УДК 663.11 : 663.252.4

DOI 10.30679/2219-5335-2021-4-70-336-345

**ВЛИЯНИЕ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ
ПРОИЗВОДСТВА ВИН
НА КОНЦЕНТРАЦИИ
АМИНОКИСЛОТ
И БИОГЕННЫХ АМИНОВ**

Ширшова Анастасия Александровна
канд. техн. наук
научный сотрудник
научного центра «Виноделие»
e-mail: anastasiya_1987@inbox.ru

Агеева Наталья Михайловна
д-р техн. наук, профессор
главный научный сотрудник
научного центра «Виноделие»
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Праха Антон Владимирович
канд. с.-х. наук
старший научный сотрудник,
зав. лабораторией виноделия
научного центра «Виноделие»
e-mail: aprakh@yandex.ru

Редька Виталий Михайлович
аспирант
e-mail: redka85@bk.ru

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

Массовая концентрация биогенных аминов – важный показатель качества и безопасности пищевых продуктов, в том числе и алкогольной продукции. Биогенные амины образуются в результате декарбоксилирования свободных аминокислот под действием ферментных систем микроорганизмов. То есть их образование имеет биотехнологическую природу и непосредственно связано

UDC 663.11 : 663.252.4

DOI 10.30679/2219-5335-2021-4-70-336-345

**INFLUENCE OF BIOTECHNOLOGY
TECHNIQUES OF WINE
PRODUCTION
ON CONCENTRATIONS
OF AMINO ACIDS
AND BIOGENIC AMINS**

Shirshova Anastasia Aleksandrovna
Cand. Tech. Sci.
Research Associate
of SC «Wine-making»
e-mail: anastasiya_1987@inbox.ru

Ageyeva Natalia Mikhailovna
Dr. Sci. Tech., Professor
Chief Research Associate
of SC «Wine-making»
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Prakh Anton Vladimirovich
Cand. Agr. Sci.
Senior Research Associate
Head Laboratory of Wine-making
of SC «Wine-making»
e-mail: aprakh@yandex.ru

Redka Vitaly Mikhailovich
Postgraduate Student
e-mail: redka85@bk.ru

*Federal State Scientific
Budget Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Winemaking»,
Krasnodar, Russia*

The mass concentration of biogenic amines is an important indicator of the quality and safety of food products, including alcohol products. Biogenic amines are formed as a result of the decarboxylation of free amino acids by enzyme systems of microorganisms. It means that their formation has a biotechnological nature and is directly related to the vital activity of microorganisms. Contact of wine

с жизнедеятельностью микроорганизмов. Контакт виноматериалов с микроорганизмами – дрожжами и яблочно-молочными бактериями, может привести к повышению концентрации аминокислот и спровоцировать образование биогенных аминов. В связи с этим целью данного исследования стало изучение изменений концентраций биогенных аминов и аминокислот в процессе спиртового и яблочно-молочного брожения. Проведенные исследования показали, что суммарная концентрация биогенных аминов в сусле как из белого, так и красного сортов винограда была минимальной. Биогенных аминов – метиламина и путресцина обнаружено не было. Установлено, что в результате спиртового и яблочно-молочного брожения концентрация биогенных аминов возрастала, а соответствующих аминокислот уменьшалась. При этом суммарная концентрация всех исследуемых аминокислот в виноматериалах после спиртового брожения увеличилась, а после яблочно-молочного – незначительно уменьшилась, потому что часть клеток дрожжей при дображивании виноматериалов автолизировалась. При этом активировались массообменные процессы между клеткой и средой, приводящие к обогащению виноматериала аминокислотами. Тем самым создались благоприятные условия для активации декарбоксилаз, в результате чего произошло увеличение концентрации биогенных аминов. Полученные данные позволяют сделать вывод, что для снижения уровня биогенных аминов в готовой продукции, необходимо уделять особое внимание выбору расы дрожжей и яблочно-молочных бактерий, неспособных продуцировать биогенные амины или интродуцировать их в минимальных количествах.

Ключевые слова: СУСЛО, ВИНОМАТЕРИАЛЫ, СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ, ЯБЛОЧНО-МОЛОЧНОЕ БРОЖЕНИЕ, АМИНОКИСЛОТЫ, БИОГЕННЫЕ АМИНЫ

materials with microorganisms – yeast and malolactic bacteria, can lead to an increase in the concentration of amino acids and provoke the formation of biogenic amines. In this regard, the purpose of this research was to study changes in the concentrations of biogenic amines and amino acids in the process of alcohol and malolactic fermentation. Conducted studies have shown that the total concentration of biogenic amines in the grape must of both white and red grape varieties was minimal. Biogenic amines – methylamine and putrescine were not detected. It was found that as a result of alcohol and malolactic fermentation, the concentration of biogenic amines increased and the corresponding amino acids decreased. At the same time, the total concentration of all the studied amino acids in wine materials after alcohol fermentation increased, and after malolactic – slightly decreased, because part of the yeast cells was autolyzed during secondary fermentation of the wine materials. At the same time, mass exchange processes between the cell and the medium were activated, leading to enrichment of the wine material with amino acids. Thus, favorable conditions were created for the activation of decarboxylases, as a result of which there was an increase in the concentration of biogenic amines. The obtained data allow to suggest that in order to reduce the level of biogenic amines in the finished product, special attention must be paid to the selection of a race of yeast and malolactic bacteria that are unable to produce biogenic amines or introduce them in minimal amounts.

Key words: GRAPE MUST, WINE, ALCOHOLIC FERMENTATION, MALOLACTIC FERMENTATION, AMINO ACIDS, BIOGENIC AMINES

Введение. Важным показателем качества и безопасности некоторых пищевых продуктов является массовая концентрация биогенных аминов [1, 2]. Биогенные амины обладают значительной биологической активностью и в высоких концентрациях могут быть токсичны [3]. Они способны накапливаться в организме человека, что в дальнейшем может привести к воспалительным и аллергическим реакциям [4]. В настоящее время многие ученые активно изучают вопросы механизмов образования биогенных аминов в продуктах питания [5-8], в том числе и напитках: безалкогольных, слабоалкогольных, сидре, пиве, вине и т.д. [9-12].

Биогенные амины образуются в результате декарбоксилирования свободных аминокислот под действием ферментных систем микроорганизмов, то есть их образование имеет биотехнологическую природу и непосредственно связано с жизнедеятельностью микроорганизмов [13].

Каждый биогенный амин образуется из аминокислоты под действием определенного фермента – декарбоксилазы. На рисунке представлены аминокислоты-предшественники, из которых синтезируются биогенные амины [10, 14].

Рис. Аминокислоты, из которых синтезируются биогенные амины

Так, из гистидина в результате реакции декарбоксилирования образуется гистамин, из тирозина – тирамин, из лизина – кадаверин и т.д.

Некоторые страны мира установили максимально предельные значения содержания гистамина в вине: в Германии его концентрация составляет 2 мг/дм³, в Нидерландах – 4 мг/дм³, Бельгии – 6 мг/дм³, во Франции – 8 мг/дм³, в Швейцарии и Австрии – 10 мг/дм³. Максимально допустимым предельным значением суммы биогенных аминов, безопасным для потребителя в Европейских странах, считается 10 мг/дм³ [4, 15]. В России концентрация биогенных аминов в винодельческой продукции не нормируется.

Спиртовое брожение – важный биотехнологический процесс в технологии производства вин, который протекает под действием ферментных систем различных рас винных дрожжей. Другой биотехнологический процесс – яблочно-молочное брожение – в виноделии применяют с целью снижения уровня кислотности, повышения розливостойкости, улучшения органолептических характеристик готовой продукции. Для этого используют специальные штаммы дрожжей или бактерий яблочно-молочного брожения [16]. Следовательно, контакт виноматериалов с микроорганизмами – дрожжами и яблочно-молочными бактериями, может привести к повышению концентрации аминокислот и спровоцировать образование биогенных аминов [17].

В связи с этим, целью данного исследования стало изучение изменений концентраций биогенных аминов и аминокислот в процессе спиртового и яблочно-молочного брожения.

Объекты и методы исследования. Массовую концентрацию аминокислот и биогенных аминов определяли в сусле, виноматериалах по окончании спиртового брожения и в виноматериалах по окончании яблочно-молочного брожения. Виноматериалы были приготовлены из белого сорта винограда Оницканский белый и красного – Каберне-Совиньон, в цехе микро-виноделия ФГБНУ СКФНЦСВВ. Сбраживание виноградного сусла проводили с использованием расы дрожжей *Оеноферм LW 317-28* рода

Saccharomyces cerevisiae (Erbsloeh Geisenheim Getraenketechnologie). Для проведения яблочно-молочного брожения применяли штамм бактерий Ино-бактер (Франция, институт энологии Шампани) – специально селекционированный высокоактивный штамм рода *Oenococcus oeni*. Массовую концентрацию аминокислот определяли методом высокоэффективного капиллярного электрофореза на высокоточном приборе Капель 105Р. Массовую концентрацию биогенных аминов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent Technologies 1100) с использованием системы элюирования, состоящей из ацетонитрила и дистиллированной воды.

Обсуждение результатов. Суммарная концентрация изученных биогенных аминов в сусле была минимальной. В сусле из сорта винограда Оницканский белый их концентрация составила 0,22 мг/дм³, из Каберне Совиньон – 0,13 мг/дм³. Стоит отметить, что в обоих образцах сусла не были обнаружены метиламин и путресцин (табл.). Это можно объяснить тем, что на ягодах винограда, поступившего на переработку, отсутствовали в достаточном количестве микроорганизмы, способные продуцировать соответствующие карбоксилазы, способные трансформировать эти аминокислоты до биогенных аминов.

По окончании спиртового брожения (снижения массовой концентрации сахаров до уровня менее 4 г/дм³) в столовом виноматериале из сорта винограда Оницканский белый концентрации биогенных аминов – гистамина и тирамина не изменилась, кадаверина и β-фенилэтиламина увеличилась в 2 раза, метиламина и путресцина (в сусле не были обнаружены) стала 0,04 и 0,05 мг/дм³, соответственно.

В виноматериале из сорта винограда Каберне-Совиньон концентрации гистамина, кадаверина, путресцина и β-фенилэтиламина увеличилась в 2-5 раз, тирамина – в 13 раз, появился метиламин, которого не было в сусле, его концентрация составила 0,12 мг/дм³.

Проведение яблочно-молочного брожения показало, что тенденция к увеличению концентраций всех изучаемых биогенных аминов сохранилась. Так, в виноматериале из сорта винограда Оницканский белый отмечено увеличение в 2-4 раза, Каберне Совиньон – в 1,5-3 раза в сравнении с молодыми виноматериалами. Это можно объяснить тем, что примененные яблочно-молочные бактерии обладают ферментными системами с декарбоксилазной активностью, под действием которых и произошло декарбоксилирование биогенных аминов из соответствующих аминокислот.

Концентрации аминокислот (АМК) и биогенных аминов (БА) (мг/дм³) в сусле, виноматериалах после спиртового и яблочно-молочного брожения

Образец	АМК гистидин	БА гистамин	АМК тирозин	БА тирамин	АМК метеонин	БА метиламин	АМК лизин	БА кадаверин	АМК аргинин	БА путресцин	АМК β-фенилаланин	БА β-фенилэтиламин	Сумма АМК	Сумма БА
Сусло Оницканский белый	21,9	0,08	26,2	0,06	32,2	-	3,3	0,03	12,4	-	8,2	0,05	689	0,22
Спиртовое брожение Оницканский белый	12,0	0,08	1,8	0,16	29,1	0,04	2,7	0,05	116	0,03	5,0	0,12	973	0,48
Яблочно-молочное брожение Оницканский белый	6,1	0,21	3,6	0,43	24,2	0,14	2,1	0,11	97,3	0,06	9,3	0,23	911	1,18

Образец	АМК гистидин	БА гистамин	АМК тирозин	БА тирамин	АМК метеонин	БА метиламин	АМК лизин	БА кадаверин	АМК аргинин	БА путресцин	АМК β -фенилаланин	БА β -фенилэтиламин	Сумма АМК	Сумма БА
Сусло Каберне-Совиньон	2,3	0,04	1,5	0,02	24,9	-	2,9	0,03	11,7	0,01	0,43	0,03	1125	0,13
Спиртовое брожение Каберне Совиньон	-	0,10	-	0,26	3,0	0,08	-	0,05	8,1	0,05	1,6	0,14	1396	0,68
Яблочно-молочное брожение Каберне-Совиньон	-	0,17	-	0,44	6,0	0,27	-	0,14	8,0	0,11	3,3	0,20	1311	1,33

Концентрации аминокислот (гистидина, тирозина, метеонина, лизина, аргинина и β -фенилаланина) в процессе спиртового и яблочно-молочного брожения уменьшились, а соответствующих биогенных аминов возросли. При этом суммарная концентрация исследуемых аминокислот (метод позволяет определить 13 аминокислот) в виноматериалах после спиртового брожения увеличилась, а после яблочно-молочного – незначительно уменьшилась. Полученные данные можно объяснить тем, что часть клеток дрожжей при дображивании виноматериалов автолизировалась [18]. При этом активировались массообменные процессы между клеткой и средой, приводящие к обогащению виноматериала аминокислотами. Создались благоприятные условия для активации декарбоксилаз [19, 20], в результате чего произошло увеличение концентрации биогенных аминов.

Выводы. Таким образом, проведенные исследования показали, что суммарная концентрация биогенных аминов в сусле из белого и красного сортов винограда была минимальной, метиламин и путресцин не были обнаружены. Установлено, что в результате спиртового и яблочно-молочного брожения концентрация биогенных аминов возрастала, а соответствующих аминокислот уменьшалась. При этом суммарная концентрация исследуемых аминокислот в виноматериалах после спиртового брожения увеличилась, а после яблочно-молочного – незначительно уменьшилась. Полученные данные позволяют сделать вывод, что для снижения уровня биогенных аминов в готовой продукции, необходимо уделять особое внимание выбору расы дрожжей и яблочно-молочных бактерий, неспособных продуцировать биогенные амины или интродуцировать их в минимальных количествах.

Литература

1. Doeun D., Davaatseren M., Chung M.S. Biogenic amines in foods // Food Science and Biotechnology. 2017. Vol. 26(6) Pp. 1463–1474. doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3.
2. Red wine technology / A. Morata. – Madrid: Academic Press. – 2019. 408 p. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01326-5>. [In Spain].
3. Hernandez-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogues M.T., Marine-Font A., Vidal-Carou M.C. Biogenic amines and polyamine contents in meat and meat products // Food Chemistry. 1997. № 45. P. 2098–2102.
4. Arce L., Rios A., Valca M. Direct determination of biogenic amines in wine by integrating continuous flow clean-up and capillary electrophoresis with indirect UV detection // Journal of Chromatography A. 1998. № 803. P. 249–260.
5. Proestos C. Biogenic Amines. London: Intech Open; 2019. – 88 p. <https://doi:10.5772/intechopen.75221>. (In United Kingdom).
6. Biogenic amine contents and microbial characteristics of Cambodian fermented foods / D. Ly, S. Mayrhofer, J.M. Schmidt [et al.] // Foods. 2020. Vol. 9. № 2. P. 198-217. <https://doi.org/10.3390/foods9020198>.
7. Saad B., Tofalo R. Biogenic amines in food: Analysis, occurrence and toxicity / Croydon: The Royal Society of Chemistry. - 2019. 343 p. [United Kingdom]. <https://doi.org/10.1039/9781788015813>.
8. Ruiz-Capillas C.A., Herrero M. Impact of biogenic amines on food quality and safety // Foods. 2019. Vol. 8, № 2, Pp. 62-78. <https://doi.org/10.3390/foods8020062>.
9. Vinci G., Maddaloni L. Biogenic amines in alcohol-free beverages // Beverages. 2020. Vol. 6 (1). № 17. Pp. 1-19. doi.org/10.3390/beverages6010017.
10. Lorencová E., Salek R.N., Buňková L., Lorencová E. Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time // Food Bioscience. 2021. Vol. 41. Pp. 957. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100957>.

11. Biogenic amines occurrence in beers produced in Czech microbreweries / E. Lorencová, R.N. Salek, M. Černíková [et al.] // Food Control. 2020. Vol. 117, N. 107335. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107335>.
12. Biogenic amines and the antioxidant capacity of juice and wine from brazilian hybrid grapevines / H. Gomez, M. Marques, C. Borges [et al.] // Plant foods for human nutrition. 2020. Vol. 75, № 2. Pp. 258-264. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00811-5>.
13. Ozogul F., Hamed I., Crit R. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review // Food Science Nutr. 2017. Vol. 27. Pp. 1–11.
14. Restuccia D. M., Loizzio R., Spizzirri U. G. Accumulation of biogenic amines in wine: role of alcoholic and malolactic fermentation // Fermentation. 2018. Vol. 4, № 6. Pp. 1-18. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010006>.
15. The dietary biogenic amines tyramine and histamine show synergistic toxicity towards intestinal cells in culture / B. del Rio, B. Redruello, D.M Linares [et al.] // Food Chemistry. – 2017. Vol. 218. Pp. 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.046>.
16. Агеева Н.М., Якименко Е.Н., Чемисова Л.Э., Прах А.В. Влияние комбинированного кислотопонижения на концентрацию яблочной кислоты в виноматериалах [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2021. № 67(1). С. 319-331. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/21/01/22.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-319-331 (дата обращения: 28.06.2021).
17. Restuccia D, Loizzio MR, Spizzirri UG. Accumulation of biogenic amines in wine: role of alcoholic and malolactic fermentation. Fermentation. 2018. Vol. 4(6). Pp. 1-17. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010006>.
18. Lisovets U., Ageeva N., Blozhko A. Influence of the new strains of active dry yeast on the chemical composition of white table wines // Global science and innovation. Materials of the VI International scientific conference, Chicago, USA. Vol. II. 2015. P. 119-122.
19. Бурьян Н.И. Микробиология виноделия. Симферополь: Таврия. 2002. 403 с.
20. Агеева Н.М., Ширшова А.А., Мацкул А.В. Влияние условий брожения сусла на содержание биогенных аминов в белых столовых виноматериалах // Известия вузов. Пищевая биотехнология. 2021. № 2-3 (380-381). С. 22-23.

References

- 1 Doeun D., Davaatseren M., Chung M.S. Biogenic amines in foods // Food Science and Bio-technology. 2017. Vol. 26(6) Pp. 1463–1474. doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3.
2. Red wine technology / A. Morata. – Madrid: Academic Press. – 2019. 408 p. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01326-5>. [In Spain].
3. Hernandez-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogues M.T., Marine-Font A., Vidal-Carou M.C. Biogenic amines and polyamine contents in meat and meat products // Food Chemistry. 1997. № 45. R. 2098–2102.
4. Arce L., Rios A., Valca M. Direct determination of biogenic amines in wine by integrating continuous flow clean-up and capillary electrophoresis with indirect UV detection // Journal of Chromatography A. 1998. № 803. R. 249–260.
5. Proestos C. Biogenic Amines. London: Intech Open; 2019. – 88 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75221>. (In United Kingdom).
6. Biogenic amine contents and microbial characteristics of Cambodian fermented foods / D. Ly, S. Mayrhofer, J.M. Schmidt [et al.] // Foods. 2020. Vol. 9. № 2. R. 198-217. <https://doi.org/10.3390/foods9020198>.
7. Saad B., Tofalo R. Biogenic amines in food: Analysis, occurrence and toxicity / Croydon: The Royal Society of Chemistry. - 2019. 343 p. [United Kingdom]. <https://doi.org/10.1039/9781788015813>.

8. Ruiz-Capillas C.A., Herrero M. Impact of biogenic amines on food quality and safety // *Foods*. 2019. Vol. 8, № 2, Pp. 62-78. <https://doi.org/10.3390/foods8020062>.
9. Vinci G., Maddaloni L. Biogenic amines in alcohol-free beverages // *Beverages*. 2020. Vol. 6 (1). № 17. Pp. 1-19. doi.org/10.3390/beverages6010017.
10. Lorencová E., Salek R.N., Buňková L., Lorencová E. Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time // *Food Bioscience*. 2021. Vol. 41. Pp. 957. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100957>.
11. Biogenic amines occurrence in beers produced in Czech microbreweries / E. Lorencová, R.N. Salek, M. Černíková [et al.] // *Food Control*. 2020. Vol. 117, N. 107335. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107335>.
12. Biogenic amines and the antioxidant capacity of juice and wine from brazilian hybrid grapevines / H. Gomez, M. Marques, C. Borges [et al.] // *Plant foods for human nutrition*. 2020. Vol. 75, № 2. Pp. 258-264. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00811-5>.
13. Ozogul F., Hamed I., Crit R. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review // *Food Science Nutr*. 2017. Vol. 27. Pp. 1-11.
14. Restuccia D. M., Loizzio R., Spizzirri U. G. Accumulation of biogenic amines in wine: role of alcoholic and malolactic fermentation // *Fermentation*. 2018. Vol. 4, № 6. Pp. 1-18. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010006>.
15. The dietary biogenic amines tyramine and histamine show synergistic toxicity towards intestinal cells in culture / B. del Rio, B. Redruello, D.M Linares [et al.] // *Food Chemistry*. – 2017. Vol. 218. Pp. 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.046>.
16. Ageeva N.M., Yakimenko E.N., Chemisova L.E., Prah A.V. Vliyanie kombinirovannogo kislotoponizheniya na koncentraciyu yablochnoy kisloty v vinomaterialah [Elektronnyy resurs] // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2021. № 67(1). S. 319-331. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/21/01/22.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-319-331 (data obrashcheniya: 28.06.2021).
17. Restuccia D, Loizzio MR, Spizzirri UG. Accumulation of biogenic amines in wine: role of alcoholic and malolactic fermentation. *Fermentation*. 2018. Vol. 4(6). Pp. 1-17. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010006>.
18. Lisovets U., Ageeva N., Blozhko A. Influence of the new strains of active dry yeast on the chemical composition of white table wines // *Global science and innovation. Materials of the VI International scientific conference, Chicago, USA*. Vol. II. 2015. P. 119-122.
19. Bur'yan N.I. *Mikrobiologiya vinodeliya. Simferopol': Tavriya*. 2002. 403 s.
20. Ageeva N.M., Shirshova A.A., Mackul A.V. Vliyanie uslovij brozheniya susla na sodержanie biogennykh aminov v belykh stolovykh vinomaterialah // *Izvestiya vuzov. Pishchevaya biotekhnologiya*. 2021. № 2-3 (380-381). S. 22-23.