

УДК 663.25

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОИЗВОДСТВА ВИНОГРАДНЫХ ВИН,  
СВОБОДНЫХ ОТ БИОГЕННЫХ АМИНОВ****Кушнерева Е.В., канд. техн. наук,***Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии  
(Краснодар)*

**Реферат.** В статье представлено обоснование необходимости контроля содержания биогенных аминов в пищевых продуктах на основе данных о роли биогенных аминов в формировании функциональных свойств организма человека. Научно обоснованы факторы образования и накопления биогенных аминов в винодельческой продукции. Большое внимание уделено анализу факторов, влияющих на образование биогенных аминов в винодельческой продукции. Установлены диапазоны содержания биогенных аминов в винодельческой продукции, учитывающие особенности технологических процессов производства, а также концентрации, оказывающие токсичное действие на организм человека.

**Ключевые слова:** вино, биогенные амины, азотные удобрения

**Summary.** This paper presents the rationale for the control of biogenic amines in foods on the basis of data on the role of biogenic amines in the formation of the functional properties of the human body. Scientifically based factors of production and accumulation of biogenic amines in wine production. Much attention is paid to the analysis of factors affecting the formation of biogenic amines in wine production. The range of biogenic amines in wine production, taking into account the characteristics of manufacturing processes, as well as the concentration of toxic effects on the human body.

**Key words:** wine, biogenic amines, nitrogen fertilizers

**Введение.** Вино – исключительно сложный напиток. Состав вина зависит от сорта винограда, экологии его произрастания, года урожая, параметров процесса ферментации, технологии приготовления и выдержки.

Поскольку вино – это продукт жизнедеятельности микроорганизмов, то наряду с витаминами и микроэлементами, вино может содержать в своем составе вещества, оказывающие токсичное действие на организм человека – микотоксины, биогенные амины и т.д..

Амины – обширный класс азотсодержащих органических соединений, продукты замещения одного, двух или трёх атомов водорода в аммиаке  $\text{NH}_3$  на органические радикалы R [1].

В пищевых продуктах наиболее часто встречаются следующие амины:

- алифатические (путресцин, кадаверин, спермин);
- ароматические (тирамин, 2-фенилэтиламин);
- гетероциклические (гистамин, триптамин) [1].

Биогенные амины идентифицированы в различных пищевых продуктах, таких как рыбные продукты, мясо и мясные продукты, молочные продукты, вино, пиво, овощи, фрукты, орехи и шоколад [2,3]. Наиболее распространенными из биогенных аминов в продуктах питания являются гистамин, тирамин, кадаверин, 2-фенилэтиламин, спермин, спермидин, путресцин, триптамин. Полиамины, такие как путресцин, кадаверин, спермин, спермидин, естественным образом присутствуют в продуктах питания и участвуют в росте и пролиферации клеток [4,5].

Концентрация биогенных аминов в пищевом продукте зависит от его природы и от вида присутствующих в нем микроорганизмов.

В неферментированных пищевых продуктах, наличие биогенных аминов выше определенного уровня рассматривается как маркер качества, поскольку свидетельствует о нежелательной активности микроорганизмов и нарушении технологии производства продукта.

Содержание гистамина, путресцина и кадаверина обычно увеличивается при порче рыбы и мяса, в то время как концентрация спермина и спермидина в ходе этого процесса снижается [6]. При употреблении рыбы, подвергшейся порче, чаще всего возникают инциденты гистаминовой интоксикации потребителя. Образование гистамина в морской рыбе связывают с развитием микроорганизмов [7,8]. Учеными установлено, что гистидин может катаболизироваться в мышечной ткани рыб двумя способами. В нормальных физиологических условиях происходит дезаминирование аминокислот с образованием ур-каниновой кислоты под действием фермента гистидазы. Процесс декарбоксилирования с образованием гистамина протекает при бактериальной порче рыбы [9,10].

В такой рыбе как скумбрия, сельдь, тунец, сардины были обнаружены гистамин, путресцин, кадаверин, тирамин, спермин, спермидин [10,11,12,13].

Другие амины, такие как триэтиламин и диметиламин могут присутствовать в рыбе и рыбной продукции и по их концентрации можно определить свежесть продукта [14,15,16].

Амины также были обнаружены во фруктах и овощах [17,18]. Некоторые соки, нектары и лимонады, изготовленные из апельсинов, малины, лимонов, грейпфрутов, мандаринов, клубники, смородины и винограда содержат биогенные амины в различной концентрации [19]. Halasz A. и соавт. [20] обнаружили высокие концентрации аминов в апельсиновом соке (норадреналин, триптамин), томатах (тирамин, триптамин, гистамин), бананах (тирамин, норадреналин, триптамин, серотонин), сливе (тирамин, норадреналин) и листьях шпината (гистамин).

Фенилэтиламин является естественным компонентом какао-бобов и таким образом содержится в шоколаде и кондитерских изделиях, содержащих шоколад. Некоторые виды грибов также содержат высокий уровень фенилэтиламина [15].

Большинство продуктов, в которых развиваются молочнокислые бактерии, содержат значительное количество путресцина, кадаверина, гистамина, тирамина [6]. Ферментированные овощи представляют собой еще один класс пищевых продуктов, в которых были обнаружены биогенные амины. Основными биогенными аминами в квашеной капусте являются гистамин, тирамин, путресцин и кадаверин, в то время как фенилэтиламин содержится в небольших количествах [6,21,22].

Установлено, что мясо и мясные продукты содержат тирамин, кадаверин, путресцин, спермин, и спермидин [17,23,24,25].

Maijala R.L. и соавт. [26] установили, что при копчении в колбасе повышается концентрация гистамина и тирамина. Во время процесса созревания колбасы, в течение первых 3 суток концентрация гистамина увеличивается, по крайней мере, 10-кратно. Исследованиями установлено, что концентрация биогенных аминов в колбасе зависит от времени ее созревания, а также от декарбоксилазной активности естественной микрофлоры, используемой при производстве данного вида колбасы и качества мяса.

Наиболее часто гистаминное отравление пищевым продуктом, связано с сыром. Первый случай гистаминовой интоксикации зафиксирован в 1967 году в Нидерландах [25]. Наиболее часто в сырах идентифицируют тирамин, гистамин, путресцин, кадаверин, триптамина и  $\beta$ - фенилэтиламин. Во время созревания сыра, казеин медленно разлагается протеолитическими ферментами, что приводит к увеличению концентрации свободных аминокислот, которые в дальнейшем могут быть подвергнуты декарбоксилированию, с образованием  $\text{CO}_2$  и аминов. Таким образом, во время созревания концентрация биогенных аминов в твердых сырах постепенно увеличивается, особенно содержание гистамина, путресцина и кадаверина. Плавленые сыры, которые подвергаются нагреванию при высоких температурах, содержат значительно меньшие концентрации биогенных аминов по сравнению с твердыми сортами сыров.

Halasz A. и соавт. [7] исследовали влияние технологических условий производства пива на образование биогенных аминов. Установлено, что сорта ячменя и условия ферментации оказывают влияние на процессы декарбоксиликации и влияют на общее содержание биогенных аминов в пиве.

**Объекты и методы исследований.** В виду отсутствия требований к технологическим процессам производства винодельческой продукции, свободной от содержания биогенных аминов, на основании проведенных научных исследований разработаны рекомендации, позволяющие свести к минимуму присутствие биогенных аминов в винах, снизить риски, связанные с образованием и накоплением биогенных аминов.

**Результаты и обсуждение.** При выращивании винограда необходимо подбирать оптимальные условия, учитывающие особенности почвы, климата и возделываемых сортов.

Установлено, что в виноградном сусле содержание биогенных аминов разнообразно и варьирует в зависимости от сорта (рис. 1). Так, например, наибольшие концентрации аминов характерны для сортов Совиньон (9,2 мг/дм<sup>3</sup>), Алиготе (8,2 мг/дм<sup>3</sup>) и Виорика (9,2 мг/дм<sup>3</sup>). Минимальные концентрации аминов содержатся в сусле сортов Каберне (3,7 мг/дм<sup>3</sup>), Каберне АЗОС (2,8 мг/дм<sup>3</sup>) и Пино блан (2,8 мг/дм<sup>3</sup>).

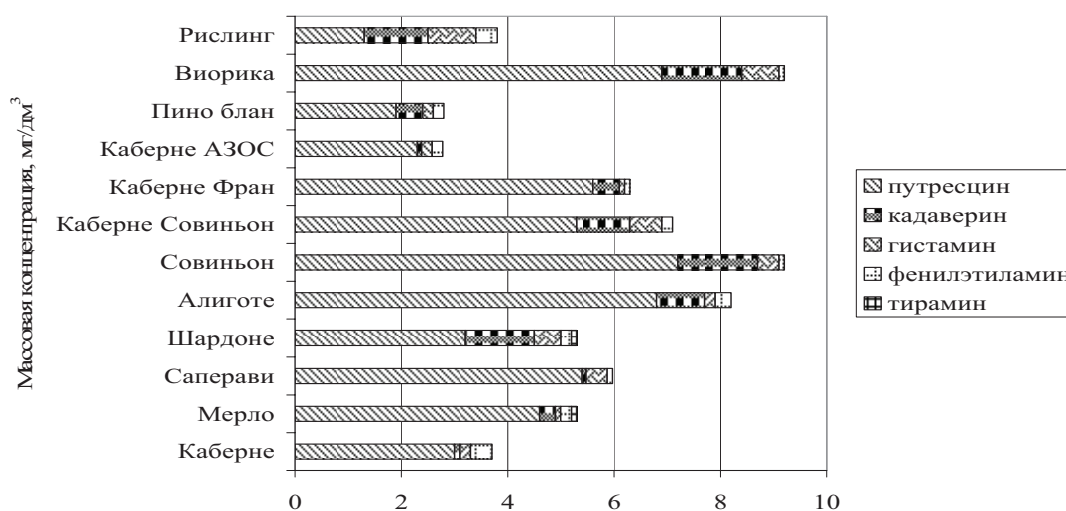


Рис. 1. Содержание биогенных аминов в сусле из винограда различных сортов

Для виноградного сула характерно наличие путресцина, кадаверина, гистамина и фенилэтиламина, и полное отсутствие тирамина и триптамина.

Необходимо отметить, что для виноградного сула не характерно присутствие таких аминокислот, как лизин и орнитин, а также аминов – триптамин и тирамин.

В виду того, что необходимым условием жизнедеятельности виноградного растения, его роста, развития и плодоношения является питание, и минеральный состав почвы имеет существенное влияние на качество винограда и на органолептические свойства вина, было исследовано влияние минеральных удобрений на качественный и количественный состав сула [27]. Установлено, что азотные удобрения почвы могут провоцировать образование биогенных аминов на стадии созревания, поскольку играют важную роль в накоплении в сусле аминокислот-предшественников биогенных аминов.

Следующим этапом, на котором необходимо осуществлять контроль за содержанием биогенных аминов и процессами декарбоксилирования аминокислот, является этап переработки винограда.

Поступающий на переработку винограда должен быть здоровым. Высокие значения рН суслу, некоторые штаммы диких культур дрожжей и молочнокислых бактерий могут способствовать образованию умеренного уровня биогенных аминов. Результаты исследований свидетельствуют о том, что сусло с пониженной кислотностью и/или с высокими значениями рН увеличивает риск развития производства биогенных аминов.

Исследование процесса декарбоксилирования аминокислот под действием ферментной системы дрожжей в зависимости от уровня рН в модульных средах позволили установить, что с возрастанием уровня рН до 3,6-3,9 в среде увеличивается общее содержание аминов (рис. 2).

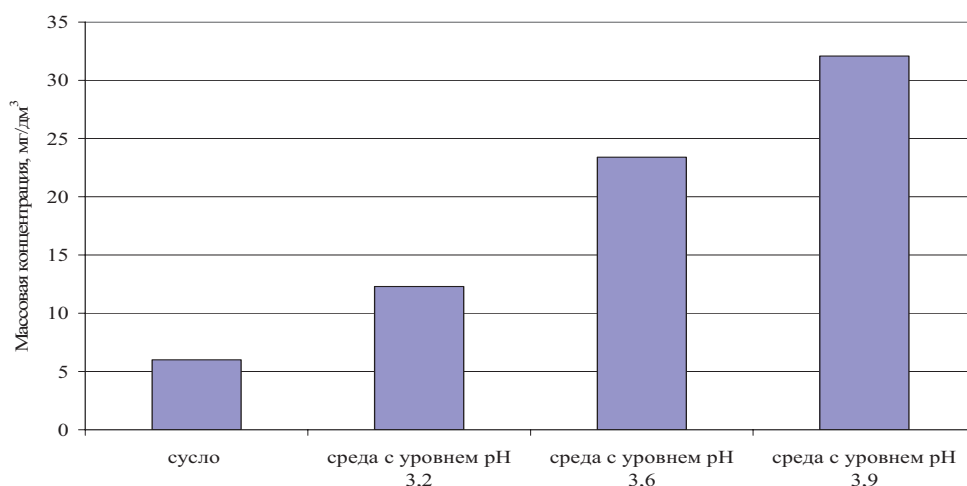


Рис. 2. Зависимость процесса декарбоксилирования аминокислот от рН сброживаемой среды

Необходимо отметить, что при выдержке сброженных виноматериалов на осадке в первые две недели наблюдается снижение общей суммы содержания аминов (рис. 3), что возможно связано с процессами седиментации. Выдержка виноматериала на дрожжевых осадках в течение 2 месяцев провоцирует накопление в виноматериалах гистамина, кадаверина и путресцина. Общая сумма аминов возрастает при этом на 20-30%, что возможно связано с автолизом клеток дрожжей и созданием благоприятной среды для процесса декарбоксилирования аминокислот.

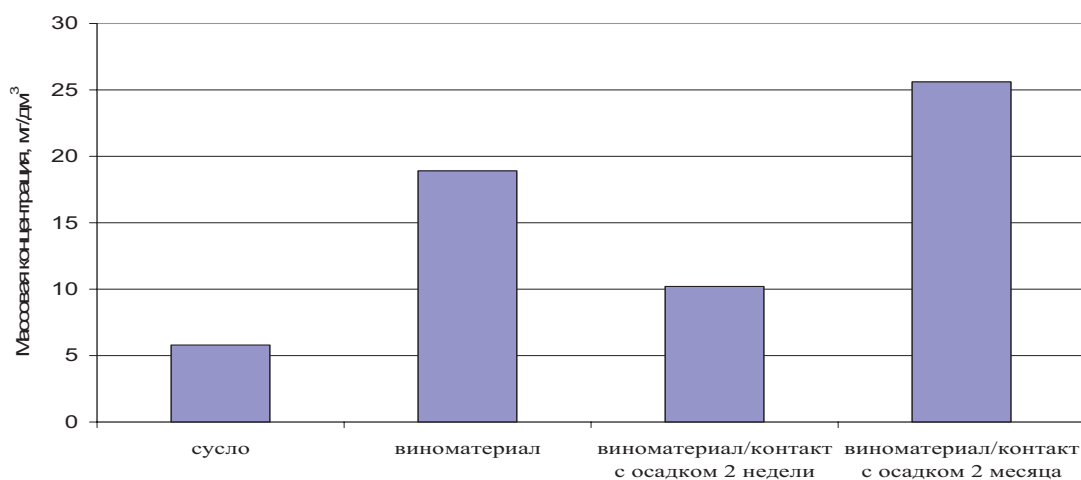


Рис. 3. Влияние продолжительности контакта виноматериала с дрожжевым осадком на процесс декарбоксилирования

Таким образом, на процесс декарбоксилирования аминокислот и образования аминов в сбраживаемой среде оказывают влияние уровень рН среды, продолжительность процесса автолиза дрожжей, а также сорт винограда.

Ферментные препараты экзогенного происхождения оказывают влияние на процессы экстракции, седиментации и формирования качества на стадии настаивания суслу на мезге и на начальной стадии спиртового брожения. Применение ферментных препаратов пектолитического действия на стадии переработки винограда способствует снижению концентрации биогенных аминов за счет процессов гидролиза и седиментации [27].

В процессе брожения суслу из сахара образуются основные (этанол,  $\text{CO}_2$ ) и большое число вторичных продуктов. К числу вторичных продуктов брожения относятся: глицерин, янтарная кислота, уксусная кислота, ацетальдегид, 2,3-бутиленгликоль, ацетоин, лимонная кислота, пировиноградная кислота, изоамиловый спирт, изопропиловый спирт, эфиры. Скорость и направленность реакций превращения химических веществ в процессе спиртового брожения зависит от многих факторов: температуры, штамма дрожжей, внесения добавок различного технологического значения, рН среды.

При сбраживании суслу на штаммах Zymaflore X 16 и Крю де Италии отмечено максимальное накопление в сбраживаемой среде суммы аминов по сравнению с контрольным штаммом (рисунок 4). Это позволяет считать, что дрожжи штаммов Zymaflore X 16, Крю де Италии, штаммов, предназначенных для сбраживания сортовых сусел, обладают способностью проводить одновременно спиртовое и яблочно-молочное брожение (рис. 4).

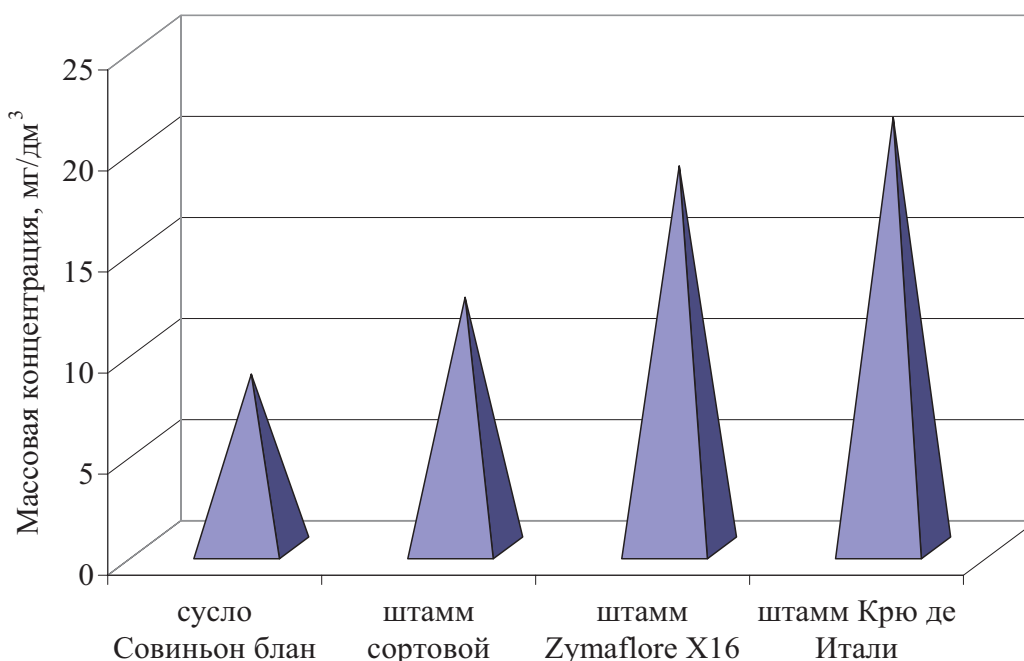


Рис. 4. Суммарное содержание биогенных аминов в виноматериалах в зависимости от штамма дрожжей

Спиртовое брожение необходимо проводить с помощью дрожжей, свободных от декарбоксилазной активности. Контролировать внесение дрожжевых подкормок, которые могут вызывать риск образования биогенных аминов.

При исследовании влияния биологического кислотопонижения на процесс декарбоксилирования аминокислот и образование биогенных аминов установлено, что при увели-

чении концентрации в среде фенольных веществ до  $2500 \text{ мг/дм}^3$  снижается риск образования биогенных аминов и процесс декарбосилирования замедляется (рис. 5).

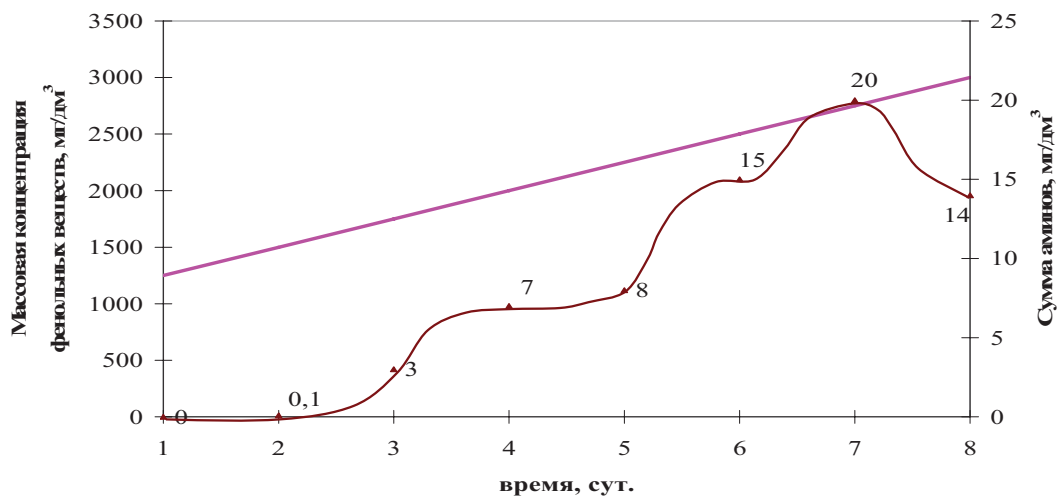


Рис. 5. Динамика концентрации биогенных аминов в зависимости от содержания фенольных веществ

Введение в виноматериал, содержащий аминокислоты, предшественники аминов (тирозин, фенилаланин, гистидин, триптофан, лизин), культуры молочнокислых бактерий, обладающей декарбосилазной активностью, и регулирование уровня pH, позволили установить, что при уровне pH 2,9 - 3,3 процесс декарбосилирования замедляется. Оптимальный уровень pH среды для протекания процесса декарбосилирования под действием декарбосилазной активности молочнокислых бактерий *O.oepi* является pH равный 3,6-3,7 (рис. 6).

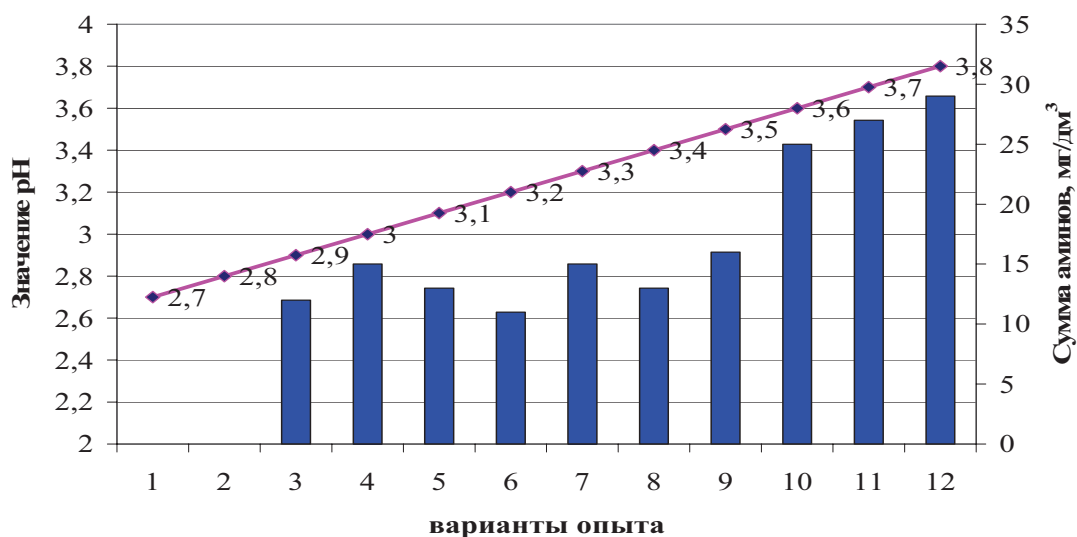


Рис. 6. Зависимость процесса декарбосилирования аминокислот под действием ферментной системой молочнокислых бактерий от уровня pH среды

Кроме того, исследованиями было установлено, что на интенсивность процесса декарбосилирования аминокислот оказывает влияние не только содержание в виноматериале фенольных веществ, но и концентрации винной и яблочной кислот (рис. 7).

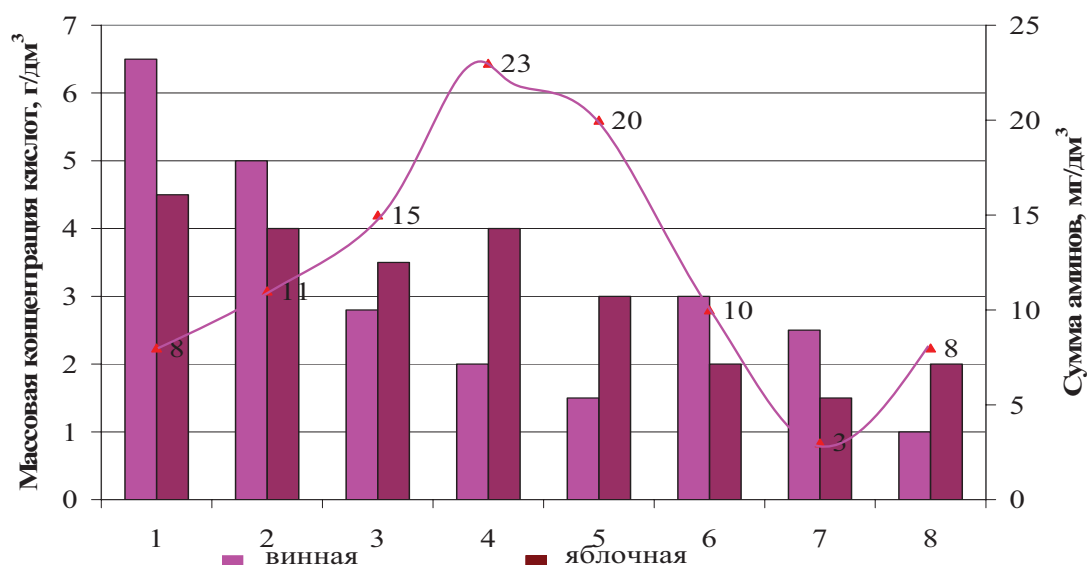


Рис. 7. Влияние содержания винной и яблочной кислот на процесс декарбоксилирования аминокислот

Установлено, что интенсивность процесса декарбоксилирования аминокислот под действием ферментной системы молочнокислых бактерий возрастает при концентрации винной и яблочной кислот в интервалах 2-4 г/дм<sup>3</sup>, при этом соотношение этих кислот составляет 0,5-0,7.

При контроле содержания биогенных аминов в винодельческой продукции могут быть использованы как международные качественный и количественный методы анализа, рекомендованные МОВВ, а также метод, разработанный в научном центре виноделия ГНУ СКЗНИИСиВ, основанный на применении современного высокоэффективного капиллярного электрофореза.

В результате исследований были установлены диапазоны содержания биогенных аминов в винодельческой продукции, учитывающие особенности технологических процессов производства, а также концентрации, оказывающие токсичное действие на организм человека (табл. 1).

Таблица 1 – Диапазоны содержания биогенных аминов в винодельческой продукции

Наименование напитка	Массовая концентрация, мг/дм <sup>3</sup>					
	путресцин	кадаверин	гистамин	2-фенилэтиламин	тирамин	триптамин
Вина столовые	10	1,5	10	4	4	2
Вина ликерные	8	0,3	5	3	2	1
Вина фруктовые (плодовые)	5	1	2	2	1	1
Вина игристые	10	2	10	2	2	2
Напитки винные	10	1	5	3	2	1
Напитки брожения слабоалкогольные	10	2	5	2	2	1

**Выводы.** В целом, проведенные исследования позволили установить, что:

1 Биогенные амины, представленные в виноградном сусле в виде путресцина, кадаверина, гистамина и фенилэтиламина образуются в результате биохимических процессов созревания винограда и их концентрация и качественный состав зависят от сорта винограда, агротехнологических приемов его выращивания.

2 В процессе переработки винограда суслу в виноматериалы биогенные амины образуются в результате жизнедеятельности дрожжей и молочнокислых бактерий;

Накопление и образование биогенных аминов может варьировать в зависимости от:

- типа применяемых ферментных препаратов при переработке красных сортов винограда;

- вида применяемых питательных веществ во время спиртового брожения;

- от штамма дрожжей и молочнокислых бактерий;

- уровня pH срежаиваемой среды;

- времени контакта виноматериала с дрожжевым осадком.

### Литература

1 Интернет-ресурс <http://ru.wikipedia.org/>

2 Askar A. and Treptow H., 1986. Biogene Amine in Lebensmitteln. Vorkommen, Bedeutung und Bestimmung, Eugen Ulmer GmbH and Co, Stuttgart, Germany.

3 Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Zotou A. and Loukou Z., 2007. Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC and ultraviolet detection after dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. Food Chem., 101, 704-716.

4 Hernandez-Jover, T. Biogenic amines and polyamine contents in meat and meat products / T. Hernandez-Jover, M. Izquierdo-Pulido, M.T. Veciana-Nogues, A. Marine-Font, M.C. Vidal-Carou // J. Agric. Food Chem. – № 45. – 1997. – P. 2098–2102.

5 Kallay, M. Body-Szalkai M., 1996. Ammine biogene nei vini ungheresi / M. Kallay, M. Body-Szalkai // Riv. Vitic. Enol.. – 1996. – № 3. – P. 29-38.

6 Brink B. ten, Damink C., Joosten H.M.L.J. and Huis in't Veld J.H.J., 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. Int. J. Food Microbiol., 11 (1), 73-84.

7 Halasz A., Barath A., Simon-Sarkadi L. and Holzapfel W.H., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci. Technol., 5 (2), 42-49.

8 Baranowski J.D., Brust P.A. and Frank H.A., 1985. Growth of *Klebsiella pneumoniae* UH-2 and properties of its histidine decarboxylase system in resting cells. J. Food Biochem., 9 (4), 349-360.

9 Mackie M. and Fernandez J., 1977. Histidine metabolism in fish. Urocanic acid in mackerel (*Scomber scombrus*). J. Sci. Food Agric., 28, 935-940.

10 Vidal M.C. and Marine A., 1984. Histamina en pescados y derivados. Formacion y posible papel como indicador del estado de los mismos. Aliment., 151, 93-97, 99-102.

11 Yoshida A. and Nakamura A., 1982. Quantification of histamine in fish and fish products by high performance liquid chromatography. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 23 (4), 339-343.

12 Silla Santos M.H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. Int. J. Food Microbiol., 29 (2/3), 213-231.

13 Merialdi G., Brindani F., Bacci C., Bonini S. and Perini S., 2001. Potenzialita istaminogena di batteri isolati da *Scomber scomber* e presenza di istamina nelle masse muscolari. Ing. Alim., 2, 7-16.

14 Hotchkiss J.H., 1989. Preformed N-nitrosocompounds in foods and beverages. Cancer Surv., 8 (2), 295-321.

15 Pfundstein B., Tricker A.R., Theobald E., Spiegelhalder B. and Preussmann R., 1991. Mean daily intake of primary and secondary amines from foods and beverages.

16 Silla Santos M.H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. Int. J. Food Microbiol., 29 (2/3), 213-231.

17 Shalaby A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research Inter., 29 (7), 675-690.

18 Lovenberg W., 1973. Some vaso- and psychoactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. Toxicants Occurring naturally in Foods, National Academy of Science, Washington, D.C.

19 Maxa E. and Brandes W., 1993. Biogene Amine in Fruchtsaften. Mitt. Klosterneuburg Rebe und Weinobstbau und Fruechtebewertung, 43 (3), 101-106.



- 20 Halasz, A. Biogenic-amines and their production by microorganisms in food / A. Halasz, A. Barath, L. Simon-Sarkadi, W. Holzapfel // Trends in Food Science and Technology. –1994. –№ 5. – P. 42–49
- 21 Silla Santos M.H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29 (2/3), 213-231.
- 22 Taylor S.L., Leatherwood M. and Lieber E.R., 1978. Histamine in Sauerkraut *J. Food Sci.*, 43 (3), 1030-1032.
- 23 Koehler P.E. and Eitenmiller R.R., 1978. High performance liquid chromatographic analysis of tyramine, phenylethylamine and tryptamine in sausage, cheese and chocolate. *J. Food Sci.*, 43, 344-346.
- 24 Santos C., Jalon M. and Marine A., 1985. Contenido de tiramina en alimentos de origen animal. I. carne, derivados carnicos y productos relacionados. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*, 25 (3), 362-368.
- 25 Stratton J.E., Hutkins W.R. and Taylor S.L., 1991. Biogenic amines in cheese and other fermented foods. A review. *J. Food Prot.*, 54 (6), 460-470.
- 26 Majjala R.L., Eerola S.H., Aho M.A. and Hirn J.A., 1993. The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J. Food Prot.*, 56 (2), 125-129.
- 27 Кушнерева, Е.В. Биогенные амины в винодельческой продукции: причины образования и методы идентификации / Е.В. Кушнерева. – Краснодар: Эко-Инвест. – 2012. – 156 с.