

# Untersuchungen zur Entstehung von 2-Acetylpyridin und des Mäuseltons in Wein

LENA KÜNZLER und MARTIN POUR NIKFARDJAM

Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau  
D-74189 Weinsberg, Traubenplatz 5  
E-Mail: Martin.PourN@lvwo.bwl.de

Neueste Untersuchungen legen nahe, dass die ursächliche Substanz für das Mäuseln im Wein, 2-Acetyltetrahydropyridin (ATHP), auf rein chemischem Weg aus Methylglyoxal und Prolin im Zuge der Maillard-Reaktion entstehen könnte. Als Endprodukt der oxidativen Bildung entsteht dabei 2-Acetylpyridin (AP). Insgesamt 127 Weine wurden mittels GC-MS auf ihren Gehalt an AP untersucht. In 119 Weinen konnte AP in Konzentrationen bis zu 530 µg/l nachgewiesen werden. In sensorischen Untersuchungen stellte sich heraus, dass AP zur Mäuselnote beiträgt, jedoch nur den Geschmack (kratzig, belegend), aber nicht den Geruch beeinflusst. In Modellversuchen konnten wir zeigen, dass eine Lagerung von Methylglyoxal und Prolin bei Raumtemperatur schon nach 48 h zu einer deutlichen Mäuselnote und zur Bildung von AP führte. Erhöhte Temperaturen führten zu einer Reaktionsbeschleunigung, antioxidative Substanzen (Phenole) reduzierten die Reaktionsgeschwindigkeit. Den Ergebnissen zufolge könnte das Mäuseln eher ein Produkt einer langsam ablaufenden Maillard-Reaktion und nicht zwangsläufig einer mikrobiellen Beeinflussung sein.

**Schlagwörter:** Mäuseln, Brettanomyces, 2-Acetyltetrahydropyridin, 2-Acetylpyridin, Redoxpotenzial, Maillard-Reaktion

**Investigations into the formation of 2-acetylpyridine and the mousy off-flavor in wine.** Recent research suggests that the character impact compound for the mousy off-flavor, 2-acetyltetrahydropyridine (ATHP), could be formed via Maillard reaction from methylglyoxal and proline. The final product of the oxidative pathway is 2-acetylpyridine (AP). A total of 127 wines were analyzed by GC-MS on their content of AP. In 119 wines AP could be detected in concentrations of up to 530 µg/l. During sensory evaluation it was found that AP does not contribute to mousy off-odor, but rather to the off-taste (raspy, coating). In model systems we could show that storage of a solution of methylglyoxal and proline at room temperature led to a quite pronounced mousy off-flavor formation within 48 h and, hitherto, to the formation of AP. Increased temperature speeded up the reaction, addition of antioxidative substances (tannins) slowed down reaction speed. Thus, according to our results mousy off-flavor could rather be a product of a slow Maillard reaction and not stringently due to microbial influence.

**Keywords:** mousy off-flavor, Brettanomyces, 2-acetyltetrahydropyridine, 2-acetylpyridine, redox potential, Maillard reaction

**Études relatives à la formation de la 2-acétylpyridine et du goût de souris dans le vin.** Les études les plus récentes suggèrent que la substance à l'origine du goût de souris du vin, la 2-acétyl-tétrahydropyridine (ATHP), pourrait se former par voie purement chimique au cours de la réaction de Maillard à partir du méthylglyoxal et de la proline. La 2-acétylpyridine (AP) se forme en tant que produit final de la formation oxydative. 127 vins au total ont été examinés au moyen de la méthode GC-MS en vue de déterminer leur contenu en AP. L'AP a pu être détecté dans 119 vins, les concentrations allant jusqu'à 530 µg/l. Les examens sensoriels ont révélé que l'AP contribue au goût de souris, mais qu'elle n'influence que le goût (râpeux, lourd) et pas l'odeur. Dans le cadre d'essais type, nous avons pu démontrer que le stockage du méthylglyoxal et de la proline à une température ambiante provoque, au bout de 48 heures déjà, un goût de souris prononcé et la formation d'AP. Les températures plus élevées ont conduit à une accélération de la réaction, tandis que les substances antioxydantes (phénols) ont réduit la vitesse de réaction. Les résultats indiquent que le goût de souris serait plutôt dû à une réaction de Maillard lente qu'à une influence microbienne.

**Mots clés :** goût de souris, *Brettanomyces*, 2-acétyl-tétrahydropyridine, 2-acétylpyridine, potentiel redox, réaction de Maillard

Seit Ende des 19. Jahrhunderts werden zur Entstehung des „Mäuseltons“ Untersuchungen durchgeführt. Bis in die heutige Zeit gibt es jedoch zahlreiche Unklarheiten in der Entstehung sowie der Ursache des Fehltons. Schon 1889 beschrieb ERCKMANN den Mäuselton als „Geschmack, der oft auf der Zunge einen Nachgeschmack hinterlässt, der an den Geruch von Mäusen erinnert, die in einem Käfig eingesperrt sind“. Er vermutete, dass die Ursache dieses Fehlparomas in der Bildung von nach Mäseharn riechendem Acetamid liegt, welches von Bakterien produziert wird. 1913 vermuteten MÜLLER und OSTERWALDER, dass ein Zusammenhang zwischen Mäseln und der Milchsäuregärung besteht und das Mäseln durch *Bacterium manitopoeum* und andere Bakterien entsteht, da alle mäselnden Weine immer Bakterien enthalten. SCHANDERL postulierte 1948, dass der Mäuselton nicht durch Bakterien verursacht wird, sondern eine rein chemische Entstehung möglich ist, welche vom Redoxpotenzial abhängig ist und in fast allen Weinen durch starke Oxidation mit  $H_2O_2$  erzeugt werden kann. RODOPULO (1952) war der Ansicht, dass der Mäuselton durch die Bildung von Acetamid entsteht, welches bei höheren pH-Werten aus stickstoffhaltigen Substanzen entsteht. TUCKNOTT widerlegte diese Theorie erst im Jahr 1977 mit dem Nachweis, dass reines Acetamid geruchlos ist und der für den Mäuselton gehaltene Geruch von 2,4,6-Trimethyl-1,3,5-triazin, einer Verbindung, die in unreinem Acetamid enthalten ist, herrührt. Gleichzeitig konnte TUCKNOTT nachweisen, dass die Hefe *Brettanomyces* und bestimmte Milchsäurebakterien für die Entstehung des Mäselns verantwortlich sind. Darüber hinaus war er in der Lage, verschiedene *Brettanomyces*-Stämme als Mäseln verursachende Hefen zu identifizieren (*Brettanomyces anomalus*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces clausenii*, *Brettanomyces lambicus*). Er beobachtete zudem, dass Alkohol und Lysin für die Bildung benötigt werden und dass Mäseln bevorzugt bei säurearmen, oxidativen und Restzucker enthaltenden Weinen auftritt. Erst 1984 wurden von STRAUSS und HERESZTYN die beiden tautomeren Formen von 2-Acetyltetrahydropyridin (ATHP) mittels GC-MS entdeckt und als Hauptverursacher für den Mäuselton verantwortlich gemacht. 1986 gelang Heresztyn eine Isolierung von Hefen (*Brettanomyces/Dekkera: Brettanomyces intermedius*, *Brettanomyces lambicus*) und Milchsäurebakterien (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus cellobiosus*)

aus mäselndem australischen Wein und ermöglichte so eine Erzeugung des Mäuseltons mit Hilfe dieser Mikroorganismen unter Laborbedingungen.

Heute tendiert daher die allgemeine Meinung über die Entstehung mäselnden Weines dahin, dass das Mäseln durch Mikroorganismen, wie Hefen der Gattung *Dekkera/Brettanomyces* und bestimmten Milchsäurebakterien, gebildet wird. Die Mikroorganismen produzieren dabei aus Lysin bzw. Ornithin und Ethanol acetylierte N-heterocyclische Verbindungen, wie ATHP, 2-Acetyl-1-Pyrrolin (APY) und 2-Ethyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin (ETHP) (LAY, 2003; SNOWDON et al., 2006).

### Für den Mäuselton relevante chemische Verbindungen und deren Entstehung

Die zuvor genannten Verbindungen weisen einen ausgeprägten Geruch bzw. Geschmack auf, der mit Attributen wie Cracker-artig, gebackenes Brot und Mäusekäfig beschrieben wird (HERESZTYN, 1986).

Von ATHP existieren zwei Tautomere, die je nach pH-Wert ineinander umgewandelt werden können. Beim sauren pH-Wert des Weines liegt ATHP als polares Enamin (2-Acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridin) vor, welches aufgrund seines Salzcharakters nicht flüchtig ist. Erst bei höherem pH-Wert bildet sich durch Deprotonierung das flüchtige, den Mäuselton verursachende Imin (2-Acetyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin). Da Wein einen niedrigen pH-Wert hat, kann ATHP nicht allein durch Riechen erkannt werden, sondern tritt erst bei Kontakt mit dem neutralisierenden Speichel von Mund bzw. Rachen auf und ruft dort einen bis zu 10 min anhaltenden nach Mäseharn erinnernden Geschmack hervor (GRBIN et al., 1995).

### Vorgeschlagene Bildungswege von ATHP

Grundsätzlich existieren zwei denkbare Wege, auf denen ATHP entstehen kann. Hierbei kann man einen chemischen und einen mikrobiellen Bildungsweg unterscheiden (WANG und HO, 2012).

#### Chemischer Bildungsweg

2-Acetyltetrahydropyridin sowie 2-Acetylpyrrolin (letzteres nicht gezeigt) können in einer Strecker-Reaktion aus Methylglyoxal und der Aminosäure Pro-

Tab. 1: Struktur, Geruchs- und Geschmacksschwellen von Ethyltetrahydropyridin (ETHP), Acetyltetrahydropyridin (ATHP), Acetylpyrrolin (APY) und Acetylpyridin (AP) (Grbin et al., 1995)

Name	Struktur	Geruchs-/Geschmacksschwelle (µg/l)	c (µg/l) in Wein (n=63)
ETHP		150 (Geschmack in Wasser)	2,7 – 18,7
ATHP		1,6 (Geruch in Wasser)	4,8 – 106
APY		0,1 (Geruch in Wasser)	Spuren – 7,8
AP		19 (Geruch in Wasser)	Keine Angaben

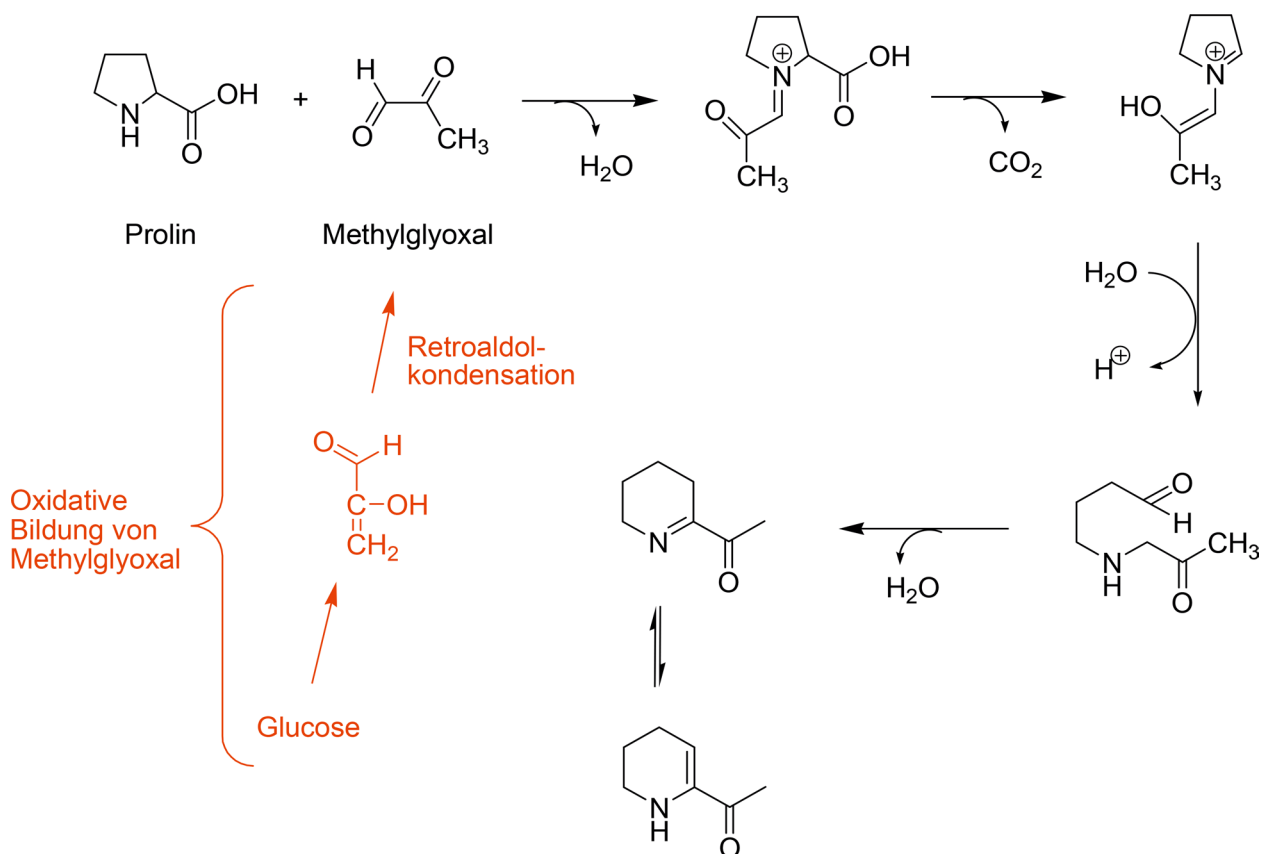


Abb. 1: Chemischer Bildungsweg von ATHP (BELITZ et al., 2008)

lin gebildet werden (BELITZ et al., 2008) (Abb. 1). Prolin kommt im Wein in Konzentrationen bis 500 mg/l vor und ist somit in ausreichenden Mengen vorhanden. Methylglyoxal findet man im Wein in Konzentrationen von 1 bis 10 mg/l (DEGEN et al., 2012). Es kann auf chemischem Wege im Verlauf der Maillard-Reaktion entstehen, bildet sich jedoch auch zwangsläufig im Zuge der Glykolyse. Hierbei wird Methylglyoxal auf nicht-enzymatischem Wege aus Dihydroxyacetonphosphat gebildet (BELITZ et al., 2008; VOET und VOET, 1995).

Selbst bei einer Umsetzung von nur 0,009 % weinrelevanter Konzentrationen der beiden Komponenten Methylglyoxal und Prolin könnte daher bereits eine geruchsaktive Menge von 1,6 µg/l ATHP gebildet werden (BELITZ et al., 2008). Eine Zugabe von Kupfer und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> könnte darüber hinaus eine beschleunigte oxidative Bildung von Methylglyoxal aus Glu-

cose bewirken und somit die Bildung von ATHP fördern.

**Mikrobieller Bildungsweg**

L-Lysin wird zunächst mittels Lysin-ε-Transferase (LAT) enzymatisch zur entsprechenden Ketosäure desaminiert (Abb. 2). Diese zyklisiert nicht-enzymatisch zu 1-Piperidin-6-carboxylat, welches zu 1-Piperidin decarboxyliert wird und mit Hilfe von Methylglyoxal weiter zu ATHP reagiert (WU et al., 2007). Auf gleichem Wege kann aus L-Ornithin 1-Pyrrolin und weiter 1-Acetylpyrrolin entstehen (nicht gezeigt).

COSTELLO und HENSCHKE hingegen postulieren (2002), dass das aus L-Lysin gebildete 1-Piperidin, bzw. das aus L-Ornithin gebildete 1-Pyrrolin in einer Acetylierung zu ATHP reagiert (Abb. 3). Für diese Reaktion ist Ethanol unentbehrlich und wird zunächst

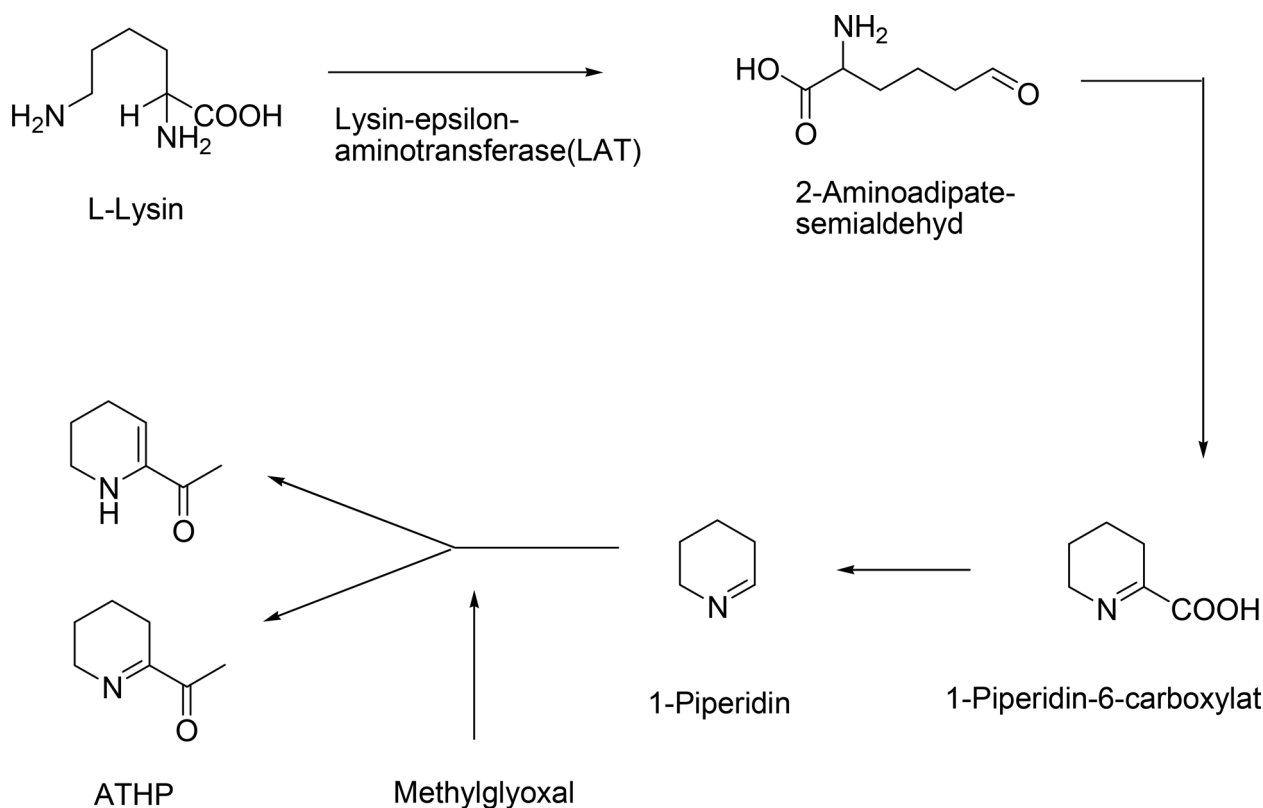


Abb. 2: Mikrobieller Bildungsweg von ATHP (WU et al., 2007)



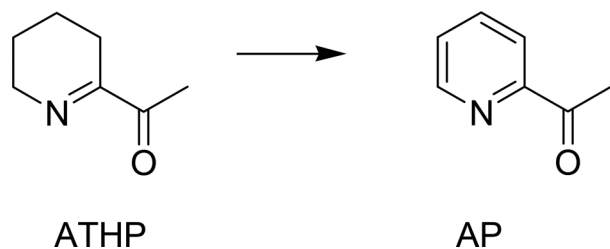


Abb. 4: Oxidation des ATHPs zu AP

Über die Gehalte von Weinen an AP gibt es unseren Nachforschungen zufolge bislang keinerlei Daten. Da das AP aber vermutlich das Endprodukt im Zuge der Bildung des Mäuseltons darstellt, sollten verschiedene Weine mit Mäuselton auf ihren Gehalt an AP analysiert werden.

## Material und Methoden

### Weinproben

Es wurden 127 Weine des Anbaugebiets Württemberg, die im Zeitraum Juni/Juli 2012 zur Qualitätsweinprüfung in Weinsberg eingereicht wurden und mit Mäuseln verbundene Auffälligkeiten besaßen, untersucht. Die ausgewählten Weine wurden in der Qualitätsweinprüfung mit den Attributen „oxidativ“, „luftig“, „muffig“ und „Mäuseln“ beschrieben. Es wurden insgesamt 21 verschiedene Rebsorten untersucht. Von den 127 untersuchten Weinen waren 49 (38,6 %) Weißweine, 28 (26,0 %) Roséweine bzw. Weißherbst oder Schiller und 50 (39,4 %) Rotweine. Typische Weißweine waren 'Riesling' (21,3 %) oder 'Kerner' (5,5 %), Rotweine waren vor allem 'Trollinger' (11,8 %), 'Lemberger' (7,9 %), 'Trollinger' mit 'Lemberger' (9,5 %), 'Spätburgunder' (11,8 %) oder 'Schwarzriesling' (7,1 %).

Direkt nach der Entnahme wurden das Redoxpotenzial und die Folin-Werte gemessen sowie eine erste sensorische Beurteilung der Weine durchgeführt. Anschließend wurden die Weinproben bei -20 °C gelagert und jeweils für die Bestimmung der Gehalte an Glucose, Fructose und 2-Acetylpyridin aufgetaut. Außerdem wurde durch Zugabe von NaOH das Mäuseln der Weine sensorisch untersucht.

### Chemikalien

Methylglyoxal-Lösung, 40 % in H<sub>2</sub>O, Tannic acid, Weinsäure, gesättigte Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung, Folin-Cio-

calteus Phenolreagenz, ABTS, Trolox® und Gallussäure wurden von Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland) bezogen. Enzymatik-Kits von Thermo Fisher Scientific (Dreieich, Deutschland), 2-Acetylpyridin von Alfa Aesar (Karlsruhe, Deutschland). Helium 5.5 und 5.9, T50 MFI stammte von Tycza (Mannheim, Deutschland); L-Prolin, D-Fructose, D-Glucose, Kupfersulfat, Wasserstoffperoxid, Natriumhydroxid, di-Kaliumhydrogenphosphat, Kaliumpersulfat, Kaliumdihydrogenphosphat von Merck (Darmstadt, Deutschland). Der verwendete ATHP-Standard wurde nach BÜCHI und WÜEST (1971) hergestellt.

### Geräte

Folin, Glucose, Fructose und antioxidative Kapazität (TEAC-Wert) wurden mit Hilfe eines Analysenautomats (Arena 30, Thermo Scientific, Dreieich, Deutschland) gemessen, das Redoxpotenzial mittels Redox-Elektrode (GPHR 1400 Digital-pH/mV-Meter, Greisinger electronic, Regenstauf, Deutschland). Die HS-GC/MS Analyse von AP bzw. GC-SNIFF (ODO II, SGE, Austin Texas, USA) Analyse von ATHP erfolgte mit dem Gaschromatograph Clarus 600, Turbomatrix 40 Trap Headspace Sampler und Clarus 600C Massenspektrometer von Perkin Elmer (Überlingen, Deutschland).

### HS-GC/MS-Methode

#### Trennsäule, Temperaturprogramm

Säule: Zebron ZB-WAX (100 % Polyethylenglycol), Länge 30 m, ID 0,32 mm, Filmdicke 0,50 µm, Phenomenex (Aschaffenburg, Deutschland)

Temperaturprogramm: Start: 37 °C (6 Min); Ramp 1: 5 °C / Min bis 130 °C (1 Min); Ramp 2: 10 °C/Min bis 220 °C (5 Min)

#### Massenspektrometer

Full Scan Modus: Masse: 45,00 bis 150,00 EI<sup>+</sup>, Messdauer: 14 bis 30 min; Solvent Delay 1: 0 bis 14 min; Solvent Delay 2: 30 bis 39,6 min

Die Headspace-Vials wurden jeweils mit 5 ml verdünnter Probe bzw. Standard gefüllt. Die Messung der Weinproben erfolgte in einer 1:2-Verdünnung.

Die Identifizierung des APs bzw. ATHPs erfolgte aufgrund der charakteristischen Massenspektren (Abb. 5, 6 und 7).

Tab. 2: Parameter Headspace-Injektor

Temperatureinstellungen	Zeiteinstellungen	Headspace-Parameter
Oven 80 °C	Thermo 20 min	Operating Mode: Trap
Needle 100 °C	Desorb 10 min	Outlet Split
Transferline 200 °C	Dry Purge 0,8 min	Dry Purge
Trap high 300 °C	Trap Hold 10 min	Column, Desorb 15 psi
Trap low 40 °C	GC Cycle 45 min	Vial 40 psi

Trap-Material: Air toxic®

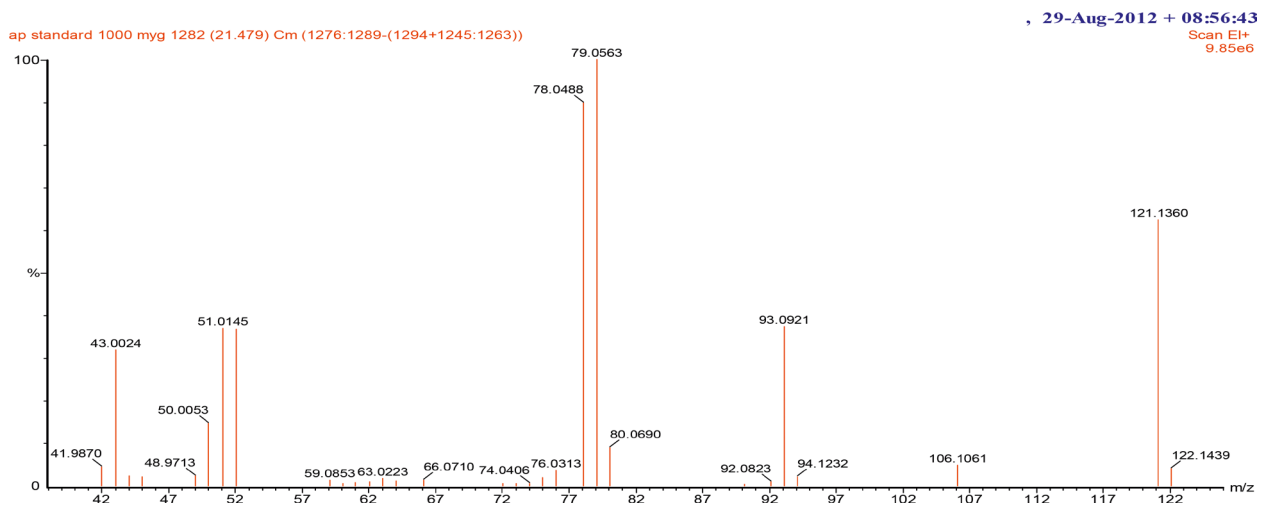


Abb. 5: Massenspektrum von 2-Acetylpyridin (eigene Messung)

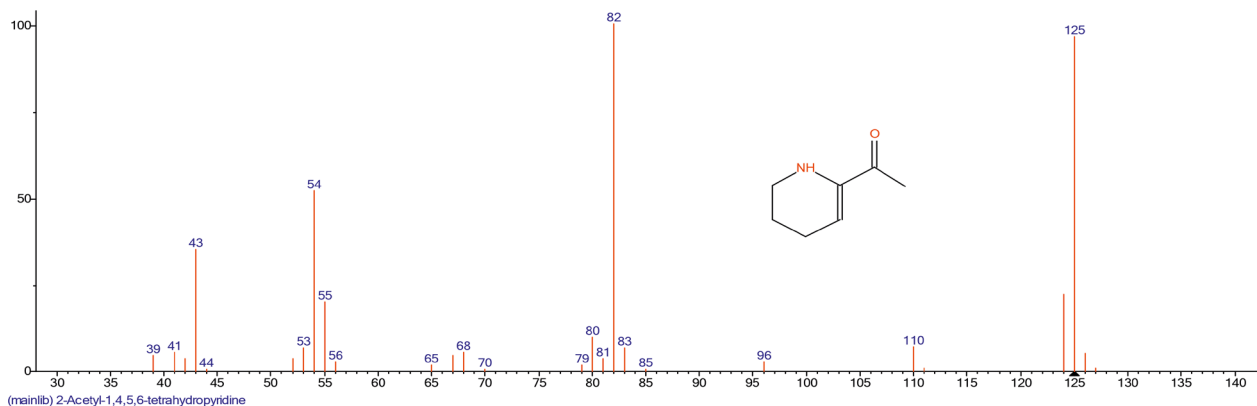


Abb. 6: Massenspektrum von 2-Acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridin (BUTTERY et al., 1997)

Aufgrund der gewählten Parameter ergab sich für 2-Acetylpyridin eine Retentionszeit von 21,48 min. Abbildung 8 zeigt ein Chromatogramm für einen 2-Acetylpyridin-Standard (1.000 µg/l). Die Auswertung erfolgte mit Hilfe einer externen Kalibriergeraden, bei der ein Konzentrationsbereich von 10 bis 200 µg/l 2-Acetylpyridin abgedeckt wurde

(Abb. 9).

Die Konzentration an ATHP (Retentionszeit 17,4 min) konnte nur grob abgeschätzt werden, da der synthetisierte Standard in nur unzureichender Reinheit hergestellt werden konnte. Daher präsentieren wir keinerlei quantitative Daten zu ATHP.

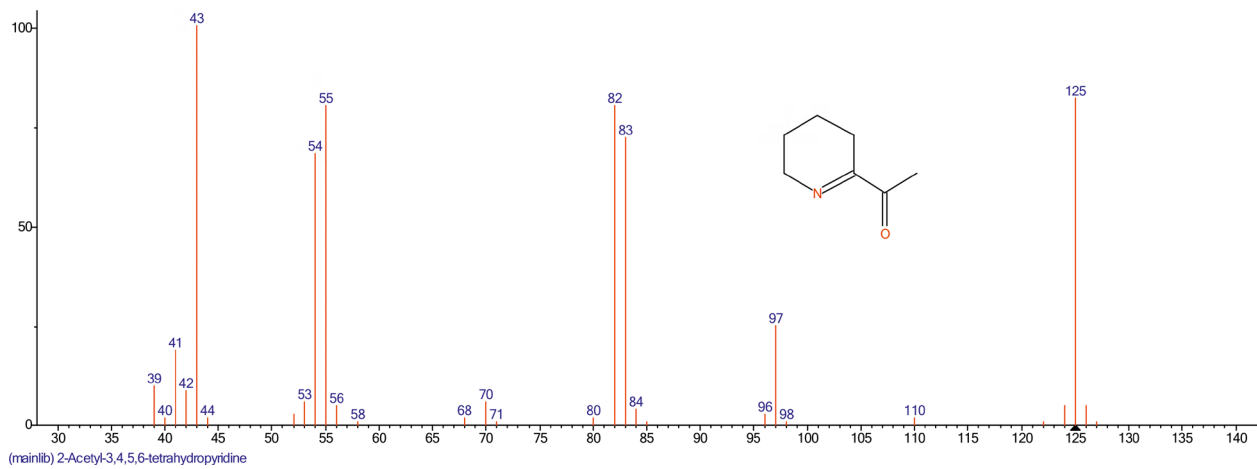


Abb. 7: Massenspektrum von 2-Acetyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin (BUTTERY et al., 1997)

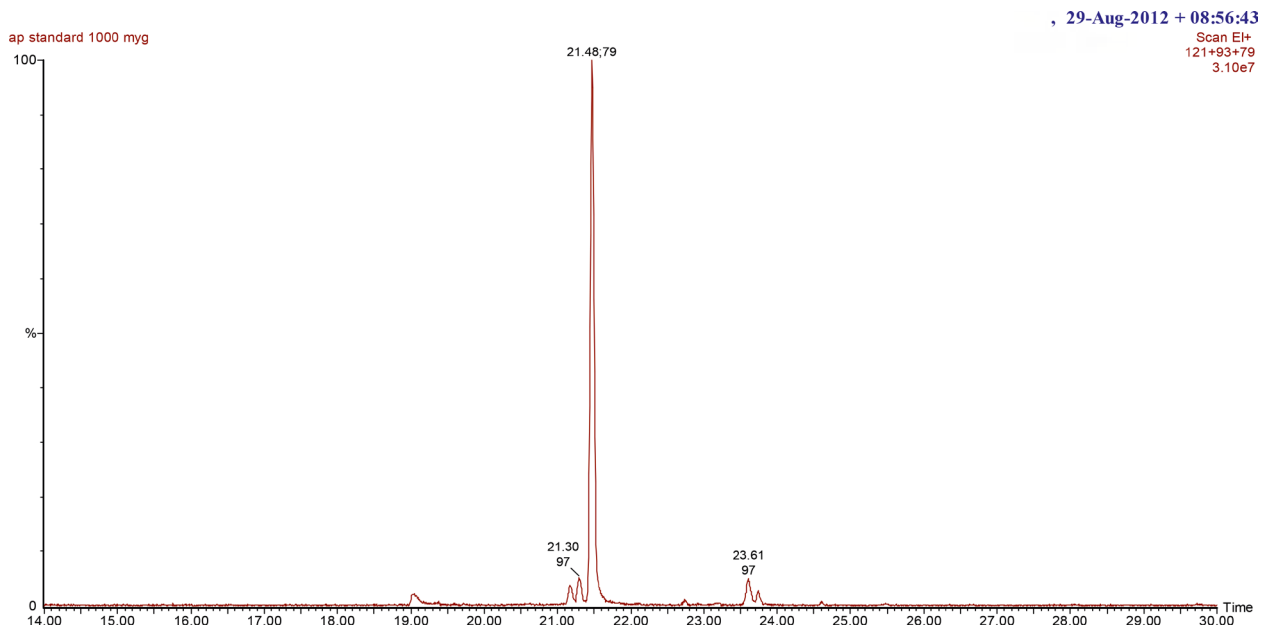


Abb. 8: Chromatogramm eines 2-Acetylpyridin-Standards (1000 µg/l)

### Statistische Auswertung

Die analytischen Ergebnisse wurden in Kombination mit den sensorischen Ergebnissen sowie den sonstigen Angaben, wie Weinarten, Herkunft, Punktzahl der amtlichen Qualitätsprüfung, Geschmacksqualitäten und den Ergebnissen der QbA-Untersuchung (Gesamtalkohol, vorhandener Alkohol, zuckerfreier Extrakt, vergärbare Zucker, Gesamtsäure, freie und

gesamte schweflige Säure, relative Dichte) mit Hilfe der Programme Excel (Microsoft, Redmond, USA) und XLStat (Addinsoft, Paris, Frankreich) statistisch ausgewertet. Es wurde eine ANOVA (analysis of variance) mit den genannten Angaben und Werten durchgeführt. Dabei diente Tukey's HSD<sub>0,05</sub>-Test zur Trennung der Mittelwerte.



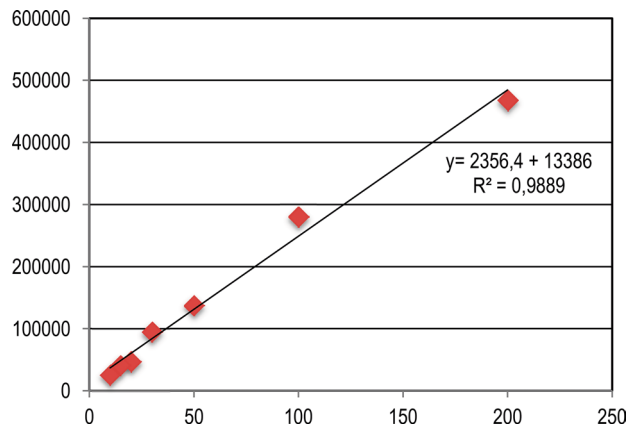


Abb. 9: Kalibriergerade 2-Acetylpyridin (10 bis 200 µg/l)

## Ergebnisse und Diskussion

### Sensorik

Von den 127 Weinen konnte durch die Zugabe von NaOH bei 62 Proben ein Mäuseln eindeutig festgestellt werden. Dies entspricht 49,2 %. 56 Weine zeigten leichte geruchliche Veränderungen, die ein Mäuseln andeuten (44,4 %); 8 (6,3 %) untersuchte Weine waren ohne sensorische Beeinträchtigung (siehe Abb. 10).

Rotweine (28 stark, 19 leicht, 3 negativ) mäuselten häufiger als Weißweine (24 stark, 21 leicht, 4 negativ), Roséweine zeigten am seltensten Auffälligkeiten (11 stark, 16 leicht, 1 negativ).

In allen Weinen konnte mittels GC-SNIFF ATHP bei ca. 17,4 min detektiert werden. Zusätzlich wurden Konzentrationen von AP im Bereich von 0 bis 530 µg/l ermittelt. Eine Übersicht über die erhaltenen Werte gibt Tabelle 3.

Tab. 3: Übersicht über die erhaltenen Werte an 2-Acetylpyridin (n=127)

	AP (µg/l)
Mittelwert	77,2
Standardabweichung	84,3
Minimum	0
Maximum	530
Quartil 1	28,7
Quartil 3	99,4
Median	42,5

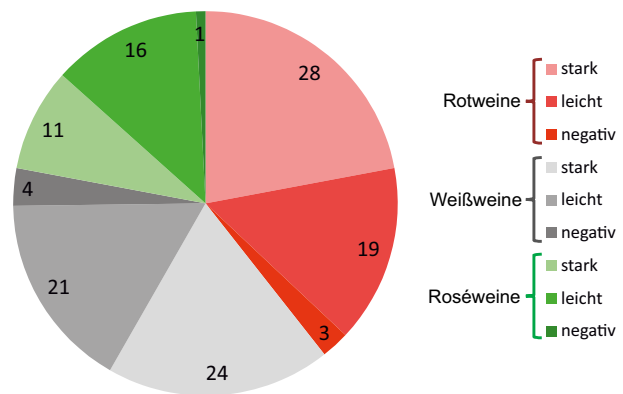


Abb. 10: Verteilung der mäuselnden Weine

Nur in acht Weinen konnte kein AP nachgewiesen werden. Das AP scheint somit ein zwangsläufiges Endprodukt im Zuge der oxidativen Veränderung der Weine mit Mäuselnote zu sein.

Da in vielen Weinen die Geruchsschwelle von 19 µg/l (BELITZ et al., 2008) überschritten wurde, sollte der Einfluss von AP auf die Sensorik überprüft werden. Hierzu wurde AP in Modelllösungen in Konzentrationen von 5 bis 1.000 µg/l verkostet. Zwar konnte schon bei niedrigen Konzentrationen ein unspezifischer Geruch festgestellt werden, dieser erinnerte jedoch nicht an das Mäuseln. Bei der Verkostung der Modelllösungen stellten wir fest, dass AP nicht den Geruch, sondern eher den Geschmack durch Belegen des Mund- und Rachenraums erheblich beeinflusst.

Der Geschmackseindruck kann mit „kratzig, belegend, bitter, unangenehm“ beschrieben werden. Diese Beobachtungen bestätigten sich bei Zugabe von AP in steigenden Konzentrationen zu Wein.

Diese Ergebnisse stehen somit im Widerspruch zu den Literaturangaben, welche besagen, dass AP einen Geruchsschwellenwert von 19 µg/l in Wasser besitzt und eine ausgesprochene Mäuselnote aufweist (BELITZ et al., 2008).

Es scheint daher unstrittig zu sein, dass die eigentliche Mäuselnote von ATHP verursacht wird. Im Zuge der Oxidation des Weines wird das ATHP jedoch zum AP umgewandelt. Letzteres ist dann für die typische kratzig-belegende Note im Rachenraum mitverantwortlich.

## Statistik

Um zu erfassen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Mäuseln und den analytischen Ergebnissen besteht, wurde eine ANOVA mit allen relevanten Ergebnissen durchgeführt.

Es zeigte sich, dass mäuselnde Weine tendenziell eine höhere Dichte und damit höhere Gehalte an vergärbarem Zucker, Glucose und Fructose sowie niedrigere Werte an gesamter schwefliger Säure, ein niedrigeres

Redoxpotential und niedrigere Folin-Werte vorweisen (Tab. 4).

Niedrigere Folin-Werte deuten auf weniger schützende Phenole und damit eventuell auf eine höhere Anfälligkeit gegenüber Mäuseln hin. Dies würde auch die Aussage stützen, dass die Bildung des Mäusels unter oxidativen Bedingungen erfolgt. Durch die höheren Gehalte an Zucker ist gleichzeitig mehr Ausgangsstoff für die oxidative Bildung des limitierenden Faktors Methylglyoxal vorhanden. So kann durch die Umsetzung mit Prolin mehr ATHP entstehen.

Bei den AP-Gehalten der Weine zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen mäuselnden und sensorisch unauffälligen Weinen. Dies spricht für die oben genannte Vermutung, dass das AP lediglich für das unangenehme Mundgefühl mitverantwortlich zeichnet und daher nicht direkt mit dem Mäuseln als solchem assoziiert wird.

## Modellversuche

Zur Untersuchung, ob ein Mäuseln unter Weinbedingungen auch auf rein chemischem Weg möglich ist, wurde in Modellversuchen Methylglyoxal und Prolin (10 mg/l bzw. 500 mg/l) bei einem pH-Wert von 3,4 (Weinsäure) zum einen bei Raumtemperatur

Tab. 4: ANOVA-Ergebnisse: Redoxpotential, Gesamtphenole nach Folin, gesamte schweflige Säure, relative Dichte, vergärbare Zucker, Glucose und Fructose gegenüber dem Auftreten von Mäuseln (M) bzw. leichter oder negativer sensorischer Beeinträchtigung (n = 127); Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben wären statistisch signifikant verschieden (p < 0,05)

	Kategorie	Mittelwertschätzer	Gruppen
Redoxpotential (mV)	negativ	161	A
	M	147	A
	leicht	142	A
Gesamtphenole nach Folin (mg/l)	negativ	1345	A
	M	884	A
	leicht	811	A
Gesamte schweflige Säure (mg/l)	negativ	128,3	A
	leicht	113,2	A
	M	109,2	A
Relative Dichte d 20°/20°	leicht	1,0022	A
	M	0,9963	A
	negativ	0,9948	A
Zucker, vergärbare (g/l)	M	9,8	A
	leicht	9,6	A
	negativ	6,4	A
Glucose (g/l)	M	4,4	A
	leicht	4,3	A
	negativ	2,8	A
Fructose (g/l)	M	5,1	A
	leicht	5,1	A
	negativ	3,3	A

und zum anderen bei 40 °C belassen. Bereits nach wenigen Tagen konnte bei beiden Ansätzen ein mäuseartiger, röstiger Geruch wahrgenommen werden. Dieser wurde mittels GC-SNIFF im Vergleich zum synthetisierten Standard bei 17,4 min als ATHP identifiziert. Bei diesen Versuchen zeigte sich auch, dass weder Alkohol, noch Lysin, noch zusätzliche Oxidationsmittel nötig sind, um auf rein chemischem Wege Mäusel zu erzeugen.

Mittels GC-MS konnte bereits nach 48 Stunden in dem 40 °C-Ansatz AP in Konzentrationen von 3 µg/l nachgewiesen werden. Selbst in dem Ansatz, der bei Raumtemperatur 48 Stunden lagerte, konnten wir AP in Spuren nachweisen. Dies spricht für eine rasche Umsetzung von ATHP zu AP unter den gegebenen Bedingungen.

In weiteren Ansätzen, denen zusätzlich ein kommerzielles Tannin in einer Konzentration von 400 mg/l zugefügt wurde, konnte mittels GC-SNIFF nur wenig ATHP festgestellt werden. Vermutlich wird durch den antioxidativen Beitrag des Tannins die Bildung von ATHP verzögert. In den Ansätzen mit Tannin wurde eine antioxidative Kapazität (TEAC-Wert) von 6,1 mmol/l gemessen, wohingegen der Ansatz ohne Tannin einen TEAC-Wert von 0 mmol/l aufwies. Nichtsdestotrotz konnten wir auch in den Ansätzen mit Tannin (Raumtemperatur, 40 °C) nach neun Tagen vergleichbare Mengen an AP wie in den Ansätzen ohne Tannin nach 48 h detektieren. Die Bildung von ATHP und AP wird somit durch das Tannin offensichtlich deutlich verlangsamt, kommt aber nicht komplett zum Erliegen.

## Zusammenfassung

Unseren Ergebnissen zufolge ist das ATHP zweifellos der Schlüsselaromastoff für die Mäuselnote. Das ATHP kann jedoch nicht nur über mikrobielle Einflüsse, sondern auch auf rein chemischem Wege durch die Maillard-Reaktion aus Methylglyoxal und Prolin entstehen (WANG und HO, 2012). Das gebildete ATHP ist in jedem Falle instabil und oxidiert weiter zu AP, welches geruchlich keine Auswirkungen auf den Wein hat, allerdings für die kratzig-belegende Note im Abgang mitverantwortlich zeichnet. Antioxidativ wirkende Substanzen (Phenole) haben einen bremsenden Einfluss auf die Reaktion, können sie jedoch nicht verhindern.

Weitere Studien müssten daher klären, ob eine Umsetzung auch im komplexen System Wein ohne jeglichen

mikrobiellen Einfluss möglich ist. Hierzu würde sich anbieten, eine definierte Menge deuteriertes Methylglyoxal zu einem sterilisierten Wein hinzuzugeben und die Entwicklung von d<sub>3</sub>-ATHP und d<sub>3</sub>-AP über den Zeitverlauf zu dokumentieren.

## Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei Herrn Dr. Hans Lay für viele hilfreiche Diskussionen und sachdienliche Hinweise, dem Weinbauverband Württemberg (Weinsberg) und der Qualitätsweinprüfstelle (Weinsberg) für die Bereitstellung der untersuchten Weine sowie der Ergebnisse der Sensorik.

## Literatur

- BELITZ, H.-D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. 2008: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 6. Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 326 ff.
- BUTTERY, R.G., LING, L.C., STERN, D.J. 1997: Studies on popcorn aroma and flavor volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 45: 837-843.
- BÜCHI, G. and WÜEST, H. 1971: Synthesis of 2-acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine, a constituent of bread aroma. *J. Org. Chem.* 36: 609-610
- COSTELLO, P.J. and HENSCHKE, P.A. 2002: Mousy Off-Flavor of Wine: Precursors and Biosynthesis of the Causative N-Heterocycles 2-Ethyltetrahydropyridine, 2-Acetyltetrahydropyridine, and 2-Acetyl-1-pyrroline by *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7079-7087
- DEGEN, J., HELLMIG, M., and HENLE, T. 2012: 1,2-Dicarbonyl Compounds in Commonly Consumed Foods. *J. Agric. Food Chem.* 60: 7071-7079
- ERCKMANN (1889) zitiert in: GRBIN, P.R., COSTELLO, P.J., HERDERICH, M., MARKIDES, A.J., HENSCHKE, P.A. and LEE, T.H.: Developments in the sensory, chemical and microbiological basis of mousy taint in wine. Proc. Ninth Austral. Wine Industry Technical Conference. – Adelaide (South Australia), 1995
- GRBIN, P.R., COSTELLO, P.J., HERDERICH, M., MARKIDES, A.J., HENSCHKE, P.A. and LEE, T.H.: Developments in the sensory, chemical and microbiological basis of mousy taint in wine. Proc. Ninth Austral. Wine Industry Technical Conference. – Adelaide (South Australia), 1995
- HERESZTYN, T. 1986: Formation of substituted tetrahydropyridines by species of *Brettanomyces* and *Lactobacillus* isolated from mousy wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 37: 127-132
- LAY, H. 2003: Untersuchungen über die Entstehung des „Mäuseltons“ in Wein und Modelllösungen. *Mitteilungen Klosterneuburg* 53: 243-250
- MÜLLER und OSTERWALDER (1913): Die Bakterien in Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen. – Jena: G. Fischer, 1913 (Abdruck aus dem Centralblatt für

- Bakteriologie. II. Abt., Band 36)
- RODOPULO, A. K. 1952 Vinod. i Vinog. SSSR, 12, 14-16
- SCHANDERL, H. 1948: Die Ursachen der Mäuselkrankheit der Weine. Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau 57: 301-305
- SNOWDON, E.M., BOWYER, M.C., GRBIN, P.R. and BOWYER, P.K. 2006: Mousy Off-Flavor: A Review. J. Agric. Food Chem. 54: 6465-6474
- STRAUSS, C.R. and HERESZTYN, T. 1984: 2-Acetyl-tetrahydropyridines – a cause of the “mousy” taint in wine. Chemistry and Industry (2): 109-110
- TUCKNOTT, O.G. (1977): The mousy taint in fermented beverages: it's nature and origin. – Ph. D. Thesis University of Bistol, 1977
- VOET, D. and VOET J.G. 1995: Biochemistry. Second Edition. John Wiley & Sons, New York
- WU, M.-L., CHEN, J.-H., HO, C.-T. and HUANG, T.-C. 2007: Synthesis of 1-Piperidine-6-carboxylic Acid Produced by L-lysine- $\Sigma$ -aminotransferase from the *Streptomyces clavuligerus* Gene Expressed in *Escherichia coli*. J. Agric. Food Chem. 55: 1767-1772
- WANG, Y. and HO, C.-T. 2012: Flavour chemistry of methylglyoxal and glyoxal. Chem. Soc. Rev., 41: 4140-4149
- Eingelangt am 11. Oktober 2012