

# Einfluss kellertechnischer Maßnahmen auf biogene Amine in Wein

ANTONIE BINNER<sup>1</sup>, INGA SMIT<sup>1</sup>, OTMAR LÖHNERTZ<sup>1</sup>, ALBERT LINSSENMEIER<sup>1</sup>, MANFRED GROSSMANN<sup>1</sup> UND DIETER TREUTTER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hochschule Geisenheim  
D-65366 Geisenheim, von-Lade-Straße 1  
E-Mail: albert.linsenmeier@hs-gm.de

<sup>2</sup>Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt  
D-85354 Freising, Alte Akademie <sup>8</sup>

*Die gängigen Maßnahmen der kellerwirtschaftlichen Verfahrenskette wurden in mehreren Versuchen auf die Bildung biogener Amine im Wein überprüft. Den signifikanten Ergebnissen bei zum Teil großen relativen Unterschieden der biogenen Amine standen absolut gesehen sehr niedrige, unbedenkliche Konzentrationen entgegen: Isopentylamin, welches mit 3,4 mg/l die Hälfte der Gesamtaminkonzentration im Wein ausmachte, folgten Spermidin und Putrescin mit durchschnittlich 1,3 mg/l. Histamin, Phenylethylamin und Ethylamin fanden sich zu 0,3 mg/l. Hefen bildeten während der Gärung Histamin, Putrescin und Ethylamin, weniger deutlich auch Cadaverin und Spermin. Diese Aminbildung war stark vom Hefestamm abhängig. Eine anschließende Lagerung auf der Hefe zeigte keine signifikante Steigerung der Aminkonzentration. Wurde Diammoniumhydrogenphosphat als einziger Gärhilfsstoff eingesetzt, fanden sich mehr Histamin und Spermidin im Wein, Diammoniumhydrogenphosphat in Kombination mit Thiamin und Hefezellwänden wirkte sich dagegen nicht aus. Auch eine Argininzugabe erhöhte nicht die entsprechenden Abbauprodukte Putrescin und Spermidin. Ein biologischer Säureabbau mit *Oenococcus oeni* erhöhte vor allem die Histaminkonzentration; durch eine nachfolgende Standzeit ohne Schwefelung konnte die Aminkonzentration allgemein noch weiter ansteigen. Eine Aminminderung durch eine Schönung konnte nur bei hohen Ausgangskonzentrationen gefunden werden. Als bestes Mittel erwies sich Na-Bentonit. Hierbei war die Mostschönung mit einer Histaminreduzierung um 80 % gegenüber der Weinschönung (Histaminreduzierung um 40 %) im Vorteil.*

**Schlagwörter:** biogene Amine, Histamin, Hefen, biologischer Säureabbau, Gärhilfsstoffe, Schönung

***Influence of enological measures on biogenic amines in wine.*** Various experiments have been conducted to examine the main measures of the whole winemaking process on the content of biogenic amines in wine. In spite of significant differences, the absolute amine concentration was low and harmless. The mean concentration of isopentylamine was 3,4 mg/l which represented half of the total amine concentration in wine. Spermidin and putrescine occurred at 1,3 mg/l, histamine, phenylethylamine and ethylamine up to 0,3 mg/l. During alcoholic fermentation, yeasts were able to build histamine, putrescine and ethylamine and also less clearly cadaverine and spermine. The formation of amines depended strongly on the yeast strain. A following storage on lees did not increase the amine concentration significantly. Histamine and spermidine increased after the addition of diammonium hydrogen phosphate as a single fermentation supplement. In combination with thiamine and yeast cell walls no effect on amine formation could be found. Even the addition of arginine did not increase the corresponding amines putrescine and spermidine. Malolactic fermentation with *Oenococcus oeni* increased histamine concentration, a following storage without sulfuring resulted in generally increased amine concentration. A reduction of amine due to fining agents was only found when amine concentration was high. The best effect was achieved with sodium bentonite. The application into the must showed a better histamine

reducing effect (diminution by 80 %) than that into wine (diminution by 40 %).

**Keywords:** biogenic amines, histamine, yeasts, malolactic fermentation, must supplement, fining agent

**L'influence de procédés vinicoles sur les amines biogènes dans le vin.** Les procédés habituels appliqués tout au long du processus de la vinification ont été examinés dans le cadre de plusieurs essais afin de vérifier la formation d'amines biogènes dans le vin. Aux résultats significatifs, qui faisaient état de différences relatives, partiellement importantes, entre les amines biogènes, s'opposaient, en termes absolus, des concentrations très faibles, inoffensives: l'isopentylamine qui, avec 3,4 mg/l, représente la moitié de la concentration des amines totales dans le vin, suivie par la spermidine et la putrescine dont la concentration s'élève à 1,3 mg/l en moyenne. L'histamine, la phényléthylamine et l'éthylamine étaient présentes, avec un taux de 0,3 mg/l chacune. Au cours de la fermentation, les levures ont formé de l'histamine, de la putrescine et de l'éthylamine, dans une moindre mesure également de la cadavérine et de la spermine. La formation de ces amines dépendait dans une large mesure de la souche des levures. La conservation subséquente sur les levures n'a pas fait augmenter la concentration d'amines d'une manière significative. Dans les cas où l'hydrogénophosphate de diammonium était utilisé comme seul agent de fermentation, le taux d'histamine et de spermidine dans le vin augmentait; en revanche, l'hydrogénophosphate de diammonium en combinaison avec la thiamine et des parois cellulaires de levure n'avait aucun effet. L'ajout d'arginine n'a également pas augmenté la quantité des produits de dégradation, à savoir la putrescine et la spermidine. La fermentation malo-lactique avec *Oenococcus oeni* a surtout augmenté la concentration d'histamine; la concentration d'amines, dans l'ensemble, a continué à augmenter au cours de la stabulation préfermentaire subséquente sans sulfitage. Une réduction des amines suite à un collage n'a pu être constatée qu'en cas de concentrations de départ élevées. La Na-bentonite s'est avérée être le meilleur agent. Ici, le collage du moût dont le résultat était une réduction de l'histamine de 80% présentait un avantage vis-à-vis du collage du vin (réduction de l'histamine de 40%).

**Mots clés :** amines biogènes, histamine, levures, fermentation malo-lactique, agents de fermentation, collage

Biogene Amine gelten als mögliche Auslöser von Kopfweg und Übelkeit nach dem Konsum von Wein (BEUTLING, 1996). Auch wenn dieser Sachverhalt nicht unwidersprochen ist (JANSEN et al., 2003), so folgt daraus doch das große Interesse an der Herkunft von Aminen in Wein und daran, wie sie zu vermeiden sind. Mehrere Reviews sind dazu erschienen (LONVAUD-FUNEL, 2001; BAUZA et al., 1995; ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2008; SMIT et al., 2008).

Biogene Amine sind entweder bereits als native Stoffe in den Trauben vorhanden (DESSER et al., 1981; GENY et al., 1999), entstehen durch Fäulnis der Trauben (EDER et al., 2002), oder aber werden während des gesamten Prozesses der Weinbereitung synthetisiert (MARCOBAL et al., 2006). Die vorhandene Konzentration biogener Amine im Wein hängt folglich vom natürlichen oder durch Fäulnis induzierten Gehalt des Lesegutes, aber auch von der Art der Weinherstellung ab. Hierzu zählen neben der Gärung (Einfluss der Hefen, Gärverfahren: Maischegärung vs. Mostgärung, Hefelagerung) der biologische Säureabbau (BSA) sowie abiotische Ursachen, wie die Temperatur und der pH-Wert des Mostes, eventuell zugesetzte Hefenährstoffe und Schönungsmittel.

## Einfluss der Hefen

Hefen können während der alkoholischen Gärung Amine erzeugen (DESSER et al., 1981; BUTEAU et al., 1984; CARUSO et al., 2002; EDER et al., 2002; TORREAGÖNI und ANCÍN-AZPILICUETA, 2002; GRANCHI et al., 2005; ROMANO et al., 2008). Dabei variieren allerdings die Angaben, welche der einzelnen Amine zunehmen und natürlich auch um welche Konzentration. Putrescin, Histamin und Cadaverin werden immer wieder genannt (DESSER et al., 1981; BUTEAU et al., 1984; EDER et al., 2002), aber auch Agmatin (BUTEAU et al., 1984; CARUSO et al., 2002; GRANCHI et al., 2005) oder Ethylamin (GRANCHI et al., 2005) können von Hefen produziert werden. Spermidin dagegen nimmt während der Gärung nach DESSER et al. (1981) ab. Im Kontrast dazu finden einige Autoren keine oder nur eine sehr geringe Steigerung der Amine aufgrund von Hefen (VIDAL-CAROU et al., 1990; HERBERT et al., 2005; MARCOBAL et al., 2006; LANDETE et al., 2005). Vielleicht lässt sich diese Diskrepanz damit erklären, dass die Aminproduktion sehr stark vom jeweiligen Stamm abhängt: Von 100 *Saccharomyces*

*cerevisiae*-Stämmen erzeugten nach GRANCHI et al. (2005) ca. 15 % hohe Mengen sowohl an Ethylamin als auch an Agmatin. Weitere 20 % erzeugten hohe Mengen von einem der beiden Amine. Umgekehrt erzeugten 45 % der untersuchten Stämme keines der beiden Amine. Auch nach ROMANO et al. (2008) gibt es eine stark unterschiedliche Aminbildung je nach Stamm. Bei 130 untersuchten Stämmen liegt der Anteil der *S. cerevisiae*-Stämme mit starker Arginin-Decarboxylaseaktivität bei 5 %, derjenigen ohne Aktivität bei 20 %. Die Unterschiede im Verbrauch der Aminosäuren durch die Hefen sind nach TORREA-GOÑI und ANCÍN-AZPILICUETA (2002) auch entscheidend für die geringere Produktion von Aminen bei einer Spontangärung im Vergleich zur Vergärung mit Reinzuchthefen.

Einen Einfluss der verschiedenen Hefegattungen (wilden Hefen) zeigten CARUSO et al. (2002), GRANCHI et al. (2005) und ROMANO et al. (2008): Die höchsten Aminkonzentrationen werden von den Autoren übereinstimmend von *Brettanomyces bruxellensis* gefolgt von *S. cerevisiae* erzeugt, die niedrigsten von *Kloeckera apiculata* und *Candida stellata* (CARUSO et al., 2002; GRANCHI et al., 2005) bzw. von *Candida stellata* und *Hanseniaspora uvarum* (ROMANO et al., 2008) und *Hanseniaspora uvarum* (ROMANO et al., 2008). *Metchnikowia pulcherrima* liegt vom Niveau der Aminbildung nach CARUSO et al. (2002) und ROMANO et al. (2008) dazwischen, während sie nach GRANCHI et al. (2005) mit *S. cerevisiae* gleichauf liegt. Dabei unterscheiden sich die Hefegattungen in den Aminen, die sie bilden: Agmatin wird nach GRANCHI et al. (2005) von allen untersuchten Gattungen gebildet, bei *C. stellata* allerdings am stärksten. Phenylethylamin wird von *S. cerevisiae* und *C. stellata* nicht gebildet, bei *M. pulcherrima* und *B. bruxellensis* stellt dieses Amin 50 %, bei *K. apiculata* 30 % der gesamten Amine. Ethylamin wiederum wird von den beiden letztgenannten Gattungen sowie von *K. apiculata* nicht erzeugt, jedoch von *S. cerevisiae* zu 40 %. ROMANO et al. (2008), welche ebenfalls den Einfluss verschiedener Hefearten untersuchten, teilten die Hefearten in zwei Gruppen ein: *S. cerevisiae* und *C. stellata* bilden Gruppe I und sind für hohe Agmatinwerte verantwortlich. Gruppe II, bestehend aus *M. pulcherrima*, *H. uvarum* und *B. bruxellensis*, produziert vor allem Phenylethylamin, Methylamin und etwas Agmatin. Das Gärverfahren kann erhebliche Auswirkungen auf

den Gehalt an biogenen Aminen haben. Nach einer Maischegärung finden sich erhöhte Histaminwerte im Wein (BAUCOM et al., 1986). Auch MARQUES et al. (2008) erwähnten eine gesteigerte Aminkonzentration in Folge einer Maischegärung. Sie begründen dies mit einem erhöhten Nährstoffangebot und einer vermehrten mikrobiellen Aktivität durch die Maischegärung. Laut LANDETE et al. (2005) sind Rotweine stärker mit Aminen behaftet als Weiß- und Roséweine. Sie führen diese Tatsache zum einen auf den früheren Lesezeitpunkt der Weißweine zurück, wodurch noch geringere Gehalte an Aminosäuren in der Traube vorliegen, zum anderen auf den Kontakt mit der Beerenhaut und den wilden Hefen bzw. Mikroorganismen. Bei einer längeren Maischestandzeit können neben anderen Nährstoffen mehr Aminosäuren extrahiert werden. Diese dienen als Vorstufen für Amine; dementsprechend weisen Weine nach längerer Maischestandzeit höhere Aminkonzentrationen (Histamin, Tyramin und Putrescin) auf (MARTIN-ALVAREZ et al., 2006). Somit ist auch bei Zugabe von Hefenährstoffen eine höhere Aminkonzentration zu erwarten. GONZALEZ-MARCO et al. (2006) fanden einen leichten Einfluss auf die Aminbildung durch Zugabe von Hefeautolysat. BACH et al. (2011) bzw. SMIT et al. (2012) fanden eine (nicht absicherbare) Zunahme der biogenen Amine bei Einsatz von Diammoniumhydrogenphosphat (DAHP) oder Hefeautolysat bzw. Hefeautolysat mit diversen Zusätzen. SOLEAS et al. (1999) fanden allerdings keinen Zusammenhang, und auch nach MARQUES et al. (2008) ist der Einfluss von Gärhilfsstoffen auf die Bildung biogener Amine minimal: Während Cadaverin, Histamin, Phenylethylamin, Putrescin unbeeinflusst bleiben, sind Isopentylamin und Tyramin minimal (nicht signifikant) erhöht.

ALCAIDE-HIDALGO et al. (2007) untersuchten den Effekt einer Hefelagerung (12 Monate) auf Amine in Weinen spanischer Herkunft. Große Veränderungen im Aminhaushalt wurden jedoch nicht gefunden. Die einzigen Konzentrationsunterschiede waren in Bezug auf Putrescin, Tyramin und Histamin zu sehen. MARTIN-ALVAREZ et al. (2006) fanden nach einer Hefelagerung gesteigerte Putrescinkonzentrationen und verringerte Tyraminkonzentrationen. MARQUES et al. (2008) fanden ebenfalls eine (nicht signifikante) Zunahme der biogenen Amine durch eine Hefelagerung.

## Biologischer Säureabbau

Als Ursache für eine hohe Aminkonzentration (insbesondere von Histamin) im Wein wird oft auf eine unkontrollierte malolaktische Gärung z. B. durch *Pediococcus* spp. verwiesen (DESSER et al., 1981; MORENO-ARRIBAS et al., 2003; HERR, 2011). Nach MARQUES et al. (2008) liegt die Aminproduktion bei Verwendung von Starterkulturen (*O.oeni*) niedriger im Vergleich zur unkontrollierten malolaktischen Gärung. Aber nicht nur *Leuconostoc*-Arten, *Pediococcus*-Arten oder *Lactobacillus*-Arten dürfen für die Bildung biogener Amine verantwortlich gemacht werden, auch *O.oeni* ist in der Lage, z. B. Histidin zu decarboxylieren. Dies wird durch mehrere Arbeiten bestätigt (GUERRINI et al., 2002; MARCOBAL et al., 2006; ALCAIDE-HIDALGO et al., 2007), bei denen vor allem die Amine Histamin, Putrescin und Tyramin während des biologischen Säureabbaus nach Verwendung von *O.oeni* eine Konzentrationserhöhung aufweisen. Es gibt aber auch gegenteilige Befunde: SCHOLIEN und FRIEDRICH (1998) sowie FÄTH und RADLER (1994) fanden keine bzw. nur sehr geringe Zusammenhänge zwischen dem biologischen Säureabbau und der Aminkonzentration im Wein. Über die mikrobiologische Aktivität bzw. Produktion biogener Amine während einer Standzeit (nach abgeschlossenem BSA) gibt es allerdings noch keine umfangreichen Untersuchungen und eindeutige Ergebnisse. Angenommen wird, dass eine Erhöhung der Aminkonzentration nicht während, sondern erst nach Abschluss des biologischen Säureabbaus stattfindet (ROSI et al., 2009).

## Temperatur und pH

LANDETE et al. (2005) konnten durch ihre Untersuchungen klarstellen, dass erhöhte pH-Werte zu erhöhten Histaminkonzentrationen führen. Gleiches entdeckten SOUZA et al. (2005), welche signifikante Korrelationen zwischen den Histaminkonzentrationen und dem pH-Wert des Weines finden konnten. Vor allem bei hohen pH-Werten (pH-Wert ab 3,6) und warmen Temperaturen (ab 22 °C) steigt die Gefahr einer hohen Aktivität von Mikroorganismen stark an. So können schon in diesem Stadium der Weinbereitung höhere Konzentrationen von z. B. Putrescin, Cadaverin, Ethylamin und Histamin gefunden wer-

den. KASCHAK et al. (2010) fanden eine schwache (nicht signifikante) Korrelation zwischen dem pH-Wert von Handelsweinen sowie ihrem Gesamtamin Gehalt.

## Aminosäuren als Vorläufer

TORREA-GOÑI und ANCÍN- AZPILICUETA (2001) fanden keine Beziehung zwischen der Konzentration biogener Amine und den Aminosäuren bzw. dem Verbrauch der Aminosäuren. HERBERT et al. (2005) dagegen stellten eine hohe Korrelation zwischen allen assimilierbaren Aminosäuren und biogenen Aminen fest. Die Korrelationen der Aminosäuren mit den korrespondierenden Aminen sind hingegen schlechter. So folgern sie, dass ein Vermeiden hoher Aminosäurekonzentrationen in Most zu niedrigeren Aminkonzentrationen im Wein führt. GONZÁLES-MARCO et al. (2006) fanden nach der Zugabe von Hefezellwänden nach der Gärung keinen Zusammenhang zwischen Aminosäuren bzw. dem Aminosäurenverbrauch und der Aminbildung. Nach dem BSA stieg allerdings die Konzentration von Tyramin und Cadaverin aufgrund der durch die Hefezellwände erhöhten Aminosäuren Tyrosin und Lysin. MARCOBAL et al. (2006) fanden eine negative Korrelation zwischen Histidin und Histamin ( $r = -0,39$ ) bzw. Tyramin ( $r = -0,36$ ). Auch zwischen Tyrosin und den beiden Aminen fanden sie negative Korrelationen. Eine positive Korrelation wird zwischen Ornithin und Putrescin gefunden sowie zwischen verschiedenen nicht korrespondierenden Aminen und Aminosäuren (z. B.. Phenylethylamin und Tyrosin). BACH et al. (2011) schließlich fanden nach Zugabe von DAHP bzw. Hefezellwänden (nicht abgescherte) höhere Histaminwerte, dagegen konnten sie keine Korrelation zwischen Histamin und seinem Aminosäurevorläufer Histidin entdecken.

## Schönungsmittel

MAYER und PAUSE (1985) fanden heraus, dass die meisten Bentonitprodukte zu einer starken Senkung der Histaminkonzentration führten. Sie erwähnten, dass dazu hohe Bentonitkonzentrationen erforderlich waren, wodurch zwangsläufig starke Qualitätseinbußen in Kauf genommen werden mussten. Tyramin und Phenylethylamin konnten in nur sehr geringen

Mengen verringert werden. Auch SCHOLTEN und FRIEDRICH (1998) berichten über die histaminreduzierende Wirkung von Bentonitpräparaten, wobei sie erwähnen, dass die Wirkung deutlich von der Anwendungskonzentration abhängig ist. Durch die Bentonitbehandlung erreichten sie ebenfalls ein Absenken der Konzentrationen von Isopentylamin und Cadaverin. Der reduzierende Effekt bezüglich der Konzentrationen von Putrescin und Phenylethylamin fiel deutlich geringer aus. Bei einer Zugabe von 400 g/hl Bentonit – normal sind 20 bis 200 g/hl – konnten sie eine allgemeine unspezifische Aminverminderung erreichen. EDER et al. (2002) fanden keine Effekte der Schönung in Wein mit natürlicher Aminauskonzentration. Erst bei höherer Aminkonzentration konnten Histamin, Putrescin und Cadaverin mittels Bentonit abgesenkt werden, nicht aber Phenylethylamin und Tyramin.

Ein Großteil der bisherigen Arbeiten stammt aus südlichen Weinanbaugebieten, zudem sind die Ergebnisse z. T. widersprüchlich, und es wurden oft lediglich kommerzielle Weine analysiert (Portugal: MARQUES et al., 2008; Spanien: VIDAL-CAROU et al., 1990; LANDETE et al., 2005; MARCOBAL et al., 2005; MARTIN-ALVAREZ et al., 2006; IZQUIERDO CAÑAS et al., 2008; Italien: MARTUSCELLI et al., 2013). Weitere Arbeiten mit kommerziellen Weinen sind: BAUCOM et al. (1986), SOUFLEROS et al. (1998), SOLEAS et al. (1999), SOUZA et al. (2005), KASCHAK et al. (2010) und HERR (2011). Da bei diesen Arbeiten nicht einzelne Parameter variiert werden, sondern Analysewerte korreliert bzw. verglichen werden, besteht die Gefahr, dass die statistischen Zusammenhänge nicht ursächlicher Natur sind. Insgesamt sind bei den meisten hier zitierten Arbeiten die Ergebnisse von den Autoren nicht statistisch abgesichert worden bzw. wurden die Versuche ohne Wiederholung durchgeführt.

Ziel dieser Arbeit ist es, unter den Bedingungen nördlicher Weinanbaugebiete den Einfluss der einzelnen Schritte der gesamten kellerwirtschaftlichen Verfahrenskette auf die Bildung von biogenen Aminen experimentell zu untersuchen und zu vergleichen. Ein Schwerpunkt liegt auf der alkoholischen Gärung mit verschiedenen Hefestämmen und Hefegattungen, mit Spontangärung und Reinzuchthefen, der Hefelagerung sowie dem Einsatz von Hefenährstoffen und Schönungsmitteln.

## Material und Methoden

Für diese Arbeit wurden Trauben aus dem Anbaugebiet Rheingau/Deutschland zu Most verarbeitet und nach Mostklärung (Sedimentation bei 10 bis 12 °C) mit Hefen beimpft (außer bei den Varianten mit Spontangärung) und in mehrfacher Wiederholung zu Wein vergoren. Die verwendeten Rebsorten, Jahrgänge und Anzahl der Wiederholungen sind bei den Abbildungen bzw. Tabellen vermerkt. Bei Versuch Nr. 3 (Spontankit; Tab. 2) wurde zum Angären zunächst die selektierte Wildhefe *Torulaspota delbrueckii* zugegeben, bei einem Alkoholgehalt von 3 bis 4 %vol. wurde *S. cerevisiae* zugegeben, um eine sichere Endvergärung zu gewährleisten. Als Gärgebilde kamen Kleingebilde (1 bis 25 l bzw. bei der Maischegärung 60 l) zum Einsatz. Die so gewonnenen Weine waren wiederum Ausgangssubstrat für die folgenden Versuche, z. B. zum biologischen Säureabbau oder zur Schönung.

Bei der Mostschönung wurden dem mit Aminen dotierten Most Schönungsmittel zugegeben und nach zwei Tagen filtriert. Nach Abschluss der Gärung wurde die Aminkonzentration gemessen. Für die Weinschönung wurde der gleiche Most vergoren, der Wein wurde mit Aminen dotiert, die Schönungsmittel zugegeben, wiederum nach zwei Tagen Einwirkzeit filtriert und danach die Amine bestimmt. Most und Weinschönung wurden mit denselben Mengen durchgeführt: Bentonite mit 75 g/hl, Aktivkohle mit 30 g/hl und Gelatine bzw. Kaliumkaseinat mit 5,5 g/hl.

## Bestimmung biogener Amine

Die biogenen Amine wurden mittels HPLC-Fluoreszenzdetektor nach Vorsäulenderivatisierung und Festphasenextraktion bestimmt (BLESER, 2000). Als Extraktionsmittel dienten 0,2 N Perchlorsäure (Merck, Darmstadt, Deutschland), als Derivatisierungsmittel 1-Dimethyl-amino-naphthalin-5-sulfonsäurechlorid (Dansyl-Cl) (Fluka, St. Louis, USA). Die anschließende Festphasenextraktion erfolgte unter Verwendung von C 18-Trennsäulen (500 mg reversed phase octadecylsilane, J.T. Baker, Deventer, Niederlande). Trennung und Detektion der biogenen Amine erfolgte mittels einer Agilent 1100 HPLC (Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland), einer PerfectSil-Trennsäule (PerfectSil Target ODS-3 5 µm, 250 x 3.0 mm, MZ-Analytik, Mainz, Deutschland) sowie einem Agilent

Tab. 1: Verteilung der Aminkonzentration in % sowie in mg/l ± Standardabweichung (mg/l) im Mittel und maximaler gefundener Wert aller Versuche in Most und Wein (n.n. = nicht nachweisbar bei angegebener Bestimmungsgrenze). %n = Anteil der Weinproben, in denen das Amin über der Bestimmungsgrenze lag.

	Bestimmungsgrenze mg/l	Most (n=10)			Wein (n=210)			
		%	Mittel ± Stabw	Max	%	Mittel ± Stabw	Max	%n
Isopentylamin	0,033	49,1	2,42 ± 3,28	8,65	47,7	3,44 ± 3,98	15,00	81
Spermidin	0,008	29,4	1,45 ± 1,00	2,30	19,0	1,37 ± 0,95	3,68	100
Putrescin	0,024	10,0	0,49 ± 0,31	0,98	18,2	1,31 ± 1,24	8,56	100
Histamin	0,014	5,0	0,25 ± 0,15	0,47	4,5	0,33 ± 0,25	1,19	100
Phenylethylamin	0,023	2,9	0,14 ± 0,12	0,44	3,7	0,27 ± 0,23	0,91	82
Ethylamin	0,009	1,6	0,08 ± 0,06	0,18	4,9	0,35 ± 0,21	1,39	100
Cadaverin	0,024	1,5	0,08 ± 0,06	0,16	0,8	0,06 ± 0,08	0,36	49
Spermin	0,012	0,5	0,02 ± 0,04	0,09	0,4	0,03 ± 0,05	0,24	39
Tyramin	0,032	0,0	n.n.	-	0,5	0,04 ± 0,07	0,35	30
Agmatin	0,084	0,0	n.n.	-	0,1	0,01 ± 0,05	0,33	3
Gesamt		100,0	4,93 ± 3,61	12,36	100,0	7,20 ± 5,50	29,29	

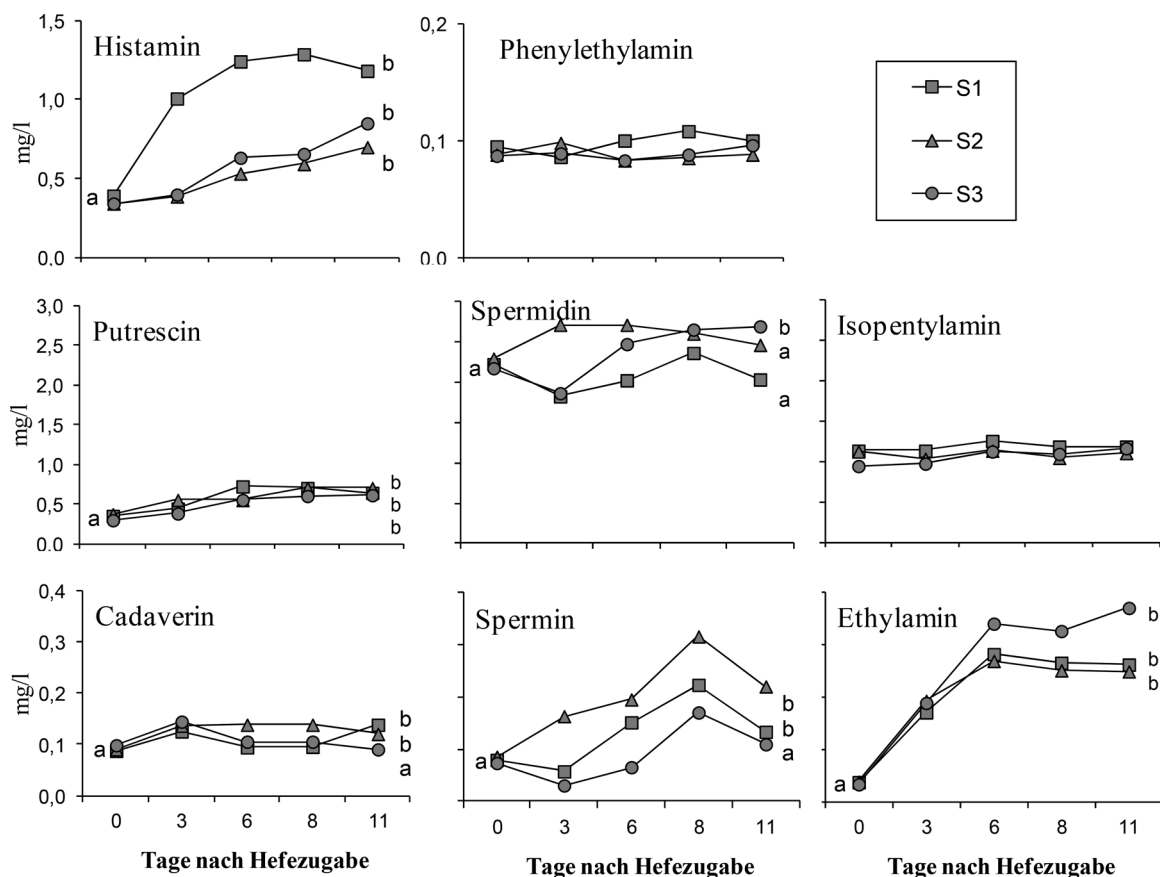


Abb. 1: Versuch 1: Konzentrationsverlauf biogener Amine während der alkoholischen Gärung eines Mostes der Sorte 'Ruländer' (2004) vergoren mit *S. cerevisiae*-Stämmen S1, S2 und S3 (n = 4). Signifikante Unterschiede zwischen Tag 0 (vor der Gärung) und Tag 11 (Ende der Gärung) sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

Tab. 2: Amine (mg/l), pH-Wert und Milchsäure (g/l) in Most bzw. Wein nach der Gärung mit unterschiedlichen Hefen (n.n. = nicht nachweisbar bei angegebener Bestimmungsgrenze; s. Tab. 1). Versuch 5: Konzentrationsänderung (%) im Vergleich zu Versuch 4 nach Hefelagerung. Signifikante Unterschiede sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet.

Varianten	Histamin	Ethylamin	Phenylethylamin	Isopentylamin	Putrescin	Cadaverin	Spermidin	Spermin	pH	Milchsäure
<i>Spontangärung vs. Reinzuchtheife (2006 Ruländer, n=2, Most: n=1) - Versuch 2 -</i>										
Most	0,19	0,13	0,15	1,13	0,73	0,16	0,56	n.n.		
S. cer. St. 1	0,21 a	0,36 a	0,26 a	0,46 a	1,29 a	0,03 a	0,66 a	n.n.	3,25 a	2,35 a
Spontanflora*	0,22 a	0,41 a	0,53 a	1,86 a	1,25 a	0,05 a	0,29 a	n.n.	3,30 a	2,16 a
<i>Spontangärung vs. Reinzuchtheife (2007 Weißherbst, n=4, Most: n=1) - Versuch 3 -</i>										
Most	0,08	0,18	0,26	8,65	0,98	0,08	2,10	n.n.	3,36 a	0,00 a
S. cer. St. 6	0,11 ab	0,43 c	0,28 b	9,29 c	1,13 ab	0,02 a	1,80 a	n.n.	3,16 a	0,00 a
Spontanflora**	0,08 a	0,24 a	0,22 a	6,79 a	1,03 a	0,06 b	1,77 a	n.n.	3,11 a	0,72 a
Spontankit***	0,12 b	0,36 b	0,26 b	8,37 b	1,23 b	0,04 ab	1,80 a	n.n.	3,20 a	0,00 a
<i>Spontangärung vs. Reinzuchtheife (2005 Riesling, n=6) - Versuch 4 -</i>										
S. cer. St. 4	0,51 a	0,35 a	0,44 a	1,25 a	0,79 a	n.n.	1,63 a	0,09 a	-	-
S. cer. St. 5	0,59 ab	0,53 b	0,77 b	5,08 ab	1,39 ab	n.n.	3,12 b	0,09 a	-	-
Spontanflora****	0,73 b	0,37 a	0,70 b	12,72 b	7,49 b	n.n.	3,09 b	0,15 a	-	-
<i>anschließende Hefelagerung (2M=2 Monate, 4M=4 Monate, n=6) - Versuch 5 -</i>										
S. cer. St. 4	+2M 29% a	0% a	1% a	2% a	-1% a	-	11% a	11% a	-	-
	+4M 43% a	-1% a	-2% a	-1% a	1% a	-	9% a	13% a	-	-
S. cer. St. 5	+2M 26% a	-3% a	2% a	0% a	4% a	-	2% a	4% a	-	-
	+4M 21% a	-3% a	1% a	-1% a	1% a	-	2% a	2% a	-	-
Spontanflora	+2M -14% a	0% a	-7% a	-1% a	26% a	-	-10% a	40% a	-	-
	+4M -21% a	1% a	-8% a	-3% a	63% a	-	-7% a	2% a	-	-
<i>Wilde Hefen vs. Reinzuchtheife (2006 Weißburgunder, n=2) - Versuch 6 -</i>										
S. cer. St. 1	0,23 a	0,24 b	0,28 a	0,32 a	1,00 a	n.n.	1,44 a	0,08 ab	-	-
Hans., S. cer. St. 1	0,26 a	0,34 c	0,29 a	0,34 a	0,74 a	n.n.	1,40 a	0,05 a	-	-
Metsch., S. cer. St. 1	0,27 a	0,21 a	0,29 a	0,34 a	0,87 a	n.n.	1,70 a	0,11 b	-	-
<i>Most- vs. Maischegärung (2006 Spätburgunder, n=3) - Versuch 7 -</i>										
Mostgärung	0,10 a	0,16 a	0,07 a	0,13 a	0,56 a	0,03 a	0,88 b	n.n.	3,30 a	0,50 a
Maischegärung	0,11 a	0,20 b	0,17 b	0,36 a	0,79 b	0,11 b	0,59 a	n.n.	3,51 b	0,23 a

\* (PCR: *Dekkera bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae* und *Pichia fermentans*)

\*\* (PCR: *S. cerevisiae*)

\*\*\* Wildhefe *T. delbrueckii* und *S. cerevisiae* Stamm 6

\*\*\*\* Hefen unbekannt

1046A Fluoreszenzdetektor (Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) (Anregungswellenlänge bei 254 nm, Emissionswellenlänge bei 510 nm). Abweichend von der bei BLESER (2000) beschriebenen Analysenvorschrift wurden als Eluenten Acetonitril (100 %) (HPLC Gradient Grade; J.T. Baker, Deventer, Niederlande) bzw. Trispuffer (0,1 M Trispuffer (Merck, Darmstadt, Deutschland): H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub> 1:3, pH-Wert 8,5 mit Essigsäure (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingestellt) verwendet (GONZÁLEZ DE LLANO et al., 1998).

## Bestimmung von Aminosäuren

Die Analyse der Aminosäuren erfolgte mittels HPLC-FLD wie bei BLESER (2000) beschrieben. Als Extraktionsmittel wurde Sulfosalicylsäure (Merck, Darmstadt, Deutschland) verwendet, zur Derivatisierung wurde Dansyl-Cl benutzt. Die HPLC-Anlage (Agilent 1100 Series; Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) arbeitete mit einem ternären Gradientensystem (Eluent A: 2 l H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub> + 7 ml Eisessig + 160 µl Triethylamin; Eluent B: 100 % Acetonitril (HPLC Gradient Grade; J.T. Baker, Deventer, Niederlande);

Eluent C: 100 % Methanol (HPLC Gradient Grade; J.T. Baker, Deventer, Niederlande) sowie einer PerfectSil-Trennsäule (PerfectSil Target ODS-3 5  $\mu$ m, 250 x 3.0 mm, MZ-Analytik, Mainz, Deutschland). Als Detektor kam ein Fluoreszenzdetektor vom Typ Agilent 1100 Series (Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) zum Einsatz (Anregungswellenlänge bei 298 nm; Emissionswellenlänge bei 546 nm).

### Statistische Auswertung

Statistische Auswertungen wurden mit SPSS Student Version 11.0 (IBM, Armonk, USA) und mit R: A Language and Environment for Statistical Computing (R Development Core Team, Wien, Österreich) durchgeführt. Zur Signifikanzberechnung der Mittelwerte wurde eine ANOVA unter Anwendung des Tukey-Tests bzw. eines t-Tests (bei  $n = 2$ ) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % durchgeführt. Da keine Normalverteilung vorlag, erfolgte nach dem Westfall-Young-Verfahren eine Permutation der Daten. Signifikante Unterschiede wurden mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet. Zur Erkennung von Zusammenhängen wurden zwischen biogenen Aminen und Aminosäuren Korrelationsanalysen aufgrund der nicht vorhandenen Normalverteilung nach Spearman durchgeführt. Hier werden die Werte zu Rängen umgeformt, bevor der Korrelationskoeffizient berechnet wird. Signifikante Korrelationen wurden auf Signifikanzniveaus von  $p = 0,001$  (\*\*\*) ,  $0,01$  (\*\*) und  $0,05$  (\*) berechnet.

### Ergebnisse

Die höchsten Konzentrationen wiesen Isopentylamin, Spermidin und Putrescin sowohl in Mosten als auch in Weinen auf. Nicht in allen Mosten und Weinen wurden alle Amine gefunden (Tab. 1). In Mosten wurden kein Agmatin und kein Tyramin und nur in einem Versuch Spermin detektiert, während alle anderen Amine (Histamin, Ethylamin, Phenylethylamin, Isopentylamin, Putrescin, Cadaverin, Spermidin) in allen Mostproben vorkamen. Die vier Amine Histamin, Ethylamin, Putrescin und Spermidin wurden in allen Weinen gefunden. Agmatin fand sich dagegen nur in wenigen einzelnen Weinen (Tab. 1), weshalb es nicht dargestellt wurde. Fehlen in den folgenden Abbildungen Amine, so wurden diese nicht detektiert.

### Einfluss der Hefen

In Abbildung 1 sowie in Tabelle 2 finden sich die Konzentrationsveränderungen der einzelnen Amine während der alkoholischen Gärung mit *S. cerevisiae*. Bei den meisten Aminen fanden sich am Ende der Gärung höhere Werte als im Most. Die Amine nahmen allerdings nur am Anfang der Gärung (Vermehrungsphase der Hefen) zu (i. d. R. 3. bis 6. Tag nach Hefezugabe; bei Spermin fand sich der Hochpunkt am 8. Tag), danach blieben sie auf gleichem Niveau oder sanken wieder ab (Abb. 1). Die Veränderung der Aminkonzentration während der Gärung war bei den verschiedenen Versuchen nicht unbedingt konsistent. So lag der Endgehalt an Histamin im Versuch 1 bei Stamm 1 nahezu dreimal so hoch wie im Ausgangsmost (Abb. 1), bei Versuch 2 (Tab. 2) wies Stamm 1 dagegen keine Bildung von Histamin auf. Die Zunahme der Amine während der Gärung hing stark von dem benutzten *S. cerevisiae*-Stamm ab. Obwohl sich zwischen den Stämmen 1 bis 3 die Bildung von einzelnen biogenen Aminen um bis zu 100 % unterschied, lag die Gesamtkonzentration nur um 5 % auseinander, da sich die Unterschiede aufhoben (Abb. 1). Dagegen produzierten *S. cerevisiae*-Hefen vom Stamm 5 mit niedrigem N-Bedarf im Allgemeinen höhere Aminkonzentrationen, so dass die Gesamtkonzentration am Ende der Gärung doppelt so hoch war im Vergleich zu Stamm 4 mit hohem N-Bedarf (Tab. 2, Versuch 4). Insgesamt fanden sich die deutlichsten (absoluten) Steigerungen bei Histamin und Putrescin sowie – etwas weniger – bei Ethylamin und Isopentylamin. Demgegenüber wurden Cadaverin und Spermidin immer wieder durch die Hefen abgebaut (Tab. 2).

Wenn schon verschiedene Reinzuchthefestämme zu solchen Unterschieden führen konnten, so war dies von der Spontangärung erst recht zu erwarten. Dies ließ sich aber im Allgemeinen nicht bestätigen (Tab. 2). Zwar fanden sich in Versuch 2 tendenziell höhere Isopentyl- und Phenylethylaminwerte und niedrigere Spermidinwerte, in Versuch 3 waren dagegen die Konzentrationen bei der Spontangärung bei fast allen Aminen am niedrigsten, und beim Spontankit lagen die Werte im Durchschnitt zwischen Spontangärung und Reinzuchthefer. Versuch 4 zeigte aber mit den höchsten Isopentylamin- und Putrescinwerten aller Versuche dieser Arbeit, dass bei einer Spontangärung unter Umständen sehr hohe Aminkonzentrationen zu erwarten sind.

Der Einsatz von unterschiedlichen wilden Hefen hatte keine deutlich unterschiedliche Bildung biogener



Amine zur Folge (Tab. 2, Versuch 6). Zum Einsatz kamen *S. cerevisiae*, *H. uvarum* und *M. pulcherrima*. Einzig bei Ethylamin fand sich eine erhöhte Konzentration bei der Vergärung mit *H. uvarum* und *S. cerevisiae*.

Die Maischegärung ist das klassische Verfahren für die Rotweinherstellung. Ein Grund für die Beobachtung, dass Rotweine höhere Aminkonzentrationen aufweisen als Weißweine, könnte in der Maischegärung (bzw. der Einmaischdauer) liegen. Tatsächlich fanden sich bei der Maischegärung höhere Aminkonzentrationen (Ethylamin, Phenylethylamin, Putrescin, Cadaverin) bzw. tendenziell höhere Werte bei Histamin und Isopentylamin. Spermidin lag bei der Maischegärung deutlich niedriger und Spermin wurde nicht gefunden (Tab. 2, Versuch 7). Die Zunahmen fanden allerdings auf niedrigem Niveau statt, so dass die Aminkonzentration des Maischegärungs-Weins absolut lediglich um 0,4 mg/l über der Mostgärung lag.

Biogene Amine entstehen aus Aminosäuren durch Decarboxylierung (mittels Mikroorganismen). Die Zugabe von diesen Vorläufersubstanzen bzw. anderen stickstoffhaltigen Präparaten als Hefenährstoffe könnte somit die Aminbildung beeinflussen.

Durch den Einsatz von Gärhilfsstoffen wurden nur im Einzelfall Amine erhöht, eine signifikante Verringerung fand sich nicht (Abb. 2). Insgesamt lagen die Konzentrationen in dem Versuch 8 sehr niedrig; Es wurden lediglich Histamin, Spermidin, Ethylamin und Putrescin gefunden. Letzteres wurde nicht von den Gärhilfsstoffen beeinflusst. Die Histaminkonzentration stieg am deutlichsten beim Einsatz von Diammoniumhydrogenphosphat (DAHP) ohne weitere Präparate (Abb. 2). Wurde Pantothersäure in Kombination mit Folsäure eingesetzt, fanden sich tendenziell geringere Histaminwerte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Bei Thiaminzusatz waren die Werte praktisch unverändert. Spermidin folgte einem ähnlichen Muster: In der Variante mit DAHP stieg das Amin am stärksten; der Einsatz von Thiamin hatte wiederum keinen Einfluss. Im Gegensatz zum Histamin war die Bildung von Spermidin während der Gärung allerdings bei Zugabe von Pantothersäure in Kombination mit Folsäure tendenziell positiv beeinflusst. Die Ethylaminbildung schließlich reagierte geringer auf Gärhilfsstoffe. Signifikant höhere Konzentrationen gab es nur, wenn Arginin als Gärhilfsstoff eingesetzt wurde. Auf die Gesamtaminkonzentration bezogen ergibt sich folgende grobe Einteilung: Die stärkste Erhöhung fand sich bei alleiniger Zugabe von DAHP (+50 %), gefolgt von der Kombination Nähr-

stoffpräparat 3 und 4 bzw. Arginin (+30 %). Die nächstgrößeren Steigerungen fanden sich beim Nährstoffpräparat 4, der Kombination DAHP, Hefezellwände, Thiamin alleine sowie mit dem Nährstoffpräparat 1, 2 und 3 (+15 bis 20 %). Bei der Kombination Pantothersäure mit Thiamin war die Gesamtaminkonzentration um ca. 10 % erhöht. Die geringsten Veränderungen gab es schließlich bei Thiamin bzw. dem Nährstoffpräparat 1 alleine und bei der Kombination DAHP, Hefezellwände, Thiamin mit dem Nährstoffpräparat 2 (< +5 %).

Die Gärtemperatur könnte auf die Konzentration an biogenen Aminen im Wein einen Einfluss haben: Eine höhere Temperatur bewirkt eine stärkere Vermehrung der Hefen zu Beginn der Gärung. Dies würde zu einem höheren Aminosäurenverbrauch führen, und damit könnte auch die Aminproduktion beeinflusst werden. In dem hier durchgeführten Versuch mit einer deutlich höheren Temperatur bei der Gärung zeigten sich allerdings kaum Auswirkungen auf die Aminkonzentration im Vergleich zu normaler Gärtemperatur (Abb. 3). Bei der höheren Temperatur wurde weniger Isopentylamin, tendenziell auch weniger Histamin und Phenylethylamin gebildet. Cadaverin und Ethylamin waren erhöht, tendenziell auch Putrescin und Spermidin. Auf die Gesamtamine bezogen dominierte Isopentylamin das Ergebnis.

Auch ein höherer pH-Wert als normal wirkte sich mit einer niedrigeren Isopentylaminkonzentration sowie einer höheren Histamin- und Cadaverinkonzentration aus, tendenziell war Ethylamin erhöht.

Zum Ende der Gärung stirbt die Hefe langsam ab. Durch die dabei auftretende Hefeautolyse werden große Mengen an Aminosäuren und Vitaminen freigesetzt. Bei einer Lagerung auf der Hefe (sur lie) können die entstehenden Aminosäuren zu Aminen decarboxyliert werden. Diese Beobachtungen konnten bei der hier durchgeführten Lagerung von vier Monaten allerdings nicht signifikant abgesichert werden, obwohl die prozentualen Zunahmen z. T. deutlich waren (Tab. 2, Versuch 5). Selbst die extreme Zunahme bei Tyramin (+1360 %; Daten nicht dargestellt) oder die Zunahme um 60 % von Putrescin bei einer vorhergehenden Spontangärung waren nicht absicherbar. Bei einer Lagerung auf *S. cerevisiae* nahm Histamin je nach Hefestamm um 20 bis 40 % zu. Auch bei Tyramin (-6 % bei Stamm 4, +50 % bei Stamm 5, nicht dargestellt) waren tendenzielle Zunahmen feststellbar. Im Gegensatz zu der Reinzuchthefer nahmen bei der Hefelagerung nach einer Spontangärung Histamin und Spermidin sogar tendenziell ab. Bei der Lagerung auf *B.*

*bruxellensis* war ebenfalls kaum eine Zunahme der Amine feststellbar (Abb. 4). Spermidin nahm zu – dagegen wurde Tyramin innerhalb einer zweimonatigen Lagerung auf der Hefe vollständig abgebaut.

erst durch BSA gebildet, in den anderen Versuchen fand sich kein Spermin. Auch Ethylamin nahm tendenziell bei einem BSA zu. Cadaverin und Spermidin nahmen sowohl zu als auch ab, während Putrescin und Phenylethylamin unbeeinflusst blieben. Isopentylamin schließlich nahm im Durchschnitt aufgrund eines BSAs eher ab.

- 1 = Kontrolle
- 2 = DAHP (0,5 g/l)
- 3 = Thiamin (1,2 mg/l)
- 4 = DAHP (0,5 g/l), Hefezellwände (0,4 g/l), Thiamin (0,6 mg/l)
- 5 = Arginin (250 mg/l)
- 6 = Pantothensäure (1 mg/l) und Folsäure (1,5 µg/l)

- 7 = Nährstoffpräparat 1
- 8 = DAHP, Hefezellwände, Thiamin, Nährstoffpräparat 1
- 9 = DAHP, Hefezellwände, Thiamin, Nährstoffpräparat 2
- 10 = Nährstoffpräparat 4
- 11 = Nährstoffpräparat 3 und 4
- 12 = DAHP, Hefezellwände, Thiamin, Nährstoffpräparat 3 und 4

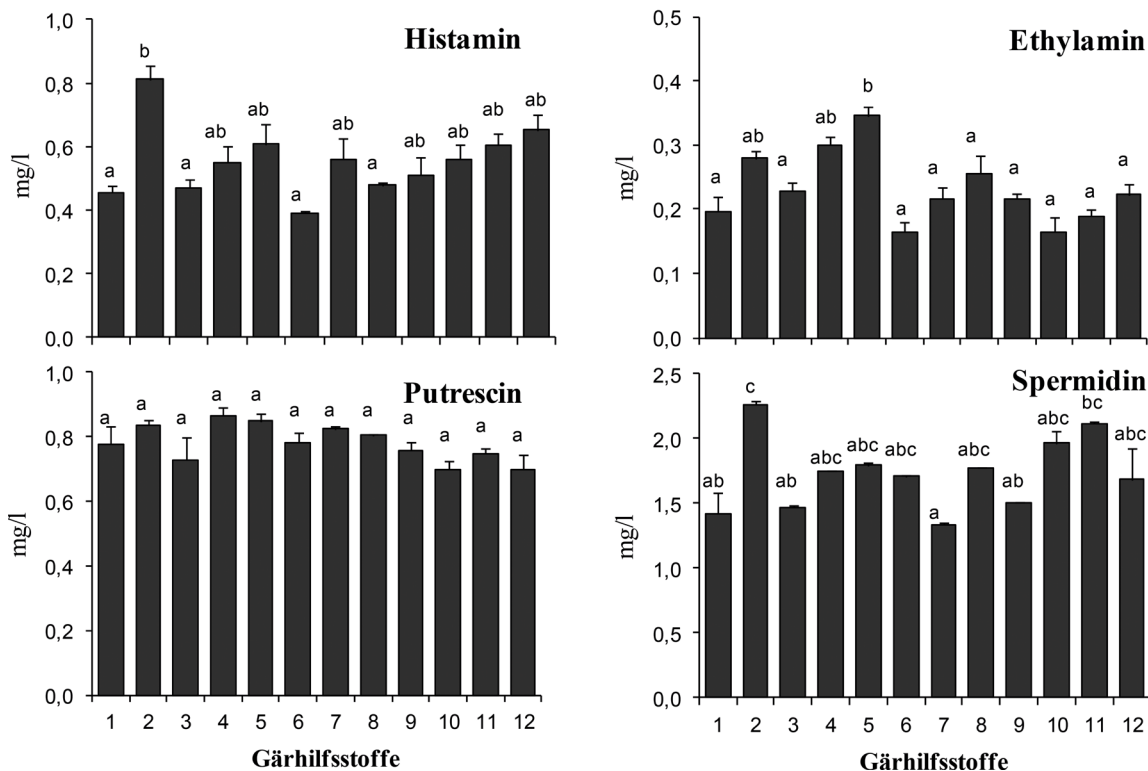


Abb. 2: Versuch 8: Aminkonzentration in Wein in Abhängigkeit von der Gärhilfsstoffzugabe gemessen in 'Riesling' (2005). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar (n = 2). Signifikante Unterschiede sind mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet.

### Biologischer Säureabbau

Bei dem biologischen Säureabbau veränderte sich in der Regel die Aminkonzentration (Tab. 3). Die deutlichste Steigerung fand sich bei Histamin, lediglich bei einer Versuchsreihe (15) blieb die Konzentration gleich; in einem weiteren Fall war der Anstieg nicht absicherbar. Spermin wurde in zwei Versuchsreihen

Eine Nährstoffzugabe zur malolaktischen Gärung oder ein spontaner BSA wiesen keinen Unterschied zur Kontrolle (Versuch 12) auf, ebenso wenig eine Simultanbeimpfung mit *S. cerevisiae* und *O. oeni* und gleichzeitiger alkoholischer wie auch malolaktischer Gärung (Versuch 13). Bei erhöhter Temperatur bzw. erhöhtem pH-Wert des Weines während eines BSA ergaben sich leichte Effekte: Eine höhere Temperatur

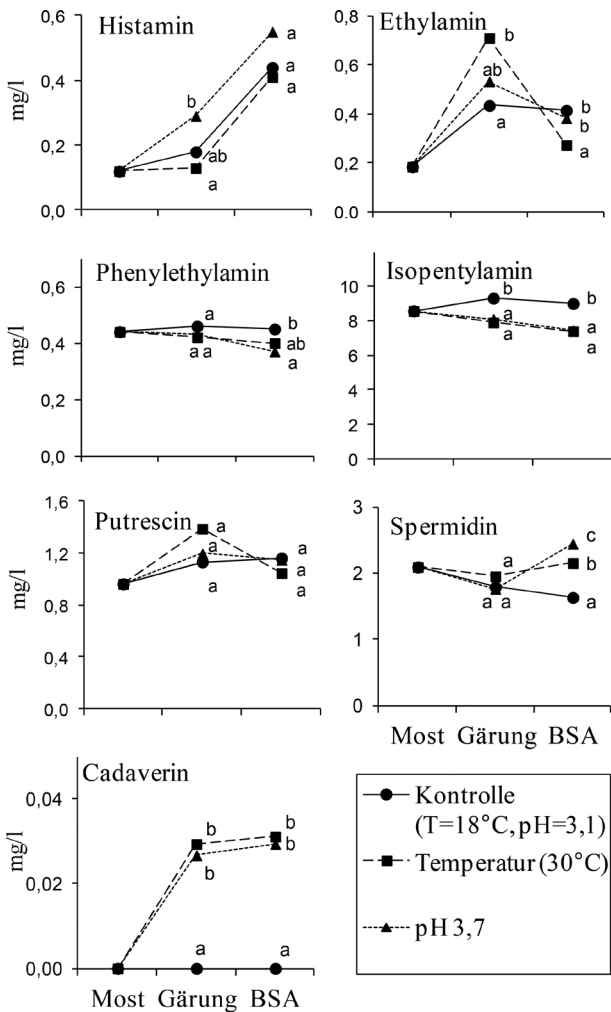


Abb. 3: Versuch 9: Temperatur und pH-Abhängigkeit der Bildung der biogenen Amine während Gärung und BSA ('Weißherbst' 2007; Most: n = 1, Gärung bzw. BSA: n = 3); verschiedene Buchstaben stellen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten (Kontrolle, Temperatur, pH-Wert) dar.

führte bei Ethylamin zu niedrigeren Werten im Vergleich zur Kontrolle, bei Spermidin dagegen zu höheren Werten (Abb. 3). Ein höherer pH-Wert während eines BSA führte dagegen zu weniger Phenylethylamin und zu mehr Spermidin im Wein. Histamin, genauso wie alle übrigen Amine, reagierte nicht auf die veränderten Bedingungen.

Eine Standzeit ohne BSA konnte zumindest tendenziell ähnliche Veränderungen bei den Aminen hervorrufen: Es fand sich ein Anstieg der Histaminkonzentration und ein Absinken der Cadaverinkonzentration (Versuch 14 und 15). Auch eine längere Standzeit

nach dem BSA (ohne Schwefelung) konnte zu signifikanten Steigerungen der Amine führen (Abb. 5). Lediglich Isopentylamin veränderte sich in keinem der beiden Versuchsjahre.

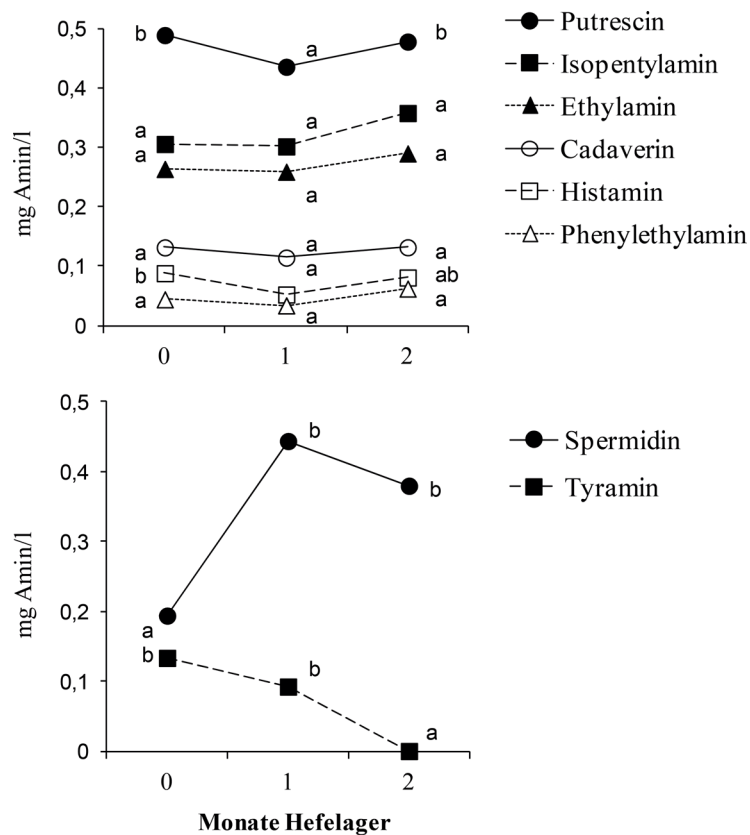
### Aminosäuren

Amine entstehen im Wein hauptsächlich durch Decarboxylierung der Aminosäuren. Der Korrelationskoeffizient zwischen der Aminosäurenveränderung und der Aminveränderung ist in Tabelle 4 für drei Versuche angegeben. Ein positiver Koeffizient bedeutet, dass Aminosäure und Amine im Versuchsverlauf gebildet werden bzw. dass beide abnehmen. Bei einem ursächlichen Zusammenhang erwartet man dementsprechend negative Koeffizienten: Die Zunahme eines Amins ginge mit der Abnahme der entsprechenden Aminosäure einher. Nur zu knapp einem Drittel korrelierte die Aminveränderung mit ihren Vorläufer-Aminosäuren signifikant, und davon waren bei mehr als der Hälfte die Korrelationskoeffizienten positiv. Gleichzeitig fanden sich fünfmal so viele Fälle, bei denen Aminveränderungen signifikant mit Aminosäurenveränderungen zusammenhingen, die nicht ihre Vorstufen sind.

### Schönungsmittel

Bei den sehr niedrigen Most- und Weinaminkonzentrationen, die bei diesen Versuchen gefunden wurden, konnte mit den Schönungen (in üblichen Behandlungsmengen) kein Effekt erzielt werden. Die folgenden Ergebnisse stammen von mit Aminstandard dotierten Proben. Die Abnahme der dotierten Amine ist in Abbildung 6 ersichtlich. Bei einer Mostschönung (mit anschließender Gärung) war Na-Bentonit am wirksamsten, welches Spermidin und Spermin nahezu vollständig und über 80 % des Histamins herausgeschönte. Die geringste Wirksamkeit wurde bei Tyramin mit lediglich 20 % Reduzierung gefunden. Gelatine und Kasein zeigten die geringste Wirksamkeit. Die Ergebnisse für Agmatin wurden nicht dargestellt: Während bei Anwendung von Na-Bentonit, Ca-Bentonit und Kohle Agmatin nach der Gärung nicht mehr detektierbar war, stieg die Konzentration in der Variante mit Na-Ca-Bentonit um 40 % und bei Gelatine um 70 %. Hier scheint der Umbau von Agmatin die Schönungswirkung zu überlagern. Die Weinschönung zeigte sich als weniger wirksam in der Aminreduzierung im Vergleich zur Mostschönung.

Abb. 4: Versuch 10: Aminkonzentration (mg/l) in Wein der Sorte 'Spätburgunder' (2007) in Abhängigkeit von einer Hefelagerung auf *B. bruxellensis* (n = 3 bis 5). Signifikante Unterschiede bezüglich der Lagerdauer sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.



nung. In der Regel wurden die Amine nur halb so stark reduziert wie bei der Mostschönung. Na-Bentonit reduzierte lediglich Spermin noch zu über 80 % während Histamin nur noch um 40 % reduziert wurde. Gelatine und Kasein waren bei der Weinschönung sogar tendenziell besser als die übrigen Schönungsmittel (außer Na-Bentonit).

### Diskussion

Die in diesem Versuch gefundenen Aminkonzentrationen lagen vergleichsweise niedrig. In der Literatur werden so z. B. für Histamin im Mittel 4 bis 9 mg/l und maximal 30 mg/l gefunden (MARCOBAL et al., 2005; MARTIN-ALVAREZ et al., 2006; SOUFLEROS et al., 1998). Damit ist der Mittelwert zehnmal, der Maximalwert dreißigmal so hoch wie bei dem hier vorliegenden Versuch (Tab. 1). Auch Putrescin (Mittel: 3 bis 18 mg/l, maximal 55 mg/l), Phenylethylamin (Mittel 0,1 bis 3, maximal 16), Cadaverin (Mittel: 0,2 bis 3, maximal 14) und Tyramin (Mittel 1,4 bis 6, maximal 20) liegen ein Vielfaches über den hier gefundenen Werten. Dabei muss berücksichtigt werden, dass diese

zitierten Arbeiten aus südlichen Weinbaugebieten stammen und die Weine außerdem nicht aus dem Versuchswesen, sondern aus kommerziellen Quellen stammten. Auch die 57 deutschen Weine, die KASCHAK et al. (2010) untersuchten, stammten aus dem Handel. Sie fanden je nach Weintyp durchschnittlich 0,8 bis 2,4 mg/l Histamin mit einem Ausreißerwert von 7,2 mg/l bei einem Portugieser-Roséwein. Putrescin fanden sie im Mittel zu 0,9 bis 2,0 mg/l (maximal 8,8 mg/l); Phenylethylamin zu 0,5 bis 1,2 mg/l (maximal 5,0 mg/l) Ethylamin zu 0,6 bis 1,4 mg/l (maximal 2,33), Cadaverin zu 0,1 bis 0,4 mg/l (maximal 0,58 mg/l) und Tyramin zu 0,8 bis 3,2 mg/l (maximal 9,6 mg/l). Bis auf Phenylethylamin liegen diese Werte ebenfalls deutlich über jenen in den vorliegenden Versuchen, aber der Unterschied ist nicht mehr so groß wie bei den Weinen aus den südlichen Weinbaugebieten. Bei Versuchswainen aus Österreich wurden ebenfalls durchgängig höhere Mittelwerte gefunden: DESSEY et al. (1981): Histamin: 0,1 mg/l; Putrescin: 1,8 mg/l; Cadaverin: 0,2 mg/l; EDER et al. (2002): Histamin: 1,1 mg/l; Putrescin: 2,4 mg/l; Phenylethylamin: 0,4 mg/l; Ethylamin: 1,7 mg/l; Cadaverin: 0,3 mg/l; Tyramin: 0,4 mg/l.

Tab. 3: Amine (mg/l) (n.n. = nicht nachweisbar bei angegebener Bestimmungsgrenze; s. Tab. 1), pH-Wert und Milchsäure (g/l) in Wein nach einem BSA. Signifikante Unterschiede sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet.

Varianten	Histamin	Ethylamin	Phenylethylamin	Isopentylamin	Putrescin	Cadaverin	Spermidin	Spermin	pH	Milchsäure
<i>BSA (nach Maischegärung, 2006 Spätburgunder, n=4)</i>										
- Versuch 11 -										
Vor BSA	0,10 a	1,06 a	0,17 a	0,36 b	0,88 a	0,11 a	0,57 b	n.n. a	3,51 a	0,23 a
O. oeni	0,18 b	1,35 b	0,16 a	0,28 a	1,01 a	0,14 b	0,22 a	0,02 b	3,64 b	1,81 b
<i>Beimpfung vs. spontanem BSA (nach Mostgärung, 2006 Spätburgunder, n=3)</i>										
- Versuch 12 -										
Vor BSA	0,11 a	0,17 a	n.n.	n.n.	0,56 a	n.n.	1,01 b	n.n. a	3,36 a	0,82 a
O. oeni.	0,19 a	0,18 a	n.n.	n.n.	0,61 a	n.n.	0,45 ab	0,05 b	3,49 b	1,72 a
O. oeni + Nährstoff	0,20 a	0,22 a	n.n.	n.n.	0,69 a	n.n.	0,48 ab	0,04 ab	3,51 b	1,75 a
Spontaner BSA	0,23 a	0,19 a	n.n.	n.n.	0,68 a	n.n.	0,34 a	0,03 ab	3,51 b	1,72 a
<i>Simultanbeimpfung (2007 Weißherbst, n=3, Most: n=1)</i>										
- Versuch 13 -										
Most	0,13	0,18	0,44	8,66	0,98	n.n.	2,10	n.n.	3,36	0,00
S. cer. St. 4	0,18 a	0,43 a	0,46 a	9,29 b	1,14 a	n.n.	1,80 a	n.n.	3,16 a	0,00 a
S. cer. St 4 + O. oeni (nach Gärung)	0,42 b	0,43 a	0,45 a	8,35 ab	1,18 a	n.n.	2,63 b	n.n.	3,19 a	0,14 a
S. cer. St 4 + O. oeni (nach BSA)	0,68 b	0,41 a	0,44 a	8,04 a	1,21 a	n.n.	2,47 ab	n.n.	3,33 a	2,96 b
<i>BSA vs. Standzeit (2007 Weißherbst, n=3)</i>										
- Versuch 14 -										
Vor BSA	0,12 a	0,28 a	0,37 a	6,82 a	1,04 a	0,06 b	1,76 a	n.n.	3,11 a	0,72 a
Ohne BSA + Standzeit	0,34 ab	0,29 a	0,39 a	7,18 a	0,93 a	0,05 ab	1,90 a	n.n.	3,15 a	0,74 a
Nach BSA	0,73 b	0,50 a	0,37 a	7,29 a	1,14 a	0,04 a	2,25 a	n.n.	3,26 a	3,20 b
<i>BSA vs. Standzeit (2007 Weißherbst, n=2)</i>										
- Versuch 15 -										
Vor BSA	0,19 a	0,37 a	0,45 a	8,46 a	1,32 a	0,05 a	1,95 a	n.n.	3,20 a	0,00 a
Ohne BSA + Standzeit	0,43 b	0,32 a	0,43 a	7,92 a	1,22 a	0,04 a	2,59 a	n.n.	3,24 a	0,12 a
Nach BSA	0,17 a	0,32 a	0,46 a	8,26 a	1,16 a	0,04 a	2,61 a	n.n.	3,37 a	2,82 b

## Hefen

Nach den vorliegenden Ergebnissen können Hefen während der Gärung klar biogene Amine erzeugen. Ein Abbau konnte nicht nachgewiesen werden, die nicht absicherbaren Verringerungsraten (Spermidin, Cadaverin) sprechen allerdings dafür, zumal dies für Spermidin von DESSER et al. (1981) und MARCOBAL et al. (2006) bestätigt wird. Die Zunahme scheint bevorzugt in der Vermehrungsphase der Hefen erfolgt zu sein. Bei Spermidin und Spermin fand sich aber auch zu Beginn der Gärung eine tendenzielle Abnahme mit anschließender Zunahme. Diese Amine können offensichtlich als Aminogruppendonatoren dienen. Die Veränderung der biogenen Amine hing oft vom benutzten Hefestamm ab. Dies lässt sich mit der stark unterschiedlichen Decarboxylaseaktivität der Stämme erklären (GRANCHI et al., 2005; Romano et al., 2008). Diese Unterschiede waren so groß, dass die hier gefundenen Ergebnisse bezüglich wilder Hefen (kein Einfluss) und Spontangärung (im Median kein Einfluss)

auch stammspezifische Ursachen haben könnten. Ein weiterer Erklärungsansatz für die Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Hefen (Hefestämmen) könnte aber auch der N-Bedarf sein. So zeichnet sich Stamm 5 (Tab. 2, Versuch 4) durch einen niedrigeren N-Bedarf aus; damit bleibt mehr N in Form von Aminosäuren als Ausgangssubstrat für eine Aminbildung übrig. Bei einer Spontangärung wiederum wird gerade zu Beginn der Gärung eine geringere Biomasse im Vergleich zur Reinzuchtheife aufgebaut (WÜRDIG und WOLLER, 1989), also sind bei einer Spontangärung höhere Aminosäurenkonzentrationen zu Beginn der Gärung zu erwarten, so dass hier die Möglichkeit einer erhöhten Aminproduktion besteht. Inwiefern eine Spontangärung tatsächlich zu erhöhter Aminproduktion führt, hängt natürlich auch von der Zusammensetzung der Hefen ab (umso mehr, als dass sogar verschiedene Stämme zu großen Unterschieden führten). Folgerichtig fanden sich bei dem kommerziellen Spontankit kaum Unterschiede zur Reinzuchtheife, zumal bei dem Spontankit die Möglichkeit besteht, dass die

Hefen schon in Bezug auf ihre Aminbildung selektiert wurden. Die Spontangärung, bei der sich am Ende aufgrund der PCR-Analyse zeigte, dass lediglich die echte Weinhefe *S. cerevisiae* verantwortlich war, erzeugte entsprechend ebenfalls keine erhöhten Aminkonzentrationen (Tab. 2, Versuch 3). Ähnlich der bisherigen Argumentation begründen MARQUES et al. (2008) eine gesteigerte Aminkonzentration in Folge einer Maischegärung mit einem erhöhten Nährstoffangebot und einer vermehrten mikrobiellen Aktivität durch die Maischegärung. Im vorliegenden Versuch fand sich eine signifikante, aber, bezogen auf die Absolutwerte, geringe Aminsteigerung. Der Versuch mit den Gärhilfsstoffen gab Aufschluss über den Einfluss des Nährstoffangebots bzw. der Vorläufersubstanzen auf die Bildung der Amine (Abb. 2). Arginin war die einzige Aminosäure, die in diesem Zusammenhang zugesetzt wurde. Aus Arginin können die Amine Agmatin, Putrescin, Spermidin und Spermin entstehen – diese Amine wurden hier aber durch den Argininzusatz nicht erhöht. Hatte der eingesetzte Stamm womöglich keine ausgeprägte Arginin-Decarboxylase? Immerhin fanden ROMANO et al. (2008) bei 20 % aller *S. cerevisiae*-Stämme keine Arginin-Decarboxylaseaktivität. Als weitere Gärhilfsstoffe wurden diverse Stickstoffquellen (DAHP, Hefezellwände und verschiedene Nährstoffpräparate) sowie Thiamin und eine Pantothenensäure/Folsäure-Kombination eingesetzt. Lediglich die alleinige Anwendung von DAHP führte zu einer Zunahme von Aminen. Als Ursache käme wieder eine höhere Verfügbarkeit der Aminosäuren als Vorstufen der Amine in Frage: Durch Zugabe von DAHP könnten weniger hefeverfügbare Aminosäuren durch die alkoholische Gärung verbraucht worden sein. DAHP in Kombination mit Thiamin und Hefezellwänden (und Nährstoffen) zeigte beim vorliegenden Versuch keine Reaktion. Wird also durch z. B. Thiamin die vermehrte Bildung von Aminen unterbunden? Möglich – aber der direkte Vergleich der Kontrolle mit der Thiaminzugabe konnte diese These nicht bestätigen. Genauso wenig sank die Aminkonzentration infolge der Nährstoffpräparate; eher konnten die Ergebnisse von MARQUES et al. (2008) hinsichtlich der nicht-aminerhöhenden Wirkung von Kombipräparaten bestätigt werden. Bei einer Hefelagerung fanden sich nur tendenzielle Steigerungen. Ein Anstieg von Putrescin, wie ihn MARCOBAL et al. (2006) beschreiben, fand sich ebenfalls nur tendenziell und nur bei vorangegangener Spontangärung – womöglich wiederum eine Folge von höheren verbliebenen Aminosäurenkonzentrationen nach der Gärung.

## BSA

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass der biologische Säureabbau die Hauptursache für die Entstehung von biogenen Aminen während der Vinifizierung ist (DESSER et al., 1981; MORENO-ARRIBAS et al., 2003; GUERRINI et al., 2002; MARCOBAL et al., 2006; ALCAIDE-HIDALGO et al., 2007; MARQUES et al., 2008). Tatsächlich fand sich bei diesem Versuch in der Regel eine Zunahme von Histamin aufgrund eines BSA (Tab. 3, Versuch 11, 13, 14, bzw. tendenziell: Versuch 12). Allerdings war diese Zunahme nur moderat und z. T. durch eine Standzeit begründet (Versuch 14 und 15) – vor allem aber fanden sich die höchsten Histaminkonzentrationen nicht nach einem BSA, sondern nach der alkoholischen Gärung mit *S. cerevisiae* (Abb. 1). Bei den anderen untersuchten Aminen gab es keine nennenswerte Zunahme nach BSA, dagegen nahm Spermidin sogar eher ab. Bei einer längeren Standzeit nach Abschluss des BSA werden weiterhin biogene Amine gebildet, wenn die Aktivität nicht durch Schwefelung (oder gar eine Pasteurisierung) gestoppt wird (Abb. 5). Die gefundenen Zunahmen der Gesamtamine von +50 % bzw. +10 % fanden auf sehr niedrigem Niveau (ca. 2,5 Milligramm Amin pro Liter) statt. Es ist unsicher, ob sich diese Steigerungsraten auch auf Weine mit höheren Aminkonzentrationen übertragen ließen. Auf jeden Fall lässt sich die Annahme von ROSI et al. (2009), dass eine Erhöhung der Aminkonzentration nicht während, sondern erst nach Abschluss des biologischen Säureabbaus stattfindet, damit nicht bestätigen.

## Temperatur und pH-Wert

Die Gärtemperatur könnte auf die Konzentration an biogenen Aminen im Wein einen Einfluss haben: Die größte Gefahr besteht darin, dass sich Milchsäurebakterien schon während der Gärung besser vermehren und so deutlich mehr Amine bilden können (DITTRICH und GROSSMANN, 2005). Auch bei Hefen bewirkt eine höhere Temperatur eine stärkere Vermehrung zu Beginn der Gärung. Dies würde zu einem höheren N-/Aminosäurenverbrauch führen und damit könnte auch die Aminproduktion geringer ausfallen, entsprechend den oben beschriebenen Schlussfolgerungen, dass ein hoher Aminosäurenverbrauch zu niedrigeren Konzentrationen der Vorstufen der Amine und damit zu niedrigeren Aminkonzentrationen führt. Förderung der Milchsäurebakterien und der Hefen hätten folglich eine gegenteilige Wirkung. In dem hier

Tab. 4: Korrelationskoeffizient (r, \*, \*\*, \*\*\*: signifikant bei  $\alpha = 5\%$ ,  $1\%$ ,  $0,1\%$ ) einer einfachen linearen Spearman-Rangkorrelationsanalyse zwischen den Konzentrationsänderungen von Aminosäuren (bzw. Gesamt-N) und Aminen. Bei den Aminen und deren korrespondierenden Vorläufer-Aminosäuren wurden die entsprechenden Werte fett markiert. Tyramin, welches aus Tyrosin entsteht, wurde in diesen Versuchen nicht gefunden. Ornithin bzw. Arginin werden folgendermaßen umgesetzt: Ornithin  $\rightarrow$  Putrescin  $\rightarrow$  Spermidin  $\rightarrow$  Spermin und Arginin  $\rightarrow$  Agmatin  $\rightarrow$  Putrescin  $\rightarrow$  Spermidin  $\rightarrow$  Spermin.

	Arginin	Alanin	Leucin	Phenylalanin	Ornithin	Lysin	Tyrosin
<i>Spontangärung vs. Reinzuchtheife (Versuch 3: 2007 Weißherbst, n=8)</i>							
Cadaverin	0,61	0,85 **	-0,70 *	0,44	-0,75 *	<b>-0,16</b>	0,22
Putrescin	<b>-0,03</b>	-0,48	0,24	-0,33	<b>0,62</b>	-0,15	-0,17
Spermidin	<b>-0,02</b>	-0,10	0,18	0,48	<b>0,30</b>	-0,41	0,10
Ethylamin	-0,66 *	<b>-0,94</b>	0,73 *	-0,45	0,88 **	0,05	-0,34
Isopentylamin	-0,48	-0,73 *	<b>0,84 **</b>	-0,17	0,66	-0,19	0,01
Histamin	-0,41	-0,74 *	0,55	-0,61	0,63	-0,01	-0,26
Phenylethylamin	-0,35	-0,70 *	0,71 *	<b>-0,34</b>	0,60	-0,16	0,01
<i>Simultanbeimpfung (Versuch 13: 2007 Weißherbst, n=6)</i>							
Cadaverin	-	-	-	-	-	-	-
Putrescin	<b>0,43</b>	0,87 **	0,77 *	0,77*	<b>0,73 *</b>	0,76 *	-
Spermidin	<b>-0,02</b>	<b>0,62</b>	0,70 *	0,70	<b>0,87 **</b>	0,69 *	-
Ethylamin	-0,71 *	-0,64	-0,36	-0,36	-0,28	-0,39	-
Isopentylamin	-0,47	-0,88 **	<b>-0,78 *</b>	-0,78*	-0,82 *	-0,78 *	-
Histamin	0,42	0,73 *	0,63	0,63	0,62	0,63	-
Phenylethylamin	-0,50	-0,57	-0,35	<b>-0,35</b>	-0,42	-0,34	-
<i>BSA vs. Standzeit (Versuch 14: 2007 Weißherbst, n=12)</i>							
Cadaverin	-0,79 *	-0,48	-0,74 *	-0,81 *	-0,69 *	<b>-0,86 *</b>	-0,85 *
Putrescin	<b>-0,04</b>	-0,13	0,07	-0,02	<b>0,16</b>	-0,11	-0,01
Spermidin	<b>0,54</b>	0,37	0,65 *	0,61 *	<b>0,69 *</b>	0,55	0,62 *
Ethylamin	0,13	<b>0,18</b>	0,37	0,26	0,34	0,21	0,29
Isopentylamin	0,15	0,23	<b>0,39</b>	0,28	0,25	0,21	0,28
Histamin	0,72 *	0,36	0,80 *	0,75 *	0,62 *	0,66 *	0,76 *
Phenylethylamin	-0,08	0,22	0,13	<b>0,00</b>	-0,01	-0,07	-0,01

durchgeführten Versuch mit einer deutlich höheren Temperatur bei der Gärung zeigten sich kaum Auswirkungen auf die Aminkonzentration im Vergleich zu normaler Gärtemperatur (Versuch Nr. 20) – wie schon bei SCHOLTEN und FRIEDRICH (1998). Tendenziell wurde weniger Histamin und Isopentylamin gebildet; Ethylamin war erhöht. Ein höherer pH-Wert als normal wirkte sich steigernd auf die Spermidin- und Cadaverinkonzentration aus, tendenziell auch auf Histamin. Die Konzentrationen von Isopentylamin und Phenylethylamin sanken aufgrund eines höheren pH-Wertes. Auch für den höheren pH-Wert gilt, dass in erster Linie die unerwünschte malolaktische Gärung der Hauptgrund für erhöhte Aminkonzentrationen nach alkoholischer Gärung ist. Ob sich ein höherer pH-Wert ursächlich über eine alkoholische Gärung

auf die Aminkonzentration auswirken könnte, wurde bisher nicht untersucht. Die Hauptgefahr eines höheren pH-Werts liegt in der Förderung unerwünschter Mikroorganismen.

Die insgesamt niedrigen Aminwerte bei den hier durchgeführten (BSA-)Versuchen können sich auch mit dem niedrigen pH-Wert der Versuchsweine von 3,1 bis 3,5 erklären lassen. Weine aus südlichen Weinbauregionen weisen natürlicherweise höhere pH-Werte auf: 3,6 bis 4,0 (HERBERT et al., 2005); 3,1 bis 3,8 (LANDETE et al., 2005); 3,2 bis 4,1 (MARCOBAL et al., 2005). Auch die vier Ausreißerwerte von 40 bis 80 mg Gesamtamine pro Liter bei 57 untersuchten deutschen Handelsweinen mit im Allgemeinen unter 20 mg Gesamtamine pro Liter weisen pH-Werte von 3,5 bis 3,9 auf (KASCHAK et al., 2010).

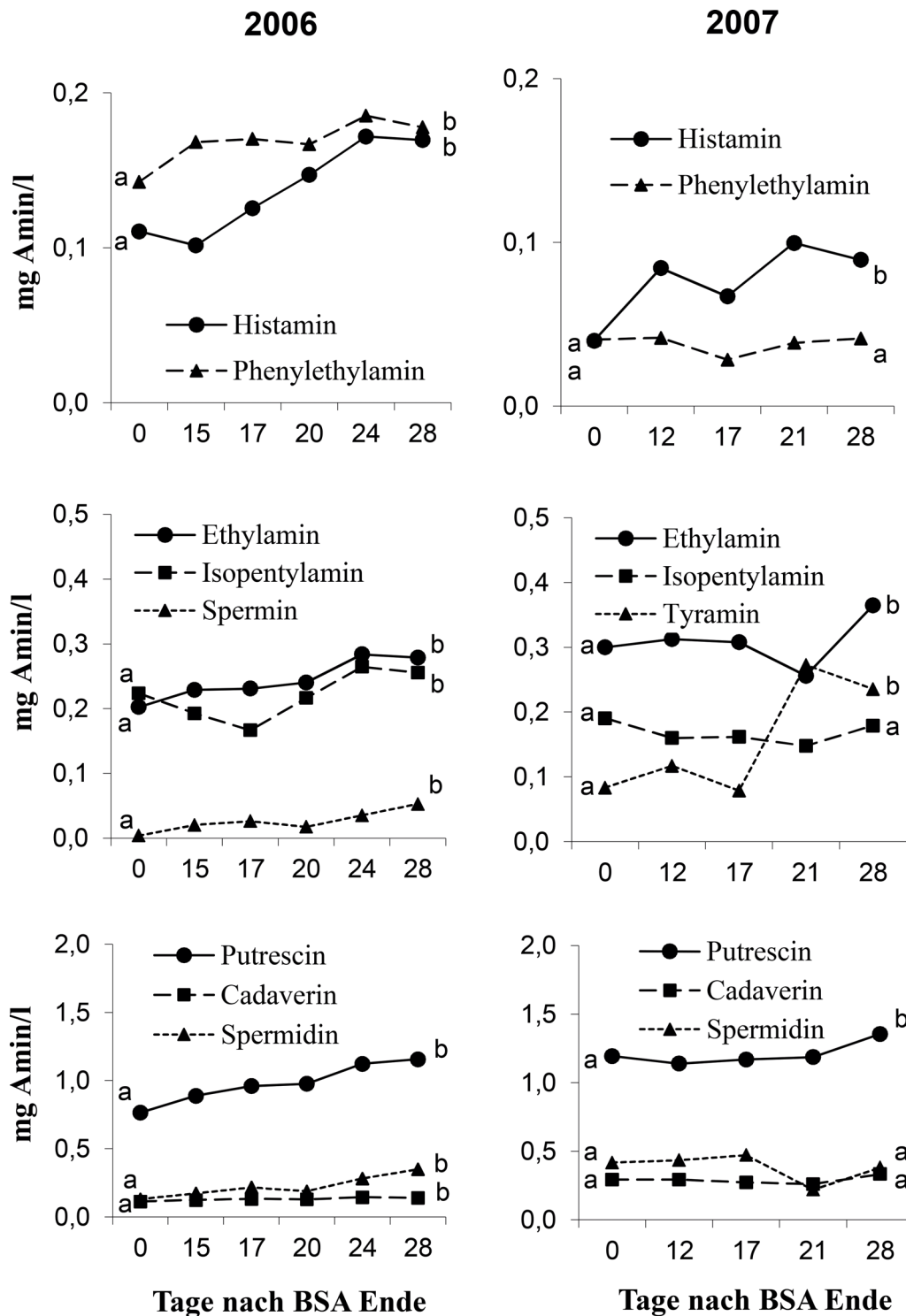


Abb. 5: Versuch 16: Verlauf der Aminkonzentration (mg/l) in Wein der Sorte 'Spätburgunder' (Maischegärung) der Jahrgänge 2006 und 2007 nach Beendigung des BSA ohne Schwefelung (n = 4). Signifikante Unterschiede zwischen Anfangs- und Endwerten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.



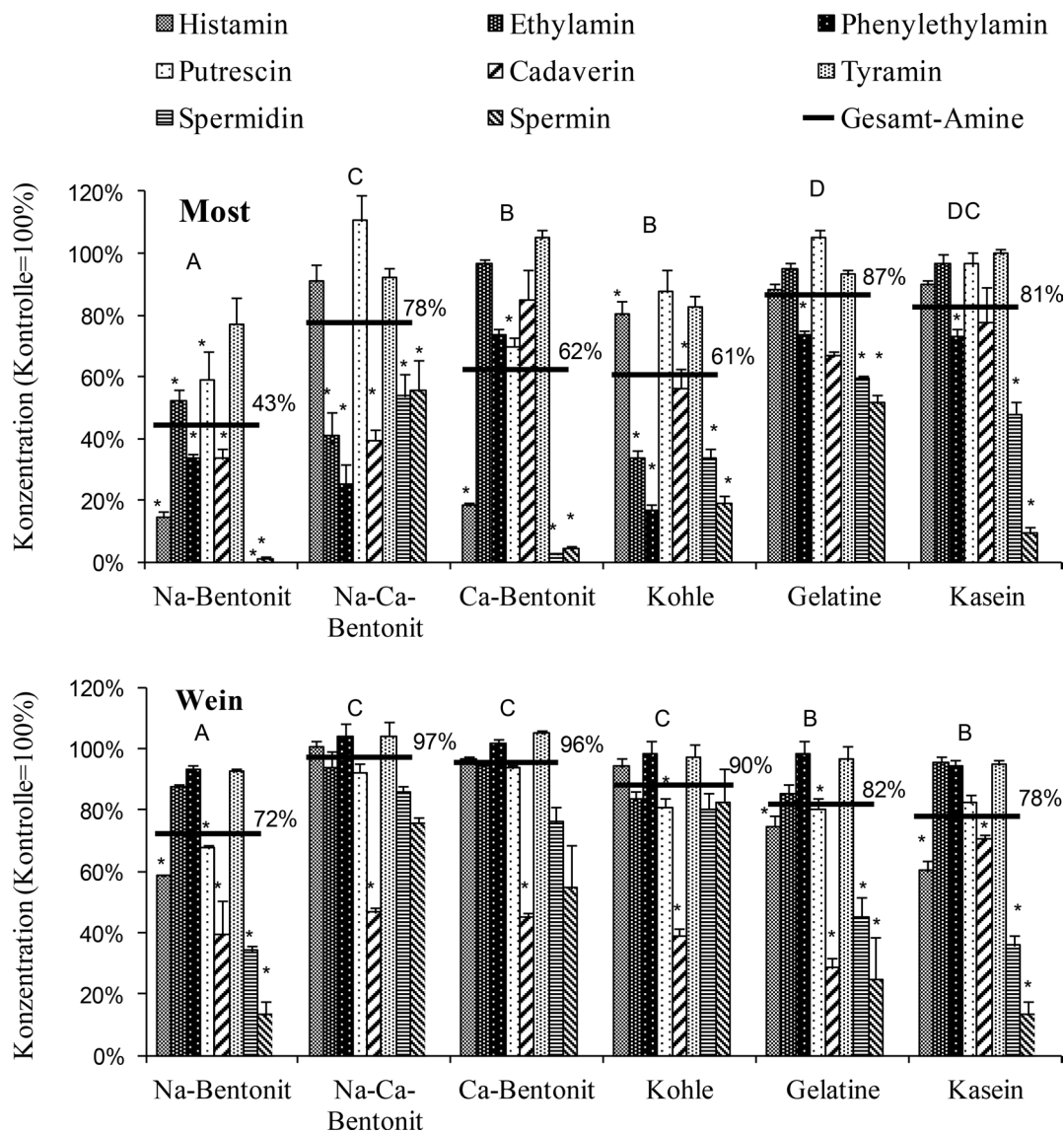


Abb. 6: Versuch 17: Abnahme (% der dotierten Amine) im Wein bei einer Most- bzw. Weinschönung der Sorte 'Riesling' (2006). Signifikante Unterschiede zwischen den Schönungsmitteln sind durch unterschiedliche Großbuchstaben gekennzeichnet. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar (n = 3). Signifikante Abnahmen zur ungeschönten Kontrolle (= 100 %) sind mit \* gekennzeichnet.

### Aminosäuren

Amine entstehen im Wein hauptsächlich durch Decarboxylierung der Aminosäuren. Folglich wäre ein negativer Korrelationskoeffizient zwischen der Aminosäurenveränderung und der Aminveränderung zu erwarten. Dies wurde hier zwar zum Teil gefunden (Tab. 4): Die gebildeten Amine korrelierten zu 30 % mit ihren entsprechenden Vorstufen, aber auch genau so oft mit

den Aminosäuren, die nicht mit ihnen korrespondieren! Der Anteil der negativen Korrelationskoeffizienten betrug in beiden Fällen 50 %. Auch wenn es aufgrund des natürlicherweise korrelierenden Aminosäurenverbrauchs während der Gärung zu Begleitkorrelationen zwischen Aminen und Aminosäuren, die nicht ihre Vorstufen sind, kommen muss, müssten für einen ursächlichen Zusammenhang höhere Anteile zu finden sein. Die gefundenen Korrelationen erscheinen

damit eher zufällig und lassen sich nicht durch die ursächliche Decarboxylation erklären. Andere Autoren fanden sogar gar keine Korrelation zwischen Aminosäurenverbrauch und Aminbildung (TORREA-GOÑI und ANCÍN- AZPILICUETA, 2001; GONZÁLEZ -MARCO et al., 2006). Da entsprechend den Konzentrationsunterschieden nur ca. 0,2 bis 1 % der Aminosäuren zu Aminen decarboxyliert werden, ist die Korrelation zwischen den Aminen und ihren Vorstufen zu 99 % von anderen Einflüssen überlagert. Außerdem steigt die Aminbildung nicht unbedingt mit steigender Aminosäurenverfügbarkeit – wie die ergebnislose Zugabe von Arginin zeigte (Abb. 2).

### Schönung

Bei den hier vorgefundenen moderaten bis niedrigen Aminkonzentrationen ließ sich mit den zugelassenen Schönungsmittelmengen keine Verminderung erzielen. Dies deckt sich mit den bisherigen Erkenntnissen, die auch keine Reduzierung gefunden haben oder erst bei nicht praxisrelevanten Mengen an Schönungsmitteln (MAYER und PAUSE, 1985; SCHOLTEN und FRIEDRICH, 1998; EDER et al., 2002). Bei hohen Aminkonzentrationen jedoch sind vor allem Na-Bentonite in der Lage, Amine zu senken. Die reduzierende Wirkung ist dabei in Most doppelt so gut wie in Wein.

### Schlussfolgerungen

Für die Bildung von biogenen Aminen in Wein sind entsprechende Mikroorganismen (also Hefen und Milchsäurebakterien), die Vorstufen (Aminosäuren) und die äußeren Bedingungen (Temperatur, pH-Wert) entscheidend. Die weitverbreitete Aussage, dass biogene Amine vor allem infolge eines BSA entstehen, konnte mit den hier durchgeführten Versuchen (mit pH-Werten < 3,5) nicht bestätigt werden. Weder ein spontaner unkontrollierter BSA noch die Nährstoffzugabe oder eine Simultanbeimpfung mit Reinzuchthefen führten zu hohen Aminkonzentrationen. Bei höheren pH-Werten mag die Gefahr durchaus größer sein. Dagegen zeigte sich, dass Hefen ein starkes Potenzial haben, Amine zu produzieren. Die Zunahme an Isopentylamin, Putrescin und Spermidin waren bei einer Spontangärung um ein Vielfaches größer als nach einem BSA. Auch Histamin wurde von den Hefen stärker gebildet als bei einem BSA. Es zeigte sich, dass der jeweilige Hefestamm bei der Aminbil-

dung eine entscheidende Rolle spielt. Sämtliche untersuchten kellerwirtschaftlichen Methoden, wie Maischegärung, Gärhilfsstoffe, hohe Temperatur und pH-Wert, spontane Gärung bzw. Vergärung mit wilden Hefen, spontaner BSA oder Beimpfung nach oder simultan mit Reinzuchthefen, Standzeiten auf der Hefe oder nach einem BSA, haben nicht zu außerordentlich hohen Aminkonzentrationen geführt. Unter diesem Gesichtspunkt spricht folglich nichts gegen die eben aufgezählten Methoden. Sollte aber auf besonders niedrige Aminkonzentrationen Wert gelegt werden, so ist als Erstes die Benutzung einer Reinzuchthefe (möglichst ein Stamm mit geringer Decarboxylaseaktivität) zu empfehlen. Des Weiteren sollte auf Maischegärung und eine längere Hefelagerung verzichtet werden und nach dem BSA zügig filtriert und geschwefelt werden. Ist das Traubenmaterial schon belastet, sollte eine Mostschönung mit Na-Bentonit vorgenommen werden, ansonsten kann die Aminkonzentration bei hohen Werten auch noch mit einer Weinschönung reduziert werden.

### Literatur

- ALCAIDE-HIDALGO, J.M., MORENO-ARRIBAS, M.V., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J. und POLO, M.C. 2007: Influence of malolactic fermentation, postfermentative treatments and ageing with lees on nitrogen compounds of red wines. *Food Chemistry* 103: 572-581.
- ANCÍN-AZPILICUETA, C., GONZÁLEZ-MARCO, A. und JIMÉNEZ-MORENO, N. 2008: Current knowledge about the presence of amines in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48: 257-275.
- BACH, B., COLAS, S., MASSINI, L., BARNAVON, L. und VUCHOT P. 2011: Effect of nitrogen addition during alcoholic fermentation on the final content of biogenic amines in wine. *Annals of Microbiology* 61: 185-190.
- BAUCOM, T.L., TABACCHI, M.H., COTTRELL, T.H.E. und RICHMOND B.S. 1986: Biogenic amine content of New York state wines. *Journal of Food Sciences* 51 (5): 1376-1377.
- BAUZA, T., BLAISE, A., TEISSEDRE, P.L. und CABANIS, J.C. 1995: Les amines biogènes du vin. *Metabolisme et toxicité. Bulletin OIV* 68: 42-67.
- BEUTLING, D. M. 1996: Biogene Amine in der Ernährung. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- BLESER, M. 2000: Einfluss von N-Düngung und Begrünung auf die Gesamt-N-, Aminosäure-N- und Polyamin-N-Gehalte in Beeren, Mosten und Weinen von *Vitis vinifera* L. (cv. Riesling) im Verlauf zweier Vegetationsperioden. Justus-Liebig-Universität Gießen, Dissertation. Geisenheimer Berichte, Band 42.
- BUTEAU, C., DUISCHAEVER, C.L. und ASHTON, G.C. 1984: A study of the biogenesis of amines in a villard noir wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 228-236.

- CARUSO, M., FIORE, C., CONTURSI, M., SALZANO, G., PAPARELLA, A. und ROMANO, P. 2002: Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeasts. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 18: 159-163.
- DESSER, H., BANDION, F. und KLÄRING, W. 1981: Zur Kenntnis einiger biogener Amine des Traubenmostes und Traubenweines. *Mitteilungen Klosterneuburg* 31: 231-237.
- DITTRICH, H.H. und GROSSMANN, M. 2005: *Mikrobiologie des Weines*. Ulmer Verlag Stuttgart.
- EDER, R., BRANDES, W. und PAAR, E. 2002: Einfluss von Traubenfäulnis und Schönungsmitteln auf Gehalte biogener Amine in Mosten und Weinen. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 52: 204-217.
- FÄTH, K.-P. und RADLER, F. 1994: Untersuchung der Aminbildung bei Milchsäurebakterien. *Viticultural and Enological Science* 49: 11-16.
- GENY, L., COLIN, L., BREZILLON, I. und BROQUEDIS, M. 1999: Analyse des polyamines conjuguées aux acides hydroxycinnamiques dans les fleurs de vigne et les baies de raisin. *Vitis* 38: 157-160.
- GONZÁLES DE LLANO, D., CUESTA, P. und RODRÍGUEZ, A. 1998: Biogenic amine production by wild lactococcal and lueconostoc strains. *Letters in Applied Microbiology* 26: 270-274.
- GONZÁLEZ-MARCO, A., JIMÉNEZ-MORENO, N. und ANCÍN-AZPILICUETA, C. 2006: Influence of addition of yeast autolysate on the formation of amines in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2221-2227.
- GRANCHI, L., ROMANO, P., MANGANI, S., GUERRINI, S. und VINCENZINI, M. 2005: Production of biogenic amines by wine microorganisms. *Bulletin OIV* 78: 595-609.
- GUERRINI, S., MANGANI, S., GRANCHI, L. und VINCENZINI, M. 2002: Biogenic Amine Production by *Oenococcus oeni*. *Current Microbiology* 44: 374-378.
- HERBERT, T., CABRITA, M.J., RATOLA, N., LAUREANO, O. und ALVES, A. 2005: Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *Journal of Food Engineering* 66: 315-322.
- HERR, P. 2011: Biogene Amine: je spontaner, desto schlimmer. *Der Deutsche Weinbau*, Neustadt 16/17: 36-39.
- IZQUIERDO CAÑAS, P.M., GARCÍA ROMERO, E., GÓMEZ ALONSO, S., FERNÁNDEZ GONZÁLEZ, M. und PALOP HERREROS, M.L.L. 2008: Amino acids and biogenic amines during spontaneous malolactic fermentation in Tempranillo red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 731-735.
- JANSEN, S.C., VAN DUSSELDORP, M., BOTTEMA, K.C. und DUBOIS, A.E.J. 2003: Intolerance to dietary biogenic amines: a review. *Annual Allergy Asthma Immunology* 91: 233-241.
- KASCHAK, E., PFEIFFER, P. und KÖNIG, H. 2010: Verbreitung biogener Amine in deutschen Weinen. *Deutsches Weinbaujahrbuch* 61: 125-136.
- LANDETE, J.M., FERRER, S., POLO, L. und PARDO, I. 2005: Biogenic amines in wine from three Spanish Regions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1119-1124.
- LONVAUD-FUNEL, A. 2001: Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 199: 9-13.
- MARCOBAL, Á., POLO, M.C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J. und MORENO-ARRIBAS, M.V. 2005: Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. *Food Research International* 38: 387-394.
- MARCOBAL, Á., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., POLO, M.C., MUÑOZ, R. und MORENO-ARRIBAS, M.V. 2006: Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine. *Journal of Food Protection* 69 (2): 397-404.
- MARQUES, A.P., LEITÃO, M.C. und SAN ROMÃO, M.V. 2008: Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food Chemistry* 107: 853-860.
- MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., MARCOBAL, Á., POLO, C. und MORENO-ARRIBAS, M.V. 2006: Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *European Food Research and Technology* 222: 420-424.
- MARTUSCELLI, M., ARFELLI, G., MANETTA, A.C. und SUZZI, G. 2013: Biogenic amines content as a measure of the quality of wines of Abruzzo (Italy). *Food Chemistry* 140: 590-597.
- MAYER, K. und PAUSE, G. 1985: Senkung der Amingehalte in Wein durch Bentonitbehandlung – Laborversuche. *Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau* 121: 203-208.
- MORENO-ARRIBAS, M.V., POLO, C., JORGANES, F. und MUÑOZ, R. 2003: Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *International Journal of Food Microbiology* 84: 117-123.
- ROSI, I., NANNELLI, F. und GIOVANI, G. 2009: Biogenic amine production by *Oenococcus oeni* during malolactic fermentation of wines obtained using different strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT-Food Science and Technology* 42: 525-530.
- ROMANO, P., CAPECE, A. und POETA C. 2008: Biogenic amine formation in alcoholic fermentation. *Bulletin OIV* 80: 251-262.
- SCHOLTEN, G. und FRIEDRICH, G. 1998: Biogene Amine im Wein. *Vorkommen, Analytik, Beeinflussung*. *Das deutsche Weinmagazin* 19: 27-32.
- SMIT, A.Y., DU TOIT, W.J. und DU TOIT, M. 2008: Biogenic Amines in Wine: Understanding the headache. *South African Journal of Enology and Viticulture* 29: 109-127.
- SMIT, AY., ENGELBRECHT, L. und DU TOIT, M. 2012: Managing your wine fermentation to reduce the risk of biogenic amine formation. *Frontiers in Microbiology/Food Microbiology* 3: 1-10.
- SOLEAS, G.J., CAREY, M. und GOLDBERG, D.M. 1999: Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines. *Food Chemistry* 64: 49-58.
- SOUFLEROS, E., BARRIOS, M.-L. und BERTRAND, A. 1998: Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *American Journal of Enology and Viticulture* 49: 266-278.
- SOUZA, S.C., THEODORO, K.H., SOUZA, E.R., DA MOTTA, S. und ABREU GLÓRIA, M.B. 2005: Bioactive amines in Brazilian wines: types, levels and correlation with physico-chemical parameters. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48: 53-62.
- TORREA-GOÑI, D. und ANCÍN-AZPILICUETA, C. 2001: Influence of yeast strain on biogenic amines in wines: Relationship with the utilization of amino acids during fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 185-190.
- TORREA-GOÑI, D. und ANCÍN-AZPILICUETA, C. 2002: Content of biogenic amines in a Chardonnay wine obtained through

- spontaneous and inoculated fermentations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 4895–4899.
- VIDAL-CAROU, M.C.; AMBATLE-ESPUNYES, A.; ULLA-ULLA, M.C.; MARINE-FONT, A. 1990: Histamine and tyramine in Spanish wines: their formation during the winemaking process. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 160-167.
- WÜRDIG, G. und WOLLER, R. 1989: *Chemie des Weines*. Ulmer Verlag Stuttgart.

Eingelangt am 26.August 2013