (2012): Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 31, 466-503
- Capucho, I., San Romão, M. V. (1994): Effect of ethanol and fatty acids on malolactic activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl Microbiol Biotechnol* 42, 391-395
- Carrascosa, Alfonso V., Muñoz, Rosario, Gonzáles, Ramón (2011): *Molecular Wine Microbiology*. Academic Press, London, UK
- Caruso, M., Fiore, C., Contursi, M., Salzano, G., Paparella, A., Romano, P. (2002): Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeasts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18 (2), 159-163
- Cassidy, Aedin, Hanley, Bryan, Lamuela-Raventos, Roas M. (2000): Review: Isoflavones, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1044-1062
- Catagol, Betul, Batirel, Saime, Taga, Yavuz, Ozer, Nesrin Kartal (2012): Resveratrol: French paradox revisited. *Frontiers in Pharmacology* 3 (Artikel 141), 1-18
- Cheynier, V., Osse, C., Rigaud, J. (1988): Oxidation of grape juice phenolic compounds on model solutions. *J Food Sci* 53, 1729-1732
- Christmann, Monika (2001): *Schonende Traubenverarbeitung*. Meininger Verlag GmbH, Neustadt/Weinstraße
- Chu, Fun Sun, Noh, Icksam, Chang, Chi C. (1972): Structural requirements for ochratoxin intoxication. *Life Sciences* 11 (1), 503-508
- Ciegler, A., Detroy, R. W., Lillehoj, E. B. (1971): Patulin, Penicillic acid, and other carcinogenic lactones. *Microbial Toxins* 6, 409-434
- Ciegler, A., Mintzloff, H.-J., Weisleder, D., Leistner, L. (1972): Potential and detoxification of penicillic acid in mold-fermented sausage (Salami). *Applied Microbiology* 24 (1), 114-119
- Clemens GmbH & Co KG (2011): *Traubensortieranlage*. Prospekt V.O.T. 01/11
- Cole, Richard J., Cox, Richard H. (1981): *Handbook of toxic fungal metabolites*. Academic Press, New York
- Cole, Richard J., Schweikert, Milbra A. (2003a): *Handbook of Secondary Metabolites*. Volume 1. Academic Press, Amsterdam et al.
- Cole, Richard J., Schweikert, Milbra A. (2003b): *Handbook of Secondary Metabolites*. Volume 2. Academic Press, Amsterdam et al.
- Cole, Richard J., Jarvis, Bruce B., Schweikert, Milbra A. (2003c): *Handbook of Secondary Metabolites*. Volume 3. Academic Press, Amsterdam et al.
- Constantini, Antonella, García-Moruno, Emilia, Moreno-Arribas, M. Victoria (2010): Biochemical transformations produced by malolactic fermentation. In: *Wine Chemistry and Biochemistry* (Moreno-Arribas, M. V., Polo, M. C. eds.) Chapter 2, 27-57 Springer Science+Business Media, New York

- Coombe, B. G. (1987): Distribution of solutes within the developing grape berry in relation to its morphology. *Am. J. Enol. Vitic.* 38 (2), 120-127
- Coombe, B. G. (1992): Research on development and ripening of the grape berry. *Am. J. Enol. Vitic.* 43 (1), 101-110
- Coton, E., Rollan, G. C., Bertrand, A. Lonvaud-Funel, A. (1998): Histamine-producing lactic acid bacteria in wines: early detection, frequency and distribution. *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (2), 199-204
- CVUA (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, 2012): Mykotoxinrückstände in Teigwaren – Untersuchungen aus dem Jahr 2012.
http://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema_ID=12&ID=1573&Pdf=No (Stand:09.01.2013)
- Da Rocha Rosa, C. A., Palacios, V., Combina, M., Fraga, M. E., de Oliveira Rekson, A., Magnoli, C. E., Dalcero, A. M. (2002): Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Additives & Contaminants* 19 (4), 408-414
- Da Silva, Sandra Jussara Nunes, Schuch, Paula Zilles, Bernardi, Carmem Ronise, Vainstein, Marilene Henning, Jablonski, André, Bender, Renar João (2007): Patulin in food: State-of-the-art and analytical trends. *Revista Brasileira de Fruticultura* 29 (2), 406-413
- Datenblatt Fermicru® VB1: Homepage Keller Mannheim
http://www.keller-mannheim.de/uploads/tx_alinbukmproducts/G317-FermicruVB1_01.pdf (Stand: 06.10.2013)
- Darriet, Philippe, Lamy, Sophie, La Guerche, Stéphane, Pons, Monique, Dubourdieu, Denis, Blancard, Dominique, Steliopoulos, Panagiotis, Mosandl, Armin (2001): Stereodifferentiation of geosmin in wine. *Eur Food Res Technol* 213, 122-125
- Darriet, Philippe, Pons, Monique, Lamy, Sophie, Dubourdieu, Denis (2000): Identification and quantification of geosmin, an earthy odorant contaminating wines. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4835-4838
- Dartiguenave, C., Jeandet, P., Maujean, A. (2000): Study of the contribution of the major organic acids of wine to the buffering capacity of wine in model solutions. *Am. J. Enol. Vitic.* 51 (4), 352-356
- Darting, Martin (2012): *Sensorik für Praktiker und Genießer*. Eugen Ulmer KG, Stuttgart (Hohenheim), 2. Auflage
- De Beer, Dalene, Harbertson, James F., Kilmartin, Paul A., Roginsky, Vitaly, Barsukova, Tatyana, Adams, Douglas O., Waterhouse, Andrew L. (2004): Phenolics: A comparison of diverse analytical methods. *Am. J. Enol. Vitic.* 55 (4), 389-400
- Degünther, Bernhard (2012): Traubenlese und Temperatur. Die coolen Zeiten sind vorbei! das deutsche weinmagazin 7, 29-31
- Del Prete, V., Costantini, A., Cecchini, F., Morassut, M., Garcia-Moruno, E. (2009): Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. *Food Chemistry* 112, 474-481
- Delage, N., d'Harlingue, A., Colonna Ceccaldi, B., Bompeix, G. (2003): Occurrence of mycotoxins in fruit juices and wine. *Food Control* 14, 225-227
- Delcour, Jan A., Vandenberghe, Marc M., Corten, Paula F., Dondeyne, Pieter (1984): Flavor thresholds of polyphenolics in water. *Am. J. Enol. Vitic.* 35 (3), 134-136
- Derndorfer, Eva (2008): *Lebensmittelsensorik*. Facultas Verlags- und Buchhandels AG. Österreich. 2. Auflage

- Dewey, Frances M., Hill, Megan, DeScenzo, Richard (2008): Quantification of *Botrytis* and Laccase in winegrapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 59 (1), 47-54
- Dietrich, Peter (2005): Bedeutung des Mycotoxins Patulin für die Fruchtsaftindustrie. Geisenheimer Informationen Nr. 15: Saft News. Erbslöh
- DIN 10950 (2012): Sensorische Prüfung - Allgemeine Grundlagen. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN 10960 (2000): Sensorische Untersuchungsgeräte: Prüfgläser für Wein. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN 10961 (1996): Schulung von Prüfpersonen für sensorische Prüfungen. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN 10962 (1997): Raum für sensorische Prüfungen-Anforderungen an Prüfräume. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN 10963 (1997): Sensorische Prüfverfahren - Rangordnungsprüfung. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN 10966 (1997): Sensorische Prüfverfahren - Intensitätsprüfung. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN EN ISO 4120 (2007): Sensorische Analyse - Prüfverfahren-Dreiecksprüfung. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN EN ISO 8402 (1995): Qualitätsmanagement - Begriffe. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- DIN EN 14133 (2009): Lebensmittel - Bestimmung von Ochratoxin A in Wein und Bier - HPLC-Verfahren mit Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- Dittrich, H. H. (1984): Essigstich - Noch immer Weinefehler Nr. 1. Ursachen und Zusammenhänge. *Der Deutsche Weinbau* 39, 1157-1163
- Dittrich, H. H. (1989): Die Veränderungen der Beereninhaltsstoffe und der Weinqualität durch *Botrytis cinerea* – Übersichtsreferat. *Wein-Wiss.* 44, 105-131
- Dittrich, H. H., Barth, A. (1984): SO₂-Gehalte, SO₂-bindende Stoffe und Säureabbau in deutschen Weinen. Eine Untersuchung an 544 Weinen. *Wein-Wiss.* 39, 184-200
- Dittrich, H. H., Sponholz, W. R., Kast, W. (1974): Vergleichende Untersuchungen von Mosten und Weinen aus gesunden und aus *Botrytis*-infizierten Traubenbeeren. 1. Säurestoffwechsel, Zuckerstoffwechselprodukte, Leucoanthocyangehalte. *Vitis* 13, 36-49
- Dittrich, H. H., Sponholz, W. R., Wünsch, B., Wipfler, M. (1980): Zur Veränderung des Weines durch den bakteriellen Säureabbau. *Wein-Wiss.* 35, 421-429
- Dittrich, H. H., Sponholz, W.-R. (1975): Die Aminosäureabnahme in *Botrytis*-infizierten Traubenbeeren und die Bildung höherer Alkohole in diesen Mosten bei ihrer Vergärung. *Wein-Wissenschaft* 30, 188-210
- Dittrich, Helmut Hans, Großmann, Manfred (2005): *Mikrobiologie des Weines*. 3. neu bearbeitete Auflage, Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co.
- Dombrink-Kurtzman, Mary Ann (2008): Economic aspects of mycotoxins in fruits and vegetables. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, R., Paster, N., eds.), Chapter 2, 27-44
- Drawert, F., Barton, H. (1973): Kritischer Beitrag zur Analytik von Aflatoxinen im Wein. *AWZ* 46, 1247-1250
- Drewnowski, Adam, Gomez-Carneros, Carmen (2000): Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 1424-1435
- Drusch, S., Ragab, W. (2003): Review. Mycotoxins in fruits, fruit juices and dried fruits. *Journal of Food Protection* 66 (8), 1514-1527

- Drysdale, G. S., Fleet, G. H. (1988): Acetic acid bacteria in winemaking: A review. *Am. J. Enol. Vitic.* 39 (2), 143-154
- Drysdale, G. S., Fleet, G. H. (1989): The growth and survival of acetic acid bacteria in wines at different concentrations of oxygen. *Am. J. Enol. Vitic.* 40 (2), 99-105
- Duhail, Cécile, Rousseau, Sophie, L'Hyverbay, Annie, Doneche, B. (1999): Nouvelles acquisitions concernant l'obtention d'une pourriture de qualité et la vinification des vendanges botrytisées. *Revue Française d'Œnologie* 176, 28-31
- DWI (2011): Extrem frühe Rebblüte 2011 (24.05.2011) http://www.deutscheweine.de/icc/Internet-DE/nav/eb8/presse?uMen=eb8708fd-e785-7401-be59-267b48205846&pagesize=10&page=1&all=true&sel_uCon=c2070fb2-2732-2031-6ed2-cde64c41ed8b&uTem=d5304ee7-4f03-d212-517b-6624c41ed8b2 (Stand: 19.06.13)
- DWI (2012): Deutsches Weininstitut: Deutscher Wein Statistik 2012/2013. <http://www.deutscheweine.de/icc/Internet-DE/med/68a/68a3098f-c19f-0931-7124-5cc6f135e25d,11111111-1111-1111-1111-111111111111.pdf> (Stand: 19.06.13)
- DWI (2013a): Anbauggebiete. http://www.deutscheweine.de/icc/Internet-DE/nav/05d/05d40b82-fba0-6401-e76c-d7b48205846&ic_uCon=cc9508fd-e785-7401-be59-267b48205846 (Stand: 18.10.2013)
- DWI (2013b): Mostgewichte. <http://www.deutscheweine.de/icc/Internet-DE/nav/4ed/4ed601a5-0d4e-0401-be59-267b48205846> (Stand: 01.09.2013)
- Eder, Reinhard (2007): Allergen-Problematik: Biogene Amine als aktueller Dauerbrenner. *Der Winzer* 1, 12-15
- Eder, Reinhard, Sinkevitsch, Eduard, Wendelin, Silvia, Barna, Josef (1994): Bestimmung von Patulin in Fruchtsäften und Fruchtsaftkonzentraten mittels HPLC. *Mitteilungen Klosterneuburg* 44, 64-69
- Eder, Reinhard, Paar, Elisabeth, Edinger, Walter, Lew, Hans (2002a): Untersuchungen über den Gehalt an Ochratoxin A (OTA) in Weinen, insbesondere Prädikatsweinen aus Österreich. *Mitteilungen Klosterneuburg* 52, 125-131
- Eder, Reinhard, Brandes, Walter, Paar, Elisabeth (2002b): Einfluss von Traubenfäulnis und Schönungsmitteln auf Gehalte biogener Amine in Mosten und Weinen. *Mitt. Klosterneuburg* 52, 204-217
- EFSA (2005): Opinion on the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 235
- EFSA (2006): Opinion of the scientific panel on contaminants in the Food Chain of the EFSA on a request from the Commission related to ochratoxin A in food. *The EFSA Journal* 365, 1-56
- EFSA (2011): Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *The EFSA Journal* 9 (10): 2393
- EFSA (2011a): Scientific opinion on the risk for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal* 9 (10): 2407
- EFSA (2011b): Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal* 9 (12): 2481
- EFSA (2011c): Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *EFSA Journal* 9 (6): 2197

- EFSA (2012): Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. *EFSA Journal* 10 (3): 2605
- Eichhorn, K. W., Lorenz, D. H. (1978): Mögliche Ursachen von Gär- und Geschmacksbeeinflussungen bei Wein. *Der Deutsche Weinbau* 13, 504-514
- Eisenbrand, Gerhard, Schreier, Peter (1995): *Römpp Lexikon Lebensmittelchemie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage
- El Khoury, André, Rizk, Toufic, Lteif, Roger, Azouri, Hayat, Delia, Marie-Line, Lebrihi, Ahmed (2004): Occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin B1-producing fungi in Lebanese grapes and Ochratoxin A content in musts and finished wines during 2004. *J. Agric. Food Chem.* 54, 8977-8982
- El Khoury, André, Rizk, Toufic, Lteif, Roger, Azouri, Hayat, Delia, Marie-Line, Lebrihi, Ahmed (2008): Fungal contamination and Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Lebanese wine-grapes and musts. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2244-2250
- Engel, Günter, Ernst von Milczewski, Karl, Prokopek, Dieter, Teuber, Michael (1982): Strain-specific synthesis of mycophenolic acid in *Penicillium roqueforti* in blue-veined cheese. *Appl. Environ. Microbio.* 43 (5), 1034-1040
- Erasmus, Daniel J., Cliff, Margaret, van Vuuren, Hennie J. J. (2004): Impact of yeast strain on the production of acetic acid, glycerol, and the sensory attributes of Icewine. *Am. J. Enol. Vitic.* 55 (4), 371-378
- Eschenbruch, B., Dittrich, H. H. (1986): Stoffbildungen von Essigbakterien in Bezug auf ihre Bedeutung für die Weinqualität. *Zentralblatt für Mikrobiologie* 141, 279-289
- Esselen, M., Schrenk, D. (2012): Toxicants in foods generated by non-thermal processes. In: *Chemical contaminants and residues in food* (Schrenk, D. ed.). Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 235. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK
- Feltes, Jakob, Porten, Matthias (2011): Vollautomatisch optische Sortierer. *das deutsche weinmagazin* 11, 26-28
- Festas, I., Herbert, P., Santos, L., Cabral, M., Barros, P., Alves, A. (2000): Ochratoxin A in some Portuguese wines: Method validation and screening in Port Wine and Vinho Verde. *Am. J. Enol. Vitic.* 51 (2), 150-154
- Fischer, U., Noble, Ann C. (1994): The effect of ethanol, catechin concentration, and pH on sourness and bitterness of wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 45 (1), 6-10
- Flajs, Dubravka, Peraica, Maja (2009): Toxicological properties of citrinin. *Arh Hig Rada Toksikol* 60, 457-464
- Fleet, Graham H. (1999): Microorganisms in food ecosystems. *International Journal of Food Microbiology* 50, 101-117
- Flesch, Peter, Stockinger, Gunter (1987): Isolierung und Identifizierung von Roseotoxinen aus Kulturen des Pilzes *Trichothecium roseum*. *Wein-Wiss.* 42, 111-119
- Flesch, Peter, Stockinger, Gunter, Voigt-Scheuermann, Ingrid (1986): Isolierung und Identifizierung von Trichotheceninen und Diterpenlactonen aus Kulturen des Pilzes *Trichothecium roseum*. *Wein-Wiss.* 41, 182-189
- Flesch, Peter, Schaefer, Michael, Stockinger, Gunter, Voigt-Scheuermann, Ingrid (1990): Über die Kontamination von Traubenmost und Wein mit Toxinen bei Verarbeitung von *Trichothecium roseum* befallenem Lesegut. *Wein-Wiss.* 45, 141-145

- Flesch, Peter, Voigt-Scheuermann, Ingrid (1994): Über den Abbau der Pilztoxine Trichothecin und iso-Trichothecin bei der alkoholischen Gärung in Traubensaft. *Vitic. Enol. Sci.* 49 (5), 180-184
- Frank, H. K. (1992): Citrinin. *Z Ernährungswiss* 31, 164-177
- Frank, Hanns K., Orth, Reinhard, Figge, Arnold (1977): Patulin in Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft. 2. Verschiedene Obstarten, Gemüse und daraus hergestellte Produkte. *Z Lebensm. Unters.-Forsch.* 163, 111-114
- Freeman, G. G., Morrison, R. I. (1948): Trichothecin – an antifungal metabolic product of *Trichothecium roseum* Link. *Nature* 162, 30
- Frisvad, Jens C., Smedsgaard, Jørn, Samson, Robert A., Larsen, Thomas O., Thrane, Ulf (2007): Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger*. *J. Agric. Food Chem* 55, 9727-9732
- Frisvad, Jens C., Thrane, Ulf, Samson, Robert A., Pitt, John I. (2006): Important mycotoxins and the fungi which produce them. In: *Advances in Food Mycology* (Hocking, Pitt, Samson, Thrane eds). Springer Science + Business Media, Inc.
- Frivik, Siss K., Ebeler, Susan E. (2003): Influence of sulfur dioxide on the formation of aldehydes in white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (1), 31-38
- Fugelsang, Kenneth C., Edwards, Charles G. (2010): *Wine Microbiology*. Springer Science+Business Media, LLC
- Funk, Werner, Dammann, Vera, Donnevert, Gerhild (2005): *Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim. 2. Auflage
- Funk, Edgar R. (2009): *Weinqualität sichern durch richtige Schwefelung*. LVWO Weinsberg
- Galgano, Fernando, Caruso, Marisa, Perretti, Guiseppa, Favati, Fabio (2011): Authentication of Italian red wines on the basis of the polyphenols and biogenic amines. *Eur Food Res Technol* 232, 889-897
- Gardini, F., Zaccarelli, A., Belletti, N., Faustini, F., Cavazza, A., Maruscelli, M., Mastrocola, D., Suzzi, G. (2005): Factors influencing biogenic amine production by a strain of *Oenococcus oeni* in a model system. *Food Control* 16, 609-616
- Genoscope (2002): *Botrytis cinerea*. <http://www.genoscope.cns.fr/spip/Botrytis-cinerea-estimated-losses.html> (Stand: 19.11.2012)
- Giovannini, C., Modesti, D., Coni, E., Cantafora, A., De Vincenzi, M., Malorni, W., Masella, R. (1999): Tyrosol, the Major Olive Oil Biophenol, Protects Against Oxidized-LDL-Induced Injury in Caco-2 Cells. *The Journal of Nutrition* 129 (7), 1269-1277
- Glória, M. B. A., Watson, B. T., Simon-Sarkadi, L., Daeschel, M. A. (1998): A survey of biogenic amines in Oregon Pinot noir and Cabernet Sauvignon wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (3), 279-282
- Göbel, Robert (2003): *Entwicklung einer Unternehmens- und Marketingstrategie*. Leidfaden zur praktischen und individuellen Umsetzung in Unternehmen der Weinbranche. Geisenheimer Berichte Band 50. Forschungsanstalt Geisenheim
- Goldberg, David M., Tsang, Elisa, Karumanchiri, Alex, Diamandis, Eleftherios P., Soleas, George, Ng, Eric (1996): Method to assay the concentrations of phenolic constituents of biological interest in wines. *Anal. Chem.* 68, 1688-1694

- Goldberg, David M., Karumanchiri, Alex, Soleas, George J., Tsang, Elisa (1999): Concentrations of selected polyphenols in white commercial wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (2), 185-193
- Goñi, D. T., Azpilicueta, A. A. (2001): Influence of yeast strain on biogenic amines in wines: Relationship with the utilization of amino acids during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 52 (3), 185-190
- Gosetti, Fabio, Mazzucco, Eleonora, Zampieri, Davide, Gennaro, Maria Carla (2010): Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 3929-3937
- Graham, Ralph A. (1979): Influence of yeast strain and pH on pyruvic acid production during alcoholic fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 30 (4), 318-320
- Großmann, Manfred (2012): Persönliche Mitteilung
- Gunther, R., Kishore, P. N., Abbas, H. K., Mirocha, C. J. (1989): Immunosuppressive effects of dietary wortmannin on rats and mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 11 (4), 559-570
- Gutema, T., Munimbazi, C., Bullerman, L. B. (2000): Occurrence of fumonisins and moniliformin in corn and corn-based food products of U.S. origin. *J Food Prot.* 63 (12), 1732-1737.
- Hägglom, P. (1990): Isolation of Roquefortin C from Feed Grain. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (9), 2924-2926
- Halász, A., Baráth, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. (1994): Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Tech.* 5, 42-49
- Harbertson, James F., Spayd, Sara (2006): Measuring phenolics in the winery. *Am. J. Enol. Vitic.* 57 (3), 280-288
- Harwig, J., Blanchfield, B. J., Jarvis, G. (1977): Effect of water activity on disappearance of patulin and citrinin from grains. *Journal of Food Science* 42 (5), 1225-1228
- Held, Jörg (2009): Weinbau. Krankheiten-Schädlinge-Nützlinge-Unkräuter. Diagnose und Beratungsfächer. Bayer Crop Science (Hrsg.) Kunst und Werbedruck, Bad Oeynhausen
- Hillebrand, Walter, Lott, Heinz, Pfaff, Franz (1998): Taschenbuch der Rebsorten. Fachverlag Fraund, Mainz
- Hirose, Masao, Fukushima, Shoji, Shirai, Tomoyuki, Hasegawa, Ryohei, Kato, Toshio, Tanaka, Hikaru, Tanaka, Asakawa, Emiko, Ito, Nobuyuki (1990): Stomach carcinogenicity of caffeic acid, sesamol and catechol in rats and mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 81, 207-212
- Hocking, Ailsa D., Leong, Su-lin L., Kazi, Benozir A., Emmett, Robert W., Scott, Eileen S. (2007): Fungi and mycotoxins in vineyards and grape products. *International Journal of Food Microbiology* 119, 84-88
- Holbach, B., Woller, R. (1976): Über den Zusammenhang zwischen Botrytisbefall von Trauben und den Glycerin- sowie Gluconsäuregehalt von Wein. *Wein-Wiss.* 31, 202-214
- Holbach, B., Woller, R. (1978): Der Gluconsäuregehalt von Wein und seine Beziehung zum Glyceringehalt. *Wein-Wiss.* 33, 114-126
- Hong, Young-Shick, Cilindre, Clara, Liger-Belair, Gérard, Jeandet, Philippe, Hertkorn, Norbert, Schmitt-Kopplin, Philippe (2011): Metabolic Influence of Botrytis cinerea Infection in Champagne base wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 7237-7245

- Hong, Young-Shick, Martinez, Agathe, Liger-Belair, Gérard, Jeandet, Philippe, Nuzillard, Jean-Marc, Cilindre, Clara (2012): Metabolomics reveals simultaneous influences of plant defence system and fungal growth in *Botrytis cinerea*-infected *Vitis vinifera* cv. Chardonnay berries. *Journal of Experimental Botany* 63 (16), 5773-5785 DOI:10.1093/jxb/ers228
- IARC (1987): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Supplement 7.
- IARC (1990): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Pharmaceutical Drugs. Volume 50. Lyon, France
- IARC (1993): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Vol. 56
- IARC (2001): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some thyrotropic agents. Volume 79. Lyon, France
- IARC (2002): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Vol. 82
- IARC (2012): IARC Monographs. A review of human carcinogens: Personal habits and indoor combustions. Vol. 100E. Lyon, France
- IARC (2013): Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1–108.
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php> (Stand: 01.10.13)
- Ishii, Kenji, Kobayashi, Jun, Ueno, Yoshio, Ichinoe, Masakatsu (1986): Occurrence of Trichothecin in wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (2), 331-333
- Jackson, Lauren S., Al-Taher, Fadwa (2008): Factors affecting mycotoxin production in fruits. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, Paster, eds.), Chapter 4, 75-104
- Jackson, Ronald S. (2008): *Wine Science, Principles and Applications*. Academic Press (Elsevier)
- Jackson, Ronald S. (2009): *Wine Tasting. A professional handbook*. Academic Press, London, UK, 2. Auflage
- Jacob, Jörg, Oehlenschläger, Jörg, Schneider-Häder, Bianca (2012): *Grundlagenvokabular Sensorik*. DLG-Verlag GmbH, Frankfurt am Main
- Jakob, Ludwig, Hamatschek, J., Scholten, G. (1997): *Der Wein*. Verlag Eugen Ulmer. Stuttgart (Hohenheim)
- Jakob, Ludwig (2012): *Lexikon der Önologie. Kellerwirtschaft, Weinchemie, Weinrecht*. Eugen Ulmer KG, Stuttgart (Hohenheim)
- Jeandet, Philippe, Bessis, Roger, Gautheron, Bernard (1991): The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Am. J. Enol. Vitic.* 42 (1), 41-46
- Jeandet, Philippe, Bessis, Roger, Maume, Bernard F., Meunier, Philippe, Peyron, Dominique, Trollat, Philippe (1995b): Effect of enological practices on the resveratrol isomer content of wine. *J. Agric. Food Chem.* 43, 316-319
- Jeandet, Philippe, Bessis, Roger, Sbaghi, Mohamed, Meunier, Philippe, Trollat, Philippe (1995a): Resveratrol content of wines of different ages: Relationship with fungal disease pressure in the vineyard. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (1), 1-4
- JECFA (1995): Patulin. WHO Technical Report Series 859, Geneva

- JECFA (2000a): Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Zearalenone. WHO Food Additives Series 44, Geneva
- JECFA (2000b): Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series 896.
- JECFA (2001): Ochratoxin A. JECFA Food Additives Series 47
- JECFA (2002): Evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Technical Report Series 906, Geneva
- JECFA (2007): Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series 947, Geneva
- Jeromel, Ana, Kovačević Ganić, Karin, Herjavec, Stanka, Mihaljević, Marin, Jagatić Korenika, Ana Marija, Rendulić, Ivana, Čolić, Marijana (2012): Concentration of biogenic amines in 'Pinot noir' wines produced in Croatia. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 77 (1), 37-40
- Jestoi, M., Rokka, M., Yli-Mattila, T., Parikka, P., Rizzo, A., Peltonen, K. (2004): Presence and concentrations of the *Fusarium*-related mycotoxins beauvericin, enniatins and moniliformin in Finnish grain samples. *Food Additives and Contaminants* 21 (8), 794-802
- Jiang, Y., Li, X., Xu, J., Pan, C., Zhang, J., Niu, W. (2009): Multiresidue method for the determination of 77 pesticides in wine using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants* 26 (6), 859-866
- Jović, Slobodan M., Petrović, Aleksandar V., Marković, Nebojša R. (2009): Mycotoxins in wine with special attention on ochratoxin A. *Proc. Nat. Sci.* 117, 91-100
- Joyeaux, A., Lafon-Lafourcade, S., Ribéreau-Gayon, P. (1984): Evolution of acetic acid bacteria during fermentation and storage of wine. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 (1), 153-156
- Kappenstein, Oliver (2008): Bestimmung von Fusarientoxinen in Lebensmitteln. Dissertation TU Berlin
- Kassemeyer, Hanns-Heinz, Berkelmann-Löhnertz, Beate (2009): Fungi of Grapes. In: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (König, Uden, Fröhlich, eds.) Chapter 4. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Kennedy, J. A. (2008): Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Cien. Inv. Agr.* 35 (2), 107-120
- Kennedy, James A., Saucier, Cédric, Glories, Yves (2006): Grape and wine phenolics: History and perspective. *Am. J. Enol. Vitic.* 57 (3), 239-248
- Key Technology (2013): Lasers. <http://www.key.net/technologies/vision-technology/imaging/lasers/default.html> (Stand: 06.10.13)
- KIS (Kellerwirtschaftlicher Informations-Service Mosel Nr. 5, 2010): Das Füllfertigmachen der Weine [http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/7C220DDF5E6087B5C12576EA0040D47C/\\$FILE/KIS100317_5_f%C3%BCllfertig_machen.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/7C220DDF5E6087B5C12576EA0040D47C/$FILE/KIS100317_5_f%C3%BCllfertig_machen.pdf) (Stand: 16.10.13)
- KIS (Kellerwirtschaftlicher Informations-Service Mosel Nr. 9, 2011): Reifemessung – Herbstvorbereitungen [http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/2C2ABD94672443A0C12578FD005B8828/\\$FILE/kis110824_9_reifemessung_herbstvorb.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/2C2ABD94672443A0C12578FD005B8828/$FILE/kis110824_9_reifemessung_herbstvorb.pdf) (Stand: 16.10.13)
- KIS (Kellerwirtschaftlicher Informations-Service Mosel Nr. 16, 2011): Reifemessung – Heferehydratisierung [http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/9B802CF3959A7393C1257920004CCBCF/\\$FILE/kis111005_16_reifemessung_heferehydratisierung.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/9B802CF3959A7393C1257920004CCBCF/$FILE/kis111005_16_reifemessung_heferehydratisierung.pdf) (Stand: 16.10.13)

- KIS (Kellerwirtschaftlicher Informations-Service Mosel Nr. 14, 2012): Reifemessung - Pektingehalt
[http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/6077A461EA79792BC1257A8D0048447A/\\$FILE/kis121002_14_reifem_pektingehalt.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/6077A461EA79792BC1257A8D0048447A/$FILE/kis121002_14_reifem_pektingehalt.pdf) (Stand: 16.10.13)
- KIS (Kellerwirtschaftlicher Informations-Service Rheinhessen-Nahe-Hunsrück Nr. 7, 2009): Säuerung, Tabelle Mostkonzentrierung
[http://www.dlr-rnh.rlp.de/internet/global/themen.nsf/ALL/5B71C70F91852E04C12576500027D0E9/\\$FILE/2009-10-09%20KIS%20%207.pdf](http://www.dlr-rnh.rlp.de/internet/global/themen.nsf/ALL/5B71C70F91852E04C12576500027D0E9/$FILE/2009-10-09%20KIS%20%207.pdf) (Stand: 16.10.13)
- Kiss, J., Korbász, M., Sass-Kiss, A. (2006): Study of amine composition botrytized grape berries. *J. Agric. Food Chem.* 53, 8909-8918
- Klaffke, Horst-Stefan (2010): Biotoxine und herstellungsbedingte Kontaminanten. In: Handbuch für Lebensmittelchemiker (Frede ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 3. Auflage
- Klaffke, Horst-Stefan (2013): persönliche Mitteilung, Berlin
- Kokkonen, Meri M., Jestoi, Maria M., Rizzo, Aldo A. (2005): Determination of selected mycotoxins in mould cheeses with liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam* 22 (5), 449-456
- Komes, D., Ulrich, D., Ganic, K. Kovacevic, Lovric, T. (2007): Study of phenolic and volatile composition of white wine during fermentation and a short time of storage. *Vitis* 46 (2), 77-84
- Konakovsky, V., Focke, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Schmid, R., Scheiner, O., Moser, P., Jarisch, R., Hemmer, W. (2011): Levels of histamine and other biogenic amines in high-quality red wines. *Food Additives and Contaminants* 28 (4), 408-416
- Kontaminanten-Verordnung (Kmv; 19.03.2010): Verordnung zur Begrenzung von Kontaminanten in Lebensmitteln
- Kuiper-Goodman, T., Scott, P. M., Watanabe, H. (1987): Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regulatory toxicology and pharmacology* 7, 253-306
- Kurtbay, Hayrite Mine, Bekçi, Zehra, Merdivan, Yurdakoç, Kadir (2008): Reduction of Ochratoxin A levels in red wine by bentonite, modified bentonites, and chitosan. *J. Agric. Food Chem.* 56, 2541-2545
- La Guerche, Stéphane, Chamont, Sophie, Blancard, Dominique, Dubourdieu, Denis, Darriet, Philippe (2005): Origin of (-)-geosmin on grapes: on the complementary action of two fungi, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Antonie van Leeuwenhoek* 88, 131-139
- La Guerche, Stephane, Dauphin, Brunhilde, Pons, Monique, Blancard, Dominique, Darriet, Philippe (2006): Characterization of some mushroom and earthy off-odors microbially induced by the development of rot on grapes. *J. Agric. Food Chem.* 54, 9193-9200
- La Guerche, Stéphane, De Senneville, Laure, Blancard, Dominique, Darriet, Philippe (2007): Impact of the *Botrytis cinerea* strain and metabolism on (-)-geosmin production by *Penicillium expansum* in grape juice. *Antonie van Leeuwenhoek* 92, 331-341
- Ladero, Victor, Calles, Marina, Fernández, María, Alvarez, Miguel, A. (2010): Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition & Food Science* 6 (2), 145-156
- Landesanstalt für Rebenzüchtung (1998): Die Deutschen Rebklone. Zentralstelle für Klonenselektion. Ringbuch. Alzey

- Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz – Institut für Lebensmittelchemie Koblenz Stand: Sept. 2012:
Information zur Herstellung und Kennzeichnung von Traubensaft.
http://lua.rlp.de/fileadmin/lua.rlp.de/Downloads/Lebensmittel/Merkblatt_Traubensaft_Stand_09-2012.pdf (Stand: 10.10.12)
- Landete, J. M., Ferrer, S., Pardo, I. (2007): Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. *Food Control* 18, 1569-1574
- Landete, José M., Ferrer, Sergi, Polo, Lucía, Pardo, Isabel (2005): Biogenic amines in wines from three Spanish Regions. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1119-1124
- Larcher, R., Nicolini, G., Villegas, T. Roman, Bertoldi, D., Puecher, C. (2009): Determination of gluconic acid in wine using high pressure liquid chromatography with pulsed amperometric detection. *Vitis* 48 (4), 201-204
- Lau, Benjamin P.-L., Scott, Peter M., Lewis, David A., Kanhere, Shrinivas R., Cléroux, Chantal, Roscoe, Veronica A. (2003): Liquid-chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in fruit juices and beverages. *Journal of Chromatography A* 998, 119-131
- Laurent, M.-H., Henick-Kling, T., Acree, T. E. (1994): Changes in the aroma and odor of Chardonnay wine due to malolactic fermentation. *Wein-Wissenschaft* 49, 3-10
- LAVES (Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2006): Pilzgifte in Lebensmitteln. Nachweis von Fusarientoxinen.
http://www.laves.niedersachsen.de/portal/live.php?navigation_id=20053&article_id=73394&psmand=23 (Stand: 09.01.2013)
- Lawless, Harry T., Heymann, Hildegard (2010): *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices. Second Edition.* Springer Science+Business Media LLC
- Lawless, Harry T. (2013): *Laboratory Exercises for Sensory Evaluation.* Springer Science+Business Media, New York
- Lee, C. Y., Jaworski, A. (1987): Phenolic compounds in white grapes grown in New York. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 277-281
- Leitner, Alexander, Zöllner, Peter, Paolillo, Ada, Stroka, Jörg, Papadopoulou-Bouraoui, Andri, Jaborek, Sabine, Anklam, Elke, Lindner, Wolfgang (2002): Comparison of methods for the determination of ochratoxin A in wine. *Analytica Chimica Acta* 453, 33-41
- Lemperle, E., Kerner, E., Heizmann, R. (1975): Untersuchungen zum Aflatoxingehalt von Weinen. *Wein-Wiss.* 30, 82-86
- Leong, S. L., Hocking, A. D., Scott, E. S. (2007): *Aspergillus* species and producing ochratoxin A: isolation from vineyard soils and infection of Semillon bunches in Australia. *Journal of Applied Microbiology* 102, 124-133
- Leong, Su-lin, Hocking, Ailsa D., Scott, Eileen S. (2006a): Survival and growth of *Aspergillus carbonarius* on wine grapes before harvest. *International Journal of Food Microbiology* 111, S83-S87
- Leong, Su-Lin, Hocking, Ailsa, D., Varelis, Peter, Giannikopoulos, Georgina, Scott, Eileen S. (2006b): Fate of Ochratoxin A during vinification of Semillon and Shiraz grapes. *J. Agric. Food Chem.* 54, 6460-6464

- Lew, H., Adler, A., Edinger, W., Brodacz, W., Kiendler, E., Hinterholzer, J. (2001): Fusarien und ihre Toxine bei Mais in Österreich. *Die Bodenkultur* 52 (3), 199-207
- Lieu, F. Y., Bullerman, L. B. (1977): Production and stability of aflatoxins, penicillic acid and patulin in several substrates. *Journal of Food Science* 42 (5), 1222-1224
- Lipps, Michael (2013): Veränderte Strategien: Kellerwirtschaft in Zeiten des Klimawandels. *das deutsche weinmagazin* 17/18, 18-23
- Lipps, Michael, Porten, Matthias, Rosch, Achim (2009): Vollautomatisch optische Traubensortierung: Chancen und Möglichkeiten. *das deutsche weinmagazin* 15, 21-23
- Lisanti, Maria Tiziana, Piombino, Paola, Gambuti, Angelita, Genovese, Alessandro, Moio, Luigi (2009): Oenological treatments for the removal of geosmin, responsible for earthy off-flavour, in wine. *Bulletin de l'OIV* 82 (n°935-936-937), 71-82
- Liu, G. T. (1991): Relationship between *Alternaria alternata* and oesophageal cancer. IARC scientific publications, Lyon, 258-262
- Liu, Shao-Quan, Piloni, Gordon J. (2000): An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology* 35, 49-61
- Logrieco, A., Ritieni, A., Moretti, A., Randazzo, G., Bottalico, A. (1997): Beauvericin and fusaproliferin: new emerging *Fusarium* toxins. *Cereal Res. Commun.* 25, 407-413
- Logrieco, A., Moretti, A., Castella, G., Kosteci, M., Golinski, P., Ritieni, A., Chelkowski, J. (1998): Beauvericin Production by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (8), 3084-3088
- Logrieco, A., Rizzo, A., Ferracane, R., Ritieni, A. (2002a): Occurrence of Beauvericin and Enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (1), 82-85
- Logrieco, A., Mulè, G., Moretti, A., Bottalico, A. (2002b): Toxicogenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108, 597-609
- Logrieco, A., Ferracane, R., Haidukowsky, M., Cozzi, G., Visconti, A., Ritieni, A. (2009): Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger* from grapes and natural occurrence in must. *Food Additives and Contaminants* 26 (11), 1495-1500
- Logrieco, A., Ferracane, R., Visconti, A., Ritieni, A. (2010): Natural occurrence of fumonisin B₂ in red wine from Italy. *Food Additives and Contaminants* 27 (8), 1136-1141
- Logrieco, Antonio Francesco, Ferracane, Rosalia, Cozzi Giuseppe, Haidukowsky, Miriam, Susca, Antonia, Mulè, Guiseppina, Ritieni, Alberto (2011): Fumonisin B₂ by *Aspergillus niger* in the grape-wine chain: an additional potential mycotoxicological risk. *Ann Microbiol* 61, 1-3
- Lonvaud-Funel, A. (2001): Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 199, 9-13
- Lonvaud-Funel, Aline (1999): Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. *Antonie van Leeuwenhoek* 76, 317-331
- López-Tamames, Elvira, Puig-Deu, M. Asunción, Teixeira, Evanilda, Buxaderas, Susana (1996): Organic acids, sugars, and glycerol content in white winemaking products determined by HPLC: Relationship to climate and varietal factors. *Am. J. Enol. Vitic.* 47 (2), 193-198

- Lorenz, Nicole, Klaffke, Horst-Stefan, Kemmlin, Sabine, Itter, Heike, Lahrssen-Wiederholt, Monika (2012): Report: Aktueller Sachstand zum Thema "Alternaria-Toxine" aus Sicht des gesundheitlichen Verbraucherschutzes. *J. Verbr. Lebensm* 7, 359-365
- Magan, Naresh, Aldred, David, Hope, Russell, Mitchell, David (2010): Environmental factors and interactions with mycobiota of grain and grapes: Effects on growth, deoxynivalenol and ochratoxin production by *Fusarium culmorum* and *Aspergillus niger*. *Toxins* 2, 353-366
- Majerus, P., Otteneder, H. (1996): Nachweis und Vorkommen von Ochratoxin A in Wein und Traubensaft. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 92 (12), 388-390
- Majerus, P., Zimmer, M. (1995): Trichothecin in Weinen, Traubenmosten und Traubensäften. Ein Problem? *Vitic. Enol. Sci.* 50 (1), 14-18
- Majerus, P., Cutka, I., Dreyer, A., El-Dessouki, S., Eyrich, W., Reusch, H., Schurer, B., Waiblinger, H. U. (1993): Zur Belastungssituation von Ochratoxin A in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 89 (4), 112-114
- Majerus, P., Bresch, H., Otteneder, H. (2000): Ochratoxin A in wines, fruit juices and seasonings. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 51, 95-97
- Majerus, P., Hain, J., Kölb, C. (2008): Patulin in grape must and new, still fermenting wine (Federweißer). *Mycotoxin Research* 24 (3), 135-139
- Mangani, S., Guerroni, S., Granchi, L., Vincenzini, M. (2005): Putrescine accumulation in wine: role of *Oenococcus oeni*. *Curr. Microbiol.* 51, 6-10
- Marques, Ana P., Leitão, Maria C., San Romão, Maria V. (2008): Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food Chemistry* 107, 853-860
- Martí, Maria Pilar, Mestres, Montserrat, Sala, Cristina, Busto, Olga, Guasch, Josep (2003): Solid-phase microextraction and gas chromatography olfactometry analysis of successively diluted samples. A new approach of the aroma extract dilution analysis applied to the characterization of wine aroma. *J. Agric. Food Chem* 51, 7861-7865
- Martin, N. (2002): Sweet/sour balance in champagne wine and dependence on taste/odour interactions. *Food Quality and Preference* 13, 295-305
- Martín-Álvarez, P. J. Marcobal. Á., Polo, C., Moreno-Arribas, M. V. (2006): Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *Eur. Food Res. Technol.* 222, 420-424
- Mato, Inés, Suárez-Luque, Silvia, Huidobro, José F. (2007): Simple determination of main organic acids in grape juice and wines by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry* 102, 104-112
- Matissek, Reinhard, Steiner, Gabriele (2006): *Lebensmittelanalytik*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 3. Auflage
- Mayer, K. (1979) Die Bedeutung des biologischen Säureabbaus und sein Einfluss auf den Schweflige Säure-Bedarf der Weine. *Die Weinwirtschaft* 9, 223-226
- McCloskey, L. P., Mahaney, P. (1981): An enzymatic assay for acetaldehyde in grape juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 32 (2), 159-162
- McCloskey, Leo (1974): Gluconic acid in California wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 25 (4), 198-201

- MedlinePlus (2013): <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a682295.html> (06.01.2013)
- Meister, U. (2003): Detection of citrinin in Ochratoxin A-containing products by a new HPLC method. *Mycotoxin Research* 19, 27-30
- Meral, R. (2008): Antioxidant effects of wine polyphenols. *Trakia Journal of Sciences* 6 (1), 57-62
- Meyer, K., Müller, T., Dietrich, R., Märtlbauer, E., Bauer, J. (2001): Nachweis und Vorkommen von Mykophenolsäure und Citrinin in Rotwein. *Mycotoxin Research* 17 (2), 160-164
- Michel, Oliver, Raddatz, Heike (2013): persönliche Mitteilung 29.10.2013
- Mitić, Milan N., Obradović, Mirjana V., Grahovac, Zora B., Pavlović, Aleksandra N. (2010): Antioxidant capacities and phenolic levels of different varieties of Serbian white wines. *Molecules* 15, 2016-2027
- Miyake, Takashi, Shibamoto, Takayuki (1993): Quantitative analysis of acetaldehyde in foods and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1968-1970
- Moake, Matthew M., Padilla-Zakour, Olga I., Worobo, Randy W. (2005): Comprehensive Review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 1, 8-21
- Mogensen, Jesper Mølgaard, Larsen, Thomas Ostenfeld, Nielsen, Kristian Fog (2010a): Widespread occurrence of the mycotoxin Fumonisin B₂ in wine. *G. Agric. Food Chem* 58, 4853-4857
- Mogensen, Jesper M., Frisvad, Jens C., Thrane, Ulf, Nielsen, Kristian F. (2010b): Production of Fumonisin B₂ and B₄ by *Aspergillus niger* on grapes and raisins. *J. Agric. Food Chem* 58, 954-958
- Mohr, H.D. (2005): *Farbatlas Krankheiten Schädlinge und Nützlinge der Weinrebe*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, zitiert in: *Biology of Microorganisms on grapes, in must and in wine* (König, Uden, Fröhlich, eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009
- Monaci, Linda, Palmisano, Francesco (2004): Determination of ochratoxin A in foods: state-of-the-art and analytical challenges. *Anal Bioanal Chem* 378, 96-103
- Moreno-Arribas, M. Victoria, Polo, M. Carmen (2010): *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer Science + Business Media, LLC.
- Moss, M. O., Long, M. T. (2002): Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Additives and Contaminants* 19 (4), 387-399
- Motta, S. D., Valente Soares, L. M. (2001): Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid. *Food Addit Contam* 18 (7), 630-634
- Mozetič, Branka, Tomažič, Irma, Škvarč, Andreja, Trebše, Polonca (2006): Determination of Polyphenols in white grape berries cv. Rebula. *Acta Chim. Slov.* 53, 58-64
- Muñoz-Robredo, Pablo, Robledo, Paula, Manríquez, Daniel, Molina, Rosa, Defilippi, Bruno G. (2011): Characterization of sugars and organic acids in commercial varieties of table grapes. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71 (3), 452-458
- Muraoka, Hiroshi, Watabe, Yoshimi, Ogasawara, Nagahiro, Takahashi, Hajime (1983): Trigger of damage by oxygen deficiency to the acid production system during submerged acetic fermentation with *Acetobacter aceti*. *J. Ferment. Technol.* 61 (1), 89-93
- Nagel, C. W., Baranowski, J. D., Wulf, L. W., Powers, J. R. (1979): The hydroxycinnamic acid tartaric acid ester content of musts and grape varieties grown in the Pacific northwest. *Am. J. Enol. Vitic.* 30 (3), 198-201

- Narendranath, N. V., Hynes, S. H., Thomas, K. C., Ingledew, W. M. (1997): Effects of lactobacilli on yeast-catalyzed ethanol fermentations. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (11), 4158-4163
- Netzer, Michaela, Wacha, Claudia, Bandion, Franz (1998): Zur Bestimmung und Beurteilung von Patulin in Traubenmost und angegorenem Traubenmost (Sturm). *Mitteilungen Klosterneuburg* 48, 118-128
- Noble, A. C. (1994): Bitterness in Wine. *Physiol Behav* 56 (6), 1251-1255
- Northolt, M. D., van Egmond, H. P., Soentoro, P., Dejl, E. (1980): 10 Fungal growth and the presence of sterigmatocystin in hard cheese. *J Assoc Off Anal Chem.* 63 (1), 115-119
- Noser, Jürg, Wenk, Peter, Sutter, Alfred, Fankhauser, Iwan, Jirschi, Hansjörg (2001): Fumonisine B₁ und B₂, Moniliformin, Beauvericin und Zearalenon in Mais auf dem Schweizer Markt. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 92, 90-103
- Nykänen, Lalli (1986): Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *Am. J. Enol. Vitic.* 37 (1), 84-96
- OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin, 2012): Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volume 1 and 2. Paris <http://www.oiv.int/oiv/info/demethodesinternationalesvin> (Stand: 05.10.11)
- Okamura, S., Watanabe, M. (1981): Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality. *Agricultural and Biological Chemistry* 45(9), 2063-2070
- Önal, Armağan (2007): A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry* 103, 1475-1486
- Ong, B. Y., Nagel, C. W. (1978a): Hydroxycinnamic acid-tartaric acid ester content in mature grapes and during the maturation of White Riesling grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 29 (4), 277-281
- Ong, B. Y., Nagel, C. W. (1978b): High-pressure liquid chromatographic analysis of hydroxycinnamic acid-tartaric acid esters and their glucose esters in *Vitis vinifera*. *Journal of Chromatography* 157, 345-355
- Ospital, M., Cazabeil, J.-M., Betbeder, A.-M., Tricard, C., Creppy, E., Medina, B. (1998): L'ochratoxine A dans les vins. *Revue française d'œnologie* 169, 16-18
- Ostry, V. (2008): *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal* 1 (2), 175-188
- Ott, Andreas, Fay, Laurent F., Chaintreau, Alain (1997): Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *J. Agric. Food Chem.* 45, 850-858
- Otteneder, H., Majerus, P. (2000): Occurrence of ochratoxin A (OTA) in wines: influence of the type of wine and its geographical origin. *Food Additives and Contaminants* 17 (9), 793-798
- Ough, C. S., Corison, C. A. (1980): Measurement of patulin in grapes and wines. *Journal of Food Science* 45, 476-478
- Pardo, E., Marín, S., Ramos, A. J., Sanchis, V. (2004): Occurrence of ochratoxigenic fungi and Ochratoxin A in green coffee from different origins. *Food Sci Tech Int* 10 (1), 45-49
- Paster, Nachman (2008): Means to prevent contamination with patulin in apple-derived produce and with Ochratoxin A in wines. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, Paster, eds.), Chapter 18, 351-382

- Patwardhan, S. A., Pandey, R. C., Dev, Sukh, Pendse, G. S. (1974): Toxic cytochalasins of *Phomopsis paspalli*, a pathogen of kodo millet. *Phytochemistry* 13, 1985-1988
- Paul, P., Thurm, V. (1979): Zur hygienischen Bedeutung von Sterigmatocystin in pflanzlichen Lebensmitteln. 2. Mitteilung. Zur Bildung von Sterigmatocystin durch *Aspergillus versicolor*. *Die Nahrung* 23, 117-120
- Peña-Neira, A., Hernández, T., García-Vallejo, C., Estrella, I., Suarez, J. A. (2000): A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. *Eur Food Res Technol.*, 210, 445-448
- Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., Pavlović, M. (1999): Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* 77 (9), 754-766
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J. C., Meijer, M., Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Samson, R. A. (2007): Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Mycology* 59, 53-66
- Petzinger, E., Ziegler, K. (2000): Ochratoxin A from a toxicological perspective. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 23, 91-98
- Phenomenex (2013): Core Shell Technologie. Torrance CA/USA
<http://www.phenomenex.com/Kinetex/CoreShellTechnology> (Stand: 20.12.2012)
- Pineda-Valdes, G., Bullerman L. B. (2000): Thermal stability of moniliformin at varying temperature, pH, and time in an aqueous environment. *J Food Prot.*63 (11), 1598-1601.
- Pinto, Virginia Fernández (2008): Detection and determination of *Alternaria* mycotoxins in fruits and vegetables. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, Paster, eds.), Chapter 13, 271-278
- Porten, Matthias, Feltes, Jakob (2013): Bonitur- und Bewertungssystem für optische Traubensortieranlagen. *das deutsche weinmagazin* 17/18, 24-28
- Possner, D. R. E., Kliwer, W. M. (1985): The localisation of acids, sugars, potassium and calcium in developing grape berries. *Vitis* 24, 229-240
- Pour-Nikfardjam, Martin, Patz, Claus-Dieter, Dietrich, Helmut (1998): Bewertung und Beurteilung: Resveratrol und Polyphenole. *Der deutsche Weinbau* 9, 114-116
- Pour-Nikfardjam, M., Rechner, A., Patz, C.-D., Dietrich, H. (1999): Trans-Resveratrol content of German wines. *Vitic. Enol. Sci.* 54 (1), 17-20
- Pravindra, Chary M., Girisham, S., Reddy, S. M. (1986): Influence of different seed-borne fungi of rice (*Oryza sativa* L.) on the production of citrinin by *Penicillium citrinum*. *J Food Sci Technol, India* 23, 160-162
- Quintela, S. S., Villarán, M. C., López De Armentia, I. I., Elejalde, E. E. (2012): Ochratoxin A removal from red wine by several oenological fining agents: bentonite, egg albumin, allergen-free adsorbents, chitin and chitosan. *Food Addit Contam Part A* 29 (7), 1168-74
- Radler, F., Theis, W. (1972): Über das Vorkommen von *Aspergillus*-Arten auf Weinbeeren. *Vitis* 10, 314-317
- Rahaie, S., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S. H., Mazaheri, M. (2010): Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* as a potential aflatoxin decontaminating agent in pistachio nuts. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 82-90

- Ramachandran, Sumitra, Fontanille, Pierre, Pandey, Ashok, Larroche, Christian (2006): Gluconic acid: Properties, applications and microbial production. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (2), 185-195
- Rankine, C. (1967): Influence of yeast strain and pH on pyruvic acid content of wines. *J. Sci. Fd Agric.* 18, 41-44
- Rankine, C., Pocock, K. F. (1969): Influence of yeast strain on binding of sulphur dioxide in wines, and on its formation during fermentation. *J. Sci. Fd Agric.* 20, 104-109
- Rapp, A., Mandery, H. (1986): Wine aroma. *Experientia* 42, 873-884
- Rasch, Claudia, Böttcher, Maike, Kumke, Michael (2010): Determination of aflatoxin B₁ in alcoholic beverages: comparison of one- and two-photon-induced fluorescence. *Anal Bioanal Chem* 397, 87-92
- Rasmussen, R. R., Storm, I. M. L. D., Rasmussen, P. H., Smedsgaard, J., Nielsen, K. F. (2010): Multi-mycotoxin analysis of maize silage by LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 765-776
- Rebschutzdienst DLR Mosel (Nr. 16, 2010): Oidiumgefahr noch nicht gebannt – Mottenflug des Einbindigen Traubenwicklers hält an – Trockenstress in Junganlagen (nicht mehr online; auf Anfrage erhältlich)
- Rebschutzdienst DLR Mosel (Nr. 8, 2011): Hohe Oidiumgefahr bleibt bestehen - In frühen Lagen bereits Vollblüte.
[http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/78A7F051AD7CA7E1C125789D00271579/\\$FILE/08_2011_mosel%20und%20ahr.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/78A7F051AD7CA7E1C125789D00271579/$FILE/08_2011_mosel%20und%20ahr.pdf) (Stand: 06.10.13)
- Rechner, Andreas, Patz, Claus-Dieter, Dietrich, Helmut (1998): Polyphenolanalytik von Fruchtsäften und Weinen mittels HPLC/UV/ECD ab einer fluorierten RP-Phase. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 94 (11), 363-365
- Ren, Wenying, Qiao, Zhenhua, Wang, Hongwei, Zhu, Lei, Zhang, Li (2003): Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal Research Review* 23 (4), 519-534
- Renaud, S., De Lorgeril, M. (1992): Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet* 339, 1523-1526
- Rentzsch, Michael, Wilkens, Andrea, Winterhalter, Peter (2010): Non-flavonoid phenolic compounds. In: *Wine Chemistry and Biochemistry* (Moreno-Arribas, Polo, eds.) Springer Science+Business Media, LLC, New York
- Ribéreau-Gayon J., Ribéreau-Gayon, P., Sequin, G. (1980): *Botrytis cinerea* in enology. In: *The biology of Botrytis* (Coley-Smith, Verhoff, Jarvis, eds.). Acad. Press, London, N. Y., Toronto, Sydney, San Francisco, 251-274
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006a): *Handbook of Enology. Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications.* John Wiley & Sons, West Sussex, Ltd. 2nd ed.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006b): *Handbook of Enology. Volume 2: The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments.* John Wiley & Sons, West Sussex, Ltd. 2nd ed.
- Ricelli, A., Baruzzi, F., Solfrizzo, M., Morea, M., Fanizzi, F. P. (2007): Biotransformation of Patulin by *Gluconobacter oxydans*. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (3), 785-792

- Richtlinie 96/23/EG des Rates vom 29. April 1996 über Kontrollmaßnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Richtlinien 85/358/EWG und 86/469/EWG und der Entscheidungen 89/187/EWG und 91/664/EWG.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1996L0023:20060101:DE:PDF>
(22.05.13)
- Richtlinie 2003/89/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 10. November 2003 zur Änderung der Richtlinie 2000/13/EG hinsichtlich der Angabe der in Lebensmitteln enthaltenen Zutaten
- Ritter, G., Götz, L., Dietrich, H. (1994): Untersuchung der phenolischen Substanzen in Rheingauer Rieslingweinen. *Vitic. Anol. Sci.* 49 (2), 71-77
- Robichaud, Jane L., Noble, Ann C. (1990): Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *J Sci Agric* 53, 343-353
- Robinson, Jancis (1997): Rebsorten und ihre Weine. Hallwag Verlag Bern und Stuttgart
- Rodríguez-Bernaldo de Quirós, A., Lage-Yusty, M. A., López-Hernández, J. (2009): HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International* 42, 1018-1022
- Rohn, L. Page, L., Borch, H., Horr, B., Diel, F. (2005): Can histamine be tasted in wine? *Inflamm. Res.* 54, 66-67
- Romero, E. García, Muñoz, G. Sánchez, Alvarez, P. J. Martín, Ibáñez, M. D. Cabezudo (1993): Determination of organic acids in grape musts, wines and vinegars by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 655, 111-117
- Romero-González, Roberto, Vidal, Jose Luis Martínez, Aguilera-Liuz, M. M., Frenich, Antonia Garrido (2009): Application of conventional solid-phase extraction for multimycotoxin analysis in beers by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 57, 9385-9392
- Römpf Online (2013). Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Deutschland. www.roempp.com
- Rosch, Achim, Porten, Matthias, Lipps, Michael, Feltes, Jakob (2010): Traubensortierung: Welche Möglichkeiten gibt es? *das deutsche weinmagazin* 19, 22-23
- Rosch, Achim, Lipps, Michael, Porten, Matthias (2009): Selektion von schadhaften Trauben. *Die Winzer-Zeitschrift* 10, 22-24
- Rosell, P. F., Ofria, H. V., Palleroni, N. J. (1968): Production of acetic acid from ethanol by wine yeasts. *Am J. Enol. Vitic.* 19 (1), 13-16
- Sabino, Myrna (2008): Detection and determination of patulin in fruits and fruit products. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, Paster, eds.), Chapter 12, 261-270
- Sabir, A., Kafkas, E., Tangolar, S. (2010): Distribution of major sugars, acids and total phenols in juice of five grapevine (*Vitis spp.*) cultivars at different stages of berry development. *Span. J. Agric. Res.* 8 (2), 425-433
- Sáez, Joan M., Medina, Ángel, Gimeno-Adelantado, José V., Mateo, Rufino, Jiménez, Misericordia (2004): Comparison of different sample treatments for the analysis of ochratoxin A in must, wine and beer by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1029, 125-133

- Samuel, Samson Mathews, Thirunavukkarasu, Mahesh, Penumathsa, Suresh Varma, Paul, Debayon, Maulik, Nilanjana (2008): Akt/FOXO3a/SIRT1-mediated cardioprotection by n-tyrosol against ischemic stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity. *J Agric Food Chem.* 56 (20), 9692–9698
- Sands, David C., McIntyre, John L., Walton, Gerald S. (1976): Use of activated charcoal for the removal of patulin from cider. *Appl. Environ. Microbiol* 32 (3), 388-391
- Sansing, G. A., Lillehok, E. B., Detroy, R. W., Miller, M. A. (1976): Synergistic toxic effects of citrinin, ochratoxin A and penicillic acid in mice. *Toxicon* 14, 213-220
- Sbaghi, M., Jeandet, P., Bessis, R., Leroux, P. (1996): Degradation of stilbene-type phytoalexins in relation to the pathogenicity of *Botrytis cinerea* to grapevines. *Plant Pathology* 45, 139-144
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety) (2012): Opinion on kojic acid, 26-27 June 2012. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_098.pdf (Stand: 23.10.13)
- Schick, A. (2012): Wichtige gesetzliche Werte für die Erzeugung von Weiß- und Rotwein im ANBAUGEBIET MOSEL. [http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/35A0BDF32B09EA71C12577AC003B5994/\\$FILE/Weinrechtliche%20Eckdaten%20MOSEL%202012.pdf](http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/ALL/35A0BDF32B09EA71C12577AC003B5994/$FILE/Weinrechtliche%20Eckdaten%20MOSEL%202012.pdf) (Stand: 29.10.12)
- Schmidt, Oliver (2013): Moderne Kellertechnik. Neue und bewährte Verfahren. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Schmidt-Heydt, Markus, Cramer, Benedikt, Graf, Irina, Lerch, Sandra, Humpf, Hans-Ulrich, Geisen, Rolf (2012): Wavelength-dependent degradation of Ochratoxin and Citrinin by light in vitro and in vivo and its implications on *Penicillium*. *Toxins* 4. 1535-1551
- Schmitt, Helmut (2007): Wir sind mitten drin im Klimawandel. *Der Deutsche Weinbau* 7, 58-62
- Schollenberger, Margit, Drochner, Winfried, Müller, Hans-Martin (2007): *Fusarium* toxins of the scripentrion subgroup: a review. *Mycopathologia* 164, 101-118
- Scholten, G., Friedrich, G. (1998): Bericht über biogene Amine. *Dt. Weinmagazin* 19, 27-32
- Schrader, U., Lemperle, E., Becker, N. J., Bergner, K. G. (1976): Der Aminosäure-, Säure- und Mineralstoffgehalt von Weinbeeren in Abhängigkeit vom Kleinklima des Standortes der Rebe. 3. Mitteilung: Säure- und Mineralstoffgehalt. *Wein-Wissenschaft* 31, 160-175
- Schruff, G., Kassemeyer, H.-H. (1999): Krankheiten und Schädlinge der Weinrebe. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer
- Schütt, Frank, Nirenberg, Helgard I., Deml, Günther (1998): Moniliformin production in the genus *Fusarium*. *Mycotoxin Research* 14, 35-40
- Schwenk, Stefan, Altmayer, Bernd (1985): Nachweis und Stabilität von Trichothecin in Traubensaft und Wein. *Z Lebensm Unters Forsch* 181, 304-307
- Schwenk, Stefan, Altmayer, Bernd, Eichhorn, Klaus Werner (1989): Untersuchungen zur Bedeutung toxischer Stoffwechselprodukte des Pilzes *Trichothecium roseum* Link ex. Fr. für den Weinbau. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 188, 527-530
- Scientific Committee on Food (SCF, 1999): Opinion on *Fusarium* toxins. Part 1: Deoxynivalenol (DON).
- Scientific Committee on Food (SCF, 2000a): Opinion on *Fusarium* toxins. Part 2: Zearalenone (ZEA).

- Scientific Committee on Food (SCF, 2000b): Opinion on *Fusarium* toxins. Part 4: Nivalenol
- SCOOP (2002): Europäische Kommission, Report on Task for scientific cooperation (SCOOP). Report of experts participating in Task 3.2.8, Assessment of dietary intake of Patulin by the EU Member States
- Scott, P. M. (1984): Effects of food processing on mycotoxins. *Journal of Food Protection* 47 (6), 489-499
- Scott, Peter M. (2001): Analysis of agricultural commodities and foods for *Alternaria* mycotoxins. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 84 (6), 1809-1817
- Scott, P. M. (2004): Other mycotoxins. In: *Mycotoxins in food. Detection and control* (Magan, Olsen, eds). Chapter 17, 406-440
- Scott, Peter M. (2008): Mycotoxins in alcoholic beverages and fruit juices: Occurrence and analysis. In: *Food Contaminants: Mycotoxins and Food Allergens* (Siantar, Trucksess, Scott, Herman, eds.), Chapter 9, 170-191
- Scott, P. M., Kanhere, S. R. (2001): Stability of *Alternaria* toxins in fruit juices and wine. *Mycotoxin Research* 17, 9-14
- Scott, P. M., Somers, E. (1968): Stability of patulin and penicillic acid in fruit juices and flour. *J. Agric. Food Chem.* 16 (3), 483-485
- Scott, P. M., Kennedy, B. P. C., Harwig, J., Blanchfield, B. J. (1977): Study of conditions for production of Roquefortine and other metabolites of *Penicillium roqueforti*. *Appl. Environ. Microbiol.* 33 (2), 249-253
- Scott, P. M., Kanhere, S. R., Lawrence, G. A., Daley, E. F., Farber, J. M. (1995): Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisins B₁ and B₂. *Food Addit Contam.* 12 (1), 31-40.
- Scott, P. M., Lawrence, G. A., Lau, B. P.-L. (2006): Analysis of wines, grape juices and cranberry juices for *Alternaria* toxins. *Mycotoxin Research* 22 (2), 142-147
- Scussel, Vildes M., Scholten, Jos M., Rensen, Peter M., Spanjer, Martien C., Giordano, Barbara N. E., Savi, Geovana (2013): Multitoxin evaluation in fermented beverages and cork stoppers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *International Journal of Food Science and Technology* 48, 96-102
- Serra, Rita, Braga, Ana, Venâncio, Armando (2005): Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. *Research in Microbiology* 156, 515-521
- Shank, Roxanne A., Foroud, Nora A., Hazendonk, Paul, Eudes, François, Blackwell, Barbara A. (2011): Review: Current and future experimental strategies for structural analysis of trichothecene mycotoxins - A prospectus. *Toxins* 3, 1518-1553
- Shapira, R. (2004): Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. In: *Mycotoxins in food. Detection and control* (Magan, Olsen, eds.), Chapter 9. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England
- Shaw, Leslie M., Korecka, Magdalena, Venkataramanan, Raman, Goldberg, Lee, Bloom, Roy, Brayman, Kenneth L. (2003): Mycophenolic acid pharmacodynamics and pharmacokinetics provide a basis for rational monitoring strategies. *American Journal of Transplantation* 3, 534-542
- Sherwood, Roger F., Peberdy, John F. (1974): Production of the Mycotoxin, Zearalenone, by *Fusarium graminearum* growing on stored grain. II. Treatment of wheat grain with organic acids. *J. Sci. Fd Agric.* 25, 1089-1093

- Shrikhande, Anil J. (2000): Wine by-products with health benefits. *Food Research International* 33, 469-474
- Siantar, Darsa P., Halverson, Cathy A., Kirmiz, Crystal, Peterson, George F., Hill, Norma R., Dugar, Sumer M. (2003): Ochratoxin A in wine: Survey by antibody- and polymeric-based SPE columns using HPLC/Fluorescence Detection. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (3), 170-177
- Sicherheitsdatenblatt Acetaldehyd, Merck Millipore:
http://www.merckmillipore.de/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-DE-Site/de_DE/-/EUR/ViewPDF-Print.pdf;sid=nLofhGMEXsoGhDOePwxy08vEGzkNdAmjpJQB0tCpW5m-WO2KsFp8LmU6i-GSO WOM-nIPmGDdYYI2g-rNPj5c2QkKvU4GwK_UryCnpdsdRGoWMELwhf4-cHpA?RenderPageType=ProductDetail&CatalogCategoryID=4WOb.s1LvhcAAAEWg.EfVhTI&ProductUUID=0R2b.s1OD6kAAAEY3FcK0D2g&PortalCatalogUUID=t02b.s1LX0MAAAEWc9UfVhTI (Stand 07.11.12)
- Siegel, David, Merkel, Stefan, Koch, Matthias, Nehls, Irene (2010): Quantification of the *Alternaria* mycotoxin tenuazonic acid in beer. *Food Chemistry* 120 (3), 902-906
- Siegmund, Barbara, Pöllinger-Zierler, Barbara (2006): Odor thresholds of microbially induced off-flavor compounds in apple juice. *J. Agric. Food Chem.* 54, 5984-5989
- Silla Santos, M. H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 29, 213-231
- Singleton, V. L. (1966): The total phenolic content of grape berries during the maturation of several varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 17 (2), 126-134
- Singleton, V. L. (1982): Grape and wine phenolics, background and prospects. In: *Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings* (Webb, ed.), 215-227. University of California, Davis.
- Singleton, Vernon L. (1987): Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.* 38 (1), 69-77
- Singleton, V. L., Rossi, Joseph A. J. R. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16 (3), 144-158
- Singleton, Vernon L., Orthofer, Rudolf, Lamuela-Raventos, Roas M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. In: *Methods in Enzymology* 299 (Packer, de.). Academ. Press, New York, 152-178
- Slomczynski, D., Nakas, J. P., Tanenbaum, S. W. (1995): Production and characterization of laccase from *Botrytis cinerea* 61-64. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (3), 907-912
- Smit, A. Y., du Toit, W. J., du Toit, M. (2008): Biogenic amines in wine: Understanding the headache. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 29 (2), 109-127
- Smith, J. E., Harran, G. (1993): Microbial degradation of mycotoxins. *International Biodeterioration & Biodegradation* 32, 205-211
- Soleas, G. J., Carey, M., Goldberg, D. M. (1999): Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines. *Food Chem.* 64, 49-58
- Soleas, George J., Yan, Joseph, Goldberg, David M. (2001): Assay of Ochratoxin A in wine and beer by high-pressure liquid chromatography photodiode array and gas chromatography mass selective detection. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2733-2740
- Sommer, Noel F., Buchanan, R., Fortlage, Robert J. (1974): Production of Patulin by *Penicillium expansum*. *Applied Microbiology* 28 (4), 589-593

- Souffleros, E., Barrios, M.-L., Bertrand, A. (1998): Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *Am. J. Enol. Vitic.* 49, 266-278
- Soyer, Y., Koca, N., Karadeniz, F. (2003): Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 16, 629-636
- Sponholz, W. R., Dittrich, H. H. (1979): Analytische Vergleiche von Mosten und Weinen aus gesunden und essigstichigen Traubenbeeren. *Wein-Wissenschaft* 34 (4), 279-292
- Sponholz, W. R., Dittrich, H. H. (1985): Über die Herkunft von Gluconsäure, 2- und 5-Oxo-Gluconsäure sowie Glucuron- und Galacturonsäure in Mosten und Weinen. *Vitis* 24, 51-58
- Sponholz, W. R., Dittrich, H. H., Barth, A. (1982): Über die Zusammensetzung essigstichiger Weine. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 78 (12), 423-428
- Steidl, Robert (2001): *Kellerwirtschaft*. Österreichischer Agrarverlag, Leopoldsdorf. 6. Auflage
- Steidl, Robert, Leindl, Georg (2003): *Der Weg zum Spitzenwein*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim)-Österreichischer Agrarverlag, Leopoldsdorf.
- Steiner, I., Werner, D., Washüttl., J. (1999): Patulin in Obstsaften – II. Patulinabbau. *Ernährung/Nutrition* 23 (6), 251-255
- Su, Cathy Tsai, Singleton, V. L. (1969): Identification of three flavan-3-ols from grapes. *Phytochemistry* 8, 1553-1558
- Sweeney, Michael J., Dobson, Alan D. W. (1998): Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 43, 141-158
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., Pretorius, I. S. (2005): Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11, 139-173
- Tamura, Masayoshi, Uyama, Atsuo, Mochizuki, Naoki (2011): Development of a multi-mycotoxin analysis in beer-based drinks by a modified QuEChERS method and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical Sciences* 27, 629-635
- Taylor, Paul J. (2006): Method development and optimization of LC-MS. In: *Applications of LC-MS in Toxicology* (Poletti, ed.). Pharmaceutical Press, London
- Taylor, S. L. (1986): Histamine food poisoning, toxicology and clinical aspects. *Crit. Rev. Toxicol.* 17, 91-128
- Ten Brink, B., Darmink, C., Joosten, H. M. L. J., Huis in 't Veld, J. H. J. (1990): Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 11, 73-84
- Terrier, Nancy, Poncet-Legrand, Céline, Cheynier, Véronique (2010): Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. In: *Wine Chemistry and Biochemistry* (Moreno-Arribas, Polo, eds.) Springer Science+Business Media, LLC, New York
- Theilmann, A., Weber, W. (1997): Bestimmung von Ochratoxin A in Getreide, Malz und Bier nach Anreicherung und Separation an Immunoaffinitätssäulen und anschließender Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Fluoreszenzdetektion. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 93 (1), 1-3
- Thorngate, J. H., Noble, A. C. (1995): Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3R(-)-Epicatechin and 3S(+)-Catechin. *J Sci Agric* 67, 531-535

- Tournas, V. H. Stack, Michael E. (2001): Production of Alternariol and Alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures. *Journal of Food Protection* 64 (4), 528-532
- Trogus, H., Pohl, H. (1978): Die Beeinflussung des Kaliumgehaltes in Most und Wein durch Kaliumdüngung, Traubenreife, Traubenverarbeitungstechnik und Weinausbau. *Wein-Wissenschaft* 33, 289-298
- Troost, Gerhard (1988): *Technologie des Weines*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 6. Auflage
- Valero, Ana, Marín, Sonia, Ramos, Antonio J., Sanchis, Vicente (2008): Survey: Ochratoxin A in European special wines. *Food Chemistry* 108, 593-599
- Van Egmond, H. P., Jonker, M. A. (2008): Regulations and limits for mycotoxins in fruits and vegetables. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai-Golan, Paster, eds.), Chapter 3, 45-74
- Vaquero, Rodríguez M. J., Alberto, M. R., Manca de Nadra, M. C. (2007): Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control* 18, 93-101
- Vérette, Eric, Noble, Ann C., Somers, T. Chris (1988): Hydroxycinnamates of *Vitis vinifera*: Sensory assessment in relation to bitterness in white wines. *J. Sci Food Agric.* 45, 267-272
- Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung - ZZuV): Anlage 4 (zu § 5 Abs. 1 und § 7) Teil A, 29.01.1998
- Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit
- Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Anhang: Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Abschnitt 2: Mykotoxine
- Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates vom 29. April 2008 über die gemeinsame Marktorganisation für Wein, zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1493/1999, (EG) Nr. 1782/2003, (EG) Nr. 1290/2005, (EG) Nr. 3/2008 und zur Aufhebung der Verordnungen (EWG) Nr. 2392/86 und (EG) Nr. 1493/1999
- Verordnung (EG) 889/2008 der Kommission vom 5. September 2008 mit Durchführungsvorschriften zur Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen hinsichtlich der ökologischen/biologischen Produktion, Kennzeichnung und Kontrolle. Anlage VIIIa: Erzeugnisse und Stoffe gemäß Artikel 29c, die zur Verwendung in oder zur Zugabe zu ökologischen/biologischen Erzeugnissen des Weinsektors zugelassen sind.
- Verordnung (EG) Nr. 606/2009 der Kommission vom 10. Juli 2009 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates hinsichtlich der Weinbauerzeugniskategorien, der önologischen Verfahren und der diesbezüglichen Einschränkungen. Anhang I A: Zugelassene önologische Verfahren und Behandlungen
- Verordnung (EG) Nr. 606/2009 der Kommission vom 10. Juli 2009 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates hinsichtlich der Weinbauerzeugniskategorien, der önologischen Verfahren und der diesbezüglichen Einschränkungen. Anhang I B: Grenzwerte für den Schwefeldioxidgehalt der Weine

- Verordnung (EG) Nr. 606/2009 der Kommission vom 10. Juli 2009 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates hinsichtlich der Weinbauerzeugniskategorien, der önologischen Verfahren und der diesbezüglichen Einschränkungen. Anhang I C: Grenzwerte für den Gehalt der Weine an flüchtiger Säure.
- Verordnung (EG) Nr. 607/2009 der Kommission vom 14. Juli 2009 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates hinsichtlich der geschützten Ursprungsbezeichnungen und geografischen Angaben, der traditionellen Begriffe sowie der Kennzeichnung und Aufmachung bestimmter Weinbauerzeugnisse.
- Visconti, Angelo, Pascale, Michelangelo, Centonze, Gianluca (1999): Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 864, 89-101
- Vitrac, Xavier, Monti, Jean-Pierre, Vercauteren, Joseph, Deffieux, Gérard, Mérillon, Jean-Michel (2002): Direct liquid chromatographic analysis of resveratrol derivatives and flavanonols in wines with absorbance and fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* 458, 103-110
- Vitrac, Xavier, Bornet, Aurélie, Vanderlinde, Regina, Valls, Josep, Richard, Tristan, Delaunay, Jean-Claude, Mérillon, Jean-Michel, Teissédre, Pierre-Louis (2005): Determination of stilbenes (δ -viniferin, *trans*-astringin, *trans*-piceid, *cis*- and *trans*-resveratrol, ϵ -viniferin) in Brazilian wines. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5664-5669
- Volschenk, H., van Vuuren, H. J. J., Viljoen-Bloom, M. (2006): Malic acid in wine: Origin, function and metabolism during vinification. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 27 (2), 123-136
- Wagner, K., Kreutzer, P., Kirchner-Neß, R., Dittrich, H. H. (1989): Beziehungen zwischen der Konzentration von Inhaltsstoffen fränkischer Traubenmoste und ihrer Qualität. *Wein-Wiss.* 44, 165-167
- Walz, Oswald (2008): Anbau im Klimawandel. *das deutsche weinmagazin* 5, 26-29
- Wallbrunn, Christian, Moll, Madlen, Schneider, Ilona (2011): Die alkoholische Gärung: Quelle biogener Amine? *Das deutsche Weinmagazin* 20, 12-16
- Walter, Ruth, Kortekamp, Andreas (2012): Fäulniserreger an Trauben. Erkennen und vermeiden. *Das deutsche weinmagazin* 18 (7), 23-25
- Walter, Ruth, Altmayer, Bernd, Jausel, Susanne, Twertek, Michael (2013): Ochratoxin-(kein) Thema im Weinbau? *Der Deutsche Weinbau* 8, 128-130
- Wang, Qinggui, Xu, Lijian (2012): Beauvericin, a biocactive compound produced by fungi: A short review. *Molecules* 2012, 2367-2377
- Wantke, F., Moritz, K., Sesztak-Greinekcer, G., Götz, M., Hemmer, W., Moser, P., Jarisch, R. (2008): Histamine content in red and sparkling wine and relationship with wine quality. *J. Allergy Clin. Immunol.* 121, 194
- Waterhouse, Andrew L. (2002a): Wine phenolics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 957, 21-36
- Waterhouse, A. (2002b): Determination of total phenolics. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (2002) 11.1.1-11.1.8. John Wiley & Sons.
- Weiland, Jörg (2010): Gärtemperatur bei Rotwein: 20 oder 35 °C? *das deutsche weinmagazin* 16/17, 10-16
- Weeks, C. (1969): Production of sulfur dioxide-binding compounds and of sulfur dioxide by two *Saccharomyces* yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 20, 32-39

- Weidenbörner, Martin (2001): Encyclopedia of food mycotoxins. Springer Verlag Berlin
- Weingesetz (1994): Weingesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Januar 2011
- Wetterstation Bernkastel-Kues, Agrarmeteorologie Rheinland-Pfalz:
http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/inetcntr.nsf/dlr_web_full.xsp?src=L941ES4AB8&p1=1PJCNH7DKW&p2=IB26DJ6C96&p3=9IQ84WEY3L&p4=XJPZBV4849 (Stand: 06.06.2013)
- Wicklow, Donald T., Stubblefield, Robert, D., Horn, Bruce W., Shotwell, Odette L. (1988): Citreoviridin levels in *Eupenicillium ochrosalmoneum*-infested maize kernels at harvest. Appl. Environ. Microbiol 54 (5), 1096-1098
- Woese, K. (2001): Ochratoxin A in Traubensaft und Wein. Lebensmittelchemie 55, 36
- Woller, Richard, Majerus, Paul (1986): Patulin auf Trauben und in Traubenmosten – Vorkommen und Bildungsbedingungen. Wein-Wiss. 41 (3), 205-210
- Woodhead, Suzan H., Templeton, G. E., Meyer, W. L., Lewis, R. B. (1975): Procedures for Crystallization and further purification of tentoxin. Phytopathology 65, 495-496
- Würdig, Gottfried, Woller, Richard (1989): Chemie des Weines. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim)
- Xu, Bao-jun, Jia, Xiao-qin, Gu, Li-juan, Sung, Chang-keun (2006): Review on the qualitative and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. Food Control 17, 271-285
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S. (2004): Flavonoids in food and their health benefits. Plant Foods for Human Nutrition 59, 113-122
- Yilmaz, Yusuf, Toledo, Romeo T. (2004): Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. J. Agric. Food Chem. 52, 255-260
- Zee, J. A., Simard, R. E., Heureux, L. L., Tremblay, J. (1983): Biogenic amines in wines. Am. J. Enol. Vitic. 34, 6-9
- Zheng, Yan-Jun, Duan, Yun-Tao, Zhang, Yan-Fang, Pan, Qiu-Hong, Li, Jing-Ming, Huang, Wei-Dong (2009): Determination of organic acids in red wine and must on only one RP-LC-column directly after sample dilution and filtration. Chromatographia. DOI:10.1365/s10337-009-1085-0
- Zimmerli, B., Dick, R. (1995): Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. Journal of Chromatography B, 666, 85-99
- Zimmerli, Bernhard, Dick, Rudolf (1996): Ochratoxin A in table wine and grape-juice: Occurrence and risk assessment. Food Additives and Contaminants 13 (6), 655-668
- Zöllner, Peter, Mayer-Helm, Bernhard (2006): Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1136, 123-169
- Zöllner, P., Leitner, A., Lubda, D., Cabrera, K., Lindner, W. (2000): Application of a Chromolith SpeedROD RP-18e HPLC Column: Determination of Ochratoxin A in different wines by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chromatographia 52, 818-820
- Zotou, A., Loukou, Z., Karava, O. (2004): Method development for the determination of seven organic acids in wines by Reversed-Phase High Performance Liquid chromatography. Chromatographia 60, 39-44

A Anhang

A.1 Ergänzungen

A.1.1 Farbbestimmung

Bei den Ergebnissen der Farbbestimmung der Weißweine ist vor allem die Farbintensität und die Absorption bei 420 nm entscheidend. Die Wellenlänge von 420 nm gilt als charakteristisch für gelbliche Substanzen, wobei Messungen der optischen Dichte bei dieser Wellenlänge nur eine annähernd geeignete Farbbewertung von Weißweinen darstellen (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Beim Rotwein gilt die Farbe als Qualitätskriterium (Jakob, 2012). Hier ist vor allem die Farbtiefe von Bedeutung; je größer das Verhältnis E 420/E 520, desto brauner erscheint der Wein, was einen Fäulniseinfluss anzeigt.

Moste und Weine aus *Botrytis*-infizierten Beeren haben infolge der Oxidationsenzyme sowohl bei weißen als auch bei roten Rebsorten eine viel höhere Bräunungsbereitschaft als solche aus gesunden Beeren (siehe Kapitel 4.6.3.6).

Probe	E1 (420 nm)	E2 (520 nm)	E3 (620 nm)	Farbintensität (E1+E2+E3)	Farbtiefe (Farbnuance) E 420 / E 520
V1-2010-Rsl-W-Kon	0,0705	0,0085	0,0025	0,0815	8,2941
V1-2010-Rsl-W-pos	0,0845	0,0125	0,0050	0,1020	6,7600
V1-2010-Rsl-W-neg	0,0970	0,0130	0,0025	0,1125	7,4615
V2-2010-Rsl-W-Kon	0,1055	0,0140	0,0040	0,1235	7,5357
V2-2010-Rsl-W-pos	0,0875	0,0115	0,0030	0,1020	7,6087
V2-2010-Rsl-W-neg	0,1145	0,0170	0,0050	0,1365	6,7353
V3-2010-Rsl-W-Kon	0,1025	0,0160	0,0055	0,1240	6,4063
V3-2010-Rsl-W-Saft	0,1265	0,0545	0,0400	0,2210	2,3211
V3-2010-Rsl-W-pos	0,0890	0,0115	0,0030	0,1035	7,7391
V3-2010-Rsl-W-neg	0,0980	0,0135	0,0030	0,1145	7,2593
V4-2010-Rsl-W-Kon	0,0640	0,0095	0,0025	0,0760	6,7368
V4-2010-Rsl-W-Saft	0,0605	0,0105	0,0035	0,0745	5,7619
V4-2010-Rsl-W-pos	0,0640	0,0080	0,0015	0,0735	8,0000
V4-2010-Rsl-W-neg	0,0625	0,0080	0,0015	0,0720	7,8125
V5-2010-Rsl-W-Kon	0,0890	0,0145	0,0035	0,1070	6,1379
V5-2010-Rsl-W-pos	0,0715	0,0100	0,0030	0,0845	7,1500
V5-2010-Rsl-W-neg	0,1175	0,0190	0,0065	0,1430	6,1842
V6-2010-Rsl-W-Kon	0,0650	0,0085	0,0015	0,0750	7,6471
V6-2010-Rsl-W-Saft	0,0565	0,0080	0,0025	0,0670	7,0625
V6-2010-Rsl-W-pos	0,0685	0,0095	0,0025	0,0805	7,2105
V6-2010-Rsl-W-neg	0,2060	0,0875	0,0550	0,3485	2,3543

Probe	E1 (420 nm)	E2 (520 nm)	E3 (620 nm)	Farbintensität (E1+E2+E3)	Farbtiefe (Farbnuance) E 420 / E 520
V1-2011-GrB-W-Kon	0,0594	0,0081	0,0018	0,0693	7,3333
V1-2011-GrB-W-Saft	0,0483	0,0064	0,0016	0,0563	7,5469
V1-2011-GrB-W-pos	0,0758	0,0114	0,0038	0,0910	6,6491
V1-2011-GrB-W-neg	0,0883	0,0148	0,0046	0,1077	5,9662
V2-2011-MTh-W-Kon	0,0552	0,0098	0,0032	0,0682	5,6327
V2-2011-MTh-W-Saft	0,0625	0,0103	0,0028	0,0756	6,0680
V2-2011-MTh-W-pos	0,0489	0,0098	0,0034	0,0621	4,9898
V2-2011-MTh-W-neg	0,0865	0,0157	0,0044	0,1066	5,5096
V3-2011-MTh-W-Kon	0,0602	0,0140	0,0071	0,0813	4,3000
V3-2011-MTh-W-Saft	0,0674	0,0129	0,0055	0,0858	5,2248
V3-2011-MTh-W-pos	0,0637	0,0103	0,0027	0,0767	6,1845
V3-2011-MTh-W-neg	0,1122	0,0234	0,0052	0,1408	4,7949
V4-2011-SpB-W-Kon	0,8255	0,6969	0,1970	1,7194	1,1845
V4-2011-SpB-W-Saft*	0,0660	0,0155	0,0034	0,0849	4,2581
V4-2011-SpB-W-pos	1,1010	0,9714	0,2978	2,3702	1,1334
V4-2011-SpB-W-neg	1,4299	1,0603	0,3130	2,8032	1,3486
V5-2011-Rsl-W-Kon	0,0792	0,0101	0,0018	0,0911	7,8416
V5-2011-Rsl-W-Saft	0,0772	0,0109	0,0018	0,0899	7,0826
V5-2011-Rsl-W-pos	0,0722	0,0188	0,0065	0,0975	3,8404
V5-2011-Rsl-W-neg	0,1231	0,0187	0,0035	0,1453	6,5829
V6-2011-Rsl-W-Kon	0,0641	0,0082	0,0020	0,0743	7,8171
V6-2011-Rsl-W-Saft	0,0671	0,0104	0,0037	0,0812	6,4519
V6-2011-Rsl-W-pos	0,0654	0,0077	0,0014	0,0745	8,4935
V6-2011-Rsl-W-neg	0,0953	0,0128	0,0029	0,1110	7,4453
V7-2011-GrB-W-Kon	0,0609	0,0096	0,0026	0,0731	6,3438
V7-2011-GrB-W-Saft	0,0762	0,0148	0,0040	0,0950	5,1486
V7-2011-GrB-W-pos	0,0563	0,0099	0,0032	0,0694	5,6869
V7-2011-GrB-W-neg	0,0873	0,0159	0,0038	0,1070	5,4906
V8-2011-Rsl-W-Kon	0,1013	0,0140	0,0031	0,1184	7,2357
V8-2011-Rsl-W-Saft	0,0835	0,0119	0,0025	0,0979	7,0168
V8-2011-Rsl-W-pos	0,1080	0,0164	0,0065	0,1309	6,5854
V8-2011-Rsl-W-neg	0,1804	0,0268	0,0059	0,2131	6,7313
V9-2011-Rsl-W-Kon	0,0843	0,0150	0,0023	0,1016	5,6200
V9-2011-Rsl-W-Saft	0,0743	0,0094	0,0015	0,0852	7,9043
V9-2011-Rsl-W-pos	0,1048	0,0164	0,0056	0,1268	6,3902
V9-2011-Rsl-W-neg	0,1036	0,0148	0,0029	0,1213	7,0000

* bei Ergebnisbetrachtung nicht vergleichbar mit den anderen zugehörigen Versuchsfraktionen aufgrund abweichender Vinifikation (siehe Kapitel 8.2.2)

In beiden Jahrgängen konnten deutlich stärkere Farbintensitäten und auch stärkere Absorptionen bei der Wellenlänge von 420 nm bei den Weinen der Negativfraktionen im Vergleich zu den Positivfraktionen beobachtet werden. Dies kann mit der *Botrytis*-Belastung dieser Beeren und der Wirkung der Oxidationsenzyme erklärt werden (siehe Kapitel 4.6.3.6). Eine Bräunung führt folglich zur Intensivierung der Farbe.

Beim Spätburgunder wirkte sich die Fäulnisbelastung auf die Farbtiefe/-nuance aus. Die Negativfraktion zeigte hier den größten Wert an, was die sichtbar wahrnehmbare Braunfärbung dieses Weines analytisch bestätigte. Die Positivfraktion zeigte hier mit dem kleinsten Verhältnis die deutliche Rotfärbung dieses Weines an.

A.1.2 Phenole: Methodenentwicklung

Phenol	Bernkasteler Badstube Riesling 2011		Riesling feinherb 2010		Riesling Zeltinger Schlossberg fruchtsüß 2010		Rivaner QbA trocken 2011		Blanc de Noir QbA trocken 2011		Gewürztraminer QbA trocken 2011	
	MW	s	MW	s	MW	s	MW	s	MW	s	MW	s
	[mg/L]											
Gallussäure	*		1,04	0,054	2,09	0,039	*		*		*	
Protocatechusäure	1,90	0,028	1,77	0,016	3,91	0,091	1,46	0,004	1,19	0,007	1,53	0,018
Tyrosol	10,61	0,013	12,56	0,039	15,67	0,012	16,70	0,037	20,08	0,015	10,29	0,121
Protocatechualdehyd	<BG		<BG		<BG		<BG		<BG		<BG	
(+)-Catechin	0,85	0,011	0,89	0,131	0,38	0,007	1,07	0,076	1,35	0,013	0,68	0,018
Vanillinsäure	5,09	0,004	3,27	0,242	2,00	0,255	2,72	0,024	2,92	0,006	2,80	0,007
Syringasäure	*		*		<BG		*		0,12	0,002	*	
(-)-Epicatechin	*	0,396	0,28	0,029	0,59	0,004	0,28	0,001	0,60	0,006	<BG	
(-)-Epicatechingallat	0,66	0,002	0,70	0,009	0,65	0,002	0,85	0,002	0,91	0,006	0,74	0,001
Caftarinsäure	12,31	0,004	22,69	0,089	13,39	0,037	3,70	0,036	15,30	0,011	3,47	0,005
Kaffeensäure	1,34	0,000	1,44	0,009	1,17	0,000	0,73	0,003	1,14	0,001	0,94	0,001
p-Coumarsäure	4,42	0,001	4,12	0,003	4,01	0,001	3,06	0,001	2,73	0,001	2,77	0,001
Syringaldehyd	0,83	0,008	0,80	0,009	0,81	0,002	0,73	0,000	*	0,331	*	
Ferulasäure	0,83	0,003	0,77	0,010	0,91	0,006	0,68	0,001	0,79	0,059	0,52	0,006
trans-Resveratrol	*		*		*		*		*		*	

(* n.n.)

	V7-2011-GrB								V8-2011-Rsl							
	Kon		Saft		Pos		Neg		Kon		Saft		Pos		Neg	
	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein
	[mg/L]								[mg/L]							
Hydroxybenzoesäure-Derivate																
Gallussäure	0,31	n.n.	0,33	n.n.	0,21	n.n.	0,29	n.n.	0,55	n.n.	0,68	n.n.	0,68	n.n.	1,72	n.n.
Protocatechusäure	1,01	1,89	1,06	1,97	0,83	2,12	1,37	2,70	0,55	2,78	0,65	1,67	0,63	3,50	1,66	4,31
Protocatechualdehyd	0,07	n.n.	0,04	n.n.	0,02	n.n.	0,06	n.n.	0,09	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	0,02
Vanillinsäure	3,95	4,06	2,00	2,17	2,75	4,44	5,07	5,22	5,32	6,57	2,85	2,90	1,97	6,06	6,31	6,89
Syringasäure	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Syringaaldehyd	0,72	0,75	0,72	n.n.	0,72	0,70	0,76	0,71	0,78	0,84	0,80	0,73	0,75	0,77	1,09	0,99
Flavonoide																
(+)-Catechin	0,30	0,30	5,63	4,58	0,39	0,47	0,36	0,53	0,23	0,44	1,01	1,02	0,28	0,45	n.n.	1,39
(-)-Epicatechin	0,33	0,05	3,53	1,67	0,87	0,07	0,42	0,22	0,20	0,14	0,15	0,13	0,74	0,30	0,51	0,23
(-)-Epicatechingallat	0,66	0,89	n.n.	0,95	n.n.	0,89	0,71	0,97	n.n.	0,71	0,65	0,80	0,72	0,74	n.n.	0,92
Hydroxyzimtsäure-Derivate																
Caftarsäure	n.n.	3,02	1,26	0,82	n.n.	1,34	n.n.	5,42	n.n.	6,11	8,05	7,04	n.n.	0,96	2,19	5,29
Kaffeensäure	0,55	0,71	0,63	0,87	n.n.	0,67	n.n.	0,94	n.n.	0,73	0,48	0,89	n.n.	0,59	0,45	1,05
p-Coumarsäure	2,56	2,85	2,72	2,95	2,51	2,88	2,60	2,88	2,58	3,04	2,64	3,18	n.n.	2,86	2,71	3,17
Ferulasäure	n.n.	0,55	0,40	0,65	n.n.	0,57	n.n.	0,62	0,38	1,03	0,39	1,03	0,36	1,03	0,50	1,13
Tyrosol	n.n.	12,23	n.n.	17,16	n.n.	12,81	n.n.	12,35	n.n.	19,44	n.n.	17,51	n.n.	15,75	n.n.	19,44
trans-Resveratrol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,10	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

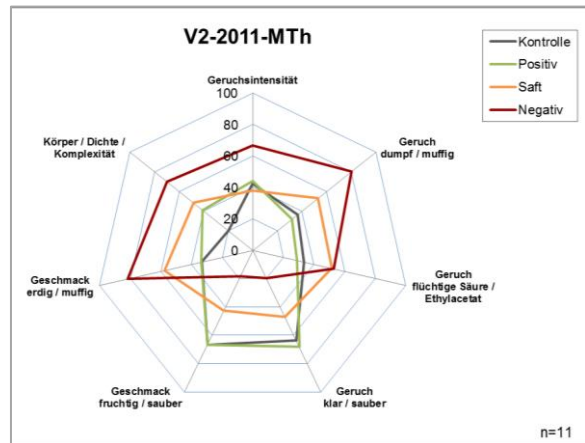
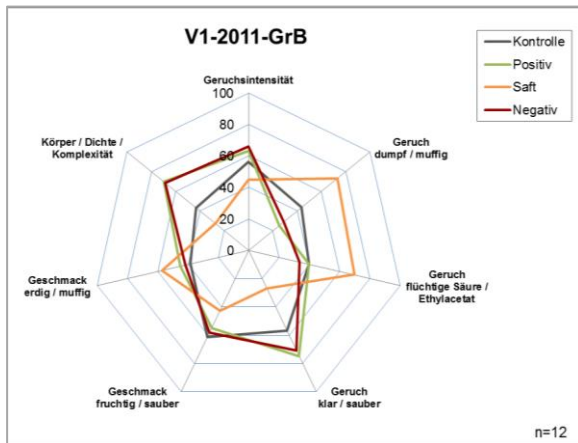
	V9-2011-Rsl							
	Kon		Saft		Pos		Neg	
	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein	GG	Wein
	[mg/L]							
Hydroxybenzoesäure-Derivate								
Gallussäure	n.n.	n.n.	0,17	n.n.	n.n.	n.n.	0,29	n.n.
Protocatechusäure	0,48	1,36	0,78	1,44	0,45	0,76	1,50	2,14
Protocatechualdehyd	0,15	n.n.	0,13	n.n.	n.n.	n.n.	0,27	n.n.
Vanillinsäure	4,81	5,31	3,78	3,80	2,44	5,08	11,33	10,17
Syringasäure	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Syringaaldehyd	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,72	0,79
Flavonoide								
(+)-Catechin	0,33	0,77	0,84	1,21	0,55	0,70	0,31	1,04
(-)-Epicatechin	0,75	0,22	0,75	0,40	0,64	0,25	0,87	0,15
(-)-Epicatechingallat	n.n.	0,74	n.n.	0,83	n.n.	0,84	0,63	0,89
Hydroxyzimtsäure-Derivate								
Caftarsäure	n.n.	1,47	0,91	2,51	n.n.	0,36	5,60	5,31
Kaffeensäure	n.n.	0,84	0,48	0,78	n.n.	0,69	0,52	0,86
p-Coumarsäure	2,58	2,95	2,60	3,02	n.n.	2,82	2,65	3,36
Ferulasäure	0,37	0,64	0,41	0,79	n.n.	0,64	0,39	0,99
Tyrosol	n.n.	13,31	n.n.	11,64	n.n.	15,46	0,79	13,04
trans-Resveratrol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,10	n.n.	n.n.

A.1.4 Mykotoxine: Substanzspezifische MS-Parameter

Verbindung ESI+	Produktionen m/z	Declustering Potential [V]	Cell Entrance Potential [V]	Collision Energy [V]	Cell Exit Potential [V]
Deoxynivalenol	203,3	66	10	21	16
	248,9	66	10	17	20
Coffein	137,8	76	10	27	10
	123,2	76	10	45	10
	151,2	76	10	23	14
Aflatoxin G ₂	313,1	86	10	35	118
	188,7	86	10	59	18
Aflatoxin G ₁	242,7	66	10	37	16
	311,2	66	10	31	28
Aflatoxin B ₂	287,1	86	10	37	16
	259,2	86	10	41	20
Altenuen (ALT)	257,2	36	10	21	16
	274,9	36	10	15	24
Aflatoxin B ₁	285,1	91	10	33	22
	240,8	91	10	47	22
Diacetoxyscirpenol	307,2	46	10	17	28
	246,9	46	10	19	22
	199,0	46	10	25	18
Wortmannin	355,0	41	10	19	12
	428,9	41	10	11	14
Citrinin	233,3	61	10	25	18
	205,2	61	10	37	16
Cytochalasin J	434,2	51	10	13	18
	416,4	51	10	17	14
Griseofulvin	164,8	81	10	29	14
	285,1	81	10	25	24
HT-2 Toxin	214,8	51	10	19	18
	263,0	51	10	17	22
Fumonisin B ₁	704,3	96	10	39	22
	352,0	96	10	49	12
Tentoxin	312,1	76	10	29	18
	256,4	76	10	41	16
Cytochalasin H	434,0	76	10	11	18
	434,5	76	10	11	18
T-2 Toxin	305,1	56	10	19	10
	244,8	56	10	19	20
Roquefortin C	321,9	81	10	29	18
	192,8	81	10	35	16
Fumonisin B ₃	336,5	81	10	49	14
	688,5	81	10	37	30
Citreoviridin	315,0	31	10	13	12
	403,0	31	10	9	14
Fumonisin B ₂	336,5	81	10	49	14
	688,5	81	10	37	30
Sterigmatocystin	310,2	86	10	35	18
	281,2	86	10	53	18
Fumagillin	177,1	91	10	19	16
	130,9	91	10	39	10
Beauvericin	243,8	146	10	35	20
	133,9	146	10	61	12
Sudanrot I	232,2	56	10	17	18
	156,0	56	10	21	12
	128,0	56	10	35	10
¹³ C-Fumonisin B ₁	356,4	96	10	59	30
	738,7	96	10	43	42
¹³ C-Fumonisin B ₂	374,2	96	10	51	30
	358,4	81	10	55	30
	340,6	81	10	55	26
¹³ C-HT-2 Toxin	376,2	81	10	47	22
	278,1	41	10	17	16
	132,8	61	10	29	10
¹³ C-T-2 Toxin	145,0	61	10	25	12
	447,4	61	10	19	18
	322,2	46	10	19	20
	229,2	66	10	25	20
	491,3	66	10	21	22
	145,1	66	10	29	12

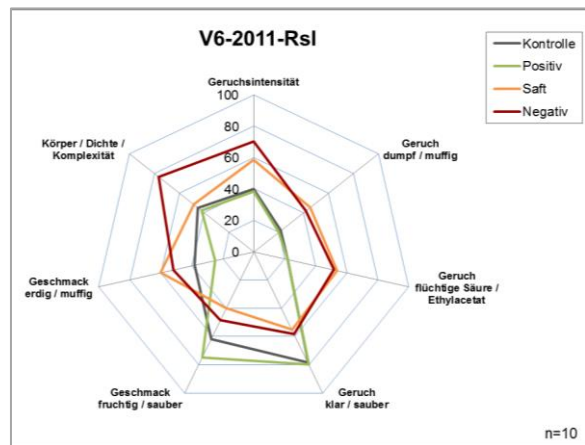
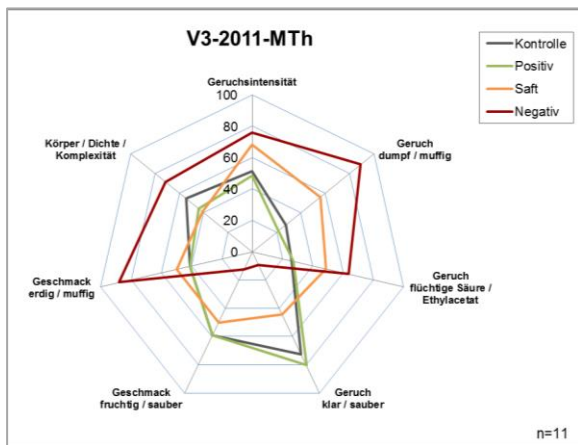
Verbindung ESI-	Produktionen m/z	Declustering Potential [V]	Collision Energy [V]	Cell Exit Potential [V]
Kojisäure	108,6	-15	-6	-7
	92,9	-15	-6	-15
	45,0	-15	-16	-5
Moniliformin	41,2	-40	-24	-5
	79,8	-40	-34	-13
	45,0	-40	-14	-7
Nivalenol	281,2	-75	-16	-15
	175,0	-75	-20	-15
Theophyllin	163,9	-55	-26	-7
	122,2	-55	-28	-7
	134,5	-55	-36	-9
Patulin	108,9	-20	-12	-9
	108,5	-50	-12	-9
	80,8	-50	-16	-13
	134,3	-50	-10	-7
Penicillinsäure	109,6	-65	-12	-7
	92,9	-65	-24	-5
	139,0	-65	-10	-11
Ochratoxin alpha	210,5	-55	-22	-13
	166,8	-55	-32	-19
	123,1	-55	-40	-9
OTB	323,8	-70	-26	-13
	132,6	-70	-50	-11
	176,1	-70	-46	-5
Alternariol (AOH)	214,7	-85	-34	-11
	147,1	-85	-42	-11
	184,9	-85	-36	-13
Mycophenolsäure	190,5	-80	-32	-3
	204,9	-80	-36	-15
	274,9	-80	-24	-11
OTA	358,2	-60	-28	-9
	166,9	-60	-46	-11
	358,0	-60	-26	-19
Methyl-OTB	214,7	-100	-28	-15
	176,2	-100	-46	-7
	148,1	-100	-70	-11
Zearalenon (ZEA)	175,0	-80	-34	-13
	131,1	-80	-42	-8
Nicarbazin	136,6	-60	-20	-1
	106,8	-60	-52	-1
	255,2	-60	-10	-11
Ethyl-OTB	214,6	-110	-30	-11
	306,1	-110	-26	-13
	231,9	-110	-48	-11
Alternariolmethylester (AME)	228,0	-85	-52	-6
	256,0	-85	-52	-6
Methyl-OTA	249,0	-95	-34	-7
	210,0	-95	-44	-9
	182,0	-95	-56	-13
Ethyl-OTA	248,8	-85	-32	-13
	339,2	-85	-28	-11
	181,9	-85	-70	-7
¹³ C-Nivalenol	255,3	-40	-14	-17
	241,9	-40	-12	-17
	241,3	-40	-6	-3
¹³ C-Patulin	114,8	-45	-12	-7
	85,8	-45	-16	-5
¹³ C-Mycophenolsäure	200,8	-85	-34	-15
	215,7	-85	-36	-11
	201,5	-85	-36	-13
¹³ C-OTA	376,8	-55	-28	-19
	174,9	-55	-52	-3
	220,9	-55	-38	-11
¹³ C-Zearalenon	139,6	-105	-40	-11
	184,8	-105	-34	-15
	289,9	-20	-30	-15

A.1.5 Sensorische Ergebnisse



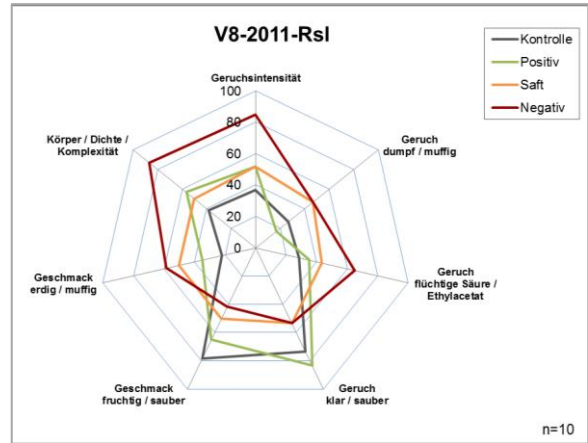
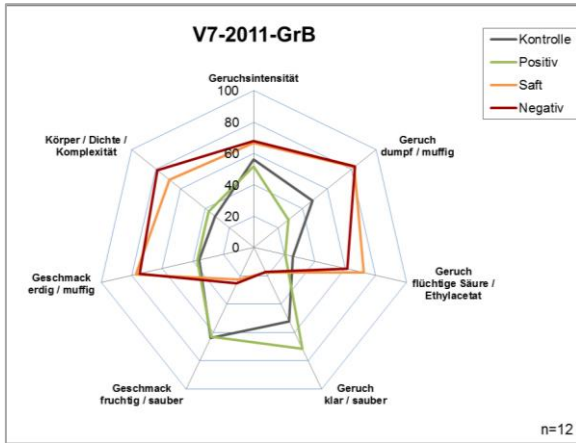
V1-2011-GrB	Kontrolle (K)	Soft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	1,75 SN	3,08 K	2,25	2,92 K
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2,08 s	3,08 k	2,42	2,42

V2-2011-MTh	Kontrolle (K)	Soft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	2,09 N	2,55 pN	1,64 sN	3,73 KPS
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2,27 N	2,09 N	1,91 N	3,73 KPS



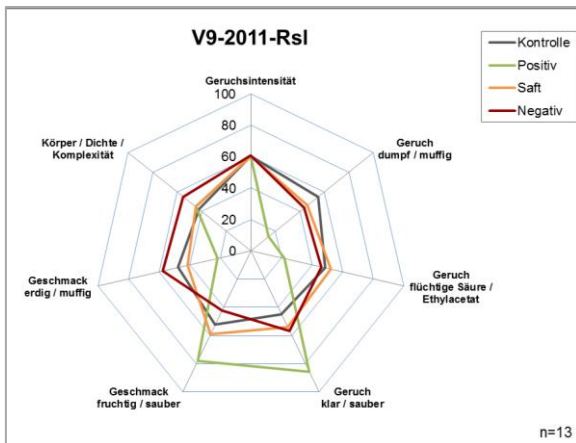
V3-2011-MTh	Kontrolle (K)	Soft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	1,73 SN	2,82 KPN	1,55 SN	3,91 KPS
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	1,36 SN	2,73 Kn	2,18 N	3,73 KsP

V6-2011-Rsl	Kontrolle (K)	Soft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	2,3	3,1 P	1,8 Sn	2,8 p
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2,2 s	3,3 kpn	2,3 s	2,2 s



V7-2011-GrB	Kontrolle (K)	Saft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	2 SN	3,08 KP	1,75 SN	3,17 KP
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2 Sn	3,25 KP	1,83 SN	2,92 kP

V8-2011-Rsl	Kontrolle (K)	Saft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	1,8 sN	2,9 k	2,1 n	3,2 Kp
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2,6	3,2 Pn	2 S	2,2 s



V9-2011-Rsl	Kontrolle (K)	Saft (S)	Positiv (P)	Negativ (N)
Mittlerer Rangplatz Reintönigkeit	2,85 P	2,85 P	1,62 KSN	2,69 P
Mittlerer Rangplatz Gesamteindruck	2,31	2,85	2,38	2,46

Signifikanzniveau (LSD): A<5%; a<10%

Die statistischen Auswertungen zu diesen Versuchen befinden sich auf der Daten-CD.

A.1.6 FTIR-Ergebnisse der Most- und Gärgutanalysen

Probe	Dichte	Dichte	Glucose	Fructose	pH-Wert	Alkohol	Glycerin
	°Oe	°Oe	g/l	g/l		g/l	g/l
	Most	GG	GG	GG	GG	GG	GG
V1-2010-Rsl-Kon	1,091	1,0949	99,2	118,5	3,27	0	4,5
V1-2010-Rsl-pos	1,0842	1,0933	100,4	118,1	3,15	0	3
V1-2010-Rsl-neg	1,11	1,1086	113,9	141,1	3,2	0	5,6
V2-2010-Rsl-Kon	1,1041	1,1031	110,6	128	3,27	0	3,3
V2-2010-Rsl-pos	1,086	1,0815	86,3	98,9	3,22	1,5	0,5
V2-2010-Rsl-neg	1,1291	1,1265	133,6	151,1	3,42	0	5,7
V3-2010-Rsl-Kon	1,0783	1,0778	82,4	97,6	3,37	0	3,1
V3-2010-Rsl-Saft	1,0795	1,0791	84,4	103,2	2,93	0	4,7
V3-2010-Rsl-pos	1,0694	1,0693	72,8	81,7	3,32	0	2,1
V3-2010-Rsl-neg	1,0948	1,0944	96,8	121,7	3,37	0	5,7
V4-2010-Rsl-Kon	1,0836	1,0913	98,1	116,6	3,25	0	3,4
V4-2010-Rsl-Saft	1,0838	1,093	96,7	125,5	3,2	0	5,5
V4-2010-Rsl-pos	1,0819	1,0922	97,6	121,3	3,22	0	4,4
V4-2010-Rsl-neg	1,0832	1,0918	95,8	119,2	3,34	0	4,6
V5-2010-Rsl-Kon	1,1068	1,1054	109,4	131,2	3,31	0	5,5
V5-2010-Rsl-pos	1,0832	1,0961	102,2	118,1	3,32	0	3
V5-2010-Rsl-neg	1,1285	1,1271	128,3	156,7	3,48	0	8,4
V6-2010-Rsl-Kon	1,0775	1,0903	89,9	115,7	3,44	0	5,2
V6-2010-Rsl-Saft	1,0781	1,0919	95,6	114,6	3,25	0	5,9
V6-2010-Rsl-pos	1,0762	1,0899	90,3	115,7	3,46	0	4,8
V6-2010-Rsl-neg	1,0831	1,0927	90,6	121,6	3,39	0	7,2

Probe	Dichte	Dichte	Glucose	Fructose	pH-Wert	Alkohol	Glycerin
	°Oe	Oe	g/l	g/l		g/l	g/l
	Most	GG	GG	GG	GG	GG	GG
V1-2011-GrB-Kon	1,0918	1,0967	109,5	101,8	3,41	1	1,2
V1-2011-GrB-Saft	1,0914	1,0967	110,6	101,8	3,24	1,3	1,2
V1-2011-GrB-pos	1,0971	1,0972	107,4	102,8	3,58	0,8	1
V1-2011-GrB-neg	1,0911	1,0959	106,7	99,4	3,55	0,7	1,5
V2-2011-MTh-Kon	1,0776	1,0924	109,9	94,7	3,15	0,1	1,6
V2-2011-MTh-Saft	1,0796	1,093	108,4	94,8	3,16	0,4	2,3
V2-2011-MTh-pos	1,0734	1,0923	110,9	90,9	3,19	0	0,8
V2-2011-MTh-neg	1,0891	1,0913	98,7	99,4	3,26	1,3	3,6
V3-2011-MTh-Kon	1,0742	1,0921	110,9	91,3	3,27	0	1,4
V3-2011-MTh-Saft	1,0782	1,0926	108,8	93,5	3,18	0,6	2,5
V3-2011-MTh-pos	1,0734	1,0935	112,9	92	3,31	0	1,3
V3-2011-MTh-neg	1,0824	1,0918	104,4	94,3	3,32	1,7	3,7
V4-2011-SpB-Kon	1,0803	1,0795	90,6	81,7	3,24	1,8	1,4
V4-2011-SpB-Saft	1,0802	1,0941	111,6	90,5	3,16	0,9	1,9
V4-2011-SpB-pos	1,0838	1,0827	94,3	85,2	3,33	1,3	1,3
V4-2011-SpB-neg	1,081	1,0794	90,1	81,4	3,29	1,7	2,7
V5-2011-Rsl-Kon	1,0937	1,0931	105	97,5	3,1	2,5	2,8
V5-2011-Rsl-Saft	1,0959	1,0936	107,2	95,1	3,12	1,6	1,1
V5-2011-Rsl-pos	1,0897	1,0872	100,5	85	2,95	8,1	5,8
V5-2011-Rsl-neg	1,1208	1,1164	126,6	126,5	3,02	3,7	7,7
V6-2011-Rsl-Kon	1,083	1,0911	103,7	92,1	3,2	0,3	1,6
V6-2011-Rsl-Saft	1,0817	1,0899	105,2	91,5	3,07	0,1	1,5
V6-2011-Rsl-pos	1,0821	1,0916	104,8	92,8	3,23	0	1
V6-2011-Rsl-neg	1,087	1,091	102,1	96,6	3,26	0,7	2,4
V7-2011-GrB-Kon	1,097	1,096	105,3	103,6	3,35	1,7	2,3
V7-2011-GrB-Saft	1,0973	1,0948	102,2	103,1	3,22	3,2	3,9
V7-2011-GrB-pos	1,0965	1,0954	105,5	103,2	3,43	1,3	1,6
V7-2011-GrB-neg	1,0974	1,0949	100,3	103,4	3,32	2,1	4,1
V8-2011-Rsl-Kon	1,0982	1,0976	105,7	107	3,32	0,3	2,1
V8-2011-Rsl-Saft	1,0972	1,0976	107,1	107,1	3,25	1	2,3
V8-2011-Rsl-pos	1,0934	1,0982	107	103,9	3,36	0	1,4
V8-2011-Rsl-neg	1,1332	1,1313	136,2	146,4	3,34	0,4	8,3
V9-2011-Rsl-Kon	1,0874	1,0913	101	94,1	3,17	0,7	1,3
V9-2011-Rsl-Saft	1,0888	1,0914	102,7	96,5	3,13	1	1,4
V9-2011-Rsl-pos	1,0881	1,091	100	94,5	3,32	0,5	0,8
V9-2011-Rsl-neg	1,0901	1,092	102,1	97,2	3,28	0,6	1,5

GG: Gärgut

A.1.7 FTIR-Ergebnisse der Weinanalysen

Probe	Dichte	Alkohol	red. Zucker	Glucose	Fructose	pH-Wert	Milchsäure	Glycerin
		g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l
V1-2010-Rsl-Kon	0,9957	94,1	2,53	0,88	1,1	3,1	0,18	6,36
V1-2010-Rsl-pos	0,9941	95,7	2,06	0,7	1,3	3,07	0,24	5,31
V1-2010-Rsl-neg	0,9952	110,9	4,88	1,19	2,84	3,25	0,48	7,37
V2-2010-Rsl-Kon	0,9956	106,7	5,83	1,12	4,3	3,35	0,29	7,19
V2-2010-Rsl-pos	0,9941	89	1,3	0,43	1,27	3,09	0,2	4,72
V2-2010-Rsl-neg	1,001	124	22,05	3,7	18,28	3,56	0,72	10,22
V3-2010-Rsl-Kon	0,998	77,6	1,25	0,17	0,78	3,23	0,03	5,63
V3-2010-Rsl-Saft	0,999	76,2	1,68	0,7	0	2,61	0,34	6,4
V3-2010-Rsl-pos	0,9981	68,4	0	0,17	0,55	3,01	0	4,62
V3-2010-Rsl-neg	0,9988	91,9	3,86	0,85	1,88	3,23	0,28	7,81
V4-2010-Rsl-Kon	0,9943	94,5	2,92	0,44	2,83	3,22	0	5,07
V4-2010-Rsl-Saft	0,9941	94,3	2,43	0,42	2,32	3,26	0	5,02
V4-2010-Rsl-pos	0,9933	95	1,58	0,31	1,41	3,24	0,03	4,98
V4-2010-Rsl-neg	0,9942	93,3	1,9	0,14	1,72	3,27	0,04	4,91
V5-2010-Rsl-Kon	0,9993	103,3	14,66	2,02	12,48	3,52	0,34	8,28
V5-2010-Rsl-pos	0,9942	99,1	5,47	0,92	5,41	3,33	0,14	5,35
V5-2010-Rsl-neg	1,011	112,5	42,22	7,98	33,6	3,73	0,93	12,58
V6-2010-Rsl-Kon	0,995	88,3	2,45	0,18	2,29	3,37	0	5,31
V6-2010-Rsl-Saft	0,9947	89,8	2,46	0,48	2,12	3,2	0	5,67
V6-2010-Rsl-pos	0,9944	88,2	1,62	0,16	1,91	3,4	0	5,11
V6-2010-Rsl-neg	0,9964	88,5	2,61	0,28	0,35	3,26	0,42	5,75

Probe	Dichte	Alkohol	red. Zucker	Glucose	Fructose	pH-Wert	Milchsäure	Glycerin
		g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l
V1-2011-GrB-Kon	0,991	104	1,35	0,58	2,05	3,62	0	6,11
V1-2011-GrB-Saft	0,992	103,3	3,25	1,06	4	3,42	0	5,94
V1-2011-GrB-pos	0,992	103,6	0,92	0,46	1,54	3,77	0	5,83
V1-2011-GrB-neg	0,993	101	1,05	0,27	1,17	3,81	0	5,5
V2-2011-MTh-Kon	0,992	98,1	2,25	0,83	2,55	3,3	0,1	6,55
V2-2011-MTh-Saft	0,992	98,7	2,47	0,66	2,04	3,31	0,2	5,8
V2-2011-MTh-pos	0,991	97,1	1,53	0,74	2,66	3,27	0,1	5,57
V2-2011-MTh-neg	0,995	95,4	3,36	0,67	1,87	3,39	0,3	7,05
V3-2011-MTh-Kon	0,992	96,3	2,5	0,37	2,72	3,34	0	5,07
V3-2011-MTh-Saft	0,992	98,1	2,04	0,36	1,92	3,33	0,5	5,81
V3-2011-MTh-pos	0,992	97,5	2,33	0,35	2,7	3,41	0	4,83
V3-2011-MTh-neg	0,995	96,1	3,13	0,61	1,61	3,44	0,1	6,58
V4-2011-SpB-Kon	0,992	94,9	1,79	0,61	0,52	3,86	2,5	8,63
V4-2011-SpB-Saft	0,992	101	1,76	0,88	2,56	3,2	0,5	4,76
V4-2011-SpB-pos	0,992	93,5	1,75	0,25	0,53	4	2,4	8,33
V4-2011-SpB-neg	0,994	96,6	3,64	1,03	0,14	4,07	2,8	10,52
V5-2011-Rsl-Kon	0,993	100	1,69	0,33	1,33	3,1	0	6,06
V5-2011-Rsl-Saft	0,996	97,4	3,65	0,61	1,64	3,1	0,3	9,38
V5-2011-Rsl-pos	0,993	99	1,1	0,18	2,1	3,03	0	5,19
V5-2011-Rsl-neg	0,996	124,2	7,47	2,08	3,98	3,3	0,4	10,2
V6-2011-Rsl-Kon	0,992	96,8	0,48	0,57	1,18	3,08	0,1	5,53
V6-2011-Rsl-Saft	0,993	95,7	2,1	0,57	3,08	2,96	0,1	5,86
V6-2011-Rsl-pos	0,992	97,4	0,75	0,39	2,24	3,05	0,1	5,28
V6-2011-Rsl-neg	0,993	96,9	1,68	0,87	1,47	3,24	0,1	7,23
V7-2011-GrB-Kon	0,993	101,4	2,54	0,2	2,56	3,57	0,4	6,31
V7-2011-GrB-Saft	0,994	100,5	2,55	0,34	1,39	3,44	0,5	7,31
V7-2011-GrB-pos	0,991	103,2	1,44	0,31	2,13	3,62	0,2	5,62
V7-2011-GrB-neg	0,996	98,7	4,55	0,21	2,79	3,57	0,5	6,82
V8-2011-Rsl-Kon	0,992	105,3	3,79	1	4,51	3,38	0,2	6,06
V8-2011-Rsl-Saft	0,992	105,6	2,78	1,05	2,92	3,31	0,1	6,12
V8-2011-Rsl-pos	0,991	105,2	1,42	0,81	2,56	3,39	0,1	5,69
V8-2011-Rsl-neg	1,024	105,1	74,49	18,2	55,12	3,86	1,1	13,63
V9-2011-Rsl-Kon	0,993	95,3	0,47	0,53	1,52	3,04	0,1	5,67
V9-2011-Rsl-Saft	0,993	96,9	1,08	0,62	1,76	3,01	0	5,75
V9-2011-Rsl-pos	0,993	94,7	0,4	0,42	1,57	3,19	0	5,94
V9-2011-Rsl-neg	0,994	95,1	0,75	0,49	1,1	3,27	0,2	5,98

A.2 Verwendete Formeln

Die Datenanalyse und Prüfung auf Signifikanzniveaus in dieser Arbeit basieren auf der zweiseitigen Varianzanalyse (ANOVA) mit dem Post-hoc-Tukey Test, die mittels der Statistiksoftware XLSTAT durchgeführt wurde (Version 2012.6.07; Addinsoft, 1995-2012). Lineare Regressionen und mathematische Berechnungen erfolgten mittels Microsoft Excel 2010.

Zur Berechnung der statistischen Kenngrößen wurden folgende Formeln herangezogen (Funk et al., 2005):

lineare Regression

$$y = a + bx$$

Steigung

$$b = \frac{\sum[(x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})]}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

Achsenabschnitt

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{mit}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \cdot \sum x_i$$

$$\bar{y} = \frac{1}{N} \cdot \sum y_i$$

mit N : Anzahl der gewählten Konzentrationsstufen; x_i : Konzentration der i -ten Standardprobe; y_i : Messwert der i -ten Standardprobe

arithmetischer Mittelwert

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n}$$

mit x_i =Gehaltsgrößen, n =Anzahl der Messungen

Standardabweichung

$$s = \pm \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

mit x_i =Gehaltsgrößen, n =Anzahl der Messungen

Variationskoeffizient

$$VK = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 [\%]$$

David-Test auf Normalverteilung

Hierbei sind die Werte mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit ($P=95\%$) normalverteilt, wenn sich der Quotient aus Spannweite R und Standardabweichung s innerhalb der von David vorgegebenen Grenzwerte befindet (Kromidas, 1999).

$$PG = \frac{\text{größter Wert} - \text{kleinster Wert}}{\text{Standardabweichung}} = \frac{R}{s}$$

PG: Prüfgröße, R: Spannweite (Range), s: Standardabweichung

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig angefertigt und nur mit den angegebenen Quellen und Hilfsmitteln durchgeführt habe.

Piesport, 9. Januar 2014

Katharina Hausinger

Lebenslauf

Persönliches:

Name Katharina Hausinger

Beruf/Promotion:

08/2010-11/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin (Doktorandin) am Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Mosel
Thema: Vollautomatisch-optische Traubensortierung im Fokus der Qualitätssicherung, -steigerung und -sicherheit
Betreuer: Prof. Dr. Dr. D. Schrenk (TU Kaiserslautern)
Prof. Dr. H. Raddatz (HS Trier)

Studium:

10/2005-03/2010 Studium der Lebensmittelchemie und Toxikologie an der Technischen Universität Kaiserslautern

10/2009 - 03/2010 Diplomarbeit an der Technischen Universität Kaiserslautern im Arbeitskreis von Prof. Dr. E. Richling
Thema: Einfluss von Zahnpasta-Inhaltsstoffen auf die Nitritkonzentration im Speichel nach Nitrataufnahme

Schulbildung:

08/1992 - 07/1996 Grundschule Pater-Eberschweiler in Püttlingen
08/1996 - 06/2005 Warndtgymsnasium in Völklingen-Geislautern mit Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife
07/2003 - 08/2003 Teilnahme an der 5. Saarländischen Schülerakademie

Praktische Tätigkeiten:

01/2009 - 03/2009 Forschungspraktikum in der Firma Mühlenchemie, Ahrensburg
Projekt: Untersuchung der Verwendbarkeit von Weizenkleber als Substrat für die Bestimmung der Proteaseaktivität

11/2010 - 12/2010 Kooperationsprojekt mit dem Centre de Recherche Public (CRP) Gabriel Lippmann, Belvaux, Luxembourg:
Entwicklung eines Proben-Aufarbeitsverfahrens zur Bestimmung von Mykotoxinen in Most und Wein

05/2012 - 07/2012 und 02/2013 Kooperationsprojekt mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin:
Entwicklung einer HPLC-MS/MS Multi-Mykotoxin-Methode für Most und Wein

Weiterbildungen:

Prüferzertifikat Sachverständige der Qualitätsweinprüfung (Landwirtschaftskammer Rheinland-Pfalz)
seit 10/2011 Weiterbildung zur Fachtoxikologin der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT)