

STABILITÀ BIOLOGICA E AMMINE BIOGENE

Jürg GAFNER

Federal Research Station for Fruit-Growing, Viticulture and Horticulture. Wädenswil, Switzerland.

Riassunto

Le ammine biogene non dovrebbero essere presenti nei vini e sono sempre l'espressione dell'attività di microrganismi indesiderati, caratterizzati da un'alta attività amino decarbossilasica, come è stato riscontrato nei batteri lattici *Pediococcus damnosus*. Con il controllo al microscopio durante la vinificazione, è possibile rilevare la presenza di *Pediococcus damnosus* e di prevenirne la crescita. L'aggiunta di colture starter di *Oenococcus oeni* può prevenire o ritardare la crescita di *Pediococcus damnosus* e la conseguente formazione di ammine biogene. Usando colture starter di batteri e controllando al microscopio il vino, l'enologo può prevenire efficacemente la formazione delle ammine biogene in modo semplice e poco costoso.

Introduzione

La decarbossilazione dell'aminoacido istidina comporta la formazione dell'istamina, un'ammina biogena. L'istamina è tra tutte le ammine biogene la più importante per l'uomo. Normalmente, questa sostanza viene degradata senza problemi dopo l'assunzione con il cibo, ma la percentuale di persone che reagiscono con sintomi drastici a piccole quantità di ammine biogene nei cibi sta crescendo. Questo tipo di malattia viene chiamata "Intolleranza all'istamina"; le persone che presentano questa malattia devono attenersi a diete con un basso apporto di istamina.

Nel vino, l'istamina è un contaminante indesiderato che si forma durante la biosintesi delle proteine nell'organismo umano, ma anche dal metabolismo batterico. Le ammine biogene si formano soprattutto nel corso della fermentazione e maturazione di cibi come formaggi, verdure, salsicce e pesce, ma anche nelle bevande alcoliche (Tabella 1,2). La quantità di istamina formata dipende in larga misura dalla corretta gestione del processo di produzione. Dato che un alto contenuto dell'istamina nei cibi è correlato anche con la loro alterazione, la concentrazione dell'istamina è indice dello stato di freschezza e qualità del cibo (tabella 2). Altre ammine biogene, quali la putrescina, la tiramina, la cadaverina ecc. vengono formate durante la lavorazione degli alimenti e la conservazione. La presenza concomitante di queste ammine aumenta la tossicità dell'istamina (1,5).

Tabella 1: Alimenti che possono avere effetti negativi (2):

1. Bevande alcoliche (soprattutto i vini rossi)
2. Formaggi (soprattutto i formaggi duri come l'Emmental)
3. Cioccolato
4. Salame ed altre salsicce
5. Noci
6. Pomodori
7. Fragole, agrumi ed altri liberatori di istamina
8. Cavoli acidi
9. Spinaci
10. Pesce

Tabella 2: *Contenuto di istamina degli alimenti principali che contengono istamina*
I valori sono espressi in mg/kg (se non diversamente specificato), intervallo (max) (2).

Formaggio	
Emmental	<10-500 (2.500)
Bergkaese	<10-1.200
Parmigiano	<10-580
Gouda, Edam, Stangenkaese	<10-200 (900)
Tilsiter, Geheimratskaese, Butterkaese	<10-60
Formaggi erborinati austriaci	<10-80
Camembert, Brie	<10-300 (600)
Schlosskaese, Romadur	<10-100
Quargel (acid cured cheese)	<10-50 (390)
Cottage cheese, fresh cheese	0
Bevande alcoliche (µg/kg)	
Vino rosso	fino a 3.800
Vini rossi austriaci	60-600 (1.100)
Vini bianchi austriaci	10-120
Vini frizzanti	15-80
Champagne	670
Birra	20-50
Birra Weizen	120-300
Birra analcolica	15-40
Salumi	
Salame	<10-280
Altri insaccati	<10-100
Oso collo, Westfaeler ham	<10-300
Carne fresca	<1
Pesce/prodotti ittici	
Pesce fresco	0
Pesce fresco alterato	fino a 13.000
Alimenti surgelati	0-5 (>50)
Inscatolati (tonno)	0-15 (300)
Verdure	
Pomodori (ketchup)	22
Spinaci	30-60
Avocado	23
Melanzana	26
Cavolo acido	10-200
Aceto (µg/kg)	
Aceto di vino rosso	4.000

Disturbi dell'intolleranza all'istamina

Al giorno d'oggi si conoscono gli effetti dell'istamina. Nella maggior parte delle persone intolleranti all'istamina, l'attività della diammino-ossidasi (DAO), un enzima normalmente presente nell'uomo, non è sufficiente. L'attività di questo enzima converte le ammine

biogene come l'istamina in prodotti che non sono dannosi. La reazione inizia dopo un pasto ricco di istamina. I sintomi più importanti sono un arrossamento con prurito della pelle, mal di testa, nausea, mal di stomaco, diarrea e problemi respiratori. Vi sono anche tipici segnali di allergia, quali occhi rossi e naso colante. La capacità di degradare l'istamina presente nei cibi viene ridotta drasticamente in tutte le persone dal consumo di alcol e da effetti collaterali di alcune medicine. Entrambi inibiscono la diaminio-ossidasi, presente nell'intestino e capace di degradare l'istamina ed altre ammine biogene. Per questa ragione il consumo contemporaneo di bevande alcoliche (birra, vino, distillati, ecc.) e di alimenti con concentrazioni alte di ammine biogene dovrebbe essere evitato. La ragione più frequente dell'aumento della quantità di ammine biogene nel cibo è la crescita di batteri che possono formare ammine biogene come l'istamina, nel corso della produzione, maturazione e conservazione non ben controllati (1,5).

La prevenzione della formazione delle ammine biogene negli alimenti

I valori di tolleranza dell'istamina in diversi alimenti sono stati stabiliti nel Swiss Food Regulations. Per quanto riguarda il vino, tale valore è pari a 10 mg/L. Un vino ritenuto privo di istamina dovrebbe contenerne meno di 0.5 mg/L.

E' noto che tra i batteri lattici vi sono specie e ceppi che non producono ammine biogene ed altre, al contrario, che ne producono elevate quantità. Soprattutto nel vino, i ceppi di *Pediococcus damnosus* producono molta istamina. L'industria alimentare e quella enologica hanno iniziato ad usare colture starter di batteri con determinate proprietà che riguardano anche la formazione delle ammine biogene. L'inoculo di specie o ceppi di batteri lattici che non producono ammine biogene ne riduce la presenza negli alimenti.

Le ammine biogene non dovrebbero essere presenti nel vino. Nel corso della vinificazione, si possono sviluppare anche microrganismi non desiderati. Gli enologi dovrebbero impedire la crescita di certi microrganismi contaminanti. Un buon inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* per la fermentazione alcolica e un buon inoculo di *Oenococcus oeni* per la fermentazione malolattica sono una garanzia della qualità di un vino (1,5). Le colture starter vengono controllate attentamente per verificare il loro potenziale di produrre metaboliti indesiderati. Ricerche effettuate su lunghi periodi hanno mostrato che l'inoculo corretto di *Oenococcus oeni* previene la formazione di ammine biogene (Tabelle 3 e 4).

Tabella 3: Contenuto in amine biogene nei vini della Svizzera orientale dal 1984 (3,5)

	Valori medi in mg/L
Amine biogene	151 vini rossi / 51 vini bianchi (valori massimi)
Istamina	2.0 (20) / 1.5 (10)
Tiramina	2.8 (24.6) / 7.5 (43.8)
2- feniletilamina	1.7 (9.4) / 1.7 (8.5)
Putrescina	21.4 (200) / 11.1 (>100)
Isoamilamina	8.2 (38.8) / 6.3 (17)
Cadaverina	0.3 (1.2) / 0.1 (0.8)

I valori minimi e medi si ottennero quando la vinificazione era controllata – la vinificazione non controllata conduce ai valori massimi.

Tabella 4: Contenuto di istamina nei vini che hanno fatto la fermentazione malolattica – l’impatto di colture starter su una migliore qualità del vino (4,5)

Colture starter di <i>Oenococcus oeni</i>	Contenuto di istamina in mg / L
Bitec	<1
EQ 54	<1
Viniflora oenos	<1

Le altre ammine biogene trovate nei vini sono inferiori a <1 mg/L.

La sicurezza microbiologica e la qualità del vino

Nel corso della vinificazione, è molto importante conoscere la composizione della flora microbica. Vi sono lieviti e batteri desiderati (*Saccharomyces cerevisiae*, *Oenococcus oeni*) e lieviti e batteri non desiderati (*Hanseniaspora uvarum* e *Brettanomyces bruxellensis*, *Pediococcus damnosus* e *Lactobacillus brevis*). Un test messo a punto nei nostri laboratori è in grado di differenziare non solo le specie sopra menzionate, ma anche se si tratta di microrganismi vivi o morti. Abbiamo determinato la sequenza genica e definito i primer per PCR. Il numero totale di cellule e il numero determinato con analisi quantitativa PCR rientrano statisticamente nello stesso intervallo. Nei vini filtrati sterili, non abbiamo rilevato microrganismi con entrambi i metodi. Con il nostro metodo, possiamo differenziare le diverse specie. Nei vini contenenti maggiori quantità di ammine biogene, abbiamo sempre trovato *Pediococcus damnosus*. Nella maggior parte dei casi, esiste una correlazione tra la concentrazione delle ammine formate e il numero di cellule.

In molti campioni contenenti i batteri *Pediococcus damnosus* sono stati trovati anche i lieviti *Brettanomyces bruxellensis*. Abbiamo riscontrato questa compresenza sin dai primi studi. Non sappiamo, però come interagiscano questi microrganismi. Nei campioni contenenti entrambi i microrganismi, abbiamo rilevato non solo quantità elevate di ammine biogene, ma anche l’odore “Brett”, che viene descritto come medicinale, animale, di calza sudata, di stalla, di fumo, metallico, *Bandaid* e speziato. Nei nostri campioni abbiamo osservato che il numero di cellule *Brettanomyces* e il grado di “brett” del vino erano correlati. Inoltre, abbiamo osservato una buona correlazione tra la concentrazione del 4-etilguaiacolo e il 4-etilfenolo, le due sostanze principali del carattere “bret”, e il numero di cellule: maggiore è il numero di cellule, maggiore è la concentrazione dei composti formati. In una cantina, abbiamo osservato un aumento del “brett” dalla fine del luglio 2002 alla fine del settembre 2002. Questo effetto sensoriale è correlato con la concentrazione dei due composti e con l’aumento del numero di cellule.

Articolo tratto da una relazione presentata al 32° Annual New York Wine Industry Workshop

Bibliografia

1. Bodmer S. und Gafner, J. Histamin in Wein. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 21, 546-547, 2000.
2. Jarisch R. Histamine Intolerance (HTI) – an overlooked disease. COST 917 Biogenically active amines in food; Volume IV First general workshop; 30-35, 2000.
3. Mayer K. und Pause G. Amingehalte in Ostschweizer Weinen. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 123, 303-309, 1987.
4. Hoffmann-Boller P., Oettli M., Egli C.M., Albisser S., Pulver D., Bill R., Henick-Kling T. and Gafner J. Impact of molecular biology on the study of the origin of biogenic amines in foods. COST 917 Biogenically active amines in food; Volume V; 72-75, 2001.
5. Gafner J. Biogenic amines in wine. Proceedings of the 13th International Enology Symposium in Montpellier / France, 95-106, 2002.