

Gehalt an freien Aminosäuren und biogenen Aminen in ungarischen Mosten aus biologischer Traubenproduktion

DIÁNA NYITRAI SÁRDY und MIKLÓS KÁLLAY

Wirtschafts- und Verwaltungsuniversität, Fakultät für Lebensmittelwissenschaft
Lehrstuhl für Oenologie
H-1118 Budapest, Villányi út 29-43
E-Mail: Diana.Sardy@uni-corvinus.hu

*In Ungarn sind Bioprodukte, so auch Bioweine immer mehr gefragt. Im biologischen Weinbau ist der Stickstoffein-
satz, der den Gehalt an stickstoffhaltigen Verbindungen in Most und Wein beeinflussen kann, ganz anders als beim
herkömmlichen Anbau. Freie Aminosäuren im Most sind eine gute Nährstoffquelle für Hefen. Biogene Amine sind
Inhaltsstoffe vieler Lebens- und Genussmittel. Sie entstehen aus Aminosäuren mit Decarboxylierung durch Milch-
säurebakterien. Die Anwesenheit von Aminen in Weinen weist auf die hygienischen Umstände bei der Herstellung
hin. In unserer Arbeit wurden freie Aminosäuren und biogene Amine in ungarischen Biomosten bestimmt. Unsere
Ergebnisse entsprechen den Angaben aus der Literatur. In höchster Konzentration lagen die Aminosäuren Prolin
und Arginin vor. Hinsichtlich biogener Amine wurde festgestellt, dass die Moste Ethylamin und Methylamin in hö-
herer Konzentration enthalten. Histamin wurde nur in zwei Proben gefunden. Weitere Untersuchungen über bio-
gene Amine in Bioweinen sollen durchgeführt werden.*

Schlagwörter: Traubenmost, Aminosäuren, biogene Amine

*Contents of free amino acids and biogenic amines in Hungarian musts from organically grown grapes. In Hungary
organic products as well as organic wines are getting more and more popular. In organic viticulture the nitrogen ap-
plication, which can influence the contents of nitrogenous compounds in must and wine, is completely different from
that in conventional viticulture. Free amino acids are a good source of nutrients for yeasts. Biogenic amines are
found in many foodstuffs and semiluxury foods. They develop from amino acids through decarboxylation of lactic
acid bacteria. When amino acids are present in wine, this is an indicator for insufficient hygienic conditions during
the winemaking process. In this investigation free amino acids and biogenic acids were determined in Hungarian or-
ganic musts. Our results correspond to those found in literature. The amino acids proline and arginine were detected
in highest concentrations. With respect to biogenic amines it was found that the must contained ethylamine and me-
thylamine in higher concentrations. Histamine was only detected in two samples. Additional investigations into bio-
genic amines in organic wines should be carried out.*

Key words: Free amino acid, biogenic amines, Hungarian organic musts

*La teneur en acides aminés libres et en amines biogènes des moûts hongrois fabriqués à partir de raisins biologi-
ques. En Hongrie, la demande en produits biologiques, donc également en vins biologiques, va en augmentant.
Dans la viticulture biologique, l'azote pouvant influencer la teneur en composés azotés des moûts et des vins est uti-
lisé d'une manière complètement différente de la culture traditionnelle. Les acides aminés libres dans le moût sont
une bonne source de substances nutritives pour les lies. Les amines biogènes sont contenus dans beaucoup de denrées
alimentaires et de luxe. Ils se constituent à partir d'acides aminés par voie de décarboxylation par des bactéries lacti-
ques. La présence d'amines dans les vins constitue un indice des circonstances hygiéniques de la production. Dans le
cadre de notre travail, nous avons déterminé les acides aminés libres et les amines biogènes dans les moûts biologi-
ques hongrois. Nos résultats sont conformes aux indications trouvées dans la littérature. Les acides aminés proline*

et arginine présentaient la concentration la plus élevée. En ce qui concerne les amines biogènes, il a été constaté que les moûts contiennent de l'éthylamine et de la méthylamine dans une concentration plus élevée. L'histamine n'a été trouvée que dans deux échantillons. D'autres recherches relatives aux amines biogènes dans des vins biologiques doivent être menées.

Mots clés : moût de raisins, acides aminés, amines biogènes

In Ungarn nehmen der biologische Weinbau und die damit verbundene Herstellung von Bio-Weinen mehr und mehr zu. Die Herstellung von Bio-Produkten wird durch Vorschriften der Biokultura-Vereinigung geregelt (ROSZIK, 1997). Bei den Vorschriften, die sich auf den Weinbau beziehen, wurden die Empfehlungen von IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) beachtet (SÁRKÖZY und SELÉNDY, 1993). Die Nährstoffzufuhr ist ganz anders als bei der konventionellen Herstellung geregelt, insbesondere ist die Verwendung von Mineraldünger verboten (SZÖKE, 2004). Bei der Herstellung von Bio-Wein sind weniger Zusatzstoffe zugelassen als bei der klassischen Weinbereitung. Im Bio-Anbau verwenden die Landwirte Stoffe, die an Ort und Stelle zur Verfügung stehen, und bevorzugen Methoden, die zur Verwertung von beim Anbau entstandenen organischen Substanzen und zur Erschließung des vorhandenen Nährstoffgehalts des Bodens beitragen.

Stickstoffhaltige Verbindungen im Most sind für Hefen und den optimalen Verlauf der alkoholischen Gärung sehr wichtig (LEHTONEN, 1996; AGENBACH, 1977). Hefen bevorzugen in erster Linie Ammonium und freie α -Aminosäuren - außer Prolin - als Stickstoffquelle. Ein Mangel an so genannten assimilierbaren oder hefeverfügbaren Stickstoffen im Most kann Fehlgerüche in Form eines „Böckers“ und/oder Gärfehler zur Folge haben (SOUFLEURS et al., 2003; VOS und GRAY, 1979).

Die mengenmäßig dominierenden Aminosäuren im Most sind Arginin, Prolin, Threonin, Glutamin, gamma-Glutaminsäure, Serin und Alanin, die zusammen ca. 85 % ausmachen (SOUFLEURS, 1998; WÜRDIG und WOLLER, 1989).

In Traube und Most können biogene Amine durch katabolischen Abbau von Aminosäuren gebildet werden. Die Decarboxylierung der Aminosäuren erfolgt vorwiegend mit Hilfe von *Pediococcus*- und *Lactobacillus*-Stämmen, die sich bereits auf der Traube oder im Most bzw. Wein befinden. Eine weitere Möglichkeit der Bildung von biogenen Aminen besteht infolge von Infektionen durch *Botrytis cinerea*, wobei zunächst Aldehyde und Ketone gebildet werden, aus denen dann durch Transaminierung die biogenen Amine entstehen (NICOLINI et al., 2003). Hohe Gehalte an biogenen Ami-

nen im Wein lassen auf schlechte hygienische Umstände bei der Herstellung schließen, weil biogene Amine durch unerwünschte Milchsäurebakterien, Pilzinfektion und Fäulniserreger gebildet werden (FÁTH und RADLER, 1994; EDER et al., 2002).

Die Gehalte biogener Amine im Wein sind auf Grund ihrer physiologischen und schädlichen Wirkung auf den menschlichen Organismus nicht belanglos. Diese negative Wirkung wird durch die Hemmung der aminabbauenden Monoaminoxidasen durch das im Wein vorkommende Ethanol und vor allem Ethanal verstärkt (BAUZA et al., 1995). Auch die Gegenwart weiterer Amine (z.B. Putrescin) kann eine nochmalige synergetische Steigerung der Toxizität bewirken. Eine gute Zusammenfassung zu diesem Thema wird in der Arbeit von NICOLINI et al. (2003) gegeben. Histamin wird durch die Decarboxylierung von Histidin gebildet. Bei allen Reaktionen der Aminbildung spielt Pyridoxol als Cofaktor eine wichtige Rolle. Die Befunde über den toxikologisch relevanten Schwellenwert von Histamin sind nicht eindeutig. Histamin kann Entzündungen und Allergien bewirken (SOLEAS et al., 1999). Es gibt in einigen Ländern Richtwerte für Höchstwerte von Histamin in alkoholischen Getränken, die im Bereich von 2 mg/l bis 10 mg/l liegen (EDER et al., 2002). Über den Histamingehalt von Weinen wurden schon zahlreiche Arbeiten veröffentlicht, aber nur wenige über Moste. (ZEE et al., 1983; OUGH, 1971; DESSER et al., 1981; RADLER und FÁTH, 1991; EDER et al., 2002). Tyramin wird durch die Decarboxylierung von Tyrosin gebildet. Die Wirkung von Tyramin auf den Blutdruck ist bedeutend. Eine toxikologische Wirkung ist insbesondere nachweisbar, wenn Kranke tyraminhaltige Speisen essen und gleichzeitig Medikamente einnehmen, die einen Monoaminoxidase-Inhibitor enthalten. Serotonin wird durch die Decarboxylierung von Tryptamin gebildet. Im ersten Schritt wird Tryptamin von Tryptophan gebildet. Heutzutage gilt Serotonin als ein bewährtes Medikament gegen Erkrankungen des Nervensystems.

Der Gehalt an biogenen Aminen in ungarischen Weinen und Sekten wurde bereits von KÁLLAY et al. (1981) sowie KÁLLAY und BÓDY-SZALKAI (1996) untersucht. Auch wurde in einer vorhergehenden Arbeit der Amingehalt in ungarischen Bio-Weinen analysiert (KÁLLAY

und SÁRDY, 2003). Im Rahmen dieser und früherer Untersuchungen konnten weder signifikante analytische noch signifikante sensorische Unterschiede zwischen Bio-Weinen und traditionell hergestellten Weinen festgestellt werden (KÁLAY und SÁRDY, 2000; KÁLLAY und SÁRDY, 2003). Grundsätzlich ist festzuhalten, dass es in der uns zugänglichen Fachliteratur nur wenige Artikel über die Zusammensetzung und Eigenschaften von Bio-Mosten und Bio-Weinen gibt (BOULOUMPASI, 2002). Insbesondere haben Untersuchungen über den Gehalt an freien Aminosäuren und biogenen Aminen in biologisch hergestellten Traubenmosten aus Ungarn bisher gefehlt. Daher war es die Zielsetzung dieser Arbeit, das Wissen und die Fachliteratur betreffend Bio-Produkte durch die Analyse von freien Aminosäuren und biogenen Aminen in ungarischen Bio-Mosten zu erweitern.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

Untersucht wurden biologisch hergestellte Traubenmoste (Bio-Moste) des Jahrgangs 2002 aus verschiedenen Weinbaugebieten in Ungarn. Die Moste wurden von ungarischen Bio-Weinbauern gesammelt und stammen somit direkt von den Weinbaubetrieben. Die Verarbeitung der Trauben erfolgte wie üblich mittels Traubenmühle, Abbeervorrichtung und Presse.

Mittels statistischer Methoden (F-Test, t-Test) wurde geprüft, ob signifikante Unterschiede in den Gehalten freier Aminosäuren oder biogener Amine zwischen weißen und roten Bio-Mosten bestehen (SVÁB, 1981).

Analytische Methoden

Bestimmung von freien Aminosäuren

Die Aminosäuren wurden mit Hilfe eines automatischen Aminosäureanalysators (Aminochrom II OE-914; Labormim, Ungarn) bestimmt. Die Trennung erfolgte mit dem Harz DC-4A (BST, Ungarn). Die photometrische Detektion erfolgte bei 570 nm (Ausnahme Prolin: bei 440 nm).

Bestimmung von biogenen Aminen

Es wurde die von LEHTONEN (1992) publizierte Methode in modifizierter Form verwendet. Zunächst wurden die Moste durch Membranfilter gereinigt und danach mit Ortho-Phthalaldehyd in Puffer derivatisiert.

Tabelle 1:
Gradientenelution

Ziel (min)	A %	B %
3,5	70	30
10	35	64
21	28	72
22	20	80
25	20	80
30	70	30

Hierfür wurden in 0,5 ml Pufferlösung 0,1 ml Most und 0,1 ml OPA Reagenz gegeben und gemischt. Für die Herstellung des Puffers wurden 0,5 g H_3BO_4 in 19 ml destilliertem Wasser gelöst und danach der pH-Wert mit 40 g/100 ml KOH auf 10,4 eingestellt. Nach zwei Minuten Reaktionszeit wurden 20 μ l in die HPLC injiziert. Die Trennung erfolgte mit einem HPLC-Gerät Typ 1050 der Fa. Agilent und einer Nucleosil C-18 Trennsäule (Agilent Technologies; 250 x 4 mm; 5 μ m). Die Detektion erfolgte mit einem Fluoreszenzdetektor (Fa. Agilent, HP 1046 A) bei einer Anregungswellenlänge von 340 nm und einer Messwellenlänge von 440 nm. Zur Elution der Substanzen wurde ein Laufmittelgradient (Tab. 1) bestehend aus 0,08 M Essigsäure und Acetonitril (HPLC-Qualität) mit einer Flussrate von 1,0 ml/min bei einer Temperatur von 30 °C gewählt.

Die biogenen Amine wurden mit Hilfe von Standards, die beispielsweise bei den Firmen Sigma und Fluka erhältlich sind, identifiziert. Die Konzentrationen der Verbindungen wurden mittels externer Kalibration bestimmt. Die Bestimmungsgrenze dieser Methode liegt bei 0,5 mg/l.

Ergebnisse

Die Gehalte an freien Aminosäuren in Mosten sind in Tabelle 2 und 3 wiedergegeben. In weißen Mosten (Tab. 2) betrug der Gesamtgehalt an Aminosäuren 409,3 bis 2078,3 mg/l. Den niedrigsten Wert wies der Most der Sorte 'Chardonnay' aus Etyek auf, den höchsten Wert hatte ein Most der Sorte 'Hárslevelű' aus Badacsony.

Die höchsten individuellen Konzentrationen wurden bei Prolin (351 bis 1.850 mg/l) und bei Arginin (10,3 und 489 mg/l) gemessen. In großer Menge wurden noch Lysin, Tyrosin und Leucin gemessen.

In roten Mosten lag der Gesamtgehalt an Aminosäuren zwischen 255,1 bis 1.170,6 mg/l (Tab. 3). Die niedrigste Konzentration wies ein Most der Sorte 'Zweigelt' aus

Tabelle 2:
Freie Aminosäurekonzentration in weißen Biomosten (n = 9)

Aminosäuren	Code	Minimum	Maximum	Mittelwert	S. D.
L-Asparaginsäure	ARG	1,2	5,2	3,5	1,3
L-Threonin	THR	1,9	4,2	2,8	0,5
Serin	SER	1,7	6,2	3,4	1,1
Glutaminsäure	GLU	3,2	4,8	4,5	1,7
Glycin	GLY	2,1	32,7	11,1	7,4
Alanin	ALA	4,7	75,2	20,3	16,1
Valin	VAL	1,3	8,5	3,8	1,8
Methionin	MET	1,6	12,5	5,6	2,5
Isoleucin	ILE	1,4	9,2	5,1	2,2
Leucin	LEU	4,4	32,5	15,5	9,4
Tyrosin	TYR	4,2	27,3	16,2	5,1
Phenilalanin	PHE	2,1	24,1	12,6	6,9
Lysin	LYS	12,6	77,1	38,9	18,7
NH ₄ ⁺		2,4	22,3	10,2	4,1
Histidin	HIS	3,2	26,3	12,1	6,0
Arginin	ARG	10,3	489,0	151,3	108,6
Prolin	PRO	351,0	1.850,0	765,1	345,0
Total		409,3	2.078,3	1.082,1	

Tabelle 3:
Freie Aminosäurekonzentration in roten Biomosten (n = 5)

Aminosäuren	Code	Minimum	Maximum	Mittelwert	S. D.
L-Asparaginsäure	ARG	1,2	5,2	4,2	1,2
L-Threonin	THR	2,3	4,3	3,4	0,6
Serin	SER	1,3	6,8	4,4	2,3
Glutaminsäure	GLU	2,2	6,2	4,4	1,2
Glycin	GLY	1,5	23,6	11,0	6,5
Alanin	ALA	2,9	35,1	17,3	7,9
Valin	VAL	2,9	10,3	5,6	2,9
Methionin	MET	2,7	15,3	6,4	3,5
Isoleucin	ILE	2,9	24,3	10,4	5,6
Leucin	LEU	2,4	35,7	27,1	17,6
Tyrosin	TYR	4,2	51,9	21,6	13,4
Phenilalanin	PHE	10,0	54,9	23,6	12,9
Lysin	LYS	17,2	109,0	58,6	33,6
NH ₄ ⁺		1,2	19,5	8,6	4,7
Histidin	HIS	2,8	35,4	17,3	8,2
Arginin	ARG	2,4	92,1	83,3	56,6
Prolin	PRO	195,0	641,0	428,8	140,2
Total		255,1	1170,6	736,1	

Balatonboglár auf, die höchste Konzentration wurde in einem 'Zweigelt'-Most aus Keszölc erreicht.

In allen Mosten waren Putrescin, Ethylamin und Methylamin enthalten (Abb. 1); diese Werte sind - verglichen mit Literaturwerten - sehr hoch, aber sie können mit Bentonit reduziert werden (RADLER und FÄTH, 1991; EDER et al., 2002). Serotonin konnte in allen Proben nachgewiesen werden, die höchste Konzentration von 23,7 mg/l wies ein 'Merlot' aus Balatonboglár, und die niedrigste Konzentration von 9,9 mg/l ein Király-

leányka'-Most aus Balatonboglár auf (Abb. 2). Histamin konnte nur in zwei Mosten nachgewiesen werden: 15,7 mg/l in einem Most der Sorte 'Furmint' aus Tokaj und 23,7 mg/l in einem Most der Sorte 'Cabernet Sauvignon' aus Balatonboglár (Abb. 3). Die präsentierten Ergebnisse entsprechen im Wesentlichen den bereits von DESSER et al. (1981) publizierten Werten. Die Untersuchung der biogenen Amine ergab Gesamtgehalte von 37 mg/l bis 168 mg/l. (Abb. 4.).

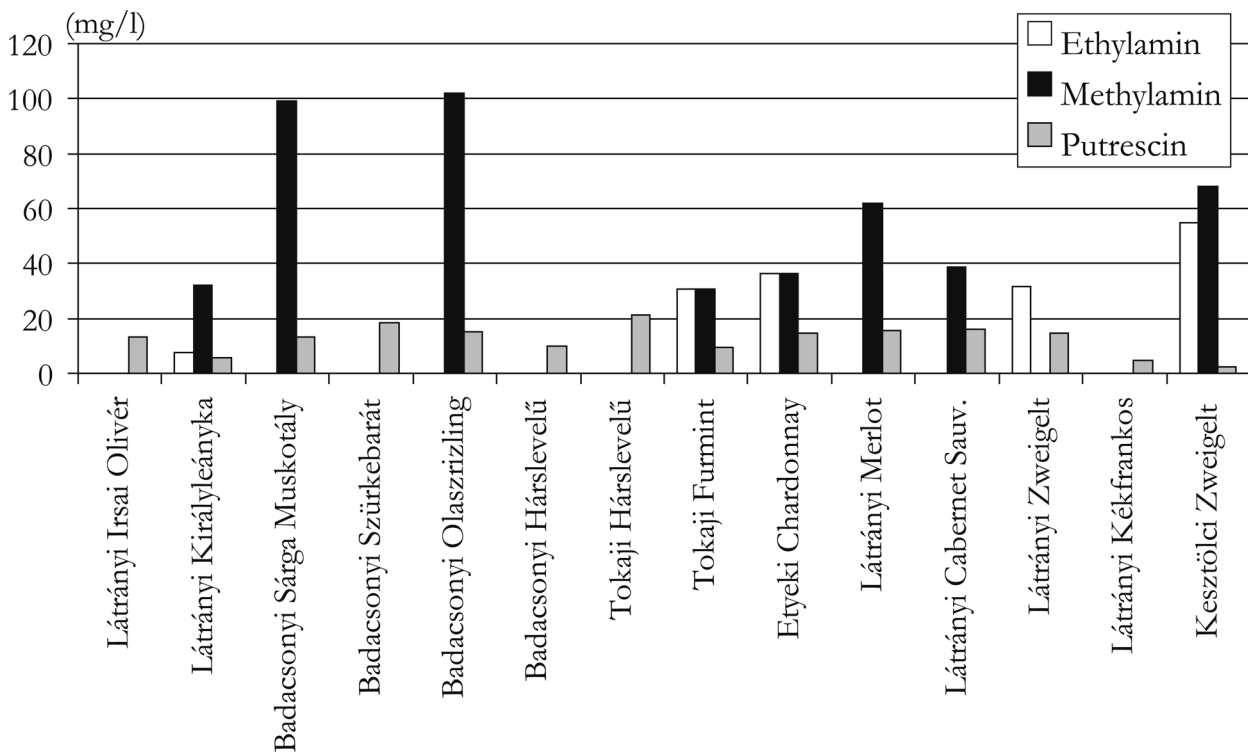


Abb. 1: Ethylamin und Methylamin in Ungarischen Biomosten

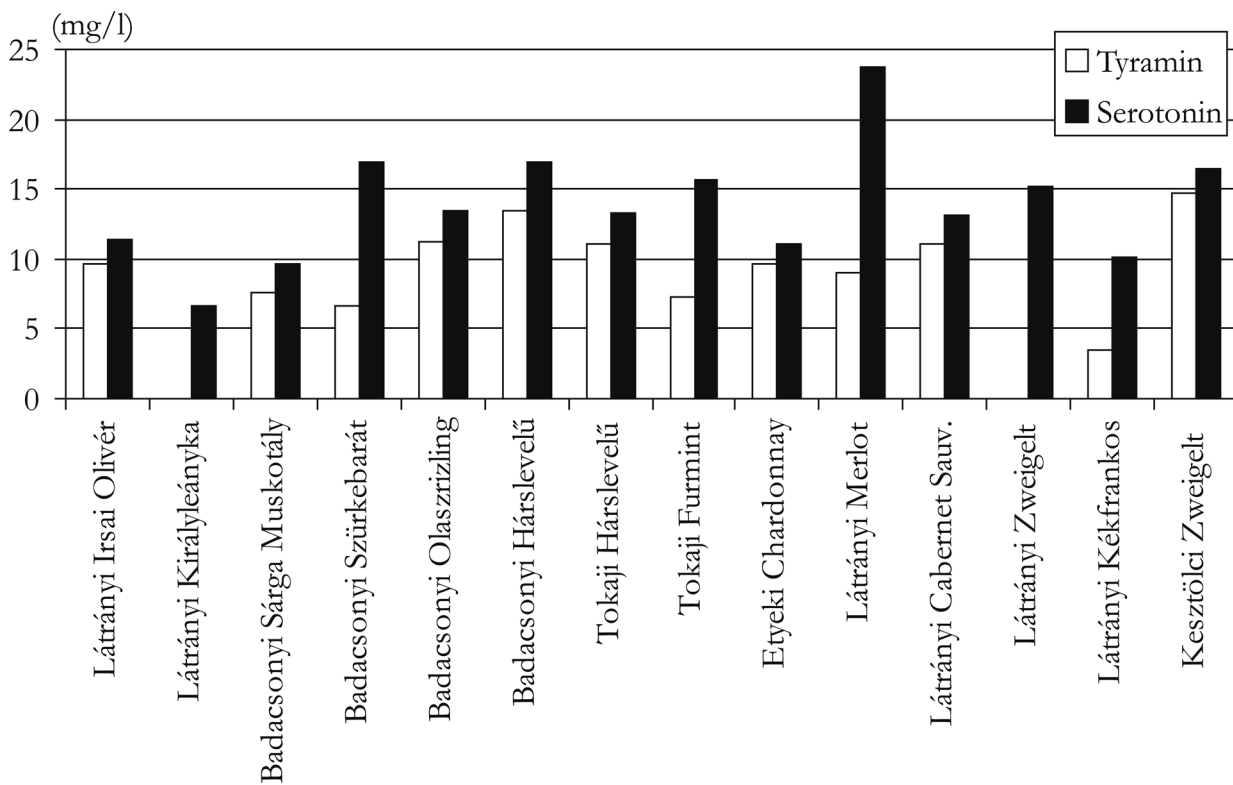


Abb. 2: Thyramin und Seratoningehalt in Biomosten

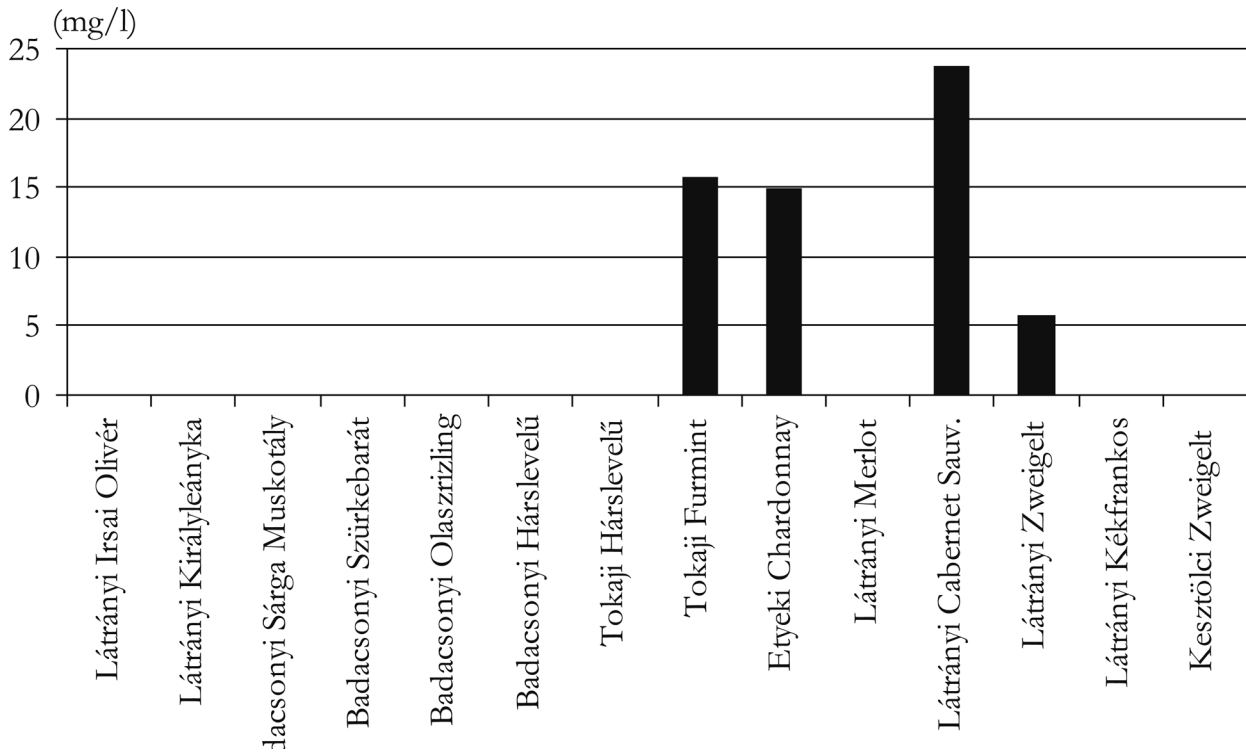


Abb. 3: Histamingehalt in Ungarischen Biomosten

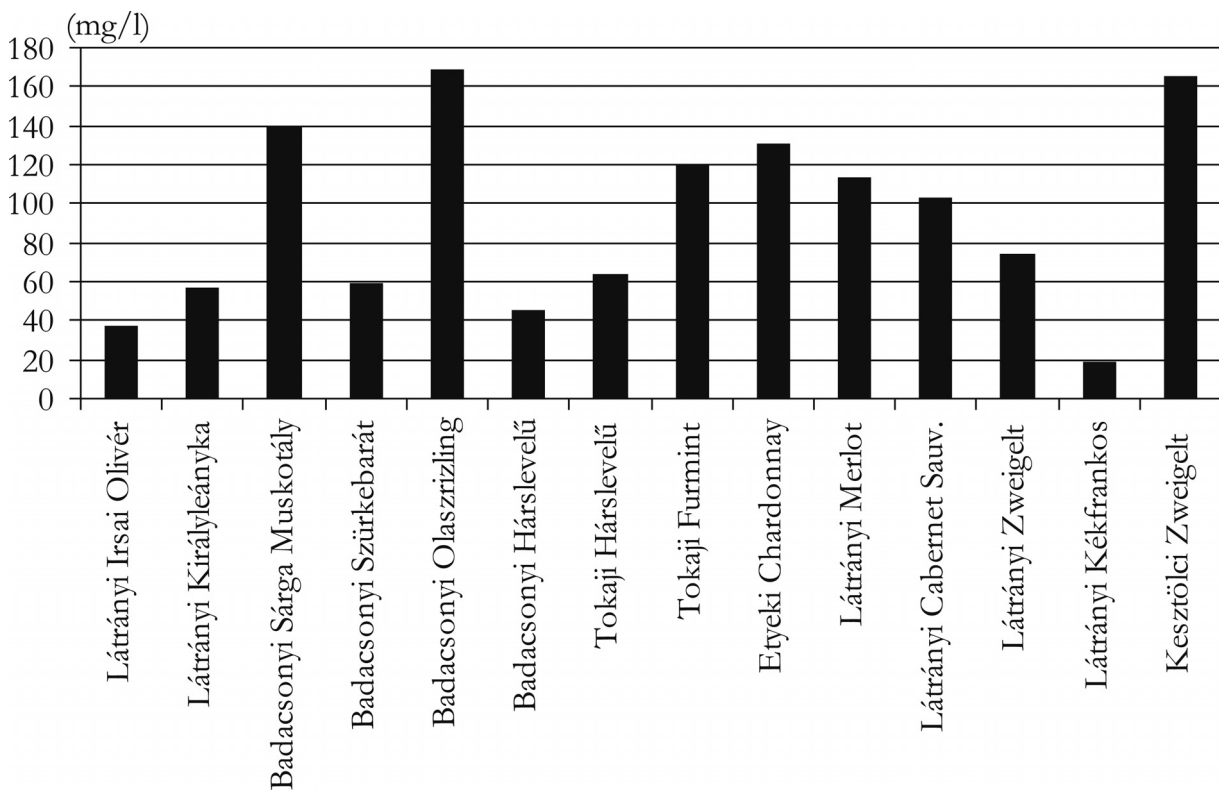


Abb. 4: Biogene Amine in Ungarischen Biomosten

Tabelle 4:
Ergebnisse der statistischen Auswertung

	Tyramin	Serotonin	Totalamine
s ₁	14,93	12,14	2349,01
s ₂	35,03	25,97	2349,01
F	2,34	2,13	1,23
F _{5%}	6,04	6,04	6,04
t-Wert	0,35	1,29	0,12
t _{5%}	1,78	1,78	1,78
t _{1%}	0,26	2,17	2,17

Die Ergebnisse der statistischen Tests ergaben, dass hinsichtlich der Gesamtgehalte an biogenen Aminen und des Gehalts einzelner Amine, insbesondere Tyramin und Serotonin, keine signifikanten Unterschiede ($p < 0,01$) zwischen weißen und roten Bio-Mosten bestehen (Tabelle 4).

Weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der Gehalte an biogenen Aminen in Bio-Weinen sind vorgesehen.

Literatur

- AGENBACH, W.A. (1977): A study of must nitrogen content in relation to incomplete fermentation, yeast production and fermentation activity. Proc. of the South African Society for Enology and Viticulture, p. 66-88. - Kapstadt, 1977
- BAUZA, T., BLAISE, A., MESTRES, J.P., TEISSÉDRE, P.L., DAUMAS, F. and CABANIS, J.C. 1995: Biogenic amines contents and their variation parameters in Côtes du Rhône, Vallée du Rhône and Provence wines. Sci. Aliments 15(4): 367-380
- BOULOUMPASI, E., SOUFLEROS, E.H., TSARCHOPOULOS, C. and BILIADERIS, C.G. 2002: Primary amino acids composition and its use in discrimination of Greek red wines with regard to variety and cultivation region. Vitis 41(4): 195-202
- DESSER, H., BANDION, F. und KLÄRING, W. 1981: Zur Kenntnis einiger biogener Amine des Traubenmostes und Traubenweines. Mitt. Klosterneuburg 31: 231-237
- EDER, R., BRANDES, W. und PAAR, E. 2003: Einfluss von Traubenfäulnis und Schönungsmitteln auf Gehalte biogener Amine in Mosten und Weinen. Mitt. Klosterneuburg 53: 204-217
- FÄTH, K.-P. und RADLER, F. 1994: Untersuchung der Aminbildung bei Milchsäurebakterien. Wein-Wiss. 49(1): 11-17
- KÁLLAY, M. and SÁRDY, D.: Determination of biogenic amine content of natural wine. Int. J. Hortic. Sci. 9(3/4): 91-97
- KÁLLAY, M. e BÓDY-SZALKAI, M. 1996: Ammine biogene nei vini ungheresi. Riv. Vitic. Enol. 44(3): 29-38
- KÁLLAY, M., BAJNÓCZY, G. és NEDELKOVITS, J. 1981: Magyar borok és pezsgők biogén-amin tartalmának vizsgálata különös tekintettel a hisztamin-koncentrációra. Borgazdaság 29(4): 145-148
- KÁLLAY, M. és SÁRDY, D. 2000: A bio- és hagyományos borok összehasonlítása kémiai, érzékszervi pontból. Borászati Füzetek, Tudományos melléklet (6):12-16
- LEHTONEN, P. 1996: Determination of amines and amino acids in wine. Am. J. Enol. Vitic. 47(2): 127-133
- LEHTONEN, P., SAARINEN, M., VESARO, M. and RIEKKOLA, M.R. 1992: Determination of wine amines by HPLC using automated precolumn derivatisation with o-phthalaldehyde and fluorescence detection. Z. Lebensm.-Unters. Forsch. 194: 434-437
- NICOLINI, G., LARCHER, R. e BERTOLDI, D. 2003: Indagine sul tenore di ammine libere in mosti d'uve di varietà autotone. Rivista di Viticoltura e di Enologia (1): 15-29
- OUGH, S.C. 1971: Measurement of histamine in California wines, J. Agric. Food.Chem. 19(2): 241-244
- RADLER, F. and FÄTH, K.-P. (1991): Histamine and other biogenic amines in wines. In: Rantz, J.M. (Ed.): Proc. Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wines, p. 185-195. - Seattle, 1991
- ROSZIK, P. (1997): Biotermékek előállítása és minősítése. - Budapest: Palatia Nyomda és Kiadó, 1997
- SÁRKÓZY, P. es SELÉNDY, S. (1993): Biogazda, I. - Budapest: Mezőgazda Kiadó, 1993
- SOLEAS, G.J., CAREY, M., GOLDBERG, D.M. 1999: Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines Food Chemistry 64(1): 49-54
- SOUFLEURS, E., BARRIOS, M.L., BERTRAND, A. 1998: Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds American J. Enol. Vitic. 49(3): 266-278
- SOUFLEURS, E.H., BOULOUMPASI, E., TSARCHOPOULOS, C. and BILIADERIS, C.G. 2003: Primary amino acids profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. Food Chemistry 80: 261-273
- SVAB, J. (1981): Biometria módszerek a kutatásban. - Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 1981
- SZŐKE, L. (2004): Bioszőlő, biobor. - Budapest: Mezőgazda Kiadó, 2004
- VOS, P.J.A. and GRAY, R.S. 1979: The origin and control of hydrogen sulfide during fermentation of grape must. Am. J. Enol. Vitic. 30: 187-197
- WÜRDIG, G. und WOLLER, R. (1989): Chemie des Weines. - Stuttgart: Ulmer, 1989
- ZEE, J.A., SIMARD, R.E., L'HEUREUX, L., TREMBLAY, J. 1983: Biogenic amines in wines. Am. J. Enol. Vitic. 34(1): 6-9

Manuskript eingelangt am 13. September 2004