

Vergleichende Untersuchungen von Mosten und Weinen aus gesunden und aus *Botrytis*-infizierten Traubenbeeren

I. Säurestoffwechsel, Zuckerstoffwechselprodukte, Leucoanthocyangehalte

von

H. H. DITTRICH, W. R. SPONHOLZ und W. KAST¹⁾

Comparative investigations on musts and wines from healthy and *Botrytis*-infested grape-berries. I. Metabolism of organic acids, metabolites of sugars, and leucoanthocyanin contents

S u m m a r y. — In grape-berries infested by *Botrytis cinerea*, the decomposition of several constituents important to vinification and their transformation into certain metabolites were investigated and compared with healthy berries of the same quality. The following results were obtained:

Compared to sugar, tartaric acid was preferably reduced. The content was approximately 1—3 g/l lower in musts from *Botrytis*-infested berries than in musts from healthy ones. — Malic acid was approximately reduced to the same percentage as sugar. Therefore, the malic acid content was increased by 1,5 g/l in musts from infested berries. — Gluconic acid: Only comparatively small quantities were found in "healthy" musts, whereas "infested" musts can contain more than 4 g/l. Gluconolactone was not found. — Citric acid: Quantities below 100 mg/l were determined in "healthy" musts, "infested" musts contained about twice as much. During fermentation the citric acid content was nearly doubled. — Oxalacetic acid could not be ascertained in musts from healthy berries. However, considerable amounts of this constituent were produced in strongly infested berries. Their maximum content was 15,7 g/l. On the other hand, no oxalacetate was found in the wines. — Glycerol: Although the "healthy" musts contained by 1 g/l only, glycerol could be found up to a maximum of 14,20 g/l in "infested" musts. During fermentation the glycerol-content was comparatively more increased in "healthy" musts than in "infested" musts. — Acetaldehyde: In any case, the contents were below 3 mg/l in "healthy" musts and "infested" musts. During fermentation, however, 58% more acetaldehyde was produced in the "infested" musts. — Pyruvic acid was increased by 50% in "infested" musts. During fermentation the production of pyruvic acid was 3,5 times as high in "infested" musts as in "healthy" musts, which was probably caused by a deficiency of thiamin. — Ketoglutaric acid: Approximately 10 mg/l were present in "healthy" samples and 21,5 mg/l in "infested" musts. After fermentation the "healthy" specimens showed 49,7 mg/l, the "infested" ones 119,0 mg/l. — SO_2 -fixation was approximately 77 mg/l in "healthy" musts, in "infested" musts 116 mg/l. — Leucoanthocyanins were very much reduced by *Botrytis*-infection. During fermentation a further decrease was caused by yeasts. A young wine from healthy berries contained 4,0 mg/l, its counterpart from infested berries 1,5 mg/l only.

Einleitung

Schon 1888 hat MÜLLER-THURGAU Untersuchungen zu diesem Thema vorgelegt. Sie können auch heute noch als klassisch gelten, da sie viele mit dem *Botrytis*-Befall des Lesegutes verbundene Phänomene erklärten. Seine Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Die infektionsbedingte Perforierung der Beerenhaut erhöht den Wasserverlust der Beere stark; der Beerensaft wird dadurch konzentriert. Der Pilz baut während

¹⁾ Die Zahlenwerte sind größtenteils aus dem Fachbereich Weinbau und Getränketechnologie, Geisenheim, angenommenen Ing.-Arbeit von W. KAST entnommen.

des Mycelwachstums in der Beere relativ mehr Säure als Zucker ab. Absolut überwiegt allerdings der Zuckerverbrauch den Säureabbau um das Vier- bis Achtfache. Außerdem verringert *Botrytis* den Gehalt an löslichen Stickstoffverbindungen stark (RAPP und REUTHER 1971). Das schränkt die Hefevermehrung in diesen Mosten ein und bedingt ihre langsame Gärung. Von MÜLLER-THURGAU (1888) wurde auch schon die Bildung von Glycerin während des *Botrytis*-Wachstums festgestellt.

Seither war besonders der Zucker- und der Säurestoffwechsel von *Botrytis* vielfach Gegenstand der Forschung. So wies BEHRENS 1898 nach, daß in synthetischer Nährlösung die Weinsäure rascher abgebaut wird als die Äpfelsäure, während der Zitronensäuregehalt zunimmt. Wichtige Klarstellungen über den Zucker- und Säureumsatz in synthetischer Nährlösung und in Traubensaft lieferte auch STALDER (1954): Die meisten Pentosen, Mono- und Disaccharide, sowie Stärke und Zellulose können abgebaut werden. Äpfel- und Weinsäure soll *Botrytis* etwa gleich gut abbauen, Zitronensäure dagegen nicht.

Über weitere Arbeiten, die sich hauptsächlich mit dem Kohlenhydrat- und Säurestoffwechsel dieses Pilzes befassen, vergleiche man SCHANDLER (1959). Von den dort zitierten Arbeiten sind in diesem Zusammenhange am wesentlichsten die von GENTILE (1954) und die von RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1955). GENTILE (1954) wies erstmals Gluconsäure als Stoffwechselprodukt nach. Die zweite Autorengruppe zeigte ebenfalls, daß *Botrytis* Gluconsäure und Glucuronsäure und unter Umständen auch Zitronensäure bilden kann.

Einen weiteren Beitrag lieferten PEYNAUD *et al.* (1959) mit dem Nachweis, daß die Weinsäure stärker abgebaut wird als die Äpfelsäure. MÜLLER-THURGAU (1888) hatte die Säureabnahme schon untersucht, eine Spezifizierung der Verhältnisse war aber nicht möglich, da er Wein- und Äpfelsäure nicht getrennt bestimmen konnte. Er hat die von ihm vorgefundenen Verhältnisse wie folgt charakterisiert: „Da die Fäulnis in erster Linie Gerbsäure, dann freie Weinsäure und Äpfelsäure verzehrt, ist der Säuregehalt der Rosinen vorzugsweise durch Weinstein bedingt, von welchem nun bei der Konzentration durch Wasserverdunstung schon in der Beere ein Teil ausgeschieden wird.“

Wie daraus zu entnehmen ist, sind die Verhältnisse noch in mancher Beziehung unklar, z. B. schon hinsichtlich der Weinsäure. Da eine Verringerung des Weinsäuregehaltes erfolgt, muß klargestellt werden, ob sie auf den bevorzugten Abbau durch *Botrytis* zurückgeht oder nur mittelbar mit der Infektion zusammenhängt infolge des Ausfallens als Weinstein in der eintrocknenden Beere. Aus der Sicht der heutigen Kenntnisse ist ein bevorzugter Abbau der Äpfelsäure wahrscheinlicher als der der Weinsäure. Für den Abbau der Weinsäure durch *Botrytis* hat allerdings neulich HAMPEL (1970) mögliche Wege aufgezeigt.

Die bisherigen Ergebnisse machen es daher notwendig, neben der Weinsäure auch die Äpfelsäure zu bestimmen, um die Relation der Verminderung dieser beiden Säuren unter dem Einfluß der *Botrytis*-Infektion kennenzulernen.

Wichtig ist daneben auch die Zitronensäuresynthese. Nach CHARPENTIE (1959) wird von *Botrytis* in Traubenbeeren keine Zitronensäure gebildet, wohl aber in Traubenmost. Diese Aussage war nachzuprüfen.

Sehr interessant ist die Gluconsäurebildung. RENTSCHLER und TANNER (1955) messen am Gluconsäuregehalt des Lesegutes sogar den Grad des *Botrytis*-Befalls. Da in jüngster Zeit von POSTEL *et al.* (1972) Gluconsäurewerte von Weinen vorgelegt wurden, ist ein Vergleich nötig, um so mehr, als es sich nicht um Moste, sondern nur um Weine unterschiedlicher Sorten, Jahrgänge und Qualitätsstufen handelt.

Andere Metaboliten des Zuckerstoffwechsels, nämlich Acetaldehyd, Pyruvat und Ketoglutarat, sind von DITTRICH *et al.* (1970) in Mosten aus gesunden und aus *Botrytis*-infizierten Beeren bestimmt worden. Diese Substanzen sind seit längerem als SO₂-bindend bekannt. Da Weine aus *Botrytis*-infiziertem Lesegut meist besonders hohe SO₂-Bindungen aufweisen, ist die Art der SO₂-Bindungspartner in Mosten und den daraus gewonnenen Weinen für die Gewinnung einer gerechteren weingesetzlichen Beurteilungsbasis dieser Spitzenweine wichtig.

Allerdings muß heute angenommen werden, daß die genannten drei Metaboliten nicht allein das hohe SO₂-Bedürfnis der Weine aus „faulem“ Lesegut verursachen. Es ist wahrscheinlich, daß *Botrytis* noch andere Stoffe produziert, die ein ausgeprägtes SO₂-Bindungsvermögen haben. Als solcher wäre z. B. Oxalessigsäure denkbar. Dieser Metabolit ist auch schon von GENTILE (1954) nachgewiesen worden.

MÜLLER-THURGAU (1888) glaubte auch eine Abnahme der Gerbstoffe als Folge der Beereninfektion durch *Botrytis* festgestellt zu haben. Da die von ihm angesprochene Stoffgruppe aber sicher nicht so einheitlich ist, wie zur damaligen Zeit angenommen werden mußte, sollen die diesbezüglichen Verhältnisse ausschnittsweise durch die Bestimmung der Leucoanthocyane charakterisiert werden.

Fast alle bisherigen Arbeiten haben den *Botrytis*-Stoffwechsel in der Beere durch Kultur des Pilzes auf Traubensaft oder sogar nur auf synthetischen Nährlösungen zu simulieren versucht. Die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf die Verhältnisse des parasitischen *Botrytis*-Stoffwechsels muß aber zum größten Teil bezweifelt werden. Um den Stoffwechsel des Pilzes in der Beere im Hinblick auf die für die Weinbereitung maßgebenden Verhältnisse zu erkennen, vergleicht diese Arbeit deshalb die Quantitäten der besprochenen Stoffe im Saft aus gesunden Beeren mit denen im Saft aus *Botrytis*-infizierten Beeren. Die Vielzahl der zu bestimmenden Parameter soll eine möglichst breite Basis für eine gesamtheitliche Beurteilung des *Botrytis*-Problems in der Weinbereitung ergeben. Um diese gesamtheitliche Betrachtung noch auf den Wein auszudehnen, sind die so analytisch charakterisierten Moste zu vergären und die gewonnenen Weine ebenfalls zu analysieren.

Material und Methoden

Vierzehn Traubenproben wurden in verschiedenen Weinbaugebieten, in unterschiedlichen Reifestadien sowie in unterschiedlichem Fäulniszustand (Sauer-, Edel-, Schwundfäule) gewonnen. Das Lesegut wurde getrennt in *Botrytis*-befallene („faule“) und *Botrytis*-freie („gesunde“) Beeren. Nach dem Pressen mittels einer einfachen Handpresse, das die Beschädigung der Traubenkerne ausschloß, wurde der Saft sofort durch Zentrifugieren vom groben Trub befreit. Unmittelbar darauf wurden Mostgewicht, Wein- und Gesamtsäure bestimmt und die Most-Proben bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

Vor der Vergärung wurden die Moste durch Faltenfilter filtriert, um einen gleichmäßigen Trübungsgrad in allen Proben zu erreichen. Je 100 ml der nicht sterilisierten Moste wurden in 200-ml-Erlenmeyerkolben nach Beimpfung mit einem Tropfen Hefesuspension (Stamm „Geisenheim 1949“) mit Gäraufsatz bei 20 °C vergoren. Die Feststellung der Gärungsintensität erfolgte durch Wägung des CO₂-Verlustes.

Die Bestimmung der interessierenden Mostinhaltsstoffe, der *Botrytis*- und Hefestoffwechselprodukte, erfolgte mit nachstehenden Methoden: Weinsäure: kolorimetrisch nach REBELEIN (1970). Gesamtsäure: durch potentiometrische Titration mit $n/3$ KOH von 5 ml Most. Acetaldehyd: nach THEN und RADLER (1968). SO₂-Bindung:

Tabelle 1

Herkunft und Art der Fäule, Mostgewicht und titrierbare Gesamtsäure der untersuchten Moste

Origin and kind of putridity, total soluble solids and titratable total acid of the investigated musts

Nr.	Art der Fäule	Mostgewicht		Titrierbare Gesamtsäure		
		gesund %Oe	faul %Oe	gesund g/l	faul g/l	
1	Heilbronner Müller-Thurgau	Sauer- fäule	59	85	12,6	15,1
2	Geisenheimer Edelmuskat	Sauer- fäule	63	86	13,2	12,9
3	Geisenheimer "Elsässer Gemisch"	Edel- fäule	83	122	12,2	21,9
4	Heilbronner Ruländer	Sauer- fäule	65	89	21,0	21,7
5	Heilbronner Ruländer	Edel- fäule	90	107	11,5	19,3
6	Heilbronner Müller-Thurgau	Sauer- fäule	65	88	13,0	18,0
7	Kappelrodeck Auxerrois	Sauer- fäule	54	88	11,0	13,0
8	Bischhofinger Silvaner	Sauer- fäule	50	68	11,7	14,0
9	Willsbacher Trollinger	Edel- fäule	74	101	14,8	17,0
10	Heilbronner Lemberger	Sauer- fäule	66	71	13,0	17,0
11	Heilbronner Riesling	Schwund- fäule	71	64	19,0	15,0
12	Hattenheimer Riesling	Sauer- fäule	63	73	14,2	9,8
13	Geisenheimer Riesling	Schwund- fäule	81	74	16,5	13,3
14	Geisenheimer Riesling	Schwund- fäule	81	76	16,8	13,2

durch Einstellung auf ca. 300 mg SO₂/l und Bestimmung der nach 12 Stunden gebundenen SO₂-Menge durch Titration mit ¹/₁₂₈ Jodlösung. Äpfelsäure: enzymatisch nach BOEHRINGER (1972). Veresterte Äpfelsäure: enzymatisch nach Verseifung (OLSCHIMKE *et al.* 1969). Zitrat, Oxalacetat, Pyruvat, Ketoglutarat, Gluconat, Gluconsäure- γ -Lacton und Glycerin: ebenfalls enzymatisch nach BOEHRINGER (1972) bzw. BERGMAYER (1970). Leucoanthocyane: nach WUCHERPENNIG und MILLIES (1973).

Ergebnisse und Diskussion

Bedingt durch sehr trockenes Herbstwetter war der Jahrgang 1972 für die vorliegenden Untersuchungen nicht günstig. Trotzdem konnten die in Tabelle 1 wiedergegebenen vierzehn Probenpaare gewonnen werden.

Mostgewicht und Säuregehalt (Tabelle 1)

Die Moste des *Botrytis*-infizierten Beerenmaterials der Proben 1—10 und 12 zeigten eine hier vergleichsweise mäßige Mostgewichtserhöhung gegenüber den Mosten aus gesunden Beeren, infolge des bekannten Wasserverdunstungseffektes dieser Beeren. Die Gesamtsäuregehalte dieser Moste zeigten die gleiche Tendenz. Ausnahmen machen Probe 2 und 12. Die Moste der Proben 11, 13 und 14 verhalten sich gegensätzlich, daher auch die Bezeichnung „Schwundfäule“. Wichtig ist, daß Mostgewicht und Gesamtsäure korreliert sind, also bei Sauer- und Edelfäule beide zu-, bei Schwundfäule beide abnehmen.

Die normalerweise stattfindende Mostgewichtszunahme betrug im Durchschnitt aller Proben 24%, die Zunahme der Säure nur ca. 10%. Dieses Verhältnis ähnelt dem von MÜLLER-THURGAU (1888) gefundenen. Er schloß daraus, daß *Botrytis* relativ mehr Säure verbrauche als Zucker.

Wein- und Äpfelsäuregehalt (Tabelle 2)

Neben der Betrachtung der Gesamtsäure interessiert auch die getrennte Betrachtung der wichtigsten Säurekomponenten, also zunächst der Wein- und der Äpfelsäure.

Dabei stellt sich die Frage, ob die Säureabnahme auf einem bevorzugten Abbau der Weinsäure durch *Botrytis* beruht, oder durch einen Weinstein-Ausfall in der Beere infolge der infektiönsbedingten Veränderungen verursacht ist. Eine Ausscheidung von Weinstein ist hier allerdings wenig wahrscheinlich, da die pH-Werte der

Tabelle 2

Weinsäure und Äpfelsäure (g/l) in „gesunden“ und „faulen“ Mosten
Tartaric acid and malic acid in "healthy" and "*Botrytis*-infested" musts

Nr.	Weinsäure		Differenz	Äpfelsäure			
	gesund	faul		gesund freie AS	Ester	faul freie AS	Ester
1	7,5	4,6	—2,9	8,8	0,0	9,3	0,4
2	10,0	6,9	—3,1	6,2	0,2	10,1	0,3
3	10,5	19,5	+9,0	6,5	0,3	14,0	0,4
4	9,4	7,4	—2,0	8,2	—	13,5	—
5	8,3	5,6	—2,7	8,2	0,2	14,3	0,0
6	7,7	4,6	—3,1	7,8	—	9,7	—
7	6,9	5,7	—1,2	7,0	—	9,5	—
8	7,7	8,3	+0,6	9,7	—	10,7	—
9	6,0	8,2	+2,2	8,9	—	9,5	—
10	8,7	7,8	—0,9	7,0	—	13,5	—
11	10,3	7,3	—3,0	11,7	0,0	7,6	0,0
12	9,7	7,6	—2,1	8,5	0,0	6,1	0,0
13	13,3	11,8	—1,5	9,9	—	7,0	—
14	13,5	9,7	—3,8	10,0	0,0	8,5	0,0

relativ unreifen Moste sehr tief lagen. Außerdem war die Konzentration durch Wasserverlust in den meisten Fällen nicht sehr hoch. — Für den Weinsäure-Abbau durch *Botrytis* spricht dagegen, daß HAMPEL (1970) auch noch bei pH 7 einen Abbau von Na-Bitartrat durch *Botrytis* feststellen konnte. Der gleiche Autor fand auch, daß Glucose und Tartrat gleichzeitig verwertet werden. Bei gleich großem Angebot an Glucose und Weinsäure wurden fast gleiche Mengen Glucose und Weinsäure verbraucht. Wir schließen daher, daß die Weinsäure in den Beeren relativ stärker als Zucker abgebaut wird. Da auch in den Proben 11 bis 14, bei denen nur eine geringe oder keine Konzentration erfolgt ist, der Weinsäuregehalt im gleichen Maße abnahm, können die Ergebnisse von PEYNAUD *et al.* (1959) bestätigt werden, wonach Weinsäure relativ stärker als Äpfelsäure und als Zucker abgebaut wird.

Während die Weinsäure in den aus *Botrytis*-befallenen Beeren gewonnenen Mosten normalerweise um etwa 1—3 g/l tiefer lag, lagen die Äpfelsäurewerte der *Botrytis*-Moste im Durchschnitt um 1,8 g/l höher. Diese Zunahme von 21% liegt knapp unter der des Zuckers. Bei den Mosten, in denen keine Konzentration erfolgt, nahm der Malatgehalt sogar deutlich ab. Most-Proben, die hauptsächlich aus schon lange infizierten Beeren stammten, in denen also die Mycelbildung in den Beeren sehr stark war, wiesen nur eine geringe Zunahme (z. B. Nr. 9) oder sogar eine Abnahme des Malates auf (z. B. Nr. 12).

Nach den vorliegenden Werten scheint erwiesen, daß *Botrytis* in edelfaulen Beerenmaterial Äpfelsäure abbaut. Der Abbau liegt relativ auf der Höhe des Zuckerverbrauchs. Bei Edelfäule wird jedoch wie beim Zucker der Malatabbau von der Konzentrierung überrollt. Malat nimmt deshalb prozentual zu (z. B. Nr. 3; 5).

Eine Veresterung des Malats — eventuell mit Zuckern — ist nur in sehr geringem Umfange gefunden worden. Sie liegt bei gesunden und faulen Mosten in der gleichen Größenordnung.

Gluconsäurebildung (Tabelle 3)

Wie schon öfters nachgewiesen, bildet das infizierende *Botrytis*-Mycel in Traubenbeeren z. T. beträchtliche Mengen von Gluconat.

Bei dem vorliegenden Material beläuft sich die Gluconsäurebildung im Höchstfalle auf 3,8 g/l. POSTEL *et al.* (1972) hatten mit gleicher Methode in Weinen bis zu 5,15 g/l gefunden. Schon aufgrund der Größenordnung dieser Gluconatmengen wird deutlich, daß diese Säure bei Spitzenweinen einen sehr beträchtlichen, bisher völlig zu Unrecht vernachlässigten Anteil am Gesamtsäuregehalt haben kann.

Im Gegensatz zu RENTSCHLER und TANNER (1955) haben wir auch in Mosten und Weinen aus gesundem Lesematerial bis zu 250 mg Gluconat/l gefunden. Obwohl sich

Tabelle 3

Gluconsäure (g/l) in „gesunden“ und „faulen“ Mosten
Gluconic acid in "healthy" and "*Botrytis*-infested" musts

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	0,01	1,39	8	0,03	1,26
2	0,07	1,92	9	0,25	4,06
3	0,02	0,78	10	0,03	0,62
4	0,03	1,25	11	0,02	1,03
5	0,03	1,37	12	0,14	1,83
6	0,03	1,70	13	0,24	1,45
7	0,05	0,74	14	0,09	1,50

Tabelle 4

Zitronensäure und Oxalessigsäure (mg/l) in „gesunden“ und „faulen“ Mosten und den daraus gewonnenen Weinen
 Citric acid and oxalacetic acid (mg/l) in "healthy" and "Botrytis-infested" musts and in their wines

Nr.	Citratgehalt				Oxalessigsäure- gehalt Most faul
	Most gesund	Most faul	Wein gesund	Wein faul	
1	96	187	116	184	1,1
2	18	210	66	300	
3	50	157	111	—	
4	48	150	156	274	7,9
5	89	131	154	473	15,7
6	71	129	138	216	6,8
7	89	182	154	192	2,2
8	83	154	172	292	2,2
9	85	189	131	177	4,5
10	71	137	89	159	4,5
11	60	94	94	129	
12	68	99	—	220	7,8
13	76	58	146	238	
14	68	71	139	244	1,1
15	—	—	122	209	
∅	69	139	128	236	
	100%	201%	100%	184%	

der Gluconatgehalt während der Gärung nicht verändert und man ihn deshalb auch als wesentliches Merkmal von Weinen aus edelfaulen Beeren ansehen kann, so ist er als Maß für die exakte Beurteilung des Fäulnisgrades nur bedingt verwendbar.

Gluconsäure- γ -Lacton wurde in keinem Falle gefunden, weder in den Mosten, noch in den daraus gewonnenen Weinen.

Zitronen- und Oxalessigsäurebildung (Tabelle 4)

Nach CHARPENTÉ (1959) wird von *Botrytis* wohl in damit beimpften Traubenmosten, nicht aber in *Botrytis*-infizierten Traubenbeeren Zitronensäure gebildet. Diese Aussage wurde nachgeprüft.

Die vorliegenden Analysenwerte widerlegen die Ansicht von CHARPENTÉ (a. a. O.). Während der Citratgehalt in gesunden Mosten immer unter 100 mg/l lag, war er bei faulen Mosten einschließlich der schwundfaulen Proben im Durchschnitt doppelt so hoch. In den schwundfaulen lag er unter 100 mg/l.

Wie die Ergebnisse weiter zeigen, ist der Citratgehalt der Weine gegenüber den zugrundeliegenden Mosten wesentlich erhöht. Bei den Weinen aus gesunden Mosten betrug diese Steigerung im Durchschnitt 58 mg/l, bei den aus faulen Mosten 94 mg/l.

Die Hefe bildet also nicht nur unter aeroben, sondern auch unter Gärungsbedingungen Citrat. Das heißt, daß der Citratzyklus auch unter anaeroben Bedingungen keineswegs ganz zum Erliegen kommt.

Da unter den gegebenen Infektionsbedingungen ein aerober Stoffwechsel von *Botrytis* nicht nur wahrscheinlich, sondern durch den Nachweis der Bildung von

Gluconat und Citrat auch bewiesen ist, wurde auch ein zweiter Metabolit des Citratzyklus, die Oxalessigsäure, bestimmt. Dies auch deshalb, weil Oxalacetat als Ketoverbindung, ähnlich wie Pyruvat, als SO_2 -Bindungspartner wirken kann und eventuell die erhöhte SO_2 -Bindung fauler Moste erklären könnte.

In den Mosten aus gesunden Beeren war Oxalacetat nicht nachzuweisen. In den Mosten aus faulen Beeren war jedoch dieser Metabolit in nicht unbeträchtlichen Mengen vorhanden (vgl. Tabelle 4). Der Oxalacetatgehalt war besonders in den Proben hoch, die ein starkes Pilzwachstum mit starker Sporenbildung zeigten (Moste 4, 5, 6 und 12) und die auch bei der Gärung viel Pyruvat und Acetaldehyd bildeten. Oxalessigsäure scheint also erst bei starkem Mycelwachstum des Pilzes in der Beere, d. h. in älteren Infektionsstadien in größeren Mengen gebildet zu werden. Die gefundenen Quantitäten lassen schließen, daß Oxalacetat an der Erhöhung der SO_2 -Bindung edelfaulen Lesegutes beteiligt ist.

In den Weinen war Oxalacetat nicht mehr nachzuweisen. Es wurde also von den Hefen verbraucht. Wahrscheinlich wird es zu Pyruvat decarboxyliert und auf dem üblichen Wege der Äthanolbildung zugeführt.

Glycerinbildung (Tabelle 5)

Die Glycerinbildung von *Botrytis* in infizierten Beeren ist seit MÜLLER-THURGAU (1888) bekannt. Sie ist die Ursache für den meist sehr hohen Glycingehalt von Spitzengewächsen (DITTRICH 1964).

Auch bei den hier untersuchten Proben übertraf der Glycingehalt der gesunden Moste 1 g/l nur in einem Falle. Die faulen Moste dagegen zeigten stets eine starke Erhöhung ihrer Glycerinwerte, im höchsten Falle um 13,25 g/l auf 14,20 g/l.

Durch die Gärung wurde der Glycingehalt bei den gesunden und bei den faulen Mosten unterschiedlich erhöht. Bei den gesunden Mosten liegt die durchschnittliche Glycerinbildung um 2,3 g/l höher als bei den faulen Mosten. Wir (1964) hatten schon früher MÜHLBERGER und GROHMANN (1962) widerlegt, die im Gegen-

Tabelle 5

Glycerin (g/l) in „gesunden“ und „faulen“ Mosten und den daraus gewonnenen Weinen
Glycerol (g/l) in "healthy" and "*Botrytis*-infested" musts and in their wines

Nr.	Most gesund	Most faul	Wein gesund	Wein faul
1	0,65	6,9	11,1	15,2
2	1,00	12,2	5,0	15,7
3	0,45	10,0	7,6	—
4	0,05	10,4	15,0	15,4
5	0,45	4,3	12,8	21,8
6	0,95	14,2	4,4	18,9
7	0,70	8,7	9,9	10,8
8	0,45	5,0	10,4	22,4
9	1,60	10,7	7,4	11,8
10	0,90	6,2	5,2	8,6
11	0,20	9,8	5,3	8,8
12	0,80	9,9	5,0	13,2
13	0,70	5,7	5,2	7,5
14	0,45	11,1	5,2	9,0
∅	0,67	8,9	7,8	13,8

Tabelle 6

Acetaldehyd (mg/l) in Weinen aus gesunden und faulen Beeren
 Acetaldehyde (mg/l) in wines from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	13,0	24,4	8	4,8	12,5
2	19,3	20,1	9	12,1	17,8
4	9,3	27,6	10	12,4	19,3
5	19,9	20,6	11	12,5	21,0
6	9,8	23,4	12	14,2	23,0
7	8,8	17,0	13	18,1	16,7
			14	6,1	14,1

satz dazu eine erhöhte Glycerinbildung während der Gärung in edelfaulen Mosten annahmen. Da die Glycerinbildung mit einer Konzentrationserniedrigung des normalen H-Acceptors Acetaldehyd steigt, ist umgekehrt beim vermehrten Vorliegen hydrierbarer Mostinhaltsstoffe, die in den stärker oxidierten faulen Mosten angenommen werden müssen, die geringere Glycerinbildung verständlich.

Im einzelnen zeigt die Glycerinbildung starke Schwankungen, die z. T. nur schwer erklärbar sind. Das gilt besonders für die „faulen“ Moste 11 und 14, bei denen der Glyceringehalt während der Vergärung abgenommen hat. Das ist bisher nur bei der Sherry-Bereitung nachgewiesen. Die errechneten Durchschnitte sind deshalb nur mit Vorbehalt zu bewerten.

Acetaldehyd (Tabelle 6)

Die Werte der untersuchten gesunden und faulen Moste waren etwa gleich, jedoch alle unter 3 mg/l. Wir waren schon früher zum gleichen Ergebnis gekommen (DITTRICH *et al.* 1970). Es ist allerdings nicht auszuschließen, daß die Acetaldehydbildung in den Beeren doch höher ist und auch die Werte der Moste höher liegen, aber infolge des niedrigen Siedepunktes starke Substanzverluste am Stock und bei der Aufbereitung der Beeren eintreten.

Stark unterschiedlich ist dagegen die Acetaldehydbildung während der Gärung bei gesunden und faulen Mosten. Bei der Gärung von faulen Mosten wird nämlich wesentlich mehr Acetaldehyd gebildet; im Durchschnitt aller Proben 58%.

Die Erklärung für die erhöhte Acetaldehydbildung ist möglicherweise im vermehrten Gehalt an hydrierbaren Stoffen in diesen oxidierten Mosten zu sehen. Der anfallende Acetaldehyd wird dann zu einem geringeren Prozentsatz hydriert als bei der Vergärung der gesunden Moste.

Pyruvat (Tabellen 7, 8)

Der neben Acetaldehyd bedeutendste SO₂-Bindungspartner in Wein ist Brenztraubensäure.

In den Mosten lagen die Werte relativ niedrig. Bei den faulen Mosten waren sie allerdings im Durchschnitt um 50% höher als bei den gesunden. Diese Ergebnisse stimmen mit unseren früheren (DITTRICH *et al.* 1970) überein.

Bei der Vergärung zeigt sich ein enormer Einfluß der Fäulnis auf die Pyruvatbildung der Hefe: Die Pyruvat-Werte, die die faulen Moste lieferten, lagen um das 3,5fache höher als die der gesunden Moste.

Dieser so starke Pyruvat-Stau ist wahrscheinlich durch Thiamin-Mangel verursacht. *Botrytis* hat anscheinend dieses Vitamin, das in Form seines Pyrophos-

Tabelle 7

Pyruvat (mg/l) in Mosten aus gesunden und faulen Beeren
 Pyruvic acid (mg/l) in musts from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	4,5	6,5	8	2,1	5,6
2	1,8	7,2	9	3,5	2,6
3	3,1	0,6	10	8,2	3,6
4	4,0	4,0	11	6,1	18,5
5	1,8	7,2	12	5,2	8,1
6	0,8	2,2	13	2,8	3,7
7	2,7	2,8	14	3,8	5,6

Tabelle 8

Pyruvat (mg/l) in Weinen aus gesunden und faulen Beeren
 Pyruvic acid (mg/l) in wines from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	20	100	9	60	144
2	45	98	10	48	192
4	51	204	11	35	136
5	59	140	12	50	119
6	37	222	13	17	70
7	91	158	14	19	68
8	72	114	15	25	54

phatderivates als Coenzym des Pyruvat-umsetzenden Enzyms im Hefestoffwechsel benötigt wird, verbraucht. Es steht daher der Hefe nicht mehr zur Verfügung. Daß unter diesen Thiamin-Mangel-Verhältnissen Pyruvat infolge geringer Decarboxylase-Aktivität der Hefe angestaut wird, während der Stau mit Thiamin unter sonst gleichen Umständen aufzuheben ist, ist schon früher von uns gezeigt worden (DITTRICH 1969). Bei anderer Gelegenheit hatten wir bei langsamen Gärungen, wie sie durch hohe Zuckergehalte von Auslesen verursacht sein könnten, ebenfalls eine sehr hohe Pyruvatbildung gefunden (DITTRICH *et al.* 1969). Im damaligen Falle hatte es sich aber um eine Umkehrung des Acetaldehyd-/Pyruvat-Verhältnisses gehandelt. Um diesen Effekt handelt es sich hier kaum, denn erstens sind die faulen Moste durch die *Botrytis*-Infektion substantiell tiefgreifend verändert, zweitens ist ihr Zuckergehalt nicht wesentlich erhöht, so daß drittens die Gärungshemmung der faulen Moste nur gering war. Viertens ist hier schließlich auch die Acetaldehydbildung stark erhöht.

Ketoglutarat (Tabellen 9, 10)

Der dritte wesentliche SO_2 -Bindungspartner ist 2-Ketoglutar Säure. Der durchschnittliche Gehalt der gesunden Moste betrug 10 mg/l, der der faulen 21,5 mg/l, also mindestens das Doppelte. Damit bestätigt sich unsere frühere Aussage (DITTRICH *et al.* 1970).

Neben den beiden anderen SO_2 -Bindern erhöhte sich durch die Gärung auch der Ketoglutaratgehalt stark. Bei den Weinen aus gesundem Material belief er sich

Tabelle 9

Ketoglutarat (mg/l) in Mosten aus gesunden und faulen Beeren
Ketoglutaric acid (mg/l) in musts from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Differenz
1	15,2	9,6	— 5,6
2	7,6	22,8	+ 15,2
3	13,7	46,0	+ 32,3
4	10,7	15,2	+ 4,5
5	7,6	41,2	+ 33,6
6	6,1	22,8	+ 16,7
7	9,1	15,2	+ 6,1
8	13,7	24,2	+ 10,5
9	9,1	6,1	— 3,0
10	10,7	22,9	+ 12,2
11	14,6	21,4	+ 6,8
12	9,1	19,8	+ 10,7
13	4,6	18,3	+ 13,7
14	9,2	12,2	+ 3,0

Tabelle 10

Ketoglutarat (mg/l) in Weinen aus gesunden und faulen Beeren
Ketoglutaric acid (mg/l) in wines from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	47,0	165,0	9	67,0	190,7
2	54,0	159,0	10	53,4	99,0
4	55,1	123,5	11	38,1	94,5
5	46,3	123,5	12	60,8	144,6
6	42,7	149,5	13	36,6	76,1
7	84,8	111,0	14	41,2	76,1
8	81,7	98,7	15	44,2	56,4

im Durchschnitt auf 49,7 mg/l, bei denen aus faulem Lesegut aber auf 119,0 mg/l.

Für diese starke Ketoglutaratbildung bei der Vergärung der faulen Moste ist höchstwahrscheinlich die gleiche Ursache maßgebend wie für ihre starke Pyruvatbildung: der Thiaminmangel.

Auch aus dieser hohen Ketoglutaratbildung muß man schließen, daß der Tri-carbonsäurekreislauf der gärenden Hefe mit nicht zu unterschätzender Intensität läuft. Die Ursache dessen könnte vielleicht in der stärkeren Oxidation der faulen Moste liegen.

SO₂-Bindung (Tabellen 11, 12)

Von besonderer Bedeutung für die Weinbereitung ist die SO₂-Bindung des Mostes und des Weines. Da die SO₂-Bindung normalerweise fast ausschließlich von den Acetaldehyd-, Pyruvat- und Ketoglutaratgehalten abhängt, sind diese Metaboliten vorstehend genau untersucht worden. Bei Mosten und Weinen aus faulem Lesegut ist das Vorkommen weiterer SO₂-Binder, z. B. des Oxalacetats, hier nachgewie-

Tabelle 11

SO₂-Bindung (mg/l) von Mosten aus gesunden und faulen Beeren
 SO₂-fixation (mg/l) of musts from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul	Nr.	gesund	faul
1	72	134	10	80	134
2	57	134	11	87	103
3	85	107	12	60	93
5	101	138	13	68	72
6	90	144	14	72	102

Tabelle 12

SO₂-Bindung (mg/l) von Weinen aus gesunden und faulen Beeren
 SO₂-fixation (mg/l) of wines from healthy and *Botrytis*-infested berries

Nr.	gesund	faul
4	80	152
5	82	157
10	50	131
11	66	83

sen worden. Weitere, wie z. B. Galacturonsäure, höhere Aldehyde usw. sind anzunehmen. Wir haben deshalb die SO₂-Bindung einiger dieser Moste bestimmt, was zumindest ein relatives Maß für das Vorkommen dieser Stoffe und zudem kellerwirtschaftlich relevant ist.

Leider konnten nicht alle Moste und Weine untersucht werden, da die vorhandenen Probenmengen dazu nicht ausreichten.

Bei den gesunden Mosten beträgt die durchschnittliche SO₂-Bindung 77 mg/l, bei den faulen aber 116 mg/l.

Die SO₂-Bindung dieser Weine aus *Botrytis*-infiziertem Traubenmaterial ist bis zu zweieinhalb mal höher als die der Weine aus gesunden Trauben.

Leucoanthocyane (Tabelle 13)

Bei Weinen besteht nach WUCHERPFENNIG und MILLIES (1973) ein enger Zusammenhang zwischen dem Polyphenol- und Gerbstoffgehalt einerseits und dem

Tabelle 13

Leucoanthocyan (mg/l) in Mosten und in einem Wein aus gesunden und faulen Beeren
 Leucoanthocyanins (mg/l) in musts and in one particular wine from healthy and *Botrytis*-infested berries

	Nr.	gesund	faul
Most	1	12,6	8,1
Wein	10	4,0	1,5
Most	11	35,8	3,8
Most	12	23,5	5,0
Most	13	12,6	5,2
Most	14	31,9	11,6

Leucoanthocyangehalt andererseits. Da von MÜLLER-THURGAU (1888) eine Zerstörung der „Gerbstoffe“ festgestellt worden war, wurde seine Aussage anhand des Vergleiches der Leucoanthocyane einiger Probenpaare überprüft.

Untersucht wurden nur Probenpaare, die äußerst schonend, d. h. ohne Zerstörung der sehr polyphenolhaltigen Beerenkerne gewonnen worden waren, da sonst eine Verfälschung der Ergebnisse zu befürchten gewesen wäre.

Die Analysenwerte erwiesen eine starke Abnahme des Leucoanthocyangehaltes bei den faulen Mosten. Dieses Ergebnis überträgt sich dann anscheinend insofern auf den Wein, als zwar eine Abreicherung während der Gärung durch die Hefe erfolgt, die aber bei Weinen aus gesunden und aus faulen Mosten wohl in der gleichen Größenordnung liegt, das bei den Mosten herrschende Verhältnis also erhalten bleibt, wie das Wertepaar für Wein 10 belegt.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht den Abbau von Beereninhaltsstoffen bzw. die Bildung von Stoffwechselprodukten aus ihnen durch *Botrytis* während der Infektion der Traubenbeeren. Zur Bestimmung des *Botrytis*-Einflusses auf die Veränderung der Moste wurden Moste aus *Botrytis*-infiziertem mit Mosten aus infektionsfreiem, im übrigen aber gleichem Beerenmaterial verglichen. Dieser Vergleich einiger für die Weinbereitung wichtiger Stoffe lieferte folgende Ergebnisse:

Weinsäure wurde bevorzugt abgebaut, relativ stärker als Zucker. Die Weinsäuregehalte der Moste aus *Botrytis*-befallenen Beeren lagen um etwa 1—3 g/l tiefer als die aus gesunden Beeren. — Äpfelsäure wurde ungefähr im gleichen Prozentsatz abgebaut, in dem Zucker verbraucht wurde. Die Äpfelsäurewerte der „faulen“ Moste waren daher im Durchschnitt um 1,5 g/l erhöht. — Glucosäure ist in „gesunden“ Mosten nur in relativ kleinen Mengen enthalten, „faule“ Moste können aber mehr als 4 g/l enthalten. Gluconolacton wurde nicht gefunden. — Zitronensäure war in „gesunden“ Mosten in Mengen unter 100 mg/l nachweisbar, „faule“ Moste enthalten etwa das Doppelte. Bei der Vergärung der Moste erhöhte sich der Zitratgehalt um fast das Doppelte. — Oxalessäure war in Mosten aus nicht infizierten Beeren nicht nachzuweisen. In stark infizierten Beeren ist die Oxalacetatbildung aber beträchtlich. Der Höchstwert betrug 15,7 mg/l. In den Weinen konnte dagegen kein Oxalacetat gefunden werden. — Glycerin: Während „gesunde“ Moste kaum 1 g/l enthalten, wurde als Ergebnis der *Botrytis*-Infektion im Höchsthalle 14,20 g Glycerin/l festgestellt. Durch die Gärung wurde der Glycerinwert bei den „gesunden“ Mosten relativ stärker erhöht als bei den „faulen“. — Acetaldehyd: Die Werte der „gesunden“ und der „faulen“ Moste lagen alle unter 3 mg/l. Bei der Vergärung der „faulen“ Moste wurde 58% mehr Acetaldehyd gebildet. — Pyruvat war in den „faulen“ Mosten um 50% erhöht. Bei der Vergärung war die Pyruvat-Bildung der „faulen“ Moste 3,5mal höher als die der gesunden. Der starke Pyruvat-Stau wird wahrscheinlich durch Thiamin-Mangel verursacht. — Ketoglutarat enthalten die „gesunden“ Moste durchschnittlich 10 mg/l, die „faulen“ 21,5 mg/l. Nach der Gärung enthielten die „gesunden“ Proben 49,7 mg/l, die „faulen“ 119,0 mg/l. — SO₂-Bindung: Sie betrug bei den „gesunden“ Mosten durchschnittlich 77 mg/l, bei den „faulen“ 116 mg/l. — Leucoanthocyane haben bei *Botrytis*-Befall der Beeren stark abgenommen. Während der Gärung erfolgte eine Verringerung durch die Hefe. Ein Jungwein aus „gesunden“ Beeren enthielt 4,0 mg/l, sein Pendant aus „faulen“ Beeren aber nur 1,5 mg/l.

Literatur

- BEHRENS, J., 1898: Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg., 2. Naturwiss. Abt., Allgem. Landwirtsch. u. Tech. Biol. (Jena) 4, 739—746.
- BERGMAYER, U., 1970: Methoden der enzymatischen Analyse II, 2. Aufl., Weinheim.
- BOEHRINGER,-Firmenschrift, 1972: Enzymatische Analyse in der Lebensmittelchemie. Mannheim.
- CHARPENTÉ, Y., zit. nach SCHANDERL (1959).
- DITTRICH, H. H., 1964: Über die Glycerinbildung von *Botrytis cinerea* auf Traubenbeeren und Traubenmosten, sowie über den Glyceringehalt von Beeren- und Trockenbeerenausleseweinen. Wein-Wiss. 19, 12—20.
- — , 1969: Untersuchungen zur Synthese der Brenztraubensäuredecarboxylase (E.C.4.1.1.1) bei Hefe. Arch. Mikrobiol. (Berlin) 64, 223—228.
- — und GONGSAGKI, S., 1969: Umkehrung des Brenztraubensäure/Acetaldehyd-Verhältnisses bei der Vergärung von Traubenmost in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 139, 345—348.
- — STAUDENMAYER, T. und SPONHOLZ, W. R., 1970: Jahresber. Hess. FA Geisenheim, 53—55.
- GENTILE, A. C., 1954: Carbohydrate metabolism and oxalic acid synthesis by *Botrytis cinerea*. Plant Physiol. 29, 257—261.
- HAMPEL, W., 1970: Zum Stoffwechsel der Weinsäure in Pilzen. Mitt. Klosterneuburg 20, 356—367; 456—466.
- MÜHLBERGER, F. H. und GROHMANN, H., 1962: Über das Glycerin in Traubenmosten und Weinen. Dt. Lebensm.-Rundsch. (Stuttgart) 58, 65—69.
- MÜLLER-THURGAU, H., 1888: Die Edelfäule der Trauben. Landwirtsch. Jahrb. Schweiz (Bern) 17, 83—160.
- OLSCHINKE, D., NIESNER, E. und JUNGE, C., 1969: Bestimmung der Äpfelsäure in Weinen und Traubensäften. Dt. Lebensm.-Rundsch. (Stuttgart) 65, 383—384.
- PEYNAUD, E., LAFOURCADE, S. et CHARPENTÉ, Y., 1959: Recherches sur les transformations du raisin par *Botrytis cinerea*. Vignes et Vins (Paris), Feuill. Tech. 75, 6—8.
- POSTEL, W., DRAWERT, F. und MACCAGNAN, G., 1972: Über den Gehalt an D-Gluconsäure in Weinen verschiedener Qualitätskategorien. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 1, 151—155.
- RAPP, A. und REUTHER, K. H., 1971: Der Gehalt an freien Aminosäuren in Traubenmosten von gesunden und edelfaulen Beeren verschiedener Rebsorten. Vitis 10, 51—58.
- REBELEIN, H., zit. nach VOGT, E., 1970: Handbuch der Kellerwirtschaft III, Weinchemie und Weinanalyse. 3. Aufl., Stuttgart, 325.
- RENTSCHLER, H. und TANNER, H., 1955: Über Weine aus edelfaulen Trauben. Dt. Weintztg. 91, 30—32.
- RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., LAFOURCADE, S. et CHARPENTÉ, Y., 1955: Recherches biochimiques sur les cultures de *Botrytis cinerea*. Bull. Soc. Chim. Biol. 37, 1055—1076.
- SCHANDERL, H., 1959: Handbuch der Kellerwirtschaft II, Mikrobiologie des Mostes und Weines. 2. Aufl., Stuttgart, 206—207.
- STALDER, L., 1954: Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* PERS.) an Trauben. 2. Mitt. Über den Zucker- und Säureverbrauch des Pilzes und die Wirkung einiger Nährstoffe auf das Wachstum. Phytopathol. Z. (Berlin) 22, 345—380.
- THEN, R. und RADLER, F., 1968: Zur Bestimmung von Acetaldehyd. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 138, 163—169.
- WUCHERPFENNIG, K. und MILLIES, K., 1973: Über eine Schnellmethode zur Bestimmung der Leucoanthocyane in Weinen. Weinbau-Jahrb., 157—160.

Eingegangen am 12. 9. 1973

Prof. Dr. H. H. DITTRICH
Hess. Forschungsanstalt f.
Wein-, Obst- und Gartenbau
Inst. f. Mikrobiol. u. Biochemie
6222 Geisenheim

