

Analytische und sensorische Charakterisierung der Aromaverschleppung bei der Abfüllung aromatisierter und regulärer Weine

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

Dissertation

D 386

Vorgelegt von

M. Sc. Lebensmittelchemiker
Jörg Gottmann

Angefertigt im Arbeitskreis von
Prof. Dr. Ulrich Fischer

Vorsitzender der Prüfungskommission:

Erstgutacher:

Zweitgutachterin:

Prof. Dr. Werner Thiel

Prof. Dr. Ulrich Fischer

Prof. Dr. Elke Richling

Kaiserslautern, 02.08.2022

Rechtsverbindliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Arbeit mit dem Titel „Analytische und sensorische Charakterisierung der Aromaverschleppung bei der Abfüllung aromatisierter und regulärer Weine“ selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe.

Diese Arbeit oder Teile davon sind bislang keiner anderen Prüfungsbehörde als Prüfungsarbeit vorgelegt worden.

Jörg Gottmann

Kaiserslautern, 02.08.2022

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Ulrich Fischer für die Bereitstellung des interessanten und komplexen Themas, für die umfassende Betreuung und Fachgespräche ebenso wie für das große Vertrauen, das er mir und meiner Arbeit stets entgegenbrachte.

Frau Prof. Dr. Elke Richling danke ich herzlich für ihre Tätigkeit als Zweitgutachterin und die Mitwirkung in der Prüfungskommission, gleichermaßen Herrn Prof. Dr. Werner Thiel für den Vorsitz der Prüfungskommission.

Dr. Jochen Vestner möchte ich für die intensiven Diskussionen, Anregungen und der konstruktiven Kritik bei der Etablierung der Analysemethode und der Erstellung der Veröffentlichungen danken. Dankbar bin ich auch für die gute Zusammenarbeit und den wertvollen Meinungsaustausch mit den Projektpartnern Prof. Dr.-Ing. Jens Schuster und David Müller vom Institut für Kunststofftechnik Westpfalz. Vielen Dank an Anna-Maria Becker, die ihre Masterarbeit im Rahmen dieses Projektes anfertigte und die mit ihren Ergebnissen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Bei Anette, Marty, Anna und Sandra möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit in der Planung und Durchführung in der sensorischen Analytik bedanken, ebenso bei allen Verkostern die mit ihrer zuverlässigen Teilnahme eine Sensorik auch unter den erschwerten Bedingungen von COVID-19 ermöglichten.

Insbesondere möchte ich Michael für die unterhaltsamen und lehrreichen Stunden in der GC-Analytik für die vielen Analyseproben, die du für mich gemessen hast, bedanken.

Vielen Dank an Sascha Wolz sowie Pascal, Jonas und Florian die mir bei der Umsetzung des Versuchsstandes halfen und sich am fruchtigen Aromaprofil der Weine im Technikum erfreuen durften.

Mein besonderer Dank gilt auch allen Kollegen, Kolleginnen, Mitdoktoranden des DLR Rheinpfalz, insbesondere Marc Weber, Caterina Szmania, Thi Nguyen, Hannah Renner, Sandra Feifel, Micheal Ziegler, Daniel Munder, Marcel Hensel, Patrick Nickolaus, Daniel Zimmerman und Annemarie Siebert. Mit ihnen entstand eine freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, die ein wissenschaftlicher Austausch ermöglichte. Vielen Dank auch für die zahlreichen gemeinsamen Unternehmungen.

Besonders danken möchte ich meinen Eltern, die mich auf meinem bisherigen Lebensweg stets begleiteten und mir in jeder Situation Zuspruch und Unterstützung gaben. Es tut gut, dass ihr für mich da seid!

Zuletzt danke ich ganz herzlich Katrin, für das Korrekturlesen und dafür, dass sie mir stets zur Seite stand, immer Verständnis hatte und mich jederzeit unterstützte.

I Publikationen

Peer-reviewed Publikationen

Jörg Gottmann, Jochen Vestner, David Müller, Jens Schuster, Ulrich Fischer: Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System. *J. Agric. Food Chem.* 2021, 69, 38, 11382–11394

Jörg Gottmann, Jochen Vestner, Ulrich Fischer: Sensory relevance of seven aroma compounds involved in unintended but potentially fraudulent aromatization of wine due to aroma carryover. (Review of publication in progress)

Jörg Gottmann, David Müller, Anna Maria Becker, Jochen Vestner, Jens Schuster, Ulrich Fischer: Improved Sealing Polymers and Cleaning Procedures to Mitigate Aroma Carryover during bottling of aromatized and regular wines on the same filling line. (Review of publication in progress)

Jörg Gottmann, Jochen Vestner, David Müller, Jens Schuster, Ulrich Fischer: Investigation of the aroma carryover risk in a pilot plant and industrial scale while bottling aromatized and subsequent regular wines on the same filling line. (Publication in preparation)

Jens Schuster, Jörg Gottmann, Johannes Lutz, Ulrich Fischer, David Müller: Modification of EPDM seals to prevent aroma carry-over during the bottling of wine. (Review of publication in progress)

Konferenzbeiträge

Jörg Gottmann, David Müller, Jens Schuster, Ulrich Fischer: Minimierung der Aromaverschleppung im Rahmen der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke, Tag der Offenen Tür, DLR Rheinpfalz, Neustadt a.d. Weinstraße, 2019

Jörg Gottmann, Ulrich Fischer: Minimierung der Aromaverschleppung im Rahmen der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke, 61. Arbeitstagung vom Forschungsring des deutschen Weinbaus bei der DLG, 2021

Jörg Gottmann, Ulrich Fischer: Minimierung der Aromaverschleppung im Rahmen der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke, Web-Seminar-Reihe „Keller digital“, 2021

Jörg Gottmann, Ulrich Fischer: Beitrag der Reinigung zur Vermeidung einer Aromaverschleppung bei der Weinabfüllung, 75. Pfälzische Weinbautage, Neustadt a.d. Weinstraße, 2022

Jörg Gottmann, Ulrich Fischer: Sensorische Bewertung verschleppter Aromastoffe – Untersuchung des Aromaübertrags während der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke sowie anschließender Weine, 10. Anwendertreffen Weinanalytik, Neustadt a.d. Weinstraße, 2022

Posterbeiträge

Jörg Gottmann, Hans-Georg Schmarr, Ulrich Fischer: Analytische Erfassung der Aromaverschleppung bei der Abfüllung aromatisierter Weinerzeugnisse und Weine, Jahrestagung des FEI in Gießen, 2019

II Inhaltsverzeichnis

I	Publikationen	VII
II	Inhaltsverzeichnis	IX
III	Abbildungsverzeichnis	XI
IV	Tabellenverzeichnis	XII
V	Abkürzungsverzeichnis	XIII
1	Zusammenfassung	1
2	Abstract	3
3	Einleitung	5
4	Literaturübersicht	9
4.1	Wirtschaftliche Bedeutung aromatisierter weinhaltiger Getränke	9
4.2	Rechtliche Problematik bei der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke	10
4.3	Migrationsprozesse in und aus Polymerwerkstoffen	13
4.3.1	Polarität der Aromastoffe	17
4.3.2	Matrixeinfluss	19
4.3.3	Temperatureinfluss auf die Absorption der Aromastoffe	22
4.3.4	Polymerwerkstoff	24
4.3.5	Einflussfaktor der Reinigung	27
4.4	Analytik zur Bestimmung der Aromastoffe in Polymerwerkstoffen	30
4.4.1	Indirekte Analysemethoden	30
4.4.2	Direkte Analysemethoden	31
4.4.3	Interner Standard	34
4.5	Bestimmung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe	36
4.5.1	Bestimmung der Wahrnehmungsschwelle	38
4.5.2	Matrixwechselwirkungen in der Bestimmung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe in Wein	39
5	Zielsetzung	43
6	Kumulativer Teil der Dissertation	45
6.1	Originalarbeit zum Thema: Sensorischer Einfluss verschleppter Aromastoffe in Wein	45
6.2	Originalarbeit zum Thema: Methodenentwicklung zur direkten Untersuchung der Aromaverschleppung in Dichtungsmaterialien in einem Modellsystem	68
6.3	Originalarbeit zum Thema: Möglichkeiten zur Minimierung der Aromaverschleppung durch Verbesserung der Dichtungsmaterialien und Reinigungsprozesse	84
6.4	Originalarbeit zum Thema: Betrachtung des realen Aromaverschleppungsrisikos in einem Versuchsstand und Abfüllungen im industriellen Maßstab	110
7	Zusätzliche relevante unveröffentlichte Arbeiten	130
7.1	Erfassung weiterer potenziell relevanter Aromakomponenten in Glühwein	130
7.1.1.1	Glühwein Sensorik Screening	131

7.1.1.2	<i>Non-targeted</i> HS-SPME-GC-MS Analyse.....	132
8	Zusammenfassende Diskussion	138
9	Literaturverzeichnis	145
10	Anhang.....	156
10.1	<i>Non-targeted</i> HS-SPME-GC-MS Methode	156
10.2	Glühwein Screening anhand eines sorted Napping®	157
	Lebenslauf.....	160

III Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Entwicklung der Verkaufszahlen und Umsatzzahlen aromatisierter weinhaltiger Getränke im deutschen Lebensmitteleinzelhandel in den Jahren 2014 bis 2020.	9
Abbildung 2. Mögliche Interaktionen zwischen Lebensmittel, Polymerwerkstoff sowie der Umgebung	14
Abbildung 3. Absorption von elf Aromastoffen aus einer Modellmilch in einen low density polyethylene (LDPE) Polymerfilm	18
Abbildung 4. Absorption von Ethylhexanoate (Δ), n-Octanal (\square) und n-Octanol (O) aus einer ethanolischen Lösung in einen LDPE Film	20
Abbildung 5. Zeitlicher Verlauf der Limonen Konzentration in einer Modelllösung die Kontakt zu einem PE Film hatte	23
Abbildung 6. Molekülstruktur von teilkristallinen und amorphen Thermoplasten, Duroplasten und Elastomeren. Kettenvernetzungen mit gelben Punkten dargestellt	24
Abbildung 7. Räumliche Anordnung der Polypropylen Methyl-Seitengruppe	27
Abbildung 8. Prinzipien der Probenaufgabe für flüssige und feste Probenmatrices	32
Abbildung 9. Prinzip der Stabilisotopenverdünnungsanalyse hinsichtlich dem Verhältnis zwischen isotopologem Standard und Analyt sowie einem strukturfremden Standard und Analyt.....	35
Abbildung 10. Prozentual richtige Zuordnung einzelner Aromastoffe in einer Mischung mit bis zu fünf Aromastoffen	37
Abbildung 11. Geruchsintensität und Wahrnehmung der Aromastoffe Isoamylacetat (A) und 2-Methylbuttersäure (B) in Abhängigkeit der Konzentration.....	41
Abbildung 12: Hauptkomponentenanalyse des Sensorikscreenings der Glühweine zusammengesetzt aus einem Sorting (A), Napping (B) und der Beschreibung der Geruchsattributen (CATA) (C).	132
Abbildung 13: Prozentuale Verteilung der Peakflächen der analytischen Features der einzelnen Glühweine, erfasst mittels non-targeted HS-SPME-GC-MS und PARAFAC2 Dekonvolution.....	133
Abbildung 14: Verteilung der Peakflächen der 35 selektierten Features mit höchstem prozentualen Anteil in den Glühweinen.	133
Abbildung 15: Multivariate Ergebnisdarstellung des sorted Napping [®] und der non-targeted Analysemethoden.	137

IV Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Natürliche Enantiomerverteilung ausgewählter Aromastoffe in Früchten.....	11
Tabelle 2. Literaturübersicht bereits untersuchter Absorptionsprozesse. Zusammenfassung der untersuchten Lebensmittel und Modelllösungen, der Aromastoffe sowie den einzelnen Polymerwerkstoffen.....	16
Tabelle 3. Glasübergangstemperatur und Schmelzpunkt einzelner Polymerwerkstoffe1	25
Tabelle 4: Erfasste Features mittels non-targeted HS-SPME-GC-MS Analyse.	135
Tabelle 5: Geräte- und Analyseparameter der non-targeted HS-SPME-GC-MS-Analyse.	156
Tabelle 6. Auflistung der untersuchten Glühweine.....	158
Tabelle 7. Auflistung der untersuchten aromatisierten weinhaltigen Cocktails	159

V Abkürzungsverzeichnis

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
3-AFC test	<i>3-alternative-forced-choice test</i>
AEDA	Aromaextrakt Verdünnungsanalysen (<i>aroma extract dilution analysis</i>)
BET	bester Schätzwert für den Schwellenwert (<i>best estimate threshold</i>)
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BSI	Bundesverband der Spirituosen-Industrie und -Importeure
CIP	<i>cleaning in place</i>
CIS	Kaltaufgabesystem (<i>cold injection system</i>)
CPP	<i>cast polypropylen</i>
DA	deskriptive Analyse
DVAI	Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V.
EPDM	Ethylen-Propylen-Dien-Kautschuk
EVOH	Ethylene-Vinyl Alkohol Copolymer
FID	Flammenionisationsdetektor
FKM, FFKM	Fluorkautschuk
GC	Gas Chromatographie (<i>gas chromatography</i>)
GC-O	Gas Chromatographie-Olfaktometrie
GMP	Gute fachliche Praxis (<i>good manufacturing practice</i>)
HDPE	<i>high density polyethylene</i>
HS	<i>Kopfraum (headspace)</i>
HS-SPME	<i>headspace-solid phased microextraction</i>
LDPE	<i>low density polyethylene</i>
LEH	Lebensmitteleinzelhandel
LLDPE	<i>linear low density polyethylene</i>
LOD	Nachweisgrenze (<i>limit of detection</i>)
LOQ	Bestimmungsgrenze (<i>limit of quantitation</i>)
LUA	Landesuntersuchungsamt
MHS-SPME	<i>multiple headspace-solid phased microextraction</i>
MS	Massenspektrometrie (<i>mass spectrometry</i>)
NBR/HNBR	Gesättigt/ungesättigter Nitril-Butadien-Kautschuk
OAV	Aromawert (<i>odor activity value</i>)
OIV	Internationalen Organisation für Rebe und Wein Organisation (<i>Internationale de la vigne et du vin</i>)
OT	Wahrnehmungsschwellenwert (<i>odor detection threshold</i>)
PA	Polyamid
PBS	<i>biodegradable polybutylene succinate</i>
PBSA	<i>polybutylene succinate-co-addipate</i>
PE	Polyethylen
PET	Polyethylenterephthalat
PP	Polypropylen
SBSE	<i>stir bar sorbptive extraction</i>
SIDA	Stabilisotopenverdünnungsanalyse (<i>stable isotope dilution assay</i>)
SPME	Festphasenmikroextraktion (<i>solid phase microextraction</i>)
TCA	2,4,6-Trichloranisol
TD	thermische desorption
TDN	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalin
TDU	Thermodesorptionseinheit (<i>thermo desorption unit</i>)

1 Zusammenfassung

Der Boom aromatisierter weinhaltiger Getränke mit unterschiedlichsten entwickelten Aromaprofile erhöhte den Absatz dieser Getränke in den letzten Jahren. In Anbetracht der Beliebtheit und der Absatzmöglichkeiten dieser Produkte möchten Winzer und Winzerinnen sowie große Kellereien ihr Produktportfolio um aromatisierte weinhaltige Getränke, wie einem eigenen Glühwein erweitern. Die Abfüllung dieser hoch aromatisierten Getränke auf derselben Füllanlage, auf der auch die klassischen Weine abgefüllt werden, kann jedoch rechtliche Probleme für die Hersteller zur Folge haben. Es besteht ein Verschleppungsrisiko zugesetzter Aromastoffe in nachfolgende Weine aufgrund einer Aufnahme und Abgabe in verbauten Dichtung in einer Abfüllanlage. Diese Verschleppung wird anhand des Weingesetzes als ein unzulässiger Aromazusatz eingestuft. Mit der steigenden Anzahl nachgewiesener Fälle von unbewussten Aromaverschleppungen verfasste das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) im Jahr 2019 einen Leitfaden, der zwischen einer Aromatisierung und einer unbewussten Verschleppung differenziert. Verschleppte Aromastoffe, die keinen sensorischen Beitrag im Wein aufzeigen, werden darin als technisch unvermeidbares Übergehen (*carryover*) eingestuft. Erforderliche Methoden zur Beurteilung des sensorischen Beitrags einzelner Aromastoffe in analytisch auffälligen Weinen werden innerhalb des Leitfadens jedoch nicht genannt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Betrachtung der Aufnahme und Abgabe von Aromastoffen in Dichtungen während einer Abfüllung aromatisierter Weine, der Evaluation der Einflussfaktoren zur Minimierung des Verschleppungsrisikos sowie der Entwicklung eines Konzeptes zur Erfassung des sensorischen Einflusses einzelner verschleppter Aromastoffe.

Zur Beurteilung der sensorischen Relevanz von sieben Aromastoffen, die häufig in aromatisierten Getränken zu finden sind (γ -Decalacton, γ -Undecalacton, δ -Decalacton, α -Ionon, Ethyl 2-methylbutanoat, Eugenol, *trans*-Zimtaldehyd), wurden Wahrnehmungsschwellenwerte (*odor threshold*, OT) in Wasser, Modellwein und einem Weißwein bestimmt. Die erfassten Schwellenwerte variierten in den drei Matrices zwischen einem Faktor von zwei bis hin zu vier Größenordnungen. Eine Evaluierung des sensorischen Einflusses des α -Ionon (Himbeeraroma) in einem Weißwein zeigte auf, dass ein sensorischer Einfluss dieses Aromastoffes erst bei Konzentrationen auftrat, die zehnmal so hoch waren wie die sensorische Wahrnehmungsschwelle in Wein.

Mit der Etablierung einer robusten Analysemethode (TD-GC-MS) für den direkten Nachweis von Aromastoffen in einer Polymermatrix war es möglich, die Einflussfaktoren zu untersuchen, die die Aufnahme und Freisetzung von Aromastoffen in und aus Dichtungen beeinflussen. In Modellversuchen dieser Arbeit konnte die Abhängigkeit der Aufnahme der Aromastoffe und

der exponierten Polymerfläche, der vorliegenden Konzentration sowie der Polarität der Aromastoffe aufgezeigt werden. Mit Hilfe des dekadischen Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log P$) konnte die Varianz in der Absorption der Aromastoffe zu 91 % und fortfolgend verschleppte Aromastoffe in einen nachfolgenden Modellwein zu 99 % erklärt werden. Mit zunehmendem unpolaren Charakter der Aromastoffe stieg die Absorption in unpolare polymere Materialien exponentiell an und führte folglich zu einer proportionalen Zunahme des Verschleppungsrisikos.

Eine Evaluation der üblichen Reinigungsparameter zwischen den Produktwechseln in einer Füllanlage verdeutlichte, dass die gewählte Reinigungstemperatur und -dauer die Abgabe der Aromastoffe an die Reinigungsmittel primär beeinflusst, während die gewählten Reinigungsmedien nur einen sekundären Einfluss hatten. Es konnte ein umgekehrter Effekt zur Absorption gezeigt werden. Polare Aromastoffe wurden von den polaren Reinigungsmitteln effektiver aus der Polymermatrix entfernt. Bei Anwendung niedriger Reinigungstemperaturen von 22 °C wurden längere Reinigungszeiten von bis zu 24 Stunden benötigt, um eine vergleichbare Reinigungseffizienz zu 85 °C über 30 Minuten zu erreichen. Ein vollständiges Entfernen der Aromastoffe war mit einer Reinigung nicht möglich.

Die abschließende Untersuchung einer Abfüllung in einem industriellen Maßstab illustrierte eine hohe Aufnahme der Aromastoffe in Dichtungen und einen niedrigen Reinigungseffekt obgleich der umfangreichen Reinigung in den Kellereien. Trotz der analytisch nachweisbaren Aromastoffe in den Dichtungsmaterialien war eine sensorische bzw. analytische Differenzierung der abgefüllten Weine nicht möglich. Die analytisch erfassten Konzentrationen an Eugenol und γ -Decalacton unterschritten die Wahrnehmungsschwellenwerte in Wein, weshalb eine Authentizitätskontrolle hinsichtlich der erfassten Aromastoffe nicht zu einer Beanstandung führen sollte.

Die vorliegende Arbeit ist Teil des Drittmittelprojekts „Minimierung von Aromaverschleppung bei der Abfüllung von Wein, Sekt und Fruchtwein – AiF 20220 N“, einem IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), welches von 2018–2021 über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert wird.

2 Abstract

The boom in flavored wine-based beverages with a wide variety of flavor profiles has increased sales of these in recent years. Given the popularity of these beverages, winemakers have sought to expand their portfolios to include products such as mulled wine. However, bottling such highly aromatized beverages on the same filling line used for regular wines bears the risk of aroma carryover into the latter, which is considered an impermissible aroma addition according to wine law. In light of increasing cases of unintentional carryover, the German Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL) published a guideline in 2019 that differentiates between deliberate aromatization and unintentional carryover. Carryover that does not result in any sensory impact is therein deemed technically unavoidable. However, required methods for the evaluation of the sensory contribution of individual aroma compounds in analytically conspicuous wines are not mentioned within the guideline.

The aim of the present work was to examine the uptake and release of aroma compounds in sealings during the bottling of aromatized wines, to evaluate the factors that can minimize the aroma carryover risk and to develop a concept for assessing the sensory impact of individual aroma compounds carried-over.

To assess the sensory relevance of seven aroma compounds that are frequently found in aromatized wine-based beverages (γ -decalactone, γ -undecalactone, δ -decalactone, α -ionone, ethyl 2-methylbutanoate, eugenol, *trans*-cinnamaldehyde), odor thresholds (OT) were determined in water, model wine, and white wine. Threshold varied in these three matrices across four orders of magnitude. In-depth evaluation of α -ionone (raspberry aroma) in white wine revealed that a sensory impact of this compound occurred only at concentrations ten times higher than the detection threshold in wine.

Establishing a robust analytical method for the direct detection of aroma compounds in a polymer matrix, it was possible to investigate parameters that affect the uptake and release of aroma compounds into and from polymer matrices. In model experiments, an uptake of the aroma compounds was confirmed as a function of the exposed polymer surface, the current concentration and the polarity of the aroma compounds. Using the decadic logarithm of the octanol-water partition coefficient ($\log P$), it was possible to explain the variance in the absorption of the seven aroma compounds by 91% as well as by 99% of the aroma compounds carried over into a subsequent model wine. With increasing nonpolar character of the aroma compounds, absorption into nonpolar polymer materials increased exponentially, consequently leading to a proportional increase in carryover.

An evaluation of the common cleaning parameters applied in bottling lines when changing bottled products between aromatized and regular showed that temperature and duration were the primary determinants of cleaning efficacy, while the selected cleaning media had only a

minor influence. An inverse effect to the absorption could be shown. Polar aroma compounds were more effectively removed from the polymer by the polar cleaning agents. Furthermore, longer cleaning times at low temperatures of 22 °C of up to 24 hours were required to achieve a comparable cleaning efficiency as with 85 °C. Complete removal of the aroma compounds was not possible.

Final bottling experiments on an industrial scale demonstrated the uptake of aroma substances by sealings and the low efficacy of extensive cleaning. Despite analytically detectable concentrations of aroma compounds in the sealing materials, neither sensory nor analytical differentiation of the bottled wines was possible. However, the analytically detectable concentrations of eugenol and γ -decalactone fall below the perception thresholds in wine, which is reason an authenticity control is not necessary with regard to the detected aroma compounds.

This work was part of the funded project "Minimierung von Aromaverschleppung bei der Abfüllung von Wein, Sekt und Fruchtwein – AiF 20220 N", an IGF Project of the FEI, supported via AiF within the program for promoting the Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economics and Climate Action (BMWK), based on a resolution of the German Parliament.

3 Einleitung

Die Verankerung von Wein als Genussmittel in der Gesellschaft zeigt sich am Konsum von rund 24 Litern Wein und Schaumwein pro Bundesbürger im Jahre 2020 (Deutsches Weininstitut 2022). Nach Informationen des Bundesverbandes der Spirituosen-Industrie und -Importeure (BSI) wurde 2020 jede achte abgefüllte Weinflasche mit einem aromatisierten weinhaltigen Getränk befüllt und entsprechend deklariert (BSI 2021). Die verwendeten Konzentrate zur Aromatisierung der Weinprodukte zeigen ein breites Profil an Aromastoffen mit Geruchseindrücken von tropisch exotischen Früchten über heimisch erfrischende Noten bis hin zum weihnachtlich-würzigen Geruch von Nelken und Zimt. Charakteristische Aromastoffe, die zu einem fruchtigen Aroma beitragen, sind Lactone mit ihrem Pfirsicharoma wie γ -Decalacton, γ -Undecalacton und δ -Decalacton, α -Ionon mit dem Geruch nach Himbeere und Ester wie Ethyl 2-methylbutanoat (Elss et al. 2007; Lampe 2015; Langen et al. 2016). In würzigen Getränken wie Glühwein finden sich vor allem hohe Anteile an Eugenol und *trans*-Zimtaldehyd (Gottmann et al. 2022a). Der Zusatz von Aromastoffen in der Weinherstellung ist durch die Verordnung (EG) Nr. 606/2009 verboten (EU Parlament 2009). Mit einer entsprechenden Deklaration des Produktes als „aromatisiertes weinhaltiges Getränk“ ist der Zusatz von Aromastoffen erlaubt (EU Parlament 2008, 2014). Enantioselektive und Isotopenmusteranalysen ermöglichen es Untersuchungsämtern die Authentizität der Weine anhand der Bestimmung des Enantiomerverhältnisses von chiralen Aromastoffen wie γ -Decalacton und α -Ionon zu überprüfen (Schumacher et al. 1998; Mosandl 2004; Langen et al. 2013; Lampe 2015; Langen et al. 2016). Bei der Betrachtung der Jahresberichte der letzten zehn Jahre des Landesuntersuchungsamtes (LUA) in Mainz ist das Jahr 2014 auffällig, 92 der 4041 kontrollierten Weinen (2 %) wurden aufgrund einer unzulässigen Aromatisierung und einer entsprechend fehlenden Aufmachung als „aromatisiertes weinhaltiges Getränk“ beanstandet (LUA 2012–2022).

Aufgrund der hohen Saisonalität von aromatisierten Produkten, wie Glühwein und der hohen Anschaffungskosten einer zweiten Füllanlage, die ausschließlich für aromatisierte Getränke reserviert ist, werden in der gängigen Praxis kleinerer Betriebe sowohl aromatisierte Weine als auch Still- und Schaumwein auf derselben Flaschenfüllanlage abgefüllt. Dieser Umstand birgt das Risiko einer Aromaverschleppung aus aromatisierten Getränken in nachfolgend abgefüllte Weine. Im Rahmen des oben beschriebenen Berichtes der Weinkontrolle in der eine 2 %igen Aromatisierung der kontrollierten Weine auftrat, wurden neben der betrügerischen Aromatisierung auch einzelne Fälle einer unbewussten Aromatisierung aufgeklärt. Diese wurden durch einen Produktwechsel auf derselben Flaschenfüllanlage hervorgerufen (LUA 2014). Verbaute Dichtungsmaterialien in Flaschenabfüllanlagen absorbieren Aromastoffe während der Abfüllung aromatisierter Getränke. Aufgenommene Aromastoffe können bei unzureichend durchgeführter Reinigung an nachfolgend abgefüllte Weine abgegeben werden.

Ein solcher unbeabsichtigter Aromaübertrag, der von einem Untersuchungsamt erfasst werden kann, wurde bis dato als unzulässige Aromatisierung eingestuft und strafrechtlich verfolgt.

Um zwischen einer bewussten Aromatisierung sowie einer unbeabsichtigten Verschleppung zu differenzieren, veröffentlichte das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) 2019 einen Leitfaden zur Minimierung der Aromaverschleppung. Der Leitfaden stuft eine Verschleppung von Aromastoffen als technisch unvermeidbarer Übergang ein, wenn (1) eine gute fachliche Reinigungspraxis (*good manufacturing practice*, GMP) während der Abfüllung gegeben ist, (2) eine Kontrolle der Reinigungseffizienz nachweislich erfolgt und (3) kein sensorischer Einfluss der Aromastoffe im nachfolgenden Wein nachzuweisen ist. Infolgedessen würde eine Aromaverschleppung zu keinen strafrechtlichen Konsequenzen für den Abfüller führen (BMEL 2019). Weiterführende Informationen zur methodischen Durchführung der sensorischen Beurteilung der verschleppten Aromastoffe in einem Wein werden nicht angegeben. Der sensorische Einfluss eines Aromastoffes ist stark von der vorliegenden Matrix abhängig. In einem Vergleich des sensorischen Einflusses in Wasser und verschiedenen Weinstilistiken zeigen sich drastische Unterschiede auf. Nationale Landesuntersuchungsämter, die eine Authentizitätskontrolle einzelner Weine durchführen, werden durch diese Gegebenheiten vor neue ungeklärte Aufgabenstellungen gestellt. Eine Beurteilung kann nicht anhand eines sensorischen Unterschiedstests erfolgen, sondern benötigt spezifische Richtwerte.

Wahrnehmungsschwellenwerte indizieren die niedrigste Konzentration eines Aromastoffes in der gewählten Matrix, die für eine sensorische Wahrnehmung notwendig ist und könnten daher als Referenzwert dienen. Matrixbestandteile wie Ethanol, gelöstes CO₂ und SO₂ sowie präsenzte aromaaktive Substanzen im Wein zeigen einen starken Einfluss auf die Schwellenwertbestimmung und können diesen um mehrere Größenordnungen anheben (Guichard 2002; Ferreira 2010; Yoder et al. 2012; Chambers und Koppel 2013; Waterhouse et al. 2016; Ziegler et al. 2019). Insbesondere tritt die Wechselwirkung zwischen dem natürlich hohen Anteil an Estern, Alkoholen sowie Fettsäuren die eine sensorisch fruchtige Weinmatrix ausbilden und den niedrigen Konzentrationen der verschleppten Aromastoffe in den Vordergrund (Ferreira 2010). Ein sensorisch wahrnehmbares Durchbrechen dieser fruchtigen Matrix kann Konzentrationen von bis zu mehreren mg der Aromastoffe pro Liter Wein benötigen (Escudero et al. 2004). Ein pauschales Heranziehen von Wahrnehmungsschwellenwerten, die klassischerweise aufgrund der Reproduzierbarkeit und dem Ausschluss von äußeren Störfaktoren in Wasser bestimmt werden, könnte zu einer fehlerhaften Interpretation der Konzentration der verschleppten Aromastoffe und deren sensorischen Einfluss im Wein führen. Zur besseren Beurteilung und Verständnis der sensorischen Relevanz einzelner Aromastoffe in Weinen wurden im Rahmen dieser Arbeit

Wahrnehmungsschwellenwerte in den Matrices Wasser, Modellwein und Weißwein bestimmt. Bisherige Forschungsarbeiten, die sich mit einer Aromaverschleppung ausgehend von Dichtungen befassen, limitieren sich zum Zeitpunkt der Erstellung der Arbeit auf vereinfachte anwendungsorientierte Modellstudien. Anhand von indirekten Messmethoden, wie einer sensorischen Auswertung oder dem Auswiegen der Elastomeren Werkstoffe wurde hier ein sensorisch erfassbares Verschleppungsrisiko beschrieben (Eckstein 2011; Vetter 2012; Freund und Seckler 2016; Freund 2022). Ausgehend von EPDM-Dichtungen konnte eine höhere Verschleppung als bei FKM-Dichtungen aufgezeigt werden. Trotz einer Reinigung der Dichtungen zeigte sich ein sensorisch wahrnehmbarer Übergang in nachfolgende Produkte (Eckstein 2011; Vetter 2012; Freund und Seckler 2016; Beierle et al. 2020; Freund 2022). In Verpackungsmaterialien wurden bereits vergleichbare Migrations- und Verschleppungsprozesse auf einer molekularen Ebene erforscht. Die Absorption von Aromastoffen in Thermoplasten wird in der Literatur umfangreich für Lebensmittelverpackung als *scalping* beschrieben und beeinflusst die Produktqualität maßgebend (Arora et al. 1991; Charara et al. 1992; Pollnitz et al. 2001; Sajilata et al. 2007; Mentana et al. 2009; Licciardello et al. 2009; Blake et al. 2009; Peyches-Bach et al. 2012; Revi et al. 2014; Wietstock et al. 2016). Eine Verschleppungsproblematik der Aromastoffe tritt in der Verpackungsindustrie aufgrund der hohen Anteile an Einwegverpackungen seltener auf. Nur wenige Forschungsarbeiten befassten sich daher mit der Verschleppungsproblematik in Mehrweg-Flaschen aus Polyethylenterephthalat (PET). Trotz einer Reinigung der PET-Flaschen mit hohen Temperaturen von bis zu 80 °C konnten nur begrenzte Anteile der aufgenommenen Aromastoffe entfernt werden und ein Übergang dieser in nachfolgende Produkte nicht verhindert werden (Nielsen et al. 1997; Safa und Bourelle 1999). Das reale Verschleppungsrisiko in einer Abfüllung der aromatisierten weinhaltigen Getränke mit einer anschließenden Untersuchung von nachfolgenden Weinen ausgehend von verbauten Dichtungen wurde bisher auf molekularer Ebene noch nicht erforscht.

Reinigungssequenzen die zwischen einem Produktwechsel in einer Abfüllanlage durchgeführt werden, orientieren sich grundlegend an der Entfernung von oberflächlichen Verschmutzungen und der Sterilisation der Anlage (Englezos et al. 2019). Reinigungspläne müssen für jede Abfüllanlage angepasst und validiert werden, um eine Kontamination weiterer Produkte zu verhindern (Changani et al. 1997; Seiberling 2008; Basso et al. 2017). Aromastoffe treten bei durchgeführten Reinigungen in den Hintergrund und der Einfluss einzelner Reinigungsszenarien zur Entfernung von Aromastoffen ist unklar. An dieser Stelle leistet diese Forschungsarbeit erstmals einen Beitrag zur Beurteilung der Reinigungseffizienz hinsichtlich der absorbierten Aromastoffe. Reinigungsfaktoren, die eine durchgeführte Reinigung beeinflussen können, bestehen in der gewählten Reinigungstemperatur, der -dauer und des -mediums (Sinner 1960). Neben sauren und basischen Reinigungsadditiven wird der

Zusatz von oxidativen Reinigungsmitteln wie Ozon umfangreich diskutiert (Sonntag und Gunten 2012; Rincon-Delgadillo et al. 2013; Pandiselvam et al. 2019; Gan et al. 2020; Kim und Huang 2020; Stadler und Fischer 2020).

Vor allem galt es in dieser Arbeit zu erforschen, in wie fern in einem industriellen Maßstab der Abfüllung in einer Betrieb eine Verschleppung sensorisch relevanter Aromastoffe aus einem aromatisierten weinhaltigen Getränk durch eine umfangreiche Reinigungssequenz verhindert werden kann. Die umfangreichen Untersuchungen der Einflussfaktoren resultieren in einem Konzept, aus dem sowohl Winzer und Winzerinnen als auch Kellereien Handlungsmöglichkeiten für die Abfüllung von aromatisierten weinhaltigen Getränken und regulären Weinen auf der gleichen Abfüllanlage ableiten können.

4 Literaturübersicht

4.1 Wirtschaftliche Bedeutung aromatisierter weinhaltiger Getränke

Die Herstellung des fermentierten Genussproduktes aus Weintrauben besitzt eine Tradition und Entwicklung über Jahrtausende hinweg, die mit spontan vergorenen Beeren begann (Chambers und Pretorius 2010; Varriano 2011). Das heutige Genussmittel „Wein“ lässt sich nur schwer aus der Gesellschaft wegdenken, sodass der deutsche Bundesbürger 23,9 Liter Wein und Schaumwein im Jahr 2020 konsumierte. Der deutsche Weinkonsum steht an vierter Stelle des weltweiten Weinverbrauches, wobei zwei Drittel der im Inland verkauften Weine im deutschen Lebensmitteleinzelhandel (LEH) in Verkehr gebracht wurden (Deutsches Weininstitut 2022). Mit einem Absatz von 1,5 Mrd. Flaschen im LEH stehen Getränke aus Weintrauben an zweiter Stelle alkoholischer Getränke direkt hinter dem Absatz von Bier (BSI 2015–2021). Die Vielseitigkeit der Weine beginnt bei der Wahl der Rebsorte. Dabei wird der Anbau in Deutschland mit einem Anteil von 23 % von Riesling dominiert (Deutsches Weininstitut 2022). Ein Drittel der abgesetzten Weine im LEH wurden zuvor in einer zweiten Gärung zu Schaumwein weiterverarbeitet (BSI 2015–2021). Neben der natürlichen Variation der Produkte anhand der gewählten Rebsorte und deren weiteren oenologischen Ausbau, besteht die Möglichkeit dem fermentierten Produkt Aromastoffe hinzuzufügen, um gewünschte Aromaprofile zu erzielen. Ein Aromastoffzusatz erfordert jedoch eine Kenntlichmachung unter einem Label als „aromatisiertes weinhaltiges Getränk“. Die Nachfrage nach aromatischen Kreationen der Kellereien und Winzer zeigt in den letzten sechs Jahren eine dynamische Entwicklung, mit einem deutlichen Zuwachs im Absatz von 23 % und im Umsatz von 48 %

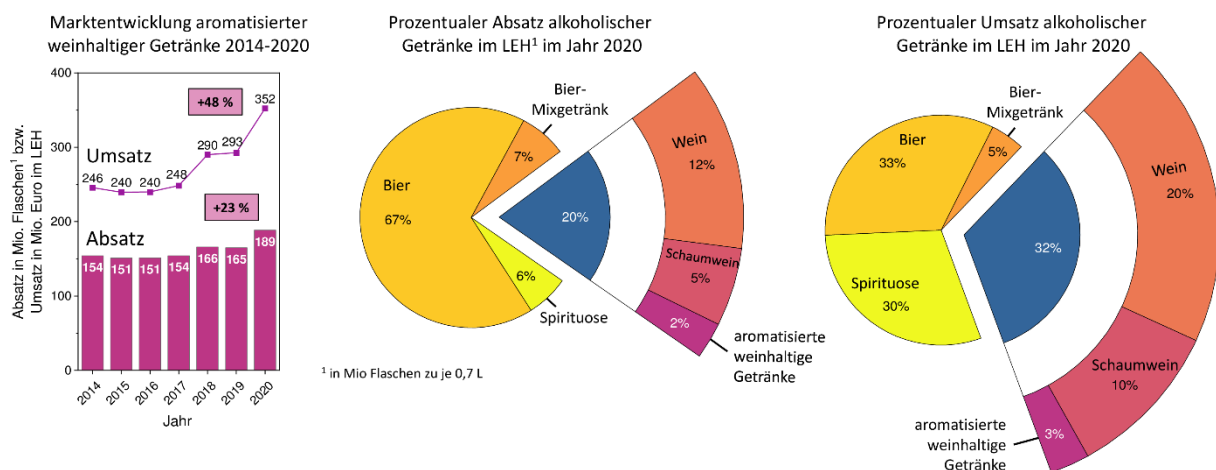


Abbildung 1. Entwicklung der Verkaufszahlen und Umsatzzahlen aromatisierter weinhaltiger Getränke im deutschen Lebensmitteleinzelhandel in den Jahren 2014 bis 2020. Prozentualer Vergleich der Absatz- und Umsatzzahlen einzelner alkoholischer Getränke im deutschen LEH aus dem Jahr 2020 (BSI 2015–2021).

(BSI 2015–2021; Köhr 2015; Engelhard 2015). Zwölf Prozent der abgefüllten Weinprodukte, also jede achte Weinflasche, wurden im Jahr 2020 durch einen bewussten Zusatz von Aromastoffen verändert (BSI 2015–2021). Die Aromatisierung von Wein ist im Gegensatz zur Aromatisierung von Bier und Spirituosen ein stark saisonales Phänomen. Im Sommer dominieren erfrischende sommerliche Getränke für Gartenpartys, während im Winter klassischerweise deftige, würzige Glühweine in den Vordergrund treten. Das Aromaspektrum der zugesetzten Konzentrate reicht hierbei von exotisch tropischen Aromanoten, über eine klassische Zusammensetzung von Holunderblüte und Minze in einem „Hugo“ bis hin zu den weihnachtlichen Gewürzen Nelke und Zimt.

4.2 Rechtliche Problematik bei der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke

Die hohe Saisonalität der einzelnen aromatisierten Produkte wie Glühwein sowie die hohen Anschaffungskosten machen eine zweite Abfüllanlage für Winzer und Kellereien wirtschaftlich nicht vertretbar. Dieser Umstand führt dazu, dass aromatisierte weinhaltige Getränke und Weine im Wechsel auf derselben Flaschenabfüllanlage abgefüllt werden. Die hohen Konzentrationen der Aromastoffe, die im Bereich von mg/L den aromatisierten weinhaltigen Getränken zugesetzt werden, besitzen das verstärkte Risiko von Dichtungen aufgenommen zu werden. In Flaschenabfüllanlagen sind bis zu 100 kg Dichtungsmaterial pro Anlage verbaut (Vetter 2021). Bei unzureichender Reinigung der Füllanlage können Aromastoffe an nachfolgende Produkte abgegeben werden. Eine nachweisbare Verschleppung der Aromastoffe aus einem aromatisierten Getränk in einen regulären Wein bzw. Schaumwein stellt jedoch eine rechtliche Problematik dar. Die Herstellung von Wein ist durch die Verordnung (EG) Nr. 606/2009 geregelt (EU Parlament 2009). Unter den erlaubten oenologischen Verfahren zur Herstellung von Wein ist ein Zusetzen von Aromastoffen in der Weinherstellung nicht aufgelistet und folglich strikt untersagt. Eine Zugabe von Aromastoffen zu Wein erfordert nach Verordnung (EG) Nr. 251/2014 eine entsprechende Aufmachung als aromatisiertes weinhaltiges Getränk (EU Parlament 2014).

Die Authentizität und damit der natürliche Ursprung der einzelnen Aromastoffe im untersuchten Wein kann anhand von stereoselektiven Analysen kontrolliert werden. Aromastoffe wie γ -Decalacton mit einem synthetischen Ursprung besitzen eine racematische Verteilung (50:50) der vorliegenden (R)-/(S)-Enantiomere. In frischen Früchten und in natürlichen Produkten verschiebt sich hingegen dieses Verhältnis zu einem dominanten Enantiomer (siehe Tabelle 1), sodass die Authentizität der Produkte anhand der Enantiomerverteilung der Aromastoffe überprüft werden kann (Schumacher et al. 1998; Mosandl 2004; Ravid et al. 2010; Lampe 2015). Ein erfassbarer Aromazusatz, hierzu zählt ebenfalls eine Verschleppung der Aromastoffe aus aromatisierten Getränken in nachfolgende reguläre Weine (*carryover*), hat jedoch strafrechtliche Konsequenzen. Das

Tabelle 1. Natürliche Enantiomerverteilung ausgewählter Aromastoffe in Früchten.

Aromastoff	Frucht	(S)-Enantiomer (%)	(R)-Enantiomer (%)
α -Ionon	Himbeere ^{1,2,4,7}	0–10	90–100
	Karotten ⁷	5	95
	Wein ⁸	12-25	75-88
γ -Decalacton	Pfirsich ^{1,3,5,6}	8–10	90–92
	Passionsfrucht ¹	4	96
	Aprikose ^{1,3,5}	0–6	94–100
	Mango ³	10–30	70–90
	Ananas ³	26	74
δ -Decalacton	Himbeere ²	100	0
	Pfirsich ^{1,5}	0–14	86–100
	Aprikose ^{3,5}	0–10	90–100
	Mango ³	18	82
	Kokosnuss ³	38–50	50–62
γ -Undecalacton	Pfirsich ^{3,5}	0–14	86–100

¹ Ravid et al. 2010, ² Casabianca und Graff 1994, ³ Casabianca et al. 1995, ⁴ Sewenig et al. 2005, ⁵ Lehmann et al. 1993, ⁶ Werkhoff et al. 1998, ⁷ Werkhoff et al. 1991, ⁸ Langen et al. 2016

Landesuntersuchungsamt Mainz verzeichnete im Jahr 2014 einen Höchstwert von 92 auffälligen Weinen unter 4041 kontrollierten Weinen, die eine unzulässige Aromatisierung aufwiesen. Im Jahresbericht des Landesuntersuchungsamtes Mainz aus dem Jahr 2014 wurde bei den erfassten 92 von 4041 kontrollierten Weinen ergänzt, dass die erfassten Aromatisierungen nicht immer auf einen bewussten Betrug beruhten, sondern in einzelnen Fällen auf eine unbewusste Aromaverschleppung nach einem Produktwechsel zurückzuführen waren (LUA 2012–2022). In einer Pressemittteilung aus dem Jahr 2016 erläuterte der deutsche Verband der Aromenindustrie e.V. (DVAI), dass eine Verschleppung von Aromastoffen nicht immer vermieden werden könne. Ein analytischer Nachweis in nachfolgenden Produkten solle nicht zwangsläufig mit einem aktiven Zusatz gleichgesetzt werden und folglich nicht mit einer Beanstandung bzw. Abwertung des Produktes einhergehen. Eine Beanstandung des Produktes müsse weiterer Faktoren wie den jeweiligen Einfluss der verschleppten Aromastoffe auf das Produkt mit einbeziehen (DVAI 2016). Durch die steigende Leistungsfähigkeit der analytischen Chemie und deren stetig zunehmende Empfindlichkeit ist davon auszugehen, dass die Fälle einer nachgewiesenen Aromaverschleppung stark zunehmen. Ein Anstieg der sensorisch unbegründeten Rückrufe der Produktchargen bei den betroffenen Winzern und Kellereien und ein damit einhergehender wirtschaftlicher Schaden wäre die Folge.

Aufgrund dieser Sachverhalte entwickelte das deutsche Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) zusammen mit der Lebensmittelkontrolle und der nationalen Weinindustrie einen „Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch

vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein“ (BMEL 2019). Infolgedessen wird eine Verschleppung von zugesetzten Aromastoffen aus aromatisierten Produkten in einen nachfolgenden Wein als ein technisch unvermeidbarer Übergang der Aromastoffe eingestuft. Diese Einstufung setzt voraus, dass der abfüllende Betrieb sich an die gute fachliche Praxis (*good manufacturing practice*, GMP) Richtlinien hält und die verschleppten Aromastoffe keinen sensorischen Einfluss auf den nachkommend abgefüllten Wein aufweisen. Unter diesen Umständen folgt für den Abfüller, trotz analytisch auffälliger Aromastoffe im Wein, keine strafrechtliche Konsequenz. Eine äquivalente Idee wird aktuell für Pestizide und Allergene von der internationalen Organisation für Rebe und Wein (*Organisation Internationale de la vigne et du vin*, OIV) diskutiert. Anstelle von analytischen Nullwerten sollen neue *de minimis* Werte etabliert werden. Die *de minimis* Werte geben eine Toleranzgrenze für Pestizide und Allergene an, die weder einen gesundheitlichen noch geschmacklichen Einfluss auf den Wein haben, jedoch aufgrund einer potentiellen Verschleppung im Wein vorliegen können (OIV 2022). Der Ansatz, der *de minimis* Werte der OIV für Pestizide und Allergene sollte auf Aromastoffe ausgeweitet werden.

Der etablierte BMEL Leitfadens fordert eine Beurteilung analytisch auffälliger Weine hinsichtlich verschleppter Aromastoffe und ihrem potenziell sensorischen Beitrag im vorliegenden Wein (BMEL 2019). Diese Bewertung muss für Untersuchungsämter einfach und schnell durchführbar sein. Eine sensorische Bewertung anhand eines sensorischen Unterschiedstests (z.B. *2-out-of-5-test*, *3-AFC-test*) ist nicht praktikabel, aufgrund der hohen Anzahl der untersuchten Wein bspw. wurden 3738 Weine im Untersuchungsamt Mainz Jahr 2020 auf eine unzulässige Aromatisierung untersucht (LUA 2021). Des Weiteren liegt kein allgemeingültiger Referenzwein je Rebsorte vor, welcher pauschal herangezogen werden könnte. Dies liegt vor allem daran, dass ein solcher Referenzwein immer sensorisch variiert, da unterschiedliche Aromastoffe aufgrund der Rebsorte, des Standorts und des oenologischen Ausbaus vorliegen. An dieser Stelle ist anzumerken, dass ein sensorischer Vergleich des abgefüllten Weines gegen eine Referenzprobe aus dem Tank zwar einen potenziellen Einfluss der verschleppten Aromastoffe aufweisen bzw. negieren kann, dies jedoch in Anbetracht des Aufwandes für das Untersuchungsamt sowie dem Hersteller bzw. Importeur nicht für jeden abgefüllten Wein umsetzbar ist. Dahingegen stellt eine Bewertung des sensorischen Einflusses anhand von Wahrnehmungsschwellenwerten eine leicht anwendbare Methode dar. Erfasste Wahrnehmungsschwellenwerte geben einen Grenzwert an, welcher bei Überschreitung zu einer sensorischen Wahrnehmung des Aromastoffes führt. Ein besonderes Augenmerk sollte jedoch auf die gewählten Methoden bei der Bestimmung der Schwellenwerte gelegt werden. Insbesondere ist der Matrixeinfluss bei einer Schwellenwertbestimmung hervorzuheben, der je nach Aromastoff und betrachteter Matrix stark variieren kann. Faktoren, die eine Schwellenwertbestimmung beeinflussen werden im Abschnitt 4.5 erläutert, welcher sich mit

den sensorischen Grundlagen befasst. Ein pauschales Heranziehen von Wahrnehmungsschwellenwerten, die in einer wässrigen Matrix erfasst wurden, kann zu einer fehlerhaften Bewertung der Aromaverschleppung im Wein führen, da die herangezogenen Werte zu niedrig ausfallen würden. Das Auftreten einer Aromaverschleppungsproblematik bei der Abfüllung von Wein ist nicht der erste beschriebene Verschleppungsfall. Bei der Abfüllung von Orangen- und Apfelsaft sowie den entsprechenden Saftkonzentraten besteht ebenfalls ein hohes Risiko der Aromaverschleppung auf Grund der hohen Aromastoffanteile in den Konzentraten. Innerhalb der Forschungsarbeit von Elss et al. (2007) wurden Wahrnehmungsschwellenwerte einzelner Marker-Aromastoffe in Apfel- und Orangensaft zur Bewertung der Aromaverschleppung erfasst. Im Rahmen des Projektes wurden Wahrnehmungsschwellenwerte in Wasser, Modelllösungen als auch Referenzmatrices aus Orangen- und Apfelsaft bestimmt. Die Autoren schlussfolgerten, dass eine Bewertung der Verschleppung anhand der entsprechenden Referenzmatrices Apfel- bzw. Orangensaft erfolgen sollte. Zusätzlich empfahlen sie eine rechtliche Einstufung der verschleppten Aromaspuren als Kontaminanten, so lange kein sensorischer Einfluss im Getränk vorliegt (Elss et al. 2007). Um folglich Fehlinterpretationen des sensorischen Einflusses verschleppter Aromastoffe im vorliegenden Wein zu vermeiden, wird im Zuge der wissenschaftlichen Veröffentlichung in Abschnitt 6.1 die Verwendung von Wahrnehmungsschwellenwerte in einer Weinmatrix zur Beurteilung empfohlen (Gottmann et al. 2022a).

4.3 Migrationsprozesse in und aus Polymerwerkstoffen

Die ungewollte Verschleppung der zugesetzten Aromastoffe aus aromatisierten Weinprodukten in eine nachfolgende Weinabfüllung ergibt sich aus zwei zusammenhängenden Migrationsschritten (Abbildung 2). Die Verschleppungsproblematik beginnt mit einer Absorption der Aromastoffe in den Polymerwerkstoff und der anschließenden Freisetzung in nachfolgende Produkte (*carryover*). Eine Kombination dieser Migrationsprozesse wurde erstmals im Zusammenhang mit Kunststoffmehrwegverpackungen beschrieben (Safa und Bouelle 1999). Hierbei konnte eine erfassbare Verschleppung von Aromastoffen in nachfolgende Produkte, die zum Beispiel in Mehrwegflaschen abgefüllt wurden, aufgezeigt werden. In Anbetracht der komplexen Prozesse und des begrenzten allgemein empfundenen Risikos, da keine gesundheitlichen Bedenken bestehen, wurde eine Kombination der Migrationsprozesse in der wissenschaftlichen Literatur bislang kaum beschrieben.

Das Aufnahmeverhalten von Aromastoffen aus Lebensmitteln in polymerbasierte Werkstoffe und Verpackungsmaterialien, auch als *scalping* bezeichnet, ist im Gegensatz zum *carryover* Prozess ein umfangreich erforschtes Problem das vor allem die Qualität verpackter Lebensmittel betrifft (Nielsen et al. 1992; Charara et al. 1992; Nielsen 1994; Fukamachi et al.

1996; Pollnitz et al. 2001; Sajilata et al. 2007; Blake et al. 2009; Licciardello et al. 2009; Mentana et al. 2009; Peyches-Bach et al. 2012; Ghidossi et al. 2012; Hopfer et al. 2012; Revi et al. 2014; Wietstock et al. 2016). Eine Migration aus Polymerwerkstoffen in Lebensmittel, was dem zweiten Teil des *carryover* Prozesses entspricht, wird vornehmlich für einzelne additive Rohstoffe des Polymers betrachtet. Diese Migration aus dem Polymerwerkstoff (*leaching*) wird primär aufgrund der hohen gesundheitlichen Risiken einzelner Additive, wie beispielsweise Bisphenol A und Phthalaten, umfangreich im Rahmen der Verbrauchersicherheit untersucht (Wooten und Smith 2013; Wagner et al. 2018; Zimmermann et al. 2021).

Die wachsende Nachfrage an Verpackungsmaterialien aus Kunststoffen, sowie Verbundmaterialien verdeutlicht die steigende wirtschaftliche Bedeutung einzelner Polymerwerkstoffe in der Verpackungsindustrie. Kunststoffe bieten gegenüber anderen Verpackungsmaterialien wie Glas, Metall oder Papier Vorteile in der Herstellung, im Gewicht, im Anwendungsgebiet und im Preis (Sajilata et al. 2007). Diese Vorteile führten in den vergangenen 20 Jahren dazu, dass sich das Aufkommen von Verpackungen aus Kunststoff nahezu verdoppelte, während zugleich viele Umweltkampagnen in den letzten Jahren auf nachhaltigere Verpackungen setzten (Umwelt Bundesamt 2022). Neben den Vorteilen der Kunststoffverpackungen darf jedoch die Interaktion zwischen Lebensmittel und Verpackung nicht vernachlässigt werden. Hierzu zählt auch die Migration von Aromastoffen in Kunststoffverpackungen. Eine Absorption der Aromastoffe führt zu einem Verlust der geruchsaktiven Aromakomponenten im Lebensmittel, verändert das sensorische Profil des Lebensmittels und kann mit einem Qualitätsverlust des Lebensmittels gleichgesetzt werden (Hotchkiss 1997). Die Absorption von Aromastoffen in Polymerwerkstoffe wurde in

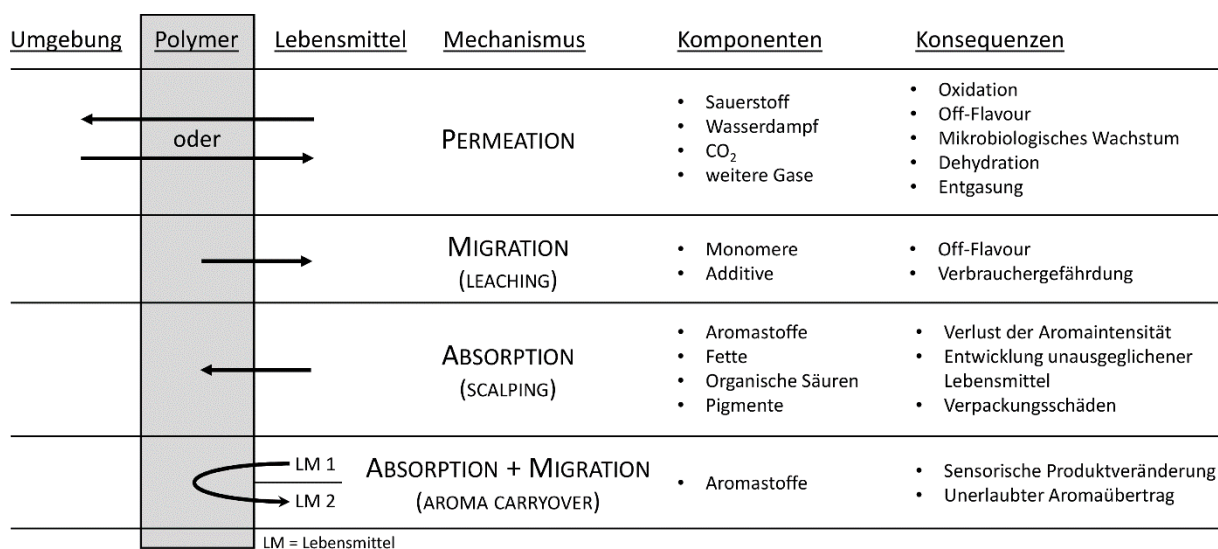


Abbildung 2. Mögliche Interaktionen zwischen Lebensmittel, Polymerwerkstoff sowie der Umgebung (modifiziert nach Sajilata et al. 2007).

unterschiedlichen Lebensmitteln untersucht und in Abbildung 2 nach Sajilata et al. mit den verschiedenen Mechanismen und den daraus folgenden Konsequenzen zusammengefasst und um eine Aromaverschleppung erweitert. Tabelle 2 zeigt eine Auflistung der vorliegenden untersuchten der Migrationsprozesse zwischen Aromastoffen, Matrices und Werkstoffen. Die Absorption von Aromastoffen aus Lebensmitteln in eine Polymermatrix so wie die Migration dieser Aromastoffe in tiefere Materialschichten beruht auf der Diffusion der einzelnen Aromamoleküle und deren angestrebter gleichmäßiger Verteilung in den vorliegenden Matrices. Die Diffusion dieser Moleküle in einer festen oder flüssigen Matrix kann anhand der Fick'schen Gesetze beschrieben werden (Sajilata et al. 2007; Licciardello et al. 2009; Karbowski et al. 2010). Diese Transportprozesse der Aromastoffe sind abhängig von der Konzentration der Aromastoffe sowie vom vorliegenden Konzentrationsgefälle in den betrachteten Matrices. Anhand des ersten Fick'schen Gesetzes (Formel 1) wird der Teilchenstrom (J) mit dem Diffusionskoeffizienten (D) und der Konzentrationsänderung (c) entlang der Länge bzw. Tiefe der Matrix (x) beschrieben. In Abhängigkeit der Zeit verändert sich die lokale Konzentration auf Basis des vorliegenden Konzentrationsgradienten. Diese lokale Änderung in Abhängigkeit der Zeit kann mit Hilfe des zweiten Fick'schen Gesetzes (Formel 2) beschrieben werden, welches sich aus dem ersten Gesetz ableiten lässt.

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad \text{erstes Fick'sches Gesetz} \quad (1)$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad \text{zweites Fick'sches Gesetz} \quad (2)$$

Licciardello et al. (2009) untersuchte in einer Modellierung sowie experimentell das Migrationsverhalten der ausgewählten Weinaromastoffe Linalool und Ethyloctanoat. Betrachtet wurde die Absorptionskinetik ausgehend von einem Modellwein in ein linear low density polyethylene (LLDPE) Polymerfilm, einem gängigen Verpackungsmaterial, das in *bag-in-box*-Verpackungen Anwendung findet. Die Migration wurde mit Hilfe der Fick'schen Gesetze modelliert und anhand der experimentellen Daten über einen Zeitraum von 60 Tagen kontrolliert und bestätigt. In den ersten Tagen zeigte sich bei Kontakt zwischen Modellwein und Polymerfilm eine hohe Aufnahme der Aromastoffe im Polymer, welche im weiteren Verlauf abflachte. Nach ca. 20 Tagen konnte kein weiterer Anstieg der Konzentration der Aromastoffe im Polymer aufgezeigt werden und es stellte sich ein Gleichgewicht zwischen der Aromastoffkonzentration im Polymerwerkstoff und im Modellwein ein (Licciardello et al. 2009). Die langen Lagerzeiten von mehreren Jahren, die bei der Weinlagerung auftreten können, ermöglichen eine umfangreiche Interaktion zwischen Wein und den gewählten

Tabelle 2. Literaturübersicht bereits untersuchter Absorptionsprozesse. Zusammenfassung der untersuchten Lebensmittel und Modelllösungen, der Aromastoffe sowie den einzelnen Polymerwerkstoffen.

Lebensmittel Matrix	Aromastoffe	Werkstoff	Literatur
Wasser	Ester, Alkohole	LDPE, LLDPE, PP, PET, PA	Nielsen et al. 1992
Wasser	Limonen, Linalool, Linalylacetate	PET-Mehrwegflasche	Safa und Bourelle 1999
Wasser	Limonen, 1-Hexanol, Furfural, 4-Vinyguaiaicol	EPDM	Nishijima et al. 2014
Wasser	Aromamix	EPDM, FKM, NBR	Eckstein 2011
Wasser, Orangensaft	Aromamix, Limonen, γ -Decalacton	EPDM, FKM, HNBR	Vetter 2012
Wasser	Aromamix, Limonen, Carvon	EPDM, FKM, FFKM	Beierle et al. 2020
Orangen-, Grapefruitsaft	Limonen	Kartonlamierte Verpackungen, PE, LDPE	Mannheim et al. 1987
Orangensaft	Limonen, Linalool, Myrcene, α -Pinene, Geraniol	LDPE, HDPE, PP	Charara et al. 1992
Fanta Orange ®	Limonen, Myrcene	PET	Nielsen 1994
Milch (Modelllösung)	Aldehyde, Ketone, Ester, Schwefelkomponenten, Alkylpyrazine	LDPE	Arora et al. 1991
Ethanolische Lösung (0–80% v/v)	Ester, Aldehyde, Alkohole	LDPE, EVOH	Fukamachi et al. 1996
Bier	Limonen, Myrcene, Linalool, Geraniol, α -Terpineol, α -Humulen, 4-Octanol, <i>trans</i> -Caryophyllene	Kronkorken, Dosenbeschichtung	Wietstock et al. 2016
Modellwein	Ethylacetat, Linalool	LDPE, CCP	Licciardello et al. 2009
Modellwein	flüchtige Phenole	Korken	Karbowiak et al. 2010
Modellwein	Ethyl butyrate, Ethyl hexanoate, 2-Phenylethanol, 4-Ethylphenol	LDPE	Peuches-Bach et al. 2012
Modellwein	Zimtaldehyd, γ -Decalacton	EPDM, NBR, FKM, Silikon, PTFE	Freund und Seckler 2016
Wein	Methoxypyrazine, Ester, Alkohole	Korken, synthetische Korken, Tetra Pak	Blake et al. 2009
Wein	Alkohole, Ester, flüchtige Säuren	PET-, Glasflasche	Mentana et al. 2009
Wein	flüchtige Schwefelverbindungen	PET-, Glasflasche, <i>bag-in-box</i>	Ghidossi et al. 2012
Wein	Alkohole, Ester, flüchtige Säuren	Korken, synthetische Korken, <i>bag-in-box</i>	Hopfer et al. 2012
Wein	Alkohole, Ester, flüchtige Säuren	Korken, synthetische Korken, <i>bag-in-box</i>	Hopfer et al. 2013
Wein	Alkohole, Ester, flüchtige Säuren, Aldehyde	Gasflasche, <i>bag-in-box</i>	Revi et al. 2014

cast polypropylen (CPP), ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH), low density polyethylene (LDPE), linear low density polyethylene (LLDPE), high density polyethylene (HDPE), polyamide (PA), polypropylene (PP), biodegradable polybutylene succinate (PBS), polybutylene succinate-co-addipate (PBSA), ethylen-propylen-dien-Kautschuk (EPDM), Fluorkautschuk (FKM, FFKM)

Verschlussmaterialien wie Korken, Kapselverschlüssen sowie der Abfüllung in *bag-in-box*. Dies ermöglicht die Untersuchung der Absorptionsrate in Abhängigkeit der Zeitachse und kann anhand der Fick'schen Gesetze modelliert werden (Karbowski et al. 2010; Peyches-Bach et al. 2012). Faktoren, die einen Einfluss auf die Migrationsprozesse des *scalpings*, *leachings* sowie des Aromaübertrags in nachfolgende Produkte (*carryover*) im Polymer beeinflussen, werden im Weiteren genauer betrachtet.

4.3.1 Polarität der Aromastoffe

Nielsen beschreibt die Aufnahme der Aromastoffe Limonen und Myrcen aus dem Softdrink Fanta Orange® in Mehrwegflaschen aus Polyethylenterephthalat. Während einer Lagerung von bis zu zwölf Wochen reicherten sich 9,9 µg/g Limonen sowie 0,3 µg/g Myrcen im PET Werkstoff an. Dies entspricht einer Absorption von 1–2 % der ursprünglichen Konzentration der hydrophoben Aromastoffe im Softdrink (Nielsen 1994). In der Untersuchung einer wässrigen Lösung mit zugesetzten Markerstoffen des Apfelaromas, konnten unterschiedliche Absorptionskinetiken in Abhängigkeit der Polarität nachgewiesen werden. Im Rahmen der betrachteten Aromastoffe zeigte sich die höchste Aufnahme für Ester gefolgt von Aldehyden und Alkoholen (Nielsen et al. 1992). In der Untersuchung von Charara et al. (1992) an Orangensaft zeigte die Polarität der Aromastoffe ebenfalls einen hohen Einfluss auf die Absorption. Die höchste Absorption konnte für die reinen Kohlenwasserstoffe wie das ubiquitäre Monoterpen Limonen nachgewiesen werden. Weitere Terpenderivate sowie Aldehyde zeigten in Abhängigkeit ihrer Molekülstruktur unterschiedlich stark ausgeprägte Absorptionsraten auf. Mit einer zunehmenden Kettenlänge der Aldehyde und folglich zunehmendem unpolaren Charakter des Moleküls, steigt die Absorption der unpolaren Aromastoffe in die unpolare Polymermatrix an (Charara et al. 1992). Analoge Schlussfolgerungen konnten ausgehend von einer Modelllösung auf Milchbasis erfasst werden. Hierbei konnte ein Zusammenhang zwischen der zunehmenden Kettenlänge der betrachteten Methylester, Ketone und Aldehyde sowie der Aufnahme in den Polymerfilm hergestellt werden (Arora et al. 1991). Des Weiteren zeigte sich, dass die Absorptionsrate der Aromastoffe von der vorliegenden Molekülstruktur abhängt. Aufgrund der sterischen Konformation der Aromastoffe wurde eine Differenz in den Absorptionsraten zwischen geradlinigen Estern und den entsprechenden verzweigten Estern aufgezeigt. Dabei konnte eine höhere Absorptionsrate für die geradlinigen Ester aufgezeigt werden (Arora et al. 1991). Diese ersten Modellversuche zeigen, dass die Absorption von Aromastoffen in unpolare Polymerwerkstoffe mit der zunehmenden Kettenlänge der Aromastoffe und ihrer steigenden Hydrophobie korreliert. Grundlegend folgt der Absorptionsprozess der gängigen Gegebenheit „Gleiches löst sich in Gleichem“. Die Polarität einzelner Aromastoffe und somit die einhergehende Hydrophobie der Moleküle kann in Verbindung mit ihrem

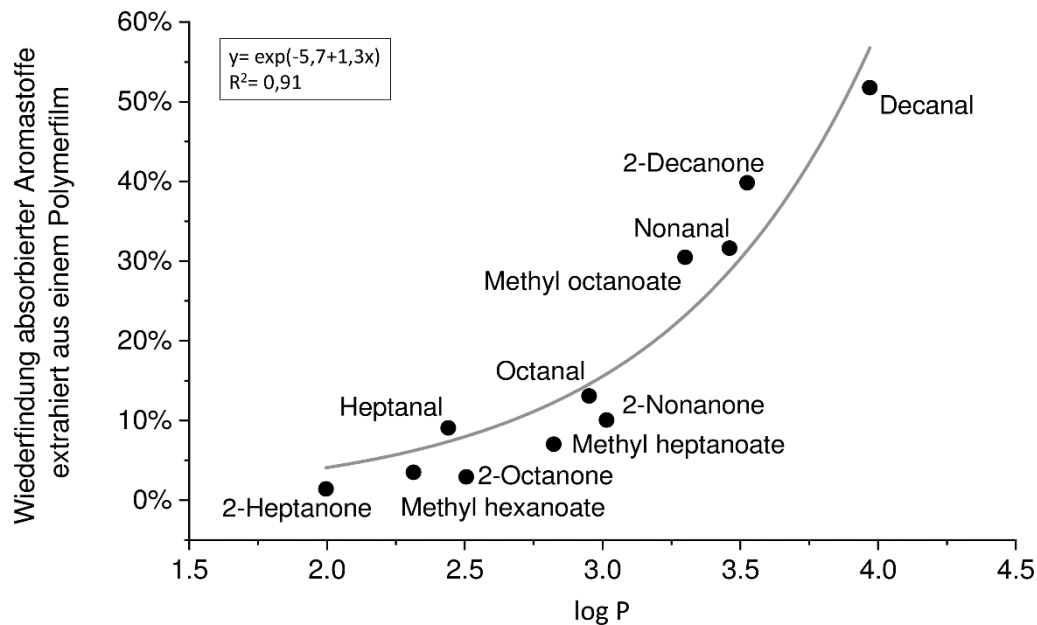


Abbildung 3. Absorption von elf Aromastoffen aus einer Modellmilch in einen low density polyethylene (LDPE) Polymerfilm aufgetragen in Abhängigkeit der in dieser Arbeit hinzugezogenen kalkulierten $\log P$ Werte¹. Prozentual wiedergefundene Konzentration bezogen auf die initiale Konzentration in Lösung der einzelnen Aromastoffe (modifizierte Daten aus Arora et al. 1991).

Verteilungskoeffizienten (K_{ow}) und seinem dekadischen Logarithmus ($\log P$) in einem Zweiphasengemisch aus Octanol und Wasser experimentell sowie in Modellen ermittelt werden (Sangster 1997; Shojaei et al. 2007). Licciardello et al. begründet anhand der Polarität von Ethyloctanoat und Linalool die aufgezeigten Absorptionsunterschiede in Polymerschichten die als Verpackungsmaterialien verwendet werden. Die erfasste hohe Aufnahme des Ethyloctanoats, verglichen mit der des Linalools, spiegelt sich ebenfalls in den entsprechenden kalkulierten $\log P$ Werten von 4,55 und 2,79 wieder (Licciardello et al. 2009). Anhand der in dieser Arbeit nachträglich herangezogenen berechneten $\log P$ Werten¹ zu den Studienergebnisse von Arora et al. (1991) zu der Wiederfindung der absorbierten Aromastoffe in einem Polymerfilm, kann das Absorptionsverhalten und die Varianz der Aromastoffe zu 91 % erklärt werden (siehe Abbildung 3). Dies verdeutlicht, dass ein Anstieg im $\log P$ Wert der Aromastoffe in einer erhöhten Absorption der betrachteten Ester und Ketone resultiert. Die höchste Aufnahme zeigte sich hierbei für das Decanal (C_{10}) mit einem $\log P$ Wert von 3,97, welches unter den betrachteten Aldehyden die längste aliphatische Kette aufweist. Gleiches zeigt sich bei der Betrachtung der einzelnen Methylester. Das Methyl octanoat (C_9) mit einem

¹ Berechnet mit Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994–2022 ACD/Labs)

log P Wert von 3,33 zeigt die höchste Aufnahme unter den betrachteten Estern, wobei die absolute Absorption unterhalb des Decanal verbleibt. Unter den betrachteten Aromastoffen weist das kurzkettige 2-Heptanone den niedrigsten log P Wert von 1,99 auf und eine entsprechend niedrige Absorption. Die Betrachtung einzelner Absorptionskinetiken der Hopfenaromastoffe aus Bier zeigen eine vollständige Aufnahme der unpolaren Aromastoffe Limonen und α -Humulen (log P 4,55 und 6,59) nach 48 Tagen in den Polymerwerkstoff, wohingegen polare Aromastoffe wie das Linalool und α -Terpineol (log P 2,79 und 2,71) deutlich niedrigere Aufnahmeraten zeigten (Wietstock et al. 2016). Zusammenfassend konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass Aromastoffe, die insbesondere aus reinen Kohlenwasserstoffen aufgebaut sind (hierzu zählen Terpene wie bspw. Limonen), eine sehr hohe Absorption in die unpolare Polymer-Matrices aufweisen.

4.3.2 Matrixeinfluss

Neben der Polarität der absorbierten Aromastoffe kann die Lebensmittelmatrix der einzelnen Produkte die Aufnahme der Aromastoffe in die Polymerwerkstoffe beeinflussen. Aromastoffe können gelöst, adsorbiert sowie gebunden oder in Matrixbestandteilen eingekapselt vorliegen (van Willige et al. 2000b). Van Willige et al. untersuchten Makronährstoffe, die einen großen Anteil der Matrixbestandteile ausmachen können, sowie deren Einflussfaktoren auf die Aromastoffabsorption. In ihren Studien konnten sie zeigen, dass zwar der größte betrachtete Einflussfaktor die Anwesenheit von Ölen und Fetten darstellte, jedoch auch Polysaccharide, Proteine und Disaccharide einen Einfluss besitzen (van Willige et al. 2000a). Lebensmittel mit einem hohen Fettanteil zeigen im Allgemeinen einen niedrigeren Aromaverlust aufgrund der vorhandenen Triglyceride, die den Dampfdruck der gelösten hydrophoben Aromastoffe herabsenken. Bereits geringe Anteile an Öl (50 g/L) zeigten einen signifikanten Einfluss auf die Aromastoffabsorption (van Willige et al. 2000a). Ausgebildete Mizellen in Emulsionen können Aromastoffe einkapseln und so eine Art Schutzschicht darstellen. Kohlenhydrate sowie Proteine, die in der Lebensmittelmatrix vorliegen, können mit Aromastoffen interagieren und diese beispielsweise glykosidisch binden (Liang et al. 2022). Eine glykosidische Bindung der Aromastoffe erhöht die Polarität der jeweiligen Aromastoffe und beeinflusst den Anteil an freien Aromastoffen sowie deren bevorzugte Verteilung in der Lebensmittelmatrix und im Kontaktpolymer. Mit zunehmender Komplexität der Lebensmittelmatrix verringerte sich die Aufnahme der Aromastoffe in das Polymer aufgrund der Wechselwirkungen. Ein Unterschied in der Lagerstabilität einer Modelllösung sowie eines Orangensaftes und Grapefruitsaftes wurden von Mannheim et al. untersucht. Die Modelllösung und die beiden Säfte wurden in laminierte Kartons mit Polyethylen (PE) Folien abgefüllt. Die zeitliche Abnahme des Aromastoffes Limonen in einem Gesamtzeitraum von bis zu 50 Tagen zeigte einen drastischen Unterschied zwischen der Modelllösung und den beiden Säften auf. Innerhalb des ersten

Tages verringerte sich die Limonen Konzentration in der Modelllösung um etwa 50 %, während die Konzentration in den Säften erst am Ende des betrachteten Zeitfensters von 50 Tagen eine Abnahme um 50 % bzw. 40 % des Orangen- bzw. des Grapefruitsafts aufwies (Mannheim et al. 1987).

Ein weiterer großer Matrixeinfluss konnte durch unterschiedliche Alkoholanteile in Getränken festgestellt werden. Wie zuvor bei den Fetten beschrieben, beeinflusst der Ethanolanteil die Polarität des Lebensmittels (Wakisaka et al. 2001). Bei einer 28-tägigen Lagerung eines Modellweines mit zugesetzten Estern, Alkoholen und

Aldehyden konnte eine erhöhte Absorption der Aromastoffe in Abhängigkeit zu dem vorliegenden Alkoholgehalt des Modellweines festgestellt werden (Fukamachi et al. 1996). Ein Anstieg im Alkoholgehalt erhöht die Löslichkeit der Aromastoffe in der Matrix (Fischer et al. 1996). Woraufhin eine Herabsenkung der Absorption in das Polymer festzustellen war. In Abhängigkeit des Ethanol Anteils (0–80 % v/v) erfolgte eine Untersuchung des Absorptionsverhalten von je vier Estern, Aldehyden und Alkoholen (C_6 – C_{12}). Eine maximale Absorption der Aromastoffe (siehe Abbildung 4) in eine LDPE-Folien konnte bei einer Ethanol-Konzentration von 15–20 % v/v festgestellt werden (Fukamachi et al. 1996). Das Absorptionsverhalten konnte durch die Veränderung der Permeaktivität aufgrund des Verhältnisses zwischen Wasser und Ethanol erklärt werden. Während bei niedrigen Ethanol-Konzentrationen (< 8 %) Ethanol-Moleküle von Wasserclustern umschlossen werden, tritt dieser Effekt mit steigender Ethanol-Konzentration (8–22 %) in den Hintergrund. Es entstehen größere Cluster, die zu einer heterogenen Struktur des Gemisches führen (Wakisaka et al. 2001; Wakisaka und Matsuura 2006). Diese heterogene Struktur des Ethanol-Wasser-Gemisches stört die Ausbildung der intermolekularen Wasserstoffbrücken und zeigt einen herabsenkenden Einfluss auf das Absorptionsverhalten der Aromastoffe in Polymerwerkstoffe. Ein weiteres Überschreiten dieses Grenzbereiches ermöglicht das Ausbilden größerer Ethanol-Molekülcluster. Mit dem dadurch weiter ansteigenden Ethanol-Anteil nimmt der ethanolische Charakter des Ethanol-Wasser-Gemisches zu und es erfolgt eine Abnahme in der Aromastoffabsorption bedingt durch die erhöhte Löslichkeit der Aromastoffe. Peyses-Bach et al. zeigten ebenfalls, in einem Vergleich einer Modelllösung mit steigendem

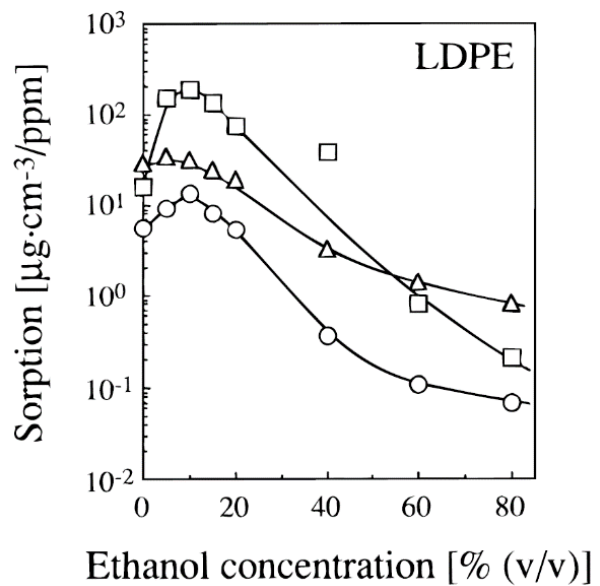


Abbildung 4. Absorption von Ethylhexanoate (Δ), *n*-Octanal (\square) und *n*-Octanol (\circ) aus einer ethanolischen Lösung in einen LDPE Film (Grafik entnommen aus Fukamachi et al. 1996).

Alkoholgehalt (0, 12 und 15 % v/v), dass eine Abnahme in der Absorption des Aromastoffes 4-Ethylphenol vorliegt. Entgegen dieser These wurde in der gleichen Studie eine Zunahme in der Absorption bei einem Alkoholanteil von 12 % v/v gegenüber 0 % v/v bei zwei untersuchten Estern festgestellt. Die erhöhte Absorption bei 12 % v/v Ethanol korreliert mit einer verringerten Ester-Hydrolyse. Ohne Ethanolzusatz reduzierte sich die Konzentration der Ester auf 32 % der Ausgangskonzentration. Die verringerte Konzentration der Ester beeinflusst infolgedessen die Absorption und limitiert den Vergleich der Ergebnisse der beiden Ester. Ein weiterer Alkoholzusatz auf ein Gesamtalkoholanteil von 15 % v/v verringerte erwartungsgemäß die Absorption der beiden Ester (Peyches-Bach et al. 2012).

Neben dem Einfluss des Alkoholgehaltes beschreibt Peyches-Bach et al. einen kompetitiven Effekt zwischen zwei Aromastoffen, der sowohl einen verstärkenden als auch einen abschwächenden Effekt auf die Absorption der einzelnen Aromastoffe aufweist. In der separaten Betrachtung des Ethylbutyrats verdoppelte sich die Absorption des Aromastoffes im Vergleich zu einem Gemisch mit vier weiteren Aromastoffen. Ein kompetitiver abschwächender Effekt wurde ebenfalls für das 4-Ethylphenol postuliert. Die Anwesenheit weiterer Aromastoffe in der wässrigen Matrix verhinderte die Absorption des 4-Ethylphenols in das Polymer, während eine hohe Absorption des Aromastoffes erfasst wurde, sobald keine weiteren Aromastoffe in der wässrigen Matrix vorlagen. Ein umgekehrter Effekt wurde für das Ethylhexanoat aufgezeigt, die Präsenz weiterer Aromastoffe sowie des Ethanols erhöhte die erfasste Absorption des Ethylhexanoats in das Polymer (Peyches-Bach et al. 2012). Limonen und das Autoxidationsprodukt von Limonen, Carvon, zeigten einen kompetitiven Effekt in der Aromastoffabsorption. Eine Mischung der beiden Aromastoffe, die vor allem als Markersubstanzen in Studien mit Orangensäften gewählt werden, reduzierte die Aufnahme über einen Zeitraum von 30 Tagen aus einer wässrigen Lösung zwischen 5 und 10 % in Abhängigkeit des betrachteten Polymers (Letinski und Halek 1992).

In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass die betrachtete Matrix einen großen Einfluss auf die Absorption einzelner Aromastoffe aufweist. Im Falle des Verschleppungsrisikos bei der Abfüllung von Wein sowie aromatisierten Produkten liegt jedoch – entgegen der am häufigsten untersuchten Matrix, dem Orangensaft – eine differenzierte Matrix vor. Nach Waterhouse et al. setzt sich eine Weinmatrix aus etwa 85–89 % Wasser sowie einem Ethanolanteil zwischen 9–13 % zusammen. Einen deutlich niedrigeren Anteil machen Glycerin (0,5–1,5 %), Zucker (0,1–0,5 %), Säuren (0,6–1,0 %), Polyphenole (0,02–0,2 %), Mineralstoffe (0,05–0,2 %) und der stark variable Anteil an Aromastoffen aus, der selbst in niedrigen Konzentrationsbereichen von ng/L einen signifikanten sensorischen Einfluss haben kann (<0,001 %) (Waterhouse et al. 2016). Im Falle der aromatisierten weinhaltigen Getränke übersteigen die Aromastoffkonzentrationen die natürlichen Konzentrationen in Wein bis hin zu einem hohen mg/L Zusatz. Beispielsweise finden sich Maximalwerte für das γ -Decalactons von

15,5 µg/L in einem Fiano Weißwein während in einem aromatisierten Pfirsich Likör 3576 µg/L nachgewiesen wurden (Genovese et al. 2007; Langen et al. 2013). Hohe Proteinanteile, wie sie in den Studien von van Willige et al. aufgeführt wurden, sind im Wein aufgrund einer durchgeführten Weinschönung – die zur Eiweißstabilisierung und Harmonisierung des Weines durchgeführt wird – nicht mehr zu finden. Der niedrige Anteil an Triglyceriden und freien Fettsäuren im Wein besitzt ebenfalls keinen nennenswerten Einfluss auf die Lebensmittelmatrix. Hinsichtlich des vorhandenen Zuckergehaltes bei der Abfüllung des Weines finden sich hohe Unterschiede in den einzelnen Weinen. In vielen Fällen werden Weinen trocken ausgebaut (Restzucker < 9 g/L) das heißt die ursprünglich vorhandene Glucose und Fructose wurde durch Hefen zu Alkohol umgesetzt. Lediglich in halbtrockenen (< 18 g/L), lieblichen (< 45 g/L) und Süßweinen (> 45 g/L), die ca. 47 % des hergestellten deutschen Qualitätsweines im Jahr 2020 ausmachten, finden sich erhöhte Gesamtzuckergehalte mit einzelnen Spitzenwerten von bis zu 350 g/L (Deutsches Weininstitut 2022).

4.3.3 Temperatureinfluss auf die Absorption der Aromastoffe

Ein weiterer äußerer Einflussfaktor, der neben den zuvor beschriebenen Faktoren die Absorption und die Migrationsgeschwindigkeit beeinflusst, ist die Lager- bzw. Abfülltemperatur des Lebensmittels. Die Diffusion sowie die Durchmischung von Molekülen stehen in Abhängigkeit zur Diffusionsgeschwindigkeit und können anhand des Teilchenmodells und der Arrhenius-Gleichung beschrieben werden (Atkins und Paula 2013). Dies zeigt sich im Diffusionskoeffizienten (Formel 3) des ersten Fick'schen Gesetzes. Die Diffusionsgeschwindigkeit (D) steht in Abhängigkeit von der maximalen Diffusion (D_0), der Aktivierungsenergie (E_A) – die benötigt wird, damit eine Diffusion stattfinden kann – der universellen Gaskonstante (R) sowie der Temperatur (T).

$$D = D_0 \times \exp \frac{-E_A}{RT} \quad (3)$$

Ein Anstieg der Temperatur erhöht die Beweglichkeit und Diffusionsgeschwindigkeit der sich mischenden Moleküle. Ein angestrebtes Gleichgewicht der sich bewegenden Molekülanteile kann sich aufgrund einer erhöhten Diffusionsgeschwindigkeit schneller einstellen. Dieser Grundsatz der physikalischen Chemie gilt ebenso für Migrationsprozesse der Aromastoffe in der Polymermatrix. Mannheim et al. zeigten in ihrer Studie, die Abhängigkeit der Migration von Limonen anhand der Temperatur. Betrachtet wurde eine Lagerung über 21 Tage bei 15 °C, 25 °C sowie 35 °C (Abbildung 5). Innerhalb der ersten Tage zeigte sich eine starke Abnahme des Aromastoffes in der Modelllösung, welche in Abhängigkeit der Temperatur variierte. Eine erhöhte Lagertemperatur von 35 °C zeigte einen Anstieg in der Abnahme des hydrophoben

Aromastoffs. Der Gleichgewichtszustand am Ende der 21 Tage, in dem ca. 20 % der Limonen Konzentration in der Modelllösung verblieben und der Hauptanteil von 70–80 % in den Polymerwerkstoff migrierte, stellte sich bei einer erhöhten Lagertemperatur von 35 °C früher ein (Mannheim et al. 1987). Bei der Untersuchung der Absorptionsraten von zehn einzelnen Aromastoffen in sechs unterschiedlichen Polymer Verpackungsmaterialien konnte ein vergleichbarer Trend aufgezeigt werden. In Abhängigkeit der Lagertemperatur von 4 °C sowie 40 °C konnte keine Differenz in der maximalen Aromastoffabsorption im Zeitraum von 28 Tagen aufgezeigt werden. Die Absorptionsrate der Aromastoffe zeigte hingegen eine starke

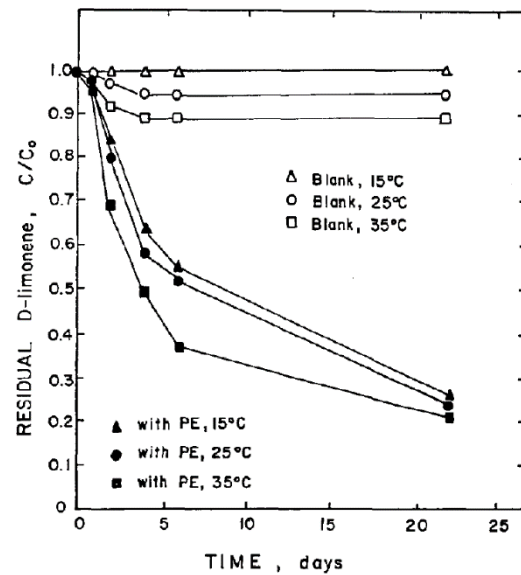


Abbildung 5. Zeitlicher Verlauf der Limonen Konzentration in einer Modelllösung die Kontakt zu einem PE Film hatte (Grafik entnommen aus Mannheim et al. 1987)

Abhängigkeit von der Temperatur (van Willige et al. 2002). Leufvén und Stöllman untersuchten in einer Permeationszelle, bestehend aus zwei Kammern, die durch einen Polymerfilm getrennt wurden, den Temperatureinfluss von 4 °C, 20 °C und 80 °C auf den Löslichkeits-, den Diffusions- und den Permeabilitätskoeffizienten von vier Aldehyden in den Polymerfilm. Mit steigender Temperatur konnten sie eine Zunahme im Diffusionskoeffizienten der Aldehyde aufzeigen, während der Permeabilitätskoeffizient sich nicht veränderte (Leufvén und Stöllman 1992). Hohe Abfülltemperaturen von bis zu 85 °C, wie es bei Säften zur Produktsterilisation während der Abfüllung üblich ist, sind hingegen in der Weinabfüllung aufgrund der Weinstabilität basierend auf einem hohen Alkoholanteil, einer durchgeführten Sterilfiltration sowie des zugesetzten SO₂ nicht notwendig. Lediglich während eines Produktwechsels treten während der Reinigung hohe Temperaturen in einem Reinigungsschritt mit Heißwasser bzw. heißer Lauge sowie im abschließenden Dämpfen zur Sterilisation der Anlage auf. In den meisten Fällen wird eine Abfülltemperatur bei Wein zwischen 10 °C und 20 °C gewählt. Dabei ist zu beachten, dass niedrige Abfülltemperaturen von 10 °C zu Kondenswasser auf den Flaschen führen und so das direkte Etikettieren der Flaschen erschwert. In Anbetracht der vorliegenden Abfülltemperaturen der aromatisierten weinhaltigen Getränke, der Stillweine und Schaumweine, treten Absorptions- und Migrationsprozesse der Aromastoffe in niedrigen Raten auf und können nicht weiter anhand der Temperatur verändert werden. Dagegen kann die Migration der Aromastoffe während der Reinigung durch erhöhte Reinigungstemperaturen beeinflusst werden. Der Umfang dieser Einflussfaktoren in Reinigung auf die absorbierten Aromastoffe war Teil dieses Forschungsprojektes und wird in Abschnitt 6.3 weiter betrachtet.

4.3.4 Polymerwerkstoff

Neben den Einflussfaktoren wie der Temperatur und der Lebensmittelmatrix beeinflusst die Polymermatrix die Aromastoffabsorption. Polymere Werkstoffe lassen sich anhand ihrer mechanischen Belastung in Thermoplasten, Duroplasten und Elastomere aufteilen (Abbildung 6). Die Molekülketten der Duroplasten und Elastomere sind entgegen derer von Thermoplasten untereinander verschieden stark vernetzt. Die Materialeigenschaften der Polymergruppen unterscheiden sich dabei gravierend und resultieren in unterschiedlichen Anwendungsbereichen. Während Elastomere flexible Polymerwerkstoffe sind, die ihre Form reversibel verändern können, sind Thermoplasten und Duroplasten starre Werkstoffe. Lediglich in erhöhten Temperaturbereichen sind Thermoplasten formbar und werden bei Temperaturabsenkung wieder starr (Abts 2018). Diese Zustände können anhand der Glasübergangstemperatur und Schmelztemperatur beschrieben werden. Oberhalb der Schmelztemperatur fließen die Polymerwerkstoffe. Ein Absenken der Temperatur kann zu einer Zusammenlagerung der Molekülketten und Ausbildung teilkristalliner Strukturen führen und das Material verhält sich überwiegend zäh (Tabelle 3). Sinkt die Temperatur weiter ab, erstarren die amorphen (nicht kristallinen) Bereiche im Polymer und es entsteht ein sprödes, steifes Material (Brinkmann und Schmachtenberg 2013). Wissenschaftliche Studien die in Tabelle 2 aufgelistet sind, untersuchten Migrationsprozesse überwiegend in gängigen Verpackungsmaterialien, bestehend aus thermoplastischen Kunststoffen wie beispielsweise Polyethylen und Polyethylenterephthalat. Elastomere Werkstoffe können sequenziell aus teilkristallinen Polymerbereichen aufgebaut werden. Eine derartige Präsenz von teilkristallinen Bereichen resultiert jedoch in einer Einschränkung der Elastizität des Werkstoffes. Dichtungselastomere, welche unter anderem eine hohe Rückstellkraft benötigen, um nach einer Verformung wieder in ihre ursprüngliche Form zurückzukommen, besitzen in der Regel eine amorphe Polymerstruktur. Einzelne anwenderorientierte Studien betrachteten vereinfacht das Migrationsverhalten und Aromaverschleppungsrisiko in gängigen Dichtungsmaterialien aus Ethylen-Propylen-Dien-Kautschuk (EPDM), gesättigtem bzw. ungesättigtem Nitril-

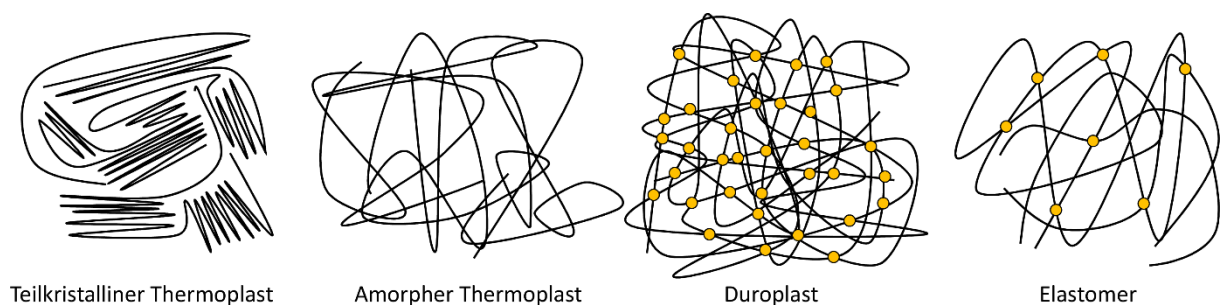


Abbildung 6. Molekülstruktur von teilkristallinen und amorphen Thermoplasten, Duroplasten und Elastomeren. Kettenvernetzungen mit gelben Punkten dargestellt (modifiziert nach Abts 2018).

Tabelle 3. Glasübergangstemperatur und Schmelzpunkt einzelner Polymerwerkstoffe¹

Polymer Werkstoff		Polymerart	Glasübergangstemperatur (T _g) [°C]	Schmelzpunkt (T _m) [°C]
EPDM	Ethylen-Propylen-Dien-Kautschuk	Elastomer	-40	150
FKM, FFKM	Fluorkautschuk	Elastomer	-20	200–330
NBR, HNBR	Nitrilkautschuk	Elastomer	-40–2	120–150
PE	Polyethylen	Thermoplast	-20	136
LDPE	low density Polyethylen	Thermoplast	-30	110
LLDPE	linear low density Polyethylen	Thermoplast	-110	120–130
HDPE	high density Polyethylen	Thermoplast	-110	130
PET	Polyethylenterephthalat	Thermoplast	98	255
PA	Polyamid	Thermoplast	35	220–260
PP	Polypropylen	Thermoplast	0–10	160–170
EVOH	Ethylen-Vinylalkohol Copolymer	Thermoplast	66	160

¹ van Willige et al. 2002; Rinnbauer 2007; Röthemeyer und Sommer 2013; Brinkmann und Schmachtenberg 2013

Butadien-Kautschuk (HNBR und NBR) und fluorbasierter Kautschuk (FKM) (Eckstein 2011; Vetter 2012; Freund und Seckler 2016; Beierle et al. 2020). Im Versuchsaufbau wurden Dichtungsringe bis zu 72 h in aromatisiertem Wasser gelagert, anschließend gereinigt und ein weiteres Mal in Wasser eingelegt. Vetter (2012) untersuchte das letzte Einlegewasser auf einen sensorisch relevanten Übertrag der Aromastoffe in einem sensorischen Dreieckstest. Hierbei zeigte sich, dass eine sensorisch signifikante Verschleppung seltener für FKM-Dichtungen auftritt als für EPDM-Dichtungen. Beierle et al. (2020) wählten einen vergleichbaren Versuchsaufbau und zeigten ebenfalls, dass ein Aromaverschleppungsrisiko durch fluorbasierte Kautschuke reduziert wurde. Diese Daten werden zwar mit analytischen Werten untermauert, dennoch werden keine Informationen zu den Analysemethoden bereitgestellt. Durch den hohen Preisunterschied bis zu einem Faktor 10 der FKM-Dichtungen und dem limitierten Anwendungsbereich in statischen Dichtungen wird der Einsatz der EPDM-Dichtungen in Füllanlagen bevorzugt (Freund 2022).

Materialeigenschaften der Elastomere treten bei den Anwenderstudien in den Hintergrund, während in einem vergleichbaren Themenbereich Forschungsgruppen die Migration in Verpackungsmaterialien aus Thermoplasten auf einer molekularer Ebene betrachten. Grundlegend sind Migrationsprozesse in der Polymermatrix von der chemischen Zusammensetzung, der Herstellungsart, der Ausrichtung der Polymerstränge und resultierenden Kristallinität, dem freien verfügbaren Volumen, der Polarität, der Verknüpfungsrates sowie den verwendeten Hilfsstoffen im Werkstoff beeinflusst (Miller und Krochta 1997). Ein Polaritätseffekt des Polymers konnte bei der Betrachtung der beiden

Polymere ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) und linear low density Polyethylen (LDPE), welche sich in ihrer Polarität stark unterscheiden, für 12 Aromastoffe aufgezeigt werden. Dieser Effekt verstärkte sich mit der Polaritätsabnahme der Aromastoffe und zeigte einen maximalen Unterschied um den Faktor 33 höheren Absorption in das unpolare LDPE des unpolaren Aromastoffs Dodecanal (Fukamachi et al. 1996). Die Transportprozesse im Polymer finden überwiegend in der amorphen Phase des Polymers statt. Infolgedessen wird davon ausgegangen, dass hohe Kristallitanteile im Polymer das Migrationsverhalten der Aromastoffe herabsenken könnte (Miller und Krochta 1997; Sajilata et al. 2007). Die Anordnung der Makromolekülketten beeinflusst die Kristallisationsbildung im Polymer. Eine unstrukturierte, unregelmäßige Anordnung der Molekülketten bildet eine überwiegend amorphe Struktur aus, während eine regelmäßige Anordnung zu einer Kristallitbildung führt. Die intermolekulare Anlagerung der Molekülketten wird durch voluminöse Seitenketten des Makromoleküls negativ beeinflusst, weshalb lineare Polymerstrukturen bevorzugt zur Kristallisation neigen (Abts 2018). Ausgebildete kristalline Strukturen treten beispielsweise bei Thermoplasten aus Polyethylen auf, weshalb diese in amorphe und teilkristalline (Kristallinität 10–80 %) Thermoplasten aufgeteilt werden. Mit einem zunehmenden Ethylen-Anteil (55–65 %) in einem EPDM-Kautschuk werden Störstellen in den Seitenketten der Molekülstruktur reduziert und teilkristalline Strukturen im Elastomer ausgebildet. Ab einem Ethylen-Anteil über 65 % bilden sich größere kristalline Bereiche aus und das Polymerverhalten ähnelt dem der thermoplastischen Elastomere (Röthemeyer und Sommer 2013). Fluorbasierte Elastomere zeigen aufgrund der hohen Bindungsenergie der Kohlenstoff-Fluor-Bindung eine hohe thermische und chemische Stabilität. Die lineare Molekülstruktur führt ebenfalls zu teilkristallinen Polymeren mit hohen Schmelzpunkten. In der Untersuchung des Absorptionsverhaltens von Limonen wurde eine um den Faktor zwei höhere Absorption für das niedrig kristalline LDPE (Kristallinität 20 %) im Vergleich zu den hoch kristallinen Polymeren Polypropylen (PP) und HDPE (Kristallinität 40 %) aufgezeigt (Charara et al. 1992). Nielsen et al. untersuchten das Verhalten von zehn Aromastoffen gegenüber fünf Polymerfolien und konnte eine Abnahme der Absorption für die polaren Polymere PET und PA aufzeigen. Die Polymere PET und Polyamid (PA) zählen zu den wenigen Polymeren, deren Glasübergangstemperatur unterhalb der Raumtemperatur liegt (siehe Tabelle 3). Entgegen der Studie von Charara et al. wurde eine höhere Absorption für zehn Aromastoffe in eine PP-Folie im Vergleich zu den zwei Polyolefinen LDPE und LLDPE aufgezeigt (Nielsen et al. 1992). Die erhöhte Aromastoffaufnahme des PP widerspricht auf den ersten Blick der vorherigen These. Ein Erklärungsansatz kann in der Variation der Kristallinität des Polypropylens bestehen. Der Kristallinitätsgrad steht in Abhängigkeit der sterischen Anordnung der Methylen-Polymerseitenkette (Taktizität). Die räumliche Anordnung der Seitenketten wird in drei Konformationsanordnungen unterteilt (Abbildung 7), eine zufällige Abfolge (ataktisch), eine

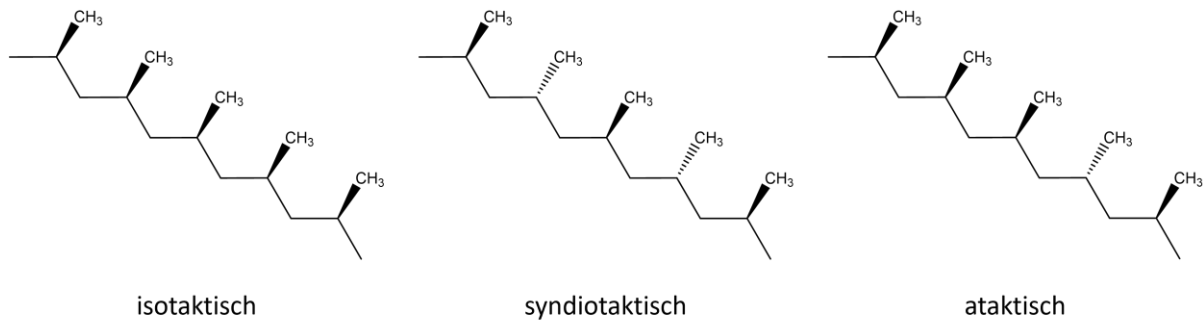


Abbildung 7. Räumliche Anordnung der Polypropylen Methyl-Seitengruppe

sich identisch wiederholende Abfolge (isotaktisch) und eine alternierende Abfolge (syndiotaktisch). Die Kristallisation wird maßgeblich durch die Möglichkeit der Anlagerung der Molekülstränge beeinflusst. Isotaktische Polymerketten ermöglichen eine einfache Zusammenlagerung der Molekülketten. Syndiotaktische und ataktische Molekülketten beschränken sich hingegen in einer Zusammenlagerung auf Nachbarseitenketten, die eine komplementäre Struktur aufweisen – was das Kristallisationsverhalten herabsenkt (Seiffert et al. 2020). Die Kristallinität des überprüften Polypropylens wurde jedoch nicht weiter von den Autoren untersucht (Nielsen et al. 1992), weshalb an dieser Stelle nur Vermutungen über das Absorptionsverhalten des betrachteten Polypropylens aufgestellt werden können. Die Untersuchung der Migration von Gasen auf einer molekularen Ebene im Polymernetzwerk, erweiterte den Erklärungsansatz der Migrationsprozesse. Budd und McKeown (2010) beschreiben die Migration in Abhängigkeit des freien Volumens im Polymer (Budd und McKeown 2010). Die Geschwindigkeit des Diffusionsprozesses steht in Abhängigkeit des Verhältnisses zwischen der Molekülgröße sowie dem Umfang des freien Volumens im Polymer, welches stark abhängig von der vorliegenden Temperatur ist und die Diffusionsprozesse direkt beeinflusst (Stannett 1968). Eine Abnahme des freien verfügbaren Volumens durch einen Füllstoffzusatz senkte die Permeabilität des Polymers für Helium, CO₂ und CH₄ (Maeda und Paul 1987). Elastomeren werden Füllstoffe zugesetzt um angestrebte, oftmals mechanische Materialeigenschaften, zu erreichen. Füllstoffe, die kleine Partikelgrößen aufweisen, zeigen aber auch einen Einfluss auf die Struktur der ausgebildeten Polymermatrix und können daher die Absorption beeinflussen (Barrer 1968).

4.3.5 Einflussfaktor der Reinigung

Reinigungssequenzen in Weingütern und Kellereien fokussieren sich primär auf die oberflächliche Entfernung der organischen und anorganischen Rückstände von Wein sowie auf die Sterilisation der Räumlichkeiten und der verwendeten Gerätschaften, um eine ungewollte mikrobielle Kreuzkontamination zu vermeiden (Bar-Am et al. 2012). Flaschenabfüllanlagen werden in der Regel in der gewählten Reinigungssequenz mit Kalt-

bzw. Heißwasser, alkalischen, sauren, ethanolischen sowie sterilisierenden Zusätzen durchspült. Zur abschließenden Sterilisation der Füllanlage wird eine 30 minütige Durchspülung mit 82 °C heißem Wasser oder trockenem Dampf empfohlen (Jacobson 2006). Aufgrund des hohen energetischen Aufwands und den daraus resultierenden Kosten einer Heißwasserspülung sind Alternativen wie Ozon, Peressigsäure und Chlordioxid zur Entfernung der Mikroorganismen gefragt (Bar-Am et al. 2012). Eine Automatisierung der durchgeführten Reinigung als geschlossenes System (*cleaning in place*, CIP) mit einer anschließenden Kontrolle der Reinigung und der Wiederverwendung der Reinigungsmedien findet vor allem in Großbetrieben Anwendung (Bremer et al. 2006; Moerman et al. 2014). Aus ökologischen und ökonomischen Erwägungen werden die Reduktion des Wasserverbrauchs, des Energieverbrauchs und die umfangreiche Anwendung von nicht biologisch abbaubaren Reinigern angestrebt (Pettigrew et al. 2015).

Trotz des real bestehenden Aromaverschleppungsrisikos, beispielsweise angesprochen im Jahresbericht des Landesuntersuchungsamts Mainz, existiert wenig Literatur, die sich mit dieser Thematik befasst (LUA 2014). Die zuvor diskutierten Einflussfaktoren, die eine Absorption der Aromastoffe beeinflussen, stehen vor allem in Abhängigkeit des Polymermaterials, der Konzentration der Aromastoffe und der Expositionsdauer. Nishijima et al. (2014) untersuchten den Reinigungseffekt auf die Aromastoffe Limonen, 1-Hexanol, Furfural und 4-Vinylguaiacol, die in EPDM-Dichtungen migrierten. Ein hoher Reinigungseffekt konnte für das 1-Hexanol (< 5 %) in einem 60-minütigen Heißwasserreinigungsschritt aufgezeigt werden, während die anderen Aromastoffe nach der Reinigung noch zwischen 33–60 % der Ausgangskonzentration vorlagen. Eine ausgeweitete Reinigung mit einer Gesamtdauer von 220 Minuten halbierte die Menge des absorbierten Limonens im EPDM. Im Rahmen der durchgeführten Studie wird ein vergleichbarer Reinigungseffekt in einem Reinigungsschritt mit Ozon-Wasser (2 mg/L) bei 20 °C beschrieben. Die Autoren führen die Abnahme der Aromastoffe auf die hohe Reaktivität des Ozons und der Oxidation der Aromastoffe zurück (Nishijima et al. 2014). Stadler et al. (2020) untersuchten den Ozon Einfluss in der Sterilisierung von Eichenholzfässern und konnten in einer 2-minütigen Reinigung keinen Einfluss auf die vorliegenden Aromastoffe im Holzfass aufzeigen. Anhand des Criegee-Mechanismus können Aromastoffe durch Ozon oxidiert werden (Sonntag und Gunten 2012). Die Reaktivität einzelner Oxidationsmittel hinsichtlich der absorbierten Aromastoffe in einer Polymermatrix wird im Rahmen dieser Arbeit in Abschnitt 6.3 betrachtet.

Invers zu den zuvor beschriebenen Einflussfaktoren, die eine Absorption in Verpackungsmaterialien beeinflussen, konnte mit einem steigenden Ethanolanteil (0–100 % v/v) eine erhöhte Desorption der absorbierten Aromastoffe aufgezeigt werden (Hwang et al. 2000). Des Weiteren erhöhte ein Anstieg der Temperatur von 20 °C auf 60 °C die Desorption des *n*-Decanals. Die Autoren vermuteten, dass eine Absorption sowie Desorption durch die

Temperatur maßgebend beeinflusst wird (Hwang et al. 2000). Verpackungsmaterialien, die mehrere Lebensmittelzyklen durchlaufen, besitzen einer Untersuchung zufolge ein vergleichbares Aromamigrationsproblem (Nielsen et al. 1997). Ein 60-minütiger Waschzyklus von Mehrweg-PET-Flaschen mit 2 %iger Natronlauge bei 60 und 80 °C konnte nur Bruchteile der absorbierten Limonen Konzentration entfernen, die aus einem zuvor abgefüllten Orangensaft stammte. Ein weiterer Kontakt der PET-Flaschen mit Wasser zeigte einen Transfer von 300 µg/L Limonen, der die sensorische Wahrnehmungsschwelle (OT) in Wasser überschreitet (OT 200 µg/L) (Safa und Bourelle 1999; Buettner und Schieberle 2001). Ein derartiger Transfer kann zu einer Produktveränderung und zu Qualitätseinschränkungen führen.

Der etablierte Leitfaden zur Minimierung der Aromaverschleppung bei der Abfüllung von Wein erfordert, wie zuvor zur Sterilisation beschrieben, hohe Reinigungstemperaturen mit bis zu 85 °C (BMEL 2019). Die beschriebene Reinigungssequenz beginnt mit einer Tankleerung, gefolgt von einer Kaltwasserspülung (mind. 10 min), einer Heißlaugenspülung bei 60–85 °C (mind. 20 min), einer Heißwasserspülung bei 60–85 °C (mind. 15 min), einer Säurebehandlung zur Neutralisation und einer abschließenden Kaltwasserspülung (mind. 20 min). Im Weiteren wird im Leitfaden darauf hingewiesen, dass die Reinigung von vielen Faktoren wie Dauer, Temperatur, Reinigungsmittel abhängig ist. Eine Kontrolle der Reinigung hinsichtlich der Aromaverschleppung ist daher unerlässlich. Eine einfache Kontrolle der Reinigungseffizienz besteht in einem Vergleich des letzten Spülwassers gegen das ursprüngliche Leitungswasser in einem *2-out-of-5-test* (BMEL 2019). Der Vorteil dieses Unterschiedstestes besteht in der geringen Anzahl notwendiger Verkoster, die für signifikante Ergebnisse benötigt werden. Bereits mit drei Verkostern können signifikante Unterschiede im Spülwasser festgestellt werden (Lawless und Heymann 2010; Meilgaard et al. 2015). Eine signifikante Differenzierung des Spülwassers vom Leitungswasser zeigt einen sensorischen Übertrag der Aromastoffe an. Dies deutet auf eine unzureichende Reinigung hin, welche wiederholt, verlängert oder intensiviert werden muss. Solange die Spülwässer nicht differenziert werden können, wird aufgrund der erhöhten sensorischen Wahrnehmungssensibilität in Wasser, sowie den vergleichbaren Migrationsprozessen zwischen Wasser und Wein mit bis zu 15 % Vol. davon ausgegangen, dass keine sensorisch relevante Verschleppung von Aromastoffen in einen Wein stattfindet. Diese Umstände ermöglichen eine Einstufung analytisch erfasster auffälliger Aromastoffe als einen technischen unvermeidbaren Übergang die zwar analytisch nachweisbar sind, aber keinen sensorischen Einfluss auf das Produkt haben (BMEL 2019).

Aussagen hinsichtlich der Reinigungseffizienz der einzelnen Arbeitsschritte im Leitfaden hinsichtlich dem entfernten Aromastoffanteil aus Dichtungen können nicht getroffen werden, sodass bei einer nicht ausreichenden Reinigung Empfehlungen kritisch betrachtet werden müssen. Des Weiteren ist davon auszugehen, dass unterschiedliche aromatisierte Getränke

ein unterschiedliches Verschleppungsrisiko in der Abfüllung, bspw. in Abhängigkeit der Polarität der zugesetzten Aromastoffe und deren Verbleib nach einer Reinigung im Polymer, aufweisen. Dies hat zu Folge, dass die Reinigung und ihre ökonomische Effizienz von jedem Betrieb auf persönlichen Erfahrungen basiert (Changani et al. 1997; Basso et al. 2017). Eine detailliertere Betrachtung der Einflussfaktoren Dauer, Temperatur und Reinigungsmedien in einer Reinigungssequenz ist erforderlich, um risikoorientierte und in der Praxis umsetzbare Aussagen treffen zu können.

4.4 Analytik zur Bestimmung der Aromastoffe in Polymerwerkstoffen

4.4.1 Indirekte Analysemethoden

Unterschiedliche analytische Ansätze wurden gewählt, um das Migrationsverhalten der Aromastoffe in Polymerwerkstoffe zu untersuchen. Differenziert werden Analysemethoden mit einem direkten und einem indirekten quantitativen Ansatz. Indirekte Analysemethoden bieten in der Regel einfache Messmethoden, die eine Untersuchung in Abhängigkeit einer sich ändernden Kenngröße ermöglichen und korrelieren diese mit der Aromastoffmigration im Polymer. Trotz der hohen Anwendbarkeit der Methoden tritt ein großer Nachteil in den Vordergrund. Aufgrund der indirekten Messung der Migration der Aromastoffe in die Polymermatrix ist diese anfällig gegenüber äußeren Einflussfaktoren und weist daher eine hohe Fehleranfälligkeit auf. Die einfachste indirekte Analysemethode besteht in der Messung des Polymerquellverhaltens, welches anhand einer Volumen- sowie einer Gewichtsänderung erfasst werden kann. Das Quellverhalten wurde in den anwendungsorientierten Studien mit den jeweils betrachteten Aromastoffen korreliert (Eckstein 2011; Vetter 2012; Beierle et al. 2020). Als problematisch einzustufen ist, dass eine erfasste Polymerquellung nicht nur auf einem Ziel-Aromastoff beruht, wie beispielsweise dem untersuchten Limonen, sondern von weiteren Faktoren in der Modelllösung wie bspw. Ethanol beeinflusst wird. Des Weiteren limitiert die Empfindlichkeit der Messgeräte die Betrachtung der Massen- und der Volumenänderung maßgeblich.

Ein weiterer indirekter Ansatz besteht in der Überwachung der Aromastoffkonzentration in der Modelllösung bzw. dem Lebensmittel, welches in direktem Kontakt zur Polymermatrix steht. Eine Korrelation der Abnahme der Aromastoffe in der Lebensmittelmatrix und der Aufnahme in der Polymermatrix besitzt auch hier eine hohe Fehleranfälligkeit. Äußere Einflussfaktoren, wie eine Oxidation, eine Hydrolyse oder eine Verdampfung der Aromastoffe im Kopfraum müssen berücksichtigt und kontrolliert werden. Einzelne Einflussfaktoren, wie eine Oxidationsrate, können in Abhängigkeit der Versuchsparameter (z.B. Lagertemperatur) variieren. Der Konzentrationsverlauf des vorliegenden Limonens wurde von Mannheim et al. (1987) in einer der bereits beschriebenen Migrationsstudien in Orangen- und Grapefruitsaft

untersucht (Abbildung 5). Hervorzuheben ist hier die Notwendigkeit einer Blindwertmessung in einer indirekten Bestimmung der Aromastoffaufnahme, welche in dieser Studie, eine Abnahme (Oxidation) der Limonen Konzentration in Abhängigkeit der Lagertemperatur aufzeigt (15 °C – 0 %; 25 °C – 5 %; 35 °C – 10 %). Des Weiteren erfasste Mannheim et al. die Limonen Konzentration in den Säften nach einer Destillation anhand einer unspezifischen Bromat-Titration. Diese Titration beruht auf einer Reduktion des Bromats in saurer Lösung, während Reaktionspartner, wie z.B. Limonen, oxidiert werden (Scott und Veldhuis 1966). Eine Bromat-Titration oxidiert unspezifisch vorliegende Doppelbindungen in Molekülen und bietet daher eine hohe Störanfälligkeit für Matrixeinflussfaktoren und der Erfassung weiterer Aromastoffe.

Mit der Etablierung der Gas Chromatographie (GC) in den 1950er Jahren und dem steigenden analytischen Fortschritt etablierten sich fundierte Methoden zur Bestimmung der Aromakonzentration. Vorteile der GC Methoden beruhen auf der hohen Variabilität, die in Abhängigkeit der Fragestellung und Matrix angepasst werden können. Möglichkeiten in der Anpassung bestehen in der Probenaufgabe, die von einer Flüssiginjektion über ein *headspace* (HS) *sampling* im Falle von stark flüchtigen Komponenten bis hin zu einer Festphasenmikroextraktion (*solid phase microextraction*, SPME) reichen. Des Weiteren können sowohl Trägersäule, als auch der verwendete Detektor den Fragestellungen angepasst werden (Bartle und Myers 2002). Imai et al. untersuchten die Konzentration der drei Aromastoffe Limonen, Geranial und Neral in Abhängigkeit der Kontaktzeit zu einem Polymer. Die Autoren konnten in ihrer Studie zwar eine Übereinstimmung in der Wiederfindung der Limonen Konzentrationen anhand einer Bromat-Titration als auch der GC-Analysemethoden aufzeigen. Sie verdeutlichten jedoch, dass die Bestimmung anhand der GC-Methode deutlich einfacher, einen geringeren Zeitaufwand und eine deutlich höhere Spezifität für den betrachteten Aromastoff aufweist. Weiter erwähnen die Autoren, dass anhand einer GC Methode mehrere Aromastoffe parallel erfasst und quantifiziert werden können (Imai et al. 1990).

4.4.2 Direkte Analysemethoden

Äußere Einflussfaktoren, die zu einer fehlerhaften Bestimmung des Migrationsverhaltens der Aromastoffe führen, werden durch eine direkte Bestimmung der absorbierten Aromastoffe in der Polymermatrix eliminiert. Eine Fest-Flüssig-Extraktion der Aromastoffe aus einer festen Matrix, wie einem Polymerwerkstoff, wird in der Literatur als eine der häufigsten Analysemethoden beschrieben (Imai et al. 1990; Arora et al. 1991; Fukamachi et al. 1996; Peyches-Bach et al. 2012; Nishijima et al. 2014; Wietstock et al. 2016). Unterschiedliche Extraktionsmittel werden über die Studien hinweg verwendet. Limonen und weitere Aromastoffe wurden bei 50 °C mit Cyclohexan extrahiert (Charara et al. 1992), Aldehyde,

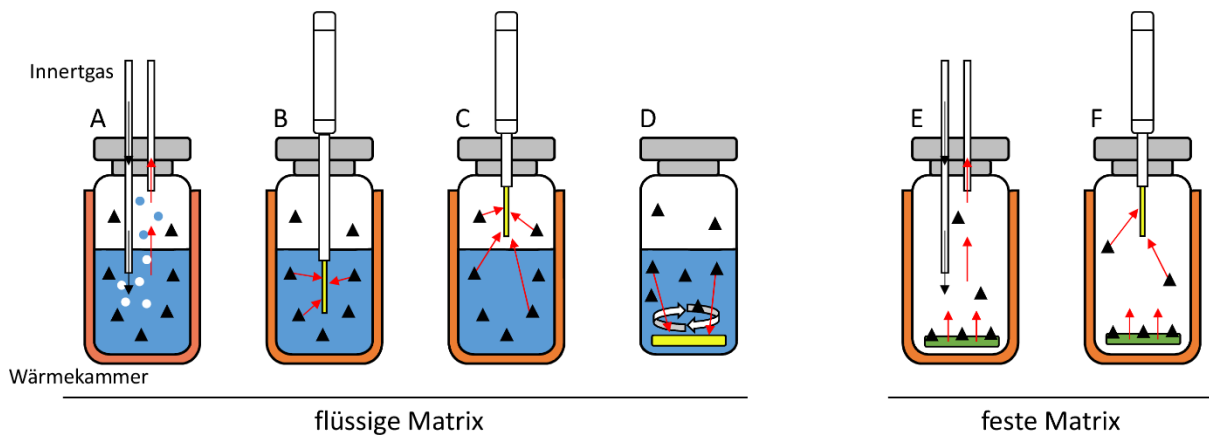


Abbildung 8. Prinzipien der Probenaufgabe für flüssige und feste Probenmatrices anhand von purge and trap (A, E), solid phase microextraction (SPME, B), headspace solid phase microextraction (HS-SPME, C, F) und stir bar sorptive extraction (SBSE, D) (modifiziert nach Weggler et al. 2020).

Ester, Ketone und Terpene wurden einerseits mit Dichlormethan (Arora et al. 1991; Peyches-Bach et al. 2012) und andererseits mit Diethylether extrahiert (Fukamachi et al. 1996; Wietstock et al. 2016). Nishijima et al. verwendeten je nach Aromastoff (Limonen, Furfural, 1-Hexanol und 4-Vinylguaiacol) Aceton, Dichlormethan sowie ein Gemisch aus Pentan und Diethylether (1:1) zur Extraktion. Je nach verwendetem Extraktionsmittel müssen die gewonnenen Extrakte weiter aufgereinigt, eingeengt sowie potenziell eingedampft werden, sodass die Zielkomponenten in einer hohen Konzentration in einem GC gängigen Lösungsmittel (Abhängig vom Siedepunkt und Dampfvolumen) vorliegen, um diese flüssig in einen GC injizieren zu können (Abel 1964).

Ein besonderes Extraktionsmittel in Fest-Flüssig-Extraktionen stellt superkritisches Kohlenstoffdioxid dar, welches beispielsweise zur Entkoffeinierung von Kaffee und Tee verwendet wird (Zabot 2020). Extraktionsvorteile des superkritischen Kohlenstoffdioxids sind umfangreich und beginnen in der Verwendung eines nicht-toxischen Lösungsmittels, das eine hohe Mobilität und Affinität für nicht-polare Zielkomponenten aufweist (Zougagh et al. 2004). Extrahierte Stoffe werden aufgrund der niedrigen Temperatur von 40 °C nicht thermisch beansprucht und nach Beendigung der Extraktion und mit dem abfallenden Druck verdampft das Kohlenstoffdioxid. So wird die Extraktion nahezu lösungsmittelfrei und die weitere Probenaufarbeitung vereinfacht (Zabot 2020). Nielsen et al. verglichen in einer ihrer ersten Absorptionsstudien das Extraktionsverhalten aus LDPE zwischen einer superkritischen Flüssig-Extraktion mit Kohlenstoffdioxid und einer Flüssig-Extraktion mit Dichlormethan. Während sich die Wiederfindung in beiden Extraktionen nicht unterschied, favorisierte die zeitliche Differenz von 30 Stunden sowie das niedrigere benötigte Probenvolumen eine Extraktion mit superkritischem Kohlenstoffdioxid. Die Autoren stufen die Extraktion mit superkritischem CO₂ als praktikabel ein und wendeten diese in ihren weiteren Studien an

(Nielsen et al. 1991; Nielsen et al. 1992; Nielsen 1994; Safa und Bourelle 1999).

Mit dem Hauptziel den Arbeitsaufwand, die Probenvorbereitung und den Lösungsmittelverbrauch in der Lebensmittel- und Umweltanalytik zu reduzieren wurden in den 1990er Jahren Mikroextraktionstechniken entwickelt (Weggler et al. 2020). So beschreiben Arthur und Pawliszyn (1990) erstmals die Anwendung einer SPME-Methode zur Bestimmung von drei flüchtigen chlorhaltigen organischen Kontaminanten aus dem Grundwasser. Differenziert werden Mikroextraktionstechniken, die einen direkten Kontakt zwischen der Extraktionsphase und der untersuchten Matrix aufweisen sowie einen indirekten Kontakt über den Kopfraum besitzen (Abbildung 8). Analyten reichern sich im Extraktionszeitraum aufgrund der adsorptiven Eigenschaft der verwendeten Extraktionsphase auf der Faser an und werden im Anschluss im GC-Injektor thermisch desorbiert. Nach einer gewissen Expositionsdauer erreicht die Konzentration der Analyten auf der Faser ein Gleichgewichtszustand mit der Umgebung. Das Einstellen des Gleichgewichtszustandes kann durch äußere Einflussfaktoren wie bspw. einem Aussalzen, einer Temperaturveränderung und einem Durchmischen beeinflusst bzw. beschleunigt werden (Fiorini et al. 2015). Ein direkter Kontakt zwischen Extraktionsphase und untersuchter Matrix beschränkt sich jedoch auf flüssige Matrices, wie Wasser und Wein. Eine direkte Immersion der Extraktionsfaser in der Polymermatrix ist jedoch nicht möglich. Ezquerro et al. (2003) untersuchten erstmals anhand einer Kopfraumextraktion mit einer HS-SPME-Methode flüchtige Aromastoffe die aus Polymermatrices in Lebensmittel migrieren und ein Fehl aroma auslösen. Im weiteren erforschten Licciardello et al. (2009) anhand der etablierten HS-SPME-Methode das Adsorptionsverhalten von Linalool und Ethyloctanoat. Aufgrund der niedrigen Desorptionstemperatur von 80 °C bzw. 100 °C, war die erste durchgeführte Extraktion nicht vollständig und Analyten verblieben in der Polymermatrix. Höhere Desorptionstemperaturen der Probenmaterialien können aufgrund der Extraktionsfaser und der notwendig niedrigen Temperatur zur Adsorption der flüchtigen Komponenten an die Faser (hohe Temperaturen führen zu einer erneuten Desorption der absorbierten Stoffe von der Faser) nicht angewandt werden. Eine mehrfache Desorption und Entnahme des Kopfraums (*multipleheadspace*, MHS) der gleichen Proben und eine Aufsummierung der Peakflächen in diesen Studien ermöglichte quantitative Beurteilungen. Eine Voraussetzung für die MHS-SPME besteht somit in der linearen Abnahme der Analyten in jeder durchgeführten Messung. Dies erfordert, dass das drei-Phasen Gleichgewicht zwischen Matrix, Kopfraum und Extraktionsfaser in jeder Messung für die Analyten erreicht wird (Ezquerro et al. 2003). Im Falle einer linearen Beziehung kann die Gesamtkonzentration in weiteren Proben anhand einer einzelnen Messung und der erfassten Steigung berechnet werden.

Eine weitere erschöpfende Probenaufgabe besteht in einer dynamischen *headspace* Technik (Abbildung 8 A). In dieser Analysemethode wird das Probengefäß mit Hilfe eines Inertgases

(z.B. Helium) durch- bzw. überspült (*purge*), flüchtige Komponenten werden auf einem Sorbens (*trap*) festgehalten und im Anschluss gesammelt auf ein GC-Analysesystem übertragen (Weggler et al. 2020). Lebossé et al. wendeten dieses Analyseprinzip in Ihren Studien an und verglichen dies mit einer Flüssig-Extraktion der Polypropylenfolien mit Pentan (Lebossé et al. 1997; Feigenbaum et al. 1998). Insgesamt wurden zur Bestimmung der aufgenommen Aromastoffe drei Extraktionen bei 40 °C durchgeführt. Bereits der erste Spülschritt extrahierte die flüchtigen Aromastoffe fast vollständig. In ihren Studien konnten die Autoren keine Unterschiede zwischen den beiden Methoden und der jeweiligen Wiederfindung der absorbierten Aromastoffe aus dem Orangensaft aufzeigen (Lebossé et al. 1997). Die Autoren heben jedoch hervor, dass das Hintergrundsignal des Polypropylens, welches mit steigender Temperatur zunimmt, einen Einfluss auf die Wiederfindung der Analyten haben kann. Eine direkte thermische Desorption der Proben ermöglicht Temperaturen bis 300 °C und erhöht die Extraktionsrate der Aromastoffe im ersten Desorptionsschritt, während zugleich das Hintergrundrauschen ausgehend vom Polymer zunimmt (Cavalli et al. 2003). Eine weit verbreitete, schnelle, standardisierte thermische Desorptionsmethode besteht in der VDA 278, die zur Bestimmung von flüchtigen Komponenten, die aus Polymerwerkstoffen emittieren in der Automobilindustrie angewendet wird (Verband der Automobilindustrie 2016). Je nach Fragestellung finden Abwandlungen dieser Methode ihre Anwendung auch in der Bestimmung von Aromastoffen in Feststoffmatrices. Hoffmann und Sponholz (1994) extrahierten 2,4,6-Trichloranisol (TCA) aus Korken, welches hauptverantwortlich für den Korkton in Weinen ist. Pfannkoch und Whitecavage (2000) verglichen die Sensitivität bei der Analyse von Basilikum anhand der drei Probenaufgaben von HS-SPME, *headspace sampling* und direkter Thermodesorption und konnten eine deutlich höhere Empfindlichkeit für die Thermodesorption gegenüber den Vergleichsmethoden aufzeigen. Lerch (2012) untersuchte Verpackungsmaterialien auf *leachables* anhand einer Thermodesorptionsmethode und konnte eine höhere Empfindlichkeit aufzeigen. Caner et al. (2004) verglichen erstmals mit Hilfe einer direkten thermischen Desorptionsmethode das Absorptionsverhalten von Limonen in unterschiedlichen Verpackungsmaterialien, wobei die Methodenentwicklung und -beschreibung in den Hintergrund trat. Eine detailliertere Betrachtung der Methodenentwicklung und Optimierung einer thermischen Desorptionsanalysemethode zur direkten Bestimmung der absorbierten Aromastoffe in Elastomeren Werkstoffen trotz des hohen Hintergrundsignals aufgrund der Dichtungsmaterialien war Teil dieses Forschungsprojektes und wird in Abschnitt 6.2 weiter beschrieben.

4.4.3 Interner Standard

Unter den betrachteten Analysemethoden und der jeweiligen Probenaufbereitung sowie Probenaufgabe treten einzelne Vorteile der Methoden in der Empfindlichkeit, Robustheit und

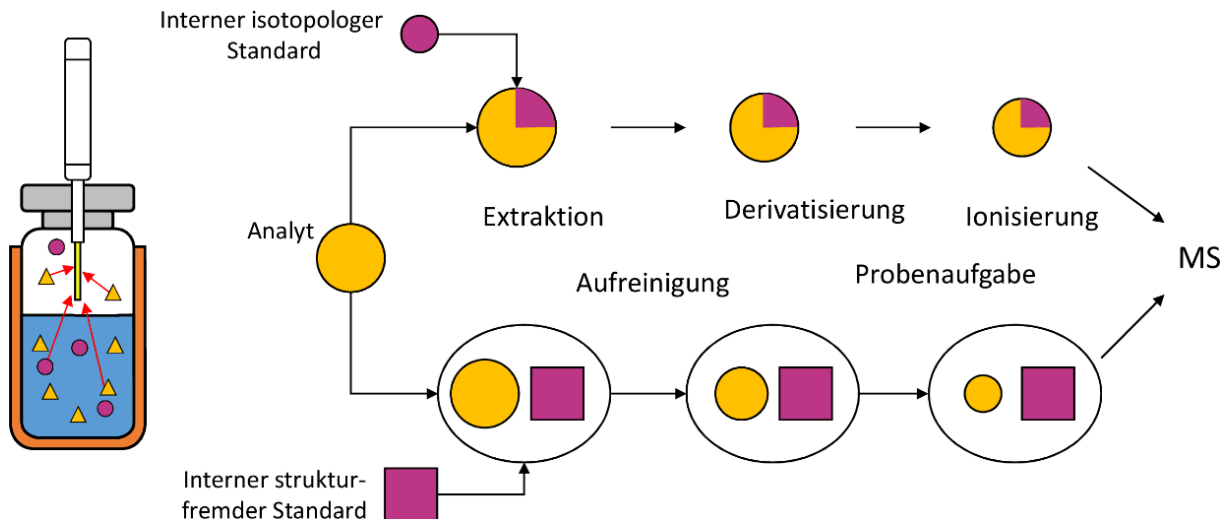


Abbildung 9. Prinzip der Stabilisotopenverdünnungsanalyse hinsichtlich dem Verhältnis zwischen isotopologem Standard und Analyt sowie einem struktur-fremden Standard und Analyt (modifiziert nach Rychlik und Asam 2008).

im Probenhandling in den Vordergrund. Probenverluste in quantitativen Analysen während der Aufarbeitung der Proben können über interne Standards in der Lebensmittel- und Umweltanalytik kompensiert werden (Sweeley et al. 1966; Schieberle und Grosch 1987; Semmelroch et al. 1995). Eine Kompensation ist jedoch nur dann möglich, wenn sich der verwendete Standard und der Analyt nach Möglichkeit ähneln bzw. sogar in ihren Eigenschaften der Stabilität, Extraktion und Ionisierung identisch verhalten (siehe Abbildung 9). Der beste interne Standard besteht in einem Analyten, welcher mit Isotopen wie Deuterium [^2H], Kohlenstoff [^{13}C], Sauerstoff [^{18}O] oder Stickstoff [^{15}N] markiert wurde. Stabile Isotopen sind hierbei von essenzieller Bedeutung. Während Deuterium-Markierungen [^2H] einfach an Heteroatomen und Aromaten einzubringen sind, besitzen diese allerdings ein hohes Risiko unter sauren Bedingungen durch Protium [^1H] ausgetauscht zu werden (Rychlik und Asam 2009). Stabilere Markierungen bieten [^{13}C] und [^{15}N], während der natürliche Anteil der Isotopen von etwa 1,1 % bzw. 0,2 % einen höheren Fehler gegenüber Deuterium mit 0,015 % in der Analyse birgt. Isotopen Effekte, wie eine chromatographische Auftrennung müssen aufgrund der erhöhten Masse (je Deuterium-Markierung m_A+1), insbesondere bei hohen Anteilen von Deuterium, bedacht werden (Rychlik und Asam 2008). Die Zugabe des stabilen markierten internen Standards verdünnt das natürliche Isotopenmuster des Analyten, weshalb dies auch „Stabilisotopenverdünnungsanalyse“ (*stable isotope dilution assay*, SIDA) genannt wird. Die Zugabe des internen Standards erfolgt vor beginnender Probenaufarbeitung und kompensiert Verluste während der Aufarbeitung, der Derivatisierung und der Ionisierung und stellt somit eine Prozesskontrolle dar. Dichtungen stellen an diesem Punkt gegenüber einer üblichen Matrix der Lebensmittel- bzw. Umweltanalytik eine neue Herausforderung dar. Entgegen einer beispielhaften flüssigen Weinmatrix oder festen Gemüsematrix kann eine

Polymermatrix aufgrund des hohen Vernetzungsgrades nicht ohne weiteres zerkleinert werden. Ein Einbringen des internen Standards in die Polymermatrix zur Kontrolle des Extraktionsverhaltens der Zielkomponenten ist daher nicht möglich. Somit sind direkte Analysemethoden zielführend, die nach Möglichkeit keine Verluste der Zielkomponenten während der Probenvorbereitung aufweisen. Hierzu zählen insbesondere vollständig erschöpfende Probenvorbereitungen wie eine dynamische *headspace* oder thermische Desorption, die innerhalb einer Analyse den vollständigen Umfang der Analytkonzentration erfassen. Dennoch empfiehlt sich die Verwendung eines internen Standards zur Kontrolle des Messsystems auf fehlerhafte Probenläufe. In der Wahl des internen Standards muss jedoch das hohe Hintergrundsignal der Polymermatrix berücksichtigt werden, eine Koelution des internen deuterierten Standards und des Analyten kann sich problematisch auf die Auswahl an selektiven Ionen auswirken.

4.5 Bestimmung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe

Ein Verschleppen von Aromastoffen aus einem aromatisierten weinhaltigen Getränk in einen nachfolgenden Wein, welcher keinen sensorischen Einfluss auf das Produkt hat, sollte anhand des Leitfadens zur Minimierung der Aromaverschleppung als technisch unvermeidbarer Übergang eingestuft (BMEL 2019). Die notwendige Beurteilung des potenziell vorliegenden sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe stellt Untersuchungsämter und die Weinkontrolle, wie in Abschnitt 4.2 beschrieben, vor neue komplexe Aufgaben. Sensorische Analysemethoden werden üblicherweise in Forschungs- und Entwicklungsprojekten zur Untersuchung, Bewertung und Interpretation der ausgelösten Stimuli ausgehend von Lebensmitteln herangezogen (Lesschaeve 2007). Im Zuge der Beurteilung von Wein finden sensorische Methoden Anwendung, wie zum Beispiel eine deskriptive Analyse (DA) zur Erforschung der Herkunft von Fehltonen wie dem Korkton (2,4,6-Trichloranisol, TCA), der Petrolnote (1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalin, TDN) oder einer untypischen Alterungsnote (2-Aminoacetophenone). Weiter erfolgt anhand sensorischer Methoden eine Charakterisierung von Leitaromastoffen in Sauvignon Blanc und Gewürztraminer wie 4-Mercapto-4-methyl-2-pentanone (Buchsbaum, Passionsfrucht) und *cis*-Rosenoxid (blumig) (Guth 1997b; Hoenicke et al. 2002; Prescott et al. 2005; Ziegler et al. 2019).

Zur Bestimmung der aromaintensivsten Komponenten eines Weines, werden Aromaextrakt Verdünnungsanalysen (*aroma extract dilution analysis*, AEDA) herangezogen (Tominaga et al. 2000; Dunkel et al. 2014). Zu den aromaintensivsten Komponenten zählen insbesondere Aromastoffe mit einem sehr niedrigen Wahrnehmungsschwellenwert (*odor detection threshold*, OT), wie 4-Mercapto-4-methyl-2-pentanone (OT 0,1 ng/L Wasser). Für diese Analysen werden Aromaextrakte bis zu einem Faktor 1000 verdünnt und das komplexe Aromagemisch durch Gas Chromatographie-Olfaktometrie (GC-O) Methoden aufgetrennt. Die

intensivsten Aromastoffe können so einzeln und unabhängig von störenden Faktoren anhand des Geruchsinns bestimmt werden (Francis und Newton 2005). Eine AEDA vernachlässigt jedoch Matrixeinflüsse, wie den Ethanol-Anteil, der die Verteilung der Aromastoffe im Wein sowie Kopfraum und die geruchliche Wahrnehmung maßgebend beeinflusst. Eine statische Extraktion des Kopfraums (*headspace*) eliminiert das Problem der Matrix und tritt näher an eine geruchliche Wahrnehmung heran als eine AEDA (Guth 1997a). Auch in diesem Fall werden die Aromastoffe aufgrund der Wechselwirkung mit der stationären Phase chromatographisch aufgetrennt und einzeln

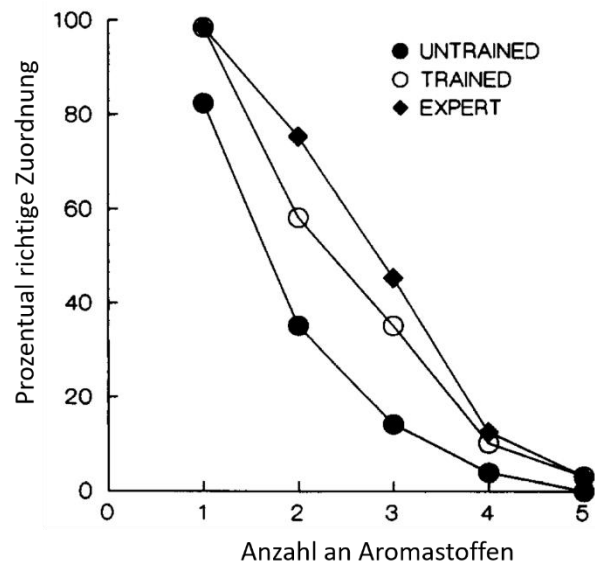


Abbildung 10. Prozentual richtige Zuordnung einzelner Aromastoffe in einer Mischung mit bis zu fünf Aromastoffen von untrainierten, trainierten Verkostern sowie Experten (Grafik entnommen aus Laing 1994).

hinsichtlich ihrer sensorischen Intensität beurteilt. Bewertungen dieser Art vernachlässigen die natürliche Wahrnehmung der Aromastoffe als „Aromacocktail“ mit den komplexen Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen. Diese können die Wahrnehmung stark beeinflussen und werden in Abschnitt 4.5.2 weiter erörtert (Ferreira 2010; Dunkel et al. 2014). Eine direkte sensorische Betrachtung umgeht die zu berücksichtigenden Matrixprobleme und bietet ein umfangreiches analytisches Instrument, das reproduzierbare, akkurate, empfindliche und wiederholbare Daten liefern kann (Lesschaeve 2007). Die menschliche Wahrnehmung des Aromagemisches besteht nicht nur aus der Addition der einzelnen Gerüche der Aromastoffe. Viel mehr bildet sich ein neuer Gesamtgeruchseindruck aus, der sich nicht direkt aus den einzelnen Geruchswahrnehmungen der Aromastoffe abbilden lässt. Dieser Umstand ist darauf zurückzuführen, dass der Mensch nicht in der Lage ist, mehr als drei bis vier Geruchseindrücke voneinander zu differenzieren, zu identifizieren und zu beschreiben (Laing und Francis 1989). Laing untersuchte dazu die Erkennung einzelner Aromastoffe in einem Aromagemisch mit bis zu fünf Aromastoffen. Der Autor konnte zeigen (Abbildung 10), dass unabhängig von der sensorischen Erfahrung des Verkosters eine Identifizierung von mehr als drei Aromastoffen in einem Gemisch nicht möglich war. Ein gezieltes Abfragen eines einzelnen Aromastoffes erzielte hingegen eine 100 %ige Zuordnung des Aromastoffes durch trainierte Panellisten und Experten (Laing 1994).

Der in den Studien erfragte sensorische Beitrag eines Aromastoffes kann geruchlich erfasst werden, sobald die Konzentration des Aromastoffes die orthonasale Wahrnehmungsschwelle überschreitet. Der *American Society for Testing and Materials* (ASTM) zufolge ist der

Wahrnehmungsschwellenwert als die niedrigste Konzentration eines Stoffes in einem Medium definiert, die benötigt wird, um einen Wahrnehmungsstimulus auszulösen. Dieser Stimulus reicht jedoch in den meisten Fällen noch nicht zur Erkennung bzw. Zuordnung zu einem Geruch aus (ASTM 2004b). Der sensorische Betrag eines Aromastoffes lässt sich vereinfacht anhand des Aromawertes (*odor activity value*, OAV) ausdrücken. Dieser Aromawert errechnet sich aus dem Quotienten der Aromastoffkonzentration in einem Gemisch und dem Wahrnehmungsschwellenwert für diesen Aromastoff (Formel 4). Ein Quotient größer eins indiziert einen sensorischen Beitrag des Aromastoffes zum sensorischen wahrgenommenen Profil in der betrachteten Matrix (Grosch 1993).

$$\text{Aromawert (OAV)} = \frac{\text{Konzentration Aromastoff}}{\text{Wahrnehmungsschwelle Aromastoff}} \quad (4)$$

4.5.1 Bestimmung der Wahrnehmungsschwelle

Die Bestimmung der Wahrnehmungsschwellenwerte von Aromastoffen zeigt, dass diese vom verkostenden Individuum zu Individuum über mehrere Größenordnungen hinweg variieren können. Der persönliche Schwellenwert eines Verkosters hängt von Faktoren wie dem Trainingsstand und der Tagesverfassung des Verkosters, der Gewohnheit bzw. der Bekanntheit des Aromastoffes (wie beispielsweise von Fehltonen) ab. Aber auch genetische Faktoren des Verkosters wie einer Anosmie, basierend auf der Abwesenheit von notwendigen Geruchsrezeptoren spielen eine Rolle. Dies führte in der Vergangenheit zur allgemein gängigen Faustregel, dass ein Wahrnehmungsschwellenwert eines Aromastoffes der Konzentration entspricht, bei der 50 % der Menschen einen Einfluss des Aromastoffes wahrnehmen können (Lawless und Heymann 2010). Schwellenwerte werden in Abhängigkeit des Trainingslevels des Panels eingeteilt in Verbraucher-, trainierte Verkoster- und Expertenschwellenwerte, die eine sensorische themenbezogene Ausbildung aufweisen. Nach der ASTM E679–04 erfolgt die Bestimmung des Schwellenwerts für Gerüche und Geschmäcker anhand eines *3-alternative-forced-choice* Tests (3-AFC test) (ASTM 2004b). Dem Panel werden hierbei Verkostungsreihen mit je drei Gläsern mit einer steigenden Konzentration des zu untersuchenden Aromastoffs von Reihe zu Reihe präsentiert. Eines der drei Gläser je Reihe ist eine abweichende Probe, die mit dem Zielaromastoff versetzt wurde. Der Verkoster muss angeben, welche der Proben ein abweichendes Aromaprofil aufweist. Der persönliche Schwellenwert des Verkosters liegt bei der Konzentration, ab welcher der Verkoster kontinuierlich die abweichende Probe richtig erkannte. Die Ratewahrscheinlichkeit liegt in jeder Reihe bei 33 %. Der allgemeingültige Schwellenwert errechnet sich über das geometrische Mittel aus den individuellen Schwellenwerten. Entsprechend ausführliche Methodenbeschreibungen sind in den gängigen Sensorik Büchern von Lawless und Heymann

(2010), Meilgaard et al. (2015) und der Referenzmethode ASTM E679–04 zu finden.

4.5.2 Matrixwechselwirkungen in der Bestimmung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe in Wein

Ein hoher Anteil der wissenschaftlich dokumentierten Schwellenwerte wurde überwiegend aufgrund von Vergleichbarkeit, Reproduzierbarkeit und einem Ausschluss von Störfaktoren in der Matrix in Wasser erfasst. Lediglich einzelne Forschergruppen untersuchten Schwellenwerte in einer Weinmatrix. Dies zeigt sich deutlich in der Literatursammlung von Schwellenwerten von van Gemert (2011) mit einer Referenz von 10040 Schwellenwerten von mehr als 2000 Aromastoffen. Der Großteil der zusammengetragenen Schwellenwerte wurde in Wasser erfasst (61 %), während die verbleibenden Referenzen sich auf andere Lebensmittelmatrices beziehen, unter denen sich lediglich 200 dieser Schwellenwerte (2 %) auf eine Weinmatrix beziehen. Der potenziell störende Einfluss in der Bestimmung der Wahrnehmungsschwelle der Aromastoffe ist jedoch von großer Bedeutung für die Bewertung der sensorischen Relevanz von verschleppten Aromastoffen in einem Wein. Der Alkoholanteil im Wein kann den Schwellenwert aufgrund der erhöhten Löslichkeit der Aromastoffe beeinflussen, wie beispielsweise für den fruchtigen Anthranilsäuremethylester (OT Wasser 7,7 µg/L; Modellwein 89,4 µg/L) oder für das 2-Aminoacetophenon das ein Teil der untypischen Alterungsnote in Wein ausmacht (OT Wasser 1,09 µg/L; Modellwein 5,56 µg/L) (Fischer et al. 1996; Perry und Hayes 2016). Aufgrund der fehlenden Matrixeffekte in Wein besitzt eine Erfassung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe anhand von Wahrnehmungsschwellenwerten, welche in einer standardisierten Lösung wie Wasser oder Modellwein bestimmt wurden, das Risiko einer fehlerhaften Interpretation bergen. Dies beruht auf der hohen Aromakomplexität mit mehreren Hundert flüchtigen Aromastoffen von denen bis zu 70 den Wahrnehmungsschwellenwert überschreiten und einen sensorischen Einfluss auf den Wein haben können (Ferreira 2010).

Wechselwirkungen mit weiteren Aromastoffen aus der Weinmatrix müssen daher für eine fehlerfreie Interpretation der sensorischen Relevanz berücksichtigt werden. Dies verdeutlichte exemplarisch eine Studie von Martineau et al. (1995) mit drei repräsentativen Rebsorten in der Bestimmung des Wahrnehmungsschwellenwertes der buttrigen Note von Diacetyl (2,3-Butandion). Hierzu untersuchten Martineau et al. mit demselben sensorischen Panel den Diacetyl Wahrnehmungsschwellenwert in einem „filigranen“ Chardonnay (OT 180 µg/L), einem „tanninhaltigen“ und „aromatischen“ Pinot Noir (OT 890 µg/L) sowie einem „aromatischen und voluminösen“ Cabernet Sauvignon (OT 2680 µg/L). Sowohl eine Beurteilung des sensorischen Einflusses anhand der Berechnung des Aromawertes in Wasser (3 µg/L) als auch in Modellwein (100 µg/L) führt zu fehlerhaften Interpretationen mit einem zu hohen Einfluss des Diacetyls in den drei Weinen (Schieberle und Hofmann 1997; Guth 1997b). Die

Komplexität eines Weines darf somit in der sensorischen Beurteilung nicht vernachlässigt werden (Bartowsky et al. 2002).

Hervorzuheben ist der hohe natürliche Anteil an Estern, organischen Säuren und Alkoholen oberhalb der Wahrnehmungsschwelle in Wein. Diese Aromastoffe sind Nebenprodukte des Aminosäure-Metabolismus der Hefen im Wein und entstehen während der Gärung. Diese Nebenprodukte der Hefen sowie das ubiquitär anwesende β -Damascenon im Wein bilden eine grundlegend fruchtige Matrix, die eine Wahrnehmung weiterer Aromastoffe erschwert (Escudero et al. 2004). Van der Merwe und van Wyk (1981) untersuchten den sensorischen Einfluss sieben einzelner Ester in einer Weinmatrix in Abhängigkeit ihrer Konzentration. Hierbei zeigten die Autoren, durch selektives Entfernen einzelner Ester in einem Wein, dass dessen einzelne Abwesenheit keinen signifikanten Einfluss auf die sensorische Qualität und Intensität des Weinaromas hatte. In der Charakterisierung des Aromaprofils eines Grenache Rosés durch ein selektives Entfernen von 18 einzelnen Aromastoffen (OAV 1,1–67), konnte lediglich für β -Damascenon, Isoamylacetat, Homofuraneol, Furaneol sowie für 3-Mercapto-1-hexanol – während das 3-Mercapto-1-hexanol als essentieller Hauptbestandteil des Aromaprofils des Grenache bewertet wurde – aufgezeigt werden (Ferreira et al. 2002). Im Weiteren charakterisierte die Arbeitsgruppe um Ferreira einen Maccabeo Weißwein mit einem vergleichbaren Ansatz. In dieser Studie führte die sensorische Abwesenheit von 21 Aromastoffen, welche zuvor als relevant eingestuft wurden (15 der Aromastoffe mit einem OVA > 1), lediglich für sieben Aromastoffe zu einer sensorischen Relevanz (Escudero et al. 2004). Des Weiteren konnten die Autoren zeigen, dass ein hoher Aromastoffzusatz von bis zu 300 mg/L einzelner Ester, Fettsäuren und Alkohole nötig war, um einen sensorischen Einfluss auszulösen. Dieses komplexe Phänomen der Wahrnehmung beschreibt Ferreira (2010) anhand eines Weinaromapuffers, der aus einem Grundstock an Aromastoffen besteht, die während der Fermentation des Mostes gebildet werden. Ein Zusatz von Aromastoffen in einen Wein ist dann sensorisch wahrzunehmen, sobald dieser Aromapuffer durchbrochen wird. Aromastoffe, die sich beispielsweise aufgrund des charakteristisch abweichend ungewohnten Geruchs von Fehltönen deutlich sensorisch vom Puffer hervorheben können, durchbrechen diesen Aromapuffer leichter und zeigen keinen großen Unterschied zwischen den erfassten Schwellenwerten in Wasser, Modellwein sowie Wein auf. Dies konnte beispielsweise für TDN mit seinem Petrolgeruch (OT Wasser 1,1 $\mu\text{g/L}$; Modellwein 1,5 $\mu\text{g/L}$; Riesling 2,3 $\mu\text{g/L}$) und TCA mit seinem muffigen Korkton (OT Wasser 4,6 ng/L; Weißwein 6,7 ng/L; Rotwein 7,1 ng/L) aufgezeigt werden (Cravero et al. 2015; Ziegler et al. 2019).

Die sensorische Wahrnehmung der Aromastoffe in ihrer Intensität und ihren Deskriptoren steht in Abhängigkeit zu der Konzentration der Aromastoffe. Konzentrationen um den Wahrnehmungsschwellenwert binden sich subtil in das Aromaprofil des Weines ein. Ferreira (2010) beschreibt anhand von unveröffentlichten Daten die veränderte Wahrnehmung in

Abhängigkeit der Konzentration von einem subtilen fruchtigen Charakter des Isoamylacetats und der 2-Methylbuttersäure über einen grundbeitragenden Aromastoff hin zu einem charakteristischen Einflussaroma mit der Wahrnehmung von Bananen- bzw. Erdbeer-Aroma (Abbildung 11). Der Konzentrationsbereich der Wahrnehmung in Abhängigkeit des Aromaeinflusses erstreckt sich über zwei bis drei Größenordnungen oberhalb der Wahrnehmungsschwelle. Dieser sensorische Ansatz erklärt zu Teilen die gängige Handlungspraxis in der Aromatisierung weinhaltiger Getränke, in welcher Aromastoffe in Konzentrationsbereichen von mg/L zugesetzt werden, um charakteristische Aromausprägungen zu erreichen, die von allen Verbrauchern wahrgenommen werden können.

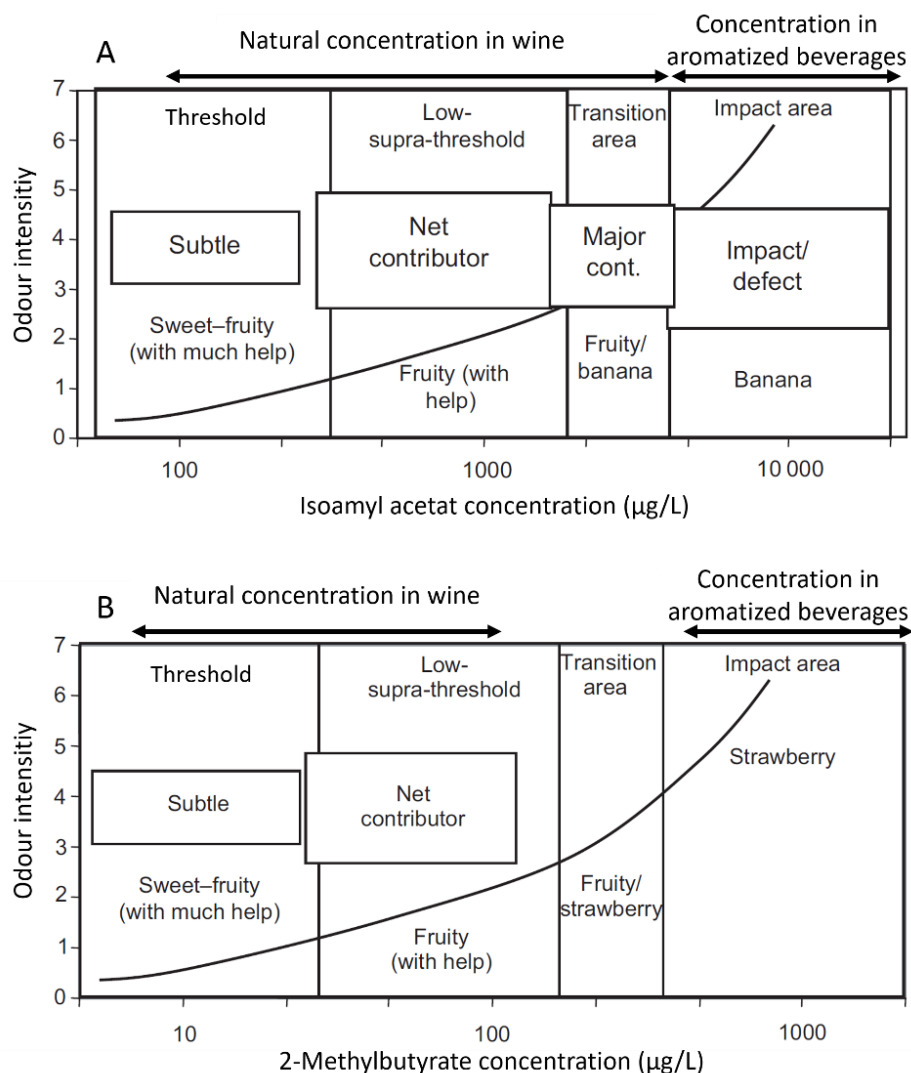


Abbildung 11. Geruchsintensität und Wahrnehmung der Aromastoffe Isoamylacetat (A) und 2-Methylbuttersäure (B) in Abhängigkeit der Konzentration (Grafik entnommen und modifiziert aus Ferreira 2010).

In Anbetracht der beschriebenen komplexen Interaktion zwischen der Weinmatrix und einzelnen Aromastoffen können keine direkten Schlussfolgerungen von analytisch erfassten

Konzentrationen auf eine Aromaverschleppung im Wein getroffen werden. Eine reine Bewertung des sensorischen Einflusses anhand von berechneten OAV-Werten auf der Basis von Wahrnehmungsschwellenwerten aus der Literatur, welche in Wasser erfasst wurden, ist daher stark in Frage zu stellen. Dahingegen umfasst eine reale Beurteilung des sensorischen Einflusses in einem Wein einen Arbeitsaufwand, der im Rahmen der Authentizitätskontrolle von Untersuchungsämtern nicht erbracht werden kann. Aus diesem Anlass werden Methoden benötigt, die einfach umzusetzen sind. Ein möglicher Ansatz zur Bestimmung des sensorischen Einflusses besteht in der Erfassung von relevanten Wahrnehmungsschwellenwerten einzelner Aromastoffe in einer realen Weinmatrix. Essenziell ist hierbei, dass es sich um einen Wein handelt, dessen Aromaprofil nicht zu stark ausgeprägt ist. Ein zu stark ausgeprägtes Aromaprofil führt zu maskierenden Effekten des Aromastoffes und zu artifiziell hohen Wahrnehmungsschwellenwerten. Dies hätte eine falsche Interpretation analytischer Daten zu Folge. In kritischen Fällen, bspw. bei sehr voluminösen aromatischen Weinen, kann in der Beurteilung einer sensorischen Relevanz ein Heranziehen eines zweiten Referenzweines in der Schwellenwertbestimmung notwendig werden.

Inwiefern die sensorische Relevanz in Wein mit Hilfe von Wahrnehmungsschwellenwerten beurteilt werden kann, galt es im Rahmen dieser Arbeit zu erarbeiten und wird in Abschnitt 6.1 erörtert.

5 Zielsetzung

Im Kontext der diskutierten Aromaverschleppung die aufgrund einer Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke sowie nachfolgender Weine auf derselben Füllanlage besteht und die Erfassung des sensorischen Einflusses einzelner verschleppter Aromastoffe zur Folge hat, wurde zu Beginn der Untersuchungen ein repräsentatives Portfolio an aromatisierten weinhaltigen Getränken des Lebensmitteleinzelhandels auf ausgewählte Marker untersucht. Fünf der sieben Aromastoffe mit einer chiralen Molekülstruktur wurden unter Berücksichtigung der gängigen Anwendung in Authentizitätskontrollen der Untersuchungsämter ausgewählt (Lampe 2015). Im Weiteren wurde anhand von Wahrnehmungsschwellenwerten der sieben Aromastoffe in den Matrices Wasser, Modellwein und Weißwein der Einfluss der Matrix erfasst und ein Konzept zur Bewertung des sensorischen Beitrags der Aromastoffe ausgearbeitet. Um die Wahrnehmung der Verbraucher in das erstellte Konzept mit einzubeziehen, wurde diese beispielhaft am α -Ionon mit seinem Himbeeraroma in Abhängigkeit der Konzentration des Aromastoffes in Weißwein untersucht. Der Aromastoff α -Ionon wurde ausgewählt aufgrund des niedrigen Schwellenwertes, der höchsten Verschleppung und dem resultierenden höchsten Risiko eine sensorisch wahrnehmbare Verschleppung auszulösen. Abschließend wurde der Einfluss des sensorischen Beitrags für α -Ionon auf das Aromaprofil eines Weißweines in einer deskriptiven Analyse untersucht.

Im weiteren Fokus dieser Arbeit stand die Verfolgung der Aromaverschleppung auf derselben Abfüllanlage, beginnend mit der Aufnahme der Aromastoffe aus einem aromatisierten weinhaltigen Getränk und der anschließenden Abgabe dieser Aromastoffe in die nachfolgende Abfüllung eines klassischen Weines. Bisherige vorliegende Forschungsarbeiten, die sich mit einer Aromaverschleppung ausgehend von Dichtungen befassen, sind zum Zeitpunkt der Erstellung der Arbeit auf vereinfachte anwendungsorientierte Modellstudien begrenzt. Anhand von indirekten Messmethoden, wie einer sensorischen Auswertung oder dem Auswiegen der Elastomeren Werkstoffe wurde in diesen ein Verschleppungsrisiko beschrieben (Eckstein 2011; Vetter 2012; Freund und Seckler 2016; Beierle et al. 2020; Freund 2022). Vergleichbare Migrations- und Verschleppungsprozesse wurden zwar auf einer molekularen Ebene bereits in Verpackungsmaterialien untersucht. Das reale Risiko einer Aromaverschleppung in einer Abfüllung der aromatisierten Weine auf einen nachfolgenden Wein ausgehend von verbauten Dichtungen wurde bislang noch nicht betrachtet. Um eine direkte Untersuchung der Migration einzelner Aromastoffe in Dichtungen einer Abfüllanlage zu ermöglichen, musste als erstes Ziel dieser Arbeit eine robuste Analysemethode etabliert werden, mit der die sieben ausgewählten Aromastoffe direkt in den Dichtungsmaterialien quantifiziert werden konnten.

In Modellversuchen wurden die Einflussfaktoren erfasst, die eine Aufnahme und anschließende Abgabe der Aromastoffe beeinflussen. In Abhängigkeit der Elastomer

Werkstoffe variieren die absorbierten Aromastoffanteile. Um eine Verringerung des Verschleppungsrisikos zu erreichen sind daher Werkstoffe mit niedrigen Absorptionsraten zielführend. Ein niedriges Verschleppungsrisiko wurde bereits für fluorbasierte Kautschuk Dichtungen beschrieben (Vetter 2012; Beierle et al. 2020). Durch den hohen Preis der FKM-Dichtungen und dem limitierten Anwendungsbereich in dynamischen Dichtungen wird der Einsatz der EPDM-Dichtungen in Füllanlagen allerdings dennoch bevorzugt (Freund 2022). Eines der Ziele bestand daher darin, einen EPDM-Werkstoff bezüglich der Aromastoffabsorption derart zu optimieren, damit ein Werkstoff hergestellt werden kann, der mit einem FKM zu vergleichen ist. Hierfür wurden verschiedene Füllstoffmaterialien zur Minimierung der absorbierten Anteile in das EPDM-Netzwerk eingearbeitet.

Ein weiterer Einflussfaktor zur Minimierung des Verschleppungsrisikos besteht in den durchgeführten Reinigungsschritten zwischen einem Produktwechsel von aromatisierten Produkten auf nachfolgende klassische Weine. Reinigungsparameter sind üblicherweise auf die Entfernung von Trubstoffen, auskristallisiertem Weinstein und der Sterilisation der Füllanlage fokussiert, um eine Kreuzkontamination zwischen Weinen zu vermeiden (Bar-Am et al. 2012). Die detaillierten Untersuchungen der Einflussfaktoren in einer Reinigung bestehend aus der gewählten Reinigungstemperatur, der Reinigungsdauer und den Reinigungsmedien liefern einen maßgeblichen Beitrag zur Minimierung des Verschleppungsrisikos. In Anbetracht der ökonomischen und ökologischen Faktoren erfolgen Reinigungssequenzen mit möglichst kurzer Dauer und werden mit möglichst wenigen Additiven gefahren. Eine in dieser Arbeit vorgenommene Auswertung der Reinigungsfaktoren bietet daher ein weiterführendes Verständnis und Informationen zur potenziell notwendigen, individuellen Optimierung der Reinigung der Abfüllanlagen.

Zur Verifizierung der gewonnenen Erkenntnisse aus den in dieser Arbeit beschriebenen Modellversuchen wurde in einem zweistufigen Upscaling das Verschleppungsrisiko zuerst unter kontrollierten Bedingungen in einem praxisorientierten Versuchsstand und anschließend anhand von drei Abfüllungen in einem industriellen Maßstab in zwei Kellereien untersucht. Anschließend erfolgte die Erfassung der sensorischen Relevanz mit Hilfe einer kombinierten Auswertung und Bewertung der analytisch ermittelten Aromastoffkonzentrationen im Wein, sowie des etablierten Bewertungskonzeptes und einem sensorischen Vergleich der einzelnen abgefüllten Weine. Diese Arbeit versucht daher einen umfassenden Beitrag zur ganzheitlichen Betrachtung, Bewertung und Minimierung der Aromaverschleppung in der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke und klassischer Weine auf derselben Abfüllanlage zu leisten.

6 Kumulativer Teil der Dissertation

6.1 Originalarbeit zum Thema: Sensorischer Einfluss verschleppter Aromastoffe in Wein

Zur Bewertung des sensorischen Einflusses einzelner Aromastoffe, die aufgrund einer Aromaverschleppung im Wein vorliegen, wurden Wahrnehmungsschwellenwerte in den Matrices Wasser, Modellwein und Weißwein mit je 12 % vol. Ethanol erfasst. Ein Zusatz von Ethanol steigerte die erfassten Wahrnehmungsschwellenwerte durch eine erhöhte Löslichkeit der Aromastoffe im Modellwein bis zu einem Faktor von 100. Das Hinzufügen nativer Aromastoffe, die in einem sensorisch neutralen Weißwein vorlagen, ergab insbesondere für Aromastoffe, die sich in das Bouquet eines Weines einbinden, einen deutlichen Anstieg der Wahrnehmungsschwellenwerte. Weißwein fremde Aromastoffe, wie das α -Ionon mit einem Himbeeraroma oder das Eugenol mit dem prägnanten Aroma von Gewürznelken, werden hingegen kaum durch eine Weißweinmatrix beeinflusst.

In den durchgeführten Migrationsversuchen (Abschnitt 6.2) zeigte α -Ionon ein erhöhtes Risiko in der Aromaverschleppung. In Folge der niedrigen Wahrnehmungsschwellenwerte in Wein und dem erhöhten Risiko eine sensorisch erfassbare Verschleppung zu erreichen, wurde der Wahrnehmungsschwellenwert für 71 Verbraucher erfasst. Der ermittelte Schwellenwert lag um den Faktor drei höher als der des trainierten Panels. In einer deskriptiven Analyse sowie der Abfragung der Verbraucherpräferenz wurde der sensorische Einfluss von α -Ionon auf einen Weißwein untersucht. Hierbei konnte ein Einfluss auf die Wahrnehmung erst oberhalb der Wahrnehmungsschwelle in Wein aufgezeigt werden.

Sensory relevance of seven aroma compounds involved in unintended but potentially fraudulent aromatization of wine due to aroma carryover

Jörg Gottmann^{1,2}, Jochen Vestner¹, Ulrich Fischer^{1,2*}

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, Germany

² Kaiserslautern University of Technology, Department of Chemistry, Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern, Germany

*corresponding author: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Abbreviations

3-AFC test, 3-alternative-force-choice test; ASTM, American Society of Testing and Materials; BET, best estimate threshold; BMEL, Federal Ministry of Nutrition and Agriculture in Germany (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft); COT, consumer odor detection threshold; CRT, consumer rejection threshold; DA, descriptive analysis; EPDM, ethylene propylene diene monomer; FKM, fluorine based rubber; GC, gas chromatography; GMP, good manufacturing practice; ISO, International Standardization Organisation; MS, mass spectrometry; OIV, International Organisation of Vine and Wine; OT, odour detection threshold; PCA, principal component analysis; SPME, solid phase micro extraction; TDN, 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene;

Abstract

Bottling regular wines following aromatized wines on the same filling lines bears the risk of unintentional aroma carryover, which has led to accusations of illegal aromatization. Obeying guidelines of good manufacturing practice, aroma carryover with no sensory relevance shall be considered as a technical unavoidable transfer having no legal consequences. To detect sensory relevance, odor activity values greater than one are proposed. Odor detection thresholds (OT) were determined in water, model wine, and white wine for three lactones, α -ionone, ethyl 2-methylbutanoate, trans-cinnamaldehyde, and eugenol. Using different matrices OTs varied by factors of 2 for α -ionone and up to 23000 for ethyl 2-methylbutanoate. For α -ionone, being most prone for carryover, the three times higher OT of consumers did not trigger any preference for the aromatized wines, but rejection at 300 $\mu\text{g/L}$. Assessing α -ionone spiked wines by descriptive analysis, significant changes in sensory attributes only occurred at concentrations 10 times above OT.

Keywords

odor detection threshold, aroma migration, scalping, lactones, α -ionone, eugenol

1. Introduction

Sales of aromatized wine-based beverages such as mulled wines and aromatized carbonated wine-based cocktails rose in Germany between 2015 and 2020 from 151 M to 189 M bottles, corresponding to a 23% increase in the retail market (BSI, 2016–2021). Due to the limited seasonal production of aromatized wine-based beverages, they are most likely bottled on the same line as regular wines or sparkling wines. According to the German food control authority (Landesuntersuchungsamt (LUA), Mainz), 92 of 4041 controlled wines in 2014 were suspected of fraudulent aromatization. This aromatization was not only intentional but also resulted from an unintentional aroma carryover during the bottling of aromatized wine, followed by regular wines on the same filling line (LUA, 2014).

Indeed, our recent study showed in a model system the ability of ethylene propylene diene monomer (EPDM) rubber, which is mainly used for sealings in bottling line, to absorb and release aroma compounds. Migration of these compounds were observed despite thorough cleaning, which followed the cleaning sequence applied in bottling lines upon product change (Gottmann et al., 2021). Similar findings are reported in German technical literature for limonene, linalool, β -damascenone, γ -decalactone, several esters and aldehydes to absorb into EPDM and fluorine-based rubber (FKM and FFKM) sealings. Even after thorough cleaning of the sealings, residual aroma compounds desorbed into pure water (Beierle et al., 2020; Freund & Seckler, 2016; Vetter, 2012). A similar sorption-desorption of limonene occurred in reusable polyethylene terephthalate (PET) lemonade bottles, yielding a sensory relevant migration of 250–300 $\mu\text{g/L}$ limonene into the subsequently bottled water (Safa & Bourelle, 1999). These findings indicate the likely risk of aroma carryover from aromatized wines into any subsequently bottled wine.

The legal definition of wine worldwide prohibits any aromatization. Aroma compounds are not listed among permitted wine additives in the EU according to VO (EU) 606/2009 (European Parliament, 2009). Although wine-based beverages may be aromatized with several aroma compounds, the presence of a single aroma compound that does largely exceed the naturally occurring concentration is classified as a fraudulent aroma addition. In case of chiral aroma compounds, a racemic equal distribution of its enantiomers instead of the highly skewed natural distribution will also have legal consequences. In the case that food control authorities suspect fraudulent aromatization by sensory means, enantioselective gas chromatography (GC) or isotope pattern analysis is applied for analytical verification of suspicious sensory findings (Lampe, 2015; Langen et al., 2013; Langen et al., 2016; Mosandl, 2004).

The general progress in analytical performance and sensitivity prompted the International Organisation of Vine and Wine (OIV) to consider *de minimis* values instead of an analytical value of zero (OIV, 2022). This approach should be applied among others for pesticide residues, allergens, and aroma carryover in wine. The OIV currently tries to achieve an international consensus over the definition of *de minimis*, and how to obtain and apply these values.

In order to distinguish between fraudulent aromatization of wines and unintentional aroma carryover, the German Federal Ministry of Nutrition and Agriculture (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, BMEL) developed a good manufacturing practice (GMP) guideline in cooperation with the wine industry and food control authorities (BMEL, 2019). If wineries obey the GMP guideline and aroma carryover does not show any sensory impact, the presence of migrated compounds are deemed as a technically unavoidable carryover, with shall not have any legal consequence. How to determine sensory relevance according to the GMP guideline is not described and food authorities as well as bottlers need a sound method to evaluate sensory relevance of an analytical value of a suspicious aroma compound (BMEL, 2019).

A simple difference testing cannot be applied because the original wine before bottling is not available anymore to serve as a reference in the test. Using a standard wine instead as reference is misleading, as deviation in the general aroma and taste matrix of two individual wines will foster significant differences. Instead, we propose to determine sensory relevance by applying odour detection thresholds (OTs). OTs indicate the minimum concentration required for perception of a particular aroma compound in frame of a trained panel or a cohort of consumer. According to the concept of odor activity values (OAV), the concentration of a suspicious aroma compound, which falls below its OT, should not have any sensory impact to the investigated wine. This approach was already used to evaluate aroma carryover during the bottling of orange and apple concentrates followed by regular juice on the same bottling line (Elss et al., 2007). For that purpose, OTs of aroma compounds such as limonene and ethyl 2-methylbutanoate were established in water, model juice, and both, orange and apple juices. The authors stressed the importance, to measure OTs in the original juice matrix due to the huge matrix effects on OT values.

Indeed OTs are strongly influenced by matrix constituents such as ethanol, which increases the solubility of volatiles impeding their volatilization and sensory recognition (Chambers & Koppel, 2013; Fischer et al., 1996; Perry & Hayes, 2016). Polyphenols at high concentrations as common in many red wines are discussed to interact with sensory perception of volatiles, which has been reviewed recently by Pittari et al. (2021). Carbonization and presence of other odor-active volatiles may further mask aroma compounds of interest and increase their OTs

(Ferreira, 2010; Yoder et al., 2012; Ziegler et al., 2019). Escudero et al. (2004) showed that even concentrations below the published OTs may have a sensory impact such as an odor enhancement of β -damascenone, but do not contribute to the perception of their specific odor characteristics (Pineau et al., 2007). Furthermore, many thresholds reported in the literature were determined using insufficiently documented or even erroneous methodologies that do not follow standards prescribed by the American Society of Testing and Materials (ASTM), the International Organisation for Standardization (ISO) or published sensory textbooks like Lawless and Heymann (2010).

To provide a proper tool to assess sensory relevance in order to distinguish between a fraudulent aromatization and an unintentional carryover, this study determines the OTs for seven proposed marker compounds: Five chiral aroma compounds (ethyl 2-methylbutanoate (fruity, apple), α -ionone (raspberry, violet), γ -decalactone (peach), δ -decalactone (peach), and γ -undecalactone (peach)) were selected due to frequent use of their racemates for aromatization of wine-based cocktails and assessment of wine authenticity based on their enantiomer distribution (Lampe, 2015; Langen et al., 2013; Langen et al., 2016). Eugenol (clove) and *trans*-cinnamaldehyde (cinnamon) were selected as aroma marker compounds typical for mulled wines. In literature, OTs for these compounds are solely reported in water or model wine, but not yet in a wine matrix, except for a α -ionone OT determined in a chilled rosé wine (12 °C).

In general, differentiation between a sensory unintentional carryover versus a fraudulent aromatization intends to protect consumers from an illegally aromatized wine with a potentially improved sensory quality. We extended our study in case of α -ionone to consumers in order to assess the sensory relevance of rising concentrations on odor detection, preference and overall impact on the sensory profile of a neutral white wine by consumers. α -Ionone was selected due to the lowest OT in wine among the studied aroma compounds and its previously reported high carryover risk (Gottmann et al., 2021).

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

Aroma compounds were purchased from Sigma-Aldrich KGaA (Darmstadt, Germany) with purities as follows: ethyl 2-methylbutanoate (99%), α -ionone ($\geq 96\%$), γ -decalactone ($\geq 98\%$), δ -decalactone ($\geq 98\%$), γ -undecalactone ($\geq 98\%$), eugenol (99%), and *trans*-cinnamaldehyde ($\geq 99\%$). Chiral aroma compounds were used as racemates, in accordance with industry practice. Sodium hydroxide (98%) and citric acid (99.5%) were obtained from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). D-Glucose (p.a.), D-fructose ($> 99.5\%$), L-tartaric acid ($\geq 99\%$), D-malic acid ($\geq 99.5\%$), L-lactic acid ($\geq 95\%$), sodium chloride ($\geq 99\%$), and glycerin ($\geq 99\%$) were from

by Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Germany). Ethanol (96%) was from Berkel AHK (Ludwigshafen, Germany).

2.2. Aromatized wine beverages for benchmarking

German mulled wines ($n = 35$) and aromatized wine-based cocktails ($n = 38$) were either provided by different producers or purchased from retailers. The selection of analyzed products should describe a wide range of concentrations of the seven marker compounds, according on the labelled sensory attributes such as peach, raspberry, apple, exotic fruit as well as Christmas spices.

2.3. Quantification of volatiles in aromatized wine beverages by HS-SPME-GC-MS

Ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde were measured using an established headspace-solid phase micro extraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) method for volatiles in Riesling wine (Schwinn et al., 2019). The analytical system consisted of a Finnigan TRACE DSQ GC-MS (Thermo Fisher Scientific, Kandel, Germany) with a CombiPAL auto sampler (CTC Analytics, Zwingen, Switzerland). Eight milliliters of a saturated sodium chloride solution, 2 mL of wine and 10 μ L of the internal standard 2-heptanol (10 mg/L) were pipetted into a 20 mL headspace vial and closed with a screw cap. If the calibration limit was exceeded samples were diluted with model wine which composition is described in sensory section. Volatiles were separated on a ZB-5ms 30 m \times 0.25 mm fused silica column containing (5%-Phenyl)-methylpolysiloxan with a film thickness of 0.5 μ m (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany). Samples were pre-incubated at 40 $^{\circ}$ C for 10 min, followed by a headspace extraction with a polydimethylsiloxane (PDMS) fiber for 20 min (FIB-P-100/10, CTC Analytics, Zwingen, Swiss). Volatiles were desorbed for 2 min from the SPME fiber at 240 $^{\circ}$ C in the GC injector using splitless mode and purging 2 min afterwards. The flow rate of helium carrier gas was kept constant to 1.0 mL/min. Oven temperature was held initially for 2 min at 30 $^{\circ}$ C, then increased to 150 $^{\circ}$ C at a rate of 3.5 $^{\circ}$ C/min, followed by an additional increase to 300 $^{\circ}$ C at a rate of 25 $^{\circ}$ C/min. Ionization by electron ionization (EI+) was used with an electron energy of 70 eV, and total ion chromatograms were recorded over m/z 29–300. Extracted ion chromatograms were obtained using the following m/z values (quantifier; qualifier) for each of the seven compounds: ethyl 2-methylbutanoate (102; 85), α -ionone (136; 121), γ -decalactone (128; 85), δ -decalactone (99; 114), γ -undecalactone (128; 85), eugenol (164; 149) and *trans*-cinnamaldehyde (131; 132). The chromatograms were processed with Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific, Kandel, Germany). Linear calibration models were obtained for all compounds using a series of standards in model wine (10–1000 μ g/L for each compound).

2.4. Sensory laboratory

This study was conducted according to the Declaration of Helsinki for studies on human subjects. The protocol used in this study was approved by the Ethics Committee of the German federal state of Rhineland-Palatinate (Mainz, Germany). A written informed consent was obtained from each participant prior to participation. The sensory studies were conducted in an odor-free, well-lit laboratory, equipped according to ISO 13301 (2018), with an ambient temperature of 20 °C. Sensory tasks were administrated using the software FIZZ Network (Version 2.5; Biosystèmes, Couternon, France).

2.5. Odor detection thresholds

2.5.1. Matrices for determination of odor detection thresholds

OTs for each aroma compounds were determined in water, model wine, and white wine. The model wine consisted of 12% v/v ethanol, 2.5 g/L D-glucose, 2.5 g/L D-fructose, 1.5 g/L L-tartaric acid, 1.5 g/L D-malic acid, 1.5 g/L L-lactic acid, and 6 g/L glycerol, and its pH was adjusted to 3.5 using 10 N sodium hydroxide (Lampe, 2015). The white wine was a Riesling wine (Henkell-Freixenet Sparkling Winery, Wiesbaden, Germany), which is mainly used to produce a semi sparkling wine by adding technical CO₂. Its composition is like a regular Riesling wine (12% v/v ethanol, 2 g/L residual sugar, 8.4 g/L titratable acidity, and 15 mg/L free SO₂, pH 3.1). This wine was selected for its neutral sensory character and its low concentration of free SO₂, which does interfere negatively at increased levels with the odor perception (Waterhouse et al., 2016).

2.5.2. Determination of odor detection thresholds with a trained panel

OTs in water, model wine, and white wine were determined by a trained panel via triangle tests, conducted according to ASTM E679-04 (ASTM, 2004). Panelists were asked to identify the odd sample from a set of three: either the spiked (A) or the pure matrix (B) from six possible, randomly presented combinations (ABB, BAB, BBA, AAB, ABA, or BAA). Samples (20 mL) were presented in transparent ISO 3591 glasses covered with plastic lids. The highest concentrations used in water, model wine, and white wine for each compound are listed in Table A.1, the exact concentrations were confirmed with the HS-SPME-GC-MS. These were diluted six times by a factor of 3 with the respective matrices and presented to panelists in ascending order. Between each test a one minute break was enforced. Each OT was determined in triplicate for each matrix.

2.5.3. Determination of consumer odor detection threshold for α -ionone in white wine

Consumer OT determination and consumer preference testing was done with 71 untrained volunteers (41 female, 30 male; age 18–29 (29 subjects), 31–45 (11 subjects), 46–60 (22 subjects), >60 (9 subjects)). The consumer OT for α -ionone in white wine was determined via 3-alternative-force-choice (3-AFC) tests, according to ASTM E679-04. Consumers were asked to identify the spiked sample (A) among a randomly presented set of three (ABB, BAB, or BBA). The same α -ionone concentrations were used, and samples were presented to consumers as described in 2.4.2 for the trained panel.

2.5.4. Calculation of odor detection threshold

OT determination in water, model wine, and white wine was done with a trained panel differing in age between 19 and 64 years, all with previous experience in the DA of wine. Due to the collection of 21 thresholds in triplicate over a period of several months, size and gender distribution in the panels varied between 18 to 33 subjects per sessions and a female-to-male ratio varying between 40 and 60%.

Individual and group OTs for each aroma compound were calculated using the best estimate threshold (BET) method for each replication (Lawless & Heymann, 2010). For each judge, the individual BET was calculated as the geometric mean between the concentrations of the last erroneous response and the first correct one, after which no more incorrect responses were given at higher concentrations. Due to the large number of tests required of each participant, more erroneous responses occurred at higher concentrations presumably due to fatigue. Therefore, when an incorrect answer occurred after three correct answers followed by correct answers, it was not taken into consideration. Group thresholds are calculated with the geometric mean of the individual values.

2.6. Modified descriptive analysis

For a modified DA, 26 judges (12 female, 14 male, age 18–58) were selected from the staff of the institute for viticulture and oenology DLR Rheinpfalz (Neustadt, Germany) based on their constant participation in wine sensory panels over several years.

White wine spiked with increasing α -ionone concentrations (10, 30, 100, and 300 $\mu\text{g/L}$) were compared to its pure reference in a slightly modified DA with a trained panel. Training of DA was modified because current COVID-19 contact restrictions in Germany did not allow group discussion and joint training sessions as recommended by Lawless and Heymann (2010). Sensory standards were first established by three experts. Each panelist familiarized in a first training session with the original wine, the α -ionone spiked wines and the suggested set of

sensory standards. In direct conversation, each judge had the chance to request further attributes or modification of the standards. This ballot building process ensured that no essential attribute was missed out to differentiate the wines. Panelists were trained in identification and intensity rating of the final descriptors using the standards listed in Table A.2. Judges rated the intensity of each attribute on a 15 cm unstructured line scale from 'not perceivable' to 'very strong'. Samples (30 mL) were presented in random order in transparent DIN 10960 tasting glasses covered with plastic lids. All judges participated in the modified DA and each of the five presented wines were described by 26 judges in duplicate.

Table 1. Concentration of the selected aroma compounds in German mulled wine ($n = 35$) and aromatized wine-based cocktails ($n = 38$).

	concentration in mulled wine			concentration in aromatized wine-based cocktails			concentration in regular wine ^{3,4,5,6,7}	
	average	min	max	average	min	max	min	max
	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]	[$\mu\text{g/L}$]
ethyl 2-methylbutanoate		- ¹		1331	226	3232	1.1	184.0
α -ionone		-		263	66	448	0.017	4.6
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	2484	269	4700	3047	90	6004		5.0
eugenol	11250	1137	37838	3317	118	15851	0.88	41.1
γ -decalactone		-		2104	80	6812	1.1	15.5
δ -decalactone		-		500 ²	-	-	4.0	24.2
γ -undecalactone		-		491	157	667	1.7	4.4

¹below the detection limit of the applied method (10 $\mu\text{g/L}$); ² δ -decalactone was only quantified in one cocktail; ³(Ferreira et al., 2000); ⁴(Langen et al., 2016); ⁵(Caven-Quantrill & Buglass, 2006); ⁶(Genovese et al., 2007); ⁷(Langen et al., 2013)

2.7. Consumer preferences

Consumer preference for aromatization with α -ionone was investigated by the same consumer cohort as for OT determination. In a paired preference tests consumers compared the original Riesling wine with those spiked with increasing α -ionone concentrations (Lawless & Heymann, 2010). Starting with the pair containing the lowest α -ionone concentration, consumers indicated the preferred sample within each pair. α -Ionone concentration were identical to those reported in section 2.4.2. Significant preference of one sample versus the other was determined by the 50% above chance criterion. The concentration of α -ionone at which the original wine was significantly preferred indicated the consumer rejection threshold (CRT) (Lawless & Heymann, 2010).

2.8. Statistical analysis

The four dimensional data (judges \times replication \times samples \times descriptors) obtained from sensory modified DA was unfolded into a matrix with the dimensions judges \times replication \times samples as rows and descriptors as columns. An analysis of variance classified judges as a

Table 2. Odor detection thresholds in various matrices determined by trained panelists (n = number of presentations¹) with a triangle test in triplicate. Data evaluated with BET (Lawless & Heymann, 2010). Confidence intervals (α = 5%) for each threshold are indicated by the lower limit and upper limit.

aroma compound	odor description	matrix	n	odor threshold [µg/L]	lower confidence limit [µg/L]	upper confidence limit [µg/L]
ethyl 2-methylbutanoate	fruity, apple	water	58	0.10	0.06	0.16
		model wine	56	11.5	7.2	18.3
		white wine	58	2332.8	1453.7	3743.4
α -ionone	raspberry, floral, violets, woody, fruity, honey	water	95	5.3	3.5	8.1
		model wine	94	12.3	8.3	18.2
		white wine	79	10.6	6.4	17.4
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	cinnamon, oat	water	63	109.7	75.8	158.8
		model wine	58	1097.2	726.3	1657.5
		white wine	67	1617.0	1065.3	2454.5
eugenol	spice, clove	water	56	1.0	0.6	1.6
		model wine	57	21.6	12.8	36.5
		white wine	60	135.0	80.3	227.3
γ -decalactone	peach, apricot	water	58	6.4	4.0	10.3
		model wine	56	77.7	45.8	131.8
		white wine	60	279.8	188.3	415.8
δ -decalactone	coconut, apricot	water	64	40.3	25.4	64.0
		model wine	58	183.8	122.9	275.0
		white wine	85	417.7	294.2	593.1
γ -undecalactone	apricot	water	63	5.9	4.0	8.7
		model wine	57	20.4	12.6	32.9
		white wine	78	48.0	32.5	70.8

¹ Sum of all presentations for the panelists over the three repetitions;

random source of variation, while samples and replications were treated as fixed factors. Mean values for statistically significant descriptors from modified DA (probability < 0.05) were compared applying Tukey's honestly significant difference (HSD) post-hoc test. For principal component analysis (PCA), raw sensory data of significant attributes of each judge and replication were used (52 assessments). PCA was done based on mean centering (co-variance) and no rotation was applied. All analyses were performed using XLStat (Version 2019.3.2, Addinsoft, Paris, France).

3. Results

3.1. Benchmarking of marker aroma compounds in aromatized wine beverages

To obtain an overview regarding the degree of aromatization 35 mulled wines and 38 aromatized wine-based cocktails obtained from the German market were analyzed for the seven marker compounds (Table 1). Eugenol and *trans*-cinnamaldehyde occurred at high concentrations in mulled wine, with mean values of 11250 and 2484 µg/L, respectively, as well as in the aromatized wine cocktails with mean values of 3317 and 3047, respectively. In mulled wines, concentrations of the other five aroma compounds of interest remained below their limit

of detection. In aromatized wine cocktails however, they varied by factors of 4 in case of γ -undecalactone up to 134 for eugenol. δ -Decalactone occurred only in one of the 38 studied cocktails.

3.2. Determination of odor detection thresholds by trained panel

To evaluate sensory relevance of potential carryover, we determined the OTs of ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, *trans*-cinnamaldehyde, eugenol, γ -decalactone, δ -decalactone and γ -undecalactone in water, model wine, and a white wine (Table 2). OTs for all compounds in water were much lower than in model wine. Such a difference was highest for ethyl 2-methylbutanoate by a factor of 100 and lowest for α -ionone by factor of 2. A further increase in six of seven OTs occurred when changing the matrix from model wine with 12% v/v ethanol to a white wine with equal alcohol. The largest increment of 200 occurred again for ethyl 2-methylbutanoate, while for α -ionone the calculated OT even slightly decreased. Participation of 18 up to 33 judges in triplicate per OT determination allowed to calculate the upper and lower confidence intervals ($\alpha = 5\%$) of the OTs, which yields an estimation of the recorded variance in the panel.

3.3. Consumer odor detection threshold for α -ionone

Given its high rate of absorption into bottling line sealings and limited removal with cleaning, the risk of carryover for the highly nonpolar α -ionone is particularly high (Gottmann et al., 2021). Therefore, we were interested in how much consumer thresholds for α -ionone would deviate from those of wine experts, such as members of food control authorities. The 3-AFC test was chosen because of its ease in execution for subjects with no training. For 71 consumers the OT for α -ionone (29.0 $\mu\text{g/L}$) was three times higher than the panel OT (10.6 $\mu\text{g/L}$) (Figure 1).

3.4. Consumer liking/disliking of α -ionone depending on the concentration

Rising α -ionone concentrations from 1 to 30 $\mu\text{g/L}$ preference of consumer was equally distributed between original and aromatized wine. Further increase of concentration diminished the preference for the aromatized wine (Figure 2). At 300 $\mu\text{g/L}$ α -ionone, the complete consumer cohort even significantly preferred the original wine and thus rejected the aromatized wine. Consumer rejection threshold (CRT) for the whole group was 250 $\mu\text{g/L}$ α -ionone.

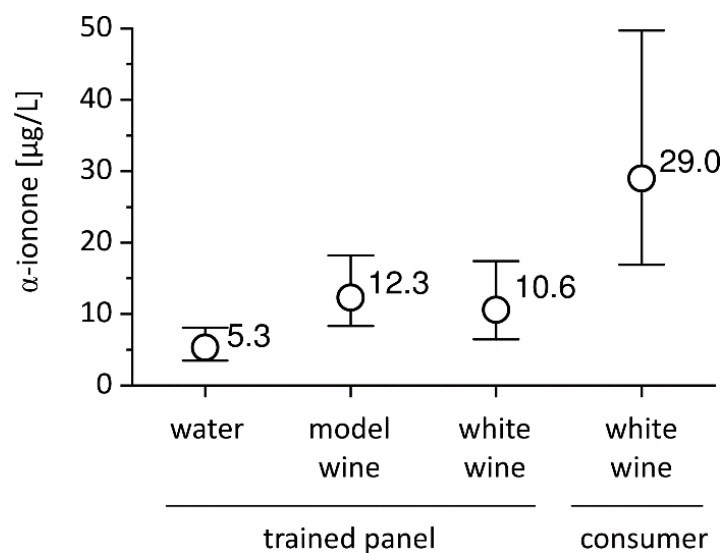


Figure 1. OT determined for α -ionone in water, model wine, and white wine for a trained panel and in white wine for consumers. Data evaluated with BET (Lawless & Heymann, 2010). Confidence intervals ($\alpha = 5\%$) are represented by the upper and lower limits.

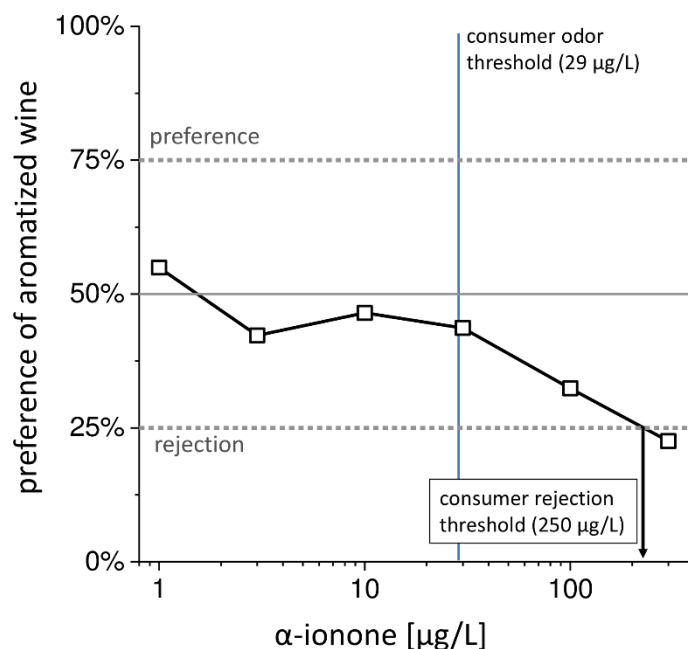


Figure 2. Consumer (41 female and 30 male) liking of white wine spiked with increasing levels of α -ionone determined using a paired preference test. 95% confidence intervals for consumer odor detection thresholds (COT) are shown vertically in grey. The solid horizontal line indicates no preference (50%) towards any presented wine, while the upper and lower dotted lines indicate the 50% above chance consumer preference threshold and consumer rejection threshold (CRT) respectively (Lawless & Heymann, 2010).

3.5. Modified descriptive analysis of sensory properties due to increasing α -ionone concentrations

To study the impact of α -ionone on the holistic perception of a wine, we spiked a white wine with 10, 30, 100, and 300 $\mu\text{g/L}$ α -ionone, which approximately represent the OT at 10.6 $\mu\text{g/L}$, the consumer OT at 29.0 $\mu\text{g/L}$, and overall CRT at 250 $\mu\text{g/L}$, respectively. Addition of 10 and 30 $\mu\text{g/L}$ α -ionone did not significantly alter any attribute in the modified DA. At 100 and 300 $\mu\text{g/L}$ α -ionone triggered significant increases of *raspberry*, *floral/violets*, and *artificial fruit* intensities. At 300 $\mu\text{g/L}$ a significant decline of *green apple* and *peach* intensities occurred as well. The PCA in Figure 3 A illustrates the wide dispersion of individual sensory evaluation, as each point represents the assessment of a wine by an individual judge.

4. Discussion

4.1. Benchmarking of aromatized wine-based products

Published data on the concentration of aroma compounds in aromatized wine-based beverages is scarce which justifies the benchmarking of commercial mulled wines and aromatized wine-based cocktails. According to literature, the highest concentrations in Table 1 surpass the naturally occurring maximum concentrations in wines by factors of 18 in case of ethyl 2-methylbutanoate (184 vs 3232 $\mu\text{g/L}$) and up to 1200 for *trans*-cinnamaldehyde (5 vs 6004 $\mu\text{g/L}$).

In mulled wines and wine cocktails, the highest concentrations of eugenol exceeded the newly determined OTs in white wine even by factors of 280 and 117, respectively. All remaining six aroma compounds were detected well above their OT values. According to Ferreira (2010) concentrations above the OT blend in a subtle way into the aroma profile of a wine. Rising concentrations will change the studied compound to a net sensory contributor and further increase will yield a sensory impact compound. Ferreira describes in particular for isoamyl acetate and 2-methylbutyrate that both esters blend well into the fruity wine matrix. It required a steep increase in concentration of 100 times the OT to show a true sensory impact resulting in a distinct odor of banana or strawberry, respectively (Ferreira, 2010; Ferreira et al., 2022). In order to ensure the sensory impact of the added aroma compound to all consumers, producers of aromatized wines rationalize their strong aromatization practice. At the same time, addition of high concentrations of aroma compound enhances the risk of carryover from aromatized wine-based beverages into subsequently bottled regular wine. For that reason, German food control authorities strongly recommend using two different bottling lines for aromatized and regular wines. Due to the seasonality of bottling of aromatized wines, especially in case of mulled wines, the majority of German wine producers cannot afford and rationalize economically the purchase of a second bottling line.

Carryover from sealing polymers during bottling of wine was postulated by the food control authority in Mainz, Germany, as the source for unusual high concentrations of aroma compounds commonly used for aromatization in regular wine (LUA, 2014). This hypothesis was confirmed and quantified in a model system for seven aroma compounds (Gottmann et al., 2021). Exact quantification of absorption and release of aroma compounds from sealings in industrial scale bottling lines will be the subject of a following study. This publication lays the foundation for the crucial determination of sensory relevance of potentially occurring carryover.

4.2. Odor detection thresholds and impact of different matrices

OTs in water and model wine represent highly reproducible values, because a standardized matrix was used for their determination. Increased solubility of hydrophobic aroma compounds due to 12% v/v ethanol in model wine decreases volatilization compared to water. This has been shown for a wide array of aroma compounds as well as off flavors such as the petrol note 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) typical for aged Riesling wines (Fischer et al., 1996; Ziegler et al., 2019).

Determining OTs in a neutral wine, the natural wine aroma matrix masks low concentrations of an added aroma compound. This interaction explains increased OTs of the two off-flavors α -aminoacetophenone and methyl anthranilate as well as β -damascenone in wine compared to model wine (Perry & Hayes, 2016; Pineau et al., 2007). For wines with elevated aroma intensity, OTs will increase because higher concentrations are needed to break the aroma buffer. For instance the OT of the ladybug taint 2-isopropyl-3-methoxypyrazine (IPMP) increased from 0.3 ng/L in Chardonnay to 1.5 ng/L in Gewürztraminer (Pickering et al., 2007). However, determination of OTs of the same aroma compound in different wines or grape are very scarce and are limited to off-flavors such as 2,4,6-trichloroanisole (TCA) or diacetyl (Martineau et al., 1995; Mazzoleni & Maggi, 2007).

We chose a light white wine to determine a rather low OT in wine. Moreover, the OT determination was not impeded from pungent levels of SO₂ due to the low level of 15 mg/L. This ensured a conservative approach avoiding superficially high OTs due a wine matrix rich in aroma, which would in consequence lower the sensitivity to detect an aroma carryover having a sensory relevance.

Ethyl 2-methylbutanoate was found to have a very low threshold value of only 0.1 μ g/L in water, consistent with published OT of 0.15 and 0.013 μ g/L (Czerny et al., 2008; Schieberle & Hofmann, 1997). The presence of 12% v/v ethanol in the model wine caused the OT to increase to 11.5 μ g/L by a factor of 115, as already discussed by Ferreira et al. (2000). Using even a light white wine for OT determination, the required concentration increased by a factor of 200 compared to the model wine. According to Ferreira, esters are not distinct impact aroma

compounds in wine, but rather form an odorant family that contributes to the general wine aroma buffer. Functioning similarly to a chemical buffer for pH, the wine aroma buffer prevents the sensory perception of moderate changes in aroma composition. Impact aroma compounds with very particular odors such as 3-isobutyl-2-methoxypyrazine (green bell pepper), rose-oxide (floral), or TDN (petrol) break more easily the fruity buffer and stand out from the generic wine aroma matrix, yielding very low OTs. In contrast, volatiles that are better integrated into the wine aroma buffer, such as ethyl 2-methylbutanoate, are masked by the buffer and require very high concentrations for sensory relevance (Ferreira, 2010; Ferreira et al., 2022).

In water α -ionone yielded an OT of 5.3 $\mu\text{g/L}$, which corresponds to published OTs of 3.0 and 3.78 $\mu\text{g/L}$ (Brenna et al., 2002; Waterhouse et al., 2016). The determined OT increased with addition of 12% v/v ethanol by a factor of two. In a previous experiment in a model system to study the carryover of aroma compounds in EPDM sealings, 14.1 $\mu\text{g/L}$ α -ionone migrated from sealings into a model wine of identical composition (Gottmann et al., 2021). Applying the newly determined OT of 12.3 $\mu\text{g/L}$, the concentration exceeded the OT, indicating a sensory relevance of this carryover. Indeed, when we applied a two-out-of-five sensory difference test (Lawless & Heymann, 2010), the judges could significantly detect the carryover, confirming the putative sensory relevance indicated by an OAV above one. Unlike the ethyl 2-methylbutanoate the violet and raspberry notes of α -ionone do not blend well into the aroma of the white wine. This may explain, why no significant difference was observed between the OT in model wine and white wine (Student's t-test, $p < 0.05$). In a chilled rosé wine (12°C), Langen et al. (2016) previously determined in the same sensory laboratory similar OTs of 13.7 $\mu\text{g/L}$ and 10.5 $\mu\text{g/L}$ in a chilled model wine at 12 °C.

OT for eugenol determined in water (1.0 $\mu\text{g/L}$) corresponds to the published 0.7 $\mu\text{g/L}$ as well as the OT in model wine (21.6 $\mu\text{g/L}$) which was reported earlier with 6 $\mu\text{g/L}$ (Czerny et al., 2008; Ferreira, 2010). Bearing the concept of sensory relevance in mind, aroma carryover of eugenol will be evaluated very different using the so far only available OT of 6 $\mu\text{g/L}$ in model wine versus the newly determined OT in a wine matrix of 135 $\mu\text{g/L}$.

OT for *trans*-cinnamaldehyde was published so far in water with a slightly lower value of 90.0 $\mu\text{g/L}$ than the 109.7 $\mu\text{g/L}$ reported in this study (Rothe et al., 1972). Thus, the first time OT determined in model wine of 1097.2 $\mu\text{g/L}$ revealed a substantial increase by a factor of 10 and a further rise of 1.5 for the OT in a wine matrix. The high OT in white wine of 1617 $\mu\text{g/L}$ illustrates the large concentrations of *trans*-cinnamaldehyde required to ensure perception of the desired cinnamon aroma in mulled wines.

Due to their low natural concentrations found in wine, the three lactones γ -decalactone, δ -decalactone and γ -undecalactone with their peach flavor are frequently used to detect fraudulent aromatization, which aims to enhance the natural peach flavor of white wines

(Lampe, 2015). However, so far OTs of lactones have been published only in water and model wine in a similar range like our OTs in Table 2 (Czerny et al., 2008; Ferreira et al., 2000; Jarauta et al., 2006). Alike the other studied compounds, OTs of lactones doubled or quadrupled in a white matrix compared to model wine.

Using the same methodology and judges, we could systematically study the impact of three matrices water, model wine, and white wine on the OTs of the aroma compounds. Depending on their chemical and olfactory nature the determined OT can vary between a water and wine matrix just by a factor as low as two for α -ionone and up to a factor of 23000 for ethyl 2-methylbutanoat. Comparing model wine with white wine, the OTs varied by a factor of 1 to 200. From a perspective of the necessity to assess sensory relevance, the use of OTs from a water or model wine matrix may lead to an erroneous interpretation of aroma carryover. The here first time reported OTs in wine contributes to the correct interpretation of analytical values in order to distinguish between a technical unavoidable aroma carryover and a fraudulent aromatization. Concentrations well below the OTs will be classified of no sensory relevance to the wine aroma.

4.3. Sensory consumer data

Our previous study revealed that among the seven studied aroma compounds the high nonpolar α -ionone is the substance which is most prone to carryover via sealing polymers (Gottmann et al., 2021). Furthermore, among them α -ionone showed the lowest OT in wine and possess the highest risk to trigger a sensory relevant carryover. By the proposed use of OAVs, sensory relevance is based on OTs determined by a trained panel. However, protecting consumer against fraudulent practices, they are the true reference. From this perspective it is interesting to note that the OT of consumers of 29.0 $\mu\text{g/L}$ required a three times higher concentration than the trained panel with their OT of 10.6 $\mu\text{g/L}$. Thus, using the lower OTs of a trained panel to calculate critical OAVs, ensures a sensitive detection of potentially fraudulent aromatization.

Consumers exhibit significantly greater variation in their individual perceptions than the trained panel (Figure 1), presumably due to lower familiarity with the sensory test itself and the stimulus of α -ionone (Doty & Kamath, 2014). The frequency distributions of panelist and consumer OTs in white wine shows that individual consumers can be as sensitive as some panelists, although consumer individual OTs were more widely distributed between the evaluated concentrations of 3 to 300 $\mu\text{g/L}$ α -ionone.

In terms of the hypothesis, that fraudulent aromatization leads to enhanced quality, we were interested in the hedonic liking of increasing α -ionone. In this context it is astonishing, that concentrations of α -ionone below the consumer OT of 29 $\mu\text{g/L}$ had no significant impact on the

preference of 71 consumers. In fact, rising α -ionone in wine above the consumer OT increased the preference for the pure wine and resulted even in a significant rejection at the highest level of 300 $\mu\text{g/L}$ (Figure 2). In consequence, unintended aroma carryover at concentrations below consumer OT does not modify the liking for the studied wine at all.

4.4. Modified descriptive analysis of increasing α -ionone

We conducted a modified DA to clarify at which concentration α -ionone significantly alters the overall perception of wines and consequently leading to sensory relevance. Indeed, significantly higher intensities of *artificial fruit*, *floral/violet*, and *raspberry* attributes occurred at a level of 100 $\mu\text{g/L}$ α -ionone, which is 10 times higher than the OT in white wine and 3 times above the consumer threshold. To mask and significantly lower the perception of the naturally occurring *peach* and *green apple* notes in the studied white wine, required even an addition of 300 $\mu\text{g/L}$ α -ionone.

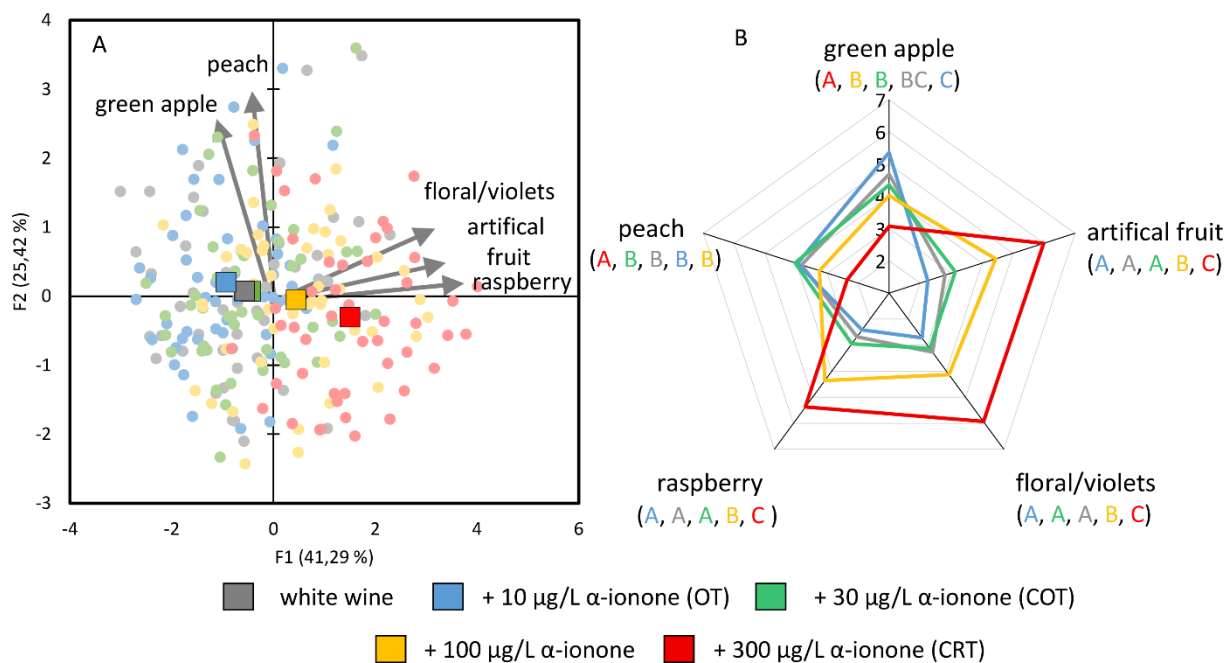


Figure 3. Biplot of principal component analysis (PCA) (A) and mean values for aroma attributes (B) from the descriptive analysis of white wine spiked with increasing concentrations of α -ionone. PCA was created on judges individual scores and mean values plotted as additional data. α -ionone concentrations correspond approximately to the trained panel odor detection threshold (OT), consumer odor detection threshold (COT), male consumer rejection threshold, and the consumer rejection threshold (CRT). The 52 ratings for each wine (26 judges rated in replicate) are shown in the biplot as dots (\bullet), mean values for each wine are shown as squares (\blacksquare), and sensory attributes and their loadings are indicated by arrows. Mean values for aroma attributes compared with Tukey HSD-test ($\alpha = 95\%$); significant difference is indicated by different letters.

We assume that rejection of the α -ionone results from both, the diminution of the natural fruity flavors of the white wine and secondly, from a strong expression of the α -ionone odors, which may have been perceived as foreign within the context of this white wine. Natural raspberry aroma constitutes not only by α -ionone, but also by the presence of other volatiles such as raspberry ketone, β -ionone, geraniol, and benzyl alcohol, which may lead to a more complex and less artificial smell.

This experiment further revealed that α -ionone concentrations at the OT or even at the consumer OT did not change any of the five aroma descriptors significantly (Figure 3 B). A potential aroma carryover in the range of OT or consumer OT would neither enhance nor diminish intensities of any odor attributes in wine and thus proves the absence of any sensory relevance. Keeping these results in mind, it seems not sufficient to proof sensory relevance by concentrations of an aroma compound above its OT. The more holistic sensory approach of a DA seems to require higher concentrations to yield sensory relevance, as it is the case in the more targeted difference test for OT determination.

5. Conclusions

In order to classify aroma carryover during the bottling of wine as technically unavoidable, food control authorities need to confirm the absence of sensory relevance. As shown exemplary for α -ionone, sensory relevance occurs in a white wine only if the concentrations exceed the odor detection threshold in wine by a factor of 10. Although this factor is only validated for α -ionone and cannot be extrapolated to other compounds, it seems to be justifiable that concentrations below the OT of other aroma compounds do not pose any sensory relevance as well. We demonstrated that OTs vary between a factor of two and up to four orders of magnitude when determined in water, model wine, or white wine with a neutral character. This highlights the importance of using only OTs determined in wine when assessing sensory relevance in wines. To support food control authorities and bottling companies, we determined in white wine the OTs of seven aroma compounds, which are frequently used for the aromatization of beverages. Aroma compounds carried over from aromatized wines to regular wines at concentrations below these OTs pose no risk to impact the aroma of the wine. This statement is further supported by the fact that, in case of α -ionone, consumers required a higher aroma concentration for sensory perception. Future research should focus on mitigating aroma carryover at industrial scale and implement the approach proposed here under practical conditions during the bottling of wine.

Acknowledgements

We thank the staff of the sensory lab in the Institute for Enology and Viticulture, Martha Wicks-

Müller, Anette Schormann, and Sandra Klink as well as the many judges and consumers. We thank Michael Wacker for the technical GC support as well as the execution of the analyses. We appreciate the critical review of the manuscript by Thi Nguyen.

Funding

This project (no. AIF 20220) of the Research Association of the German Food Industry (FEI) was supported by the German Federation of Industrial Research Associations (AIF) within the program for promoting Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economic Affairs and Energy (BMWi), based on a resolution of the German Parliament.

Declaration of interests

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

- ASTM (2004). *E679-04: Standard Practice for Determination of Odor and Taste Threshold by a Forced-Choice Ascending Concentration Series Method of Limits*.
- Beierle, E., Bradshaw, I., Reuter, M., & Tomp, A. (2020). Produktwechsel ohne Aromaverschleppung? Qualitätsanspruch bei hoher Produktvielfalt. *Getränke!* (4), 36–40.
- BMEL (2019). *Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein*. Referat 414, Wein, Bier, Getränkewirtschaft.
- Brenna, E., Fuganti, C., Serra, S., & Kraft, P. (2002). Optically Active Ionones and Derivatives: Preparation and Olfactory Properties. *European Journal of Organic Chemistry* (6), 967–978.
- BSI (2016–2021). Daten aus der Alkoholwirtschaft 2015-2021. *Bundesverband der deutschen Spirituosen-Industrie und -Importeure e.V.*
- Caven-Quantrill, D. J., & Buglass, A. J. (2006). Comparison of micro-scale simultaneous distillation–extraction and stir bar sorptive extraction for the determination of volatile organic constituents of grape juice. *Journal of Chromatography A*, 1117 (2), 121–131.
- Chambers, E., & Koppel, K. (2013). Associations of volatile compounds with sensory aroma and flavor: The complex nature of flavor. *Molecules*, 18 (5), 4887–4905.
- Czerny, M., Christlbauer, M [Martin], Christlbauer, M [Monika], Fischer, A., Granvogl, M., Hammer, M., Hartl, C., Hernandez, N. M., & Schieberle, P. (2008). Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology*, 228 (2), 265–273.
- Doty, R. L., & Kamath, V. (2014). The influences of age on olfaction: a review. *Frontiers in Psychology*, 5 (20), 1–20.

- Elss, S., Kleinhenz, S., & Schreier, P. (2007). Odor and taste thresholds of potential carry-over/off-flavor compounds in orange and apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (10), 1826–1831.
- Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortín, N., Cacho, J. F., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (11), 3516–3524.
- European Parliament (2009). *Regulation (EU) No 606/2009*: Laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards.
- Ferreira, V. (2010). Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In *Managing wine quality* (pp. 3–28). Elsevier.
- Ferreira, V., La Fuente, A. de, & Sáenz-Navajas, M. P. (2022). Wine aroma vectors and sensory attributes. In *Managing wine quality* (pp. 3–39). Elsevier.
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (11), 1659–1667.
- Fischer, C., Fischer, U., & Jakob, L. (1996). Impact of matrix variables ethanol, sugar, glycerol, pH, and temperature on the partition coefficients of aroma compounds in wine and their kinetics of volatilization. *Proceedings for the 4th International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology, Rochester, NY, 1996*.
- Freund, M., & Seckler, J. (2016). Aromaverschleppung im Wein. *Das deutsche Weinmagazin* (25), 25–29.
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., & Moio, L. (2007). Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry*, 103 (4), 1228–1236.
- Gottmann, J., Vestner, J., Müller, D., Schuster, J., & Fischer, U. (2021). Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69 (38), 11382–11394.
- Jarauta, I., Ferreira, V., & Cacho, J. F. (2006). Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments in Food Science*, 43, 205–208.
- Lampe, U. (2015). Untersuchungen zur Authentizität von Weinaroma am Beispiel der γ -Lactone. *38th World Congress of Vine and Wine (Part 2)*, 5, 6005.
- Langen, J., Wang, C.-Y., Slabizki, P., Wall, K., & Schmarr, H.-G. (2013). Quantitative analysis of γ - and δ -lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27 (24), 2751–2759.
- Langen, J., Wegmann-Herr, P., & Schmarr, H.-G. (2016). Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408 (23), 6483–6496.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food*. Springer New York.

- LUA (2014). LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung 2014. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz*.
- Martineau, B., Acree, T. E., & Henick-Kling, T. (1995). Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International*, 28 (2), 139–143.
- Mazzoleni, V., & Maggi, L. (2007). Effect of wine style on the perception of 2, 4, 6-trichloroanisole, a compound related to cork taint in wine. *Food Research International*, 40 (6), 694–699.
- Mosandl, A. (2004). Authenticity assessment: a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *Journal of Chromatographic Science*, 42 (8), 440–449.
- OIV (2022). Personal communication with Members of the International Organisation of Vine and Wine. *Internal Documents, February 2022*.
- Perry, D. M., & Hayes, J. E. (2016). Effects of matrix composition on detection threshold estimates for methyl anthranilate and 2-aminoacetophenone. *Foods*, 5 (2), 35.
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, 72 (7), S468-S472.
- Pineau, B., Barbe, J.-C., van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2007). Which impact for β -damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (10), 4103–4108.
- Pittari, E., Moio, L., & Piombino, P. (2021). Interactions between polyphenols and volatile compounds in wine: A literature review on physicochemical and sensory insights. *Applied Sciences*, 11 (3), 1157.
- Rothe, M., Wölm, G., Tunger, L., & Siebert, H.-J. (1972). Schwellenkonzentrationen von Aromastoffen und ihre Nutzung zur Auswertung von Aromaanalysen. *Food/Nahrung*, 16 (5), 483–495.
- Safa, H. L., & Bourelle, F. (1999). Sorption–desorption of aromas on multi-use PET bottles. A test procedure. *Packaging Technology and Science: An International Journal*, 12 (1), 37–44.
- Schieberle, P., & Hofmann, T. (1997). Evaluation of the Character Impact Odorants in Fresh Strawberry Juice by Quantitative Measurements and Sensory Studies on Model Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (1), 227–232.
- Schwinn, M., Durner, D., Wacker, M., Delgado, A., & Fischer, U. (2019). Impact of fermentation temperature on required heat dissipation, growth and viability of yeast, on sensory characteristics and on the formation of volatiles in Riesling. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25 (2), 173–184.
- Vetter, E. (2012). Aromamigration in elastomere Wekstoffe: Kleines Bauteil - große Wirkung. *DMW - Die Milchwirtschaft*, 3 (10), 380–386.
- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding wine chemistry*. John Wiley & Sons.
- Yoder, W. M., Currilin, S. W., Larue, A., Fernandez, K. M., King, D., & Smith, D. W. (2012). Interaction of guaiacol and methyl salicylate in binary mixture significantly lowers

perceptual threshold in human observers. *Journal of Sensory Studies*, 27 (3), 161–167.

Ziegler, M., Gök, R., Bechtloff, P., Winterhalter, P., Schmarr, H.-G., & Fischer, U. (2019). Impact of matrix variables and expertise of panelists on sensory thresholds of 1, 1, 6-trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene known as petrol off-flavor compound in Riesling wines. *Food Quality and Preference*, 78, 103735.

Supplementary material

Table A.1 Highest presented aroma compound concentrations in water, model wine and white wine for OT determination. Highest concentrations were diluted six times by a factor of 3 and presented in ascending order.

	trained panel			consumer
	water [$\mu\text{g/L}$]	model wine [$\mu\text{g/L}$]	white wine [$\mu\text{g/L}$]	white wine [$\mu\text{g/L}$]
ethyl 2-methylbutanoate	3	100	10000	-
α -ionone	100	100	300	300
eugenol	30	300	1000	-
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	3000	10000	10000	-
γ -decalactone	100	1000	1000	-
δ -decalactone	300	3000	3000	-
γ -undecalactone	100	300	300	-

Table A.2 Sensory attributes for descriptive analysis of white wine spiked with α -ionone.

sensory attribute	preparation of reference standards 100 mL white wine
peach	+ 10 mL peach juice (Rauch GmbH & Co KG, Rankweil, Austria)
raspberry	+ 5 fresh raspberries, sieved after 5 min
green apple	+ peel of a fresh green apple, sieved after 15 min
floral, violets	+ 1 drop of violet oil (alles Duft, Düren, Germany)
artificial fruit	+ 10 mL raspberry syrup (REWE, Neustadt, Germany) + 5 drops of artificial banana aroma (McCormick & Co, Baltimore, USA)

6.2 Originalarbeit zum Thema: Methodenentwicklung zur direkten Untersuchung der Aromaverschleppung in Dichtungsmaterialien in einem Modellsystem

Unterschiedliche Analyseansätze zur Bestimmung der Aromastoffe, die in eine Polymermatrix aufgenommen werden, sind in der Literatur beschrieben und teilen sich in direkte und indirekte Methoden auf. Insbesondere direkte Methoden, die umfangreiche äußere Störfaktoren ausschließen können, erweisen sich als erfolgversprechend. Es wurde eine direkte thermische Desorptionmethode mit anschließender Gas chromatographischer Auftrennung und massenspektrometrischen Detektion (TD-GC-MS) zur Bestimmung der absorbierten Aromastoffe aus einem aromatisierten Modellwein in EPDM-Dichtungsmaterialien entwickelt.

Die erstellte Methode ermöglichte die Untersuchung der Aromaverschleppung, die sich aus einer Absorption einzelner Aromastoffe in Dichtungsmaterialien, sowie der nachfolgenden Migration in ein zweites Produkt zusammensetzt. In der Auswertung wurden störende Koelutionen aufgrund der Polymermatrix mittels PARAFAC2 durch mathematisches Entfernen des EPDM-Hintergrundsignals eliminiert. Die erfasste Absorption der Aromastoffe und deren nachfolgende Verschleppung in einen Modellwein konnte mit Hilfe der Polarität (log P Wert) der Aromastoffe erklärt werden. Das höchste Verschleppungsrisiko unter den sieben betrachteten Aromastoffen wurde für den unpolarsten Aromastoff α -Ionon aufgezeigt.

Hinweis zum Copyright:

Reprinted with permission from J. Gottmann, J. Vestner, D. Müller, J. Schuster, U. Fischer: Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System, *J. Agr. Food Chem.*, 38, 11382–11394, 2021. Copyright © 2021 American Chemical Society.

URL: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jafc.1c04565>

DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04565>

Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System

Jörg Gottmann, Jochen Vestner, David Müller, Jens Schuster, and Ulrich Fischer*



Cite This: *J. Agric. Food Chem.* 2021, 69, 11382–11394



Read Online

ACCESS |



Metrics & More



Article Recommendations



Supporting Information

ABSTRACT: Aromatized wines and regular table wines are often filled on the same bottling line. Sealing polymers in the filling line absorb volatiles from aromatized wines and may migrate due to insufficient cleaning into the subsequently bottled regular wine. Unintentional carryover of volatiles may lead to accusation of illegal aromatization of wine. Absorption, cleaning efficacy, and migration of volatiles into ethylene propylene diene monomer rubber were investigated in a model system. Direct thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry analysis of seven aroma compounds monitored variation in the polymer ($\mu\text{g/g}$). Absorption of volatiles was mostly driven by their octanol/water partition coefficients. Cleaning of polymers removed 11 to 62% of the absorbed volatiles. Subsequent immersion of cleaned polymers into model wine revealed migration of 20 to 57% of the remaining volatiles. Sensory tests suggested the impact of transferred volatiles into subsequent model wine. For α -ionone, an odor activity value of 1.03 indicated a potential sensory impact.

KEYWORDS: wine, aroma compounds, absorption, migration, cleaning, GC–MS, odor aroma value

■ INTRODUCTION

Aromatized wine-based alcoholic beverages such as traditional mulled wine and carbonated wine-based cocktails are usually bottled on the same filling lines on which regular wines are also filled. Sealings in the filler absorb volatiles to varying degrees from the flavored wine beverage. When a conventional wine is bottled subsequently, volatiles may migrate from the sealing into the wine. Despite the application of industry standard clean-in-place (CIP) procedures, the concentrations of volatiles in the subsequent bottled wine may exceed the analytical limit of detection (LOD).¹ These circumstances will be treated as a violation of the worldwide legislation, which strictly bans any aromatization of regular wine.² The application of state-of-the-art analytical instruments with steadily increasing sensitivity led to allegations of fraud against wine producers in the past. Furthermore, authenticity of suspicious wines can be examined via their natural distribution of the R/S enantiomers for a limited number of chiral aroma compounds if required.^{3–6} No limits for unintentional carryover from an aromatized product to regular wine are currently defined by legislature. Moreover, very high added aroma concentrations (mg/L) in aromatized wine-based beverages increase the chance for aroma carryover.⁶

Transfer of contaminants is well-studied in food packaging and processing. Scalping describes the absorption of aroma compounds from foodstuff by polymer materials. Leaching defines migration of contaminants from polymer materials into food products or the environment.⁷ The aforementioned aroma carryover in filling lines comprises both scalping of aroma compounds by sealing polymers and leaching of these compounds from the polymers into the subsequently filled wine. Commonly used sealing polymers are ethylene propylene

diene monomer rubber (EPDM), saturated or hydrogenated nitrile butadiene rubber (NBR/HNBR), and highly fluorinated rubber (FKM). Each material exhibits varying degrees of beneficial properties such as inertness, flexibility, and stability against temperature and the filling medium but also disadvantageous properties such as stiffness and high price. Due to its flexibility, chemical resistance, and low price, EPDM is the most frequently used sealing material in beverage processing.^{8,9}

Recent studies investigated sorption of aroma compounds into polymer materials,^{10–21} but the bidirectional scalping and leaching of aroma compounds have not yet been studied in depth for sealing polymers. Direct and indirect analytical approaches are commonly applied to determine scalping of aroma compounds from packaging materials. Methods for the indirect determination of scalping quantify the loss of aroma compounds from foodstuff or beverages due to absorption into polymers during storage. Extraction methods such as liquid–liquid extraction followed by gas chromatography (GC) as a function of time are commonly applied.^{11,15,17,22} Indirect quantitation of aroma scalping in the product can be erroneously influenced by other factors contributing to decreasing aroma compounds such as hydrolysis, oxidation, or loss by volatilization.²¹ In contrast, direct quantitation of

Received: July 28, 2021

Published: September 17, 2021



ACS Publications

© 2021 The Authors. Published by
 American Chemical Society

11382

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04565>
J. Agric. Food Chem. 2021, 69, 11382–11394

absorbed aroma compounds in the packing material itself eliminates the aforementioned errors.

Solid–liquid extraction of various packaging materials followed by GC analysis has been applied to directly determine flavor scalping.^{19,21} This includes *D*-limonene and other volatiles from EPDM and silicone,²³ milk flavor compounds from low-density polyethylene,¹⁰ and wine volatiles from polyethylene films.¹⁷ To quantitate absorbed linalool and ethyl octanoate in polymer films of solid packaging materials, Licciardello et al. used multiple-headspace solid-phase micro-extraction coupled to GC–MS (MHS–SPME–GC–MS) analysis.¹³ However, the combination of thermal desorption and static SPME works only with relatively moderate temperatures, as high temperatures favor redesorption of volatiles from the solid phase. Higher temperatures can be realized with dynamic headspace methods and direct thermal desorption (TD) with cryofocusing and/or solid-phase trapping. Thermal desorption has been carried out previously to investigate the absorption of *D*-limonene into various packaging materials.²⁴

The analysis method VDA 278 of the German Association of the Automotive Industry (VDA) is a standardized rapid method utilizing direct thermal desorption for the determination of volatile organic compounds (VOC) in polymer materials.²⁵ Each polymer material releases volatiles as a function of desorption temperature and may decompose at high temperatures. These polymer volatiles and their degradation products may coelute with the target compounds. Therefore, computational deconvolution helps to separate the targeted signal from other peaks and baseline noise, enhancing sensitivity for each target compound compared to conventional peak integration. Among other algorithms, PARAFAC2 has performed exceptionally well for deconvolution of GC–MS chromatograms of multiple samples.^{26,27}

The actual absorption of aroma compounds into EPDM and the migration out of EPDM into a subsequent media have never been quantified. The objective of this study was to develop a simple model system, which allowed the controlled investigation of the scalping of aroma compounds by EPDM, cleaning, and leaching of aroma compounds from EPDM into a subsequent model wine. This model system simplifies the complex aroma carryover phenomenon occurring in a filling line for wine. The developed direct TD–GC–MS method quantifies the amount of absorbed aroma compounds in the polymer. Deconvolution using the PARAFAC2 algorithm circumvents coelution of target aroma compounds and coeluting heat-released polymer volatiles. Seven aroma compounds, which are frequently added to aromatized wine-based beverages, served as representative marker compounds for the aromatization. EPDM polymers exposed to an aromatized model wine were further cleaned according to an industry standard sequence and afterward exposed to a model wine free of any added aroma. Obtained residual concentrations of aroma compounds are discussed in terms of their putative sensory impact with respect to their odor thresholds. In the future, this model system could allow testing of different strategies to decrease the absorption of aroma compounds into sealing polymers.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals. Aroma compounds were supplied by Sigma-Aldrich KGaA (Darmstadt, Germany) with the following purities: ethyl 2-methylbutyrate ([CAS 7452-79-1], 99%), α -ionone ((*E*)-4-(2,6,

trimethylcyclohex-2-en-1-yl)but-3-en-2-one, [CAS 127-41-3], $\geq 96\%$), γ -decalactone (5-hexyloxolan-2-one, [CAS 706-14-9], $\geq 98\%$), δ -decalactone (6-pentyloxolan-2-one, [CAS 705-86-2], $\geq 98\%$), γ -undecalactone (5-heptyloxolan-2-one, [CAS 104-67-6], $\geq 98\%$), eugenol (2-methoxy-4-prop-2-enylphenol, [CAS 97-53-0], 99%), *trans*-cinnamaldehyde ((*E*)-3-phenylprop-2-enal, [CAS 14371-10-9], $\geq 99\%$), and 3-methylbutyl acetate ([CAS 123-92-2], $\geq 99\%$). Sodium hydroxide (98%) and citric acid (99.5%) were provided by Merck KGaA (Darmstadt, Germany). *D*-Glucose (p.a.), *D*-fructose ($>99.5\%$), *L*-tartaric acid ($\geq 99\%$), *D*-malic acid ($\geq 99.5\%$), *L*-lactic acid ($\geq 95\%$), sodium chloride ($\geq 99\%$), and glycerin ($\geq 99\%$) were obtained from Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Germany). Ethanol (96%) was purchased from Berkel AHK (Ludwigshafen, Germany).

Model Wine. Model wine consisted of 12% ethanol, 2.5 g/L *D*-glucose, 2.5 g/L *D*-fructose, 1.5 g/L *L*-tartaric acid, 1.5 g/L *D*-malic acid, 1.5 g/L *L*-lactic acid, and 6 g/L glycerin. The pH value of the model wine was adjusted to 3.5 with a 10 N sodium hydroxide solution.³

The aromatized model wine was prepared by adding a mixture of all aroma compounds in ethanol with concentrations corresponding to experiment 1 (Table 1) and experiment 2 (Table 4), respectively.

Polymer Material. An ethylene propylene diene monomer (EPDM) specimen with a thickness of 2 mm was manufactured by the Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW), University of Applied Sciences Kaiserslautern. The investigated polymer material is composed of 100 phr KEP 510, 100 phr Aktifit VM, 15 phr white oil, 8 phr Peroxan DC, and 2 phr TAC-70 XP. The nonpolar KEP 510 is an EPDM with a particularly high C2 content (71%).

Model System. A round EPDM plate was clamped into a stainless-steel bracket, which allows exposure of only one side of the EPDM plate. The bracket was placed in a closed-glass 1 L beaker with a magnetic stirrer (350 rpm). The plates were immersed for 48 h in 500 mL of aromatized model wine or original wine at a room temperature of 20 °C (Figure S1).

Cleaning of the EPDM Material. The cleaning schedule for the prevention of aroma migration in wine filling within the guideline of the German Ministry for Nutrition and Agriculture (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, BMEL) was applied.¹ The cleaning process consisted of six steps, which were carried out in a 1 L beaker with a magnetic stirrer (350 rpm). EPDM plates were exposed to the cleaning solutions within the clamping device. A first rinse with cold deionized water for 10 min removed residues of the previous wine. The following rinse with 1.5% sodium hydroxide solution at 85 °C for 20 min eliminated potential solid residues from the sealing. Subsequent rinsing for 15 min with hot deionized water at 80 °C and for 10 min with cold deionized water removed the alkaline residues. To neutralize potential residues of sodium hydroxide, a rinse with 1.5% citric acid solution at 35 °C was carried out for 15 min followed by a final 10 min rinse with cold deionized water.

TD–GC–MS. Volatiles were analyzed with an Agilent 6890 gas chromatograph (GC) equipped with an Agilent 5975 C mass spectrometer (MS), a thermo desorption unit (TDU), a cold injection system (CIS), and a multipurpose sampler (MPS), all provided by Gerstel (Mühlheim, Germany). Separation was achieved with a ZB-WAXplus column of 30 m \times 0.25 mm internal diameter and 0.5 μ m film thickness (Phenomenex, Germany). The oven program started at 40 °C for 2 min followed by a 3 °C/min increase to 60 °C. The temperature rose further by 20 °C/min until 180 °C was reached followed by a slower increase of 5 °C/min up to 240 °C, which was maintained for 9 min. The total run time was 35.6 min. The transfer line temperature was set to 250 °C, and helium carrier gas was used at a constant flow rate of 1.2 mL/min. The electron ionization source was operated in positive mode at 70 eV, and the source temperature was set to 230 °C. All mass spectra were acquired in scan mode from *m/z* 30–300. The initial TDU temperature was set to 30 °C, maintained for 1 min, and then heated up to the final extraction temperature (90, 150, and 200 °C) at a rate of 720 °C/min, which was kept constant for 30 min in splitless mode. The final extraction temperature for further experiments was chosen based on the evaluation in the adaptation section of the TD–GC–MS method

with 150 °C. This procedure ensured a transfer of more than 95% of the target compounds within the first heating cycle. The TDU transfer line was kept at 280 °C. Based on several trials with varying cryofocusing temperatures and CIS-liner fillings such as glass wool or Tenax TA, we chose an initial CIS temperature of 0 °C combined with a CIS-liner filling of Tenax TA (data not shown). After thermal extraction, the CIS was heated at a rate of 12 °C/min to 250 °C and held for 5 min. The GC inlet was run in solvent vent mode. The total flow was set to 24 mL/min, while the purge flow to the split vent was set to 20 mL/min at 0.01 min, which corresponded to a split ratio of 1:20. The gas saver was set to 15 mL/min after 20 min until the end of the GC analysis. The vent flow was operated at 25 mL/min with a vent pressure of 20 kPa until 0.01 min.

Direct Quantitation of Absorbed Aroma Compounds in EPDM. Prior to analysis, EPDM plates were rinsed with deionized water and dried with a cellulose tissue. Samples were stamped out with a hole punch (\varnothing 2 mm). Four punched samples were weighed and placed as one sample into a TDU liner with silanized glass wool and analyzed with TD–GC–MS. Before the GC–MS analysis started, 1 μ L of 3-methylbutyl acetate (9 μ g/L) was directly added as an internal standard by the MPS. Internal standard solution was prepared in MTBE. Aroma compounds were quantified by an external calibration.

For the calibration, four punched nontreated EPDM samples were placed in a TDU liner with glass wool, and the MPS pipetted 1 μ L of each calibration standard solution directly into the TDU liner. Calibration standards were prepared in MTBE. In addition to each calibration level, 9 μ g/L 3-methylbutyl acetate was added.

Quantitation of Aroma Compounds in Model Wine. Determination of aroma compounds in model wine was carried out by stir bar sorptive extraction (SBSE), using a magnetic stir bar with PDMS coating and a total length of 1 cm (Twister).^{28,29} Twisters were preconditioned on the TubeConditioner provided by Gerstel (Mühlheim, Germany) for 2 h at 250 °C. A 1 mL aliquot of model wine was pipetted into a 15 mL vial filled with 9 mL of a saturated sodium chloride water solution. A conditioned Twister was added, and the vial was closed and stirred at 300 rpm for 2 h. Prior to analysis, the Twister was rinsed with deionized water, dried with a cellulose cloth, and placed into the conditioned TDU line. The MPS automatically pipetted 1 μ L of 3-methylbutyl acetate (9 μ g/L) as an internal standard on the Twister in the TDU liner. The SBSE analysis was achieved with the same TD–GC–MS instrument, using the same temperature program and settings as for direct analysis from EPDM samples. SBSE calibration was prepared with 1 mL of model wine supplemented with the corresponding concentrations of the calibration level and processed as described.

PARAFAC2 Deconvolution. PARADISE (ver. 3.9) software using the PARAFAC2 algorithm was applied for deconvolution.^{26,27} All chromatograms were imported in a .cdf format, and retention time intervals for each individual analyte were selected. PARAFAC2 modeling options were set to a maximum of 7 PARAFAC components per retention time with a maximum of 2000 iterations per interval for the calculation of the model. The best model for each retention time interval was selected according to a high fitting, low randomized residuals without a structure, high core consistency, and the avoidance of overfitting. The PARAFAC2 model of each compound provides relative concentrations within the given data set. Provided relative concentrations for each analyte were set into relation to the internal standard 3-methylbutyl acetate, and a calibration with a corresponding linear model was created.

Peak Integration. Chromatograms were acquired and integrated using MassHunter Qualitative Analysis software (ver. B.05.00, Agilent Technologies). Chromatograms were loaded in the Agilent native format (.D), and intervals for each individual analyte were selected. Subsequently, selective ions for each individual analyte were chosen, and the corresponding peaks were integrated. Obtained areas for each individual analyte were set in relation to the internal standard 3-methylbutyl acetate. For calibration, a linear model was created for each compound.

Experimental Design. Recovery as a Function of Desorption Temperature and Load Concentration (Experiment 1). Round EPDM plates fixed in the clamping device were exposed for 48 h within stirred model wine, which contained increasing concentrations of the aroma compounds: ethyl 2-methylbutanoate (60, 150, and 375 μ g/L), α -ionone (64, 160, and 400 μ g/L), γ -decalactone (200, 500, and 1250 μ g/L), δ -decalactone (328, 820, and 2050 μ g/L), γ -undecalactone (200, 500, and 1250 μ g/L), eugenol (224, 560, and 1400 μ g/L), and *trans*-cinnamaldehyde (148, 370, and 925 μ g/L).

To investigate the desorption efficiency of 90, 150, and 200 °C desorption temperatures, EPDM samples were loaded with the medium concentration of aroma compounds (Table 1), and three consecutive analyses were performed. All analyses were performed in duplicate. An internal standard was added to each individual measurement in advance, and the TDU liner was placed back into the TDU sample tray in between the consecutive measurements. In addition to the loaded samples, the background signal was recorded with EPDM blanks.

To examine the effect of load concentration, all three concentrations were three times sequentially desorbed in duplicates at a desorption temperature of 150 °C. Desorption time was limited to 30 min to ensure a total run time of 60 min maximum and a high sample throughput. Recovery was determined using the GC–MS conditions described above.

Quantitative Analysis of Aroma Compounds after Absorption, Cleaning, and Migration (Experiment 2). This experiment was divided into three parts. The absorption of aroma compounds by EPDM plates followed by a cleaning step and a further immersion for 48 h in model wine free of any aroma volatiles.

EPDM plates were immersed for 48 h in aromatized model wine containing aroma compounds in the concentration according to Table 4. As a control, a 48 h immersion in aromatized model wine was carried out with the same experimental setting but without EPDM. At the beginning and at the end of the immersion of EPDM in aromatized model wine, the concentration of each aroma component in model wine was determined. The EPDM plate was cleaned in several steps as described in the section on cleaning of the EPDM material. After cleaning, the EPDM plate was immersed for 48 h in the original model wine. The final concentration of aroma compounds in the model wine was determined. The concentrations of all aroma compounds in EPDM were directly analyzed by TD–GC–MS after each individual step. To ensure a complete EPDM plate in the clamping device, a separate experiment for each individual EPDM analysis step was investigated. Experiments were repeated three times, and analytical measurements were duplicated.

Time-Dependent Investigation of Absorption and Migration of Aroma Compounds (Experiment 3). Investigating the kinetics of the absorption and migration process of volatiles in EPDM polymers, 120 punched samples (\varnothing 2 mm, 2 mm height, and 6.5 mg) were exposed directly to aromatized model wine, cleaning agents, and the original model wine. EPDM samples were immersed for 48 h in model wine with the following concentrations: ethyl 2-methylbutanoate, 110 μ g/L; α -ionone, 160 μ g/L; γ -decalactone, 90 μ g/L; δ -decalactone, 100 μ g/L; γ -undecalactone, 70 μ g/L; eugenol, 110 μ g/L; and *trans*-cinnamaldehyde, 80 μ g/L. After the standardized cleaning process, the samples were immersed for 48 h into the original model wine. For replication, two parallel experiments were conducted. For each time point, four punched samples were removed and were analyzed together within one TD–GC–MS run. At the same time points, volatiles were directly determined from the model wine via SBSE–GC–MS.

Sensory Evaluation. Nine wine experts who regularly participate in in-house-tastings were recruited from the Institute for Viticulture and Oenology (DLR Rheinpfalz, Neustadt a. d. Weinstraße, Germany). A “two-out-of-five test” was conducted according to Meilgaard et al. to identify a potential difference between the model wine with and without 48 h contact with the cleaned EPDM sealing.^{30,31} Panelists received five samples and had to identify the two deviating samples, which could be either the sample in contact with the cleaned EPDM sealing or the reference model wine. The 20 mL

Table 1. Recovery for Multiple Consecutive Thermal Desorptions of EPDM Discs for Different Concentrations (Low, Medium, and High) in the Aromatized Model Wine and Desorption Temperatures of 90, 150, and 200 °C^c

aroma compound	desorption temperature [°C]	concentration in model wine [μg/L]	sum of relative concentration ^a	number of desorption, recovery in %		
				1	2	3
ethyl 2-methylbutanoate	90	150	436,934	100	- ^b	-
	150	60	592,652	100	-	-
	150	150	1,390,186	100	-	-
	150	375	3,660,756	100	-	-
	200	150	571,089	100	-	-
α -ionone	90	160	8,157,074	80.5	14.0	5.5
	150	64	4,525,939	100	-	-
	150	160	6,956,126	100	-	-
	150	400	19,275,022	100	-	-
	200	160	6,313,045	100	-	-
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	90	370	738,017	96.8	3.2	-
	150	148	102,868	100	-	-
	150	370	539,842	100	-	-
	150	925	1,989,826	100	-	-
	200	370	174,972	100	-	-
eugenol	90	560	566,359	66.6	30.4	3.0
	150	224	-	-	-	-
	150	560	64,033	100	-	-
	150	1400	758,178	100	-	-
	200	560	112,805	94.5	5.5	-
γ -decalactone	90	500	2,069,742	65.8	26.9	7.3
	150	200	1,211,000	86.2	13.8	-
	150	500	1,599,369	93.8	6.2	-
	150	1250	3,831,101	95.5	4.5	-
	200	500	1,341,477	100	-	-
δ -decalactone	90	820	346,979	60.0	26.4	13.6
	150	328	-	-	-	-
	150	820	178,364	100	-	-
	150	2050	798,785	100	-	-
	200	820	251,490	100	-	-
γ -undecalactone	90	500	5,976,821	64.6	25.4	10.0
	150	200	2,363,356	91.5	5.5	3.0
	150	500	4,282,149	96.7	1.0	2.3
	150	1250	11,077,334	98.5	0.6	0.9
	200	500	3,438,601	100	-	-

^aRelative concentration obtained by PARAFAC2 deconvolution (concentration loadings) in the sum of all three desorption steps, RSD for each temperature and concentration below 20%. ^bNot detectable. ^cValues are means of duplicate analysis.

samples were presented in a transparent INAO (Institut national de l'origine et de la qualité, France) wine glass covered with plastic lids.

Statistical Analysis. Statistical data evaluation was done using XLStat (Addinsoft, Paris, France). Mean values of concentrations of aroma compounds were compared using Student's *t*-test ($p < 0.05$) and one-way analysis of variance (ANOVA, $p < 0.05$) with the post hoc Fisher least significant difference test (LSD, $p < 0.05$). Values provided in the charts and tables are given as mean \pm standard deviation of the sample.

RESULTS AND DISCUSSION

Aroma carryover is particularly observed in filling lines during consecutive bottling of aromatized wine products and regular wines in the wine industry.¹ In this study, eugenol (spicy,

cloves), *trans*-cinnamaldehyde (cinnamon), ethyl 2-methylbutanoate (apple), α -ionone (raspberry), and the lactones γ -decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone (peach-like aroma) were used as markers for aromatized wine products.^{3,4} Eugenol and *trans*-cinnamaldehyde are essential in traditional European mulled wine. The lactones γ -decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone are widely used for peach- and tropical fruit-flavored wine-based cocktails,⁶ while ethyl 2-methylbutanoate and α -ionone yield a fruity and raspberry aroma, respectively. The selected volatiles exhibit physicochemical properties covering a wide range of polarity of log *P* of 1.9 for *trans*-cinnamaldehyde and log *P* of 3.7 for α -ionone, as well as boiling points between 133 °C for 2-methylbuta-

noate and 286 °C for γ -undecalactone (Table S1). All compounds, except eugenol and *trans*-cinnamaldehyde, are chiral.

Development of a Model System to Investigate Aroma Carryover. To investigate the absorption process of aroma compounds into sealing and their subsequent migration from the sealings into the original model wine, a stainless-steel bracket was designed, which exposes only one side of the sealing polymer to the model wine (Figure S1). EPDM plates with a diameter of 3.9 cm fit tightly into the bracket yielding an exposed area of 7.9 cm² with a weight of 3.2 g. The polymer was immersed in the model wine for 48 h, which corresponds to the maximum contact time of an aromatized wine cocktail charged within a bottling run. To mimic the flow rate of wine during bottling, the model wine was constantly stirred at 350 rpm. Multiple discs from the polymer plate were punched out for subsequent thermal desorption.

Adaptation of the TD–GC–MS Method for Direct Extraction from Polymers (Experiment 1). Direct thermal desorption for the extraction of volatiles from the polymer material ensured fast and automated sample preparation.

Desorption Temperature. Desorption temperature should be high enough to yield nearly 100% recoveries of the aroma compounds from the analyzed EPDM sample. At the same time, excessive temperatures increase release of volatile matrix constituents due to polymer degradation causing unwanted chromatographic noise. Table 1 reveals recoveries of the aroma compounds during three consecutive desorption trials at varying temperatures and loading concentrations. At a desorption temperature of 90 °C, the anticipated recovery of more than 95% could only be achieved for ethyl 2-methyl butanoate and *trans*-cinnamaldehyde. All other aroma compounds yielded unacceptable low recoveries of 60–80% during the first desorption step. At 150 °C, all aroma compounds yielded 100% recovery, except for the highest boiling γ -decalactone and γ -undecalactone yielding 93.8 and 96.7%, respectively. At 200 °C, all compounds yielded 100% recovery except for eugenol with 94.5%. Total ion current (TIC) chromatograms in Figure S2 for thermal desorption of EPDM samples at 90, 150, and 200 °C reveal the lowest background in the chromatogram at 90 °C compared to 150 and 200 °C. After 16 min, desorption at 150 and 200 °C leads to a steep rise of the baseline due to volatiles from the EPDM matrix. The ruggedness of the analysis method was compromised by a high level of run-to-run contamination outlined in Figure S2 by an increased baseline at the end of the GC–MS run with a desorption temperature of 200 °C. Due to good recoveries of 93.8% or above for all aroma compounds within the first desorption and an acceptable background noise level, we chose 150 °C desorption temperature for further analysis.

Recoveries for Different Concentrations. In order to verify the applicability of the method at 150 °C for a broader concentration range, we determined recoveries at three concentrations varying by a factor of 6.25 (Table 1). For eugenol and δ -decalactone, the TD–GC–MS method was too insensitive to quantitate the lowest loading concentration. Figure 1 displays a linear relationship between the concentrations of aroma compounds in the model wine and the absorbed concentrations determined in EPDM after immersion (R^2 of 0.94–0.99). The final TD–GC–MS method allowed a direct determination of scalping of different volatiles

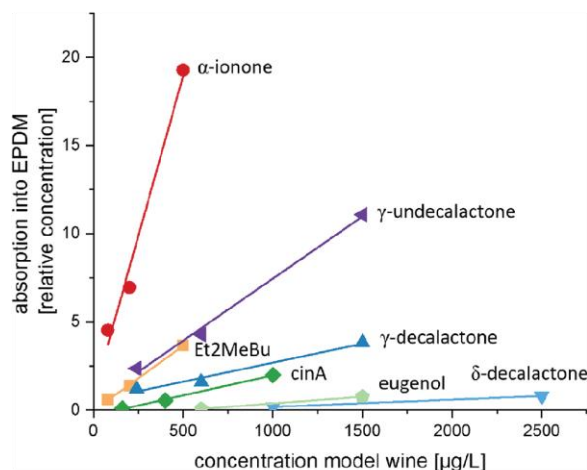


Figure 1. Relationship between absorbed aroma compounds into EPDM polymers after 48 h contact time and three concentrations added to model wine. Ethyl 2-methylbutanoate (Et2MeBu); *trans*-cinnamaldehyde (cinA).

in EPDM with recoveries larger than 93.8% with only one desorption step.

Comparison of Peak Integration versus Deconvolution. The desorption temperature of 150 °C led to elevated background noise in the chromatogram due to released volatile constituents of the EPDM matrix. Peak integration of the most abundant ion chromatogram of an analyte requires selectivity of this ion trace to eliminate coelution. In the case of the three lactones, it was particularly difficult to find selective ions with high intensity to warrant a high sensitivity of the method. The base peak ion of γ -decalactone and γ -undecalactone at m/z 85 was abundant in the coeluting EPDM background noise, which disqualifies it as a qualifier mass. Thus, for peak integration, we chose the less intense but more selective m/z 128 as a qualifier mass for both lactones. Coeluting background noise occurred also with the m/z 99 base peak ion for δ -decalactone, and we selected the less intense ion m/z 114 for peak integration, which resulted in a higher limit of detection. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) are generally set to signal-to-noise ratios (S/N) of 3/1 and 10/1, respectively. Figure 2 displays the PARAFAC2 deconvolution for γ -decalactone, which has caused difficulties with the common peak integration. Compound 2 corresponds to the deconvoluted γ -decalactone signal, compound 1 represents the deconvoluted peak profile of a coeluting volatile, and compounds 3 to 6 are due to background noise. While manual peak integration via MassHunter software is limited by the required signal-to-noise ratio, PARAFAC2 is able to separate the analyte signal of the signal nearly entirely from the background noise, and thus, sensitivity is enhanced by computational elimination of background noise. Concentration profiles of PARAFAC2 deconvolution of the analytes can directly be used for quantitation. Compared to the integration of every single peak, PARAFAC2 deconvolution is faster and more convenient, especially for larger data sets, as only a single model is constructed for all chromatograms. A direct comparison of quantitative results in Figure 3 from peak integration and PARAFAC2 deconvolution reveals the improved sensitivity of the PARAFAC2 method at very low concentrations, such as for δ -decalactone and eugenol. Since

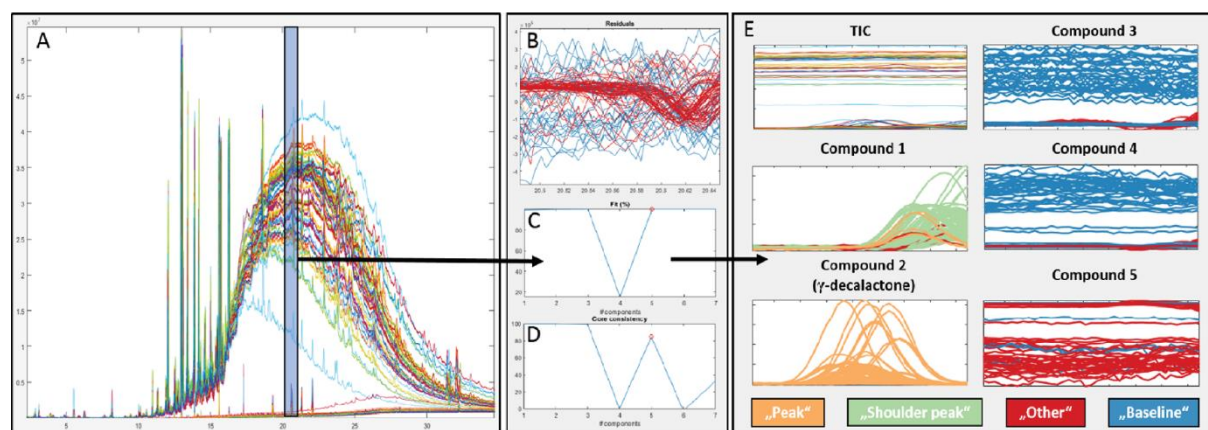


Figure 2. Graphical user interface of PARADISE performing PARAFAC2 deconvolution: (A) superimposed total ion current (TIC) chromatograms of all 188 samples indicating the blue segment in which deconvolution is done. (B) Remaining residuals of the chosen model based on 5 compounds, (C) individual fit of models based on 1 to 7 compounds in %, (D) individual core consistency of models based on 1 to 7 compounds in %. (E) Deconvoluted chromatographic profiles displayed as TIC and 5 extracted compounds including the targeted γ -decalactone (compound 2), the coeluting compound 1, and background noise compounds 3, 4, and 5.

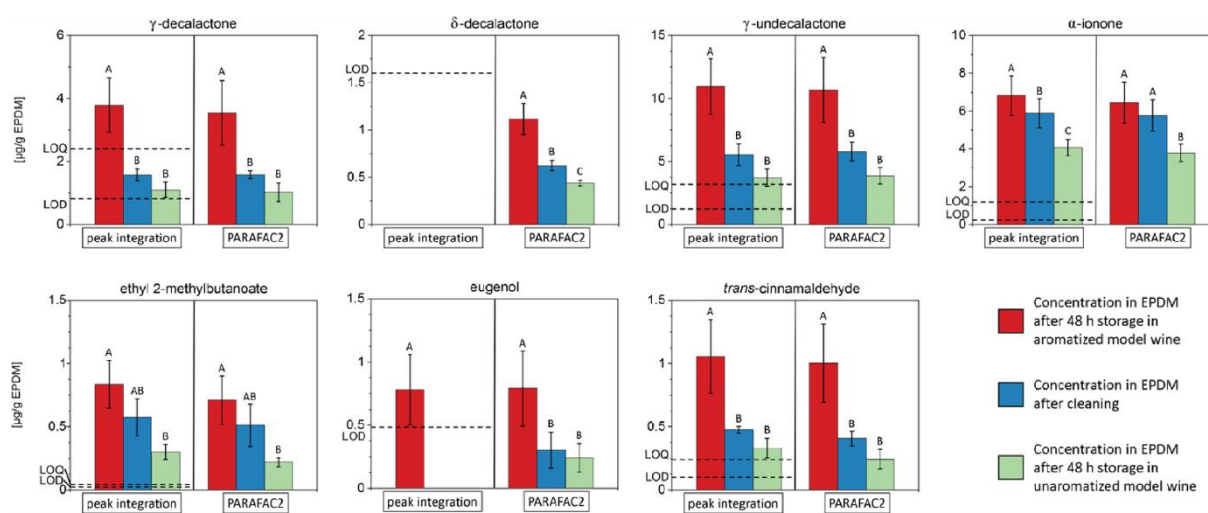


Figure 3. Concentration of aroma compounds in EPDM determined in experiment 2 after immersion of EPDM plates in aromatized model wine, cleaning, and immersion of EPDM plates in model wine free of any aroma compounds. Comparison of results obtained by peak integration (left box) and PARAFAC2 deconvolution (right box). Signal-to-noise ratios of 3:1 for the limit of detection (LOD) and 10:1 for the limit of quantitation (LOQ) were obtained by peak integration. Different letters represent significantly different concentrations according to a one-way ANOVA with Fisher's LSD test ($p < 0,05$) in between treatments ($n = 3$).

most of the compounds are well above their LOQ values, the Student's t -test between PARAFAC2 and manual peak integration did not show any significant differences between the mean values of both methods.

Calibration of TD–GC–MS and SBSE–GC–MS Methods. To ensure the same matrix and analytical conditions during calibration and sample analysis, methyl *tert*-butyl ether (MTBE) solutions of individual calibration concentrations were automatically pipetted onto the EPDM polymer inside the TDU liner using an MPS microsyringe. An internal standard was added to each calibration level to correct for run-to-run deviations prior to thermal desorption. Linear calibration models were obtained for all compounds (Table 2), and an SBSE method was calibrated for the quantitation of all aroma compounds directly from the model wine. Examining

the residuals of the models, the normal distribution and absence of a particular pattern revealed the linearity of the calibration. The accuracy of the method was determined via relative standard deviation (RSD) for the third concentration of the applied six calibration levels. RSD for direct polymer analysis varies for the purpose of this study in an acceptable low range of 4 to 17% among the seven volatiles. For ethyl 2-methylbutanoate, the PARAFAC2 method improved RSD from 12 to 4% compared to manual peak integration. For aroma analysis directly from the model wine, RSD for the quantitation of volatiles ranges between 4 and 18%. As before, the accuracy of the method benefited by the application of PARAFAC2 deconvolution for all aroma compounds (Table 2).

Table 2. Calibration Range for the Direct TD–GC–MS Determination of Volatiles in EPDM [$\mu\text{g/g}$] and Indirect SBSE–GC–MS Determination in Model Wine [$\mu\text{g/L}$]: Comparison of the Relative Standard Deviation (RSD), Coefficient of Determination (R^2), and Limits of Detection (LOD) and Quantitation (LOQ) for Peak Integration and PARAFAC2 Deconvolution

direct EPDM analysis TD–GC–MS								
concentration [$\mu\text{g/g}$]	PARAFAC2		m/z	peak integration				
	R^2	RSD ^a		LOD ^b [$\mu\text{g/g}$]	LOQ ^c [$\mu\text{g/g}$]	R^2	RSD ^a	
3-methylbutyl acetate (ISTD)	34.8		87					
ethyl 2-methylbutanoate	0.01–22.93	0.9997	4%	102	0.02	0.07	0.9991	12%
α -ionone	0.01–23.86	0.9904	11%	192	0.24	0.79	0.9937	11%
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	0.01–27.55	0.9885	12%	132	0.10	0.33	0.9937	10%
eugenol	0.01–28.15	0.9915	12%	164	0.48	1.58	0.9965	13%
γ -decalactone	0.01–24.78	0.9993	15%	128	0.80	2.64	0.9997	11%
δ -decalactone	0.01–24.57	0.9934	15%	114	1.60	5.28	0.9915	11%
γ -undecalactone	0.01–24.81	0.9872	17%	128	1.20	3.96	0.9943	17%
indirect analysis in model wine SBSE–GC–MS								
concentration [$\mu\text{g/L}$]	PARAFAC2		m/z	peak integration				
	R^2	RSD ^a		LOD ^b [$\mu\text{g/L}$]	LOQ ^c [$\mu\text{g/L}$]	R^2	RSD ^a	
3-methylbutyl acetate (ISTD)	8.7		87					
ethyl 2-methylbutanoate	1.1–258.0	0.9805	16%	102	0.3	1.0	0.9954	18%
α -ionone	1.1–268.4	0.9978	6%	192	1.0	3.3	0.9918	8%
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	1.3–310.0	0.9918	6%	132	0.8	2.6	0.9857	10%
eugenol	1.3–316.7	0.9912	5%	164	5.0	16.5	0.9913	10%
γ -decalactone	1.2–278.8	0.9972	4%	128	0.5	1.6	0.9977	9%
δ -decalactone	1.1–276.4	0.9950	6%	114	0.3	1.0	0.9928	7%
γ -undecalactone	1.1–279.1	0.9964	6%	128	2.0	6.6	0.9973	4%

^aRSD is indicated by relative standard deviation for the third calibration level ($n = 6$). ^bThe limit of detection (LOD) corresponds to a signal-to-noise ratio of 3:1. ^cThe limit of quantitation (LOQ) corresponds to a signal-to-noise ratio of 10:1.

Absorption and Migration of Aroma Compounds (Experiment 2). The process of absorption and migration of aroma volatiles in the context of aroma carryover during wine bottling is investigated in three steps: immersion of the EPDM plate in aromatized model wine, cleaning, and subsequent immersion of the EPDM plate in the original model wine free of any aroma. Concentrations of the selected aroma compounds in the EPDM polymer were determined before and after the cleaning step and after immersion of the EPDM plate in model wine. Additionally, the concentration of the migrated aroma compounds was directly determined in the model wine at the end of the experiment. A potential loss in the model system of aroma compounds during 48 h storage was determined via a control sample without any contact with EPDM (Table 4). A mean comparison of the data via Fisher's LSD test ($p < 0.05$) showed a significant decrease after 48 h for five of the seven aroma volatiles. This reveals the loss of volatiles during the experiment presumably by acid hydrolysis and volatilization into the headspace of the model system.²¹ A comparison with the control, which had no contact with EPDM, reveals a similar decrease of volatiles over 48 h, and no significant difference occurred for all seven volatiles. The loss of more than 50% of δ -decalactone, however, indicates the instability of the δ -lactone in model wine, while both γ -lactones were stable. Pérez-Prior et al. investigated the stability of ester and lactones in acidic conditions and revealed a two orders of magnitude higher hydrolysis rate for δ -valerolactone (C5) than for γ -butyrolactone (C4).³² This behavior was rationalized by a stronger repulsion of lone pair orbitals of the protonated carbonyl group within the δ -valerolactone and a water molecule, which favors hydrolysis. This was further supported by lower Gibbs energy for activation of the hydrolysis reaction

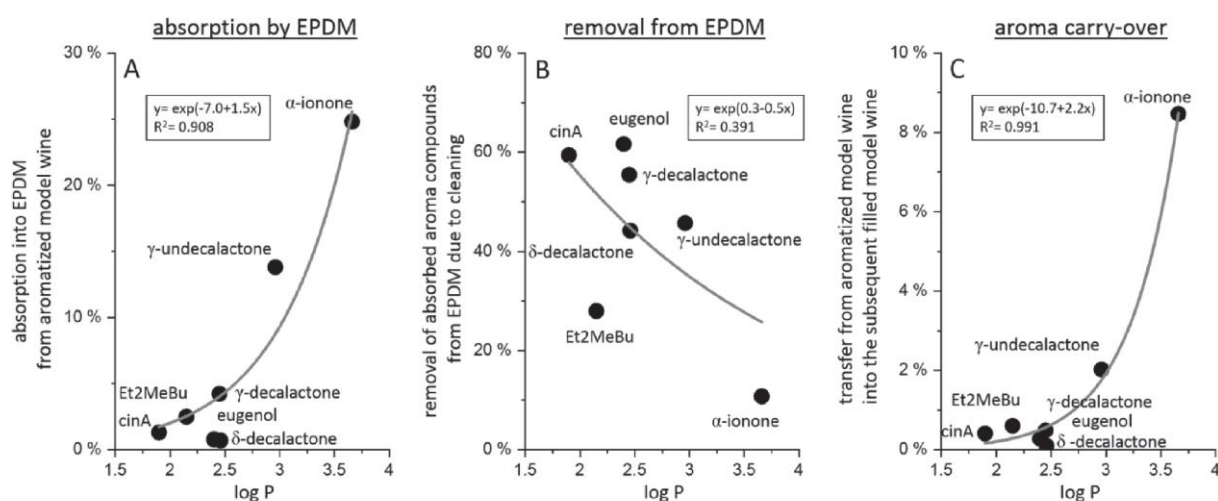
due to a better steric position of the hydrogen atoms in the δ -valerolactone than for the γ -butyrolactone.³³ If this observation would be also true for the larger lactones in our study, then this thermodynamic difference between δ - and γ -lactones would explain partially the observed loss of δ -decalactone.

The improved sensitivity of the PARAFAC2 deconvolution due to the computational separation of the analytical signal and the background noise matters particularly for quantitation of very low concentrations as it is the case for δ -decalactone and eugenol (Figure 3 and Table 3). In contrast, manual peak integration failed to give accurate quantitative data for these two compounds.

Quantitation of Absorbed Aroma Compounds in EPDM. All aroma compounds were absorbed by EPDM during immersion of the EPDM plate in the aromatized model wine. Applying the linear regressions displayed in Figure 1, no saturation of the added aroma compounds occurred within the EPDM polymer. The largest absorbed concentrations occurred for γ -undecalactone, α -ionone, and γ -decalactone with 10.7, 6.5, and 3.5 $\mu\text{g/g}$ polymer, respectively. They correspond to uptake values of 14, 25, and 4% of the added absolute concentrations in the aromatized model wine. Absorption of the remaining aroma compounds in the polymer varied between 0.7 and 1.1 $\mu\text{g/g}$ polymer corresponding to 1 to 2% of the initial absolute concentrations. The small absorption of only 1 to 4% of γ -decalactone, eugenol, ethyl 2-methylbutanoate, δ -decalactone, and *trans*-cinnamaldehyde in the EPDM polymer clearly shows the necessity for direct determination of aroma compounds within the EPDM samples. In fact, the absorbed amounts of volatiles were by far smaller than the inaccuracy of the SBSE analysis method of 4 to 16% (Table 2)

Table 3. Concentration of Aroma Compounds Absorbed into the EPDM Polymer [$\mu\text{g/g}$] after 48 h Storage in Aromatized Model Wine Followed by Cleaning and Subsequent 48 h Storage in Model Wine

	concentration in EPDM plates after				relative absorption from aromatized model wine into EPDM	relative loss of absorbed aroma compounds due to cleaning	relative loss of absorbed aroma compounds due to immersion in model wine after cleaning
	starting concentration in aromatized model wine [$\mu\text{g/L}$]	48 h storage in aromatized model wine in EPDM [$\mu\text{g/g}$]	cleaning of EPDM [$\mu\text{g/g}$]	48 h storage of cleaned EPDM in model wine [$\mu\text{g/g}$]			
ethyl 2-methylbutanoate	182.9 \pm 10.0	0.7 \pm 0.2	0.5 \pm 0.2	0.2 \pm 0.0	2%	28%	57%
α -ionone	166.5 \pm 17.4	6.5 \pm 1.1	5.8 \pm 0.8	3.8 \pm 0.5	25%	11%	34%
eugenol	655.4 \pm 30.0	0.8 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	1%	62%	20%
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	491.6 \pm 47.7	1.0 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	1%	59%	40%
γ -decalactone	536.6 \pm 30.6	3.5 \pm 1.0	1.6 \pm 0.1	1.0 \pm 0.3	4%	55%	35%
δ -decalactone	1024.5 \pm 36.3	1.1 \pm 0.2	0.6 \pm 0.1	0.4 \pm 0.0	1%	44%	30%
γ -undecalactone	495.1 \pm 17.9	10.7 \pm 2.6	5.8 \pm 0.8	3.9 \pm 0.7	14%	46%	33%

**Figure 4.** Absorbed aroma substances into EPDM from the aromatized model wine (A), removal of absorbed volatiles due to cleaning (B), and transfer of aroma volatiles of the first aromatized model wine into the subsequent filled model wine (C) in relation to the octanol/water coefficient of each volatile ($\log P$). Ethyl 2-methylbutanoate (Et2MeBu); *trans*-cinnamaldehyde (cinA).

yielding no significant differences in the aromatized model wines due to 48 h contact to EPDM polymers (Table 4).

Licciardello et al. describe $\log P$ values of aroma compounds as the driving force for scalping of linalool and ethyl octanoate in polymer films of solid packaging.¹³ As for most of the polymer materials, EPDM is apolar, and sorption of aroma compounds decreases with increasing polarity. Polarity of aroma compounds in this experiment varied between the most polar *trans*-cinnamaldehyde having a partition coefficient ($\log P$) value of 1.9 and the least polar α -ionone with 3.66. Correlating the $\log P$ value in Figure 4A with the percentage of absorbed aroma compounds by an exponential regression, we obtained a coefficient of determination (R^2) of 0.908. Thus, variation of absorption can be explained by 91% of the $\log P$ value of the aroma compounds. The effect of the $\log P$ value on the absorption was the most obvious for the γ -lactones. Diminishing the carbon chain length from 11 in γ -undecalactone to 10 in γ -decalactone yielded a threefold decrease in absorption into the EPDM polymer. Increasing the number of carbon atoms in the lactone's heterocyclic ring from 3 in γ -decalactone to 4 in δ -decalactone diminished the uptake by a factor of 3. This effect, however, could not be explained by

a large shift in the $\log P$ values, as they differ only marginally between 2.49 for γ -decalactone and 2.45 for δ -decalactone. The instability of δ -decalactone in model wine could mainly explain its low uptake of 1% by EPDM in Table 3 because the actual concentration of δ -decalactone consistently decreased during 48 h of contact time in the model wine. This explains further why the δ -decalactone behaves like an outlier in the exponential regression of $\log P$ versus percentage of absorption. In addition to δ -decalactone, eugenol was also observed as an outlier, but at this point, we have no explanation for this behavior. Therefore, we only eliminated the unstable δ -decalactone from the correlation analysis, and the degree of absorption of volatiles is even better explained by their $\log P$ values with an R^2 of 93%. Absorbed aroma concentration did not relate to any further physical properties from Table S1 of each aroma compound such as the boiling point, vapor pressure, or the diffusion rate in air and water.

Efficacy of the Cleaning Process to Desorb Aroma Compounds from EPDM. After contact with aromatized wine, cleaning involved the removal of wine residues by rinsing with cold deionized water followed by a rinsing step with 1.5% sodium hydroxide solution at 85 °C. Based on the increased

Table 4. Aroma Compounds in Model Wine Determined with SBSE–GC–MS and Their Sensory Relevance Based on Published Odor Thresholds^a

	volatile concentration determined in model wine [$\mu\text{g/L}$] after				published odor thresholds [$\mu\text{g/L}$]	OAV ^a
	start	48 h without EPDM (control)	48 h with EPDM	48 h immersion of a cleaned EPDM		
ethyl 2-methylbutanoate	182.9 \pm 10.0 a	139.3 \pm 14.1 b	135.2 \pm 20.9 b	1.1 \pm 1.3	18 ^C 41	0.06
α -ionone	166.5 \pm 17.4 a	134.0 \pm 4.5 b	121.9 \pm 10.3 b	14.1 \pm 1.7	10.6 ^B ; 4 10.5 ^C ; 4 13.7 ^D 4	1.03
eugenol	655.4 \pm 30.0 a	674.5 \pm 18.8 a	657.3 \pm 19.5 a	1.8 \pm 0.7	6 ^C 41	0.30
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	491.6 \pm 47.7 a	455.6 \pm 48.7 ab	432.4 \pm 21.1 b	<LOQ of 2.0	90 ^B 46	<0.02
γ -decalactone	536.6 \pm 30.6 a	542.7 \pm 7.2 a	532.5 \pm 14.2 a	2.6 \pm 0.2	90 ^B ; 47 793 ^C 42	0.003
δ -decalactone	1024.5 \pm 36.3 a	466.4 \pm 25.9 b	480.6 \pm 17.6 b	<LOQ of 1.0	150 ^B ; 47 386 ^C 48	<0.003
γ -undecalactone	495.1 \pm 17.9 a	478.7 \pm 8.2 ab	468.9 \pm 28.0 b	10.0 \pm 1.6	30 ^C ; 42 150 ^B 47	0.07

^aOdor activity values (OAV) were calculated by dividing the volatile concentration determined in model wine due to 48 h storage of a cleaned EPDM plate and the published odor threshold with the closest matrix to wine. In the case of volatiles below the LOQ, the LOQ was used as a reference concentration; odor thresholds determined in water^B, model wine^C, and wine^D; ANOVA, $p < 0.05$, and the Fisher LSD test; different letters indicate differences due to 48 h storage.

hydrolysis rate for esters in alkaline media, the cleaning effect was potentially enhanced.³⁴ In addition, a raised temperature can further improve the cleaning efficacy.³⁵ Alkaline residues were removed by rinsing with hot deionized water at 80 °C followed by a rinse with cold deionized water. Neutralization and removal of potential salt residues were achieved by a rinse with 1.5% citric acid solution followed by a final rinse with cold deionized water.

The analysis of the cleaned EPDM sealings revealed a partial diminution of all aroma compounds but not a complete removal. The cleaning procedure had the largest effect on the concentration of eugenol and *trans*-cinnamaldehyde in the EPDM polymer, both showing a 62 and 59% decrease, respectively, followed by the lactones γ -decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone with drops of 55, 44, and 46%, respectively. The cleaning procedure had the weakest effect on the concentrations of ethyl 2-methylbutanoate and α -ionone in the EPDM polymer, yielding removal values of only 28 and 11%, respectively. The failure to completely remove absorbed aroma compounds from the EPDM polymer is in accordance with Nishijima et al. who showed a cleaning efficacy of 40 to 70% for 1-hexanol, furfural, and 4-vinylguaicol for an EPDM polymer.²³ While absorption into the EPDM polymer correlated well with decreasing polarity of the aroma compounds, the efficacy of treatment with highly polar cleaning agents yielded only an R^2 of 0.38 with decreasing log P values (Figure 4B). Only ethyl 2-methylbutanoate did not follow this pattern, as the ester was even less removed to only 30% despite its second lowest log P value.

Migration of Aroma Compounds from EPDM into Model Wine. After cleaning, the EPDM plate was immersed for 48 h in the original model wine. This exposure led to a further decrease of aroma compounds in the EPDM polymer (compare Figure 3 and Table 3). Eugenol and *trans*-cinnamaldehyde decreased slightly in their absolute concentration by 0.06 and 0.16 $\mu\text{g/g}$ polymer corresponding to a further 20 and 57% decrease of the remaining aroma compounds within the EPDM polymer, respectively. γ -Decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone revealed drops by 0.6, 0.2, and 1.9 $\mu\text{g/g}$ polymer corresponding to a 35, 30, and 33% decrease. Ethyl 2-methylbutanoate and α -ionone decreased to a larger extent by 0.3 and 2.0 $\mu\text{g/g}$

polymer, which were equivalent to a 57 and 34% decrease, respectively.

Plotting log P values of the aroma compounds with the percentage transferred from the cleaned EPDM polymer into the original model wine yielded no correlation (R^2 of 0.046). Thus, it is not displayed in Figure 4. The function is similar to the removal due to cleaning, where a temperature of 85 °C fostered the migration process.

We analyzed the seven aroma compounds, which migrated during 48 h from the cleaned EPDM polymers into the model wine (Table 4). *trans*-Cinnamaldehyde and δ -decalactone were below the detection limit of the SBSE–GC–MS method in the model wine, while the other volatiles varied between 1.1 and 14.1 $\mu\text{g/L}$.

The overall carryover of aroma compounds was calculated by dividing the original concentration of aroma compounds added to aromatize the model wine in the first place by the concentration determined in the model wine exposed to the cleaned EPDM polymers. For five aroma compounds, carryover was less than 1%, and only for γ -undecalactone (2%) and α -ionone (8%), the aroma carryover was larger. In order to explain these differences, we correlated the overall carryover with the log P value of the individual aroma compounds in Figure 4C. Based on the R^2 of 0.991 obtained by an exponential regression, the log P explains 99% of the variation in carryover and is therefore a dominant factor (Figure 4C). Comparing Figure 4A and C, it becomes obvious that the overall carryover is predominantly driven by the amount of aroma compounds absorbed into the EPDM polymer during exposure to aromatized wines. The more the volatiles are taken up by the EPDM polymer, the more the aroma compounds will migrate back into the subsequently bottled wine.

Odor activity values (OAVs) are used to evaluate the potential sensory contribution of a volatile compound within a defined matrix. They are calculated by dividing the concentration analyzed in wine by the detection threshold, which was preferably determined in the same matrix or a model wine. Bear in mind that humans differ in their individual odor thresholds for wine aroma compounds by a factor of up to 1000.^{36,37} Thus, the OAV is only a gross estimation of the true sensory contribution of an aroma compound in a particular wine. Thus, the argument that an OAV of one or larger indicates a sensory contribution of a particular volatile in

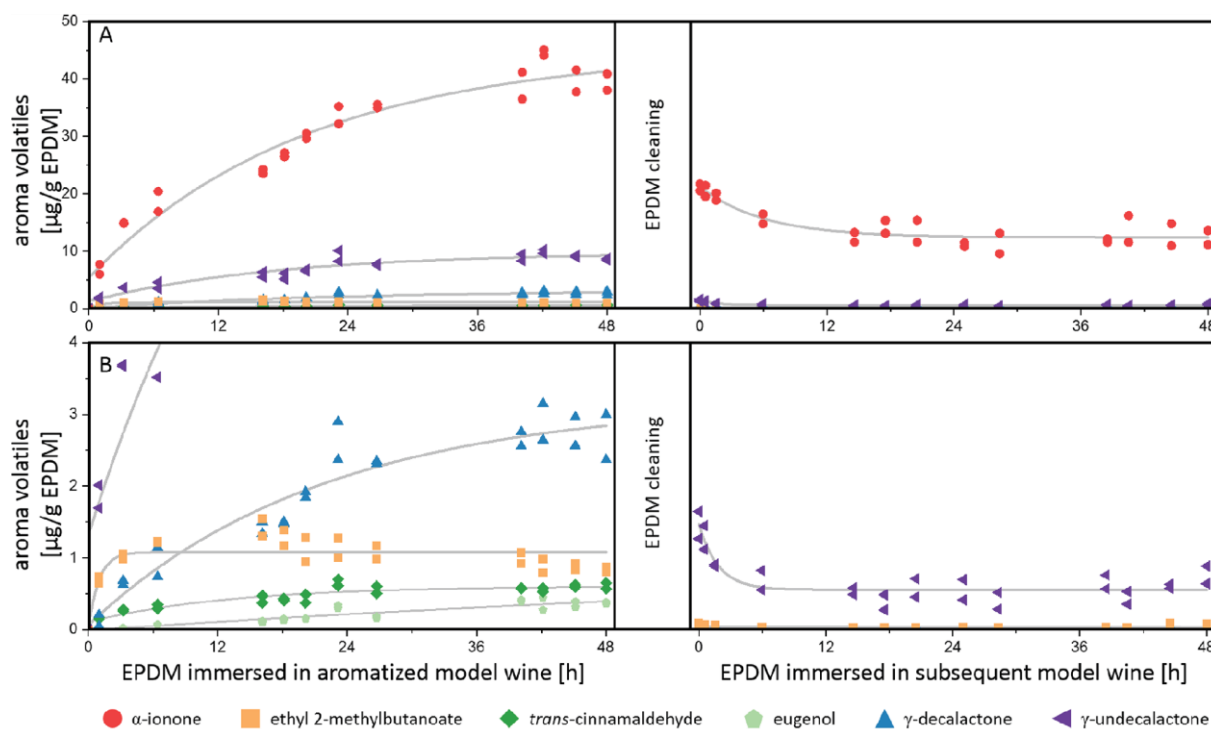


Figure 5. Time-dependent concentration of aroma compounds directly determined in EPDM samples in experiment 3 after immersion of EPDM in aromatized model wine, cleaning, and subsequent immersion of EPDM in model wine free of any aroma compounds ($n = 2$). Figure A and B differ in scaling of aroma volatiles.

the studied wine or food matrix should be used cautiously and requires sensory validation. Calculated OAVs for the seven volatiles in the model wine are summarized in Table 4. Unfortunately, many thresholds reported in the literature rely on insufficiently documented or even erroneous methodologies and do not follow international standards defined by the American Society of Testing and Materials and the International Standard Organization or procedures described in sensory text books.^{30,31,38–40} The strongest migration was observed for α -ionone with 14.1 $\mu\text{g}/\text{L}$, which barely exceeded the detection threshold of 13.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ determined in a Rosé wine (12 vol %) resulting in an OAV of 1.03.⁴ Considering migration of aroma compounds from EPDM sealing into a real wine instead of a model wine, with a maximum reported native concentration of α -ionone of 4.6 $\mu\text{g}/\text{L}$, would raise the OAV slightly from 1.03 to 1.36.⁴

Due to the low cleaning efficacy for α -ionone in the EPDM polymer and the substantial desorption into the model wine from the polymer and the low detection thresholds in water and wine, α -ionone seems to be a good marker to assess the carryover from aromatized wines into the successively bottled regular wines in filling lines. Additionally, 1.1 $\mu\text{g}/\text{L}$ ethyl 2-methylbutanoate migrated into the model wine, however, only yielding an OAV of 0.06 based on the odor threshold determined in a model wine of 18 $\mu\text{g}/\text{L}$.⁴¹ The concentrations of γ -undecalactone and γ -decalactone migrating into the model wine were 10.0 and 2.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ and thus 10 to 100 times lower than the respective detection thresholds. It is discussed that synergistic effects in mixtures of aroma compounds yield lower detection thresholds than deduced from their individual thresholds. Indeed, Jarauta et al. reported a four times lower

threshold for a mixture of five γ -lactones (C8–C12) in a model wine of 10 vol % alcohol than expected from the sum of individual thresholds. However, the OAV of this mixture was 1.33 and much larger than the OAV of 0.38 obtained by summing up all five individual OAVs in our study.⁴²

To validate these analytical results and suggested sensory relevance of aroma carryover of α -ionone by an OAV of 1.03, we conducted a sensory analysis of the model wines before and after 48 h contact with cleaned EPDM sealings using a “two-out-of-five test”. Panelists differentiated significantly the original model wine from the exposed model wine, and 6 out of 9 correct answers yielded a $p < 0.001$. Panelists described the model wine in contact with cleaned sealing predominantly as raspberry and floral but also as peach, flavored, and perfumed. These informal aroma assessments correspond to the aroma descriptors of α -ionone and the lactones.

Drawing conclusions from the analytical and sensory data, the significant sensory recognition of the migrated aroma compounds in the model wine exposed to cleaned EPDM sealing is most likely driven by the perception of α -ionone as well as a potential combination of the three lactones.

Deviating from the reported experiment, in a real filling line, aroma compounds will migrate from the EPDM sealing into wine with its own aroma buffer.⁴³ Due to the low concentration of native aroma compounds in wines, they should not modify the migration behavior of the tested aroma compounds.

At the same time, sensory thresholds determined in a wine matrix are much higher than those measured in a model wine.⁴⁴ Thus, the calculated OAVs for a normal wine matrix

will be much smaller than those obtained and discussed for the model wine.

Time-Dependent Investigation of Absorption and Migration of Aroma Compounds in EPDM (Experiment 3). To address the kinetics of absorption of volatiles from aromatized model wine by EPDM, their removal by cleaning agents, and subsequent migration into the original model wine, we studied the behavior of aroma concentrations over time (Figure 5). In contrast to the previous experimental setup, small EPDM samples were punched out of the polymer plate and added to the aromatized wine. Within the first 6 h, a strong absorption occurred, which turned into a continuous increase. Throughout 48 h, only ethyl 2-methylbutanoate indicated a saturation in the EPDM polymer, and the remaining other volatiles indicated no saturation. The elevated absorption during the first 6 h could be explained by two different migration phenomena. According to preliminary experiments, aroma volatiles are potentially absorbed in the first step into the outer layer of EPDM controlled by the transition from the polar wine into the apolar polymer. In a second step, volatiles might diffuse within the apolar EPDM. The extent of this diffusion might influence the first step, as the transition from wine into the polymer depends partially on the concentration of volatiles in the polymer.

Similar to experiment 2, volatiles vary in their absorption with the strongest absorption observed for α -ionone followed by the γ -undecalactone and γ -decalactone. In contrast to strong absorption of the two γ -lactones, δ -decalactone showed no detectable absorption within the 48 h period. The degree of absorption by EPDM followed the same pattern as displayed in Figure 4A. The overall increased absorption could be explained by the four times larger surface area of the small EPDM samples compared to the EPDM plates clamped in the holding device used in the model system in experiment 2. Using very similar concentrations for α -ionone in experiments 2 and 3 reveals that absorption of α -ionone increased by a factor of 5.7 from experiments 2 to 3, which corresponds well with the 4 times larger surface area.

Wietstock et al. investigated the absorption of hop volatiles (250 $\mu\text{g/L}$) from a beer headspace into polyethylene polymers of crown caps. While nonpolar hydrocarbons such as limonene and α -humulene were nearly completely sorbed, more polar volatiles such as linalool and α -terpineol showed only a low sorption of 1%.^{21,45} Absorption kinetics of hop volatiles into PE modeled by Fick's second law described similar exponential patterns as obtained for adsorption of aroma compounds into EPDM in our study.

Presumably due to the larger surface, the efficacy of cleaning was improved toward experiment 2. For *trans*-cinnamaldehyde, eugenol, and γ -decalactone, the removal was close to 100% because after cleaning, the remaining volatiles within the EPDM polymer were below the LOQ. For α -ionone, the cleaning efficacy rose from 11% in experiment 2 to 47% in experiment 3, for γ -undecalactone from 46 to 93%, and for ethyl 2-methylbutanoate from 28 to 90%. Except for the near complete removal of γ -undecalactone, the enhanced efficacy corresponded well with the surface area factor of 4.

A further immersion of the cleaned EPDM in the original model wine for 48 h leads to a further strong decrease in the remaining concentrations of α -ionone and γ -undecalactone within the first 6 h and total removal values of 41 and 47% after 48 h, respectively. In the final samples, which were removed after 48 h, only α -ionone was above the LOQ in the

model wine with a concentration of 8 $\mu\text{g/L}$. The migration process from EPDM into model wine displays the inverted function as observed during absorption within the first 48 h.

In general, we have to bear in mind that these findings are obtained from a simple model system, which neglects dynamic flow within a bottling line, as well as the fact that we studied the aroma carryover only in a closed system. In reality, aromatized wine with a constant concentration of aroma will pass through the filler, while in the model system, the aromatized model wine was slightly depleted regarding its volatile concentration (Table 4). During a subsequent filling, the sealing polymers will be always in contact with fresh wine entering the bottling line. This may lead to a stronger uptake of aroma compounds by the wine and a potentially higher migration. Thus, the first volumes of the subsequently bottled wine passing through the bottling plant may take up larger amounts of volatiles from the sealing polymers than the bottles at the end of the filling period. This needs to be studied in a winery under realistic conditions, in order to validate the reported findings from the model system. However, due to the use of different sealing polymers with varying geometries and surface areas exposed to wine, this experiment will not yield exact results regarding the behavior of individual sealing polymers.

This study investigated for the first time the phenomenon of aroma carryover, which might occur due to absorption by EPDM polymers and migration into a subsequent product. A TD-GC-MS method facilitated the direct quantitation of aroma compounds in the polymer allowing us to study truly the absorption and migration process. The direct approach resolves the insufficient sensitivity and accuracy of indirect methods, analyzing the loss of aroma compounds within the product. At the same time, PARAFAC2 deconvolution of GC-MS chromatograms improved sensitivity for all studied aroma compounds by eliminating the noise due to polymer volatiles. In particular, the developed model system allowed us to work under completely controlled conditions.

The studied aroma compounds were selected due to their prospective use in authenticity control, where natural volatiles, which strongly favor one enantiomer over the other, are well-discriminated from synthesized volatiles with a racemate of both stereoisomers. Among the studied ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde, only α -ionone seems to have a limited potential to trigger a sensory impact on the subsequent product. α -Ionone was less efficiently removed from the sealing material by the applied cleaning sequence and was best desorbed by the model wine. The lactone concentrations in the model wine after cleaning were well below their respective odor thresholds determined in water or model wines. Besides the determined concentrations in model wine, a sensory transfer of aroma compounds from the polymer into a subsequent model wine was recorded in a difference test. In the future, this model system will allow us to develop sealing polymers with lower aroma absorption, to improve cleaning efficacy, and to study the carryover into regular wines or sparkling wines.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.1c04565>.

(Figure S1) Developed model system to investigate installed sealings inside pipes of a filling line toward the absorption and migration process of aroma compounds (EPDM discs are clamped into the stainless-steel bracket); (Figure S2) total ion current (TIC) for desorption temperatures of 90, 150, and 200 °C obtained for direct thermal desorption analysis (TD–GC–MS) of EPDM samples; (Table S1) calculated physical properties for selected aroma compounds (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Ulrich Fischer – Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Neustadt an der Weinstraße 67435, Germany; Department of Chemistry, Division of Food Chemistry and Toxicology, University of Technology Kaiserslautern, Kaiserslautern 67663, Germany; orcid.org/0000-0003-1566-8516; Phone: +49 6321 671 294; Email: ulrich.fischer@dlr.rlp.de; Fax: +49 6321 671 375

Authors

Jörg Gottmann – Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Neustadt an der Weinstraße 67435, Germany; Department of Chemistry, Division of Food Chemistry and Toxicology, University of Technology Kaiserslautern, Kaiserslautern 67663, Germany; orcid.org/0000-0003-3542-8843

Jochen Vestner – Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Neustadt an der Weinstraße 67435, Germany

David Müller – Kaiserslautern University of Applied Sciences, Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW), Pirmasens 66953, Germany

Jens Schuster – Kaiserslautern University of Applied Sciences, Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW), Pirmasens 66953, Germany

Complete contact information is available at: <https://pubs.acs.org/10.1021/acs.jafc.1c04565>

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This IGF project (project no. AIF 20220) of the Research Association of the German Food Industry (FEI) was supported via AIF within the program for promoting the Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economic Affairs and Energy (BMWi), based on a resolution of the German Parliament.

ABBREVIATIONS USED

Et2MeBu, ethyl 2-methylbutanoate; cinA, *trans*-cinnamaldehyde; EPDM, ethylene propylene diene monomer rubber; CIP, clean in place; GC, gas chromatography; MS, mass spectrometer; TD, thermal desorption; SBSE, stir bar sorptive extraction; CIS, cold injection system; MPS, multipurpose sampler; TDU, thermo desorption unit; GC–MS, gas chromatography–mass spectrometry; TD–GC–MS, thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry; SBSE–GC–MS, stir bar sorptive extraction–gas chromatography–

mass spectrometry; RSD, relative standard deviation; R^2 , coefficient of determination; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantitation; TIC, total ion current; OAV, odor activity value; ASTM, American Society of Testing and Materials; ISO, International Standard Organization

REFERENCES

- (1) Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL); Referat 414; Wein: Bier, Getränkewirtschaft. 2017.
- (2) Regulation (EU) No 606/2009. Laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards. 2009, European Parliament.
- (3) Lampe, U. Untersuchungen zur Authentizität von Weinaroma am Beispiel der γ -Lactone. 38th World Congress of Vine and Wine (Part 2); EDP Sciences: 2015, 5, 6005.
- (4) Langen, J.; Wegmann-Herr, P.; Schmarr, H.-G. Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiomer differentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408*, 6483–6496.
- (5) Mosandl, A. Authenticity assessment: a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *J. Chromatog. Sci.* **2004**, *42*, 440–449.
- (6) Nitz, S.; Kollmannsberger, H.; Weinreich, B.; Drawert, F. Enantiomeric distribution and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio determination of γ -lactones: appropriate methods for the differentiation between natural and non-natural flavours? *J. Chromatogr. A* **1991**, *557*, 187–197.
- (7) Sajilata, M. G.; Savitha, K.; Singhal, R. S.; Kanetkar, V. R. Scalping of flavors in packaged foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2007**, *6*, 17–35.
- (8) Yang, C.; Shen, S.-L.; Hou, D.-W.; Liao, S.-M.; Yuan, D.-J. Material properties of the seal gasket for shield tunnels: A review. *Constr. Build. Mater.* **2018**, *191*, 877–890.
- (9) Abts, G. *Einführung in die Kautschuktechnologie*; Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, 2018.
- (10) Arora, D. K.; Hansen, A. P.; Armagost, M. S. Sorption of flavor compounds by low density polyethylene film. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 1421–1423.
- (11) Charara, Z. N.; Williams, J. W.; Schmidt, R. H.; Marshall. Orange flavor absorption into various polymeric packaging materials. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 963–968.
- (12) Blake, A.; Kotseridis, Y.; Brindle, I. D.; Inglis, D.; Sears, M.; Pickering, G. J. Effect of closure and packaging type on 3-alkyl-2-methoxy-pyrazines and other impact odorants of Riesling and Cabernet Franc wines. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 4680–4690.
- (13) Licciardello, F.; Del Nobile, M. A.; Spagna, G.; Muratore, G. Scalping of ethyl octanoate and linalool from a model wine into plastic films. *LWT–Food Sci. Technol.* **2009**, *42*, 1065–1069.
- (14) Mentana, A.; Pati, S.; La Notte, E.; Del Nobile, M. A. Chemical changes in Apulia table wines as affected by plastic packages. *LWT–Food Sci. Technol.* **2009**, *42*, 1360–1366.
- (15) Ghidossi, R.; Poupot, C.; Thibon, C.; Pons, A.; Darriet, P.; Riquier, L.; et al. The influence of packaging on wine conservation. *Food Control* **2012**, *23*, 302–311.
- (16) Hopfer, H.; Ebeler, S. E.; Heymann, H. The combined effects of storage temperature and packaging type on the sensory and chemical properties of Chardonnay. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 10743–10754.
- (17) Peyches-Bach, A.; Dombre, C.; Moutounet, M.; Peyron, S.; Chalier, P. Effect of ethanol on the sorption of four targeted wine volatile compounds in a polyethylene film. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 6772–6781.
- (18) Revi, M.; Badeka, A.; Kontakos, S.; Kontominas, M. G. Effect of packaging material on enological parameters and volatile compounds of dry white wine. *Food Chem.* **2014**, *152*, 331–339.

- (19) Fukamachi, M.; Matsui, T.; Hwang, Y.-H.; Shimoda, M.; Osajima, Y. Sorption behavior of flavor compounds into packaging films from ethanol solution. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2810–2813.
- (20) Pollnitz, A. P.; Capone, D. L.; Campbell, J.; Franke, S.; McLean, H. J.; Skouroumounis, G. K.; Sefton, M. A. Some applications of analyses of volatile flavour compounds to wine. In *Conference proceedings - 11th Australian wine industry technical conference*; Blair, R. J., Eds.; Australian Wine Industry Technical Conference Inc.: Urrbrae, 2001, 162–164.
- (21) Wietstock, P. C.; Glattfelder, R.; Garbe, L.-A.; Methner, F.-J. Characterization of the migration of hop volatiles into different crown cork liner polymers and can coatings. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 2737–2745.
- (22) Brajkovich, M.; Tibbits, N.; Peron, G.; Lund, C. M.; Dykes, S. L.; Kilmartin, P. A.; Nicolau, L. Effect of screwcap and cork closures on SO₂ levels and aromas in a Sauvignon Blanc wine. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 10006–10011.
- (23) Nishijima, W.; Okuda, T.; Nakai, S.; Okada, M. A green procedure using ozone for Cleaning-in-Place in the beverage industry. *Chemosphere* **2014**, *105*, 106–111.
- (24) Caner, C.; Hernandez, R. J.; Pascall, M.; Balasubramaniam, V. M.; Harte, B. R. The effect of high-pressure food processing on the sorption behaviour of selected packaging materials. *Packag. Technol. Sci.* **2004**, *17*, 139–153.
- (25) VDA 278 *Thermodesorptionsanalyse organischer Emissionen zur Charakterisierung nichtmetallischer KFZ-Werkstoffe*; Verband der Automobilindustrie 2016.
- (26) Johnsen, L. G.; Skou, P. B.; Khakimov, B.; Bro, R. Gas chromatography – mass spectrometry data processing made easy. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1503*, 57–64.
- (27) Petersen, M. A.; Bro, R. PARADISE—a ground-breaking tool to treat complex GC-MS datasets. In *Flavour Science: Proceedings of the XV Weurman Flavour Research Symposium*; Siegmund, B.; Leitner, E., Eds.; Technischen Universität Graz: Graz, 2018; Vol. 350, 421–426.
- (28) Nie, Y.; Kleine-Benne, E. Using Three Types of Twister Phases for Stir Bar Sorptive Extraction of Whisky, Wine and Fruit Juice. *GERSTEL Application Note-3*; GERSTEL, Inc 2011 (03), 1–14.
- (29) Ochiai, N.; Sasamoto, K.; Kanda, H.; Pfannkoch, E. Sequential stir bar sorptive extraction for uniform enrichment of trace amounts of organic pollutants in water samples. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1200*, 72–79.
- (30) Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Gillies, B. T. *Sensory Evaluation Techniques: Volume 2*; fifth edition; CRC Press: Boca Raton, 2015.
- (31) Lawless, H. T.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food*; Springer: New York, 2010.
- (32) Pérez-Prior, M. T.; Manso, J. A.; del Pilar García-Santos, M.; Calle, E.; Casado, J. Reactivity of lactones and GHB formation. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 420–426.
- (33) Gómez-Bombarelli, R.; Calle, E.; Casado, J. Mechanisms of lactone hydrolysis in acidic conditions. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6880–6889.
- (34) Gómez-Bombarelli, R.; Calle, E.; Casado, J. Mechanisms of lactone hydrolysis in neutral and alkaline conditions. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6868–6879.
- (35) Seiberling, D. A. Clean-in-Place for biopharmaceutical processes. *Drugs Pharm. Sci.* **2008**, *173*, 53–92.
- (36) Dunkel, A.; Steinhaus, M.; Kotthoff, M.; Nowak, B.; Krautwurst, D.; Schieberle, P.; Hofmann, T. Nature's Chemical Signatures in Human Olfaction: A Foodborne Perspective for Future Biotechnology. *Angew. Chem., Int. Edit.* **2014**, *53*, 1433–1433.
- (37) Tempere, S.; Cuzange, E.; Malak, J.; Bougeant, J. C.; de Revel, G.; Sicard, G. The training level of experts influences their detection thresholds for key wine compounds. *Chemosens. Percept.* **2011**, *4*, 99–115.
- (38) *Standard Practice for Defining and Calculating Individual and Group Sensory Thresholds from Forced-Choice Data Sets of Intermediate Size. E1432-04*; ASTM International 2019. 2004.
- (39) *Standard practice for determination of odor and taste threshold by a forced-choice ascending concentration series method of limits. E679-04*; ASTM International 2011. 2004.
- (40) ISO 13301:2018. *Sensory analysis - Methodology - General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure*; International Organization for Standardization 2018.
- (41) Ferreira, V.; López, R.; Cacho, J. F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 1659–1667.
- (42) Jarauta, I.; Ferreira, V.; Cacho, J. F. Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Dev. Food Sci.* **2006**, *43*, 205–208.
- (43) Ferreira, V. Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In *Managing wine quality*; Elsevier, 2010, 3–28.
- (44) Schieberle, P.; Hofmann, T. Evaluation of the Character Impact Odorants in Fresh Strawberry Juice by Quantitative Measurements and Sensory Studies on Model Mixtures. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 227–232.
- (45) van der Wel, G. K.; Adan, O. C. G. Moisture in organic coatings — a review. *Prog. Org. Coat.* **1999**, *37*, 1–14.
- (46) Rothe, M.; Wölm, G.; Tunger, L.; Siebert, H.-J. Schwellenkonzentrationen von Aromastoffen und ihre Nutzung zur Auswertung von Aromaanalysen. *Food/Nahrung* **1972**, *16*, 483–495.
- (47) Keith, E. S.; Powers, J. J. Determination of flavor threshold levels and sub-threshold, additive, and concentration effects. *J. Food Sci.* **1968**, *33*, 213–218.
- (48) van Gemert, L. J. *Flavour thresholds: Compilations of flavour threshold values in water and other media, second enlarged and revised edition*; Oliemans Punter: Utrecht, 2011.

SUPPORTING INFORMATION

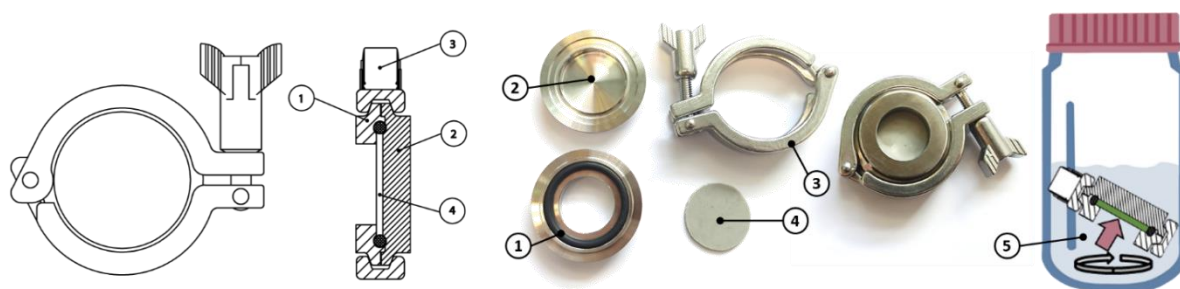


Figure S1. Developed model system to investigate installed sealings inside pipes of a filling line towards the absorption and migration process of aroma compounds, EPDM disks (4) are clamped into the stainless-steel bracket (1–3). The clamping device is stored in a vessel (5).

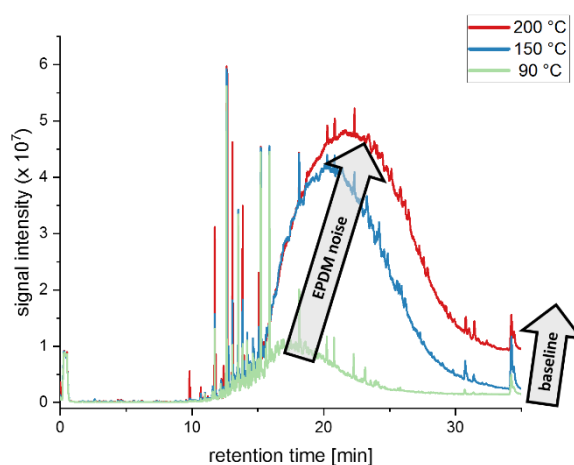


Figure S2. Total ion current (TIC) for a desorption temperature of 90, 150 and 200 °C obtained for direct thermal desorption analysis (TD-GC-MS) of EPDM samples. Higher temperature leads to increased background noise. At the end of the TD-GC-MS run with a desorption temperature of 200 °C a high increased baseline is seen. Therefore, a strong contamination of the analysis system is present at the end of each measurement.

Table S1. Calculated physical properties for selected aroma compounds by archemcalc.com/sparc and ACD/Labs Software V11.02.

	molecular weight [g/mol]	boilingpoint [°C]	diffusion in Air [cm ² /s]	diffusion in Water [cm ² /s]	Henry's Constant (log H)	distribution octanol/water (log P)	vapor pressure [Pa]	LRI ^a
ethyl 2-methyl- butanoate	130	133	0.062	7.19E-06	-1.45	2.15	1240	1052
α-ionone	192	237	0.045	5.84E-06	-2.81	3.66	2.2	1859
eugenol	164	253	0.055	7.07E-06	-3.69	2.4	0.72	2179
<i>trans</i> - cinnamaldehyde	132	246	0.063	7.93E-06	-3.84	1.9	10.17	2139
γ-decalactone	170	281	0.048	6.43E-06	-4.36	2.45	1.49	2158
δ-decalactone	170	267	0.048	6.48E-06	-4.52	2.46	1.13	2204
γ-undecalactone	184	286	0.045	6.10E-06	-4.27	2.96	0.51	2274

^a Linear Retention Index (LRI) experimentally calculated for ZB-WAX

6.3 Originalarbeit zum Thema: Möglichkeiten zur Minimierung der Aromaverschleppung durch Verbesserung der Dichtungsmaterialien und Reinigungsprozesse

Anhand des in Kapitel 6.2 beschriebenen Verschleppungsrisikos galt es in der weiteren Untersuchung Faktoren ausfindig zu machen, die eine Verschleppung der Aromastoffe in nachfolgende Weine verhindern können. Einer der zunächst offensichtlichsten Faktoren bestand in der Betrachtung der verbauten Dichtungsmaterialien in Abfüllanlagen. Aus einer geringeren Aufnahme von Aromastoffen in die Dichtungen ergibt sich ein niedrigeres Verschleppungsrisiko. In intensiver Zusammenarbeit mit dem Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW) erfolgte die Einarbeitung von neun Füllstoffen in Ethylen-Propylen-Dien-Kautschuke (EPDM). Diese EPDM-Varianten wurden mit einem kommerziellen EPDM sowie einem fluorbasierten Kautschuk (FKM) hinsichtlich der Minimierung der Aromastoffaufnahme verglichen. Durch die eingearbeiteten Füllstoffe konnte eine Reduzierung der Aromastoffaufnahme um mindestens die Hälfte erzielt werden.

Der zweite offensichtliche Faktor zur Minimierung von Verschleppungsrisiken bestand in den Reinigungsprozeduren zwischen einem Produktwechsel. Im Rahmen dieser Arbeit bestehen die ausgewerteten Parameter in der Reinigungstemperatur, des Reinigungsmediums und der Reinigungsdauer. Die höchste Reinigungseffizienz wurde bei 85 °C festgestellt, während Reinigungszusätze wie Zitronensäure, Natronlauge, Ozon oder gelöstes Kohlendioxid die aus der Abfüllanlage entfernten Anteile nur sekundär beeinflussten. Aus dem Polymer wurden hohe Anteile der Aromastoffe in den ersten 20 Minuten der Reinigung bei 85 °C entfernt. Abschließend war jedoch festzustellen, dass keine der durchgeführten Reinigungssequenzen in der Lage war alle Aromastoffe aus der Polymermatrix restlos zu entfernen.

Improved sealing polymers and cleaning procedures to mitigate aroma carryover during bottling of aromatized and regular wines on the same filling line

Jörg Gottmann^{1,2}, David Müller³, Anna Maria Becker^{1,2}, Jochen Vestner¹, Jens Schuster³, Ulrich Fischer^{1,2*}

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, Germany

² Kaiserslautern University of Technology, Department of Chemistry, Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern, Germany

³ Kaiserslautern University of Applied Sciences, Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW), Carl-Schurz-Str. 10-16, 66953 Pirmasens, Germany

*corresponding author: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Abstract

Bottling of aromatized wines and regular table wines often takes place on the same bottling line. Installed sealings in the bottling line absorb volatiles from aromatized wines and, due to inadequate cleaning, carryover occurs into the subsequently bottled regular wine. This unintentional carryover can lead to accusations of illegal flavoring of wine. To minimize the carryover risk, sealing materials that absorb less volatiles are beneficial. Incorporating kaolin and micro-cellulose into the ethylene propylene diene monomer rubber (EPDM) network decreased absorption of the critical α -ionone by 51 and 60 %, respectively.

Besides the minimization of the absorption, a performed cleaning can reduce aroma carryover. So far knowledge about cleaning parameters that can increase the cleaning efficiency is limited, since cleaning focuses usually on the surficial removal and prevents microbiological cross contamination. An evaluation of the cleaning parameters, temperature, time, and agents clearly revealed a high factor in the considered temperature. Highest cleaning efficiency was seen at 85 °C whereas the cleaning additives such as citric acid, caustic soda, ozone or dissolved carbon dioxide had no impact. High proportions of the aroma compounds removed from the polymer in the first 20 min at 85 °C, but none of the performed cleaning sequences were able to remove all compounds.

Keywords

lactones, α -ionone, EPDM, migration, CIP, oxidative cleaning agents, ozone

Introduction

Wine producers commonly operate with a single bottling line for both aromatized wine-based beverages and regular wine; only for very large or specialized producers a separate line for aromatized products is economically feasible. Despite the implementation of clean-in-place (CIP) systems, carryover of added aroma compounds from the aromatized product into subsequently bottled wine can occur due to absorption (scalping) and remigration from bottling line sealing polymers (Elss et al., 2007, Eckstein, 2011, Vetter, 2012, LUA, 2014, Freund and Seckler, 2016, BMEL, 2019, Beierle et al., 2020, Gottmann et al., 2021).

Even unintentional carryover of trace aroma compounds can result in prosecution by the EU and other legislation (European Parliament, 2009). Aroma concentrates added for aromatization are usually of synthetic origin (Mosandl, 2004), and recent developments in enantioselective and isotope ratio analysis allows distinguishing aroma compounds from biological and synthetic sources (Schumacher et al., 1998, Langen et al., 2013, Lampe, 2015, Langen et al., 2016). So far any detection of aroma compounds of chemical origin is illegal, regardless of its sensory relevance. The German Federal Ministry of Nutrition and Agriculture (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, BMEL), in cooperation with the German food control authorities and wine industry, developed a good manufacturing practices (GMP) to reduce the risk of aroma carryover (BMEL, 2019). If a bottling company complies this guideline and aroma compounds used to aromatize are detected but have more importantly no sensory significance, these compounds will be classified as technically unavoidable, consequently not resulting in prosecution.

Literature exploring the uptake of aroma compounds into sealing polymers and their release during cleaning and contact within subsequently bottled wine is scarce. Cleaning procedures usually focuses on the mechanical removal of residue from previous products as well as sterilization of the bottling line to prevent microbial cross contamination (Englezos et al., 2019), while the removal of aroma compounds from sealing materials has been largely neglected. To date, cleaning efficacy and its economic efficiency depend on each companies experience and is based on their experimental trials (Changani et al., 1997, Seiberling, 2008, Basso et al., 2017).

The achieved cleaning effect is primarily influenced by a combination of several factors: time, temperature, mechanical effects, and the concentration and chemical nature of cleaning agents (Sinner, 1960, Tamime, 2009). Mechanical cleaning is limited to the polymer surface and can be neglected in terms of cleaning efficiency on absorbed aroma compounds. The aroma carryover risk was firstly described for aroma compounds including limonene and myrcene from orange lemonade bottled in reusable polyethylene terephthalate (PET) bottles, whereas the conducted basic bottle washing at 70 °C removed only 31 % and 45 %, respectively.

respectively (Nielsen, 1994). Furthermore, Safa and Bourelle (1999) reported a sensorial perceptible carryover of 250–300 µg/L limonene from reusable PET bottles into water, despite a cleaning. Within in scope of our recent study the GMP oriented cleaning of ethylene propylene diene monomer rubber (EPDM) sealings polymers removed only 11–62 % of absorbed marker aroma compounds in a model system and further assessment of each cleaning parameters were required (Gottmann et al., 2021).

Besides frequent use of water, acidic and alkaline agents, oxidants such as peracetic acid, ozone, and chlorine dioxide are widely applied to remove organic compounds from water and to sterilize bottling lines, hoses, barrels, and other winery equipment (Sonntag and Gunten, 2012, Rincon-Delgadillo et al., 2013, Englezos et al., 2019, Pandiselvam et al., 2019, Kim and Huang, 2020, Gan et al., 2020, Stadler et al., 2020, Stadler and Fischer, 2020). An improved cleaning efficacy was shown for a 60 min treatment of enriched water with 2 mg/L ozone for the removal of D-limonene from EPDM and silicone sealings (Nishijima et al., 2014).

To minimize the risk of aroma carryover, less absorptive sealing materials are of interest. The chemical nature of a sealing polymer defines its absorptive behavior. Commonly used polymers are EPDM and highly fluorinated rubber (FKM), which vary in their flexibility, inertness, stability, application field, and temperature tolerance (Vetter, 2012, Freund and Seckler, 2016). However, cost is often the deciding factor for industry usage, with EPDM being the more economical option over FKM (Abts, 2010). EPDM polymers available on the market differ in their formulation, particularly with incorporation of filling material such as minerals, diatomaceous earth, talc, natural organics, and synthetic inorganics into the polymer mesh, to reduce costs and control physical properties. The absorption behavior of the polymers usually becomes secondary or even redundant. But importantly the selected filler influences the crystallite formation of the polymer. With increasing crystallinity the migration of molecules diminishes, as movement is more restricted in crystalline phases than in amorphous phases and the aroma absorption can be influenced (Charara et al., 1992, Richter and Schacker, 2016).

This work addresses how novel fillers in EPDM polymers influence the absorption of aroma compounds, and how different cleaning methods affect their release. We used seven previously characterized aroma compounds, which are commonly used in high concentrations in aromatized cocktails with aroma of peach (γ -decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone), apple (ethyl 2-methylbutanoate), and raspberry (α -ionone), as well as mulled wines with clove (eugenol) and cinnamon (*trans*-cinnamaldehyde) (Gottmann et al., 2022). Using a recently developed model system (Gottmann et al., 2021), aroma absorption was studied by monitoring experimental EPDM polymers enriched with nine different fillers, in comparison with two commercial sealings. Moreover, the impact of cleaning temperature, time,

and used agent on cleaning efficacy were investigated in this model system.

Materials and methods

1. Chemicals

Aroma compounds were purchased from Sigma-Aldrich KGaA (Darmstadt, Germany) with purities as follows: ethyl 2-methylbutanoate (99 %), α -ionone (≥ 96 %), γ -decalactone (≥ 98 %), δ -decalactone (≥ 98 %), γ -undecalactone (≥ 98 %), eugenol (99 %), and *trans*-cinnamaldehyde (≥ 99 %). Sodium hydroxide (98 %) and citric acid (99.5 %) were obtained from Merck KGaA (Darmstadt, Germany) and D-glucose (p.a.), D-fructose (> 99.5 %), L-tartaric acid (≥ 99 %), D-malic acid (≥ 99.5 %), L-lactic acid (≥ 95 %), sodium chloride (≥ 99 %), and glycerin (≥ 99 %) from Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Germany). Ethanol (96 %) was purchased from Berkel AHK (Ludwigshafen, Germany) and sodium chlorite (10 %) and hydrochloric (10 %) from ASiRAL GmbH & Co. KG (Neustadt, Germany). Hydrosan SinQ cleaning agent with 50 g/kg peracetic acid was purchased from Wigol (Worms, Germany).

2. Polymer materials

EPDM discs of 2 mm depth were manufactured by the Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW, Pirmasens, Germany) at the University of Applied Sciences, Kaiserslautern. EPDM consisted of 100 parts per hundred rubber (phr) KEP 510 from (Weber&Schaer, Hamburg, Germany), 15 phr white oil (Weber&Schaer, Hamburg, Germany), 8 phr Peroxan DC, and 2 phr TAC-70 XP (Pergan, Bocholt, Germany). The fillers incorporated into the polymer during manufacturing were: Aktivit VM a silicate mineral (Hoffmann Mineral, Neuburg, Germany), micro-cellulose (Acros Organics, Darmstadt, Germany), glass flakes (Mühlmeier Mahltechnik, Bärnau, Germany), kaolin (Thiele Kaolin Company, Sandersville, USA), talcum (Bassermann Minerals GmbH&Co.KG, Mannheim, Germany), cork (Kork-Handel GmbH & Co. KG, Igel, Germany), polyethylene (PE) wax (TH. C. Tromm GmbH, Köln, Germany), Carbon Black N220, and Carbon Black N990 (Heinrich Heller GmbH, Wuppertal, Germany) (Supplemental Table 1). For comparison, a standard commercial EPDM (70 EPDM 291) and a FKM (75 Fluoroprene XP41) that was optimized by the supplier towards its aroma absorption (Freudenberg, Weinheim, Germany).

3. Model wine

As prescribed by the German wine control authorities, the model wine consisted of 12 % v/v ethanol, 2.5 g/L D-glucose, 2.5 g/L D-fructose, 1.5 g/L L-tartaric acid, 1.5 g/L D-malic acid, 1.5 g/L L-lactic acid, and 6 g/L glycerol. The pH was adjusted to 3.5 using 10 N sodium hydroxide (Lampe, 2015). The model wine was aromatized to various concentrations in the experiments using an ethanolic stock solution.

4. Direct quantitation of absorbed aroma compounds in polymer material with TD-GC-MS

A recently published thermal desorption gas chromatography and mass spectrometry method (TD-GC-MS) allows direct analysis of aroma compounds (Gottmann et al., 2021) such as ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde and their adsorption and desorption in different polymers. The analytical system consisted of an Agilent 6890 GC equipped with an Agilent 5975 C MS, thermo desorption unit (TDU), cold injection system (CIS), and a multi-purpose sampler (MPS), all provided by Gerstel (Mühlheim, Germany). For calibration, four stamped untreated polymer samples were placed into a TDU liner with glass wool, after which the MPS pipetted 1 μ L of each calibration standard solution (0.1–300 μ g/cm³) directly into the TDU liner. Calibration standards were prepared in methyl *tert*-butyl ether (MTBE). 3-Methylbutyl acetate (9 μ g/L) was used as internal standard.

Separation of volatiles was achieved with a ZB-WAXplus™ column of 30 m \times 0.25 mm internal diameter and 0.5 μ m film thickness (Phenomenex, Germany). The oven program started at 40 °C for 2 min followed by a 3 °C/min increase to 60 °C. The temperature rose further by 20 °C/min until 180 °C was reached, followed by a slower increase of 5 °C/min up to 240 °C, which was maintained for 9 minutes. The total runtime was 35.6 min. The transfer line temperature was set to 250 °C and the helium carrier gas flow rate was constant at 1.2 mL/min. The MS was operated in electron impact ionization mode with an electron energy of 70 eV, the source temperature was set to 230 °C, and total ion chromatograms were recorded over 30–300 *m/z*. The initial TDU temperature of 30 °C was held for 1 min and heated up at a rate of 720 °C/min to the final extraction temperature of 150 °C and kept constant for 30 min in splitless mode. The TDU transfer line was kept at 280 °C. The cryo-focusing temperature was set to 0 °C and a CIS-liner with Tenax TA™ filling was chosen. After thermal extraction, the CIS was heated at a rate of 12 °C/min to 250 °C and held for 5 min. The GC inlet was run in solvent vent mode. The total flow was set to 24 mL/min while the purge flow to split vent was set to 20 mL/min at 0.01 min, corresponding to a split ratio of 1:20. The gas saver was set to 15 mL/min after 20 min until the end of the GC analysis. The vent flow was 25 mL/min with a vent pressure of 20 kPa until 0.01 min. Chromatograms obtained were processed with MassHunter Qualitative Analysis software (ver. B.05.00, Agilent Technologies) and PARADISE (ver. 3.9).

5. Quantitation of aroma compounds in water with HS-SPME-GC-MS

Quantitative analysis of ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde was achieved using an established headspace solid phase microextraction (HS-SPME)-GC-MS method for the determination of volatiles in Riesling and model wine (Schwinn et al., 2019, Gottmann et al., 2022). The

analytical system consisted of a Finnigan TRACE DSQ GC-MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) with a CombiPAL autosampler (CTC Analytics, Zwingen, Switzerland). A 2 mL sample and 8 mL of a saturated sodium chloride solution and were pipetted in a 20 mL headspace vial and closed with a screw cap. As internal standard, 10 μ L of a 2-heptanol stock solution (10 g/L in ethanol) was added with a microliter syringe, resulting in a final concentration of 50 μ g/L. Volatiles were separated on a ZB-5ms 30 m \times 0.25 mm column with a film thickness of 0.5 μ m (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany). Sample pre-incubation took place at 40 $^{\circ}$ C for 10 min, followed by a headspace extraction with a polydimethylsiloxane (PDMS) fiber for 20 min (FIB-P-100/10, CTC Analytics, Zwingen, Swiss). Volatiles were desorbed from the SPME fiber at 240 $^{\circ}$ C in the GC injector for 2 min in splitless mode and purged after 2 min. The flow rate of the helium carrier gas was held constant at 1.0 mL/min. Oven temperature was held initially for 2 min at 30 $^{\circ}$ C, then increased to 150 $^{\circ}$ C at a rate of 3.5 $^{\circ}$ C/min, followed by a further increase to 300 $^{\circ}$ C at a rate of 25 $^{\circ}$ C/min. Ionization by electron impact (EI+) was done at 70 eV and total ion chromatograms were recorded from 29–300 m/z . Extracted ion chromatograms were obtained with the following m/z (quantifier; qualifier) for each compound: ethyl 2-methylbutanoate (102; 85), α -ionone (136; 121), γ -decalactone (128; 85), δ -decalactone (99; 114), γ -undecalactone (128; 85), eugenol (164; 149), and *trans*-cinnamaldehyde (131; 132). Chromatograms were processed with Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific).

6. Experimental design

Polymer plates with a 3.9 cm diameter and 2 mm height were clamped into a customary stainless-steel bracket (Gottmann et al., 2021) and immersed in aromatized model wine. This setup ensured that only one side of the polymer is exposed. Storage in model wine and cleaning in Experiments 2 and 3 were done in a closed 1 L glass beaker equipped with a magnetic stirrer (350 rpm). Prior to analysis, the polymer plates were dismantled and rinsed with deionized water, then dried with a cellulose tissue. Four disks (\varnothing 2 mm) were stamped out of the polymer plate to obtain a representative sample. These 4 disks were placed together into one TDU liner. Before TD-GC-MS analysis, 1 μ L of 3-methylbutyl acetate (9 μ g/L in MTBE) was automatically pipetted by the MPS into the TDU liner as an internal standard.

6.1. Quantitative analysis of absorbed aroma compounds in polymer materials (Experiment 1)

The influence of different filling materials in EPDM on the absorption of aroma compounds into sealings was investigated with nine different fillers compared to a commercial EPDM and FKM (XP41). Experimentally polymers were manufactured with Aktivit VM, micro-cellulose, glass flakes, kaolin, talcum, cork, polyethylene wax, Carbon Black N220, and Carbon Black N990 with low and high parts per hundred rubber (Supplemental Table 1). Polymer plates were

immersed for 48 h in aromatized model wine containing ethyl 2-methylbutanoate (500 µg/L), α-ionone (180 µg/L), γ-decalactone (900 µg/L), δ-decalactone (2300 µg/L), γ-undecalactone (550 µg/L), eugenol (1000 µg/L), and *trans*-cinnamaldehyde (600 µg/L). After immersion polymer samples were analyzed.

6.2. Removal of aroma compounds from EPDM by different cleaning parameters (Experiment 2)

The effects of the cleaning agent, temperature, and time on cleaning efficiency were evaluated with an EPDM plate clamped into the bracket. Prior to this evaluation, EPDM plates were immersed for 24 h in aromatized model containing ethyl 2-methylbutanoate (1300 µg/L), α-ionone (2400 µg/L), γ-decalactone (12300 µg/L), δ-decalactone (6500 µg/L), γ-undecalactone (1200 µg/L), eugenol (800 µg/L), and *trans*-cinnamaldehyde (1000 µg/L). Plates were rinsed with deionized water at room temperature before and after the cleaning step to remove residues. Water, sodium hydroxide (1.5 % w/v), citric acid (1.5 % w/v), ozonized water (5 mg/L), chlorine dioxide (5 and 500 mg/L), and peracetic acid (1 % v/v) used as cleaning agents. The ozonized water was prepared using a univog ozone generator (Zickler, Böchingen). The chlorine dioxide solution was prepared according to the hydrochloric acid – chlorite procedure, and the resulting concentration was controlled by photometric determination of chlorine dioxide with a MD 100 photometer (Lovibond, Dortmund) (Kuke, 2005). All cleaning agents were applied at 22 °C for 30 min, while water, sodium hydroxide, and citric acid were additionally evaluated at increased temperatures of 50 and 85 °C. A further time-dependent evaluation of the cleaning efficiency of water at 85 °C was carried out from 0 to 60 min in seven steps. A long-term cleaning at room temperature for 24 h at 22 °C conducted with water, carbonated water (6 g/L CO₂), model wine (8, 12, and 16 % v/v), a red wine (12 % v/v), and white wine (12 % v/v).

6.3. Decomposition of aroma compounds by oxidative agents (Experiment 3)

All seven aroma compounds of interest were exposed to the oxidative agents ozone (5 mg/L), chlorine dioxide (5 and 500 mg/L), and peracetic acid (1 % v/v) in a watery system of 20 mL, which functions as a control without any added agents. The fate of aroma compounds were determined after 30 min and 3 days by HS-SPME-GC-MS.

7. Statistical analysis

Principal component analysis (PCA) was done based on mean centering (co-variance) and no rotation was applied to study the impact of EPDM filling material and cleaning parameters on the uptake and removal of aroma compounds. Agglomerative hierarchical clustering conducted with Euclidean distance and ward's method. Mean values were compared using one-way analysis of variance (ANOVA, $p < 0.5$) with Tukey's honestly significant difference (HSD,

$p < 0.05$) post-hoc test. Values provided in the charts and tables are given as mean \pm standard deviation of the sample. These analyzes were done using XLStat (Addinsoft, Paris, France).

Results

We previously reported the principles of the uptake of aroma compounds from model wine into EPDM sealing material and their incomplete desorption during cleaning, which bear the risk of subsequent contamination (Gottmann et al., 2021). It is the objective of this study to mitigate absorption of aroma compounds by improved polymer materials and to enhance their removal by improved cleaning procedures. Studying the behavior in sealings we report concentrations of aroma compounds per volume ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$). Due to different fillers, density of the polymers varied by a factor of two (Supplemental Table 1).

1. Impact of added filling-materials in EPDM (Experiment 1)

Aroma absorption from model wine into 18 experimentally manufactured EPDMs and in comparison to commercially available EPDM and optimized FKM (XP41) polymers is reported after 48 h (Supplemental Table 2). The first two principal components in Figure 1 explains 83 % variation of the studied aroma compounds. Examining the loading plot in the small Figure 1B, all aroma compounds react in a similar way, with strong correlation between eugenol and trans-cinnamaldehyde as well as among lactones, the ester and α -ionone. The first dimension in the

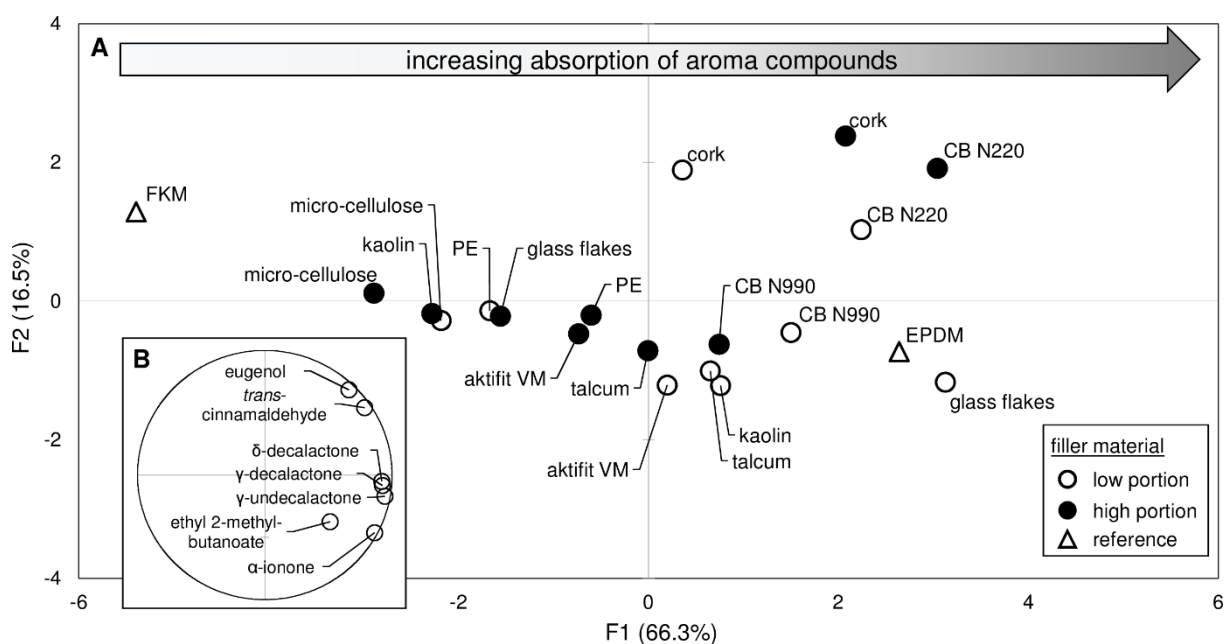


Figure 1. Observations (A) and loadings (B) of the principal component analysis of aroma compounds absorbed into different experimental EPDM and one commercial EPDM and FKM (XP41) ($n = 4$). Polyethylene wax (PE), Carbon Black N220 (CB N220), Carbon Black N990 (CB N990).

score plot describes primarily high absorption of aroma compounds on the right and low on the left side. Incorporation of Aktivit VM, kaolin, talcum, micro-cellulose, Carbon Black N990, and glass flakes into EPDM triggered a decreasing uptake, as the filler proportion increased. The inverse effect was observed for Carbon Black N220, cork, and PE. EPDM materials with high portions of micro-cellulose and kaolin revealed the lowest absorption of aroma compounds. According to the Table 1 addition of fillings diminished the uptake of the least polar compounds α -ionone and γ -undecalactone by a factor of two. None of the customized EPDM materials could reach the low level of absorption by the optimized FKM (XP41), which diminished the uptake of aroma compounds compared to the commercial EPDM by 85 to 99 %.

2. Evaluation of Cleaning Parameters (Experiment 2 and 3)

The impact of duration and temperature of each cleaning agent prescribed by the GMP (BMEL, 2019) was studied using the commercial EPDM.

2.1. Cleaning temperature and cleaning agent

The first PC in (Figure 2 A) explains already 92.6 % of the total variation. It is mainly governed by the cleaning temperature with the hot (85 °C) agents on the left side, the moderate temperature of 55 °C in the middle and the cool treatments (22 °C) towards the right side. Applying a long contact time of 24 h, exposure to alcoholic model wines (8 to 16 %), carbonized (6 g/L) and pure water achieved a comparable removal of aroma compounds as the hot but short treatments. The smaller loading plot in Figure 2B shows only minor differences among the seven aroma compounds, which only varies along PC2 explaining only 4 % of the variance.

Agglomerative hierarchical clustering (Figure 2 C) yielded four significant different clusters: The first two clusters are the non-treated sealing and the short cold treatment (30 min, 22 °C) with peracetic acid (PAA). The next cluster comprise all other cold treatments and short exposure to water and caustic soda at 55 °C, respectively. The exposure to oxidative additives for 30 min in 22 °C water did not improve the cleaning efficacy versus the commonly used citric acid and caustic soda. The most efficient 4th cluster comprise all hot and all 24 h lasting treatments as well as the citric acid solution at 55 °C. The potential mitigation effect of oxidative agents was proven by the direct exposure to a watery solution of aroma compounds (Table 2). At 22 °C α -ionone, *trans*-cinnamaldehyde, and eugenol vanished completely after a 30 min in presence of chlorine dioxide and peracetic acid. Upon ozone exposure, a sluggish degradation was observed over 3 days. On the contrary, for the three lactones and the ester no significant changes occurred even after 3 days.

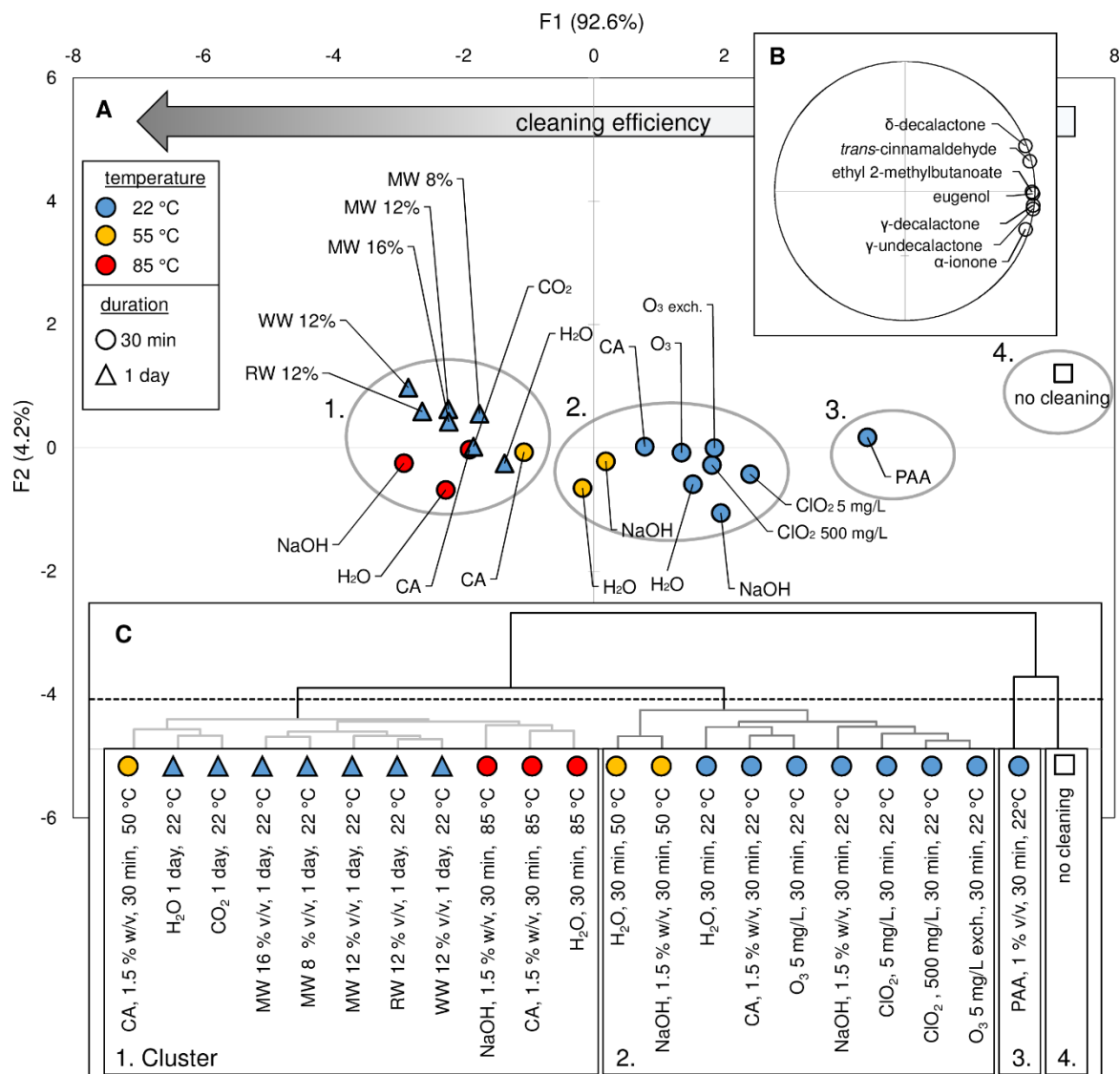


Figure 2. Observations (A) and loadings (B) of the principal component analysis of aroma compounds removed from EPDM using different cleaning agents, temperatures, and times ($n = 3$). Grouping of cleaning parameters by agglomerative hierarchic clustering (C). Sodium hydroxide solution (NaOH), citric acid solution (CA), ozonized water (O_3), chlorine dioxide solution (ClO_2), peracetic acid solution (PAA), model wine (MW), red wine (RW), white wine (WW), carbonized water (CO_2).

Studying the efficacy of different cleaning at three temperature levels for 30 min both the temperature and the cleaning agents themselves were highly significant (Table 1). However, F -values for temperature exceeded in general the F -value for the cleaning agents by far. In case of the α -ionone temperature had only a minor enhancing effect (factor 2.5) while for the other aroma compounds the factor rose to 15 (ethyl 2-methylbutanoate) and up to 100 (γ -undecalactone) or 133 (eugenol). This deviation is also backed by the highly significant interaction temperature \times agent for all studied aroma compounds, indicating that the effect of temperature varies for different agents. Overall, the largest removal to 12 % of the original aroma concentration within the EPDM polymer was observed for δ -decalactone and *trans*-cinnamaldehyde treated with 85 °C hot caustic soda solution, followed by a removal down to

Table 1. Aroma compounds removal from EPDM during a different cleaning steps (n = 3).

medium temperature duration; ethyl 2-methylbutanoate	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	α -ionone	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	trans-cinnamylaldehyde	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	eugenol	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	γ -decalactone	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	δ -decalactone	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%	γ -undecalactone	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	%
no cleaning	100 % (6.5 ± 0.6)	100 %	100 % (41.4 ± 2.5)	100 % (4.2 ± 0.2)	100 %	100 % (2.9 ± 0.2)	100 % (6.6 ± 0.1)	100 %	100 % (2.8 ± 0.2)	100 %	100 % (19.8 ± 0.3)									
cleaning for 30 min																				
water (22 °C) (control)	69 % (4.5 ± 0.5) a	72 % (29.8 ± 1.0) ab	40 % (1.7 ± 0.1) ab	59 % (1.7 ± 0.1) b	61 % (4.0 ± 0.1) b	37 % (1.0 ± 0.0) ab	62 % (12.3 ± 0.2) b													
water (50 °C)	50 % (3.3 ± 0.3) b	62 % (25.7 ± 1.9) bc	27 % (1.2 ± 0.0) d	43 % (1.3 ± 0.1) c	47 % (3.1 ± 0.0) d	27 % (0.7 ± 0.0) c	54 % (10.7 ± 0.2) d													
water (85 °C)	31 % (2.0 ± 0.2) c	56 % (23.1 ± 2.4) cde	11 % (0.5 ± 0.1) e	21 % (0.6 ± 0.1) ef	26 % (1.7 ± 0.0) f	17 % (0.5 ± 0.1) d	35 % (6.9 ± 0.5) g													
CA _{aq} 1.5 % w/v, (22 °C) a	56 % (3.7 ± 0.2) b	58 % (23.9 ± 3.4) bcde	38 % (1.6 ± 0.1) b	56 % (1.7 ± 0.1) b	56 % (3.7 ± 0.1) c	40 % (1.1 ± 0.0) a	58 % (11.4 ± 0.1) c													
CA _{aq} 1.5 % w/v, (50 °C)	38 % (2.5 ± 0.5) c	47 % (19.5 ± 3.3) ef	26 % (1.1 ± 0.1) d	38 % (1.1 ± 0.3) d	40 % (2.7 ± 0.1) e	26 % (0.7 ± 0.1) c	47 % (9.3 ± 0.5) f													
CA _{aq} 1.5 % w/v, (85 °C)	35 % (2.3 ± 0.2) c	50 % (20.5 ± 2.8) def	14 % (0.6 ± 0.0) e	23 % (0.7 ± 0.0) e	27 % (1.8 ± 0.0) f	30 % (0.8 ± 0.0) bc	37 % (7.4 ± 0.1) g													
NaOH _{aq} 1.5 % w/v, (22 °C)	54 % (3.5 ± 0.4) b	84 % (34.5 ± 1.0) a	41 % (1.7 ± 0.0) a	65 % (1.9 ± 0.2) a	71 % (4.7 ± 0.0) a	38 % (1.1 ± 0.0) a	71 % (14.1 ± 0.1) a													
NaOH _{aq} 1.5 % w/v, (50 °C)	55 % (3.6 ± 0.3) b	61 % (25.4 ± 5.4) bcd	33 % (1.4 ± 0.0) c	45 % (1.3 ± 0.1) c	48 % (3.2 ± 0.0) d	34 % (1.0 ± 0.1) ab	51 % (10.1 ± 0.3) e													
NaOH _{aq} 1.5 % w/v, (85 °C)	33 % (2.1 ± 0.2) c	42 % (17.3 ± 1.6) f	12 % (0.5 ± 0.1) e	17 % (0.5 ± 0.1) f	21 % (1.4 ± 0.0) g	12 % (0.3 ± 0.2) d	26 % (5.1 ± 0.1) h													
ANOVA	155.2 ****	45.8 ****	1595.9 ****	1589.3 ****	1598.1 ****	134.5 ****	2040.0 ****													
temperature: F-value p-value	10.1 ****	17.8 ****	23.6 ****	11.9 ****	36.8 ****	13.3 ****	21.4 ****													
temperature x medium:	16.4 ****	11.2 ****	16.6 ****	26.1 ****	47.2 ****	27.1 ****	139.5 ****													
F-value p-value																				
oxidative cleaning agents for 30 min at 22 °C																				
water (control)	69 % (4.5 ± 0.5) a	72 % (29.8 ± 1.0) ab	40 % (1.7 ± 0.1) b	59 % (1.7 ± 0.1) bc	61 % (4.0 ± 0.1) b	37 % (1.0 ± 0.0) b	62 % (12.3 ± 0.2) b													
PAA _{aq} (1 % v/v) a	79 % (5.1 ± 0.4) a	81 % (33.7 ± 0.9) a	55 % (2.3 ± 0.2) a	86 % (2.5 ± 0.6) a	85 % (5.6 ± 0.2) a	73 % (2.0 ± 0.2) a	85 % (16.9 ± 1.8) a													
O _{3, aq} (5 mg/L)	61 % (4.0 ± 0.7) a	59 % (24.3 ± 4.4) b	40 % (1.7 ± 0.1) b	64 % (1.9 ± 0.1) bc	63 % (4.2 ± 0.1) b	41 % (1.1 ± 0.0) b	65 % (12.8 ± 0.4) b													
O _{3, aq} (5 mg/L), 6 x exch. b	60 % (3.9 ± 0.4) a	65 % (26.8 ± 3.8) ab	44 % (1.8 ± 0.3) b	67 % (2.0 ± 0.6) bc	66 % (4.4 ± 0.3) b	48 % (1.3 ± 0.3) b	68 % (13.5 ± 1.9) b													
ClO _{2, aq} (5 mg/L)	65 % (4.2 ± 0.6) a	76 % (31.4 ± 2.7) ab	46 % (2.0 ± 0.1) ab	72 % (2.1 ± 0.3) c	70 % (4.7 ± 0.0) ab	47 % (1.3 ± 0.0) b	71 % (14.1 ± 0.4) ab													
ClO _{2, aq} (500 mg/L)	60 % (3.9 ± 0.8) a	68 % (28.0 ± 2.3) ab	43 % (1.8 ± 0.0) b	54 % (1.6 ± 0.2) c	72 % (4.8 ± 0.1) ab	47 % (1.3 ± 0.1) b	73 % (14.5 ± 0.1) ab													
ANOVA	1.9 n.s.	4.2 *	7.6 **	7.3 **	14.1 ****	17.6 ****	6.5 **													
medium: F-value p-value																				
cleaning with water at 85 °C for																				
5 min	58 % (3.8 ± 0.3) a	72 % (29.8 ± 1.7) a	35 % (1.5 ± 0.0) b	59 % (1.7 ± 0.0) a	63 % (4.2 ± 0.0) a	43 % (1.2 ± 0.0) a	69 % (13.7 ± 0.4) a													
10 min	51 % (3.3 ± 0.4) a	63 % (26.1 ± 2.6) ab	44 % (1.9 ± 0.1) a	36 % (1.1 ± 0.2) b	37 % (2.4 ± 0.1) b	48 % (1.3 ± 0.0) a	45 % (8.8 ± 1.0) b													
15 min	39 % (2.5 ± 0.1) b	48 % (19.8 ± 3.8) bcd	17 % (0.7 ± 0.1) c	31 % (0.9 ± 0.1) c	36 % (2.4 ± 0.0) b	20 % (0.6 ± 0.0) b	44 % (8.8 ± 0.1) b													
30 min	31 % (2.0 ± 0.2) bc	56 % (23.1 ± 2.4) abc	11 % (0.5 ± 0.1) d	23 % (0.6 ± 0.1) de	26 % (1.7 ± 0.0) cd	17 % (0.5 ± 0.1) b	35 % (6.9 ± 0.5) c													
45 min	36 % (2.3 ± 0.2) b	55 % (22.8 ± 1.6) abcd	14 % (0.6 ± 0.0) cd	21 % (0.7 ± 0.0) d	28 % (1.9 ± 0.0) c	19 % (0.5 ± 0.0) b	38 % (7.6 ± 0.4) bc													
60 min	25 % (1.6 ± 0.0) c	45 % (18.8 ± 2.3) cd	12 % (0.5 ± 0.0) d	19 % (0.6 ± 0.1) de	23 % (1.5 ± 0.0) de	16 % (0.5 ± 0.0) b	34 % (6.8 ± 0.1) c													
60 min, 1 x exch. c	21 % (1.4 ± 0.0) c	38 % (15.8 ± 2.7) d	10 % (0.4 ± 0.0) d	16 % (0.5 ± 0.1) e	20 % (1.3 ± 0.0) e	17 % (0.5 ± 0.1) b	27 % (5.4 ± 0.3) d													
ANOVA	44.0 ****	10.2 ****	327.9 ****	246.9 ****	237.5 ****	220.4 ****	86.8 ****													
duration: F-value p-value																				

Table 1. (continued)

medium temperature duration	ethyl 2-methylbutanoate	α -ionone	trans-cinnamaldehyde	eugenol	γ -decalactone	δ -decalactone	γ -undecalactone
	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	% $\mu\text{g}/\text{cm}^3$
no cleaning	100 % (6.5 \pm 0.6)	100 % (41.4 \pm 2.5)	100 % (4.2 \pm 0.2)	100 % (2.9 \pm 0.2)	100 % (6.6 \pm 0.1)	100 % (2.8 \pm 0.2)	100 % (19.8 \pm 0.3)
storage for 1 day at 22 °C with							
water (control)	33 % (2.2 \pm 0.3) a	55 % (22.9 \pm 4.3) a	25 % (1.1 \pm 0.1) a	31 % (0.9 \pm 0.1) ab	31 % (2.1 \pm 0.1) a	25 % (0.7 \pm 0.2) a	43 % (8.6 \pm 0.8) a
water (6 g/L CO ₂)	25 % (1.6 \pm 0.2) b	51 % (21.2 \pm 1.9) ab	23 % (1.0 \pm 0.0) ab	28 % (0.8 \pm 0.1) bc	28 % (1.9 \pm 0.0) a	27 % (0.8 \pm 0.1) a	37 % (7.4 \pm 0.1) b
model wine (8 % v/v)	35 % (2.3 \pm 0.2) a	37 % (15.2 \pm 1.3) bc	25 % (1.0 \pm 0.0) a	33 % (1.0 \pm 0.0) a	30 % (2.0 \pm 0.1) a	30 % (0.8 \pm 0.1) a	36 % (7.2 \pm 0.3) b
model wine (12 % v/v)	30 % (1.9 \pm 0.3) ab	39 % (16.1 \pm 2.2) bc	23 % (1.0 \pm 0.1) a	26 % (0.8 \pm 0.0) c	23 % (1.5 \pm 0.1) b	30 % (0.8 \pm 0.0) a	29 % (5.7 \pm 0.2) cd
model wine (16 % v/v)	32 % (2.1 \pm 0.2) ab	33 % (13.8 \pm 1.4) c	23 % (0.9 \pm 0.1) ab	32 % (0.9 \pm 0.1) ab	29 % (1.9 \pm 0.1) a	22 % (0.6 \pm 0.1) a	30 % (6.0 \pm 0.1) c
red wine (12 % v/v)	31 % (2.0 \pm 0.1) ab	35 % (14.6 \pm 1.2) c	18 % (0.8 \pm 0.0) c	22 % (0.6 \pm 0.0) d	21 % (1.4 \pm 0.0) b	27 % (0.7 \pm 0.1) a	24 % (4.8 \pm 0.1) de
white wine (12 % v/v)	27 % (1.8 \pm 0.1) ab	30 % (12.3 \pm 1.0) c	19 % (0.8 \pm 0.0) bc	19 % (0.6 \pm 0.0) d	18 % (1.2 \pm 0.0) c	30 % (0.8 \pm 0.0) a	23 % (4.6 \pm 0.1) e

ANOVA

medium: F-value | p-value

4.3 * 9.9 **** 11.1 **** 43.9 *** 64.0 *** 2.4 n.s. 53.4 ****

^a citric acid solution (CA), sodium hydroxide solution (NaOH), Peracetic acid solution (PAA);^b after 30 min water was exchanged with fresh hot water at 85 °C;^c after every 5 min the ozonized water was exchanged with fresh ozonized water;Mean values compared with Tukey HSD-test ($\alpha = 95\%$); significant difference is indicated by different letters for each group considered; 1. 30 min cleaning; 2. oxidative cleaning agents; 3. time dependent evaluation; 4. one day storage.Significance of the parameters cleaning temperature, cleaning medium, and cleaning duration is indicated with n.s. (not significant), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and **** $p < 0.001$.

17 % for eugenol. The least removal only to 42 % of the original concentration was measured for α -ionone.

Although the removal of aroma compounds from EPDM polymers by oxidants were significant or highly significant except for the ester (Table 1), the low *F*-values and the infrequent significant mean comparisons show the overall limited effect of oxidants. Compared to the water control, none of the oxidative additives achieved a significant better removal than exposure to water. Only peracetic acid was often significantly less effective than pure or oxidant enriched water.

Table 2. Impact of contact time and oxidative agents on the concentration of aroma compounds dissolved in cleaning water.

		water mg/L	O ₃ aq (5 mg/L) mg/L	ClO ₂ aq (5 mg/L) mg/L	ClO ₂ aq (500 mg/L) mg/L	PAA aq (1 % v/v) mg/L
ethyl 2-methylbutanoate	30 min	1.3 ± 0.2 ab	1.5 ± 0.5 a	1.3 ± 0.2 abc	1.3 ± 0.1 abc	0.8 ± 0.7 bcd
	3 days	1.0 ± 0.1 abc	0.8 ± 0.2 bcd	1.6 ± 0.3 a	0.2 ± 0.1 d	0.7 ± 0.5 cd
α -ionone	30 min	2.4 ± 0.1 a	1.5 ± 0.2 b	nd ^a	nd	nd
	3 days	1.9 ± 0.1 b	0.6 ± 0.1 c	nd	nd	nd
<i>trans</i> -cinnamaldehyde	30 min	1.0 ± 0.1 a	0.5 ± 0.2 bc	1.0 ± 0.1 a	nd	nd
	3 days	0.8 ± 0.1 ab	0.4 ± 0.3 c	0.9 ± 0.1 a	nd	nd
eugenol	30 min	0.8 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 b	nd	nd	nd
	3 days	0.9 ± 0.1 a	0.3 ± 0.3 b	nd	nd	nd
γ -decalactone	30 min	12.3 ± 1.7 a	8.2 ± 1.1 a	9.2 ± 0.4 a	10.3 ± 0.5 a	8.4 ± 1.1 a
	3 days	9.3 ± 0.1 a	10.2 ± 0.3 a	8.6 ± 0.8 a	9.3 ± 1.8 a	7.8 ± 0.6 a
δ -decalactone	30 min	6.5 ± 3.1 a	5.2 ± 1.2 a	8.1 ± 1.6 a	7.7 ± 0.6 a	6.8 ± 0.9 a
	3 days	6.1 ± 0.1 a	2.5 ± 0.6 a	4.1 ± 0.9 a	5.9 ± 1.6 a	3.5 ± 0.5 a
γ -undecalactone	30 min	1.2 ± 0.2 a	0.9 ± 0.1 a	0.9 ± 0.0 a	1.1 ± 0.1 a	0.9 ± 0.1 a
	3 days	0.9 ± 0.1 a	0.8 ± 0.1 a	0.8 ± 0.0 a	0.8 ± 0.1 a	0.8 ± 0.1 a

^a below the detection limit of the applied method (10 μ g/L);

Mean values compared with Tukey HSD-test ($\alpha = 95$ %); significant difference is indicated by different letters.

2.2. Cleaning time

Due to the major effect of high temperature, the desorption over time was only studied at 85 °C over 60 min in pure water. For all aroma compounds, the decrease within the studied sealing lasted only for 20 min and reached a stable equilibrium (Figure 3). The percentage of removed aroma compounds varied between 62 % for α -ionone and 90 % for *trans*-cinnamaldehyde and were highly significant for all aroma compounds (Table 1). Exchanging the water after 30 min for another 30 min cleaning step at 85 °C did not triggered any further significant removal of aroma compounds from the sealings, except for the significant decrease from 34 % down to 27 % of the original concentration of γ -decalactone (Table 1).

Comparing the percentage of removed aroma compounds due to exposure to pure water for 30 min (control) and 24 hours, the delta varied significantly between 36 % further removal for

ethyl 2-methylbutanoate and 12 % for δ -decalactone. Supplementing the water with alcohol by using model or commercial wine for the 24 h exposure, a further significant improvement was observed except for ethyl 2-methylbutanoate and δ -decalactone. Addition of 6 mg/L CO₂ to the water yielded only for ethyl 2-methylbutanoate and γ -undecalactone a further significant removal.

Discussion

Diffusion phenomena in solid material are strongly dependent on the concentration gradient and are governed according to the first Fick's law (1) by the diffusion flux (J), the diffusion coefficient (D), the concentration (c) taking place along the length and depth of the matrix (x) (Sajilata et al., 2007, Licciardello et al., 2009, Karbowski et al., 2010, Číhal et al., 2015).

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (1)$$

In order to minimize the diffusion flux J of aroma compounds into and within sealing polymers the diffusion coefficient D is the only factor which can be freely modified. Concentration of aroma compounds is predetermined by the composition of the bottled aromatized beverage while x is defined by the dimensions of the sealings which are installed within a bottling machine. To alter the diffusion coefficient D we incorporated different filler substances into the polymer which should mitigate best aroma absorption, but have as little as possible impact on material properties such as durability and flexibility. Increased crystallinity of the polymer due to interaction with appropriate filler substance diminishes absorption, because in crystalline phases diffusion of aroma compounds is more hindered as it is the case in amorphous phases in polymers (Charara et al., 1992, Richter and Schacker, 2016). Due to their nonpolar properties incorporation of PE wax and cork into EPDM enlarged absorption of volatiles, which is contradictory to the mitigation objective (Barker et al., 2001, Brajkovich et al., 2005, Blake et al., 2009, Karbowski et al., 2010, Adams et al., 2019). The observed difference between Carbon Black N220 and N990 is rationalized by the fact that Carbon Black N220 consists of small particles with a larger surface per unit of weight, which enhanced absorption versus the larger sized N990 particles. Uptake of aroma compounds decreased largely by incorporation of micro-cellulose or kaolin into the EPDM polymer and absorption declined more effectively with a high portion of both materials. This beneficial effect can be explained by the crystalline nature of cellulose and the layered silicate mineral kaolin (Al₂Si₂O₅(OH)₄). However as displayed in Figure 1, this improvement could not achieve the same inertness towards absorption of aroma compounds as it was measured for fluorine-based rubber (FKM). FKM sealings feature an excellent thermal and chemical stability due to the high binding energy of the carbon-fluorine bond and the high density of the polymer. The linear molecular structure

also favors semi-crystalline structures with high melting points, which hinders diffusion within the sealing (Abts, 2010). Although aroma carryover can be efficiently decreased by implementing FKM sealings into bottling equipment, FKM is not commonly used due to its approximately ten times higher price as well as its low fatigue resistance, which severely restricts its use in contact with moving parts and sealings undergoing continual plastic deformation. The merits of FKM to mitigate migration of several aroma compounds as reported in this paper has been so far only published in German technical literature, studying aroma carryover during simulated bottling of flavoured water just by sensory evaluation and no chemical analysis of aroma compounds in the sealing itself (Eckstein, 2011, Vetter, 2012, Freudenberg Sealing Technologies, 2016, Freund and Seckler, 2016, Beierle et al., 2020).

Comprehensive evaluation of the efficacy to remove aroma compounds from sealings by commonly applied cleaning agents, temperatures and duration of treatments for bottling equipment did not reveal any significant improvement towards pure water at the same temperature (Figure 2 C). All cleaning agents by themselves as well as their dissolvent water are highly polar compounds. Deviating absorption of aroma compounds of varying polarity in the same EPDM sealing revealed that only 1 % of the most polar *trans*-cinnamaldehyde could be absorbed from a solution while the least polar α -ionone was absorbed by 25 % (Gottmann et al., 2021). As cleaning agents such as citric acid, caustic soda and water exceed by large the polarity of the studied aroma compounds, it is obvious that neither the cleaning agents nor the water enter the sealing and thus cannot interact directly with absorbed aroma compounds in deeper layers of the polymer.

Oxidative cleaning additives commonly used in sterilization and sanitation such as ozone, peracetic acid (PAA) or chlorine dioxide are discussed in the industry to enhance the removal of aroma compounds from sealings. Indeed, oxidative additives oxidize volatiles according to the Criegee mechanism resulting in an oxygen-substitution or a ring cleavage leading to a rise in polarity of the educts (Stahelin et al., 1984, Mvula and Sonntag, 2003, Sonntag and Gunten, 2012, Wenk et al., 2013). This effect was proven to be effective in the water by the direct exposure of aroma compounds to oxidative agents (Table 2). The unsaturated aroma molecules α -ionone, eugenol and *trans*-cinnamaldehyde were partially or completely degraded by oxidants while the saturated lactones and ester remained unaffected in their concentration even throughout three days of contact. The observation, that none of the treatments with added oxidants in this study could significantly enhance depletion of aroma compounds from the sealings in comparison to water (Table 1), is another proof that these highly polar agents do not migrate into the EPDM polymers at all. In an earlier study ozonated water (2 mg/L, 60 min, 20 °C) enhanced removal of limonene from EPDM and silicone sealings, while for 1-hexanol,

furfural, and 4-vinylguaiacol only minor effects were observed (Nishijima et al., 2014). Our findings are corroborated by Stadler et al. (2020), who did not observe any change of oak volatiles in wine barrels using a short 2 min treatment with 10 mg/L ozonated water, although ozone penetrates porous oak better than solid EPDM polymers.

The fact that elevated temperature are by far the most effective cleaning parameter to remove aroma compounds are rationalized by the comprehensive definition of the diffusion coefficient D in Fick's law (2). D is determined by the maximum diffusion (D_0), the activation energy (E_A) required to initiate diffusion, the universal gas constant (R), and temperature (T). Besides the fixed R , D_0 depends on the matrix and E_A on the compound studied. Thus the only parameter which can be freely varied is temperature.

$$D = D_0 \times \exp \frac{E_A}{RT} \quad (2)$$

Rising temperature warms up the sealing polymer and stimulates diffusion of aroma compounds in the polymer matrix according to the Arrhenius equation with the rate constant (k) and the pre-exponential factor (A).

$$k = A \times \exp \frac{E_A}{RT} \quad (3)$$

As a result, depletion of aroma compounds close to the surface of the sealing will increase compared to a cleaning temperature at 55 °C or even 22 °C with lower diffusion coefficients for the aroma compounds in the polymer.

A more holistic approach can be considered using the second Fick's law. Derived from the first law with a static approach, the second Fick's law (4) predicts the change in concentration in a given area as a function of time (Sajilata et al., 2007, Licciardello et al., 2009, Karbowski et al., 2010, Číhal et al., 2015).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (4)$$

Studying the time dependent depletion of aroma compounds at 85 °C in Figure 3, an equilibrium revealed between absorption and depletion established after 20 minutes of cleaning. Bearing in mind that cleaning agents can only interact directly with aroma compounds remaining or emerging from deeper polymer layers on the surface of the sealing, diffusion of aroma compounds from deeper layers to the surface of the polymer seems to be the limiting step for depletion of aroma compounds during the cleaning process. This diffusion is governed by the concentration gradient in the polymer matrix, the polarity of the aroma compounds and the density and crystallinity of the sealing polymer, which is a function of the polymer composition and added fillers. Any cleaning or oxidative agents are by far too polar to penetrate the sealing, only ethanol seems to be nonpolar enough to exert a minor depletion enhancement, but only

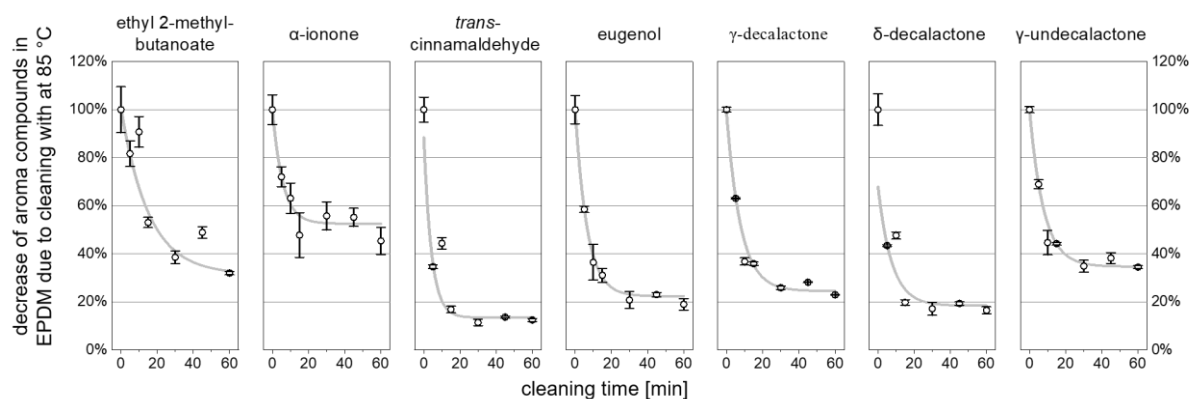


Figure 3. Depletion of absorbed aroma compounds from EPDM plates cleaned with hot water (85°C) over time ($n = 3$). Corresponding concentrations are listed in Table 1.

after 24 h of exposure (Canals et al., 2005, Coelho et al., 2019). Highly nonpolar compounds such as α -ionone and γ -undecalactone seems to benefit more by this small effect which is confirmed by a two-fold increase in depletion. According to the principles of Le Chatelier the exchange of the cleaning agents during the cleaning process should improve the cleaning efficacy to a large extent due to newly established equilibria. Surprisingly, exchanging the hot cleaning water after 30 min did not lead to a further significant removal of the aroma compounds from the polymer.

We integrated all diffusion processes and equilibria in a general picture in Figure 4. Exposing the sealings to different aromatized wine-based beverages, absorption of aroma by the sealing is a function of their concentration in the liquid as well as a function of the chemical and physical features of the polymer such as polarity, crystallinity and density. The factor time and temperature further governs how deep aroma compounds migrate into deeper layers of the polymer. As shown, cleaning agents and oxidative additives only act at the surface of the sealing. Primarily rising temperature and to a smaller extent time accelerate diffusion in the polymer and triggering a faster diffusion of aroma compounds from deeper layers to the surface. Vice versa, enhanced diffusion can also lead to a further migration into even deeper layers. Aroma compounds that migrated over a longer period of time due to the concentration gradient into deeper layers cannot be removed directly and need to migrate back to the polymer surface which is exposed to the cleaning media.

Bottling the subsequent wine, desorption of aroma compounds from the polymer only occurs at the surface of the sealing. Relative cold bottling temperatures between 15–20 °C hinders a fast diffusion and thus limits the migration of aroma compounds from deeper layers of the polymer to the sealing surface. Large volumes passing through the bottling machine facilitate a strong dilution of the few desorbed aroma compounds in the bottled wine.

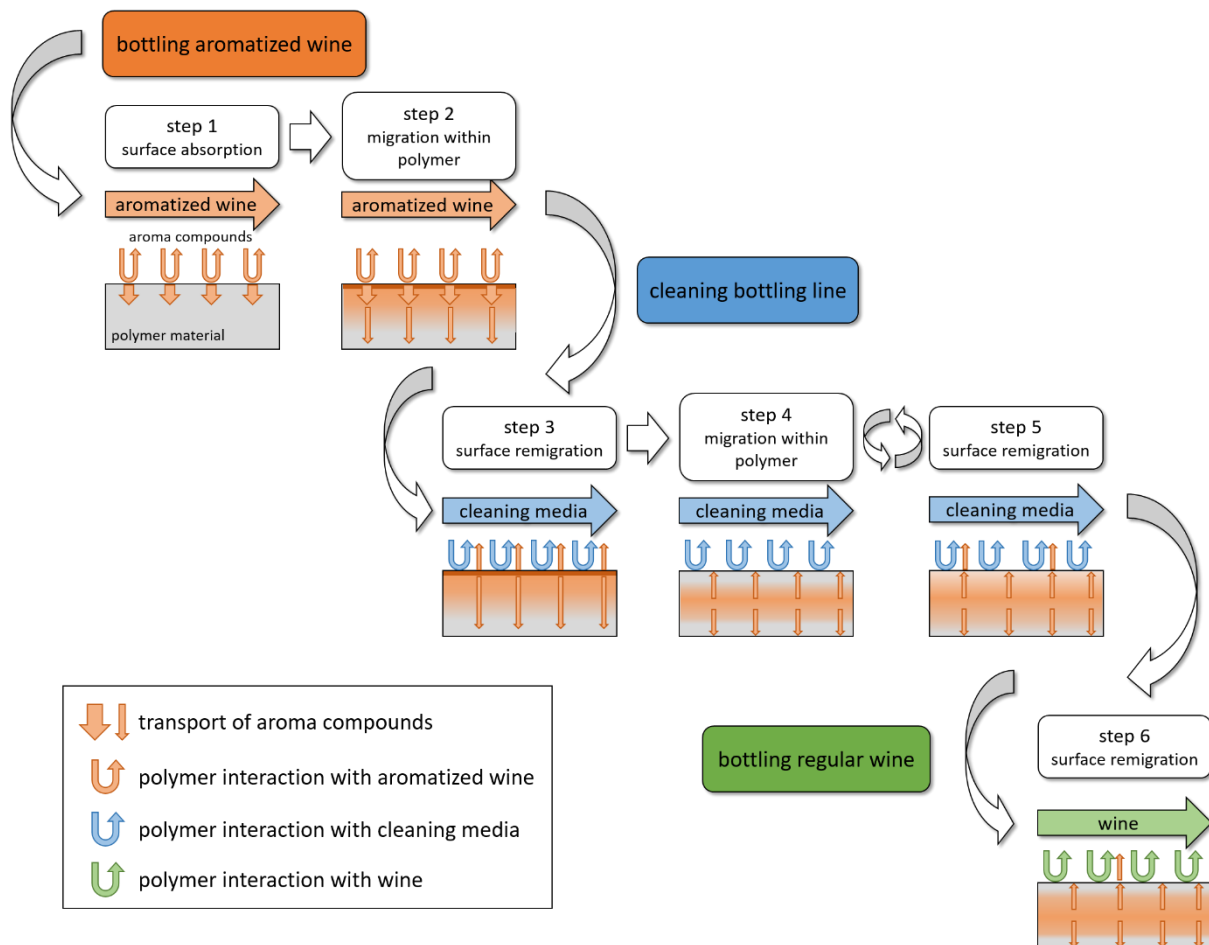


Figure 4. Model of the diffusion of aroma compounds in the sealing polymers during the bottling of aromatized wine and regular wine on the same bottling line, with an intermedial cleaning sequence.

Conclusions

The comprehensive study of aroma compounds varying in chemical structure and polarity revealed their absorption and desorption behavior within the sealing polymer. A first strategy to mitigate aroma carryover is to increase crystallinity and density of the sealing polymer to restrict the uptake and diffusion within the polymer. The most promising kaolin and cellulose fillers did not modify the physical properties of the sealing polymers. Statistical analysis of all cleaning parameters clearly proved temperature as the most important and effective factor, which was rationalized by different physical laws. None of the cleaning agents were able to improve the depletion of aroma compounds for the simple reason that they only act on the surface because they are too polar to penetrate the nonpolar sealing polymers. Only exposure to ethanol solution over a long time of 24 hours showed a minor benefit in aroma depletion.

Based on the developed model, aroma compounds will never be completely removed from a sealing polymer, because diffusion has no spatial orientation and only follows a concentration gradient. Thus, depletion of aroma compounds ceased after 20 minutes at high temperature, as diffusion to the sealing surface was too slow to deliver further aroma compounds from deeper layers and also lead to diffusion in the contrary direction. Energy consuming high cleaning temperatures can only be partially compensated by very long exposure periods of 24 h or even longer.

Considering the fact that a complete depletion of aroma compounds from sealings is not possible, aroma carryover into the subsequently bottled wine cannot be prevented to 100%. Thus, it requires further studies to determine the sensory relevance of aroma carryover by sensory tests and application of odor-thresholds of aroma compounds determined in a wine matrix.

Acknowledgements

This IGF Project 20220 N of the FEI is/was supported via AiF within the program for promoting the Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economics and Climate Action (BMWK), based on a resolution of the German Parliament.

References

- Abts, G. 2010. *Kunststoff-Wissen für Einsteiger: Grundlagen, Eigenschaften und Recycling polymerer Werkstoffe* (2nd ed.). Carl Hanser Verlag.
- Adams, A., van Bloois, S., Otte, B., Caro, E., Mekap, D., & Sandkuehler, P. (2019). Flavor scalping by polyethylene sealants. *Food Packaging and Shelf Life* 21, 100371. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100371>
- Barker, D. A., Capone, D. L., Pollnitz, A. P., McLean, H. J., Francis, L., Oakey, H., & Sefton, M. A. (2001). Absorption of 2, 4, 6- trichloroanisole by wine corks via the vapour phase in an enclosed environment. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7(1), 40–46. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00192.x>
- Basso, M., Simonato, M., Furlanetto, R., & Nardo, L. de. (2017). Study of chemical environments for washing and descaling of food processing appliances: An insight in commercial cleaning products. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 53, 23–36. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.03.041>
- Beierle, E., Bradshaw, I., Reuter, M., & Tomp, A. (2020). Produktwechsel ohne Aromaverschleppung? Qualitätsanspruch bei hoher Produktvielfalt. *Getränke!* 4, 36–40.
- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., Sears, M., & Pickering, G. J. (2009). Effect of closure and packaging type on 3-alkyl-2-methoxypyrazines and other impact odorants of Riesling and Cabernet Franc wines. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry* 57(11), 4680–4690. <https://doi.org/10.1021/jf803720k>
- BMEL. 2019. Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein. Referat 414, Wein, Bier, Getränkewirtschaft.
- Brajkovich, M., Tibbits, N., Peron, G., Lund, C. M., Dykes, S. I., Kilmartin, P. A., & Nicolau, L. (2005). Effect of screwcap and cork closures on SO₂ levels and aromas in a Sauvignon Blanc wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(26), 10006–10011. <https://doi.org/10.1021/jf0512813>
- Canals, R., Llaudy, M. C., Valls, J., Canals, J. M., & Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10), 4019–4025. <https://doi.org/10.1021/jf047872v>
- Changani, S. D., Belmar-Beiny, M. T., & Fryer, P. J. (1997). Engineering and chemical factors associated with fouling and cleaning in milk processing. *Experimental Thermal and Fluid Science* 14(4), 392–406. [https://doi.org/10.1016/S0894-1777\(96\)00141-0](https://doi.org/10.1016/S0894-1777(96)00141-0)
- Charara, Z. N., Williams, J. W., Schmidt, R. H., & Marshall. (1992). Orange flavor absorption into various polymeric packaging materials. *Journal of Food Science* 57(4), 963–968. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb14334.x>
- Číhal, P., Vopička, O., Pilnáček, K., Poustka, J., Friess, K., Hajšlová, J., Dobiáš, J., & Dole, P. (2015). Aroma scalping characteristics of polybutylene succinate based films. *Polymer Testing* 46, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.07.006>
- Coelho, E., Teixeira, J. A., Domingues, L., Tavares, T., & Oliveira, J. M. (2019). Factors affecting extraction of adsorbed wine volatile compounds and wood extractives from used oak wood. *Food Chemistry* 295, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.093>
- Eckstein, J. (2011). Durch geeignete Werkstoffauswahl Aromatransfer verhindern. *Pharma+Food* 9(9), 41–43.
- Elss, S., Kleinhenz, S., & Schreier, P. (2007). Odor and taste thresholds of potential carry-over/off-flavor compounds in orange and apple juice. *LWT-Food Science and Technology* 40(10), 1826–1831. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.010>
- Englezos, V., Rantsiou, K., Cravero, F., Torchio, F., Giacosa, S., Segade, S. R., Gai, G., Dogliani, E., Gerbi, V., & Cocolin, L. (2019). Minimizing the environmental impact of cleaning in winemaking industry by using ozone for cleaning-in-place (CIP) of wine bottling machine. *Journal of cleaner production* 233, 582–589. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.097>
- European Parliament. 2009. Regulation (EU) No 606/2009: Laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards.
- Freudenberg Sealing Technologies. 2016. Dichtungshandbuch für die Prozessindustrie.
- Freund, M., & Seckler, J. (2016). Aromaverschleppung im Wein. *Das deutsche Weinmagazin* (25), 25–29.
- Gan, W., Ge, Y., Zhong, Y., & Yang, X. (2020). The reactions of chlorine dioxide with inorganic and organic compounds in water treatment: kinetics and mechanisms.

-
- Environmental Science: Water Research & Technology* 6(9), 2287–2312.
<https://doi.org/10.1039/D0EW00231C>
- Gottmann, J., Vestner, J., & Fischer, U. (2022). Sensory significance of seven marker compounds from aromatized wines to assess potentially fraudulent aroma carryover [Manuscript submitted for publication].
- Gottmann, J., Vestner, J., Müller, D., Schuster, J., & Fischer, U. (2021). Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(38), 11382–11394.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04565>
- Karbowiak, T., Mansfield, A. K., Barrera-García, V. D., & Chassagne, D. (2010). Sorption and diffusion properties of volatile phenols into cork. *Food Chemistry* 122(4), 1089–1094.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.089>
- Kim, J., & Huang, C.-H. (2020). Reactivity of peracetic acid with organic compounds: A critical review. *ACS ES&T Water* 1(1), 15–33.
<https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00029>
- Kuke, F. (2005). Die Erzeugung von Chlordioxid für den menschlichen Gebrauch. *Vom Wasser* 103(4), 18.
- Lampe, U. (2015). Untersuchungen zur Authentizität von Weinaroma am Beispiel der γ -Lactone. *38th World Congress of Vine and Wine (Part 2)* 5, 6005.
- Langen, J., Wang, C.-Y., Slabizki, P., Wall, K., & Schmarr, H.- G. (2013). Quantitative analysis of γ - and δ - lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27(24), 2751–2759. <https://doi.org/10.1002/rcm.6736>
- Langen, J., Wegmann-Herr, P., & Schmarr, H.- G. (2016). Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408(23), 6483–6496.
<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9767-6>
- Licciardello, F., Del Nobile, M. A., Spagna, G., & Muratore, G. (2009). Scalping of ethyl octanoate and linalool from a model wine into plastic films. *LWT - Food Science and Technology* 42(6), 1065–1069. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.007>
- LUA. (2014). LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung 2014. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz*.
- Mosandl, A. (2004). Authenticity assessment: a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *Journal of chromatographic science* 42(8), 440–449.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/42.8.440>
- Mvula, E., & Sonntag, C. von. (2003). Ozonolysis of phenols in aqueous solution. *Organic & biomolecular chemistry* 1(10), 1749–1756. <https://doi.org/10.1039/B301824P>
- Nielsen, T. J. (1994). Limonene and myrcene sorption into refillable polyethylene terephthalate bottles, and washing effects on removal of sorbed compounds. *Journal of Food*
-

- Science* 59(1), 227–230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06936.x>
- Nishijima, W., Okuda, T., Nakai, S., & Okada, M. (2014). A green procedure using ozone for Cleaning-in-Place in the beverage industry. *Chemosphere* 105, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.019>
- Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu Priya, E. P., Kothakota, A., Ramesh, S. V., & Shahir, S. (2019). Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering* 41(1), 17–34. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- Richter, E., & Schacker, O. 2016. Oberflächenaktive Zusatzstoffe. In *Handbuch Kunststoff Additive*. Maier R-D, and Schiller M (Eds.) (4th ed.). Carl Hanser Verlag GmbH Co KG.
- Rincon-Delgado, M. I., Lopez-Hernandez, A., & Rankin, S. A. (2013). Reactivity of diacetyl with cleaning and sanitizing agents. *Journal of dairy science* 96(1), 105–111. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5893>
- Safa, H. L., & Bourelle, F. (1999). Sorption–desorption of aromas on multi- use PET bottles. A test procedure. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 12(1), 37–44. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1522\(199901/02\)12:1<37::AID-PTS452>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1522(199901/02)12:1<37::AID-PTS452>3.0.CO;2-F)
- Sajilata, M. G., Savitha, K., Singhal, R. S., & Kanetkar, V. R. (2007). Scalping of flavors in packaged foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6(1), 17–35. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00014.x>
- Schumacher, K., Asche, S., Heil, M., Mittelstädt, F., Dietrich, H., & Mosandl, A. (1998). Methyl-branched flavor compounds in fresh and processed apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(11), 4496–4500. <https://doi.org/10.1021/jf980574b>
- Schwinn, M., Durner, D., Wacker, M., Delgado, A., & Fischer, U. (2019). Impact of fermentation temperature on required heat dissipation, growth and viability of yeast, on sensory characteristics and on the formation of volatiles in Riesling. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 25(2), 173–184. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12386>
- Seiberling, D. A. (2008). Clean-in-Place for biopharmaceutical processes. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences* 173, 53–92. <https://doi.org/10.3109/9781420014051>
- Sinner, H. 1960. Über das Waschen mit Haushaltwaschmaschinen: in welchem Umfange erleichtern Haushaltwaschmaschinen und-geräte das Wäschehaben im Haushalt? Haus+ Heim-Verlag.
- Sonntag, C. von, & Gunten, U. von. 2012. Chemistry of ozone in water and wastewater treatment. IWA publishing.
- Stadler, E., & Fischer, U. (2020). Sanitization of Oak Barrels for Wine—A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68(19), 5283–5295. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00816>
- Stadler, E., Schmarr, H.- G., & Fischer, U. (2020). Influence of physical and chemical barrel sanitization treatments on the volatile composition of toasted oak wood. *European Food Research and Technology* 246(3), 497–511. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03417-7>
- Staelin, J., Buehler, R., & Hoigné, J. (1984). Ozone decomposition in water studied by

pulse radiolysis. 2. Hydroxyl and hydrogen tetroxide HO₄ as chain intermediates. *The Journal of Physical Chemistry* 88(24), 5999–6004.

Tamime, A. Y. 2009. *Cleaning-in-place: dairy, food and beverage operations*. John Wiley & Sons.

Vetter, E. (2012). Aromamigration in elastomere Werkstoffe: Kleines Bauteil - große Wirkung. *DMW - Die Milchwirtschaft* 3(10), 380–386.

Wenk, J., Aeschbacher, M., Salhi, E., Canonica, S., Gunten, U. von, & Sander, M. (2013). Chemical oxidation of dissolved organic matter by chlorine dioxide, chlorine, and ozone: effects on its optical and antioxidant properties. *Environmental science & technology* 47(19), 11147–11156. <https://doi.org/10.1021/es402516b>

Supplemental Data

Supplemental Table 1. *Density of polymer materials with different fillings investigated in the model system.*

	filling material [phr]	KEP 510 [phr]	white oil [phr]	Peroxan DC [phr]	TAC-70 XP [phr]	weight [g/plate]	density [g/cm ³]
<u>reference material</u>							
70 EPDM 291	-	-	-	-	-	2.77	1.2
FKM 75 Fluoroprene (XP41)	-	-	-	-	-	4.88	2.0
<u>manufactured EPDM variants</u>							
aktifit VM	50	100	10	8	2	2.97	1.2
	150	100	10	8	2	3.61	1.5
kaolin	50	100	10	8	2	3.23	1.4
	150	100	10	8	2	3.60	1.5
talcum	50	100	10	8	2	2.77	1.2
	150	100	10	8	2	3.40	1.4
micro-cellulose	50	100	10	8	2	3.03	1.3
	150	100	10	8	2	3.05	1.3
glass flakes	50	100	10	8	2	3.00	1.3
	150	100	10	8	2	3.62	1.5
cork	50	100	10	8	2	2.77	1.2
	100	100	10	8	2	2.30	1.0
polyethylen-wax	25	100	10	8	2	2.30	1.0
	50	100	10	8	2	2.11	0.9
Carbon Black N220	50	100	10	8	2	3.20	1.3
	100	100	10	8	2	3.44	1.4
Carbon Black N990	50	100	10	8	2	2.79	1.2
	150	100	10	8	2	3.55	1.5

Supplemental Table 2. Aroma compounds absorbed into experimental EPDM and FKM (XP41) after 48 h immersion of polymer plates in aromatized model wine ($n = 4$).

	ethyl 2-methylbutanoate		α -ionone		trans-cinnamaldehyde		eugenol		γ -decalactone		δ -decalactone		γ -undecalactone	
	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{cm}^3$
reference material														
EPDM	100 %	(3.5 \pm 1.6)	100 %	(22.6 \pm 6.1)	100 %	(1.8 \pm 0.4)	100 %	(4.1 \pm 0.9)	100 %	(6.5 \pm 1.2)	100 %	(3.9 \pm 0.3)	100 %	(12.5 \pm 2.2)
FKM (XP41)	6 %	(0.2 \pm 0.0)	2 %	(0.5 \pm 0.1)	5 %	(0.1 \pm 0.0)	1 %	(0.0 \pm 0.0)	16 %	(1.0 \pm 0.2)	nd		11 %	(1.4 \pm 0.3)
aktiviti VM														
50 phr	70 %	(2.4 \pm 0.8)	77 %	(17.4 \pm 1.7)	50 %	(0.9 \pm 0.1)	19 %	(0.8 \pm 0.4)	94 %	(6.1 \pm 1.0)	52 %	(2.1 \pm 0.3)	100 %	(12.5 \pm 2.2)
150 phr	40 %	(1.4 \pm 0.6)	61 %	(13.8 \pm 1.7)	43 %	(0.8 \pm 0.1)	14 %	(0.6 \pm 0.3)	83 %	(5.4 \pm 0.8)	57 %	(2.2 \pm 0.3)	89 %	(11.1 \pm 1.8)
kaolin														
50 phr	53 %	(1.8 \pm 0.1)	79 %	(17.8 \pm 1.3)	40 %	(0.7 \pm 0.1)	20 %	(0.8 \pm 0.3)	123 %	(8.0 \pm 0.6)	65 %	(2.6 \pm 0.6)	116 %	(14.5 \pm 1.3)
150 phr	43 %	(1.5 \pm 0.3)	49 %	(11.1 \pm 1.2)	44 %	(0.8 \pm 0.2)	nd		78 %	(5.0 \pm 1.2)	16 %	(0.6 \pm 0.0)	50 %	(6.2 \pm 0.4)
talcum														
50 phr	48 %	(1.6 \pm 0.1)	84 %	(18.9 \pm 1.0)	57 %	(1.0 \pm 0.2)	20 %	(0.8 \pm 0.4)	124 %	(8.0 \pm 0.3)	51 %	(2.0 \pm 0.3)	113 %	(14.1 \pm 1.2)
150 phr	34 %	(1.2 \pm 0.2)	78 %	(17.6 \pm 3.6)	45 %	(0.8 \pm 0.3)	19 %	(0.8 \pm 0.3)	119 %	(7.7 \pm 1.8)	51 %	(2.0 \pm 0.4)	97 %	(12.1 \pm 2.2)
micro-cellulose														
50 phr	77 %	(2.6 \pm 0.6)	42 %	(9.5 \pm 0.7)	31 %	(0.6 \pm 0.1)	32 %	(1.3 \pm 0.2)	48 %	(3.1 \pm 0.5)	24 %	(0.9 \pm 0.5)	49 %	(6.1 \pm 1.3)
150 phr	28 %	(1.0 \pm 0.0)	40 %	(9.1 \pm 2.7)	6 %	(0.1 \pm 0.1)	18 %	(0.7 \pm 0.2)	52 %	(3.4 \pm 0.8)	26 %	(1.0 \pm 0.5)	53 %	(6.6 \pm 1.2)
glass flakes														
50 phr	56 %	(1.9 \pm 0.0)	104 %	(23.6 \pm 1.0)	73 %	(1.3 \pm 0.3)	61 %	(2.5 \pm 0.8)	151 %	(9.8 \pm 1.6)	106 %	(4.2 \pm 0.7)	142 %	(17.7 \pm 2.4)
150 phr	31 %	(1.1 \pm 0.1)	60 %	(13.6 \pm 0.8)	30 %	(0.5 \pm 0.2)	21 %	(0.9 \pm 0.3)	76 %	(4.9 \pm 1.1)	36 %	(1.4 \pm 0.4)	73 %	(9.1 \pm 1.3)
cork														
50 phr	46 %	(1.6 \pm 0.1)	44 %	(10.1 \pm 2.8)	97 %	(1.7 \pm 0.4)	145 %	(5.9 \pm 1.1)	97 %	(6.3 \pm 1.3)	55 %	(2.2 \pm 0.4)	87 %	(10.9 \pm 2.3)
100 phr	39 %	(1.3 \pm 0.8)	63 %	(14.3 \pm 2.3)	141 %	(2.5 \pm 0.5)	182 %	(7.4 \pm 1.2)	120 %	(7.8 \pm 1.1)	76 %	(3.0 \pm 0.8)	108 %	(13.5 \pm 2)
PE-wax														
25 phr	15 %	(0.5 \pm 0.0)	45 %	(10.1 \pm 0.9)	9 %	(0.2 \pm 0.1)	6 %	(0.2 \pm 0.1)	84 %	(5.4 \pm 1.3)	64 %	(2.5 \pm 0.3)	74 %	(9.2 \pm 1.2)
50 phr	61 %	(2.1 \pm 0.0)	50 %	(11.3 \pm 6.2)	50 %	(0.9 \pm 0.3)	39 %	(1.6 \pm 1.5)	94 %	(6.1 \pm 2.1)	48 %	(1.9 \pm 1.3)	82 %	(10.2 \pm 4.4)
Carbon Black N220														
50 phr	33 %	(1.1 \pm 0.0)	80 %	(18.1 \pm 1.6)	144 %	(2.6 \pm 0.2)	98 %	(4.0 \pm 0.4)	136 %	(8.8 \pm 1.1)	77 %	(3.0 \pm 0.5)	123 %	(15.3 \pm 2.0)
100 phr	52 %	(1.8 \pm 0.1)	69 %	(15.7 \pm 0.6)	206 %	(3.7 \pm 0.9)	129 %	(5.2 \pm 0.9)	142 %	(9.2 \pm 0.8)	83 %	(3.3 \pm 0.2)	119 %	(14.9 \pm 1.1)
Carbon Black N990														
50 phr	52 %	(1.8 \pm 0.1)	88 %	(19.9 \pm 3.7)	81 %	(1.5 \pm 0.3)	63 %	(2.5 \pm 0.9)	132 %	(8.5 \pm 1.4)	58 %	(2.3 \pm 0.3)	118 %	(14.7 \pm 1.9)
150 phr	62 %	(2.1 \pm 0.3)	75 %	(17.0 \pm 1.9)	69 %	(1.2 \pm 0.2)	43 %	(1.8 \pm 0.4)	114 %	(7.4 \pm 0.7)	58 %	(2.3 \pm 0.3)	104 %	(12.9 \pm 1.9)

6.4 Originalarbeit zum Thema: Betrachtung des realen Aromaverschleppungsrisikos in einem Versuchsstand und Abfüllungen im industriellen Maßstab

Im Anschluss an die Ausarbeitung der Faktoren, die eine Verschleppung der Aromastoffe in einem Modellsystem beeinflussen konnten, wurden diese Thesen in einer zweistufigen Hochskalierung betrachtet. Der im ersten Schritt entwickelte Versuchsstand ermöglichte die Betrachtung unter kontrollierten und reproduzierbaren Bedingungen. Das Migrationsverhalten der zugesetzten Aromastoffe in einem Wein wurde sowohl direkt in den verbauten Dichtungen im Versuchsstand anhand der etablierten TD-GC-MS-Methode sowie indirekt im Wein mit Hilfe einer HS-SPME-GC-MS-Methode betrachtet.

Limitierende Faktoren im Versuchsdesign der ersten Stufe, die aufgrund der Zirkulation des Weines im Versuchstand vorlagen, konnten im industriellen Maßstab in zwei Kellereien ausgeschlossen werden. Insgesamt wurde die Abfüllung von drei aromatisierten sowie nachfolgenden Still- und Schaumweinen begleitet. Wie auch zuvor erfolgte eine Untersuchung des Migrationsverhaltens der Aromastoffe in Dichtungen, welche in der Füllanlage über den Füllzeitraum verbaut waren, statt. Einzelne abgefüllte Produkte wurden hinsichtlich eines sensorisch relevanten Beitrags untersucht. Hierbei verdeutlichte sich, dass sowohl eine sensorische als auch analytische Differenzierung der zeitlich abgefüllten Produkte nicht möglich war.

Investigation of the aroma carryover risk in a pilot plant and industrial scale while bottling aromatized and subsequent regular wines on the same filling line

Jörg Gottmann^{1,2}, David Müller³, Jochen Vestner¹, Jens Schuster³, Ulrich Fischer^{1,2*}

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institute for Viticulture and Oenology, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, Germany

² Kaiserslautern University of Technology, Department of Chemistry, Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern, Germany

³ Kaiserslautern University of Applied Sciences, Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW), Carl-Schurz-Str. 10-16, 66953 Pirmasens, Germany

*corresponding author: ulrich.fischer@dlr.rlp.de

Abstract

Aromatized wine-based beverages and regular wines are commonly bottled on the same bottling line. Installed sealings in the bottling line absorb added aroma compounds from the aromatized wine-based beverages and a subsequent release of the absorbed aroma compounds was monitored during cleaning sequences and subsequent products. This unintentional carryover bears the risk to violate the legal ban of any aromatization of regular wine. If cleaning obeys good manufacturing practice (GMP) and traces of aroma compounds in the subsequently bottled wine show no sensory significance, this unintended aroma carryover will be considered by the German Federal Ministry of Nutrition and Agriculture as technically unavoidable and has no legal consequences. The risk of aroma absorption as well as aroma carryover was investigated within different foods (orange juice, milk, and wine) and simulated in model systems with a beaker, but no real bottling scenario were investigated.

To fill the gap of knowledge we investigated the potential aroma carryover within a pilot plant and the three bottlings of aromatized wine-based beverages and subsequent regular sparkling wine in two different wineries. Monitoring installed sealings revealed uptake of seven aroma compounds and further release of aroma compounds during a recommended cleaning sequence and subsequent contact to wine. A sensory significant aroma carryover into the subsequent wine circulating for 24 hours in the pilot plant was observed only for α -ionone, which exceeded its odor detection threshold in white wine after 8 hours. Within the three bottlings of aromatized wine-based beverages and the subsequent sparkling wine, we recorded the uptake of γ -decalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde in sealings and their further diminishment during the implemented cleanings of the wineries and subsequent

bottling of a sparkling wine. Within the short residence time of the product in the bottling line, no sensory and analytical differentiation of the pre-bottled and bottled sparkling wines was observed.

Keywords

EPDM, absorption, migration, CIP, cleaning, lactones, α -ionone

Introduction

The much-discussed risk of aroma carryover from aromatized wine-based beverages such as mulled wines into later regular wines bottled on the same filling line, and the possible legal consequences associated, represent a risk for small wineries in particular (Vetter, 2012, LUA, 2014, BMEL, 2019, Beierle et al., 2020, Freund, 2022). These wineries either cannot afford a second filling line reserved only for bottling mulled wine once a year, or cannot ensure the high industrial standards of cleaning-in-place (CIP) procedures with high temperatures of cleaning agents, or lack the knowledge of the risk of aroma carryover during bottling aromatized wines.

In case of wine, even unintentional carryover of aroma compounds from aromatized wine-based beverages to regular wine has legal consequences. Aroma addition to wine is not listed within the European regulations No 606/2009, which lists the allowed oenological procedures, and is consequently prohibited (European Parliament, 2009). Sensory conspicuous wines are analytically examined by food control authorities to confirm aroma addition. Aromatization is usually done with synthetic aroma concentrates containing, among other compounds, chiral aroma compounds in a racemic ratio (50:50), enabling fraud to be detected in enantioselective analysis (Mosandl, 2004, Langen et al., 2013, Lampe, 2015, Langen et al., 2016). But realistically with the continuous analytical progress, a detectable aroma carryover cannot always be avoided and will be measured more frequent in future. Therefore, the German Association of the Flavor Industry (Deutscher Verband der Aromenindustrie, DVAI) stated that an analytical detection in subsequent products should not necessarily be equated with an active addition and consequently should not per se be accompanied by a complaint or devaluation of the product. Moreover they suggest that further factors are required to assess a complaint, such as the respective influence of the carried over aroma compounds on the product (DVAI, 2016). In 2019 the German Federal Ministry of Nutrition and Agriculture (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, BMEL) developed in cooperation with food control authorities and the wine industry, a guideline for the precaution and evaluation of aroma carryover in wine bottling. Aroma compounds that are analytical suspicious, but have no sensory significance for the bottled wine are treated as technically unavoidable (BMEL, 2019). Sensory significance can be evaluated with odor detection thresholds (OTs) of

individual aroma compounds. Determined OTs depends on the selected matrix and can vary up to four orders of magnitude. To evaluate the sensory significance, we recommended in our previous study the use of OTs determined in wine (Gottmann et al., 2022b).

The generic absorption of aroma compounds into polymer materials such as food packaging is widely known as scalping and impacts food quality (Arora et al., 1991, Licciardello et al., 2009, Wietstock et al., 2016). In case of reused packaging the desorption of these absorbed aroma compounds from the polymer into later foods is known as carryover and can tribute a sensory impact (Nielsen, 1994, Safa and Bourelle, 1999). The excessive aroma addition of mg/L in aromatized wine-based beverages facilitate high absorb rates into sealing polymers in model experiments which bears a high carryover risk of nonpolar aroma compounds. In a model system we confirmed the high risk of carryover of nonpolar compounds, and showed a 8 % carryover of the initial concentration of the high nonpolar α -ionone into a subsequent model wine free of any initial α -ionone (Gottmann et al., 2021). A systematic incorporation of filling materials into ethylene propylene diene monomer rubber (EPDM), which is most used sealing material in bottling lines, reduced the aroma absorption by at least 50 %. But even with the highly chemical resistant fluorine-based rubber (FKM), which reduced absorption by 85–99 %, the overall absorption could not be set to a value of zero (Gottmann et al., 2022a). FKM sealings are limited to static sealings and have a significant higher price, why EPDM sealings are most used in bottling lines with many moving parts that require flexible sealings. Within a cleaning sequence in model systems only fractions of the absorbed aroma compounds are removed and a transfer of the remaining compounds cannot be prevented (Elss et al., 2007, Eckstein, 2011, Vetter, 2012, LUA, 2014, Nishijima et al., 2014, Freund and Seckler, 2016, Gottmann et al., 2021).

Based on the numerous factors that potentially influence the bottling process, aroma carryover was so far only investigated in simplified model systems within in beaker and fixed volumes. A more practical approach was needed to investigate the aroma carryover in a real-world scenario. This work intends to extend the previous gained knowledge on aroma carryover in model systems to the bottling of aromatized wines and regular wines on the same bottling line (Gottmann et al., 2021, Gottmann et al., 2022b, Gottmann et al., 2022a). Therefore, we designed a test pipeline to study installed commercial and customized DIN 11851 sealings with DN 50. First, aroma carryover was monitored under controlled conditions in a pilot plant. In second, potential aroma carryover was evaluated during bottling aromatized and regular wine within an industrial scale in two wineries. The absorption and desorption monitored in this study for seven aroma compounds: γ -decalactone, δ -decalactone, and γ -undecalactone (peach), ethyl 2-methylbutanoate (apple), α -ionone (raspberry), eugenol (clove-aroma), and *trans*-cinnamaldehyde (cinnamon). Furthermore the sensory relevance of analytical

determined concentrations of aroma compounds in the subsequent wines was evaluated within the promoted concept.

Materials and methods

1. Chemicals

Aroma compounds were purchased from Sigma-Aldrich KGaA (Darmstadt, Germany) with purities as follows: ethyl 2-methylbutanoate (99 %), α -ionone (≥ 96 %), γ -decalactone (≥ 98 %), δ -decalactone (≥ 98 %), γ -undecalactone (≥ 98 %), eugenol (99 %), and *trans*-cinnamaldehyde (≥ 99 %). Sodium hydroxide (98 %) and citric acid (99.5 %) were obtained from Merck KGaA (Darmstadt, Germany) and D-glucose (p.a.), D-fructose (> 99.5 %), L-tartaric acid (≥ 99 %), D-malic acid (≥ 99.5 %), L-lactic acid (≥ 95 %), sodium chloride (≥ 99 %), and glycerin (≥ 99 %) from Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Germany). Ethanol (96 %) was purchased from Berkel AHK (Ludwigshafen, Germany).

2. Polymer materials

EPDM sealings according to DIN 11851 with DN 50 also called dairy thread were manufactured by the Institut für Kunststofftechnik Westpfalz (IKW) at the University of Applied Sciences, Kaiserslautern. The customized polymer material composed of 100 parts per hundred rubber (phr) KEP 510 (Weber and Schaer, Hamburg, Germany), 150 phr kaolin “Kaoprime 11P” as additive filling material (Thiele Kaolin Company, Sandersville, USA), 15 phr white oil from (WHC GmbH, Schweitenkirchen, Germany), 8 phr Peroxan DC (Thermo Fischer, Kandel, Germany), and 2 phr TAC-70 XP (Pergan, Bocholt, Germany). For comparison, commercial DIN 11851 EPDM sealing (70 EPDM 291) and an optimized FKM sealing (75 Fluoroprene XP41) that was optimized towards its aroma absorption by the supplier (Freudenberg, Weinheim, Germany). Weight of the three investigated sealings: EPDM (70 EPDM 291) 4.6 g per sealing, customized EPDM with kaolin 5.7 g per sealing, FKM (XP41) 8.3 g per sealing.

3. Direct quantitation of absorbed aroma compounds in polymer material with TD-GC-MS

Thermal desorption coupled to gas chromatography and mass spectrometry (TD-GC-MS) enabled the direct analyzation of ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde from sealings (Gottmann et al., 2021). The analytical system consisted of an Agilent 6890 GC equipped with an Agilent 5975 C MS, thermo desorption unit (TDU), cold injection system (CIS), and a multi-purpose sampler (MPS), provided by Gerstel (Mühlheim, Germany). For calibration, four stamped untreated polymer samples were placed into a TDU liner with glass wool, and 1 μ L of each calibration standard solution (0.1–300 μ g/g) pipetted directly into the TDU liner.

Calibration standards were prepared in methyl *tert*-butyl ether (MTBE). As an internal standard 3-methylbutyl acetate (9 µg/L) was added.

Separation of volatiles was achieved with a ZB-WAXplus™ column of 30 m × 0.25 mm internal diameter and 0.5 µm film thickness (Phenomenex, Germany). The oven program started at 40 °C for 2 min followed by a 3 °C/min increase to 60 °C. The temperature rose further by 20 °C/min until 180 °C was reached, followed by a slower increase of 5 °C/min up to 240 °C, which was maintained for 9 min. The total runtime was 35.6 min. The transfer line temperature was set to 250 °C and the helium carrier gas flow rate was constant at 1.2 mL/min. The MS was operated in electron impact ionization mode with an electron energy of 70 eV, the source temperature was set to 230 °C, and total ion chromatograms were recorded over *m/z* 30–300. The initial TDU temperature of 30 °C was held for 1 min and heated up at a rate of 720 °C/min to the final extraction temperature of 150 °C and kept constant for 30 min in splitless mode. The TDU transfer line was kept at 280 °C. The cryo-focusing temperature was set to 0 °C and a CIS-liner with Tenax TA™ filling was chosen. After thermal extraction, the CIS was heated at a rate of 12 °C/min to 250 °C and held for 5 min. The GC inlet was run in solvent vent mode. The total flow was set to 24 mL/min while the purge flow to split vent was set to 20 mL/min at 0.01 min, corresponding to a split ratio of 1:20. The gas saver was set to 15 mL/min after 20 min until the end of the GC analysis. The vent flow was 25 mL/min with a vent pressure of 20 kPa until 0.01 min. Chromatograms obtained were processed with MassHunter Qualitative Analysis software (ver. B.05.00, Agilent Technologies) and PARADiSe (ver. 3.9).

4. Quantitation of aroma compounds in wine with HS-SPME-GC-MS

Ethyl 2-methylbutanoate, α -ionone, γ -decalactone, δ -decalactone, γ -undecalactone, eugenol, and *trans*-cinnamaldehyde were quantitated in wine using an established headspace solid-phase micro extraction (HS-SPME)-GC-MS method for volatiles in Riesling wine (Schwinn et al., 2019, Gottmann et al., 2022b). The analytical system consisted of a Finnigan TRACE DSQ GC-MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) with a CombiPAL auto sampler (CTC Analytics, Zwingen, Switzerland). Eight milliliters of a saturated sodium chloride solution, 2 mL of wine and 10 µL of the internal standard 2-heptanol (10 mg/L) were pipetted into a 20 mL headspace vial and closed with a screw cap. If the calibration limit was exceeded samples were diluted with model wine according to Lampe (2015). Volatiles were separated on a ZB-5ms 30 m × 0.25 mm fused silica column containing (5 %-Phenyl)-methylpolysiloxan with a film thickness of 0.5 µm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany). Samples were pre-incubated at 40 °C for 10 min, followed by a headspace extraction with a polydimethylsiloxane (PDMS) fiber for 20 min (FIB-P-100/10, CTC Analytics, Zwingen, Swiss). Volatiles were desorbed for 2 min from the SPME fiber at 240 °C in the GC injector using splitless mode and purging 2 min afterwards. The flow rate of helium carrier gas was kept constant to 1.0 mL/min.

Oven temperature was held initially for 2 min at 30 °C, then increased to 150 °C at a rate of 3.5 °C/min, followed by an additional increase to 300 °C at a rate of 25 °C/min. Ionization by electron impact mode with an electron energy of 70 eV, and total ion chromatograms were recorded over m/z 29–300. Extracted ion chromatograms were obtained using the following m/z values (quantifier; qualifier): ethyl 2-methylbutanoate (102; 85), α -ionone (136; 121), γ -decalactone (128; 85), δ -decalactone (99; 114), γ -undecalactone (128; 85), eugenol (164; 149) and *trans*-cinnamaldehyde (131; 132). Chromatograms processed with Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific). Linear calibration models were obtained for all compounds using a series of standards in model wine (10–1000 $\mu\text{g/L}$ for each compound).

5. Sensory evaluation

A “two-out-of-five test” was conducted according to Lawless and Heymann (2010) to identify a potential differentiation in between the subsequent bottled regular wines and the last rinse water based on an aroma carryover. Nine judges that frequently participate in in-house-tastings were selected from the staff of the Institute for Viticulture and Oenology (DLR Rheinpfalz, Neustadt, Germany). Judges received five samples and had to identify the two deviating samples. Samples of 20 mL were presented to each judge in transparent INAO (Institute national de l’origine et de la qualité) wine glasses covered with plastic lids.

6. Experimental design

To investigate the absorption and desorption of aroma compounds within installed sealings, a test pipeline with 18 sealing seats according to DIN 11851 with DN 50 was designed (Supplementary Figure 1 A). This test pipeline allowed us to remove separate sealings during the different states of the experiments. Prior to analysis, the sealings rinsed with deionized water and dried with a cellulose tissue. Two 1 mm thick slices were cut out of the sealing and placed in a TDU liner. Before TD-GC-MS analysis, 1 μL of 3-methylbutyl acetate (9 $\mu\text{g/L}$ in MTBE) was automatically pipetted by the MPS into the TDU liner as an internal standard.

6.1. Pilot plant (Experiment 1)

The pilot plant consisted of a 300-liter tank, a centrifugal pump, two ball valves, the test pipeline with 18 sealing seats and all parts were connected with three 1.5 m PE hoses (Supplemental Figure 1 B). The centrifugal pump was set to speed of 30 m/s. To avoid carryover between individual experiment steps and later experiments, the installed sealings in the tank, the pump, and the valves as well as the hoses were likewise exchanged after each work step. The white wine used in this experiment had 12 % v/v ethanol, 2 g/L residual sugar, 8.4 g/L titratable acidity, pH 3.1, and 15 mg/L free SO_2 . Parts of the wine were aromatized with 35 mg/L α -ionone, 14 mg/L ethyl 2-methylbutanoate, 12 mg/L γ -decalactone, 10 mg/L δ -decalactone, 15 mg/L γ -undecalactone, 8 mg/L eugenol, and 8 mg/L *trans*-cinnamaldehyde. In the first step

60 L aromatized white wine circulated for 27 h in the pilot plant, followed by a cleaning sequences and a second circulation for 24 h of 60 L of the pure white wine without any added aroma. During the experiments the wine temperature was kept at 12 °C using a cooling circuit. Sealings were removed after each step of the three states of the experiment and analyzed directly with TD-GC-MS. Wine samples were taken during the circulation of the aromatized and subsequent wine and analyzed directly with HS-SPME-GC-MS. Three cleaning scenarios executed within this experiment and described in detail in Table 1. In each of the cleaning steps, 60 L of the cleaning medias are used. Firstly, we conducted a cleaning oriented at the recommendation of the BMEL and repeated this experiment once. Therefore, water was heated up to 85 °C prior the cleaning step with steam and heated continuously during the cleaning. Secondly, the cleaning was shortened to a rinse step with cold ozonized water (5 mg/L), which was continually ozonized with a univog ozone generator (Zickler, Böchingen) incorporated into the pilot plant circuit. Thirdly, time extensive cleaning was investigated, therefore the recommended cleaning was enlarged with an additional 24 h flooding of the system with cold water and no pumping.

Table 1. Sequence of the individual cleaning stages in the cleaning sequences conducted in the pilot plant in Experiment 1.

cleaning steps	recommended cleaning sequence ¹	short cold cleaning (ozone)	extended cleaning – recommended cleaning sequence ¹ and further 24 hours cleaning
1	water (10 min; 20°C)	water (10 min; 20 °C)	water (10 min; 20°C)
2.1	water (30 min; 85 °C)	ozonized water (5 mg/L; 20 min; 20 °C)	water (30 min; 85 °C)
2.2	sodium hydroxide solution (1,5 % (w/v); 20 min; 20°C)	–	sodium hydroxide solution (1,5 % (w/v); 20 min; 20°C)
2.3	citric acid solution (1,5 % (w/v); 15 min; 20°C)	–	citric acid solution (1,5 % (w/v); 15 min; 20°C)
2.4	–	–	water (10 min; 20°C)
2.5	–	–	water (24 h; 20°C; no pumping)
3	water (10 min; 20°C)	water (10 min; 20°C)	water (10 min; 20°C)
Σ cleaning time	75 min	40 min	1535 min

Cleaning sequence recommended to mitigate aroma carryover during bottling wine (BMEL, 2019)

7. Bottling of aromatized wine-based beverages and a subsequent sparkling wine (Experiment 2–4)

Aroma carryover investigated during the bottling process of aromatized wine-based beverages and subsequent bottling of wines on the same bottling line with the Heim'sche Privatsektkellerei (Neustadt, Germany) and Peter Herres Wein- und Sektkellerei (Trier, Germany). The test pipeline with 18 sealing seats was installed after the membrane filter (0.45 µm) of the bottling line. Sealings sequentially removed and analyzed directly with TD-GC-MS. During the bottling process aromatized wines and subsequent regular wines were continuously sampled for analytical and sensory studies.

Two bottlings of aromatized wine-based beverages executed with the first winery. The customized EPDM with kaolin as well as the commercial EPDM and FKM (XP41) investigated in both experiments. In first bottling (Experiment 2) three mulled wines bottled on 4 consecutive days (~75000 L) and after cleaning of the bottling line a sparkling wine was subsequently bottled over 3 days (~65000 L). In the second bottling (Experiment 3) a peach-flavored wine based sparkling cocktail bottled on 3 consecutive days (~60000 L) and after cleaning of the bottling line a sparkling wine was subsequently bottled over 2 days (~45000 L). The performed cleaning between the product changes from aromatized to regular wine is an in-house-optimized cleaning sequence with a total cleaning time of 5 h with hot water at 85 °C, acidic and alkaline agents, ozonized water, and steam.

In the third Experiment (4), with the second winery, a pomegranate-flavored sparkling wine cocktail bottled on the first day (~30000 L) and a mango-flavored one on the second (~20000 L). In this experiment, only the customized EPDM with kaolin and the commercial EPDM were installed in the test pipeline. After a thorough cleaning, a subsequent sparkling wine was bottled for 4 days (~150000 L). The cleaning performed between product changes consisted of following rinsing steps: 60 min sodium hydroxide cleaner (2 % w/v); 60 min carbonized water; 10 min water; 30 min phosphoric acid cleaner (1 % w/v); 30 min water; 60 min steaming.

8. Statistical analysis

Mean values of aroma compounds determined in polymers were compared using one-way analysis of variance (ANOVA, $p < 0.5$) with Tukey's honestly significant difference (HSD, $p < 0.05$) post-hoc test. Values provided in the charts and tables are given as mean \pm standard deviation of the sample. These analyzes were done using XLStat (Addinsoft, Paris, France).

Results

1. Evaluation of aroma carryover in a pilot plant (Experiment 1)

The circulation of 60 L of aromatized wine in the pilot plant within the four conducted experiments showed similar pattern over the monitored 27 hours. Aroma concentration in the aromatized wine (Figure 1) decreased for α -ionone (~50 %), γ -undecalactone (~40 %), ethyl 2-methylbutanoate (~80 %), and γ -decalactone (~15 %). Aroma absorption within installed sealings showed no significant difference in the pilot plant over the four experiments and mean values are calculated (Figure 2). Both installed EPDM sealings did not differ in their individual performance over the experiments, while the FKM (XP41) sealing reduced the absorption by 89–99 % as reported earlier (Gottmann et al., 2022a). The highest absorption of approximately

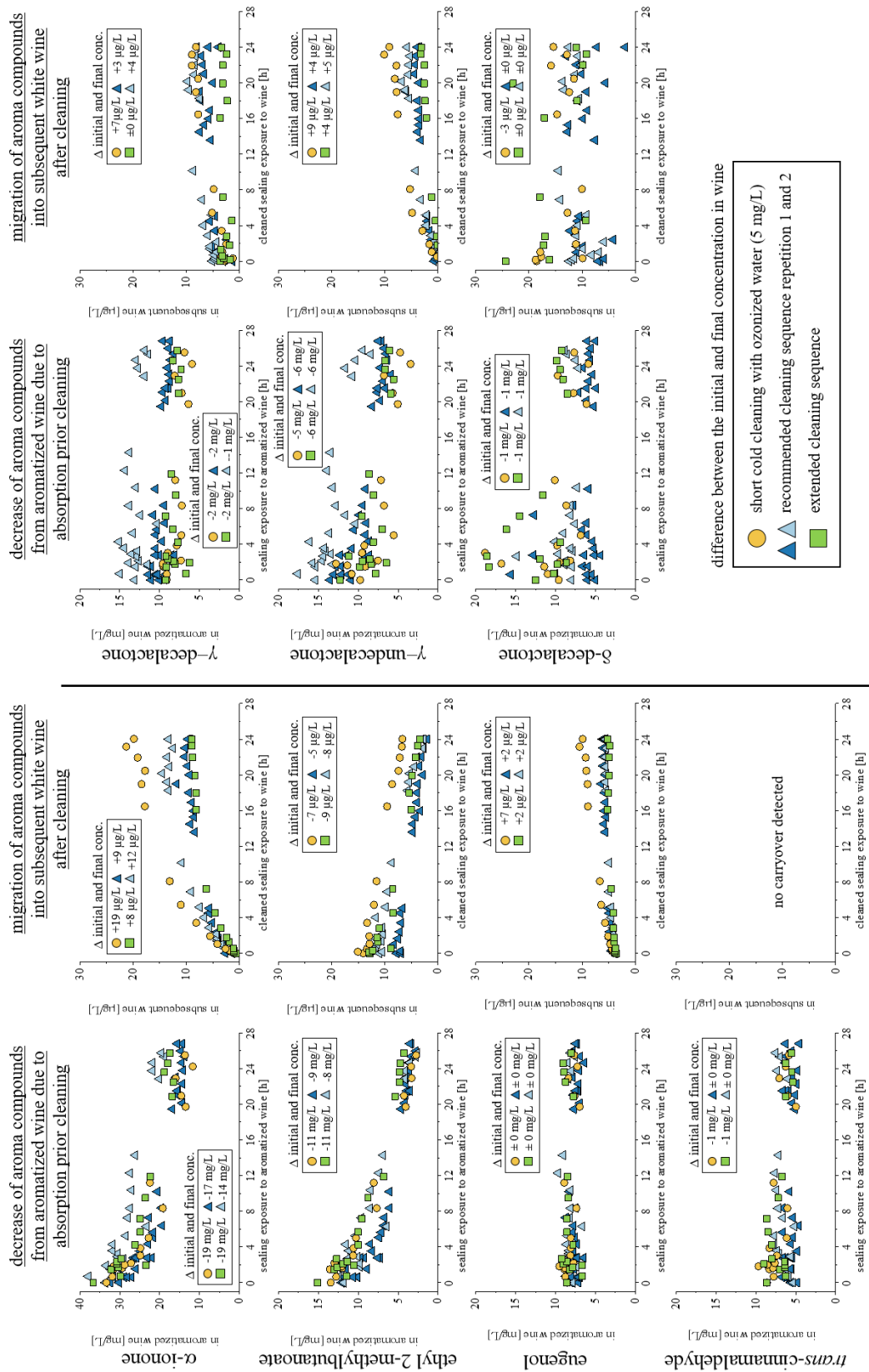


Figure 1. Time-dependent concentration of aroma compounds determined in the aromatized wine (mg/L) and the subsequent white wine ($\mu\text{g/L}$), each pumped in a circle in the pilot plant and a cleaning was conducted in between these two circulations. The detailed cleaning sequences are described in Table 1.

6.4 BETRACHTUNG DER AROMAVERSCHLEPPUNG IM VERSUCHS- UND INDUSTRIELLEM MAßSTAB

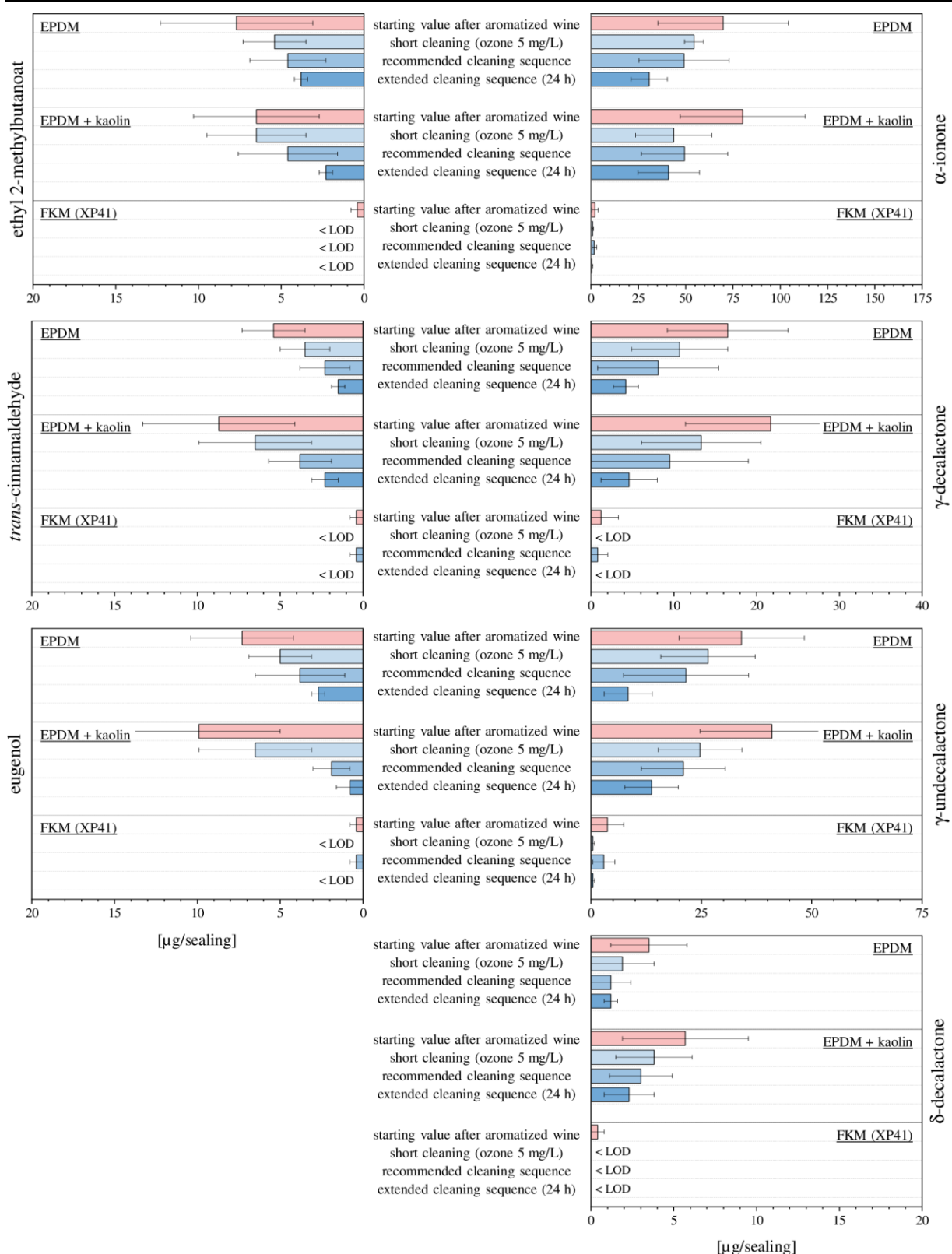


Figure 2. Aroma compounds absorbed from white wine into installed sealings in a pilot plant that remained after three different cleaning protocols in the sealing. Individual cleaning sequences described in detail in Table 1. Aroma compounds determined directly with TD-GC-MS in the sealing polymer, values given as mean \pm standard deviation ($n = 5$).

80 µg per sealing was monitored for α-ionone in the EPDM sealings, which showed respectively the highest decrease in the aromatized wine. Cleaning based on the recommendations of the BMEL guideline removed up to 74 % of the absorbed aroma compounds from both EPDM sealings, while a shortened cold cleaning removed a maximum of 37 %. A further cleaning improvement up to 89 % removal was seen with an additional 24 hours flooding step after the recommended sequence. In the case of the FKM (XP41), the three cleaning protocols removed the initial low absorbed aroma components close to or even below the detection limits of the performed method. The difference within the cleaning effects indicated in the polymer data confirmed in the 24 hours circulation of the subsequent pure white wine. After the shortened cleaning we observed the highest aroma transfer and the lowest transfer was achieved after the extended cleaning (Figure 1).

2. Bottling aromatized wines and regular wines on the same filling line (Experiment 2)

Within the scope of three bottlings of aromatized wines at an industrial scale we investigated the real risk of aroma carryover during the subsequent bottling of a regular sparkling wine after a thorough cleaning of the bottling plant (Figure 3). High levels of eugenol addition up to 10100 µg/L within the three bottled mulled wines in Experiment 2 as well as the addition of 28700 µg/L γ-decalactone to a peach-flavored beverage in Experiment 3 and 51800 µg/L in a mango flavored beverage in Experiment 4 facilitated the absorption into the installed EPDM sealings. The installed EPDM variants showed no difference in their absorption. FKM (XP41) sealings reduced the absorption to low levels below the detection limit and only within the bottling of the peach-flavored beverage quantitative data was obtained for γ-decalactone that remained four times below the EPDM sealings (Figure 4 A). The in-house optimized thorough cleaning sequence in the first two bottlings lasting up to 5 hours removed only minor portions of the absorbed eugenol (18–28 %), *trans*-cinnamaldehyde (0–12 %), and γ-decalactone (14–87 %). During the third aromatized bottling, we investigated the performed cleaning steps more closely. A high effect was noticed within the first cleaning step, which lasted one hour while the later steps with phosphoric acid or steam had no effect on remaining absorbed compounds. The cleaning efficiency was controlled with the recommended two-out-of-five sensory difference testing of last rinse water according to the BMEL and confirmed no risk of aroma carryover in subsequent bottling (BMEL, 2019). During subsequent bottling of the sparkling wines only in minor changes of the remaining compounds resulted in all three experiments. Targeted analysis of seven markers in the subsequent sparkling wines revealed low concentrations of 60 µg/L and 44 µg/L γ-decalactone in the second and third bottling, respectively (Table 2). In advance the bottled wines could not be distinguished in an untargeted approach described by Sirén et al. (2019) (data not shown) as well as in sensorially two-out-of-five sensory difference testing with trained judges.

6.4 BETRACHTUNG DER AROMAVERSCHLEPPUNG IM VERSUCHS- UND INDUSTRIELLEM MAßSTAB

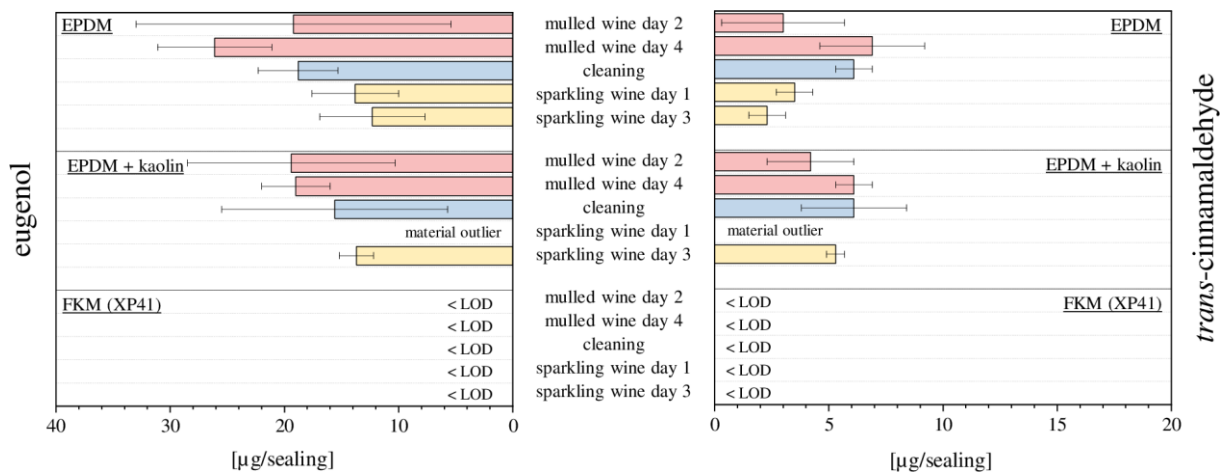


Figure 3. Aroma compounds absorbed into installed sealings during the bottling of mulled wines and their remaining concentration after a conducted cleaning in between a product change, and the subsequent bottling of sparkling wine.

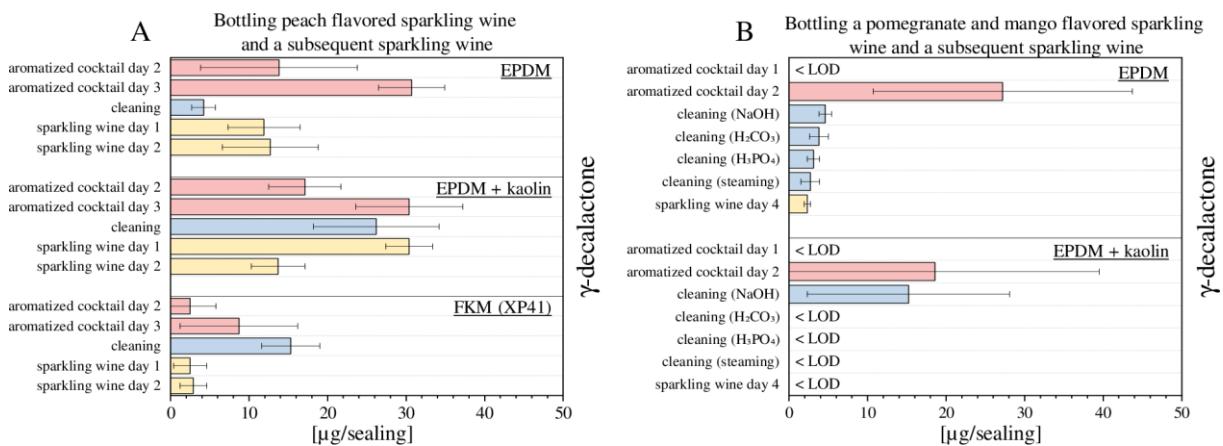


Figure 4. Aroma compounds absorbed into installed sealings during the bottling of aromatized products in two different wineries (A and B) and their remaining concentration after a conducted cleaning in between a product change, and the subsequent bottling of sparkling wine.

Discussion

The potential risk of aroma carryover has been postulated in various model experiments when bottling aromatized wine-based beverages and subsequent wines on the same bottling line (Eckstein, 2011, Vetter, 2012, Freund and Seckler, 2016, Gottmann et al., 2021). These simplified model systems with fixed volumes cannot be transferred directly to a bottling scenario in a winery in which even small volumes of only 1000 L/h are bottled, and a continuous flow of new a product is guaranteed. This study attempts to close the gap in between these models and the real world with an investigation of a pilot plant and three bottlings of aromatized wine-based beverages. As expected, our study revealed a continuous absorption of aroma compounds in the pilot plant as well as the real bottlings. A high decrease in the aromatized wine for the nonpolar α -ionone (~50 %) and γ -undecalactone (~40 %)

resulted in a high absorption into the installed sealings. Moreover, a strong decrease in ethyl 2-methylbutanoate (~80 %) was observed, while the absorption level was moderate. We assume that this decrease of the ester can be explained by its high volatility, which led to volatilization and loss during the high turbulence in the tank. It is additionally worth noting that the three installed PE hoses with a total length of 4.5 m and a total weight of 1.5 kg absorbed in total more than the installed sealings. A semi-quantitative analysis of the PE hoses showed an absorption rate even 5 times higher than the installed EPDM sealings (data not shown). Therefore, high portions of the lost aroma compounds from the aromatized wine were found in the hoses and they were exchanged after each step.

Our earlier study showed a dependence in the exposed surface and the portions of absorbed aroma compounds (Gottmann et al., 2021). Comparing our earlier model systems and the study of the installed DIN 11851 sealings, we notice a decrease in the absorption rate corresponding to decreased exposed surface area (Gottmann et al., 2022a). At this point we have to mention, an increase in the determined variance of aroma compounds measured within the installed sealing polymer samples. This variance can be attributed to a higher variability in the entire investigated system with small differences in the concentrations in the pilot plant, as well as potential difference in the tightening of the sealing seats resulting in difference in the exposed area. With the increased variation the two EPDMs did not differ significantly in their absorption. Thus we could not confirm our earlier improvement of the EPDM sealing with kaolin addition. While a comparable diminishment of at least a factor of 10 was observed for the FKM (XP41) (Gottmann et al., 2022a).

The investigation of the three different cleaning sequences in the pilot plant revealed that a shortened cleaning with cold water and ozone addition (5 mg/L) to sanitize the bottling system bears a higher risk of aroma carryover. This is supported by results of our earlier model system that investigated individual cleaning steps and revealed the highest impact in cleaning time and temperature, while the enhancement of the aroma removal with additives such as ozone was neglected (Gottmann et al., 2022a). Therefore, the shortened cleaning could not prohibit the aroma carryover. As a consequence, the highest concentration was determined after the shortened cleaning in the polymers and the highest aroma transfer was recorded into the subsequent wine. In case of an extended thorough cleaning with an additional 24 hours flooding it was possible to enhance the cleaning and resulted in a lower transfer of α -ionone as well as the two γ -lactones into the subsequent wine (Figure 1). A consultation of our previous published thresholds in wine shows that α -ionone with its low odor threshold of 10.6 $\mu\text{g/L}$ in wine can exceed the sensory relevance within this experiment (Gottmann et al., 2022b). At this point it is important to keep in mind that the wine was circulated for 24 hours, and the sensory relevance was exceeded after an 8-hour circulation. In real wine bottling

continuously fresh and unsaturated wine will pass through a plant and the contact time between wine and sealings is limited to few minutes, meaning that these results cannot be directly transferred to real bottling, but show the potential risk.

The further assessment during the real bottling of three aromatized wine-based beverages as well as the subsequent sparkling wines contributes to a better understanding of the present carryover risk. This was initially realized with two wineries that bottle continuously regular wines and aromatized wines on the same bottling line and optimized their in-house cleaning sequence in between their product change. During the bottling of the aromatized product, we see a high absorption of the eugenol and *trans*-cinnamaldehyde from the mulled wines and γ -decalactone from the two bottled cocktails (Figure 3). However, only minor portions of the absorbed compounds desorbed from the sealing during the thorough cleaning sequences, and the subsequent bottling over several days changed concentrations only marginally. To prevent an aroma carryover during the bottling of aromatized and regular wines on same filling line a sensory evaluation of the cleaning is recommended by the BMEL guideline. The recommended sensory two-out-of-five difference test of the last cleaning water in comparison to the water pre entering the bottling plant is easy to implement and yields already significant results with three judges (BMEL, 2019). Based on the higher sensibility in water, a negative test result implies no risk of sensory carryover during the bottling process (Gottmann et al., 2022b). This thesis was confirmed with the third bottling and its in-depth cleaning evaluation that showed no sensory significant differentiation of the last cleaning. The conducted cleaning with cold cleaning agents was sufficient to prevent the aroma carryover but was a time consumptive effort. The highest portion of the aroma compounds desorbed during the first hour. Our earlier study addressed the cleaning efficiency and showed a limiting effect in the cleaning based on an established equilibrium in the polymer (Gottmann et al., 2022a). We assumed that the limited transport can be influenced by an increased temperature that enhances the establishment of any equilibrium, but a total removal of the absorbed aroma compounds was not possible. The proposed limiting transfer process applies not only to the cleaning it applies also to the subsequent bottling, and therefore fractions of the absorbed compounds transfer steadily into the subsequent product and get highly diluted within the bottled volume. Bottling plants that cannot guarantee such high volume or in case the bottling process pauses for an hour the contact time increases and the transfer can potentially increase and result in a higher risk of carryover.

In our experiments within in the seven aroma compounds we could only quantify γ -decalactone in the subsequent sparkling wines. The determined γ -decalactone concentrations of 44 and 60 $\mu\text{g/L}$ exceeds the maximum natural concentration of 15.5 $\mu\text{g/L}$ reported by Genovese et al.

Table 2. Aroma concentration in aromatized wine based beverages and subsequent bottled sparkling wines. Bottled sparkling wines investigated towards aroma carryover in a sensory two-out-of-five difference test.

aroma compound	Bottling mulled wine (Experiment 2)				Bottling peach flavored beverage (Experiment 3)		Bottling pomegranate and mango flavored beverage (Experiment 4)	
	eugenol µg/L OAV		<i>trans</i> -cinnamaldehyde µg/L OAV		γ-decalactone µg/L OAV		γ-decalactone µg/L OAV	
odor detection threshold in white wine ¹	135.0		1617.0		279.8		279.8	
aromatized wine bottle								
1st day	10100	75	500	0.31	28700	103	3760	13
2nd day	2500	19	< LOD ²		25300	90	51870	185
3rd day	3100	23	290	0.18	23800	85	-	
4th day	6000	44	230	0.14	-. ³		-	
sparkling wine bottle								
pre bottling	4	0.03	< LOD		50	0.18	39	0.14
1st day	4	0.03 † ⁴	< LOD		58	0.21 †	34	0.12 †
2nd day	5	0.04 †	< LOD		55	0.20 †	41	0.15 †
3rd day	3	0.02 †	< LOD		54	0.19 †	44	0.16 †
3rd day	-		-		-		40	0.14 †

¹ Gottmann et al., 2022b

² below the detection limit of 10 µg/L of the conducted HS-SPME-GC-MS method;

³ bottling ended after this bottle and the filling line was cleaned and the subsequent regular wine was bottled

⁴ sensory comparison of the bottled and prebottled products in a two-out-of-five test; sensory significant differentiation indicated with (*) and non-significance indicated with (†);

(2007) in Fiano sweet wine and could be classified by food control authorities as suspicious even though we did not conduct an enantioselective analysis. In light of our earlier discussion of analytically suspicious concentrations, a consultation of published OTs can assess the sensory significance. Our published γ-decalactone OT of 279.8 µg/L in wine indicates no sensory significance and consequently no authenticity evaluation of the aroma is needed (Gottmann et al., 2022b). This more or less theoretical approach was supported by our sensory evaluation, which could not differentiate the pre-bottled and bottled regular wines in a two-out-of-five difference test. As a result, we were not able to confirm the carryover risk proposed earlier from the pilot plant and can reject especially the sensorially quantifiable effect in the questioned real bottling if a thorough cleaning has been conducted. To be fair, we must mention that we studied the risk of aroma carryover in two wineries that had previously implemented a thorough and evaluated cleaning sequence that facilitates an alternate bottling. Therefore, this study can be considered as an initial start to investigate the actual risk of an aroma carryover associated with bottling of aromatized and regular wines on the same bottling plant. Further studies with smaller bottling lines, pauses in the bottling sequence, and the impact of different sealings need to assess the risk in future in more detailed and targeted studies.

Conclusions

The limited literature addressing aroma carryover, particularly in the bottling of aromatized and regular wines, and the potential legal consequences, indicated the need for further research, especially in an expanded and more practical study. The enlarged pilot plant proofed our earlier described risk of aroma carryover within the absorption of aroma compounds into installed sealings from aromatized wines and the transfer into subsequent bottled regular wine. A shortened cleaning and the use of only ozonized water to sanitize the bottling line posed a higher transfer into a subsequent wine and results in higher risk of carryover. Even with an extension of the recommended cleaning sequence, in which the system was flooded with water for 24 hours, the cleaning effect was enhanced, and the transfer reduced, but could not be eliminated.

Furthermore, these established principles of aroma absorption and desorption within the model system can be transferred into a real bottling of aromatized and subsequent real wines. The aroma migration during the bottling and cleaning behaves similar to our models. Even after intense cleaning aroma portions remain in the sealing polymer. But essentially within the real bottling the product flows through the plant within few minutes and therefore the contact time with the sealings limits the transfer. In the context of thorough cleaning and drastic dilution during bottling, we were unable to demonstrate the risk of aroma carryover in an industrial scale. Smaller bottling lines with lower filling volumes, wineries that cannot guarantee a high cleaning temperature or even bottling pauses that sequentially extend the contact time might increase the carryover and result in an analytically and sensorially detectable carryover. These essential questions need to be addressed in further bottling studies. Within the framework of our study, we can deny the real risk of aroma carryover during bottling of aromatized and regular wines, which has a sensory significance, as long as a thorough optimally hot cleaning was conducted, and the risk was reduced as much as possible by the installed sealings and the separate use of hoses.

Acknowledgements

This IGF Project 20220 N of the FEI is/was supported via AiF within the pro-gramme for promoting the Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economics and Climate Action (BMWK), based on a resolution of the German Parliament.

References

Arora, D. K., Hansen, A. P., & Armagost, M. S. (1991). Sorption of flavor compounds by low density polyethylene film. *Journal of Food Science* 56(5), 1421–1423.

- Beierle, E., Bradshaw, I., Reuter, M., & Tomp, A. (2020). Produktwechsel ohne Aromaverschleppung? Qualitätsanspruch bei hoher Produktvielfalt. *Getränke!* 4, 36–40.
- BMEL. 2019. Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein. Referat 414, Wein, Bier, Getränkewirtschaft.
- DVAI. 2016. Spuren von Aromastoffen in Lebensmitteln und Aromen. Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V.
- Eckstein, J. (2011). Durch geeignete Werkstoffauswahl Aromatransfer verhindern. *Pharma+Food* 9(9), 41–43.
- Els, S., Kleinhenz, S., & Schreier, P. (2007). Odor and taste thresholds of potential carry-over/off-flavor compounds in orange and apple juice. *LWT-Food Science and Technology* 40(10), 1826–1831. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.010>
- European Parliament. 2009. Regulation (EU) No 606/2009: Laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards.
- Freund, M. (2022). Aromamigration aus Dichtungen Verarbeitung von Weinmischgetränken im Fokus. *Das deutsche Weinmagazin*(3), 27.
- Freund, M., & Seckler, J. (2016). Aromaverschleppung im Wein. *Das deutsche Weinmagazin*(25), 25–29.
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., & Moio, L. (2007). Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry* 103(4), 1228–1236.
- Gottmann, J., Müller, D., Becker, A. M., Vestner, J., Schuster, J., & Fischer, U. (2022a). Impact of Polymer Material and Cleaning Parameters in Mitigation of an Unavoidable Aroma Carryover in Bottling of Aromatized and Regular Wines [*Manuscript submitted for publication*].
- Gottmann, J., Vestner, J., & Fischer, U. (2022b). Sensory significance of seven marker compounds from aromatized wines to assess potentially fraudulent aroma carryover [*Manuscript submitted for publication*].
- Gottmann, J., Vestner, J., Müller, D., Schuster, J., & Fischer, U. (2021). Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(38), 11382–11394.
- Lampe, U. (2015). Untersuchungen zur Authentizität von Weinaroma am Beispiel der γ -Lactone. *38th World Congress of Vine and Wine (Part 2)* 5, 6005.
- Langen, J., Wang, C.- Y., Slabizki, P., Wall, K., & Schmarr, H.- G. (2013). Quantitative analysis of γ - and δ - lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27(24), 2751–2759. <https://doi.org/10.1002/rcm.6736>
- Langen, J., Wegmann-Herr, P., & Schmarr, H.- G. (2016). Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408(23), 6483–6496.

<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9767-6>

Lawless, H. T., & Heymann, H. 2010. *Sensory Evaluation of Food*. Springer.

Licciardello, F., Del Nobile, M. A., Spagna, G., & Muratore, G. (2009). Scalping of ethyl octanoate and linalool from a model wine into plastic films. *LWT - Food Science and Technology* 42(6), 1065–1069. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.007>

LUA. (2014). LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung 2014. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz*.

Mosandl, A. (2004). Authenticity assessment: a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *Journal of chromatographic science* 42(8), 440–449. <https://doi.org/10.1093/chromsci/42.8.440>

Nielsen, T. J. (1994). Limonene and myrcene sorption into refillable polyethylene terephthalate bottles, and washing effects on removal of sorbed compounds. *Journal of Food Science* 59(1), 227–230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06936.x>

Nishijima, W., Okuda, T., Nakai, S., & Okada, M. (2014). A green procedure using ozone for Cleaning-in-Place in the beverage industry. *Chemosphere* 105, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.019>

Safa, H. L., & Bourelle, F. (1999). Sorption–desorption of aromas on multi-use PET bottles. A test procedure. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 12(1), 37–44. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1522\(199901/02\)12:1<37::AID-PTS452>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1522(199901/02)12:1<37::AID-PTS452>3.0.CO;2-F)

Schwinn, M., Durner, D., Wacker, M., Delgado, A., & Fischer, U. (2019). Impact of fermentation temperature on required heat dissipation, growth and viability of yeast, on sensory characteristics and on the formation of volatiles in Riesling. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 25(2), 173–184. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12386>

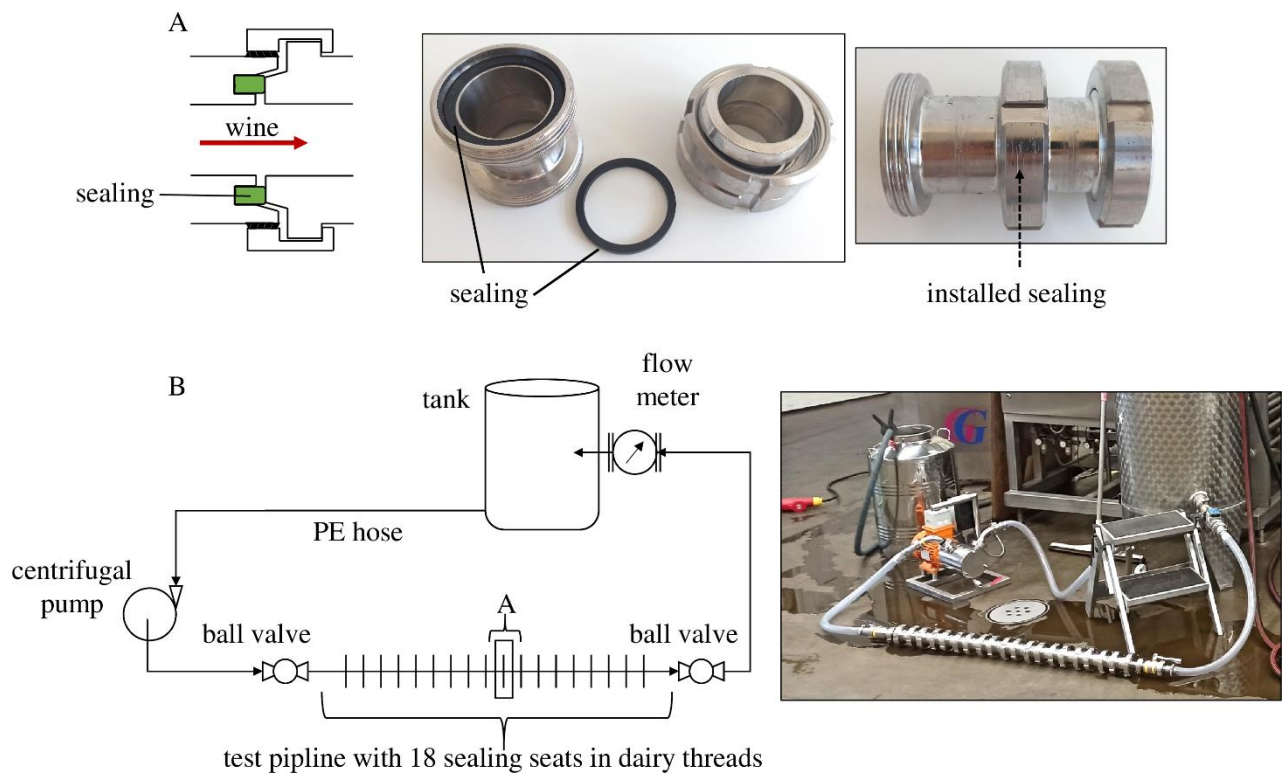
Sirén, K., Fischer, U., & Vestner, J. (2019). Automated supervised learning pipeline for non-targeted GC-MS data analysis. *Analytica chimica acta: X* 1, 100005.

Vetter, E. (2012). Aromamigration in elastomere Wekstoffe: Kleines Bauteil - große Wirkung. *DMW - Die Milchwirtschaft* 3(10), 380–386.

Wietstock, P. C., Glattfelder, R., Garbe, L.- A., & Methner, F.- J. (2016). Characterization of the migration of hop volatiles into different crown cork liner polymers and can coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(13), 2737–2745.

Supplemental Data

Supplemental Figure 1. Schematic drawing and picture of a sealing seat DIN 11851 with DN 50 (A) and the pilot plant (B).



7 Zusätzliche relevante unveröffentlichte Arbeiten

7.1 Erfassung weiterer potenziell relevanter Aromakomponenten in Glühwein

Anhand der Ausführungen in Abschnitt 6.2 konnte gezeigt werden, dass eine Abfüllung aromatisierter Getränke mit hohen Aromastoffkonzentrationen ein Risiko einer Aromaverschleppung birgt. Dieser Umstand betrifft nicht nur die bereits betrachteten sieben Aromastoffe γ -Decalacton, γ -Undecalacton, δ -Decalacton, α -Ionon, Eugenol, *trans*-Zimtaldehyd und Ethyl 2-methylbutanoate, sondern auch weitere Aromakomponenten, die in hohen Konzentrationen zugesetzt werden. Zur Gewinnung neuer Markersubstanzen anhand von gezielten Fragestellungen eignen sich *Omic*-Betrachtungsansätze (*Genomics*, *Proteomics*, *Metabolomics*, *Sensomics*) (Rappoport und Shamir 2018; Amante et al. 2019). Insbesondere im Falle von Weinen, die hunderte von flüchtigen Aromastoffen aufweisen und eine gezielte Analyse erschweren, bieten sich *Omic*-Ansätze an. In *volatilomics* und *flavouromics* Ansätzen werden Daten, die in sensorischen Methoden generiert wurden, mit analytischen quantitativen bzw. semi-quantitativen Daten korreliert (Granvogl und Schieberle 2022). Aroma-Analysen von Weinen erfassen eine umfangreiche Datenmenge die in Abhängigkeit der Probenanzahl nur bedingt vollständig ausgewertet werden kann und mit Hilfe von *non-targeted* Analytik Ansätzen bearbeitet werden können (Sirén et al. 2019). Das hierbei erstellte Profil der Proben wird auch als Fingerabdruck bezeichnet (Vestner et al. 2016). Diese Fingerabdrücke der einzelnen Proben sind charakteristisch und können zum Identifizieren einzelner Proben, aber auch einzelner Substanzen dienen. Neben der Charakterisierung neuer Marker können *non-targeted* Analysemethoden zur Authentizitätsbestimmung z.B. von extra nativem Olivenöl sowie zur geografischen Herkunftsbestimmung eines Weines herangezogen werden (Kalogiouri et al. 2016; Pereira et al. 2018).

Aufgrund dieses Umstandes wurden Glühweine aus dem Lebensmitteleinzelhandel in einem *Omic*-Ansatz, hinsichtlich weiterer Aromastoffe, die ein hohes Risiko in der Aromaverschleppung darstellen, untersucht. Das Aromaprofil der 33 einzelnen roten Glühweine konnte anhand einer zuvor etablierten HS-SPME-GC-MS Methode untersucht werden, die zur Charakterisierung des Aromaprofils eines Rieslings verwendet wurde (Schwinn et al. 2019; Gottmann et al. 2022a). Die Analysen wurden im Zuge dessen nicht auf einen einzelnen Aromastoff fokussiert, sondern zielten auf die Gesamtheit der Proben ab, um diese miteinander zu vergleichen. In einem zweiten Schritt wurden 23 Glühweine, ausgewählt um in einem *sorted Napping*[®] (im weiteren als *Napping* bezeichnet) – einer Weiterentwicklung eines projektiven *Mappings* – sowie einem anschließenden *check-all-that-apply* (*CATA*) differenziert und charakterisiert zu werden (Pagès et al. 2010; Reinbach et al. 2014). Vorab wurden die Weine auf sensorische Ausreißer überprüft. Im *Napping* wurden die verkosteten

Proben auf einem 2D Papier bzw. Raum auf Basis ihrer sensorischen Ähnlichkeit bzw. Unterschieds positioniert und anschließend anhand einer vorgegebenen Attributenliste beschrieben (Abschnitt 10.2).

7.1.1.1 Glühwein Sensorik Screening

Anhand einer Hauptkomponentenanalyse der einzelnen Gruppierungen (*sorting*) der Verkoster und einer anschließenden agglomerativen hierarchischen Clusteranalyse unterteilen sich die 23 roten Glühweine in drei deutlich unterschiedliche Gruppen (Abbildung 12 A). Insbesondere differenziert der Glühwein mit der Probennummer 38. Attribute zur Beschreibung dieses Weines lagen in einer hohen Nennung von „würzig“ und „weihnachtlich“ wie auch der Nennung von „Zitrusfrüchten“, die zu einer Differenzierung des Glühweines in der CATA führten (Abbildung 12 C). Dieser Glühwein ist ein schwedischer Glögg der mit Aromanoten von Ingwer beworben wird. Eine Verzerrung der sensorischen Ergebnisse auf Basis der starken Differenzierung kann in der weiteren sensorischen Auswertung nicht ausgeschlossen werden. Dies hat aber nur bedingten Einfluss auf den *Omiks*-Ansatz. Die 22 weiteren Glühweine trennen sich primär in den ersten beiden Hauptkomponenten auf, welche in Summe lediglich 13 % der Varianz umfassen. Eine vergleichbare Auftrennung konnte in einer Hauptkomponentenanalyse auf Basis der Positionierung der Glühweine im 2D Raum im Rahmen des Nappings erfasst werden (Abbildung 12 B). Ein zusätzliches Einzeichnen der Geruchsattribute der Glühweine zeigt eine primäre Auftrennung in der ersten Dimension. Eine positive Korrelation der Glühweine mit der ersten Dimension zeigt eine Anwesenheit von weihnachtlichen Attributen, eine negative Korrelation deutet auf eine Wahrnehmung eines vegetativen mikrobiologischen Charakters hin. Die abschließende Beurteilung der Häufigkeitsnennung der einzelnen Attribute in einer Hauptkomponentenanalyse umfasst die höchste erklärte Varianz von 60 % in den ersten zwei Hauptkomponenten (Abbildung 12 C). Anhand der Attribute lassen sich die Glühweine in vier Gruppen einteilen. Die erste Gruppe korreliert mit den Attributen vegetativ und mikrobiologisch, die zweite Gruppe der Glühweine wird von fruchtigen und zitronigen Aromen beschrieben, die dritte Gruppe wird dominiert von weihnachtlich würzigen Noten und die vierte Gruppe beinhaltet Glühweine die mit gekochten und kräftigen dunklen Früchten, wie von eingekochten Pflaumen beschrieben wurden.

Anhand der sensorischen Methoden konnten die Glühweine primär in drei Gruppen differenziert werden. Der Hauptanteil wurde als weihnachtlich fruchtig wahrgenommen, während ein weiterer großer Anteil als mikrobiologisch, vegetativ empfunden wurde und einzelne Glühweine mit sehr intensiven Zitrusnoten beschrieben wurden.

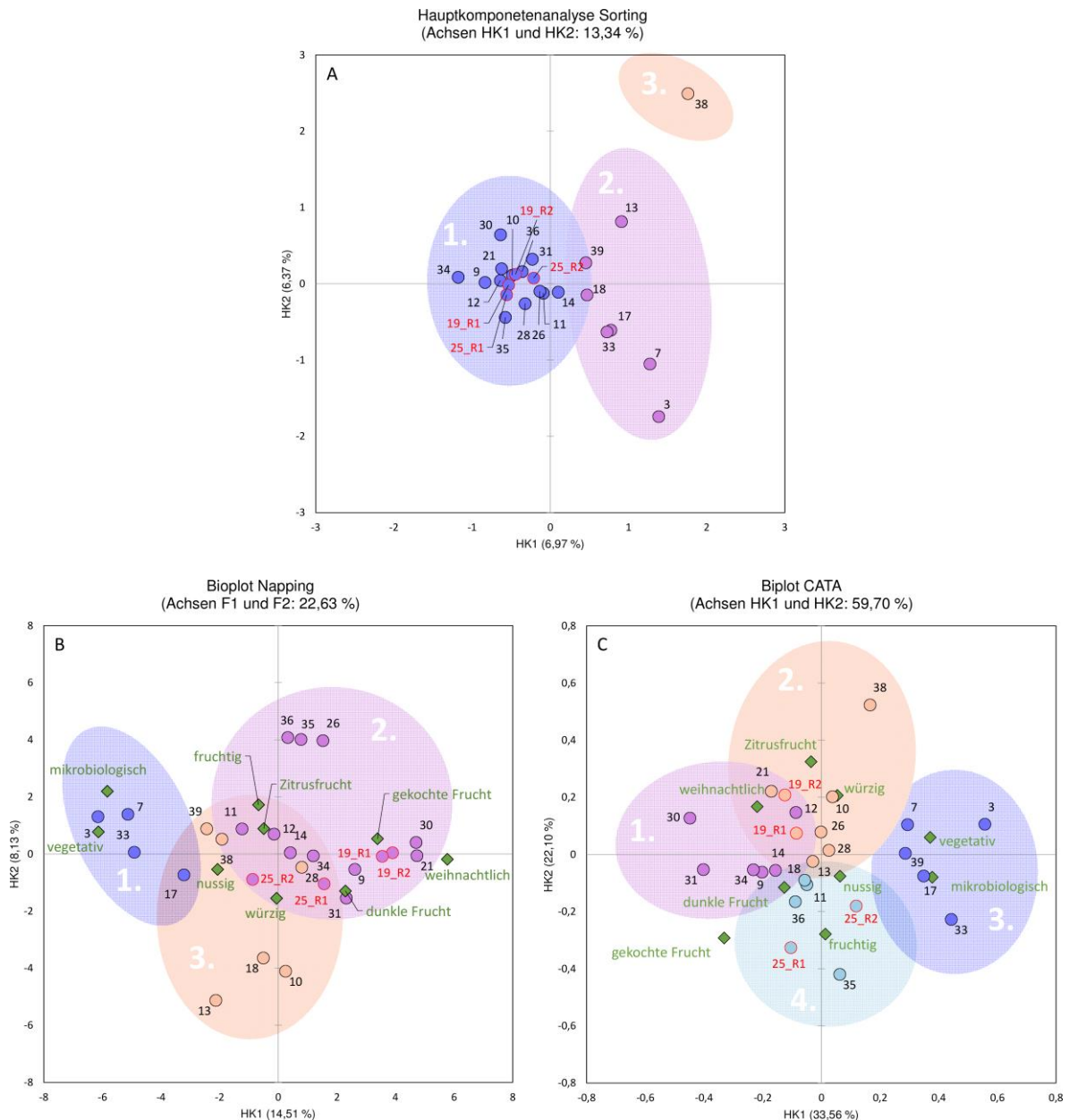


Abbildung 12: Hauptkomponentenanalyse des Sensorikscreenings der Glühweine zusammengesetzt aus einem Sorting (A), Napping (B) und der Beschreibung der Geruchsattributen (CATA) (C). Die Glühweine Nr. 19 und 25 wurden in Wiederholung mit verkostet (R1 und R2). Einteilungen der Gruppen mittels agglomerativer hierarchischer Clusteranalyse, manuelles Einfügen der Gruppenellipsen.

7.1.1.2 Non-targeted HS-SPME-GC-MS Analyse

Die gewonnen Rohdaten der HS-SPME-GC-MS Analysen der 33 roten Glühweine wurden einer Modellierung mittels PARAFAC2 unterzogen und 122 einzelne Features gebildet (Sirén et al. 2019). Doppelte Features aufgrund von Intervall Überschneidungen sowie Features, die auf Basis des Systemhintergrunds entstanden sind, wurden entfernt und die verbliebenen 81 Features und ihre Anteile sind zusammenfassend in Abbildung 13 dargestellt. Der bereits in der Sensorik als stark differente Glühwein Nr. 38, zeigt auch in der *non-targeted* Analytik

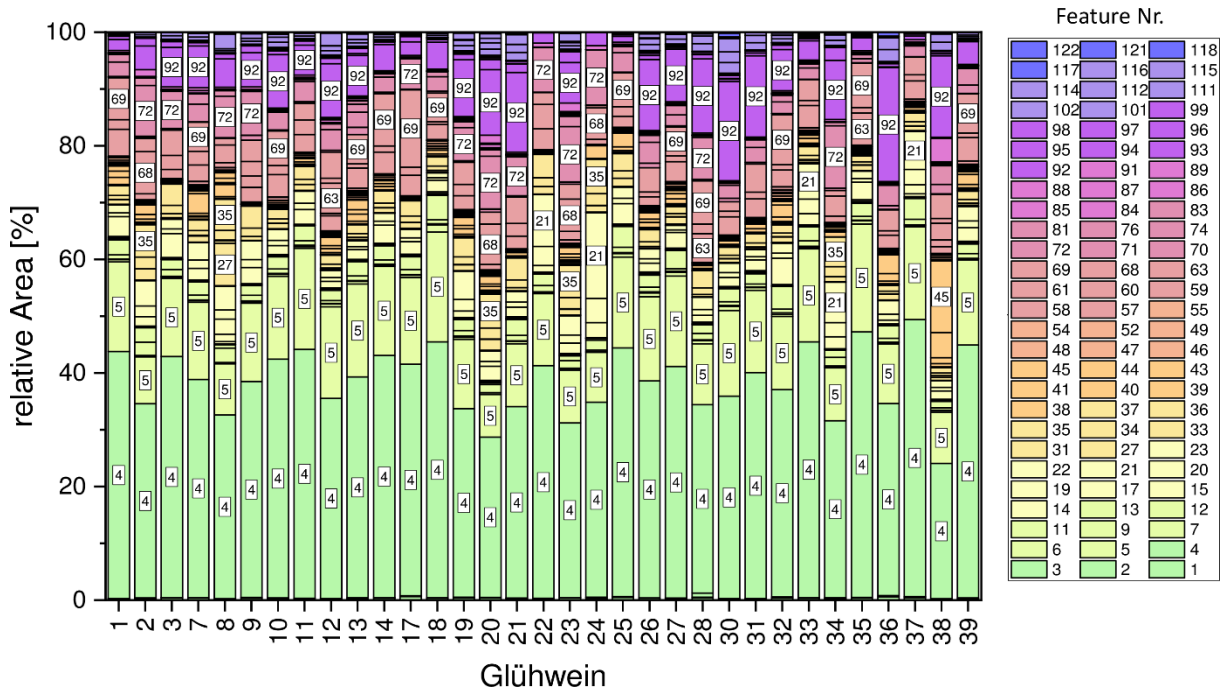


Abbildung 13: Prozentuale Verteilung der Peakflächen der analytischen Features der einzelnen Glühweine, erfasst mittels non-targeted HS-SPME-GC-MS und PARAFAC2 Dekonvolution. Features, die einen prozentualen Anteil größer 5 % am Gesamtanteil der einzelnen Glühweine aufweisen, sind als Featurezahl im entsprechenden Balken zu finden.

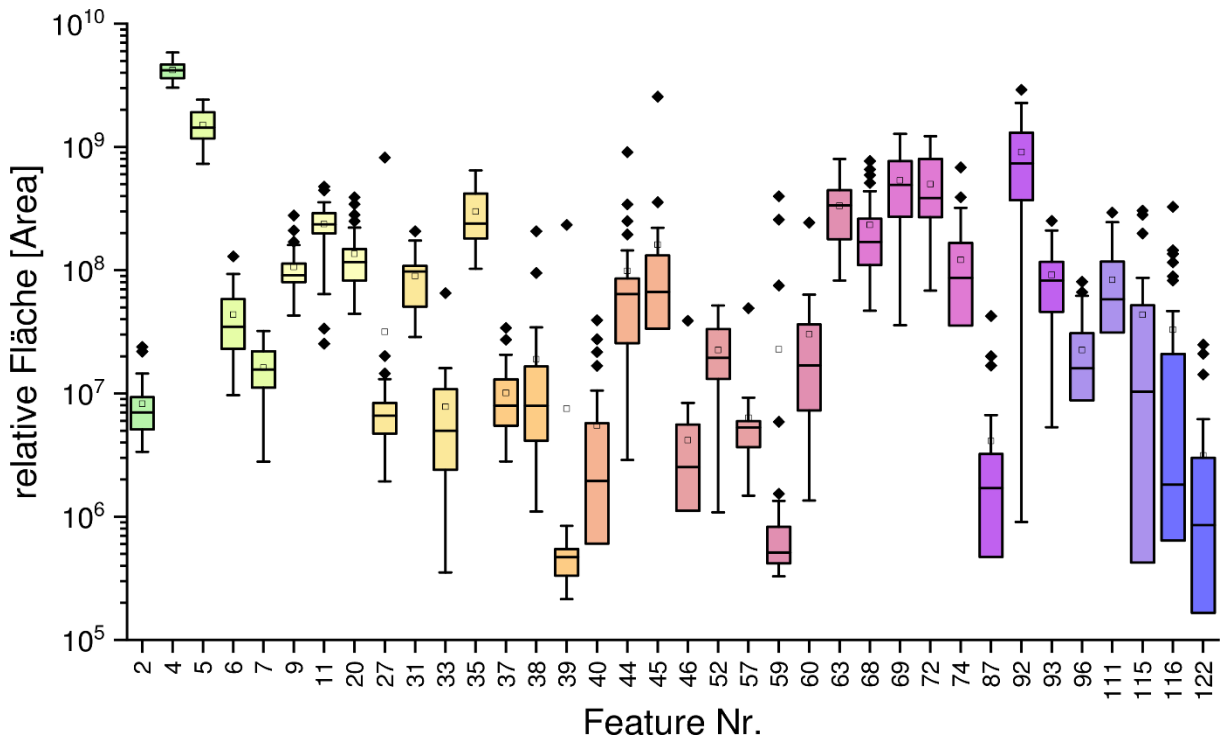


Abbildung 14: Verteilung der Peakflächen der 35 selektierten Features mit höchstem prozentualen Anteil in den Glühweinen. Die Whisker entsprechen dem 1,5-fachen des Interquartilabstandes. Datenpunkte, die außerhalb der Whisker liegen, sind als Ausreißer eingezeichnet.

einen deutlichen Unterschied auf. Hervorzuheben sind die Features Nr. 44 und 45, die in keinem der weiteren Glühweine so hohe Anteile aufweisen. Eine weitere Reduktion der vorhandenen Features ist nötig zur Identifizierung und Beurteilung des Verschleppungsrisikos angesichts der hohen Aromastoffkonzentrationen. Eine semi-quantitative Betrachtung auf Basis der Peakflächen, dient als vereinfachtes Modell in der weiteren Selektion der Features. Anhand des höchsten prozentualen Anteils je Glühwein wurden 35 Features als weitere Marker ausgewählt, diese umfassen 92–98 % der erfassten Featureflächen der 33 Glühweine. Die Streuung der 35 Features in Anbetracht der Glühweine ist in Abbildung 14 dargestellt. Auffallend sind Feature Nr. 4 und 5 die über die gesamte Bandbreite der Glühweine lediglich eine niedrige Streuung aber dennoch eine hohe Konzentration aufweisen. Des Weiteren sind Features zu erkennen, die eine hohe Streuung in den Glühweinen aufweisen. Feature 44, 45, 92 und 115 zeigen eine deutliche Streuung über die gesamte Bandbreite mit einzelnen extremen Ausreißern in der maximalen Konzentration in den Glühweinen.

Die Zuordnung und Identifikation der selektierten Features zu einzelnen Aromastoffen wurde in mehreren Stufen durchgeführt. In einem ersten Schritt der vorläufigen Identifikation wurden lineare Retentionsindizes (LRI) nach Kovat's herangezogen, die anhand einer Alkan Reihe bestimmt wurden (Kovats 1958; Goodner 2008). Im nächsten Schritt wurden die anhand der PARAFAC-Modelle dekonvolierten Massenspektren mit Datenbanken (*National Institute of Standards and Technology* (NIST); Institut für Lebensmittelchemie, TU Braunschweig) abgeglichen und Literatur-LRI der Datenbankvorschläge mit den bestimmten LRI's verglichen. Im weiteren Verlauf wurden Reinstoffe der einzelnen vorläufig identifizierten Aromastoffe mit derselben Analyseverfahren untersucht. Angesichts dieses Identifikationsschemas konnten 24 der 35 selektierten Aromastoffe zugeordnet werden (Tabelle 4).

Der größte Anteil in den untersuchten Glühweinen zeigt sich für die beiden Features 4 und 5, die als 3-Methyl-1-butanol und 2-Methyl-1-butanol identifiziert werden konnten. Die beiden höheren Alkohole sind natürliche Nebenprodukte, die während der Gärung entstehen und für die betrachteten Glühweine keine hohe Varianz aufzeigen. Üblicherweise finden sich im Wein hohe Konzentrationen für 2-Methyl-1-butanol (16–31 mg/L) sowie für 3-Methyl-1-butanol (84–333 mg/L) (Waterhouse et al. 2016). Die beiden Ester treten nicht nur in Glühwein in umfangreichen Mengen auf und stellen daher keine neuen Markstoffe dar. Vergleichbares gilt auch für die zwar niedrigeren prozentualen Anteile des Phenylethylalkohols, der aber ebenfalls aus der Gärung stammt und in jungen Rotweinen eine mittlere Konzentration von 70 mg/L, bei einem Wahrnehmungsschwellenwert von 14 mg/L aufweist (Ferreira et al. 2000). Das dritthäufigste Feature Nr. 92 der Glühweine konnte als Eugenol (Nelken Geruch) identifiziert werden. Die erwarteten hohen Konzentrationen aus Abschnitt 6.1 dieses Aromastoffes konnten, in dem nicht zielgerichteten Ansatz bestätigt werden. Des Weiteren konnten in der

Tabelle 4: Erfasste Features mittels non-targeted HS-SPME-GC-MS Analyse. Angabe der linearen Retentionsindizes (LRI) sowie der identifizierte Aromastoffe mittels Referenzstandards. Angabe des prozentualen Anteils der Aromastoffe im Durchschnitt bezogen die 33 untersuchten Glühweine.

Feature Nr.	Bestimmter LRI	Aromastoff	Durchschnittlicher Flächenanteil [%]	Maximaler Flächenanteil [%]
2	773	Propyl acetate	0,1	0,2
4	781	3-Methyl-1-butanol	42,1	54,1
5	781	2-Methyl-1-butanol	15,2	22,5
6	787	Ethyl isobutyrat	0,5	1,2
7	791	Isobutyl acetat	0,2	0,3
9	800	Ethyl butanoat	1,3	2,6
11	811	unbekannt	2,4	4,4
20	876	Isoamyl acetat	1,2	3,6
27	969	Benzaldehyde	0,3	7,6
31	980	unbekannt	0,9	1,9
33	990	unbekannt	0,1	0,6
35	997	Ethyl hexanoat	2,8	6,0
37	1004	Octanal	0,1	0,3
38	1010	Hexyl acetat	0,1	1,9
39	1011	unbekannt	0,1	2,2
40	1021	unbekannt	0,1	0,4
44	1036	D-Limonen	1,0	8,4
45	1041	1,8-cineol; Eucalyptol	1,7	23,7
46	1048	3-Carene	0,04	0,4
52	1068	Methoxyacetic acid, 3-methylbutyl ester	0,2	0,5
57	1091	Linalooloxid	0,1	0,5
59	1098	unbekannt	0,2	3,7
60	1100	Linalool	0,3	2,3
63	1120	Phenylethylalkohol	3,4	7,4
68	1168	unbekannt	2,2	7,1
69	1175	unbekannt	5,6	11,9
72	1195	Ethyl octanoat	4,7	11,4
74	1205	α-Terpineol	1,3	6,3
87	1323	unbekannt	0,04	0,4
92	1361	Eugenol	9,6	27,0
93	1392	Ethyl decanoat	0,8	2,3
111	1457	Isoeugenol	0,9	2,7
115	1518	unbekannt	0,5	2,8
116	1531	unbekannt	0,4	3,0
122	1280	4-Ethylguajacol	0,01	0,2

Gesamtheit der betrachteten Glühweine ein hoher Anteil in Summe von ca. 12 % an Estern nachgewiesen werden. Hierzu zählen unter anderem Ethyl octanoat, Ethyl hexanoat, Isoamyl acetat und Ethyl butanoat. Diese Aromastoffe tragen zur fruchtigen Wahrnehmung und besitzen einen hohen Beitrag zum beschriebenen Aromapuffer (Abschnitt 4.5.2). Auffallend hohe Anteile einzelner Aromastoffe konnten ebenfalls ausgemacht werden. Beispielsweise sticht der zuvor sensorisch auffallende Glühwein Nr. 38 durch hohe Anteile von 1,8-Cineol hervor (23,7 % bezogen auf die Gesamtflächen im Wein) das mit Attributen von „Eukalyptus“, „frisch“, „kühlend“, „medizinisch“ und „campherartig“ beschrieben wird (Herve et al. 2003; Capone et al. 2011). Der sensorisch verbundene Eindruck in diesem Wein mit hohen Anteilen der Terpene Limonen, Linalool und Linalooloxid wurde fremdartig für einen Glühwein wahrgenommen und umfasst das beschriebene „Glögg-Ingwer“ Aromaprofil. Des Weiteren konnten auffallend hohe prozentuale Anteile an α -Terpineol in den Glühweinen ausgemacht

werden. Während dagegen in der Untersuchung von jungen Rotweinen sehr niedrige Aromastoffanteile von 0,57 bis 16,8 µg/L bei einer Wahrnehmungsschwelle in einem Modellwein von 250 µg/L aufgezeigt wurde (Ferreira et al. 2000). α -Terpineol wird mit Attributen von „Minze“ und „Pinie“ sowie „grün“ und „vegetativ“ beschrieben (Chisholm et al. 1995; Komes et al. 2006), ein hoher α -Terpineol Zusatz in den Glühweinen zum Erzielen einer gewissen würzigen Note nahe liegt (Komes et al. 2006). Auffallend ist, dass sich das als Marker gewählte *trans*-Zimtaldehyd nicht unter den 35 zugeordneten Features befindet. Dies kann mittels der im Anschluss durchgeführten zielgerichteten Analyse in Abschnitt 6.1 begründet werden. Lediglich in zwei der betrachteten Glühweine konnte ein nachweisbarer Anteil *trans*-Zimtaldehyd erfasst werden. Anhand der ausgewählten Relevanzkriterien zur Erfassung neuer kritischer Features im Rahmen der Aromaverschleppung wurde das *trans*-Zimtaldehyd daher nicht miterfasst.

Die weitere multivariate Betrachtung der wichtigsten Features und der sensorischen Beschreibung der Glühweine, aus welcher der Glühwein Nr. 38 aufgrund der Matrixverzerrung herausgenommen wurde, zeigt eine Auftrennung der Produkte in fünf Gruppen (Abbildung 15). Die erklärte Varianz anhand der analytischen und sensorischen Daten in den ersten zwei Dimensionen umfasst 83 %. Die gebildeten fünf Clustergruppen differenzieren sich über die zwei Dimensionen, während auf der ersten Dimension eine Auftrennung zwischen fruchtig und andererseits einem würzigen gekochten Eindruck vorliegt. Die fruchtig wahrgenommenen Glühweine dominieren vor allem mit hohen Anteilen verschiedener erfasster Ester. In der zweiten Hauptkomponente trennen sich die Glühweine weiter angesichts der stark negativ wahrgenommenen Attribute, wie „mikrobiologisch“ und „vegetativ“ und der entgegengesetzt positiven Wahrnehmung eines weihnachtlichen assoziierten Attributs. Die anhand des trainierten Panels als weihnachtlich beschriebenen Glühweine korrelieren direkt mit dem hohen prozentualen Anteil an Eugenol. Erwähnenswert ist das Isoeugenol, ein Aromastoff, der anhand der prozentualen Anteile nur bedingt hervorstach, welches jedoch zu einer Differenzierung der weihnachtlich wahrgenommenen Glühweine essentiell beiträgt. Das flüchtige Phenol zeigt – wie das Eugenol selbst – einen Geruch nach Nelke, welcher sich gerne in Weinen wiederfindet, die einen Kontakt zu Holz hatten (Genovese et al. 2007). Eine positive Korrelation zwischen Glühweinen, die mit einem mikrobiologischen und vegetativen Eindruck beschrieben wurden, sowie expliziten Aromastoffen besteht nicht. Ein Erklärungsansatz besteht darin, dass die Abwesenheit insbesondere der beiden flüchtigen Phenole in diesen Glühweinen im Vergleich hervorstechen ist. Zudem ist anzumerken, dass eine der sensorischen Verkostungen der Glühweine (Geruch) bei Raumtemperatur erfolgte. Die Wahrnehmung der einzelnen Glühweine bei einer üblicherweise erhöhten Verkostungstemperatur muss daher nicht durch diese negativen Attribute geprägt sein.

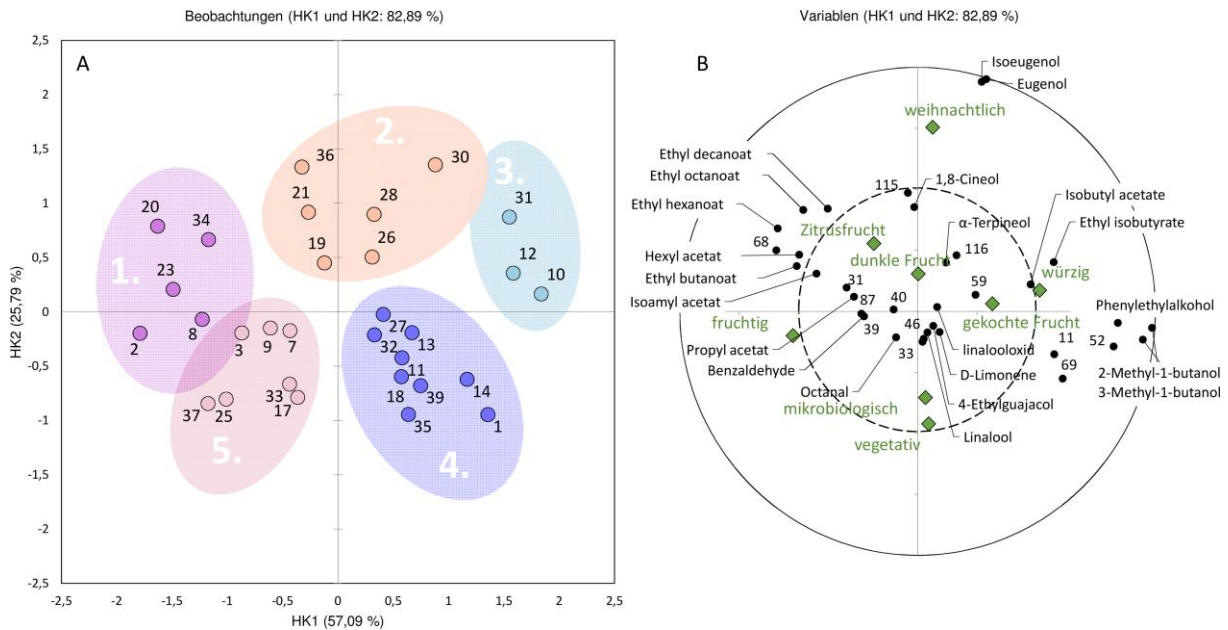


Abbildung 15: Multivariate Ergebnisdarstellung des sorted Napping® und der non-targeted Analysemethoden. Darstellung der Varianz der untersuchten Glühweine in den ersten beiden Hauptkomponenten basierend auf der non-targeted Analyse (A), sowie den wichtigsten erfassten flüchtigen Aromastoffen und der erfassten Geruchsattribute der Glühweine (B). Einteilung der Gruppen mittels agglomerativer hierarchischer Clusteranalyse, manuelles Einfügen der Gruppenellipsen.

Ziel dieses Omiks-Ansatzes bestand in der Gewinnung neuer relevanter Aromastoffe, die in hohen Konzentrationen in aromatisierten weinhaltigen Getränken, wie Glühweinen, zu finden sind. Neben den hohen Konzentrationen an Eugenol, die in Abschnitt 6.1 mit bis zu 37,8 mg/L quantifiziert wurden, konnten hohe prozentuale Anteile an Limonen, Isoeugenol, 1,8-Cineol, α -Terpineol sowie umfangreiche Ester erfasst werden. Diese Aromastoffe werden Glühweinen in hohen Anteilen zugesetzt und von den verbauten Dichtungsmaterialien absorbiert. Insbesondere unpolare Aromastoffe, wie das Limonen welches bereits umfangreich in Studien betrachtet wird, bilden hierbei ein hohes Risiko. Im Zuge dieser Untersuchungen kann vermutet werden, dass das wahrgenommene Aromaprofil der Glühweine überwiegend auf dem hohen Zusatz an Eugenol beruht. In fruchtigen aromatisierten weinhaltigen Produkten ist hingegen davon auszugehen, dass andere Impactaromastoffe zugesetzt werden. Im Rahmen der fruchtigen exotischen Cocktails sind hohe Konzentrationen verschiedener Ester zu erwarten. Diese Annahme beruht auf der Tatsache, dass eine sensorische Wahrnehmung verschiedener Ester erst im Falle einer deutlichen Durchbrechung des Aromapuffers, wie in Abschnitt 4.5.2 und Abschnitt 6.1 beschrieben, zum Tragen kommt.

8 Zusammenfassende Diskussion

Wein zählt zu den am häufigsten konsumierten alkoholhaltigen Getränken. Hierbei wird Wein nicht nur als Getränk angesehen, sondern impliziert auch eine Leidenschaft zahlreicher Kenner und Genießer, die unabhängig vom Alter von diesem Kulturgut angesprochen werden. Hierbei treten neben dem klassischen Wein- und Schaumweinangebot seit einiger Zeit vermehrt auch aromatisierte weinhaltige Getränke in den Vordergrund. Die gezielt erzeugten Aromaprofile der aromatisierten weinhaltigen Getränke sprechen neu gewonnene Verbraucher und Verbraucherinnen an, die sonst nur in begrenztem Umfang Wein konsumieren. Das Portfolio der aromatisierten Getränke umfasst ein weites Spektrum, das von fruchtbetonten Cocktails, deren Aromaprofil von Pfirsich, Cassis, Himbeere, und exotischeren Früchten wie Mango, Maracuja über eine „Hugo“-Stilistik mit einer Aromakombination aus Holunderblüte und Minze hin zu den würzigen Glühweinen reicht. Der Absatz dieser aromatisierten weinhaltigen Getränke boomte in den vergangenen Jahren, sodass 2020 jeder achten abgefüllten Weinflasche im Lebensmitteleinzelhandel Aromastoffe mit einer entsprechenden Deklaration zugesetzt wurden (BSI 2021). Die Abfüllung klassischer Weine bzw. Schaumweine sowie aromatisierter weinhaltiger Getränke auf derselben Flaschenabfüllanlage besitzt jedoch das Risiko eines Aromaübertrages aus aromatisierten Produkten in nachfolgende Weine. Ein Aromazusatz in Wein, wozu auch eine Aromaverschleppung zählt, ist durch das Weingesetz untersagt (EU Parlament 2009). Zur Differenzierung zwischen einem Aromazusatz, der einen Einfluss auf das Produkt hat und einer Aromaverschleppung, in der kein sensorischer Einfluss im Wein vorliegt, wurde der „Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein“ im Jahr 2019 vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft veröffentlicht (BMEL 2019). Unter Einhaltung einer guten fachlichen Praxis bei der Abfüllung mit einer anschließenden sensorischen Kontrolle der Reinigung stuft das Bundesministerium einen Übergang der verschleppten Aromastoffe als einen technisch unvermeidbaren Übergang ein, solange diese keine sensorische Relevanz aufzeigen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Aromaverschleppung anhand einer Aufnahme und Abgabe von Aromastoffen in und aus Dichtungen im einem aufeinander folgenden Abfüllprozess eines aromatisierten weinhaltigen Getränkes und klassischer Weine bzw. Schaumweine auf derselben Abfüllanlage zu untersuchen. Die anschließende Bewertung des sensorischen Einflusses der verschleppten Aromastoffe in Wein liefert Information über die Einstufung der Aromaverschleppung. Des Weiteren wurden Einflussfaktoren zur Minimierung und Verhinderung der Aromaverschleppung betrachtet. Um eine Risikoverringerung der Verschleppung zu erreichen wurden gezielt Standard-Dichtungsmaterialien sowie übliche Reinigungsszenarien, die bei einem Produktwechsel Anwendung finden, untersucht. Zur

Erfassung dieser Parameter wurde zunächst eine Analysemethode etabliert, die es ermöglichte Aromastoffe direkt in Dichtungsmaterialien zu bestimmen.

Zur Beurteilung der geforderten sensorischen Relevanz verschleppter Aromastoffe wurden sieben Aromastoffe ausgewählt, welche in der Aromatisierung weinhaltiger Getränke frequent verwendet werden. Anzumerken ist hierbei, dass die Authentizität des Weines für fünf dieser Aromastoffe – hierzu zählen Ethyl 2-methylbutanoat, α -Ionon, γ -Decalacton, δ -Decalacton, γ -Undecalacton – durch die natürliche Verteilung der Enantiomere in der Weinkontrolle bestimmt werden kann (Langen et al. 2013; Lampe 2015; Langen et al. 2016). Mittels einer etablierten HS-SPME-GC-MS Methode zur Bestimmung von flüchtigen Aromastoffen in Riesling von Schwinn et al. (2019), wurden 35 Glühweine und 38 aromatisierte weinhaltige Cocktails von Winzern, Kellereien und aus dem Lebensmitteleinzelhandel untersucht. Maximalwerte konnten für Eugenol mit 37,8 mg/L und für *trans*-Zimtaldehyd mit 4,7 mg/L in Glühwein aufgezeigt werden. Im Rahmen der *non-targeted* Analysen, zur Betrachtung von Aromastoffen, die ein Verschleppungsrisiko aufgrund hoher Konzentrationen in Glühwein darstellen, verdeutlichte sich, dass Eugenol der dominierende Aromastoff darstellt. Neben Eugenol konnten hohe prozentuale Anteile einzelner Ester, deren sensorischer Einfluss aufgrund des Aromapuffers limitiert ist, sowie in einzelnen Glühweinen ein erweitertes Aromastoffportfolio mit auffallenden prozentualen Anteilen an *trans*-Zimtaldehyd, Limonen, Isoeugenol, 1,8-Cineol, α -Terpineol aufgezeigt werden. Eine hohe Aufnahme von Limonen wurde bereits in Studien an Orangensäften postuliert (Mannheim et al. 1987; Nielsen 1994; Safa und Bourelle 1999), im Falle der weiteren Aromastoffe kann angenommen werden, dass diese in hohen Anteilen von Dichtungsmaterialien aufgenommen werden und ein Verschleppungsrisiko darstellen. In den untersuchten Cocktailvarianten konnten alle sieben ausgewählten Aromastoffe nachgewiesen werden. Die mittleren Konzentrationen in den aromatisierten Cocktails überstieg die natürlichen maximalen Konzentrationen in einem Wein mindestens um das Siebenfache für Ethyl 2-methylbutanoat bis hin zu einem 600-fachen für *trans*-Zimtaldehyd (Gottmann et al. 2022a). Um die gewünschten sensorischen Profile der Hersteller zu erreichen, müssen den aromatisierten weinhaltigen Getränken, aufgrund der sensorisch komplexen Weinmatrix Aromastoffkonzentrationen weit oberhalb der Wahrnehmungsschwellenwerte zugesetzt werden (Ferreira 2010).

Im Weiteren wurden die Wahrnehmungsschwellenwerte der sieben Aromastoffe in den Matrices Wasser, Modellwein und Weißwein erfasst. Ein Zusatz von 12 % v/v Ethanol erhöhte für alle sieben Aromastoffe die erfassten Wahrnehmungsschwellen. Eine erhöhte Löslichkeit der Aromastoffe, bedingt durch die veränderte Polarität der Matrix und dem verringerten Transfer der Aromastoffe in die Gasphase, steigert die notwendige Konzentration der Aromastoffe, die für eine Wahrnehmung benötigt wird. Aromastoffe, die in einem Weißwein

natürlich vorliegen, erhöhten die Schwellenwerte für sechs der sieben Aromastoffe um einen maximalen Faktor von 200 für Ethyl 2-methylbutanoat. Lediglich der Wahrnehmungsschwellenwert des α -Ionons veränderte sich ausgehend vom Modellwein zum Weißwein nicht. Diese auf den ersten Blick verwunderlichen Ergebnisse können anhand von Ferreira's beschriebenen Konzeptes eines Aromapuffers, welcher aus Estern, Alkoholen und Fettsäuren besteht, die während der Gärung von Hefen gebildet werden, erläutert werden (Ferreira 2010; Ferreira et al. 2022). Ein geruchlich erfassbarer Zusatz von Aromastoffen in Wein ist wahrzunehmen, sobald der sensorische fruchtige Aromapuffer durchbrochen wird. Die Intensität und Kapazität des Aromapuffers können von Wein zu Wein unterschiedlich stark variieren. Aromastoffe, die einen für Wein ungewöhnlichen Geruchseindruck aufweisen, wie beispielsweise das α -Ionon in einem Weißwein mit seinem Himbeeraroma, durchbrechen diesen Aromapuffer leichter. Aromastoffe die wie Ethyl 2-methylbutanoat die einen fruchtig sensorischen Beitrag zum Weinaroma geben, benötigen hohe Konzentrationen bis diese den Puffer durchbrechen können und als dominierender Aromastoff wahrgenommen werden.

Um das Konzept der Wahrnehmungsschwellenwerte in der Beurteilung der sensorischen Relevanz verschleppter Aromastoffe weiter zu bewerten, wurde eine deskriptive Analyse in Abhängigkeit der Konzentration des α -Ionons in einem Weißwein untersucht. Eine sensorische Differenzierung des Weines anhand eines trainierten Panels war erst ab einer 10-fachen Konzentration der Wahrnehmungsschwelle möglich (Gottmann et al. 2022a). Es kann davon ausgegangen werden, dass analytisch erfasste Aromakonzentrationen konsequenterweise keinen Einfluss auf den betrachteten Wein haben, solange diese die in einer Weinmatrix erfassten Wahrnehmungsschwellenwerte oder die noch niedrigeren Schwellenwerte in einer Wassermatrix unterschreiten. Mit zunehmender Komplexität des Weines steigen die erfassten Schwellenwerte, weshalb in der Erfassung der Schwellenwerte zur Beurteilung der Aromaverschleppung ein Wein zu bevorzugen ist, der ein neutrales Aromaprofil aufweist. Um sensible Schwellenwerte zu erfassen, die in einer Bewertung der Aromaverschleppung zielführend sind, wurde ein neutraler Weißwein mit einem niedrigen SO_2 Level ausgesucht der störende Einflussfaktoren in der Schwellenwertbestimmung ausschließt. Ein Heranziehen von aromatischen Rebsorten in der Schwellenwertbestimmung, wie einem blumig würzigen Gewürztraminer, einem exotisch fruchtigen Sauvignon Blanc oder einem kräftigen Tempranillo, der in einem Holzfass lagerte, würde zu einer fehlerhaften Interpretation der verschleppten Aromastoffe in einem filigran ausgebauten Wein führen. In kritischen Fällen einer Aromaverschleppung in voluminösen sowie aromatischen Weinen empfiehlt sich ein nachträgliches Heranziehen einer Bestimmung der Schwellenwerte in einem zweiten Referenzwein.

Mit Hilfe der entwickelten TD-GC-MS Methode konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit

Einflussfaktoren bestimmt werden, die eine Aufnahme als auch die weitere Abgabe der sieben Aromastoffe in Reinigungsmedien sowie in nachfolgende Weine beeinflussen. Dieser Analyseansatz umgeht Bestimmungsprobleme, wie eine unzureichende Selektivität und Empfindlichkeit sowie dem Verlust der Aromastoffe im Modellaufbau, mittels einer direkten Messung der Aromastoffe in Dichtungsmaterialien. Hintergrundsignale ausgehend von der Polymermatrix, die einen störenden Einfluss auf die Empfindlichkeit der Messmethode haben, konnten aufgrund ausgewählter, selektiver Ionen sowie einer Modellierung der Daten mit Hilfe von PARAFAC2-Modellen ausgeschlossen werden (Petersen und Bro 2018). Unter kontrollierten Bedingungen in Modellversuchen konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme der Aromastoffe in Dichtungsmaterialien sowohl mit zunehmender Konzentration der Aromastoffe, als auch mit erhöhtem Anteil der exponierten Fläche der Dichtungen ansteigt. Zwischen der Konzentration der Aromastoffe in der Lösung sowie den absorbierten Anteilen konnte ein linearer Zusammenhang hergestellt werden. Weiter wurde gezeigt, dass die Absorption der sieben Aromastoffe in das Polymer von ihrer Polarität und ihrem Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (K_{ow}) bzw. dessen dekadischen Logarithmus ($\log P$) abhängig ist. Lediglich 1 % der vorhandenen Konzentration des *trans*-Zimtaldehyds (polarster Aromastoff) wurde innerhalb von 48 h in das Polymer aufgenommen, während im selben Zeitraum 25 % des initialen α -Ionons (unpolarster Aromastoff) aufgenommen wurde. Im Rahmen der Betrachtung der sieben Aromastoffe konnte die Varianz der Absorption anhand der Polarität zu 91 % erklärt werden. Der im Weiteren untersuchte Transfer der Aromastoffe – in dem über 8 % der initialen α -Ionon Konzentration der ersten Modelllösung durch das Polymer trotz einer durchgeführten Reinigung in einen nachfolgenden Modellwein überführt wurde – konnte ebenfalls in Abhängigkeit der Polarität der Aromastoffe zu 99 % erklärt werden. Zusammenfassend wurde dargelegt, dass mit zunehmend unpolarem Charakter der Aromastoffe die absorbierten Anteile exponentiell ansteigen und diese ein erhöhtes Risiko des Transfers in nachfolgende Produkte darstellen (Gottmann et al. 2021).

Zur Minimierung der absorbierten Anteile der Aromastoffe wurden im Rahmen des Forschungsprojektes unterschiedliche Füllstoffe in das EPDM-Elastomer-Netzwerk eingearbeitet. In einem Vergleich mit einem kommerziellen EPDM konnte durch das Einmischen der Füllstoffe Kaolin und Mikro-Cellulose die Absorption der Aromastoffe um einen Faktor zwei reduziert werden. Ein Vergleich mit einem kommerziellen Fluor basierten Kautschuk zeigte jedoch, dass das niedrige Level dieses FKM-Werkstoffes, welcher für seine thermisch und chemisch hohe Stabilität bekannt ist, nicht erreicht werden konnte. Insbesondere verdeutlichte sich jedoch, dass unabhängig vom betrachteten Werkstoff eine Absorption der Aromastoffe über einen langen Kontaktzeitraum, wie einer Abfüllung eines aromatisierten Getränkes über einen Tag hinweg, nicht ausgeschlossen werden kann (Gottmann et al. 2022b).

Die Reinigung, die zwischen einem Produktwechsel durchgeführt wird, fokussiert sich üblicherweise auf eine Entfernung von Trubstoffen, auskristallisiertem Weinstein sowie der Sterilisation der Abfüllanlage zur Vermeidung von mikrobieller Kreuzkontaminationen (Bar-Am et al. 2012). Verwendete Reinigungsmedien bestehen aus Wasser, Lauge und mit Zitronensäure angesäuertem Wasser sowie oxidativen Reinigern zur Sterilisation wie Ozon, Peressigsäure und Chlordioxid. Aromastoffe, die während der Abfüllung der aromatisierten Getränke in Dichtungsmaterialien migrierten, werden hierbei oftmals nicht berücksichtigt. Unter kontrollierten Bedingungen in Modellversuchen konnte gezeigt werden, dass nur Bruchteile der absorbierten Aromastoffe entfernt werden konnten. Da sich gleiches in gleichem löst, verbleiben die Aromastoffe bevorzugt in den hydrophoben Dichtungen und werden in einem kurzen Reinigungszyklus von ein bis zwei Stunden nur bedingt von den hydrophilen Reinigungsflüssigkeiten herausgelöst. Für die Absorption konnte eine Zunahme der absorbierten Aromastoffmenge mit steigendem unpolarem Charakter aufgezeigt werden, ein inverser Zusammenhang konnte bei der Reinigung ebenfalls nachgewiesen werden. Polare Aromastoffe wie z.B. *trans*-Zimtaldehyd werden besser aus der hydrophoben Polymermatrix entfernt als unpolare Aromastoffe. Zwar konnte ein Einfluss im gewählten Reinigungsmedium in Abhängigkeit einzelner Aromastoffe belegt werden, dieser Effekt wird jedoch durch die Dauer und gewählte Temperatur der Reinigung übertroffen. Die besten Reinigungsergebnisse konnten bei einer hohen Temperatur von 85 °C bereits nach 30 Minuten erreicht werden. Um einen vergleichbaren Reinigungseffekt bei einer niedrigeren Reinigungstemperatur von 22 °C zu erreichen, bspw. zur Energiekostensparnis, musste eine durchgeführte Reinigung auf eine Gesamtdauer von 24 Stunden ausgedehnt werden (Gottmann et al. 2022b).

Beeinflussbare Parameter in der Diffusion, die anhand der Fick'schen Gesetze beschrieben werden können, umfassen lediglich den Diffusionskoeffizienten, welcher stark temperaturabhängig ist (Sajilata et al. 2007; Licciardello et al. 2009; Karbowski et al. 2010). Anhand der Arrhenius-Gleichung nimmt die Bewegung der einzelnen Moleküle mit steigender Temperatur zu. Nach einer 20-minütigen Reinigung bei 85 °C veränderte sich die erfasste Konzentration der Aromastoffe in den Dichtungen durch eine weitere 40-minütige Reinigung nur marginal. Eine limitierte Abnahme an Aromastoffen wurde diskutiert. Haupteinflussfaktor im limitierenden Schritt der Entfernung der aufgenommenen Aromastoffe besteht in den direkten Interaktionsmöglichkeiten des Reinigungsmittels und der Dichtung. Reinigungsmittel können nicht in das Polymer eindringen und interagieren lediglich mit Aromastoffen an der Polymeroberfläche. Aromastoffe, die hingegen über den langen Abfüllzeitraum des aromatisierten weinhaltigen Getränks in tiefere Polymerschichten gewandert sind, müssen – bevor sie durch ein Reinigungsmedium an der Oberfläche entfernt werden können – anhand eines Konzentrationsgradienten in der Polymermatrix an die Oberfläche zurück migrieren (Gottmann et al. 2022b).

Im Anschluss galt es die gewonnenen Erkenntnisse der Absorption und Desorption der Aromastoffe aus den Modellversuchen und dem Konzept der sensorischen Relevanz in einem praxisorientierten Versuchsdesign sowie in einzelnen Abfüllprozessen in Kellereien anzuwenden. Der Versuchsstand bestätigte, dass eine kurze kalte Reinigung mit Ozon, die beispielsweise lediglich zur Sterilisation der Abfüllanlage durchgeführt wird, ein signifikant höheres Risiko für eine Aromaverschleppung in einen nachfolgenden Wein bietet als eine ausgedehnte Reinigung mit hohen Reinigungstemperaturen von 85 °C. Eine Verschleppung der sieben absorbierten Aromastoffe in den nachfolgenden Wein konnte nur für vier der sieben Aromastoffe aufgezeigt werden. Die Weine konnten zwar am Ende des Versuches vom Anfangszeitpunkt sensorisch anhand der Deskriptoren der Aromastoffe (Himbeere, Pfirsich) differenziert werden. Die Zirkulation des Weines über 24 Stunden im Versuchsstand limitiert jedoch einen Transfer auf die reale Praxis. Ein sensorischer Beitrag der sieben Aromastoffe infolge einer Überschreitung der Wahrnehmungsschwelle konnte in der analytischen Untersuchung der Weine lediglich für das α -Ionon nach einer 8-stündigen Zirkulation aufgezeigt werden. In der Praxis durchläuft der Wein innerhalb weniger Minuten die Abfüllanlage und ein Fall eines derart ausgedehnten Kontaktes von mehreren Stunden zwischen Dichtung und Wein liegt nicht vor (Gottmann et al. 2022c).

Aufgrund des limitierten Transfers für die Praxis wurden im Weiteren die Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke sowie einem anschließenden klassischen Stillwein bzw. Schaumwein in zwei Kellereien im industriellen Abfüllmaßstab untersucht. Durch die Abfüllung der aromatisierten weinhaltigen Getränke über mehrere Tage hinweg wurden Aromastoffe in die Dichtungen aufgenommen. Die zuvor in Modellversuchen verbesserten EPDM-Dichtungen zeigten keinen signifikanten Unterschied zu handelsüblichen EPDM-Dichtungen. Eine signifikante Abnahme der Aromastoffaufnahme konnte durch Fluor basierte Kautschuk Dichtungen erreicht werden. Die etablierten umfangreichen Reinigungssequenzen der beiden Kellereien, die sich am Leitfaden des BMEL orientieren, entfernten niedrige Anteile von 10–20 % des absorbierten *trans*-Zimtaldehyds und Eugenols aus Glühweinen sowie über 90 % des absorbierten γ -Decalactons aus aromatisierten Cocktails. Die zuvor limitierenden Migrationsprozesse aus Dichtungsmaterialien verdeutlichten in der anschließenden Abfüllung der Still- bzw. Schaumweine nur geringfügige Änderungen. Die Konzentrationen der Aromastoffe in den verbauten Dichtungen veränderten sich lediglich über den gesamten betrachteten Abfüllzeitraum von bis zu vier Tagen. Eine sensorische sowie analytische Untersuchung der Aromastoffe der anschließend abgefüllten Weine konnte keine Unterschiede zwischen den abgefüllten Flaschen und ursprünglichem Wein aufzeigen. Zwar konnten Eugenol und γ -Decalacton in den Weinen nachgewiesen werden, jedoch variierten die Konzentrationen über den Füllzeitraum nicht signifikant und lagen mindestens ein 4-faches unterhalb der Wahrnehmungsschwelle in Wein (Gottmann et al. 2022c). Die Versuche in

dieser Arbeit zur Abfüllung der aromatisierten Getränke in einem industriellen Maßstab bestätigten die These, dass nach einer durchgeführten umfangreichen Reinigung eine sensorisch wahrnehmbare Verschleppung von Aromastoffen verhindert werden kann. Eine durchgeführte Reinigung ist jedoch nicht in der Lage die Dichtungen vollständig von den absorbierten Aromastoffen zu befreien. Daher ist eine Kontrolle der Reinigungseffizienz unumgänglich, um einen sensorischen Übertrag zu vermeiden. Eine sensorische Kontrolle mit Hilfe des *2-out-of-5* Testes des letzten Spülwassers – wie es im Leitfaden des BMEL's empfohlen wird (BMEL 2019) – ist aufgrund der erhöhten sensorischen Empfindlichkeit in Wasser zu empfehlen. Anhand eines negativen Testergebnisses (kein wahrnehmbarer Unterschied der Wässer) kann davon ausgegangen werden, dass verschleppte Aromastoffe keinen sensorischen Einfluss in der komplexeren Weinmatrix aufweisen. Diese These wird mit den anfangs diskutierten Wahrnehmungsschwellenwerten in den Matrices Wasser, Modellwein und Weißwein untermauert.

Zusammenfassend wurde in dieser Arbeit anhand von Wahrnehmungsschwellenwerten in Wasser, Modellwein und Weißwein die sensorische Relevanz von sieben Aromastoffen im Kontext der Aromaverschleppung untersucht. Eine hohe Aufnahme der Aromastoffe die in Dichtungsmaterialien migrieren konnte insbesondere für hoch unpolare Aromastoffe, wie beispielsweise dem α -Ionon beschrieben werden. Ein starker Einfluss konnte in der gewählten Reinigungstemperatur aufgezeigt werden. Hohe Temperaturen der Reinigungsmedien von 85 °C verkürzen demnach die notwendige Reinigungsdauer, während eine vergleichbare Effizienz bei 22 °C erst in einer ausgedehnten Reinigung über 24 Stunden erreicht werden konnte. Eine Evaluation von Reinigungsmedien, die zwischen einem Produktwechsel mit den Dichtungen interagieren, entfernen lediglich Aromastoffe an der Oberfläche. Ein vollständiges Entfernen der aufgenommen Aromastoffe war nicht möglich. Mittels der Abfüllung aromatisierter weinhaltiger Getränke in einem industriellen Maßstab in zwei unterschiedlichen Kellereien wurde gezeigt, dass durch eine Reinigung gemäß dem Leitfaden eine sensorisch wahrnehmbare Verschleppung verhindert werden kann. Eine Kontrolle der Reinigungssequenz und ihrer Effizienz ist trotzdem unumgänglich und eine Anpassung der Reinigungsschritte – bspw. durch Verlängern des heißen Reinigungsschrittes – kann je nach abgefülltem Getränk notwendig sein. Damit leistet diese Arbeit einen wichtigen Beitrag für die Weinwirtschaft und Weinwissenschaft zum Verständnis und zur Beurteilung der Verschleppungsproblematik von Aromastoffen in der Abfüllung von aromatisierten weinhaltigen Getränken sowie von klassischen Weinen auf derselben Abfüllanlage.

9 Literaturverzeichnis

- Abel, K. An evaluation of vented programmed temperature precolumns in gas-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1964, 13, 14–21.
- Abts, G. Kunststoff-Wissen für Einsteiger. Grundlagen, Eigenschaften und Recycling polymerer Werkstoffe; Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, 2018.
- Amante, E.; Salomone, A.; Alladio, E.; Vincenti, M.; Porpiglia, F.; Bro, R. Untargeted Metabolomic Profile for the Detection of Prostate Carcinoma—Preliminary Results from PARAFAC2 and PLS-DA Models. *Molecules* 2019, 24 (17), 3063.
- Arora, D. K.; Hansen, A. P.; Armagost, M. S. Sorption of flavor compounds by low density polyethylene film. *Journal of Food Science* 1991, 56 (5), 1421–1423.
- Arthur, C. L.; Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical chemistry* 1990, 62 (19), 2145–2148.
- ASTM. E1432-04: Standard Practice for Defining and Calculating Individual and Group Sensory Thresholds from Forced-Choice Data Sets of Intermediate Size. 2004a.
- ASTM. E679-04: Standard practice for determination of odor and taste threshold by a forced-choice ascending concentration series method of limits. 2004b.
- Atkins, P. W.; Paula, J. de. Physikalische chemie; John Wiley & Sons, 2013.
- Bar-Am, C.; Lapsley, J.; Mueller, R. A. E.; Sumner, D. A. Grapevines of innovation: Ozone as a cleaning agent in the California wine industry. *Journal of Wine Economics* 2012, 7 (1), 108–125.
- Barrer, R. M. Diffusion and Permeation in Heterogeneous Media. In: J. Crank und G. S. Park (Hg.) *Diffusion in polymers*; Academic Press: London, 1968.
- Bartle, K. D.; Myers, P. History of gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry* 2002, 21 (9-10), 547–557.
- Bartowsky, E. J.; Francis, I. L.; Bellon, J. R.; Henschke, P. A. Is buttery aroma perception in wines predictable from the diacetyl concentration? *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2002, 8 (3), 180–185.
- Basso, M.; Simonato, M.; Furlanetto, R.; Nardo, L. de. Study of chemical environments for washing and descaling of food processing appliances: An insight in commercial cleaning products. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2017, 53, 23–36.
- Beierle, E.; Bradshaw, I.; Reuter, M.; Tomp, A. Produktwechsel ohne Aromaverschleppung? Qualitätsanspruch bei hoher Produktvielfalt. *Getränke!* 2020 (4), 36–40.
- Bertelsen, A. S.; Mielby, L. A.; Alexi, N.; Byrne, D. V.; Kidmose, U. Individual Differences in Sweetness Ratings and Cross-Modal Aroma-Taste Interactions. *Foods* 2020, 9 (2), 146.
- Blake, A.; Kotseridis, Y.; Brindle, I. D.; Inglis, D.; Sears, M.; Pickering, G. J. Effect of closure and packaging type on 3-alkyl-2-methoxypyrazines and other impact odorants of Riesling and Cabernet Franc wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57 (11), 4680–4690.
- BMEL. Leitfaden der guten fachlichen Praxis zur Verhinderung von technisch vermeidbaren Aromaverschleppungen bei Wein. 2019; Referat 414, Wein, Bier, Getränkewirtschaft.
- Brajkovich, M.; Tibbits, N.; Peron, G.; Lund, C. M.; Dykes, S. I.; Kilmartin, P. A.; Nicolau, L. Effect of screwcap and cork closures on SO₂ levels and aromas in a Sauvignon Blanc wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53 (26), 10006–10011.
- Bremer, P. J.; Fillery, S.; McQuillan, A. J. Laboratory scale Clean-In-Place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms. *International Journal of Food Microbiology* 2006, 106 (3), 254–262.
- Brenna, E.; Fuganti, C.; Serra, S.; Kraft, P. Optically Active Ionones and Derivatives: Preparation and Olfactory Properties. *European Journal of Organic Chemistry* 2002 (6), 967–978.
- Brinkmann, S.; Schmachtenberg, E. Saechtling Kunststoff Taschenbuch, 31. Ausgabe; Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, 2013.

- Bruwer, J.; Saliba, A.; Miller, B. Consumer behaviour and sensory preference differences: implications for wine product marketing. *Journal of Consumer Marketing* 2011, 28 (1), 5–18.
- BSI. Daten aus der Alkoholwirtschaft 2014-2020; Bundesverband der Deutschen Spirituosen-Industrie und -Importeure e. V. (BSI), Bonn, 2015–2021.
- BSI. Daten aus der Alkoholwirtschaft 2020; Bundesverband der Deutschen Spirituosen-Industrie und -Importeure e. V. (BSI), Bonn, 2021.
- Budd, P. M.; McKeown, N. B. Highly permeable polymers for gas separation membranes. *Polymer Chemistry* 2010, 1 (1), 63–68.
- Buettner, A.; Schieberle, P. Evaluation of key aroma compounds in hand-squeezed grapefruit juice (*Citrus paradisi* Macfayden) by quantitation and flavor reconstitution experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001, 49 (3), 1358–1363.
- Caner, C.; Hernandez, R. J.; Pascall, M.; Balasubramaniam, V. M.; Harte, B. R. The effect of high-pressure food processing on the sorption behaviour of selected packaging materials. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 2004, 17 (3), 139–153.
- Capone, D. L.; van Leeuwen, K.; Taylor, D. K.; Jeffery, D. W.; Pardon, K. H.; Else, G. M.; Sefton, M. A. Evolution and occurrence of 1, 8-cineole (Eucalyptol) in Australian wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011, 59 (3), 953–959.
- Casabianca, H.; Graff, J.-B. Enantiomeric and isotopic analysis of flavour compounds of some raspberry cultivars. *Journal of Chromatography A* 1994, 684 (2), 360–365.
- Casabianca, H.; Graff, J.-B.; Jame, P.; Perrucchiotti, C.; Chastrette, M. Application of hyphenated techniques to the chromatographic authentication of flavors in food products and perfumes. *Journal of High Resolution Chromatography* 1995, 18 (5), 279–285.
- Cavalli, J.-F.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L.; Loiseau, A.-M. Comparison of static headspace, headspace solid phase microextraction, headspace sorptive extraction, and direct thermal desorption techniques on chemical composition of French olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51 (26), 7709–7716.
- Caven-Quantrill, D. J.; Buglass, A. J. Comparison of micro-scale simultaneous distillation–extraction and stir bar sorptive extraction for the determination of volatile organic constituents of grape juice. *Journal of Chromatography A* 2006, 1117 (2), 121–131.
- Chambers, E.; Koppel, K. Associations of volatile compounds with sensory aroma and flavor: The complex nature of flavor. *Molecules* 2013, 18 (5), 4887–4905.
- Chambers, P. J.; Pretorius, I. S. Fermenting knowledge: the history of winemaking, science and yeast research. *EMBO reports* 2010, 11 (12), 914–920.
- Changani, S. D.; Belmar-Beiny, M. T.; Fryer, P. J. Engineering and chemical factors associated with fouling and cleaning in milk processing. *Experimental Thermal and Fluid Science* 1997, 14 (4), 392–406.
- Charara, Z. N.; Williams, J. W.; Schmidt, R. H.; Marshall. Orange flavor absorption into various polymeric packaging materials. *Journal of Food Science* 1992, 57 (4), 963–968.
- Chisholm, M. G.; Guiher, L. A.; Zaczek, S. M. Aroma characteristics of aged Vidal blanc wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 1995, 46 (1), 56–62.
- Cravero, M. C.; Bonello, F.; Pazo Alvarez, Maria del Carmen; Tsolakis, C.; Borsa, D. The sensory evaluation of 2, 4, 6-trichloroanisole in wines. *Journal of the Institute of Brewing* 2015, 121 (3), 411–417.
- Czerny, M.; Christlbauer, M.; Christlbauer, M.; Fischer, A.; Granvogl, M.; Hammer, M. et al. Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology* 2008, 228 (2), 265–273.
- Deutsches Weininstitut. Deutscher Wein Statistik ,21/'22; Deutsches Weininstitut GmbH, Bodenheim, 2022.
- Doty, R. L.; Cameron, E. L. Sex differences and reproductive hormone influences on human odor perception. *Physiology & Behavior* 2009, 97 (2), 213–228.

- Dunkel, A.; Steinhaus, M.; Kotthoff, M.; Nowak, B.; Krautwurst, D.; Schieberle, P.; Hofmann, T. Nature's Chemical Signatures in Human Olfaction: A Foodborne Perspective for Future Biotechnology. *Angewandte Chemie International Edition* 2014, 53 (28), 1433–7851.
- DVAI. Spuren von Aromastoffen in Lebensmitteln und Aromen; Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V., Berlin, 2016.
- Eckstein, J. Durch geeignete Werkstoffauswahl Aromatransfer verhindern. *Pharma+Food* 2011, 9 (9), 41–43.
- Elss, S.; Kleinhenz, S.; Schreier, P. Odor and taste thresholds of potential carry-over/off-flavor compounds in orange and apple juice. *LWT - Food Science and Technology* 2007, 40 (10), 1826–1831.
- Engelhard, W. Sekt Weiter unter Druck. *WEIN+MARKT* 2015 (10).
- Englezos, V.; Rantsiou, K.; Cravero, F.; Torchio, F.; Giacosa, S.; Segade, S. R. et al. Minimizing the environmental impact of cleaning in winemaking industry by using ozone for cleaning-in-place (CIP) of wine bottling machine. *Journal of Cleaner Production* 2019, 233, 582–589.
- Escudero, A.; Gogorza, B.; Melus, M. A.; Ortín, N.; Cacho, J. F.; Ferreira, V. Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, 52 (11), 3516–3524.
- EU Parlament. Verordnung (EG) Nr. 1334/2008, über Aromen und bestimmte Lebensmittelzutaten mit Aromaeigenschaften zur Verwendung in und auf Lebensmitteln sowie zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 1601/91 des Rates, der Verordnungen (EG) Nr. 2232/96 und (EG) Nr. 110/2008 und der Richtlinie 2000/13/EG. 2008; Amtsblatt der Europäischen Union.
- EU Parlament. Verordnung (EU) Nr. 606/2009, mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 479/2008 des Rates hinsichtlich der Weinbauerzeugniskategorien, der önologischen Verfahren und der diesbezüglichen Einschränkungen. 2009; Amtsblatt der Europäischen Union.
- EU Parlament. Verordnung (EU) Nr. 251/2014, über die Begriffsbestimmung, Beschreibung, Aufmachung und Etikettierung von aromatisierten Weinerzeugnissen sowie den Schutz geografischer Angaben für aromatisierte Weinerzeugnisse und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 1601/91 des Rates. 2014; Amtsblatt der Europäischen Union.
- Ezquerro, Ó.; Pons, B.; Tena, M. T. Multiple headspace solid-phase microextraction for the quantitative determination of volatile organic compounds in multilayer packagings. *Journal of Chromatography A* 2003, 999 (1-2), 155–164.
- Feigenbaum, A.; Lebossé, R.; Ducruet, V. Polypropylene as active packaging material for aroma sorption from model orange juice. In *Developments in Food Science, Bd. 40*; Elsevier, 1998, 743–751.
- Ferreira, V. Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In *Managing wine quality*; Elsevier, 2010, 3–28.
- Ferreira, V.; La Fuente, A. de; Sáenz-Navajas, M. P. Wine aroma vectors and sensory attributes. In *Managing Wine Quality*; Elsevier, 2022, 3–39.
- Ferreira, V.; López, R.; Cacho, J. F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000, 80 (11), 1659–1667.
- Ferreira, V.; Ortín, N.; Escudero, A.; López, R.; Cacho, J. F. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002, 50 (14), 4048–4054.
- Fiorini, D.; Pacetti, D.; Gabbianelli, R.; Gabrielli, S.; Ballini, R. A salting out system for improving the efficiency of the headspace solid-phase microextraction of short and medium chain free fatty acids. *Journal of Chromatography A* 2015, 1409, 282–287.
- Fischer, C.; Fischer, U.; Jakob, L. Impact of matrix variables ethanol, sugar, glycerol, pH, and temperature on the partition coefficients of aroma compounds in wine and their kinetics of volatilization. *Proceedings for the 4th International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology, Rochester, NY* 1996, 1996.

- Francis, I. L.; Newton, J. L. Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2005, 11 (2), 114–126.
- Freund, M. Aromamigration aus Dichtungen Verarbeitung von Weinmischgetränken im Fokus. *Das deutsche Weinmagazin* 2022 (3), 27.
- Freund, M.; Seckler, J. Aromaverschleppung im Wein. *Das deutsche Weinmagazin* 2016 (25), 25–29.
- Fukamachi, M.; Matsui, T.; Hwang, Y.-H.; Shimoda, M.; Osajima, Y. Sorption behavior of flavor compounds into packaging films from ethanol solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1996, 44 (9), 2810–2813.
- Gan, W.; Ge, Y.; Zhong, Y.; Yang, X. The reactions of chlorine dioxide with inorganic and organic compounds in water treatment: kinetics and mechanisms. *Environmental Science: Water Research & Technology* 2020, 6 (9), 2287–2312.
- Genovese, A.; Gambuti, A.; Piombino, P.; Moio, L. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry* 2007, 103 (4), 1228–1236.
- Ghidossi, R.; Poupot, C.; Thibon, C.; Pons, A.; Darriet, P.; Riquier, L. et al. The influence of packaging on wine conservation. *Food Control* 2012, 23 (2), 302–311.
- Gómez-Bombarelli, R.; Calle, E.; Casado, J. Mechanisms of lactone hydrolysis in acidic conditions. *The Journal of organic chemistry* 2013a, 78 (14), 6880–6889.
- Gómez-Bombarelli, R.; Calle, E.; Casado, J. Mechanisms of lactone hydrolysis in neutral and alkaline conditions. *The Journal of organic chemistry* 2013b, 78 (14), 6868–6879.
- Goodner, K. L. Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5, and DB-Wax for flavor and fragrance compounds. *LWT-Food Science and Technology* 2008, 41 (6), 951–958.
- Gottmann, J.; Vestner, J.; Fischer, U. Sensory significance of seven marker compounds from aromatized wines to assess potentially fraudulent aroma carryover. [Manuscript submitted for publication] 2022a.
- Gottmann, J.; Vestner, J.; Müller, D.; Schuster, J.; Fischer, U. Uptake and Release of Aroma Compounds by an Ethylene Propylene Diene Monomer Rubber Sealing Polymer: Investigating Aroma Carryover in a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2021, 69 (38), 11382–11394.
- Gottmann, J.; Vestner, J.; Müller, D.; Schuster, J.; Fischer, U. Impact of Polymer Material and Cleaning Parameters in Mitigation of an Unavoidable Aroma Carryover in Bottling of Aromatized and Regular Wines. [Manuscript submitted for publication] 2022b.
- Gottmann, J.; Vestner, J.; Müller, D.; Schuster, J.; Fischer, U. Investigation of the aroma carryover risk in an enlarged test rig and the real bottling of aromatized and subsequent regular wines. [Manuscript in preparation for publication] 2022c.
- Granvogl, M.; Schieberle, P. The sensomics approach: A useful tool to unravel the genuine aroma blueprint of foods and aroma changes during food processing. *Characterization of Odorant Patterns by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography* 2022, 96, 41.
- Grosch, W. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science & Technology* 1993, 4 (3), 68–73.
- Guichard, E. Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International* 2002, 18 (1), 49–70.
- Guth, H. Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997a, 45 (8), 3022–3026.
- Guth, H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997b, 45 (8), 3027–3032.
- Herve, E.; Price, S.; Burns, G. Eucalyptol in wines showing a “eucalyptus” aroma. *Proc. VIIeme Symp. Internat. d’Oenologie, Actualites Oenologiques* 2003.
- Hoenicke, K.; Simat, T. J.; Steinhart, H.; Christoph, N.; Geßner, M.; Köhler, H.-J. ‘Untypical aging off-flavor’ in wine: formation of 2-aminoacetophenone and evaluation of its influencing factors. *Analytica Chimica Acta* 2002, 458 (1), 29–37.

- Hoffmann, A.; Sponholz, W. R. Direct Thermal Analysis of Solids-A Fast Method for the Determination of Halogenated Phenols and Anisols in Cork. *GERSTEL Application Note* 1994, 22–23.
- Hopfer, H.; Buffon, P. A.; Ebeler, S. E.; Heymann, H. The combined effects of storage temperature and packaging on the sensory, chemical, and physical properties of a Cabernet Sauvignon wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013, 61 (13), 3320–3334.
- Hopfer, H.; Ebeler, S. E.; Heymann, H. The combined effects of storage temperature and packaging type on the sensory and chemical properties of Chardonnay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012, 60 (43), 10743–10754.
- Hotchkiss, J. H. Food-packaging interactions influencing quality and safety. *Food Additives & Contaminants* 1997, 14 (6-7), 601–607.
- Hwang, Y.-H.; Matsui, T.; Hanada, T.; Shimoda, M.; Matsumoto, K.; Osajima, Y. Desorption behavior of sorbed flavor compounds from packaging films with ethanol solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, 48 (9), 4310–4313.
- Imai, T.; Harte, B. R.; Giaicin, JR. Partition distribution of aroma volatiles from orange juice into selected polymeric sealant films. *Journal of Food Science* 1990, 55 (1), 158–161.
- International Organization for Standardization. ISO 13301:2018, Sensory analysis - Methodology - General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure. 2018.
- Jacobson, J. L. Introduction to wine laboratory practices and procedures; Springer Science & Business Media, 2006.
- Jaeger, S. R.; Reinbach, H. C.; Roigard, C. M.; McRae, J. F.; Pineau, B.; Chheang, S. L. et al. Sensory characterisation of food and beverage stimuli containing β -ionone and differences between individuals by genotype for rs6591536. *Food Research International* 2014, 62, 205–214.
- Jarauta, I.; Ferreira, V.; Cacho, J. F. Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments in Food Science* 2006, 43, 205–208.
- Johnsen, L. G.; Skou, P. B.; Khakimov, B.; Bro, R. Gas chromatography – mass spectrometry data processing made easy. *Journal of Chromatography A* 2017, 1503, 57–64.
- Kalogiouri, N. P.; Alygizakis, N. A.; Aalizadeh, R.; Thomaidis, N. S. Olive oil authenticity studies by target and nontarget LC–QTOF-MS combined with advanced chemometric techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2016, 408 (28), 7955–7970.
- Karbowiak, T.; Mansfield, A. K.; Barrera-García, V. D.; Chassagne, D. Sorption and diffusion properties of volatile phenols into cork. *Food Chemistry* 2010, 122 (4), 1089–1094.
- Keith, E. S.; Powers, J. J. Determination of flavor threshold levels and sub-threshold, additive, and concentration effects. *Journal of Food Science* 1968, 33 (2), 213–218.
- Kim, J.; Huang, C.-H. Reactivity of peracetic acid with organic compounds: A critical review. *ACS ES&T Water* 2020, 1 (1), 15–33.
- Köhr, T. Hochkonjunktur für Kreativwerkstätten. *WEIN+MARKT* 2015 (6).
- Komes, D.; Ulrich, D.; Lovric, T. Characterization of odor-active compounds in Croatian Rhine Riesling wine, subregion Zagorje. *European Food Research and Technology* 2006, 222 (1), 1–7.
- Kovats, v. E. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. *Helvetica Chimica Acta* 1958, 41 (7), 1915–1932.
- Laing, D. G. Perceptual odour interactions and objective mixture analysis. *Food Quality and Preference* 1994, 5 (1-2), 75–80.
- Laing, D. G.; Francis, G. W. The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiology & Behavior* 1989, 46 (5), 809–814.
- Lampe, U. Untersuchungen zur Authentizität von Weinaroma am Beispiel der γ -Lactone. *38th World Congress of Vine and Wine (Part 2)* 2015, 5, 6005.
- Langen, J.; Wang, C.-Y.; Slabizki, P.; Wall, K.; Schmarr, H.-G. Quantitative analysis of γ - and δ -

- lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2013, 27 (24), 2751–2759.
- Langen, J.; Wegmann-Herr, P.; Schmarr, H.-G. Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2016, 408 (23), 6483–6496.
- Lawless, H. T.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food*; Springer, New York, 2010.
- Lebossé, R.; Ducruet, V.; Feigenbaum, A. Interactions between reactive aroma compounds from model citrus juice with polypropylene packaging film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997, 45 (8), 2836–2842.
- Lehmann, D.; Dietrich, A.; Schmidt, S.; Dietrich, H.; Mosandl, A. Stereodifferenzierung von $\gamma(\delta)$ -Lactonen und (E)- α -Ionon verschiedener Früchte und ihrer Verarbeitungsprodukte. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1993, 196 (3), 207–213.
- Lerch, O. Rapid Automated Screening of Extractable Compounds in Materials for Food Packaging, Medical or Technical Purposes. *GERSTEL Application Note* 2012 (02).
- Lesschaeve, I. Sensory evaluation of wine and commercial realities: Review of current practices and perspectives. *American Journal of Enology and Viticulture* 2007, 58 (2), 252–258.
- Letinski, J.; Halek, G. W. Interactions of citrus flavor compounds with polypropylene films of varying crystallinities. *Journal of Food Science* 1992, 57 (2), 481–484.
- Leufvén, A.; Stöllman, U. Polymer films as aroma barriers at different temperatures. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1992, 194 (4), 355–359.
- Liang, Z.; Fang, Z.; Pai, A.; Luo, J.; Gan, R.; Gao, Y. et al. Glycosidically bound aroma precursors in fruits: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2022, 62 (1), 215–243.
- Licciardello, F.; Del Nobile, M. A.; Spagna, G.; Muratore, G. Scalping of ethyloctanoate and linalool from a model wine into plastic films. *LWT - Food Science and Technology* 2009, 42 (6), 1065–1069.
- LUA. LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung aus den Jahren 2012 bis 2022. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz* 2012–2022.
- LUA. LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung aus dem Jahr 2013. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz* 2014.
- LUA. LUA-Bilanz Weinüberwachung Ergebnisse von Kontrollen und Untersuchungen der rheinland-pfälzischen Weinüberwachung 2020. *Landesuntersuchungsamt Rheinlandpfalz* 2021.
- Maeda, Y.; Paul. Effect of antiplasticization on selectivity and productivity of gas separation membranes. *Journal of Membrane Science* 1987, 30 (1), 1–9.
- Mannheim, C. H.; Miltz, J.; Letzter, A. Interaction between polyethylene laminated cartons and aseptically packed citrus juices. *Journal of Food Science* 1987, 52 (3), 737–740.
- Martineau, B.; Acree, T. E.; Henick-Kling, T. Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International* 1995, 28 (2), 139–143.
- Mazzoleni, V.; Maggi, L. Effect of wine style on the perception of 2, 4, 6-trichloroanisole, a compound related to cork taint in wine. *Food Research International* 2007, 40 (6), 694–699.
- Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Gillies, B. T. *Sensory Evaluation Techniques: Volume 2*, fifth edition; CRC Press, Boca Raton, 2015.
- Mentana, A.; Pati, S.; La Notte, E.; Del Nobile, M. A. Chemical changes in Apulia table wines as affected by plastic packages. *LWT - Food Science and Technology* 2009, 42 (8), 1360–1366.
- Miller, K. S.; Krochta, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science & Technology* 1997, 8 (7), 228–237.
- Moerman, F.; Rizoulières, P.; Majoor, F. A. Cleaning in place (CIP) in food processing. In *Hygiene in*

-
- food processing*; Elsevier, 2014, 305–383.
- Mosandl, A. Authenticity assessment: a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *Journal of Chromatographic Science* 2004, 42 (8), 440–449.
- Nielsen, T. J. Limonene and myrcene sorption into refillable polyethylene terephthalate bottles, and washing effects on removal of sorbed compounds. *Journal of Food Science* 1994, 59 (1), 227–230.
- Nielsen, T. J.; Damant, A. P.; Castle, L. Validation studies of a quick test for predicting the sorption and washing properties of refillable plastic bottles. *Food Additives & Contaminants* 1997, 14 (6-7), 685–693.
- Nielsen, T. J.; Jägerstad, I. M.; Oeste, R. E.; Sivik, B. T. G. Supercritical fluid extraction coupled with gas chromatography for the analysis of aroma compounds absorbed by low-density polyethylene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1991, 39 (7), 1234–1237.
- Nielsen, T. J.; Jägerstad, I. M.; ÖSTE, R. E.; Wesséln, B. O. Comparative absorption of low molecular aroma compounds into commonly used food packaging polymer films. *Journal of Food Science* 1992, 57 (2), 490–492.
- Nishijima, W.; Okuda, T.; Nakai, S.; Okada, M. A green procedure using ozone for Cleaning-in-Place in the beverage industry. *Chemosphere* 2014, 105, 106–111.
- Nitz, S.; Kollmannsberger, H.; Weinreich, B.; Drawert, F. Enantiomeric distribution and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio determination of γ -lactones: appropriate methods for the differentiation between natural and non-natural flavours? *Journal of Chromatography A* 1991, 557, 187–197.
- Ochiai, N.; Sasamoto, K.; Kanda, H.; Pfannkoch, E. A. Sequential stir bar sorptive extraction for uniform enrichment of trace amounts of organic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A* 2008, 1200 (1), 72–79.
- OIV, 2022. Personal communication with Members of the International Organisation of Vine and Wine. 2022. Internal Documents.
- Pagès, J.; Cadoret, M.; Lê, S. The sorted napping: A new holistic approach in sensory evaluation. *Journal of sensory studies* 2010, 25 (5), 637–658.
- Pandiselvam, R.; Subhashini, S.; Banuu Priya, E. P.; Kothakota, A.; Ramesh, S. V.; Shahir, S. Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering* 2019, 41 (1), 17–34.
- Pereira, L.; Gomes, S.; Barrias, S.; Gomes, E. P.; Baleiras-Couto, M.; Fernandes, J. R.; Martins-Lopes, P. From the Field to the Bottle—An Integrated Strategy for Wine Authenticity. *Beverages* 2018, 4 (4), 71.
- Pérez-Prior, M. T.; Manso, J. A.; del Pilar García-Santos, M.; Calle, E.; Casado, J. Reactivity of lactones and GHB formation. *The Journal of organic chemistry* 2005, 70 (2), 420–426.
- Perry, D. M.; Hayes, J. E. Effects of matrix composition on detection threshold estimates for methyl anthranilate and 2-aminoacetophenone. *Foods* 2016, 5 (2), 35.
- Petersen, M. A.; Bro, R. PARADISE—a ground-breaking tool to treat complex GC-MS datasets. In *Flavour Science: Proceedings of the XV Weurman Flavour Research Symposium*; Siegmund, B., Leitner, E., Eds.; Technischen Universität Graz: Graz, 2018; Vol. 350, 421–426.
- Pettigrew, L.; Blomenhofer, V.; Hubert, S.; Groß, F.; Delgado, A. Optimisation of water usage in a brewery clean-in-place system using reference nets. *Journal of Cleaner Production* 2015, 87, 583–593.
- Peyches-Bach, A.; Dombre, C.; Moutounet, M.; Peyron, S.; Chalier, P. Effect of ethanol on the sorption of four targeted wine volatile compounds in a polyethylene film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012, 60 (27), 6772–6781.
- Pfannkoch, E. A.; Whitecavage, J. A. Comparison of the Sensitivity of Static Headspace GC, Solid Phase Microextraction, and Direct Thermal Extraction for Analysis of Volatiles in Solid Matrices. *GERSTEL Application Note* 2000 (6).
- Pickering, G. J.; Karthik, A.; Inglis, D.; Sears, M.; Ker, K. Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science* 2007,
-

72 (7), S468-S472.

- Pineau, B.; Barbe, J.-C.; van Leeuwen, C.; Dubourdieu, D. Which impact for β -damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55 (10), 4103–4108.
- Pollnitz, A. P.; Capone, D. L.; Campbell, J.; Franke, S.; McLean, H. J.; Skouroumounis, G. K.; Sefton, M. A. Some applications of analyses of volatile flavour compounds to wine. In *Conference proceedings - 11th australian wine industry technical conference*; Blair, R. J., Eds.; Australian Wine Industry Technical Conference Inc.: Urrbrae, 2001, 162–164.
- Prescott, J.; Norris, L.; Kunst, M.; Kim, S. Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. *Food Quality and Preference* 2005, 16 (4), 345–349.
- Rappoport, N.; Shamir, R. Multi-omic and multi-view clustering algorithms: review and cancer benchmark. *Nucleic Acids Research* 2018, 46 (20), 10546–10562.
- Ravid, U.; Elkabetz, M.; Zamir, C.; Cohen, K.; Larkov, O.; Aly, R. Authenticity assessment of natural fruit flavour compounds in foods and beverages by auto-HS–SPME stereoselective GC–MS. *Flavour and Fragrance Journal* 2010, 25 (1), 20–27.
- Reinbach, H. C.; Giacalone, D.; Ribeiro, L. M.; Bredie, W. L. P.; Frøst, M. B. Comparison of three sensory profiling methods based on consumer perception: CATA, CATA with intensity and Mapping®. *Food Quality and Preference* 2014, 32, 160–166.
- Revi, M.; Badeka, A.; Kontakos, S.; Kontominas, M. G. Effect of packaging material on enological parameters and volatile compounds of dry white wine. *Food Chemistry* 2014, 152, 331–339.
- Rincon-Delgado, M. I.; Lopez-Hernandez, A.; Rankin, S. A. Reactivity of diacetyl with cleaning and sanitizing agents. *Journal of dairy science* 2013, 96 (1), 105–111.
- Rinnbauer, M. Technical Elastomers - The basis of high-tech sealing and vibration control technology solutions. *Moderne Industrie* 2007.
- Rothe, M.; Wölm, G.; Tunger, L.; Siebert, H.-J. Schwellenkonzentrationen von Aromastoffen und ihre Nutzung zur Auswertung von Aromaanalysen. *Food/Nahrung* 1972, 16 (5), 483–495.
- Röthemeyer, F.; Sommer, F. *Kautschuktechnologie: Werkstoffe-Verarbeitung-Produkte*; Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, 2013.
- Rychlik, M.; Asam, S. Stable isotope dilution assays in mycotoxin analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2008, 390 (2), 617–628.
- Rychlik, M.; Asam, S. Stable isotope dilution assays for the quantification of organic trace components in the analysis of food. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* 2009, 21 (5), 470–482.
- Safa, H. L.; Bourelle, F. Sorption–desorption of aromas on multi-use PET bottles. A test procedure. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 1999, 12 (1), 37–44.
- Sajilata, M. G.; Savitha, K.; Singhal, R. S.; Kanetkar, V. R. Scalping of flavors in packaged foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2007, 6 (1), 17–35.
- Sangster, J. M. *Octanol-water partition coefficients: fundamentals and physical chemistry*; John Wiley & Sons, 1997.
- Schieberle, P.; Grosch, W. Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crusts using a stable isotope dilution assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1987, 35 (2), 252–257.
- Schieberle, P.; Hofmann, T. Evaluation of the Character Impact Odorants in Fresh Strawberry Juice by Quantitative Measurements and Sensory Studies on Model Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997, 45 (1), 227–232.
- Schumacher, K.; Asche, S.; Heil, M.; Mittelstädt, F.; Dietrich, H.; Mosandl, A. Methyl-branched flavor compounds in fresh and processed apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, 46 (11), 4496–4500.
- Schwinn, M.; Durner, D.; Wacker, M.; Delgado, A.; Fischer, U. Impact of fermentation temperature on required heat dissipation, growth and viability of yeast, on sensory characteristics and on the formation of volatiles in Riesling. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2019, 25 (2),

173–184.

- Scott, W. C.; Veldhuis, M. K. Rapid estimation of recoverable oil in citrus juices by bromate titration. *Journal of the Association of Official analytical Chemists* 1966, 49 (3), 628–633.
- Seiberling, D. A. Clean-in-Place for biopharmaceutical processes. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences* 2008, 173, 53–92.
- Seiffert, Sebastian; Kummerlöwe, Claudia; Vennemann, Norbert (Hg.), 2020. Lechner, Gehrke, Nordmeier-Makromolekulare Chemie. Ein Lehrbuch für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler und Verfahrenstechniker; Springer.
- Semmelroch, P.; Laskawy, G.; Blank, I.; Grosch, W. Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. *Flavour and Fragrance Journal* 1995, 10 (1), 1–7.
- Sewenig, S.; Bullinger, D.; Hener, U.; Mosandl, A. Comprehensive authentication of (E)- α (β)-ionone from raspberries, using constant flow MDGC-C/P-IRMS and enantio-MDGC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53 (4), 838–844.
- Shojaei, Z. A.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J. Estimation of the oil water partition coefficient, experimental and theoretical approaches related to volatile behaviour in milk. *Food Chemistry* 2007, 103 (3), 689–694.
- Siebert, T. E.; Barker, A.; Pearson, W.; Barter, S. R.; Barros Lopes, M. A. de; Darriet, P. et al. Volatile compounds related to 'stone fruit'aroma attributes in Viognier and Chardonnay Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2018, 66 (11), 2838–2850.
- Sinner, H. Über das Waschen mit Haushaltwaschmaschinen: in welchem Umfange erleichtern Haushaltwaschmaschinen und-geräte das Wäschehaben im Haushalt?; Haus+ Heim-Verlag, 1960.
- Sirén, K.; Fischer, U.; Vestner, J. Automated supervised learning pipeline for non-targeted GC-MS data analysis. *Analytica Chimica Acta* 2019, 1, 100005.
- Sonntag, C. von; Gunten, U. von. Chemistry of ozone in water and wastewater treatment; IWA publishing, 2012.
- Stadler, E.; Fischer, U. Sanitization of Oak Barrels for Wine—A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2020, 68 (19), 5283–5295.
- Stadler, E.; Schmarr, H.-G.; Fischer, U. Influence of physical and chemical barrel sanitization treatments on the volatile composition of toasted oak wood. *European Food Research and Technology* 2020, 246 (3), 497–511.
- Stannett, V. Simple Gases. In J. Crank und G. S. Park (Hg.) *Diffusion in polymers*; Academic Press: London, 1968.
- Sweeley, C. C.; Elliott, W. H.; Fries, I.; Ryhage, R. Mass spectrometric determination of unresolved components in gas chromatographic effluents. *Analytical chemistry* 1966, 38 (11), 1549–1553.
- Tempere, S.; Cuzange, E.; Malak, J.; Bougeant, J. C.; Revel, G. de; Sicard, G. The training level of experts influences their detection thresholds for key wine compounds. *Chemosensory perception* 2011, 4 (3), 99–115.
- Tominaga, T.; Baltenweck-Guyot, R.; Des Gachons, C. P.; Dubourdieu, D. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture* 2000, 51 (2), 178–181.
- Umwelt Bundesamt. Verwertung und Entsorgung ausgewählter Abfallarten -Verpackungsabfälle, 2022. Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/daten/ressourcen-abfall/verwertung-entsorgung-ausgewaehlter-abfallarten/verpackungsabfaelle#verpackungen-uberall>, zuletzt geprüft am 26.04.2022.
- van der Merwe, C. A.; van Wyk, C. J. The contribution of some fermentation products to the odor of dry white wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 1981, 32 (1), 41–46.
- van der Wel, G. K.; Adan, O. Moisture in organic coatings — a review. *Progress in Organic Coatings* 1999, 37 (1), 1–14.
- van Gemert, L. J. Flavour thresholds: Compilations of flavour threshold values in water and other

-
- media, second enlarged and revised edition; Oliemans Punter, Utrecht, 2011.
- van Willige, R. W. G.; Linssen, J. P. H.; Voragen, A. G. J. Influence of food matrix on absorption of flavour compounds by linear low-density polyethylene: oil and real food products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000a, 80 (12), 1790–1797.
- van Willige, R. W. G.; Linssen, J. P. H.; Voragen, A. G. J. Influence of food matrix on absorption of flavour compounds by linear low-density polyethylene: proteins and carbohydrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000b, 80 (12), 1779–1789.
- van Willige, R. W. G.; Schoolmeester, D.; van Ooij, A.; Linssen, J. P. H.; Voragen, A. Influence of storage time and temperature on absorption of flavor compounds from solutions by plastic packaging materials. *Journal of Food Science* 2002, 67 (6), 2023–2031.
- Varriano, J. Wine: A cultural history; Reaktion Books, 2011.
- Verband der AutomobilindustrieVDA 278. Thermodesorptionsanalyse organischer Emissionen zur Charakterisierung nichtmetallischer KFZ-Werkstoffe. 2016.
- Vestner, J.; Revel, G. de; Krieger-Weber, S.; Rauhut, D.; Du Toit, M.; Villiers, A. de. Toward automated chromatographic fingerprinting: A non-alignment approach to gas chromatography mass spectrometry data. *Analytica Chimica Acta* 2016, 911, 42–58.
- Vetter, E. Aromamigration in elastomere Werkstoffe. *DMW - Die Milchwirtschaft* 2012, 3 (10), 380–386.
- Vetter, E., 2021. Persönliche Kommunikation mit Elke Vetter, Dipl.-Ing. Weinbau und Getränketechnologie; Mitarbeiter KHS GmbH - Abteilung Forschung und Entwicklung. 2021. Internal Documents.
- Wagner, J.; Castle, L.; Oldring, P. K. T.; Moschakis, T.; Wedzicha, B. L. Factors affecting migration kinetics from a generic epoxy-phenolic food can coating system. *Food Research International* 2018, 106, 183–192.
- Wakisaka, A.; Komatsu, S.; Usui, Y. Solute-solvent and solvent-solvent interactions evaluated through clusters isolated from solutions: Preferential solvation in water-alcohol mixtures. *Journal of Molecular Liquids* 2001, 90 (1-3), 175–184.
- Wakisaka, A.; Matsuura, K. Microheterogeneity of ethanol–water binary mixtures observed at the cluster level. *Journal of Molecular Liquids* 2006, 129 (1-2), 25–32.
- Waterhouse, A. L.; Sacks, G. L.; Jeffery, D. W. Understanding wine chemistry, 1. Edition; John Wiley & Sons, 2016.
- Wegler, B. A.; Gruber, B.; Teehan, P.; Jaramillo, R.; Dorman, F. L. Inlets and sampling. In *Separation science and technology*, Bd. 12; Elsevier, 2020, 141–203.
- Werkhoff, P.; Bretschneider, W.; Güntert, M.; Hopp, R.; Surburg, H. Chiroselective analysis in flavor and essential oil chemistry Part B. Direct enantiomer resolution of *trans*- α -ionone and *trans*- α -damascone by inclusion gas chromatography. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1991, 192 (2), 111–115.
- Werkhoff, P.; Güntert, M.; Krammer, G.; Sommer, H.; Kaulen, J. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, 46 (3), 1076–1093.
- Wietstock, P. C.; Glatfelder, R.; Garbe, L.-A.; Methner, F.-J. Characterization of the migration of hop volatiles into different crown cork liner polymers and can coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2016, 64 (13), 2737–2745.
- Wooten, K. J.; Smith, P. N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. *Chemosphere* 2013, 93 (10), 2245–2253.
- Yamamoto, T.; Matsuda, H.; Utsumi, Y.; Hagiwara, T.; Kanisawa, T. Synthesis and odor of optically active rose oxide. *Tetrahedron Letters* 2002a, 43 (50), 9077–9080.
- Yamamoto, T.; Ogura, M.; Amano, A.; Adachi, K.; Hagiwara, T.; Kanisawa, T. Synthesis and odor of optically active 2-*n*-hexyl- and 2-*n*-heptylcyclopentanone and the corresponding δ -lactones. *Tetrahedron Letters* 2002b, 43 (50), 9081–9084.

-
- Yang, C.; Shen, S.-L.; Hou, D.-W.; Liao, S.-M.; Yuan, D.-J. Material properties of the seal gasket for shield tunnels: A review. *Construction and Building Materials* 2018, *191*, 877–890.
- Yoder, W. M.; Currilin, S. W.; Larue, A.; Fernandez, K. M.; King, D.; Smith, D. W. Interaction of guaiacol and methyl salicylate in binary mixture significantly lowers perceptual threshold in human observers. *Journal of sensory studies* 2012, *27* (3), 161–167.
- Yunyun Nie, E. K.-B. Using Three Types of Twister Phases for Stir Bar Sorptive Extraction of Whisky, Wine and Fruit Juice. *GERSTEL Application Note* 2011 (03), 1–14.
- Zabot, G. L. Decaffeination using supercritical carbon dioxide. In *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*; Elsevier, 2020, 255–278.
- Ziegler, M.; Gök, R.; Bechtloff, P.; Winterhalter, P.; Schmarr, H.-G.; Fischer, U. Impact of matrix variables and expertise of panelists on sensory thresholds of 1, 1, 6-trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene known as petrol off-flavor compound in Riesling wines. *Food Quality and Preference* 2019, *78*, 103735.
- Zimmermann, L.; Bartosova, Z.; Braun, K.; Oehlmann, J.; Völker, C.; Wagner, M. Plastic products leach chemicals that induce in vitro toxicity under realistic use conditions. *Environmental Science & Technology* 2021, *55* (17), 11814–11823.
- Zougagh, M.; Valcárcel, M.; Rios, A. Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness. *Trends in Analytical Chemistry* 2004, *23* (5), 399–405.

10 Anhang

10.1 *Non-targeted* HS-SPME-GC-MS Methode

Proben der einzelnen Glühweine wurden direkt nach dem Öffnen der Flaschen entnommen, hierbei wurden 2 mal 50 mL in Glasfläschchen abgefüllt und bis zur Analyse bei -18 °C gelagert. 24 h vor der Analyse wurden die Proben aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht.

Jede Probe wurde in Doppelbestimmung vermessen, die Messreihenfolge wurde randomisiert. Proben wurden in Sequenzen mit einer maximalen Tray Standzeit von 10 h analysiert. Um äußere Störfaktoren zu eliminieren, wurde darauf geachtet, dass die Gesamtmesssequenz nicht unterbricht. Proben wurden in 20 mL Headspace Vials gefüllt. In jedes Vial wurden 20 µL Glühwein pipettiert und mit 9 mL gesättigter Salzlösung aufgefüllt, die Proben wurden erst auf dem Autosampler durchmischt. Die Stabilität des Messsystems wurde anhand eines *bag-in-box* Weines überprüft, diese Qualitätskontrolle wurde randomisiert alle 3 bis 6 Proben mitgeführt. Über die Messsequenz konnte keine signifikante Veränderung der Signalintensität des QC Weines aufgezeigt werden.

Tabelle 5: Geräte- und Analyseparameter der non-targeted HS-SPME-GC-MS-Analyse.

Autosampler	PAL RSI Autosampler (CTC Analytics AG),	
GC	Trace Ultra Gaschromatograph (ThermoFisher Scientific),	
SPME Faser	Mischfaser 50/30 µm	aus
	Divinylbol/Carboxen/Polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS)	
Faserkonditionierung	5 min 250 °C	
Äquilibrierung Zeit	HS-Vial 5 min bei 40 °C bei 500 rpm	
Faser Extraktionszeit	15 min bei 40 °C	
Injektion	splitlos, Desorptionstemperatur 240 °C (2 min)	
Säule	ZB-5ms, 30 m, 0,25 mm, 0,5µm (Phenomenex)	
Trägergas	Helium, constant flow, 1,2 mL/min	
Ofentemperatur	40 °C (2 min), 10 °C/min, 250 °C (5 min)	
Massenspektrometer	TSQ Quantum Massenspektrometer (ThermoFisher Scientific)	
Ionisierung	EI, positiver Modus, 70eV,	
Messmodus	full scan, Messbereich m/z 29–350	
Lösungsmittelausblendung	4 min	

Datenauswertung der 90 Probemessungen wurde multivariat durchgeführt. Hierfür wurden die Rohdaten einer PARAFAC2 Dekonvolution unterzogen. Rohdaten werden als .cdf Dateien in PARADISE geladen, Intervalle wurden manuell über das gesamte Chromatogramm ausgewählt. Die einzelnen Intervalle sollten nach Möglichkeit eine Basislinientrennung aufweisen. Jeder aufgenommene Peak wurde nach Möglichkeit in ein separates Intervall gesetzt. Modellieroptionen wurden auf maximal 7 Komponenten sowie auf 2000 Wiederholungen per Intervall gesetzt. Eine weitere Optimierung der Modelle erfolgt nachfolgender Priorisierung: hohes *model fitting*, Entfernung des Hintergrunds, niedrige verbleibende randomisierte Residuen, hohe *core consistency* und kein *overfitting* der Modelle.

Anschließend wurden die relativen Peakflächen der dekonvolierten Massenspektren berechnet.

10.2 Glühwein Screening anhand eines sorted Napping®

23 Glühweine wurden mittels sorted Napping® mit anschließender Attributs Beschreibung anhand eines trainierten sensorischen Panels betrachtet. Das Panel bestand aus 33 Verkostern, das sich aus 13 männlichen und 20 weiblichen Verkostern zusammensetzte. Präsentiert wurden ausschließlich rote Glühweine die aus dem Einzelhandel sowie von verschiedenen Winzern und Winzergenossenschaften bezogen wurden. Äußere Einflussfaktoren, wie beispielsweise Farbtintensität, wurden durch die Verwendung von schwarzen INOA Gläsern eliminiert. Den Verkostern wurden 23 Glühweine mit 2 Wiederholungen (Summe 25 Weine) in randomisierter Reihenfolge präsentiert.

Verkoster wurden gebeten die Glühweine anhand ihrer Ähnlichkeit bzw. ihres Unterschiedes auf dem Papier zu positionieren. Zur Orientierung wurde eine Liste mit folgenden Attributen bereitgestellt: fruchtig, Himbeere, Erdbeere, Brombeere, Pflaume, Sauerkirsche, künstliche Frucht, gekochte Frucht, Erdbeermarmelade, Pflaumenmus, getrocknete Frucht, Zitrusfrucht, Orangenschale, Kräuter, frisch vegetativ, gekocht vegetativ, würzig, Zimt, Nelke, Sternanis, Kardamom, Pfeffer, Vanille, nussig, karamellisiert, mikrobiologisch, alkoholisch. Verkoster wurden angehalten den zur Verfügung stehenden Raum maximal auszunutzen. Außerdem sollten die Panelisten die Weine in Gruppen einteilen, die Größe der Gruppe war hierbei nicht beschränkt. Die einzelnen Glühweine wurden vorab geruchlich auf Auffälligkeiten untersucht und keines der Produkte wurde als Ausreiser eingestuft.

Tabelle 6. Auflistung der untersuchten Glühweine

Abfüller/Weingut	Produkt
achtgrad plus	Glühwein rot
achtgrad plus	Glühwein weiß
ALDI nord	Glühwein rot
Felsengartenkellerei	Glühwein rot
IKEA	Glühwein rot
Katlenburger Kellerei	Glögg
Katlenburger Kellerei	Blabär
Katlenburger Kellerei	Harzer Beerenglühwein
Gerstacker Nürnberg	Glühwein rot
REWE	Glühwein rot
Rotkäppchen	Glühwein rot
Rotkäppchen	Glühwein weiß
Sektkellerei Heim	Glühwein rot
Sektkellerei Heim	Glühwein rot
Sektkellerei Heim	Glühwein rot
Sektkellerei Heim	Glühwein rot
Sektkellerei Heim	Glühwein rot
VinGlögg	Glühwein rot
Weingut altes Schlösschen	Glühwein rot
Weingut Andres	Glühwein rot
Weingut Anselmann	Glühwein rot
Weingut Broudy	Glühwein rot
Weingut Bus	Glühwein rot
Weingut Götz	Glühwein rot
Weingut Jens Christmann	Glühwein rot
Weingut Kaufmann	Glühwein rot
Weingut Klohr	Glühwein rot
Weingut Krebs	Glühwein rot
Weingut Merk	Glühwein rot
Weingut Nett	Glühwein rot
Weingut Raabe	Glühwein rot
Weingut Ruppertsberg	Glühwein rot
Weingut stefan kuntz	Glühwein rot
Weingut Vögeli	Glühwein rot
Weingut Weinbiet	Glühwein rot
Weingut Weinbiet	Glühwein weiß
Weingut Wilker	Glühwein rot
Weinkellerei Kunzmann	Glühwein rot
Winzergenossenschaft Kallstadt	Glühwein rot
Winzergenossenschaft Heilbronn	Glühwein rot
Winzergenossenschaft Heilbronn	Glühwein rot
Winzergenossenschaft Heilbronn	Glühwein weiß
Winzergenossenschaft Heilbronn	Glühwein weiß

Tabelle 7. Auflistung der untersuchten aromatisierten weinhaltigen Cocktails

Abfüller/Weingut	Produkt
achtgrad plus	Secco Marga
achtgrad plus	Secco Helga
achtgrad plus	Secco Hugo
Felsengartenkellerei	Frugecco Rot
Felsengartenkellerei	Frugecco Weiss
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Peach Bellini Pfirsich
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Blizzard Mango
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Fruta y pasion Mango-Maracuja
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Jive Pfirsich-Aprikose
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Fruta y pasion Himbeere-Maracuja
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Jive Himbeere
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Jive Holdunder
Peter Herres Wein- und Sektkellerei	Birne Zimt Fruchtwein
Katlenburger Kellerei	Fruchtweinschorle Apfel
Katlenburger Kellerei	Apfel-Cider
Katlenburger Kellerei	Fruchtwein Maracuja
Katlenburger Kellerei	Fruchtwein-bowle Pfirsich
Katlenburger Kellerei	Tropica Sex on the beach
Katlenburger Kellerei	Tropica Exotic
Katlenburger Kellerei	Valensina Secco Mango-Pink Guave
Katlenburger Kellerei	Mango Sparkling Wine
Katlenburger Kellerei	Fruchtwein Himbeer
Katlenburger Kellerei	Apfel-Zimt Fruchtglühwein
Katlenburger Kellerei	Met strong
Katlenburger Kellerei	Met dark
Katlenburger Kellerei	Met urtyp
Katlenburger Kellerei	Glögg
Katlenburger Kellerei	Blabär
Katlenburger Kellerei	Harzer Beerenglühwein
Rotkäppchen	Fruchtsecco Mango
Rotkäppchen	Fruchtsecco Himbeere
Rotkäppchen	Fruchtsecco Wintermoment Apfel & Zimt
Rotkäppchen	Fruchtsecco Wintermoment Preiselbeere & Nelke
Sektkellerei Heim	Secco wild berry
Sektkellerei Heim	Secco Cassis
Sektkellerei Heim	Secco Aronia
Sektkellerei Heim	Secco Lemon

Lebenslauf

Name Jörg Gottmann
Nationalität Deutsch
Geburtsort Achern

Berufliche Laufbahn

12/2018 – 04/2022 Wissenschaftlicher Mitarbeiter, DLR Rheinpfalz, Neustadt a.d. Weinstraße
Forschungsprojekt: Minimierung von Aromaverschleppungen bei der Abfüllung von Wein, Sekt und Fruchtweinen (AIF 20220)

06/2016 – 06/2017 Labor Hilfskraft, Abteilung Immuno Assays, MVZ Labor Volkmann, Karlsruhe

09/2015 – 12/2015 Praxissemester in der Abteilung der Produktentwicklung, Tropic Marin - Dr. Biener GmbH, Wartenberg

07/2014 – 09/2015 Wissenschaftliche Hilfskraft, Institut der Lebensmittelverfahrenstechnik, Karlsruher Institut für Technologie

Ausbildung

12/2018 – heute Promotion „Analytische und sensorische Charakterisierung der Aromaverschleppung bei der Abfüllung aromatisierter und regulärer Weine“ Technische Universität Kaiserslautern/Institut für Weinbau und Oenologie, DLR Rheinpfalz, Neustadt a.d. Weinstraße

04/2015 – 04/2018 Studium Lebensmittelchemie, Karlsruher Institut für Technologie
Abschluss: Master of Science, mit Vertiefung im Fach der chemischen Analytik

09/2011 – 03/2015 Studium Lebensmittelchemie, Karlsruher Institut für Technologie
Abschluss: Bachelor of Science