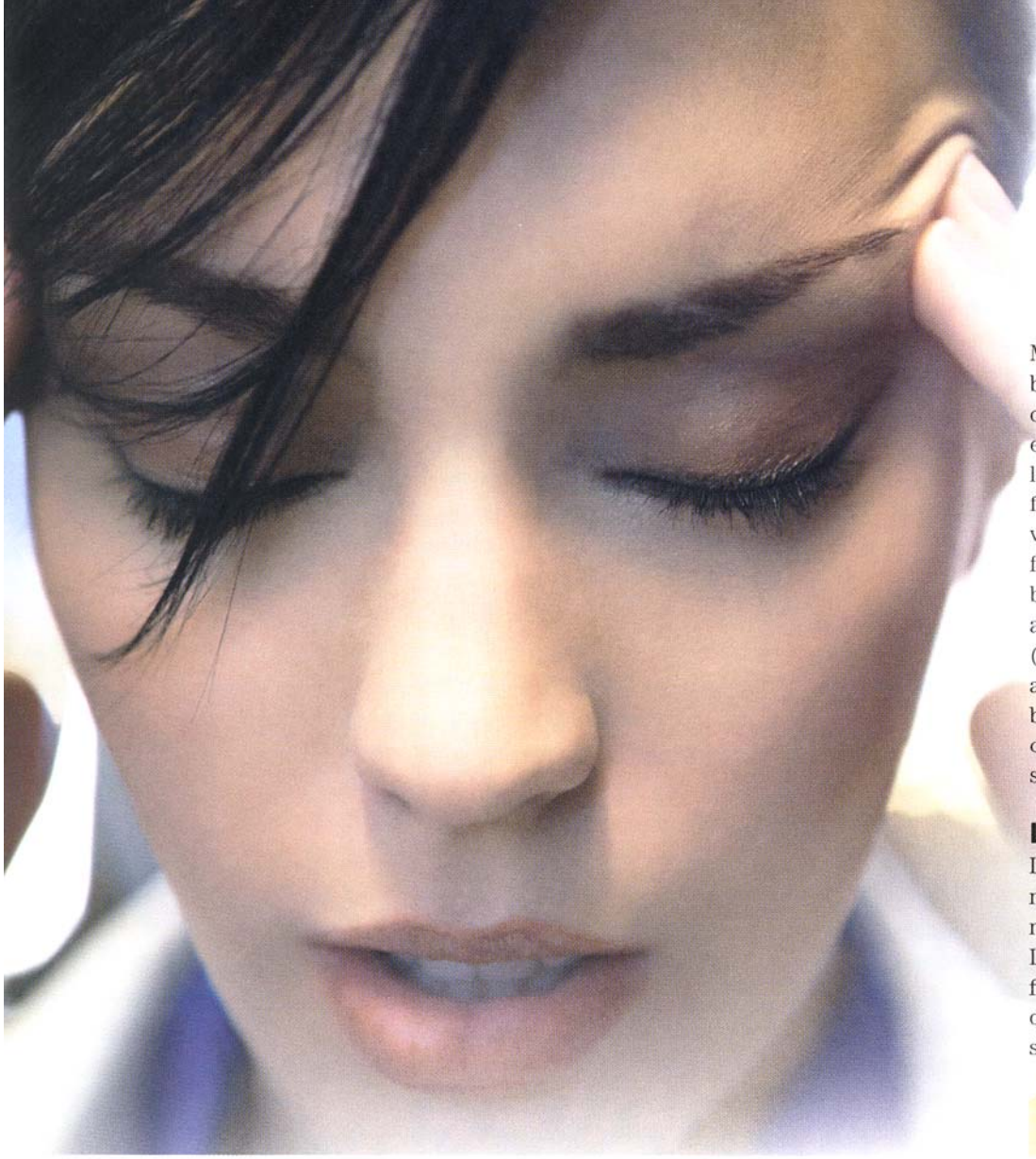


Vini con un elevato tenore in ammine biogene possono dare fastidiosi mal di testa in chi li consuma.

GESTIRE LE AMMINE BIOGENE

■ ILONA SCHNEIDER*

PRODURRE VINI A BASSO CONTENUTO IN AMMINE BIOGENE È POSSIBILE. SOPRATTUTTO GESTENDO OCULATAMENTE LA FERMENTAZIONE ALCOLICA

Molti di coloro che la sera si godono un bicchiere di vino conoscono i problemi del *mattino dopo*: mal di testa, nausea e problemi circolatori. Da mezzo secolo la ricerca vitivinicola si occupa di questi fastidiosi effetti collaterali del consumo di vino, pur moderato. Tra le cause potenziali finora individuate si elencano ammine biogene, biossido di zolfo, alcoli (superiori), allergeni e abbinamenti sfavorevoli di cibi (es. pesce, formaggio, crauti). Qui di seguito analizziamo la formazione di ammine biogene per opera di ceppi di lievito enologici commerciali (*Saccaromyces*) e ceppi di lieviti selvaggi, o autoctoni (non *Saccaromyces*).

LSA E AUTOCTONI A CONFRONTO

La fermentazione alcolica è un processo metabolico complesso al quale partecipano molti microrganismi, in particolare i lieviti. La fermentazione spontanea, avviata dalla flora da vigneto e cantina, è stata rimpiazzata quasi completamente negli anni Settanta del secolo scorso dalla fermentazione per mezzo

AB: COSA SONO E COME SI FORMANO

Le ammine biogene si distinguono in alifatiche (etilamina, putrescina, spermina, spermidina) ed eterocicliche (istamina, feniletilamina, tiramina). Putrescina, cadaverina, etilamina, feniletilamina e tracce di istamina si trovano già nell'acino d'uva, ma la sintesi di istamina – così come quella di etilamina e isopropilamina – viene ricondotta soprattutto a processi microbiologici della vinificazione. Le ammine biogene vengono create soprattutto dalla decarbossilazione di aminoacidi, ma la scissione idrolitica di legami contenenti azoto e la sintesi da aldeidi e chetoni sono altre possibili vie.
La formazione di ammine biogene dà luogo a uno scadimento qualitativo, poiché di solito va di pari passo con l'aumento del contenuto in acido acetico, acido D-lattico e altri indicatori di deterioramento.
Elevati contenuti di cadaverina, putrescina e istamina sono ritenuti indici di scarsa igiene in cantina.



LE AB NELLE FERMENTAZIONI CON SACCAROMICETI

Concentrazione di amminoacidi	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia
Ammine biogene	istamina	istamina	etilammina	etilammina	feniletilammina	feniletilammina	putrescina	putrescina	tiramina	tiramina	spermidina	spermidina	spermina	spermina
Concentrazione	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
Succo d'uva	**0,30**	**0,30**	**0,90**	**0,90**	**0,40**	**0,40**	**5,50**	**5,50**	**0,00**	**0,00**	**0,10**	**0,10**	**0,00**	**0,00**
ceppo 1	0,30	0,10	0,50	0,40	0,00	0,40	0,70	1,50	0,00	0,00	0,20	0,00	0,10	0,00
ceppo 2	0,00	0,50	0,80	0,40	-0,10	-0,10	1,00	1,60	0,20	0,00	0,40	0,20	0,10	0,10
ceppo 3	1,00	0,00	0,80	0,30	-0,10	0,00	0,60	0,50	0,00	0,00	0,50	0,00	0,10	0,00
ceppo 4	-0,10	-0,20	0,20	0,20	0,00	0,00	0,70	0,50	0,00	0,30	0,20	0,10	0,10	0,10
ceppo 5	0,00	0,50	0,60	0,30	0,00	0,00	0,70	0,80	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10
ceppo 6	-0,10	0,90	0,40	0,30	0,00	-0,10	0,60	0,60	0,20	0,00	0,00	-0,10	0,00	0,00
ceppo 7	-0,10	0,10	0,50	0,40	-0,10	-0,10	0,70	1,70	0,10	0,00	0,10	0,10	0,10	0,10
ceppo 8	0,10	0,10	0,30	0,30	-0,10	0,00	0,50	1,00	0,00	0,00	0,20	0,20	0,10	0,10
ceppo 9	-0,10	0,80	0,40	0,40	-0,10	0,00	1,10	0,70	0,00	0,10	0,30	0,00	0,10	0,10
ceppo 10	0,00	0,90	0,20	0,20	-0,10	-0,10	0,60	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Media dei ceppi	0,10	0,37	0,47	0,32	-0,06	0,00	0,72	0,95	0,05	0,05	0,19	0,05	0,07	0,06

Nota: la concentrazione istaminica (concentrazione normale di amminoacidi) nel succo d'uva corrisponde a 0,3 mg/l e per il ceppo n. 1 a 0,3 mg/l. Perciò, il ceppo n. 1 ha formato 0,6 mg/l di istamina durante la fermentazione alcolica.

Tab. 1 - Concentrazione di ammine biogene dopo la fermentazione con lieviti *Saccharomyces*.

di lieviti selezionati attivi secchi. Produttori e consumatori apprezzano ormai da tempo la sicurezza garantita dai lieviti selezionati, ad esempio nei confronti di arresti fermentativi e della formazione di *off-flavour* indesiderati. Grazie ai lieviti selezionati si determinano, già a inizio fermentazione, la qualità e il carattere aromatico del prodotto finale. Contrariamente alla fermentazione con lieviti attivi secchi, le fermentazioni spontanee vengono spesso avviate da lieviti non saccaromiceti. La durata di una fermentazione spontanea è di solito imprevedibile e può generare non solo degli off-flavour ma anche grandi quantità di composti solforosi. Ciò potrebbe compromettere la commercializzazione dei vini così prodotti. Grazie alla molteplicità di microrganismi che partecipano alla fermentazione, si crea una gamma di aromi molto complessa che, durante gli anni di maturazione del vino, subisce svariate modifiche. In particolare, la formazione di alcoli superiori comporta un gusto più pieno e più ricchezza d'aromi. Il desiderio degli operatori di settore di produrre vini inconfondibili, dall'aroma unico, rende nuovamente attualissimo il tema della fermentazione spontanea. Il ruolo decisivo in tal caso è svolto da tipi di lievito come la *Hanseniaspora, Candida, Pichia* e *Metschnikowia*, ma anche il *Brettanomyces*. La fermentazione spontanea viene spesso guidata, inoculando i mosti con lieviti già sperimentati positivamente. Un'altra possibilità è l'inoculazione con un lievito attivo secco selezionato dopo un avvio spontaneo della fermentazione. In tal caso mancano però le informazioni sulle caratteristiche dei vari lieviti della popolazione già presente e i loro effetti. In poche parole: una fermentazione spontanea non è mai sicura! Ciò vale anche per la formazione di ammine biogene da parte dei lieviti. Mentre Ansorge *et al.* (2007) indicano che accanto alla fermentazione malolattica anche quella alcolica contribuisce all'aumento del contenuto in ammine biogene nel vino, König *et al.* (2009) dimostrano che le concentrazioni di ammine create dalla fermentazione alcolica non sono comprovabili o solo quantità minime di esse. I risultati non potrebbero essere più diversi. Allora, cos'è corretto?

AB E *SACCAROMYCES*

Per l'analisi della formazione di ammine biogene è stato inoculato succo d'uva con vari ceppi di lievito selezionati puri, disponibili in commercio. Gli starter (2 ripetizioni) sono stati preparati secondo le indicazioni dei produttori, per una temperatura di fermentazione di 18°C. È stato utilizzato mosto d'uva con due differenti concentrazioni di amminoacidi. Mosto normale, cioè senza aggiunta di amminoacidi, e mosto con l'aggiunta di tutti gli amminoacidi presenti, fino a raddoppiarne la concentrazione. Nella tabella 1 sono rappresentate le concentrazioni di ammine biogene formatesi con vari lieviti selezionati puri. Differenze specifiche dei ceppi dipendono dalla concentrazione degli amminoacidi nel mosto d'uva. Il ceppo n. 2, con la

LE AB NELLE FERMENTAZIONI CON NON SACCAROMICETI

Concentrazione di amminoacidi	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia
Ammine biogene	istamina	istamina	etilammina	etilammina	feniletilammina	feniletilammina	putrescina	putrescina	tiramina	tiramina	spermidina	spermidina	spermina	spermina
Concentrazione	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
Succo d'uva	**0,30**	**0,30**	**0,90**	**0,90**	**0,40**	**0,40**	**5,50**	**5,50**	**0,00**	**0,00**	**0,10**	**0,10**	**0,00**	**0,00**
Brettanomyces ceppo 1	0,10	0,40	-0,10	0,10	-0,10	0,00	-2,10	-0,90	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Brettanomyces ceppo 2	-0,10	-0,10	0,10	0,00	0,00	-0,10	0,00	-2,00	0,00	0,00	0,00	-0,10	0,00	0,00
Candida ceppo 1	-0,20	0,00	0,60	0,10	0,00	0,00	-0,50	-0,30	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00
Candida ceppo 2	-0,10	0,20	0,40	0,50	0,00	0,00	0,20	0,40	0,00	0,00	0,20	0,10	0,00	0,10
Candida ceppo 3	-0,10	0,30	0,10	0,10	0,00	-0,10	0,10	-1,20	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Candida ceppo 4	-0,10	0,00	0,30	0,20	0,00	-0,10	-0,10	-0,80	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Dekkera ceppo 1	0,20	0,40	-0,10	0,10	-0,10	0,00	-1,20	-0,60	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Dekkera ceppo 2	0,00	0,20	0,70	0,50	0,00	0,00	-0,20	-1,40	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Hanseniaspora ceppo 1	-0,10	-0,10	0,10	0,10	-0,10	0,00	-1,40	-1,30	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Hanseniaspora ceppo 2	0,00	0,00	0,00	0,30	-0,10	0,00	-1,60	-1,50	0,00	0,00	-0,10	-0,10	0,00	0,00
Metschnikowia ceppo 1	-0,10	-0,30	0,10	0,20	0,00	0,00	-0,30	0,90	0,00	0,00	0,10	0,30	0,10	0,20
Metschnikowia ceppo 2	-0,10	0,20	0,20	0,10	0,30	-0,10	0,50	-0,10	0,00	0,00	0,20	0,10	0,10	0,10
Pichia ceppo 1	0,20	0,80	-0,30	-0,20	-0,10	-0,10	-1,20	-1,50	0,00	0,00	-0,10	0,10	0,00	0,10
Pichia ceppo 2	-0,20	0,10	0,00	0,00	-0,10	-0,10	-0,30	-0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Torulaspora ceppo 1	-0,10	0,20	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Media dei non *Saccharomyces*	-0,05	0,15	0,15	0,15	-0,02	-0,04	-0,54	-0,77	0,00	0,00	-0,01	-0,01	0,01	0,03

Nota: la concentrazione istaminica (concentrazione normale di amminoacidi) nel succo d'uva corrisponde a 0,3 mg/l e nel ceppo n. 1 di Brettanomyces a 0,1 mg/l. Perciò, il ceppo n. 1 ha formato 0,4 mg/l di istamina durante la fermentazione alcolica.

Tab. 2 - Concentrazioni di ammine biogene dopo la fermentazione con non *Saccharomyces*.

concentrazione normale di amminoacidi, crea 1,0 mg/l di istamina, mentre con la doppia concentrazione non ne forma. Inoltre, i ceppi n. 2 e 3 evidenziano il massimo contenuto in etilamina rispetto a tutti gli altri ceppi testati. Alla fermentazione del mosto d'uva con la concentrazione normale di amminoacidi si formano 1,7 mg/l di etilamina con entrambi i ceppi e con la concentrazione doppia 1,3 mg/l e 1,2 mg/l di etilamina rispettivamente per i ceppi 2 e 3. In ambedue i lieviti puri selezionati si rileva anche la quantità di spermidina più elevata. Le concentrazioni di putrescina durante le fermentazioni con lieviti puri sono maggiori rispetto al livello nel succo d'uva di partenza. Il contenuto massimo di putrescina (6,6 mg/l) è stato determinato dal ceppo n. 9 con una concentrazione normale di amminoacidi. Con la concentrazione doppia di amminoacidi, il ceppo n. 7 crea in totale 7,2 mg/l di putrescina, cioè 1,7 mg/l in più rispetto al mosto di partenza. Durante la fermentazione con lieviti puri selezionati e una concentrazione normale di amminoacidi, i valori medi riscontrati di istamina, feniletilamina e putrescina sono inferiori rispetto a quelli riscontrati nella concentrazione doppia di amminoacidi. I contenuti in etilamina, spermidina e spermina aumentano invece con una concentrazione doppia di amminoacidi.

AB E NON *SACCAROMYCES*

Nella tabella 2 sono elencate le concentrazioni di ammine biogene delle fermentazioni di vari lieviti non saccaromiceti. Tali fermentazioni con i lieviti non saccaromiceti *Brettanomyces, Candida, Dekkera, Hanseniaspora, Metschnikowia, Pichia* e *Torulaspora* evidenziano in media concentrazioni inferiori

AB E CHIARIFICA

Le ammine biogene si possono eliminare in parte dal vino con le chiarifiche.
La bentonite ha la miglior capacità di riduzione dell'istamina, con un effetto dipendente dalle concentrazioni di additivo e istamina nel vino. Ad alte concentrazioni e quantità di bentonite di 400 g/hl, si possono raggiungere riduzioni fino al 70% circa. Con valori istaminici bassi e 100 g/hl di bentonite, invece, l'effetto è quasi nullo. Inoltre la bentonite può legare l'isopentilamina e la cadaverina e ridurre così notevolmente i contenuti istaminici. L'istamina si elimina anche col carbone attivo, ma la bentonite è preferibile, per la minor influenza sull'aroma. Altri chiarificanti, come caseina, gelatina, colla di pesce o PVPP, non provocano una riduzione selettiva delle ammine biogene.

DATI A CONFRONTO

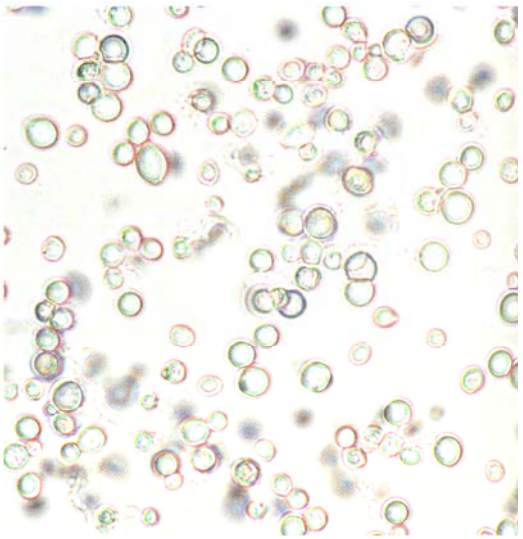
Concentrazione di amminoacidi	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia	normale	doppia
Ammine biogene	istamina	istamina	etilammina	etilammina	feniletilammina	feniletilammina	putrescina	putrescina	tiramina	tiramina	spermidina	spermidina	spermina	spermina	Somma AB	Somma AB
Concentrazione	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
Succo d'uva	0,30	0,30	0,90	0,90	0,40	0,40	5,50	5,50	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	7,20	7,20
Non *Saccharomyces* (media)	-0,05	0,15	0,15	0,15	-0,02	-0,04	-0,54	-0,77	0,00	0,00	-0,01	-0,01	0,01	0,03	-0,46	-0,48
Saccharomyces (media)	0,10	0,37	0,47	0,32	-0,06	0,00	0,72	0,95	0,05	0,05	0,19	0,05	0,07	0,06	1,54	1,80

Tab. 3 - Dati riassuntivi della produzione di ammine biogene (media) per opera di lieviti saccaromiceti e non saccaromiceti.

di ammine biogene. Le analisi dimostrano che la formazione di ammine biogene dipende non tanto dalla concentrazione di amminoacidi, quanto piuttosto dall'attività fermentativa (risultati non illustrati) dei lieviti non saccaromiceti. Tale aspetto è particolarmente evidente se si osserva il contenuto di putrescina. Le concentrazioni di putrescina dopo le fermentazioni con doppia concentrazione di amminoacidi sono inferiori a quelle nel mosto di partenza. Bisogna presumere che la putrescina venga decomposta durante le fermentazioni. In conclusione: più elevato è il grado finale di fermentazione, maggiore è la decomposizione. La causa possibile: la putrescina potrebbe essere una fonte nutrizionale per i non saccaromiceti. Per tutte le ammine biogene analizzate risulta che i contenuti medi misurati nel mosto d'uva con concentrazione normale di amminoacidi erano uguali o inferiori a quelli con la concentrazione doppia di amminoacidi. Tutti i contenuti delle ammine biogene analizzate dimostrano che dopo la fermentazione alcolica si arriva a una media di 6,74 mg/l per tutti i non saccaromiceti testati. Rispetto alla somma di 7,20 mg/l di tutte le ammine biogene nel mosto di partenza, il dato indica una riduzione di 0,46 mg/l.
Alla fermentazione con saccaromiceti invece consegue un aumento di 1,54 mg/l (da 7,20 a 8,74 mg/l) di ammine biogene (tabella 3).
I risultati con le varianti con concentrazione doppia di amminoacidi hanno confermato questa differenza tra non saccaromiceti e saccaromiceti.

I FATTORI DA TENERE SOTTO CONTROLLO

I risultati indicati dimostrano che durante la fermentazione alcolica è possibile la formazione e la riduzione di ammine biogene in misura diversa. Tale formazione e riduzione è specifica per il singolo ceppo, ma dipende anche dalla concentrazione di amminoacidi del mosto. Altri studi dimostrano che la fermentazione malolattica può causare concentrazioni di ammine biogene più elevate e che essa è la vera fonte delle ammine biogene. La formazione di ammine biogene durante la vinificazione si evita con l'uso di uve sane e una fermentazione del mosto pulita e veloce. Accanto alla temperatura di fermentazione e al contenuto in sostanze nutritive del mosto, risulta decisivo il valore del pH, che dovrebbe essere < 3,6. Un basso valore di pH impedisce la crescita di microrganismi indesiderati, di lieviti non saccaromiceti e di batteri lattici spontanei. Inoltre gli studi dimostrano che un contatto prolungato con i lieviti (bâtonnage) dopo la fermentazione alcolica può causare un aumento eccessivo del contenuto di ammine biogene. Le pareti cellulari del lievito sono in grado di assorbirle e le quantità di ammine biogene legate dipendono dallo stato di attività delle cellule. Ma il legame tra l'ammina biogena e la parete cellulare non è molto forte, cosicché in caso di bâtonnage frequente le ammine biogene potrebbero essere nuovamente desorbite. Nel deposito di lievito però, le condizioni ambientali rimangono favorevoli per gli amminoacidi che



La fermentazione alcolica operata da lieviti saccaromiceti e non saccaromiceti può essere una delle fonti di ammine biogene nel vino.

servono da precursori (spesso dall'autolisi del lievito). Anche un valore di pH più elevato e generalmente una grande concentrazione di biomassa da lieviti/batteri potrebbero essere responsabili della formazione di ammine biogene. È possibile evitare in modo mirato la formazione di ammine biogene, tenendo conto dei singoli fattori.
La produzione di un vino privo di ammine, invece, secondo le conoscenze attuali, è possibile solo in modo parziale e lascia ancora spazio alla ricerca. ■

**Ingegnere settore ricerca e sviluppo - Food & Beverage BEGEROW (Langenlonsheim, Germania)*

© RIPRODUZIONE RISERVATA