

# AMMINE BIOGENE NEL VINO: MINIMIZZARE I RISCHI

Le ammine biogene (AB) sono composti azotati basici a basso peso molecolare, prodotte da tutti gli organismi vegetali ed animali e dai microrganismi in quanto svolgono importanti funzioni biologiche. Esse si trovano in molti alimenti e bevande fermentate, incluso il vino, dove sono formate per azione degli enzimi endogeni ma soprattutto per azione di decarbossilasi microbiche che convertono alcuni amminoacidi in ammine e CO<sub>2</sub> (origine fermentativa). La presenza di AB nel vino rappresenta un problema di un certo rilievo per i consumatori e per i produttori dal momento che l'assunzione di dosi eccessive di questi composti ha effetti tossici sull'organismo umano e costituisce un rischio per la salute.

Nel vino si possono trovare diverse AB (circa 25), ma quelle più frequenti sono: istamina, tiramina (dotate di maggiore tossicità e derivate dalla decarbossilazione di istidina e tirosina, rispettivamente) e putrescina (da ornitina e arginina), seguite da -feniletilamina (da feniletilamina) e cadaverina (da lisina), che, pur non essendo di per sé molto tossiche, potenziano gli effetti delle altre AB. In quantità limitate le AB non sono dannose per la salute, poiché l'organismo umano riesce ad eliminarle attraverso appositi sistemi. Tuttavia, se ingerite in dosi elevate o se il sistema detossificante naturale dell'organismo è inibito per la presenza di aldeidi, etanolo o certi farmaci, si possono manifestare vari effetti tossici e reazioni allergiche che sono funzione della tipologia di AB e della sensibilità individuale. In particolare, l'etanolo riduce la soglia tossicologica delle ammine in quanto interagisce con i processi di detossificazione, instaurando una condizione di concorrenza per la quale gli enzimi amino-ossidasi operano con difficoltà e rilasciano nel circolo sanguigno le AB senza trasformarle in prodotti innocui per l'organismo umano. Un'eccessiva assunzione può generare problemi anche

gravi che possono riguardare il sistema gastrico, intestinale e nervoso, oltre che la pressione sanguigna, in quanto le AB sono sostanze vasoattive. L'assunzione di elevati quantitativi di tiramina e istamina può infatti provocare problemi come ipertensione, ipotensione, mal di testa, rossore, nausea e vomito.

Le AB tendono ad accumularsi nel vino dopo la fermentazione alcolica o durante

responsabili della produzione di tiramina sono soprattutto lattobacilli eterofermentanti, come *Lactobacillus brevis* e *L. hilgardii*. Numerosi studi hanno però evidenziato che la capacità decarbossilasica dei batteri lattici non è tipica di una specie ma è ceppo-specifica. Ne deriva che una strategia per il controllo delle AB in vinificazione è quella di utilizzare batteri malolattici selezionati per essere bassi produttori di queste sostanze e in grado di competere con i batteri indigeni.

I livelli medi delle diverse AB nel vino sono dell'ordine di qualche mg/l o di qualche decina di mg/l. Alti livelli di AB possono anche avere effetti negativi sulla qualità sensoriale del vino in quanto possono mascherare alcune note aromatiche: con >100 mg/L si possono avere sentori metallici, di carne o putridi.

Nonostante la presenza di AB sia un fenomeno diffuso, non esiste una legislazione che fissi i valori limite per queste sostanze; tuttavia alcuni Paesi europei hanno raccomandato per la concentrazione di istamina in vino valori massimi compresi tra 2 e 10 mg/l, a seconda del Paese (Tabella 1).

L'importanza della problematica ha portato l'OIV ad adottare nel 2011 un "Codice delle corrette pratiche vitivinicole atte a limitare al massimo la presenza di ammine biogene nei vini", stabilendo le misure da applicare nei vigneti e nelle cantine per contribuire alla riduzione dei rischi legati alla presenza di AB nei vini (Risoluzione OIV-CST 369-2011). Più recentemente, l'OIV ha anche emanato una risoluzione riguardante la determinazione analitica delle AB nei vini mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata a rivelatore a serie di fotodiodi (OIV-OENO 457-2014).

La variabilità nel livello di AB nel vino dipende da numerosi fattori: oltre alla presenza di batteri con attività decarbossilasica è importante la quantità iniziale di amminoacidi precursori (e di acido ma-

PAESE	ISTAMINA (MG/L)
AUSTRIA	10
BELGIO	5 / 6
FINLANDIA	5
FRANCIA	8
GERMANIA	2
OLANDA	3
SVIZZERA*	10

\* Limite rimosso nel 2010

TABELLA 1. VALORI MASSIMI DI ISTAMINA IN VINO RACCOMANDATI DA ALCUNI PAESI EUROPEI.

la fermentazione malolattica e sono pertanto attribuibili principalmente all'attività decarbossilasica dei batteri lattici sugli amminoacidi precursori. Il ruolo dei lieviti in questa attività non è chiaro, ma si può individuare una influenza indiretta, vista la loro capacità di modificare la composizione amminoacidica del vino, modulando i precursori oggetto dell'attività dei batteri lattici. La decarbossilazione degli amminoacidi è un'attività vantaggiosa per questi batteri perché da questa trasformazione ricavano energia e la tolleranza dei batteri all'ambiente acido viene facilitata grazie alla produzione di composti basici che aumentano il pH del mezzo. È stato dimostrato che i batteri lattici variano nella loro capacità di produrre AB. Le specie maggiormente coinvolte nella produzione di istamina sono *Oenococcus oeni* e *Pediococcus damnosus*, mentre quelle

VINO	ALCOL ETILICO (% VOL)	ACIDITÀ OLATILE (G/L ACIDO ACETICO)	CADAVERINA (MG/L)	ISTAMINA (MG/L)	PUTRESCINA (MG/L)	AMMINE BIOGENE TOTALI (MG/L)
GARGANEGA DEL VENETO IGT 2009 - 1	12,5	0,73	0,64	6,36	13,73	25,10
GARGANEGA DEL VENETO IGT 2009 - 2	12,0	0,80	1,67	6,99	14,14	27,56
MERLOT DEL VENETO IGT 2009	13,5	1,13	0,76	7,16	17,52	29,54
ROSSO DEL VENETO IGT 2009 - 1	12,5	0,73	1,02	11,60	31,08	49,63
ROSSO DEL VENETO IGT 2008 - 2	15,5	0,96	0,37	18,36	28,25	50,23

Analisi Enocentro Bussolengo - 09/2012

TABELLA 2. VALORI MEDI DI AMMINE BIOGENE PRESENTI IN VINI COMMERCIALI DICHIARATI DA FERMENTAZIONI SPONTANEE.

lico) che è influenzata, a sua volta, dalla composizione del mosto e dal tipo di vinificazione. Fattori come il pH e la presenza di SO<sub>2</sub> sono pure importanti in quanto influenzano la tipologia e l'entità delle popolazioni microbiche e le loro attività metaboliche. Il dibattito riguardo "fermentazioni spontanee o fermentazioni guidate" rispetto alla formazione di queste sostanze è aperto soprattutto per quanto riguarda la fermentazione malolattica e anche per le modalità di portarla a termine. Si sottolinea, tuttavia, che vini prodotti con fermentazioni spontanee possono contenere livelli elevati di AB come mostrato in **Tabella 2**, dove i livelli di istamina rilevata supera ampiamente i limiti massimi posti dai vari Paesi europei e la quantità di AB totali va oltre i 25 mg/l.

Tra i fattori predisponenti e relative soluzioni attualmente praticabili pare opportuno sottolineare che:

- la conquista della maturità fenolica delle uve, sommata talvolta ad annate calde, porta spesso a mosti e vini con pH elevati, ovvero ad un ambiente ideale per lo sviluppo di batteri indesiderati. La correzione del pH già nei mosti con acidificazione o sottrazione di cationi con resine sono le soluzioni preventive praticabili secondo le attuali normative.

- La generalizzata tendenza a ridurre o a evitare l'uso dei solfiti in vinificazione e affinamento dei vini, a vantaggio della salubrità finale del prodotto, rappresenta un elemento ulteriore di vulnerabilità. Diventa quindi importante, soprattutto se la composizione dei mosti presenta aspetti di criticità, evitare le fermentazioni spontanee ad opera di microrganismi indigeni, curando al meglio i processi fermentativi anche attraverso una corretta (cioè

sufficiente ma non eccessiva) alimentazione dei lieviti. In questo modo si potrà minimizzare la presenza di accettori della anidride solforosa, preservandone la frazione molecolare attiva sui microrganismi indesiderati.

- La pratica dell'inoculo o del co-inoculo dei batteri selezionati, è sicuramente da annoverare tra le tecniche che meglio rispondono al corretto svolgimento della fermentazione malolattica minimizzando la produzione di AB.

- Anche l'aggiunta di lisozima appare tecnicamente efficace ad inibire le attività dei batteri lattici. Trattandosi di un derivato dell'uovo, la sua presenza nei vini va però segnalata in etichetta ai sensi del Reg. UE 1169/2011. Di recente è stato validato anche un metodo ufficiale per la determinazione del lisozima nei vini (Risoluzione OIV-OENO 458-2014).

- Tra le tecniche sperimentali di controllo delle proliferazioni batteriche più promettenti, troviamo l'applicazione innovativa dei raggi UV-C, efficace sia su mosto sia su vino.

- In alternativa al lisozima, l'uso di nisina, una batteriocina prodotta da ceppi di *Lactococcus lactis*, appare di potenziale interesse in quanto questo conservante naturale inibisce i batteri lattici senza interferire sulla crescita e sull'attività metabolica dei lieviti. Questa pratica e la precedente non sono attualmente contemplate tra quelle consentite in enologia ma in fase di validazione da parte dell'OIV.

- Si segnala, inoltre, che situazioni a rischio possono essere precocemente diagnosticate tramite analisi microbiologica mirata dei batteri produttori di ammine, utilizzando metodi molecolari.

- Infine, la possibilità di contaminazione attraverso gli strumenti di cantina, in

*primis* i contenitori in legno, va adeguatamente controllata attraverso adeguate pratiche igieniche. Tra le applicazioni più innovative a tal proposito, si sta diffondendo l'uso dell'ozono, anche in forma gassosa, e dell'acqua elettrolizzata, che appaiono anche tecniche altamente sostenibili e di facile impiego.

In conclusione, la crescita incontrollata di microrganismi indigeni, soprattutto appartenenti al gruppo dei batteri lattici con capacità decarbossilasica, è tra le principali cause dell'aumento di ammine nel vino, assieme alla elevata quantità di amminoacidi precursori. Anche se le AB sono generalmente presenti nel vino in bassa concentrazione, è da evidenziare che gli effetti negativi sulla salute sono comunque potenziati per la simultanea presenza di questi composti in molti altri alimenti fermentati, quali formaggi, insaccati, pesce e carni non conservati bene, e per la presenza di etanolo, che svolge un'azione inibitrice sugli enzimi intestinali coinvolti nel loro catabolismo. Diventa pertanto fondamentale ridurre i rischi di produzione di AB nell'industria enologica applicando adeguate procedure di sanificazione in cantina per limitare le contaminazioni microbiche e seguendo tutte le buone pratiche viticole ed enologiche, come anche espresso nel documento OIV a riguardo, per contrastare la proliferazione di batteri in grado di decarbossilare gli amminoacidi e così garantire la produzione di vini salubri e di qualità.

\*\* Dipartimento di Biotecnologie, Università degli Studi di Verona e Microbion s.r.l., spin-off dell'Università di Verona