Vitis 10, 51—58 (1971)

Aus der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Der Gehalt an freien Aminosäuren in Traubenmosten von gesunden und edelfaulen Beeren verschiedener Rebsorten

von

A. Rapp und K. H. Reuther

Während der Stickstoff in wasserarmen pflanzlichen Speicherorganen hauptsächlich in den Proteinen enthalten ist, tritt er in wasserreicheren Organen bevorzugt in Form niedermolekularer, löslicher Reservestoffe auf (Rahn 1932, Reuther 1957/58). Die Bedeutung der Säureamide Asparagin und Glutamin für die Speicherung von leicht mobilisierbarem Stickstoff wurde schon sehr früh erkannt. Die Speicherfunktion der beiden Amide kann durch ein ganzes Spektrum Stickstoffhaltiger Substanzen übernommen werden, so z. B. Prolin und Arginin (Mothes 1956) oder Citrullin (Reuther und Wolfgang 1954). Reuther (1957/58), der die löslichen organischen Stickstoffverbindungen in den Speicherorganen von 166 Pflanzenarten aus 48 Familien untersuchte, wies neben Glutaminsäure und Asparaginsäure (und deren Amiden) Arginin, Citrullin, Prolin und Alanin als wichtigste Aminosäuren nach.

Zahlreiche Autoren haben sich mit den Aminosäuren der Traubenbeeren befaßt (Castor and Archer 1956, Lafon-Lafourcade et Peynaud 1959, Lafon-Lafourcade et Guimberteau 1962, Drawert 1963, Kliewer 1968). Nach den Untersuchungen Kliewers (1968) waren 60—90% des Stickstoffes der Beerensäfte in Aminosäuren eingebaut, und 59—96% der gesamten Aminosäurenmenge verteilten sich auf 8 Aminosäuren. Ferner fand Kliewer, daß zur Zeit der Beerenreife bei den Sorten Cardinal, Gewürztraminer und Muskat-Hamburg Arginin vorherrscht; bei Riesling und Cabernet Sauvignon steht Prolin, bei Tokayer die Glutaminsäure an erster Stelle. Während der Reife nimmt die Konzentration zahlreicher freier Aminosäuren in den Beeren zu (Lafon-Lafourcade et Guimberteau 1962, Drawert 1963, Rapp 1965, Kliewer 1968); einzelne Aminosäuren zeigen jedoch ein abweichendes Verhalten. Der Befall reifer Traubenbereen durch *Botrytis cinerea* führt zur Edelfäule. Es lag nahe anzunehmen, daß dieser Pilz Aminosäuren verwertet. Schon Müller-Thurgau (1888) verfolgte die Auswirkungen der Edelfäule auf den Stickstoffgehalt der Trauben und wies nach, daß in den edelfaulen Beeren die löslichen Stickstoff-Verbindungen ab- und die unlöslichen zunehmen. Ribéreau-Gayon (1960) stellte eine Verringerung des Gesamtstickstoffes (bis zu 75%) in den vom Pilz befallenen Beeren fest. Andererseits fand Hofmann (1968) bei seinen Untersuchungen über biochemische Veränderungen, die durch *Botrytis cinerea* und *Rhizopus nigricans* an Traubenmosten verursacht werden, daß in Substraten, die 4 Monate lang der Aktivität der Pilze ausgesetzt waren, die Konzentration des Aminostickstoffes durch Hydrolyse der Proteine gegenüber den Werten der nichtbeimpften Kontrollen anstieg. Nach Stadler (1954), der u. a. den Zucker- und Säureverbrauch durch *Botrytis cinerea* in synthetischer Nährlösung und in Traubensaft studierte, werden die einzelnen Stickstoff-Verbindungen vom Pilz unterschiedlich gut verwertet. Es ist bekannt, daß ein Teil der neuen, frühreifen Rebensorten zur Edelfäule neigt. Da die Aminosäuren auch bei der alkoholischen Gärung eine wichtige Rolle spielen — so ist die Bildung der Aromastoffe des Gärbukettes vom Aminosäuren-Angebot abhängig (Rapp 1965, Rapp und Franck 1971) — untersuchten wir die Aminosäuren-Zusammensetzung von gesunden und edelfaulen Trauben verschiedener Rebsorten.

Material und Methoden

In den Jahren 1968 und 1969 wurden Trauben verschiedener Rebsorten geerntet und hiervon die gesunden und edelfaulen Beeren aussortiert (1968: Riesling 90, V 3125, B-7-2, Siegfriedrebe [FS4-201-39][1], Gf 33-29-133[1]; 1969: Riesling 90, Gf 33-13-113[1], Portugieser, Müller-Thurgau, Siegfriedrebe[1]). Die beiden Beerenfraktionen jeder Sorte wurden anschließend in einem Braun-Entsafter unter stets gleichen Bedingungen ausgepreßt und der Beerensaft zentrifugiert. Jeweils 1 ml der klaren, überstehenden Lösung diente zur Bestimmung der Aminosäuren-Zusammensetzung. Mit einem automatischen Aminosäuren-Analysator (BC 200, Fa. Biocal München; Aminex A-6, Korngröße 17,5μ; Säulenlänge 55 cm, Säulentemperatur 55° C, Durchflußgeschwindigkeit 100 ml Puffer/h und 50 ml Ninhydrin/h, Laufzeit pro Gesamtanalyse 220 min) wurden jeweils 16 Aminosäuren und Ammoniak quantitativ bestimmt. Parallel dazu wurde im Jahr 1968 der Gesamtstickstoff der Lösung bestimmt (Kjeldahl-Methode).

Ergebnisse und Diskussion

In den Tabellen 1 und 2 sind die Aminosäurenwerte von gesunden und edelfaulen Beeren verschiedener Rebsorten der Jahrgänge 1968 und 1969 einander gegenübergestellt. Hieraus geht deutlich hervor, daß die Gesamtmenge der freien Aminosäuren im Saft edelfauler Beeren mehr oder weniger stark verringert ist. Der Rückgang beträgt zwischen 33,1% bei Gf 33-13-113 und 85,9% bei der Sorte B-7-2. Während bei der Siegfriedrebe die Aminosäuren in beiden Jahrgängen um etwa 74—79% abnahmen, weichen die Ergebnisse für die beiden Ernten beim Riesling erheblich voneinander ab (Aminosäuren-Abnahme 1968: 40,1%, 1969: 76,3%). Diese starke Schwankung dürfte auf die unterschiedliche Dauer des Pilzbefalles in den beiden Vegetationsperioden zurückzuführen sein. Auf die jahrgangsbedingten Unterschiede in der Zusammensetzung gesunder Beeren soll hier nicht näher eingegangen werden.

Die durch den *Botrytis*-Befall bedingte, zum Teil sehr geringe Gesamtaminosäuren-Konzentration (348 mg/l, 425 mg/l) im Preßsaft edelfauler Beeren wirkt sich auch auf die Quantität der Gärungsprodukte aus. So fanden wir in Modellgärversuchen (Rapp und Franck 1971), daß die Äthanolerzeugung bei 200 g Glucose/l Gärsubstrat (etwa 90° Oechsle) erst von einem Aminosäuren-Angebot über 120 mg N/l an ihren Endwert erreicht (dies entspricht je nach Aminosäuren-Zusammensetzung 700—900 mg Gesamtaminosäure/l!). Auch die Ausbeute der bei der alkoholischen Gärung anfallenden Nebenprodukte wird durch die Aminosäurenkonzentration des Mostes stark beeinflußt. Bei einer Aminosäurengabe von mehr als 200 mg N/l entsteht z. B. 8- bis 9mal mehr Gärungsamylalkohol (= 2-Methyl-butanol-1 + 3-Methyl-butanol-1) als Propanol-1. Dagegen erhielten wir bei 12 mg N/l (etwa 100 mg Aminosäure/l) 53mal soviel Gärungsamylalkohol wie Propanol-1. Da die Hefen bei sehr geringer Aminosäuren-Konzentration auch Prolin verwerten — Prolin wird bei Vorliegen eines reichhaltigen Aminosäuren-Gemisches kaum oder nicht angegriffen (Rapp 1965, Drawert *et al.* 1965) — ist auch der Säurestoffwechsel der Hefen betroffen. In unseren Modellgärversuchen zeigte sich, daß Weinhefen mit Prolin als ausschließlicher Stickstoffquelle wesentlich mehr Äpfelsäure bilden als bei Ersatz dieser Aminosäure durch Glutaminsäure, Asparaginsäure oder Valin (Rapp 1965, Drawert *et al.* 1965).

[1]) Neuzüchtungen des Geilweilerhofes.

Tabelle 1

Aminosäurenzusammensetzung von Traubenmosten aus gesundem und edelfaulem Lesegut (1968)

Aminosäuren mg/l	Rebsorten (1968) Riesling 90		V 3125		B-7-2		Siegfriedrebe		Gf 33-29-133	
	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul
Histidin	101	65	44	12	23	14	17	5	59	<1
Lysin	5	10	29	12	<1	10	22	14	9	66
Arginin	1032	608	1110	197	870	78	755	116	1100	391
Ammoniak	59	42	64	36	89	12	43	14	65	27
Asparaginsäure	60	52	93	27	53	24	29	19	24	32
Threonin	238	45	188	39	126	10	99	20	80	30
Serin	510	354	321	85	357	35	201	56	248	154
Glutaminsäure	209	161	159	118	112	74	124	73	47	179
Prolin	493	368	460	97	46	18	428	156	82	<1
Glycin	9	9	39	18	9	7	5	12	4	9
Alanin	534	366	453	129	658	45	444	97	125	116
Valin	136	52	62	12	23	5	27	9	19	10
Methionin	43	<1	42	<1	<1	<1	13	<1	13	<1
Isoleucin	253	112	172	15	30	3	50	10	42	12
Leucin	289	152	190	21	24	3	68	11	75	17
Tyrosin	24	17	38	27	<1	<1	11	7	16	21
Phenylalanin	269	137	210	28	30	10	69	10	72	25
Gesamtaminosäure	4264	2555	3674	875	2461	348	2405	629	2080	1089
Differenz in % (gesund = 100)	40,1		76,2		85,9		73,8		47,6	

Tabelle 2

Aminosäurenzusammensetzung von Traubenmosten aus gesundem und edelfaulem Lesegut (1969)

Aminosäuren mg/l	Rebsorten (1969) Riesling 90 gesund	edelfaul	Gf 33-13-113 gesund	edelfaul	Portugieser gesund	edelfaul	Müller-Thurgau gesund	edelfaul	Siegfriedrebe gesund	edelfaul
Histidin	75	22	35	29	57	48	80	28	32	4
Lysin	44	13	40	29	47	40	23	13	9	11
Arginin	666	111	662	409	630	42	370	226	400	29
Ammoniak	70	33	40	31	36	24	21	26	43	9
Asparaginsäure	144	38	77	64	141	67	77	28	122	36
Threonin	600	150	460	315	495	320	322	135	313	55
Serin	225	31	238	94	165	94	141	66	163	29
Glutaminsäure	280	63	191	253	218	231	175	87	163	96
Prolin	345	34	393	158	302	110	385	110	221	15
Glycin	25	8	15	19	19	15	13	11	25	11
Alanin	302	72	151	111	167	140	133	70	308	42
Valin	178	16	89	19	92	45	103	26	44	9
Methionin	68	9	47	13	90	31	34	9	17	8
Isoleucin	129	11	59	11	73	25	91	18	27	5
Leucin	176	13	120	9	92	32	96	23	36	8
Tyrosin	59	34	78	78	78	63	59	50	34	12
Phenylalanin	214	197	175	278	80	247	164	179	163	46
Gesamtaminosäure	3600	855	2870	1920	2782	1574	2287	1106	2120	425
Differenz in % (gesund = 100)		76,3		33,1		43,4		51,6		80,0

Tabelle 3

Aminosäurenzusammensetzung von Traubenmosten aus gesundem und edelfaulem Lesegut (1968)

Aminosäuren-Verhältnisse	Rebsorten (1968)									
	Riesling 90		V 3125		B-7-2		Siegfriedrebe		Gf 33-29-133	
	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul	gesund	edelfaul
ges. Aminosäure / Glutaminsäure	20,4	15,8	23,1	7,4	22,0	4,7	19,4	8,5	44,1	6,0
ges. Aminosäure / Isoleucin	16,8	22,6	21,4	55,7	81,5	116,0	48,3	62,3	49,7	89,3
ges. Aminosäure / Lysin	852,6	254,5	126,6	74,8	>200,0	34,2	109,3	45,0	236,3	16,5
Leucin / Lysin	56,7	14,9	6,5	1,8	0,7	0,1	3,0	0,8	8,5	0,7
Isoleucin / Leucin	0,4	0,7	0,9	0,8	1,2	1,0	0,7	0,9	0,6	0,7
Prolin / Glutaminsäure	2,4	2,2	2,9	0,8	0,4	0,2	3,5	2,1	1,7	0,1

Tabelle 4

Aminosäurenzusammensetzung von Traubenmosten aus gesundem und edelfaulem Lesegut (1969)

Aminosäuren-Verhältnisse	Rebsorten (1969) Riesling 90 gesund	Riesling 90 edelfaul	Müller-Thurgau gesund	Müller-Thurgau edelfaul	Siegfriedrebe gesund	Siegfriedrebe edelfaul	Portugieser gesund	Portugieser edelfaul	Gf 33-13-113 gesund	Gf 33-13-113 edelfaul
ges. Aminosäure / Glutaminsäure	12,9	13,6	13,1	12,7	13,0	4,4	12,8	13,4	15,0	7,6
ges. Aminosäure / Isoleucin	27,9	75,6	25,0	60,1	78,8	77,3	38,0	62,9	48,6	172,9
ges. Aminosäure / Lysin	81,3	63,8	101,6	83,7	243,7	14,7	59,2	39,1	71,6	67,4
Leucin / Lysin	4,0	1,0	4,3	1,7	4,1	0,7	2,0	0,8	3,0	0,3
Isoleucin / Leucin	0,7	0,8	0,9	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8	0,5	1,2
Prolin / Glutaminsäure	1,2	0,5	2,2	1,3	1,3	0,2	1,4	0,5	2,0	0,6

Der Pilzbefall wirkt sich nicht nur auf die Höhe der Gesamtaminosäuren-Konzentration aus, sondern auch die einzelnen Aminosäuren werden in unterschiedlichem Ausmaß beeinflußt (Tabellen 3 und 4). Bei allen untersuchten Sorten ist der Lysinanteil im edelfaulen Lesegut relativ höher als bei gesundem Traubenmaterial; z. B. entfallen bei der Sorte Gf 33-29-133 im Traubenmost von gesundem Beerenmaterial etwa $^1/_{236}$, von edelfaulen Beeren dagegen rund $^1/_{16}$ der gesamten Aminosäurenmenge auf Lysin. Im gleichen Sinne wird bei fast allen Sorten der Glutaminsäuregehalt verändert: B-7-2 gesund $^1/_{22}$, edelfaul etwa $^1/_5$ der Gesamtaminosäuren-Konzentration; Gf 33-29-133 gesund $^1/_{44}$, edelfaul $^1/_6$. Umgekehrt geht der Anteil des Isoleucins im edelfaulen Lesegut fast immer zurück (Ausnahme Siegfriedrebe, Jahrgang 1969); bei Gf 33-13-113 nimmt er um etwa das 3,5fache ab (gesund etwa $^1/_{48}$, edelfaul etwa $^1/_{173}$ der Gesamtaminosäure).

Auch aus den zahlenmäßigen Beziehungen zwischen bestimmten Aminosäuren geht die unterschiedliche Wirkung des Pilzbefalles auf die einzelnen Komponenten deutlich hervor (Tabellen 3 und 4). So ist bei allen Sorten das Verhältnis Leucin : Lysin im Saft von edelfaulem Lesegut stets kleiner als im entsprechenden Most aus gesunden Beeren; das bedeutet eine Abnahme des Leucins bzw. Zunahme des Lysins bei edelfaulem Material. Dieselbe Tendenz äußert sich auch in der Relation Prolin : Glutaminsäure. Dagegen zeigt das bei allen Rebsorten mit Ausnahme von Gf 33-13-113 für gesunde und edelfaule Beeren gleiche Isoleucin : Leucin-Verhältnis, daß *Botrytis cinerea* beide Aminosäuren unterschiedslos verwertet.

Zusammenfassung

Durch Befall mit *Botrytis cinerea* wird die Konzentration der freien Aminosäuren in Traubenbeeren verringert. In Traubenmosten aus edelfaulem Lesegut ist der Gehalt an freien Aminosäuren gegenüber gesundem Lesegut um 33—86% reduziert. Die einzelnen Aminosäuren zeigen hierbei ein unterschiedliches Verhalten: Während z. B. der Anteil des Lysins an der Gesamtaminosäuren-Konzentration bei edelfaulem Material stets höher ist als bei gesundem, verhält sich Isoleucin entgegengesetzt. Isoleucin und Leucin werden vom Pilz ähnlich gut verwertet. Dagegen ist in edelfaulen Beeren im Verhältnis zum Prolin mehr Glutaminsäure und im Bezug auf Leucin mehr Lysin enthalten als in gesunden.

Wir danken Herrn Prof. Dr. G. Allewelt für die Unterstützung unserer Arbeit.

Literaturverzeichnis

Castor, J. G. B. and Archer, T. E., 1956: Amino acids in must and wines, proline, serine and threonine. Amer. J. Enol. Viticult. **7**, 19—25.

Dittrich, H. H., 1964: Über die Glyzerinbildung von *Botrytis cinerea* auf Traubenbeeren und Traubenmosten sowie über den Glycéringehalt von Beeren- und Trockenbeerenauslesen. Wein-Wiss. **19**, 19—20.

Drawert, F., 1963: Biochemisch-physiologische Untersuchungen an Traubenbeeren. Vitis **4**, 49—56.

— —, Rapp, A. und Ulrich, W., 1965: Über die Bildung von organischen Säuren durch Weinhefen. II. Quantitative Beziehungen zwischen Stickstoffquelle und Weinsäurebildung in Modellgärversuchen. Vitis **5**, 199—200.

— —, — — und Ullemeyer, H., 1967: Radio-gaschromatographische Untersuchung der Stoffwechselleistungen von Hefen (*Saccharomyces* und *Schizosaccharomyces*) in der Bildung von Aromastoffen. Vitis **6**, 177—197.

Hofmann, G., 1968: Biochemical changes caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus nigricans* in grape must. S. Afr. J. Sci. **11**, 335—348.

Kliewer, W. M., 1968: Changes in the concentration of free amino acids in grape berries during maturation. Amer. J. Enol. Viticult. **19**, 166.

Lafon-Lafourcade, S. et Peynaud, E., 1959: Dosage microbiologique des acides aminés des moûts de raisin et des vins. Vitis **2**, 45—56.

— — et Guimberteau, G., 1962: Evolution des aminoacides au cours de la maturation des raisins. Vitis **3**, 130—135.

Mothes, K., 1956: Kulturpflanze (Berlin), Beiheft **1**, 103.

Müller-Thurgau, M., 1888: Edelfäule der Trauben. Landwirtschaftliche Jahrbücher **17**, 83.

Rahn, H., 1932: Untersuchungen über den Stickstoff-Stoffwechsel pflanzlicher vegetativer Speicherorgane. Planta **18**, 1.

Rapp, A., 1965: Über Inhaltsstoffe von Traubenmosten und Weinen. Diss. Mainz.

— — und Franck, H., 1971: Über die Bildung von Äthanol und einigen Aromastoffen bei Modellgärversuchen in Abhängigkeit von der Aminosäurenkonzentration. Vitis **9**, 299—311.

— — und Reuther, K. H., 1971: Die freien Aminosäuren während des Beerenwachstums und der Beerenreife. In Vorbereitung.

Reuther, G., 1957/58: Die Hauptformen des löslichen Stickstoffs in vegetativen pflanzlichen Speicherorganen und ihre systematische Bewertbarkeit. Flora **145**, 326—338.

— — und Wolfgang, H., 1954: Flora **142**, 146.

Ribéreau-Gayon, G., 1960: Les modalités de l'action de *Botrytis cinerea* sur la baie de raisin. Vitis **2**, 113—116.

Stadler, L., 1954: Untersuchung über die Graufäule *(Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben. Phytopathol. Z. **22**, 345—380.

Wickerham, L. J., 1957: Taxonomy of yeasts. Techn. Bull. 1029, Dept. Agricult. Washington D. C.; vgl. Reiff, F., Kantzmann, R., Lüers, H. und Lindemann, M., 1960: Die Hefen **1**, S. 131, Verl. Hans Carl, Nürnberg.

Eingegangen am 22. 1. 1971

Dr. A. Rapp
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
6741 Siebeldingen