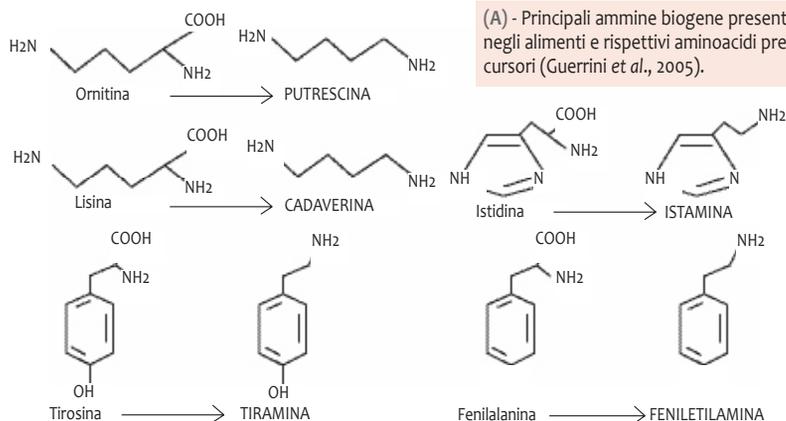


# LE AMMINE BIOGENE IN VINO: IL RUOLO DEI BATTERI MALOLATTICI

Simona Guerrini, Silvia Mangani e Lisa Granchi

## AB ed effetti sulla salute umana

Le ammine biogene (AB) sono basi organiche a basso peso molecolare che possono essere presenti in diversi alimenti, in particolare se fermentati e ricchi di composti azotati. Infatti, queste sostanze si formano come conseguenza della decarbossilazione microbica di specifici aminoacidi precursori (A). L'interesse per le AB è prevalentemente legato al fatto che possono essere responsabili di vari effetti tossici e reazioni allergiche nell'uomo di varia entità in funzione della diversa sensibilità dei singoli individui. Le AB sono state riscontrate anche in varie tipologie di vino, sebbene più frequentemente nei vini rossi, in concentrazioni comprese tra pochi mg/L e diverse decine (B), destando una certa preoccupazione per la salute dei consumatori. Tra esse certamente l'istamina, che è l'AB più tossica e studiata, può indurre cefalea, ipotensione, palpitazioni cardiache, disturbi cutanei e gastrointestinali. Le AB aromatiche come la tiramina e la 2-fenilammina possono causare emicranie e crisi ipertensive perché sono precursori degli ormoni vasocostrittori noreadrenalina e norefedrina, mentre le poliammine (putrescina, agmatina, cadaverina, spermina e spermidina), pur non avendo una elevata tossicità, possono potenziare quella delle AB più tossiche in quanto sono in grado di inibire le amminoossidasi presenti nelle cellule intestinali dell'uomo. Questi enzimi infatti sono in grado di detossificare le AB catalizzando la loro deaminazione ossidativa e rendendole quindi inerti (Ten Brink et al., 1990). Infi-



ne, le monoammine volatili, nonostante il loro scarso significato fisiologico, possono influenzare negativamente il

profilo sensoriale degli alimenti (Lehtonen, 1996). Recentemente, il "Biological Hazards (BIOHAZ) Panel" costituito dalla "European Food Safety Authority (EFSA)" ha fornito una valutazione qualitativa del rischio legato alla presenza di AB negli alimenti fermentati (EFSA, 2011). BIOHAZ ha concluso che le conoscenze disponibili sulla tossicità delle AB sono insufficienti per effettuare una valutazione quantitativa del rischio, cosa questa necessaria per stabilire soglie precise di concentrazioni tollerabili negli alimenti. Tuttavia, l'istamina e la tiramina devono essere considerate composti tossici e pertanto particolarmente rilevanti per la sicurezza alimentare. In questo contesto, il vino può mostrare presenza di AB, ma a concentrazioni più basse rispetto ad altri alimenti quali ad esempio formaggi o salami. Tuttavia, è importante sottolineare che l'etanolo presente nel vino è un inibitore delle ammino ossidasi e quindi contenuti anche minimi di AB possono avere effetti fisiologici rilevanti sui consumatori.

(B) - Concentrazione delle AB riscontrate in vino da diversi Autori (valori espressi come range minimo-massimo; o come media  $\pm$  SD).

Vino	Origine	Nc	Istamina (mg/L <sup>-1</sup> )	Tiramina (mg/L <sup>-1</sup> )	Putrescina (mg/L <sup>-1</sup> )
Bianco	Grecia	47	nd - 5.95	nd - 2.54	nd - 3.22
Bianco	Grecia	17	0.34 - 1.13	nd - 1.16	nd - 9.07
Rosso	Grecia	45	nd - 2.11	nd - 3.65	nd - 5.23
Rosso	Grecia	15	0.98 - 1.65	nd - 0.46	nd - 2.70
Rosé	Grecia	8	nd - 4.43	nd - 1.64	nd - 1.85
Bianco	Italia	7	nd	nd - tr	1.48 - 2.48
Bianco	Italia	5	nd	nd - 0.9	1.2 - 1.6
Rosso	Italia	33	6.1 $\pm$ 5.3	3.5 $\pm$ 2.8	15.5 $\pm$ 17.5
Rosso	Italia	8	tr - 8.11	5.08 - 11.5	11.4 - 32.8
Rosso	Italia	10	nd - 1.02	0.67 - 1.97	3.76 - 11.13
Rosso	Italia	60	tr - 3.16	0.22 - 34.99	0.84 - 25.40
Rosso	Italia	15	nd - 0.9	nd - 0.9	4.5 - 16.1
Rosso	Spagna	224	4.46 $\pm$ 5.7	3.13 $\pm$ 4.42	6.05 $\pm$ 10.6
Rosso	Spagna	543	nd - 25.1	-	-
Rosso	Spagna	14	nd - 18.7	1.1 - 17.8	7.6 - 35.7
Rosso	Spagna	36	nd - 6.2	0.10 - 1.4	2.4 - 25.1
Rosso	Turchia	30	nd - 1.97	nd - 0.29	nd
Rosso	Spagna	6	2.75 $\pm$ 1.54	2.91 $\pm$ 1.92	9.59 $\pm$ 5.61
Rosé	Spagna	7	1.81 $\pm$ 1.31	1.31 $\pm$ 0.71	6.04 $\pm$ 2.98
Rosé	Spagna	49	nd - 13.4	-	-
Bianco	Spagna	6	1.17 $\pm$ 0.99	0.48 $\pm$ 0.67	4.31 $\pm$ 4.21
Bianco	Spagna	92	nd - 12.5	-	-
Rosso	USA	59	5.4 $\pm$ 5.6	1.3 $\pm$ 2.3	20.9 $\pm$ 32.3
Rosso	Francia	54	6.7 $\pm$ 13.5	3.7 $\pm$ 2.3	10.8 $\pm$ 6.7
Rosso	Francia	84	nd - 14.05	nd - 12.35	3.71 - 48.72
Rosé	Francia	15	22.0 $\pm$ 7.3	2.3 $\pm$ 1.7	2.5 $\pm$ 0.9
Bianco	Francia	15	3.7 $\pm$ 8.9	2.2 $\pm$ 1.4	1.9 $\pm$ 0.7

## Formazione di AB durante la FML

Le uve appena ammostate contengono bassi livelli di AB, quasi interamente rappresentati da spermidina e putrescina. Quest'ultima diammina, che nelle piante è implicata in molti processi fisiologici, è sintetizzata dalla vite e accumulata nelle uve in risposta a condizioni di stress come ad esempio la carenza di potassio nel terreno del vigneto (Halà-

sz et al., 1994; Agudelo-Romero et al., 2013). I vini sono solitamente caratterizzati da un contenuto significativamente più alto di AB rispetto ai mosti da cui sono ottenuti ed in particolare se questi vini sono rossi. Il fenomeno è ascrivibile al fatto che il processo di vinificazione in rosso di solito include la fermentazione malolattica (FML) che invece non è ritenuta sempre essenziale nella produzione di vino bianco. Per questo motivo, la presenza di AB nel vino è stata per lo più considerata come una conseguenza della FML, anche se la questione è assai più complessa. La formazione di AB in vino richiede, infatti, la presenza di aminoacidi precursori, di microrganismi capaci di decarbossilarli ed infine di condizioni ambientali adeguate perché questi microrganismi siano in grado di produrle. La quantità di aminoacidi disponibili è spesso conseguenza di pratiche enologiche quali ad esempio l'aggiunta di sostanze nutritive prima o durante la fermentazione alcolica oppure la durata del contatto del vino con le fecce di lievito che sono in grado di rilasciare gradualmente gli aminoacidi assimilati durante la fermentazione alcolica. Tuttavia, vale la pena ricordare che la quantità di aminoacidi totali nei mosti in genere è decine di volte superiore alla quantità totale di AB che può essere presente nei vini ed è difficile immaginare pratiche enologiche capaci di garantire che gli aminoacidi precursori a fine fermentazione alcolica siano del tutto assenti. Pertanto, se la presenza di aminoacidi precursori è praticamente inevitabile, l'accumulo di AB nel vino è strettamente dipendente dalle caratteristiche metaboliche dei microrganismi presenti e dalla loro capacità di decar-

bossilare aminoacidi.

L'accumulo di AB nel vino è stato a lungo considerato come indice di scarsa igiene di cantina e l'effetto della contaminazione del vino da parte di ceppi di BL indesiderati appartenenti ai generi *Pediococcus*, *Lactobacillus* e *Leuconostoc*. Uno studio condotto da Lonvaud-Funel e Joyeux nel 1994 ha però dimostrato come alcuni ceppi di *Oenococcus oeni*, la specie batterica frequentemente associata alla FML, potrebbero essere in grado di produrre istamina. Studi successivi hanno poi confermato ciò e dimostrato come alcuni di essi fossero anche in grado di produrre putrescina e cadaverina (Guerrini et al., 2002; Mangani et al., 2005). Tuttavia, è da sottolineare che lavori scientifici pubblicati negli anni successivi sulla capacità dei batteri malolattici di produrre AB mostrano risultati contraddittori che spesso rendono difficile una comprensione completa del fenomeno (Vincenzini et al., 2017). Molto probabilmente, i risultati controversi riflettono una situazione in cui la capacità di produrre AB da parte dei batteri malolattici non è tanto dipendente dalla specie, quanto dai ceppi microbici presi in considerazione negli studi nonché dai diversi fattori enologici e/o ambientali che possono influenzare tanto la concentrazione degli aminoacidi precursori quanto l'attività metabolica dei microrganismi stessi. Comunque sia, diversi studi hanno dimostrato in maniera incontrovertibile una relazione tra la capacità di produrre AB in mezzi sintetici da parte di diversi ceppi di batteri malolattici e la presenza nel patrimonio genetico dei geni che codificano per le corrispondenti decarbossilasi aminoacidiche (Landete et al.,

2007c; Coton et al., 2010). Inoltre, uno studio condotto in Toscana su diverse vinificazioni in rosso fatte a livello industriale, ha evidenziato che un accumulo non trascurabile delle AB si verifica durante il periodo di invecchiamento dei vini (C).

### Come prevenire AB nel vino

Nella risoluzione OIV-OENO 449-2012 sono riportati metodi rapidi che possono essere impiegati per valutare il rischio di un possibile accumulo di AB in vino e dare così il tempo al produttore di compiere interventi correttivi. Tali metodi consentono di individuare, ed eventualmente quantificare, all'interno della popolazione malolattica presente in vino, i ceppi capaci di produrre AB prima che questi raggiungano numeri enologicamente significativi. Questi metodi consistono nel rilevare la presenza, all'interno della popolazione microbica, dei geni delle amminodecarbossilasi e quindi di microrganismi potenzialmente in grado di produrre AB. Più in dettaglio, reazioni PCR, utilizzando primer specifici (Vincenzini et al., 2017), possono essere eseguite sia per rilevare la presenza di ceppi capaci di produrre AB (PCR-end point), sia per quantificare le loro concentrazioni in tempo reale (PCR-real time). Il metodo forse più rapido per rilevare la presenza in vino di batteri malolattici capaci di produrre AB è quello messo a punto da Sciancalepore et al. (2013). Questo metodo, infatti, prevede una multiplex PCR condotta direttamente in vino che consente la rilevazione simultanea e rapida di tutti i geni batterici coinvolti nella biogenesi in vino senza passare dall'isolamento dei ceppi con metodi in piastra.

In conclusione, questi metodi non sono in grado di prevedere la concentrazione finale di AB in un vino, ma identificano il rischio potenziale della loro formazione (Lucas et al., 2007). Valutando il potenziale rischio con un certo anticipo, questi metodi possono aiutare a gestire il processo fermentativo per ridurre la formazione di AB.

(C) - Accumulo di ammine biogene espresso come percentuale della quantità totale prodotta  $\pm$  ES. Valori medi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il t di Student per  $p < 0,05$ .

