

Indagine sul contenuto di ammine biogene nei vini

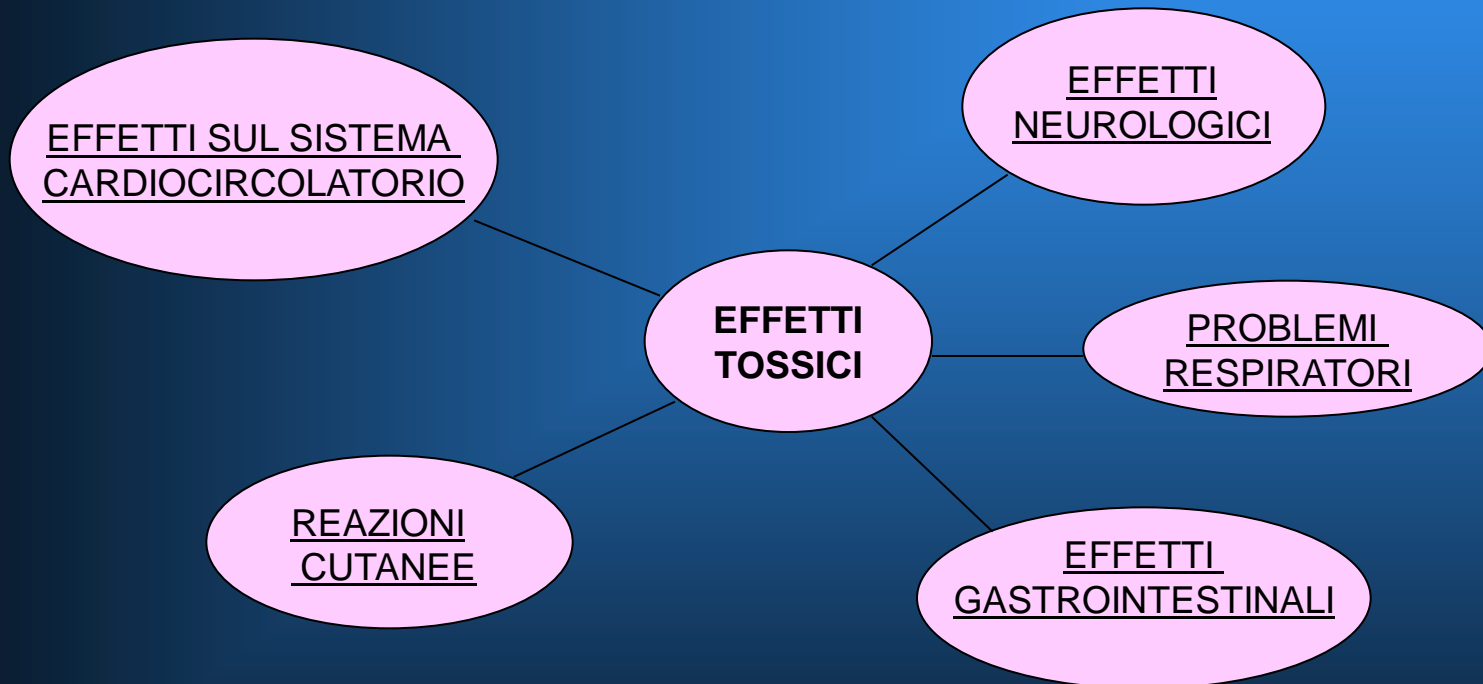
Giuseppe Arfelli *
**Nicoletta Belletti **, Claudia Corzani **,
Alessandra Fabiani **, Rosalba Lanciotti **,
Fausto Gardini ****

** Dipartimento di Scienze degli Alimenti – Università di Teramo*

*** Dipartimento di Scienze degli Alimenti – Università di Bologna*

AMMINE BIOGENE

- ✓ Sostanze tossiche presenti negli alimenti, che nei vini si formano durante la fermentazione alcolica e durante la fermentazione malolattica;
- ✓ le più frequenti sono: **istamina**, **tiramina**, **2-feniletilammina**, **putrescina**, **cadaverina**, **spermina** e **spermidina**;



- ✓ meccanismo di formazione: decarbossilazione degli aminoacidi precursori catalizzata da enzimi aminoacido-decarbossilasi di origine endogena e microbica.

Ammine nei vini

Ammina	Effetti tossicologici	Sintomi
Istamina	<ul style="list-style-type: none">• Libera adrenalina e noradrenalina• Stimola la muscolatura liscia dell'utero, dell'intestino e del tratto respiratorio• Stimola i neuroni motori e sensoriali• Controlla la secrezione gastrica	<ul style="list-style-type: none">• Eruzioni cutanee• Arrossamenti• Sudorazione accentuata• Diarrea• Mal di testa
Tiramina	<ul style="list-style-type: none">• Vasocostrittore• Aumento del battito cardiaco• Causa lacrimazione e salivazione• Aumento della glicemia	<ul style="list-style-type: none">• Dilatazione delle pupille• Lacrimazione e salivazione accentuate• Aumento della glicemia
Putrescina Cadaverina Spermina Spermidina	<ul style="list-style-type: none">• Ipotensione• Bradicardia• Potenziano la tossicità delle altre ammine	<ul style="list-style-type: none">• Potenziano gli effetti di tiramina ed istamina

Ammine nei vini

Le ammine biogene sono presenti in numerosi alimenti, comprese le bevande fermentate.

La presenza di etanolo inibisce l'efficacia del sistema di detossificazione umano (amino ossidasi), quindi il consumo di ammine veicolate da prodotti contenenti etanolo potenzia esponenzialmente l'effetto negativo di queste.

In conseguenza di ciò, raccomandazioni circa i limiti massimi di istamina nei vini sono già presenti in Francia (8 ppm), Germania (2 ppm), Belgio (5-6 ppm) e Svizzera (10 ppm).

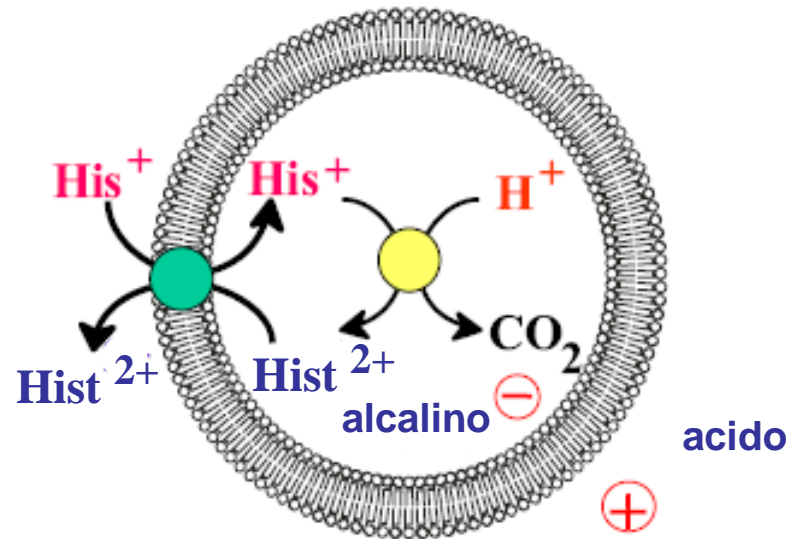
Ammine nei vini

La produzione di ammine biogene da parte dei batteri ha una funzione specifica, soprattutto in condizioni avverse.

Fino a qualche decennio fa si pensava, al pari di quello che succedeva per la malo lattica, che si trattasse di un semplice meccanismo di difesa adottato in ambienti particolarmente acidi allo scopo di innalzare anche di pochi decimi il pH attraverso la eliminazione di una funzione carbossilica.

Oggi si sa che il meccanismo che spinge i batteri a questa trasformazione, ed anche alla malo lattica, è un meccanismo energetico che rientra nei cosiddetti meccanismi energetici secondari. Il substrato entra con una certa carica, mentre la molecola decarbossilata esce con un'altra carica in modo che il bilancio di membrana comporti un aumento di una carica + all'esterno o di una carica - all'interno, incrementando così, sia pur di poco, il potenziale di membrana da cui i microorganismi producono energia.

Conservazione dell'energia metabolica mediante scambi di elettroni



His = istidina

Hist = istamina

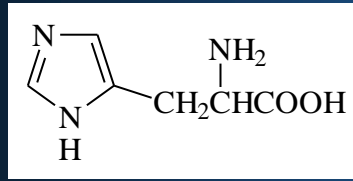
Ammine nei vini

Esistono diversi fattori che influenzano la possibilità di accumulo di ammine biogene, a partire dal campo.

Infatti, è stata dimostrata una relazione fra la presenza di AB e la concimazione azotata (presumibilmente attraverso l'influenza esercitata sul pool amminoacidico).

Presumibilmente, sempre per lo stesso motivo la quantità di AB può dipendere dal vitigno, dall'epoca di vendemmia, dall'irrigazione, ecc..

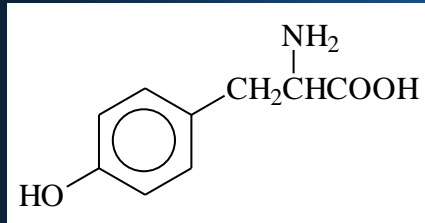
Amminoacidi e Ammine biogene nel vino



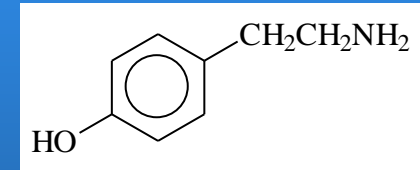
istidina



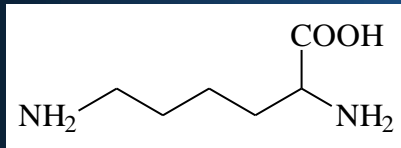
istamina



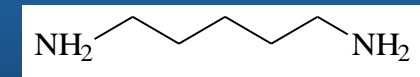
tirosina



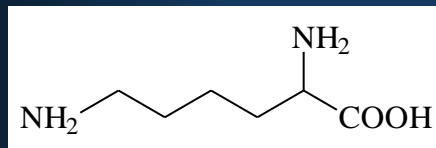
tiramina



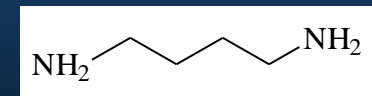
lisina



cadaverina

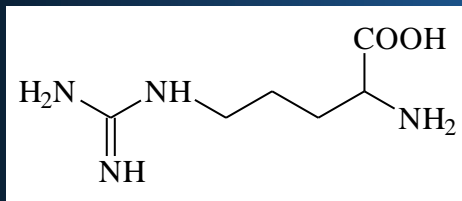


ornitina

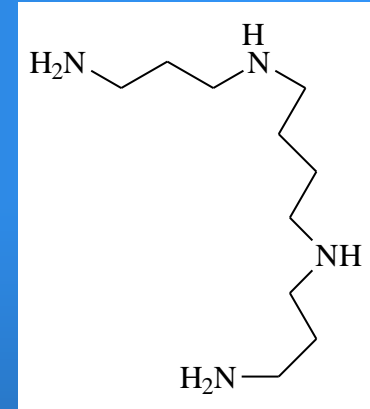


putrescina

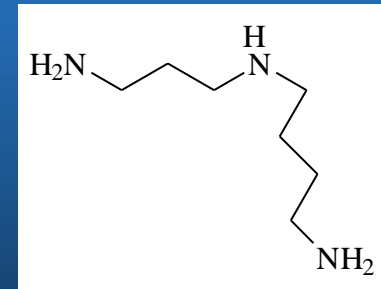
Amminoacidi e Ammine biogene nel vino



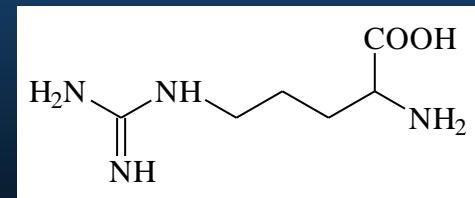
arginina



spermina



spermidina



agmatina

Messa a punto di una metodica per la determinazione simultanea degli amminoacidi e delle ammine nei vini mediante tecnica HPLC-DAD ed impiego di una colonna monolitica.

Piano sperimentale

- ✓ messa a punto di un gradiente di separazione su colonna monolitica Chromolith per 33 composti (amminoacidi e ammine);
- ✓ validazione del metodo su colonna monolitica con la valutazione della precisione, dell'accuratezza e dei limiti di rivelabilità;
- ✓ applicazione del metodo di determinazione di amminoacidi e ammine ad alcuni campioni di vino.

Condizioni cromatografiche in HPLC

Pretrattamento del campione: derivatizzazione con FMOCCI

Pompa: binaria, serie PU-1580, (Jasco, Tokio, Japan)

colonna (monolitica)

Chromolith, 100 x 4.6 mm (2 in serie)

rivelatore: DAD MD-1510 settato a $\lambda=263$ nm

fase mobile: eluizione a gradiente

eluente A = tampone acetato 50 mM, pH=4.2;

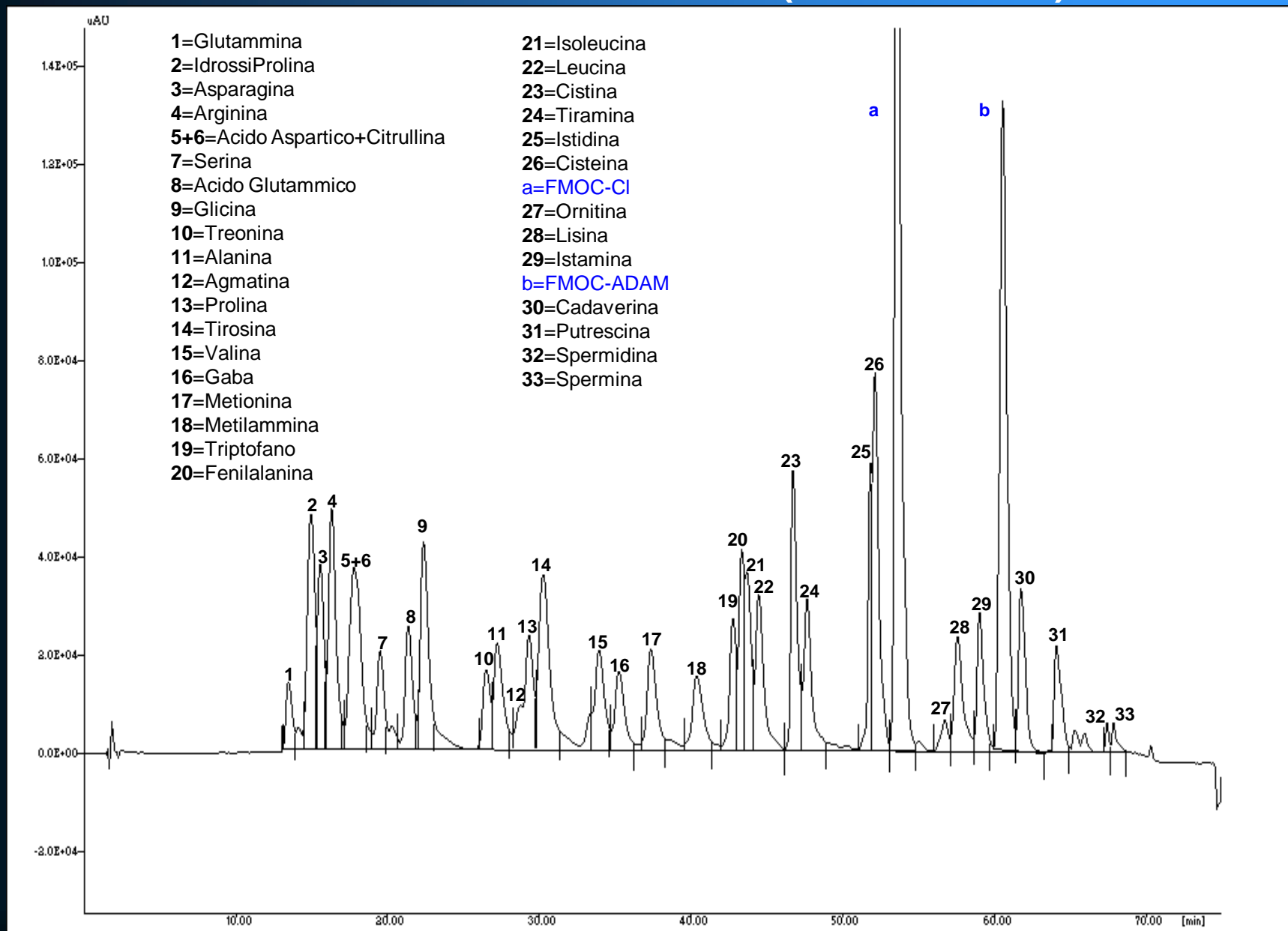
eluente B = acetonitrile

flusso = 2 mL/min

iniezione = 20 μ L

Miscela di 33 standard

2 Colonne monolitiche Chromolith (100 x 4.6 mm) in serie



Colonna monolitica	Curve di calibrazione			Accuratezza		L.O.D. (mg/L)	L.O.Q. (mg/L)
	a	b	r ²	Recupero medio (%)	c.v. (%)		
Glutamina (Gln)	29176	661320	0,9939	99,5 ± 5,2	2,5	0,18	0,54
Idrossiprolina (Hyp)	18650	672589	0,9943	102,4 ± 3,2	3,4	0,11	0,33
Asparagina (Asn)	17112	4518	0,9985	99,2 ± 1,5	0,8	0,11	0,33
Arginina (Arg)	13378	-81776	0,9973	95,8 ± 1,2	0,8	0,21	0,63
Acido aspartico (Asp)	6211	72487	0,9983	101,3 ± 4,5	3,2	0,08	0,24
Citrullina (Cit)	36235	-140589	0,9968	97,6 ± 4,8	3,5	0,10	0,30
Serina (Ser)	6690	18246	0,9940	96,5 ± 2,4	2,5	0,12	0,36
Acido glutammico (Glu)	36923	-206495	0,9947	100,9 ± 1,8	1,5	0,20	0,60
Glicina (Gly)	6448	67360	0,9979	101,5 ± 2,3	2,2	0,07	0,21
Treonina (Thr)	20154	-231037	0,9915	98,2 ± 2,1	2,3	0,13	0,39
Alanina (Ala)	12266	13605	0,9972	99,5 ± 5,6	5,5	0,11	0,33
Agmatina (Agm)	29888	78818	0,9966	98,3 ± 4,4	3,2	0,22	0,66
Prolina (Pro)	93225	1000000	0,9969	100,2 ± 7,6	4,5	0,04	0,12
Tirosina (Tyr)	45457	4696	0,9881	99,8 ± 3,2	3,1	0,02	0,06
Valina (Val)	18086	-131421	0,9949	97,4 ± 2,4	1,9	0,12	0,36
γ-Acido aminobutirrico (Gaba)	15670	-56781	0,9989	96,8 ± 1,9	1,7	0,14	0,42
Metionina (Met)	21471	-232401	0,9931	96,2 ± 4,9	3,2	0,21	0,63
Metilammina (Meta)	156831	-44870	0,9994	93,5 ± 7,5	4,7	0,11	0,33
Triptofano (Trp)	19067	-166225	0,9948	103,5 ± 8,5	6,5	0,24	0,72
Fenilalanina (Phe)	19034	-186470	0,9906	100,2 ± 6,5	5,4	0,15	0,45
Isoleucina (Ile)	18121	-111909	0,9952	93,5 ± 7,2	5,2	0,12	0,36
Leucina (Leu)	12671	-35165	0,9941	90,2 ± 6,5	3,2	0,13	0,39
Cistina (Cys-Cys)	21621	-190879	0,9998	88,7 ± 8,2	3,3	0,11	0,33
Tiramina (Tyrn)	35288	-3314	0,9960	99,6 ± 2,1	2,8	0,17	0,51
Istidina (His)	24494	233461	0,9920	95,6 ± 5,6	4,4	0,09	0,27
Cisteina (Cys)	25147	232307	0,9944	103,1 ± 13,3	10,5	0,06	0,18
Ornitina (Orn)	108728	37014	0,9905	95,5 ± 5,8	4,2	0,14	0,42
Lisina (Lys)	24263	273035	0,9967	96,5 ± 4,5	4,2	0,07	0,21
Istamina (Hist)	73253	-37874	0,9959	98,2 ± 4,1	3,8	0,10	0,30
Cadaverina (Cad)	57922	-40763	0,9945	88,5 ± 7,5	2,8	0,11	0,33
Putrescina (Put)	68941	-22095	0,9902	90,2 ± 13,0	12,6	0,23	0,69
Spermidina (Spermd)	6536	-3504	0,9859	89,5 ± 11,5	11,2	0,32	0,96
Spermina (Sperm)	5006	4205	0,9809	90,3 ± 15,6	14,3	0,31	0,93

Linearità:

3 derivatizzazioni di 5 diverse concentrazioni di soluzioni standard (2-50 mg/L per ciascun amminoacido e 0,5-14 mg/L per le ammine).

Accuratezza:

Campioni aggiunti con 3 diverse concentrazioni di amminoacidi e ammine (0,04; 0,06 e 0,08 mM) furono analizzati in triplo.

Limite di rilevabilità: S/N= 3.

Limite di quantificazione: S/N= 10.

Colonna monolitica Ripetibilità: 7 iniezioni della stessa soluzione standard durante lo stesso giorno (intraday) e in giorni differenti (interday).	Precisione							
	Tempo				Area			
	media tempo (min)	intraday c.v. (%)	media tempo (min)	interday c.v. (%)	media area (mAU x s)	intraday c.v. (%)	media area (mAU x s)	interday c.v. (%)
Glutamina (Gln)	13,41	0,40	14,46	1,44	465792	1,78	396672	2,22
Idrossiprolina (Hyp)	14,59	0,51	14,93	1,49	462778	1,13	429322	1,97
Asparagina (Asn)	15,15	0,46	15,35	2,01	389244	1,41	435468	2,44
Arginine (Arg)	15,50	0,45	16,21	1,82	529558	1,65	519554	3,14
Acido aspartico (Asp) + Citrullina (Cit)	16,73	0,44	17,14	1,39	1173841	3,27	1190337	4,33
Serina (Ser)	17,57	0,52	17,75	1,23	421267	5,15	416000	2,41
Acido glutammico (Glu)	19,45	0,39	19,70	1,28	351093	2,29	366514	1,76
Glicina (Gly)	21,30	0,49	21,39	1,16	505290	5,18	495908	4,44
Treonina (Thr)	25,21	0,38	25,65	1,15	533506	1,86	614743	3,65
Alanina (Ala)	26,60	0,28	26,84	1,10	466094	2,95	481319	3,98
Agmatina (Agm)	28,22	0,25	28,51	0,35	311936	2,42	325366	3,15
Prolina (Pro)	29,30	0,34	29,44	0,56	532140	1,45	536376	1,62
Tirosina (Tyr)	30,21	0,29	30,66	1,20	633800	1,93	666015	1,20
Valina (Val)	33,89	0,29	33,49	0,77	548000	4,81	595311	4,59
γ-Acido aminobutirrico (Gaba)	35,20	0,08	35,62	1,04	616000	1,57	578743	3,80
Metionina (Met)	37,30	0,18	37,77	1,09	475912	3,13	465935	3,09
Metilammina (Meta)	40,30	0,14	40,38	0,60	535726	1,11	492204	4,75
Triptofano (Trp)	42,72	0,13	42,23	0,77	624415	0,93	609159	2,20
Fenilalanina (Phe)	43,30	0,28	43,15	0,66	544504	0,69	546960	3,57
Isoleucina (Ile)	43,84	0,10	43,94	0,79	495364	0,87	518245	1,42
Leucina (Leu)	44,41	0,09	44,65	0,62	623822	4,11	569245	3,81
Cistina (Cys-Cys)	46,68	0,04	46,90	0,65	609591	3,78	665345	2,45
Tiramina (Tyrrn)	47,60	0,06	47,90	0,00	463756	0,96	483335	1,61
Istidina (His)	50,19	0,07	50,45	0,33	1560379	3,46	1444576	2,91
Cisteina (Cys)	51,08	0,03	51,46	0,45	954643	2,20	948278	1,11
Ornitina (Orn)	55,52	0,05	55,80	0,15	409909	2,78	415530	3,20
Lisina (Lys)	56,69	0,02	56,20	0,39	1193018	4,19	1203240	2,42
Istamina (Hist)	58,97	0,03	59,85	0,24	760335	4,21	797789	4,01
Cadaverina (Cad)	61,69	0,03	61,76	0,24	787584	5,03	795924	3,27
Putrescina (Put)	64,04	0,04	65,44	0,17	422449	1,13	419557	2,05
Spermidina (Spermd)	66,86	0,33	66,99	0,13	354960	3,97	320297	2,82
Spermina (Sperm)	67,36	0,09	67,43	0,12	345855	4,82	318544	3,47

Conclusioni

- L'utilizzo di una colonna monolitica ha consentito la determinazione di 33 composti (amminoacidi e ammine) migliorando la separazione di alcuni composti e riducendo sensibilmente i tempi rispetto ad una colonna classica.
- I limiti di rivelabilità LOD, calcolati impiegando la colonna monolitica, si sono mostrati notevolmente più bassi, per quasi tutti i composti, rispetto alla colonna classica.
- L'applicazione e la validazione del metodo analitico sul vino hanno dato buoni risultati.

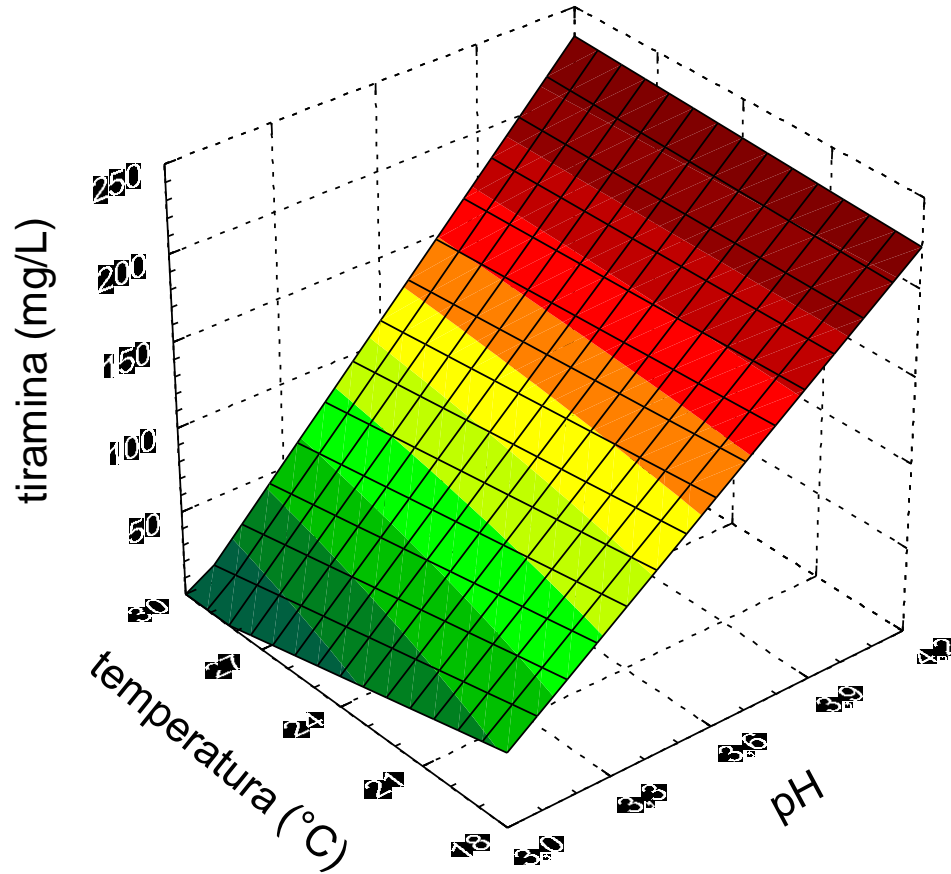
Obiettivi

- ✓ verificare l'attività decarbossilasica di batteri che presiedono alla fermentazione malolattica;
- ✓ valutare l'influenza di etanolo, pH, temperatura, arabinosio, SO₂ e vitamina B6 sulla produzione di ammine biogene;
- ✓ considerare l'influenza dei lieviti sulla produzione (diretta e indiretta) di ammine biogene.

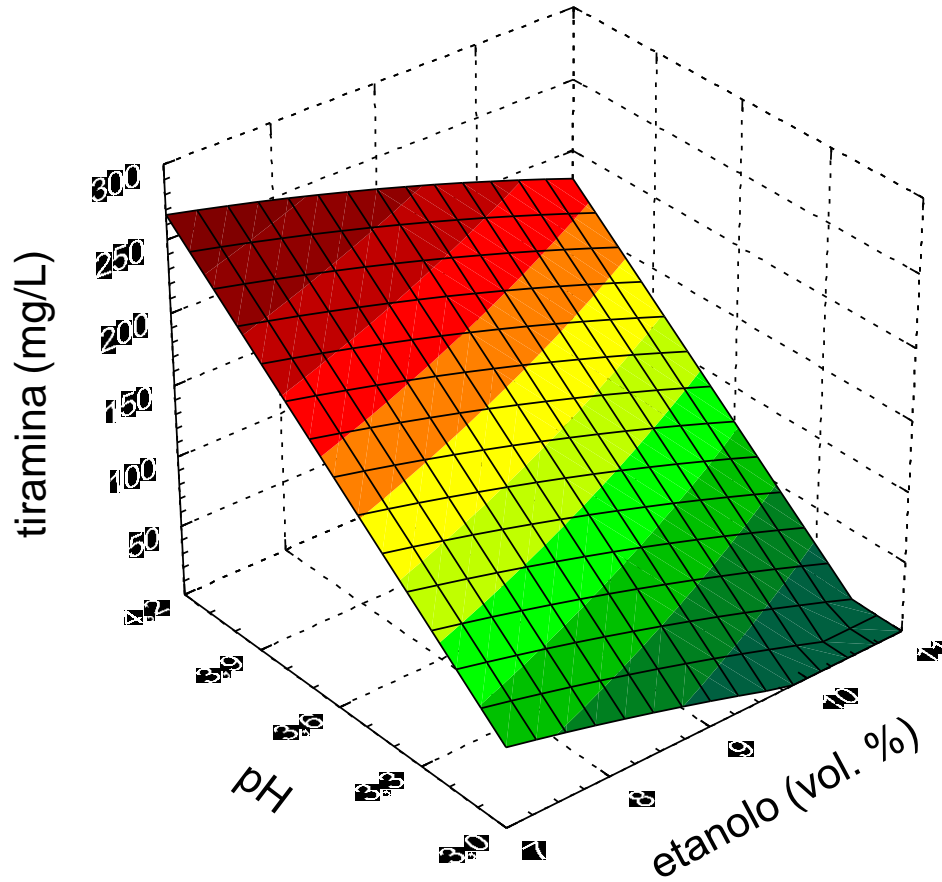
Valutazione attività decarbossilasica

Batteri lattici	Triptofano	Arginina	Istidina	Fenilalanina	Omitina	Tirosina	Lisina	Tal Quale
L.plantarum G123 37	-	+	-	-	+	-	-	-
L.plantarum G249 40	-	-	-	-	-	-	-	-
L.plantarum G84 41	-	-	-	-	-	-	-	-
L.plantarum G246 43	-	-	-	-	-	-	-	-
L.plantarum G86 48	-	+	-	-	-	-	-	-
L.plantarum C 59 49	-	+	-	-	-	-	-	-
L.plantarum G114 52	-	+	-	-	-	-	-	-
L.plantarum C57 66	-	+	-	-	-	-	-	-
L.plantarum E547 77	-	+	-	-	+	-	-	-
L.plantarum C131 62	-	-	-	-	-	-	-	-
L.brevis AM1 73	-	-	-	-	-	-	-	-
L.brevis H12 56	-	+	+	-	+	-	-	-
L.brevis BC2 53	-	+		-	-	-	-	-
Oenococcus oeni T56	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni T1	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni T71	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni T41	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni T11	-	+	-	-	-	-	-	-
Oenococcus oeni S41	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni S1	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni M1	-	+	-	-	-	+	-	-
Oenococcus oeni P11	-	-	-	-	-	-	-	-
Oenococcus oeni EQ54	-	-	-	-	-	-	-	-
Oenococcus oeni Alpha	-	-	-	-	-	-	-	-

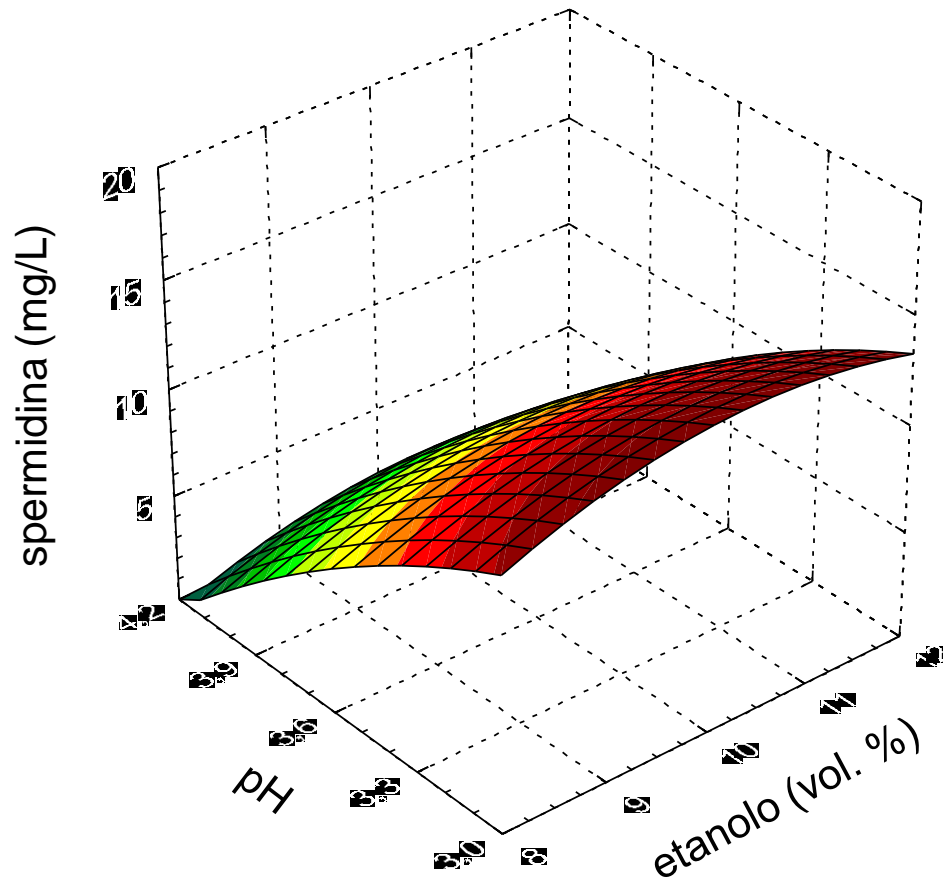
Influenza della composizione dei vini sulla produzione di ammine biogene



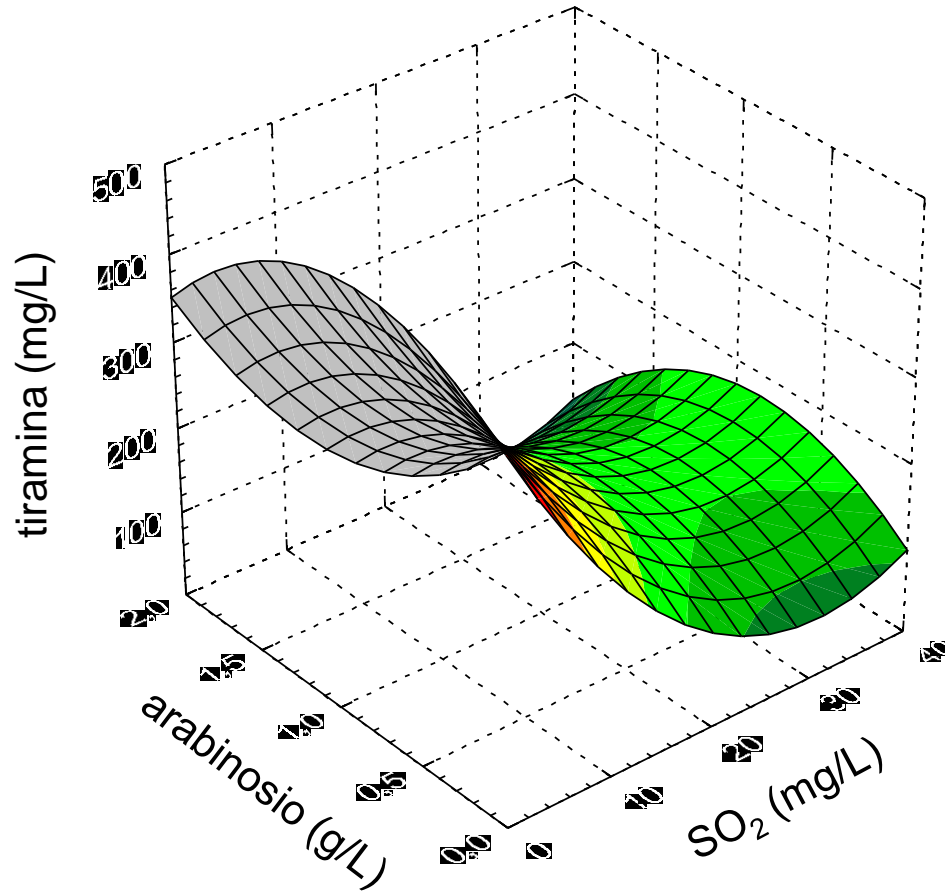
Influenza della composizione dei vini sulla produzione di ammine biogene



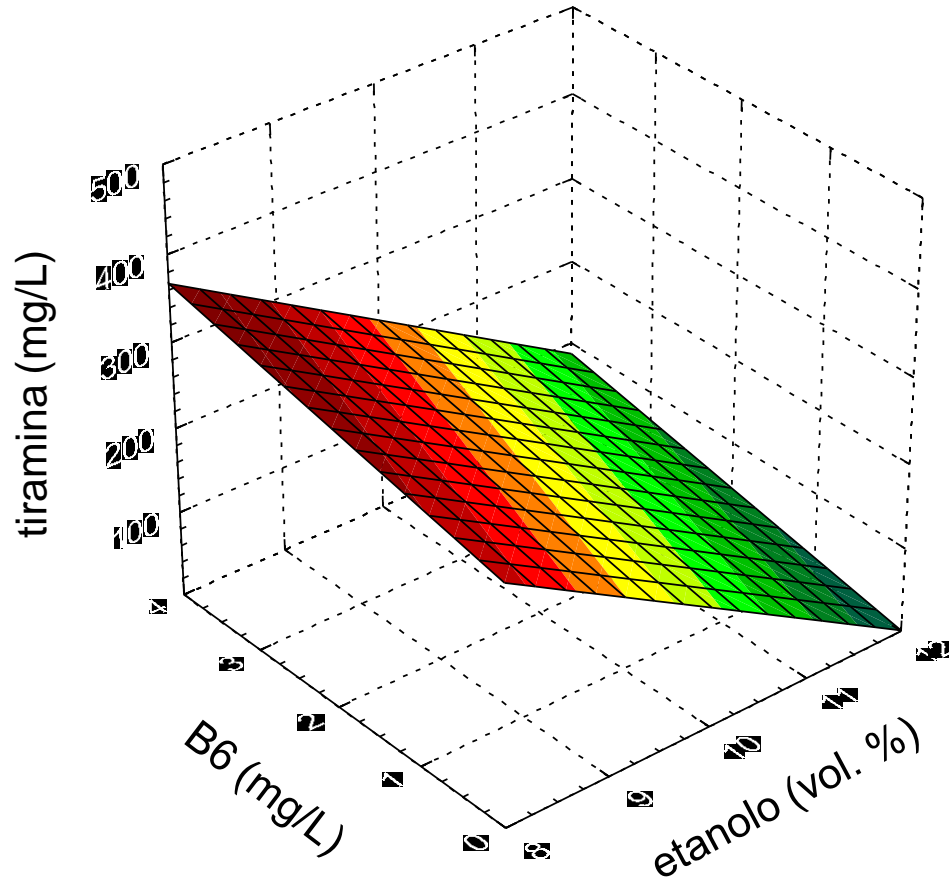
Influenza della composizione dei vini sulla produzione di ammine biogene



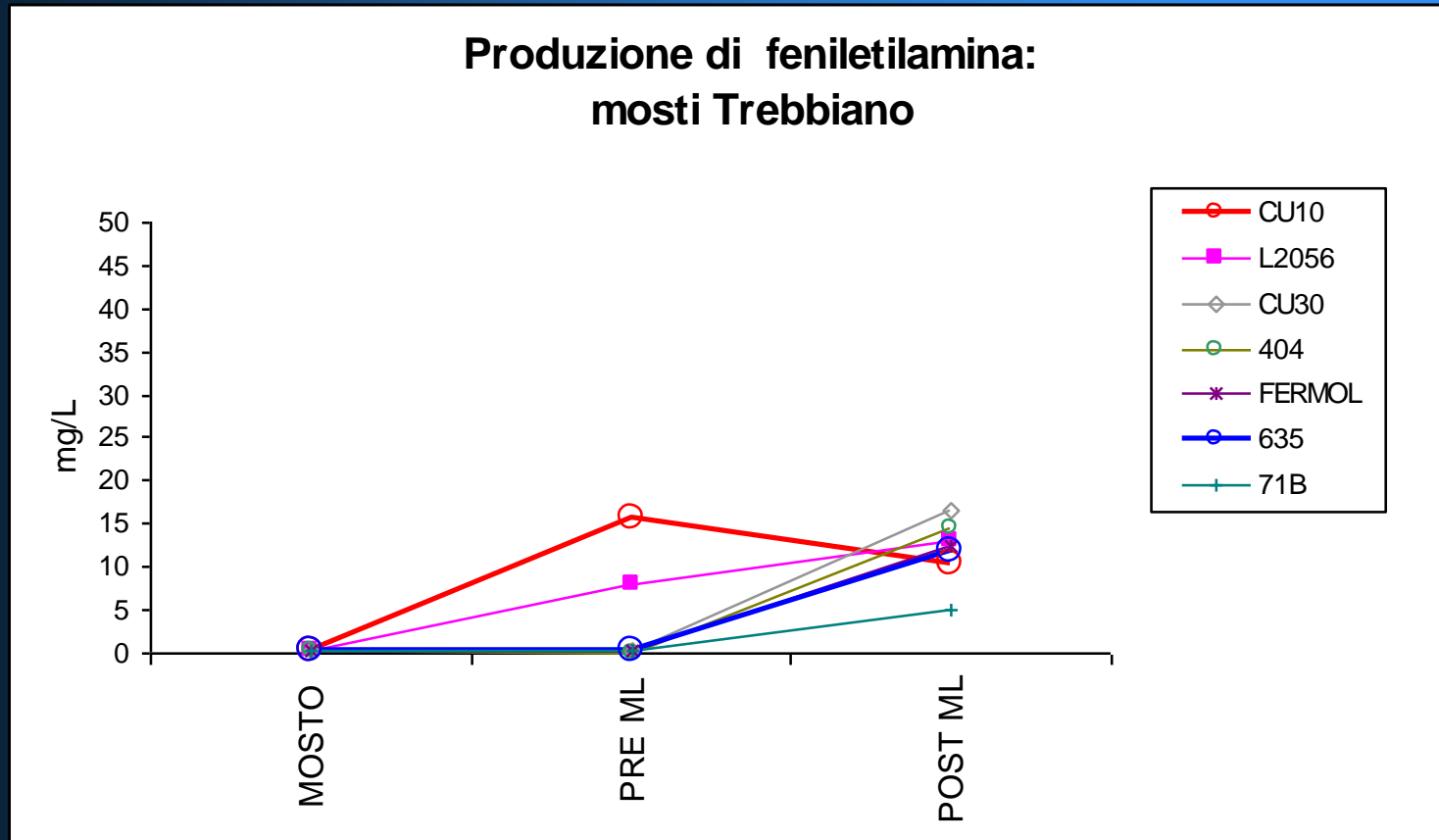
Influenza della composizione dei vini sulla produzione di ammine biogene



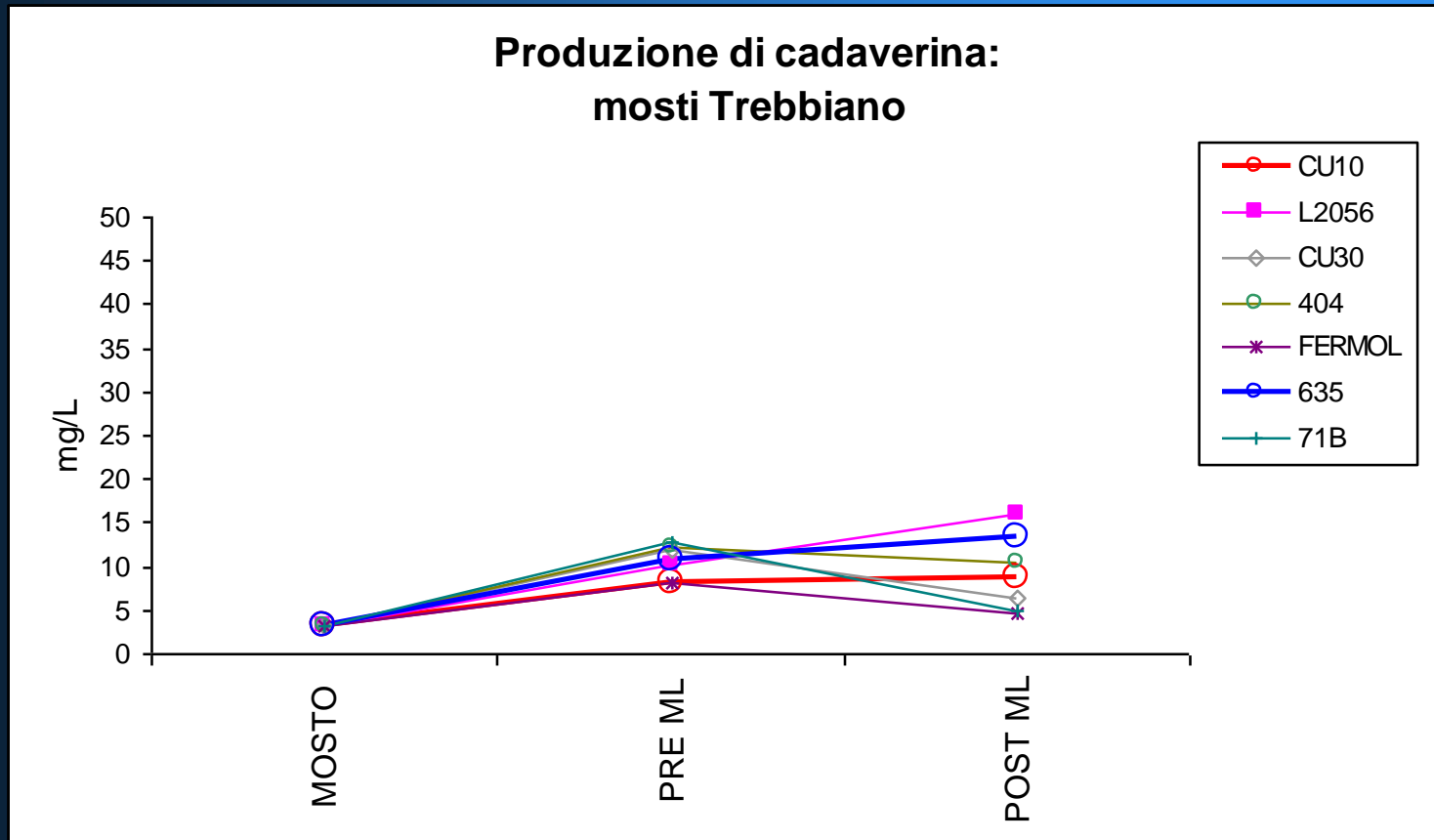
Influenza della composizione dei vini sulla produzione di ammine biogene



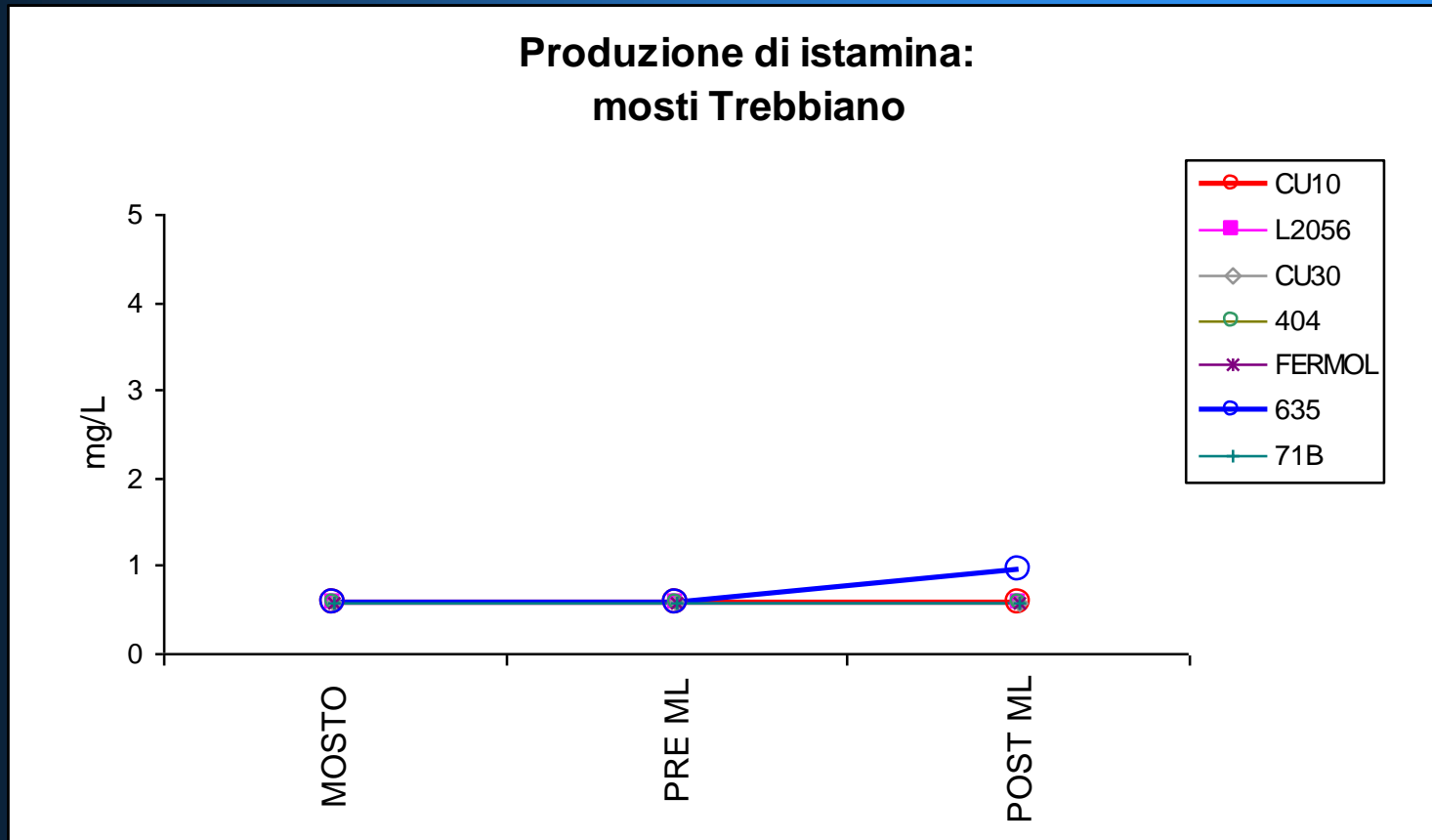
Influenza di lieviti e batteri sulla produzione di ammine biogene



Influenza di lieviti e batteri sulla produzione di ammine biogene



Influenza di lieviti e batteri sulla produzione di ammine biogene



Conclusioni

- a) Alcuni LAB comunemente coinvolti nei processi di conversione malolattica presentano attività decarbossilasica nei confronti di alcuni amminoacidi;
- b) La temperatura ha una influenza limitata sulla produzione di ammine biogene;
- c) Variabili come etanolo e pH che influenzano, in quanto fattori di stress, sia la produzione di biomassa microbica che lo stato fisiologico delle cellule sono caratterizzate da diversi effetti a seconda che si consideri la produzione di tiramina o delle poliammine spermidina e spermina. Infatti, mentre queste ultime costituiscono una risposta cellulare a condizioni stressanti ed aumentano all'aumentare della pressione esercitata da queste variabili, la produzione di tiramina, che è un meccanismo energetico secondario, segue un andamento opposto. Questo è una ulteriore confutazione della produzione di composti come le AB come semplice azione di contrasto alle condizioni eccessivamente acide dell'ambiente;

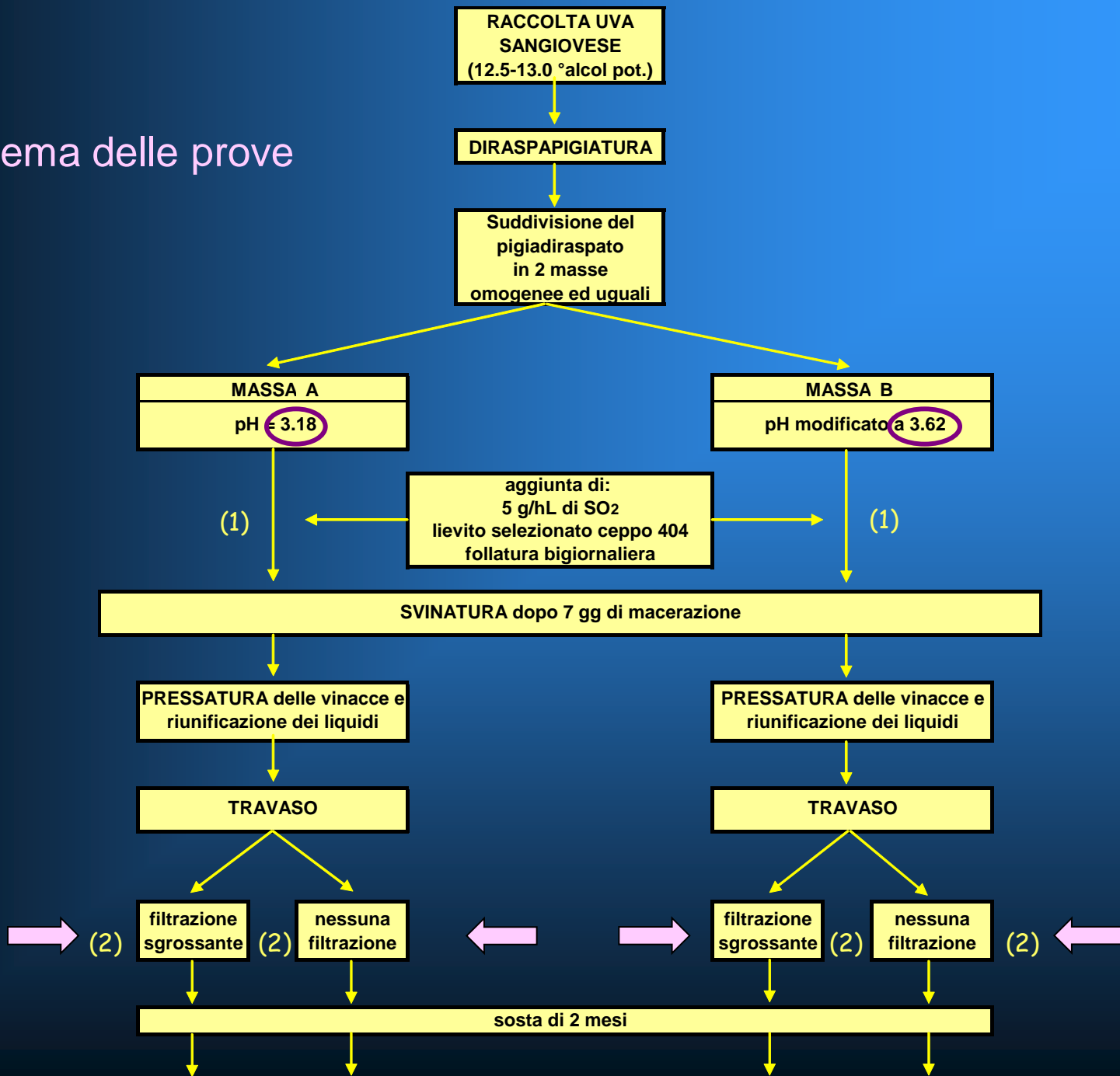
Conclusioni

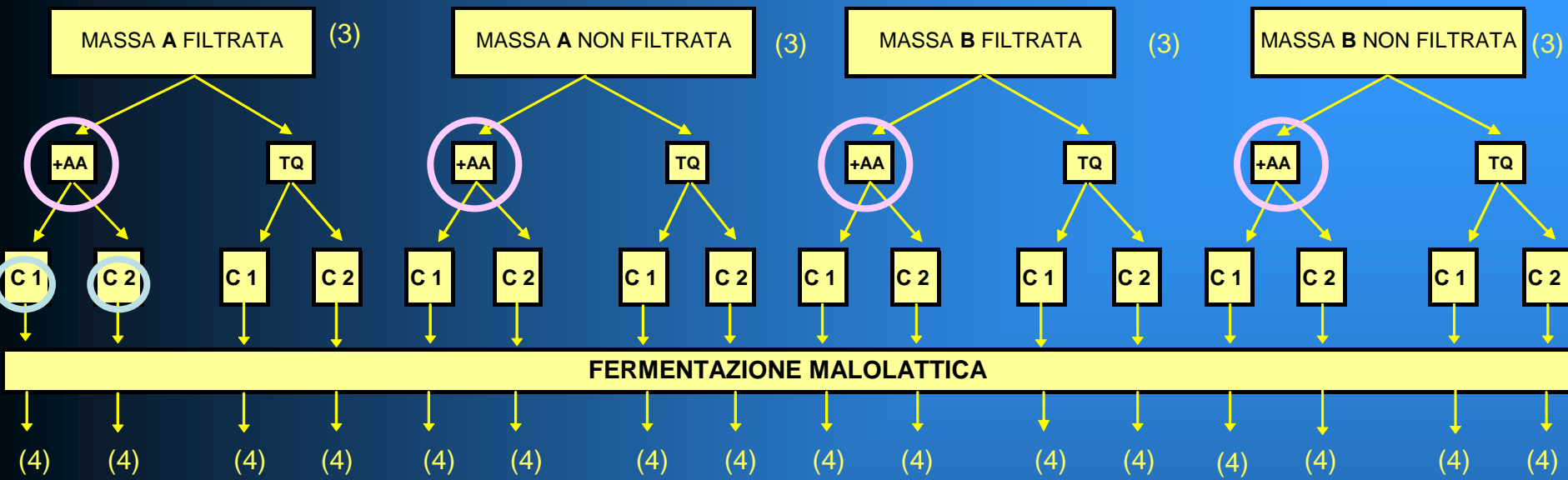
- d) La presenza di zuccheri pentosi, necessaria a supportare le attività metaboliche primarie, influenza il livello di stress delle cellule e quindi la produzione di AB;
- e) La presenza di vitamina B6, in quanto essenziale cofattore degli enzimi decarbossilasici, favorisce sia l'accumulo di tiramina che delle poliammine;
- f) L'influenza della SO_2 è sicuramente più complessa e da approfondire ulteriormente. L'effetto di questa molecola è duplice, influenzando complessivamente l'entità dello sviluppo microbico come pure influenzando, nella sua azione cellulare, sulle singole vie biosintetiche;
- g) La produzione di AB nei prodotti fermentati è un processo estremamente complesso e soggetto a svariati fattori che ne regolano e indirizzano le dinamiche. Il ruolo dei lieviti nella produzione di AB va riconsiderato, soprattutto in rapporto ad alcune specifiche AB (cadaverina, putrescina).

- ✓ Valutare il rischio di produzione di ammine biogene durante il processo di vinificazione;

- ✓ determinare la produzione di ammine biogene in funzione di:
 - **tecnologia (illimpidimento);**
 - **pH;**
 - **substrato amminoacidico;**
 - **ceppo di batteri lattici.**

Schema delle prove





C 1= ceppo 1
C 2= ceppo 2

+ AA = aggiunta di amminoacidi precursori:
Lisina (15 mg/L); Arginina (100 mg/L); Istidina (160 mg/L);
Fenilalanina (15 mg/L); Ornitina (50 mg/L); Tirosina (20 mg/L)

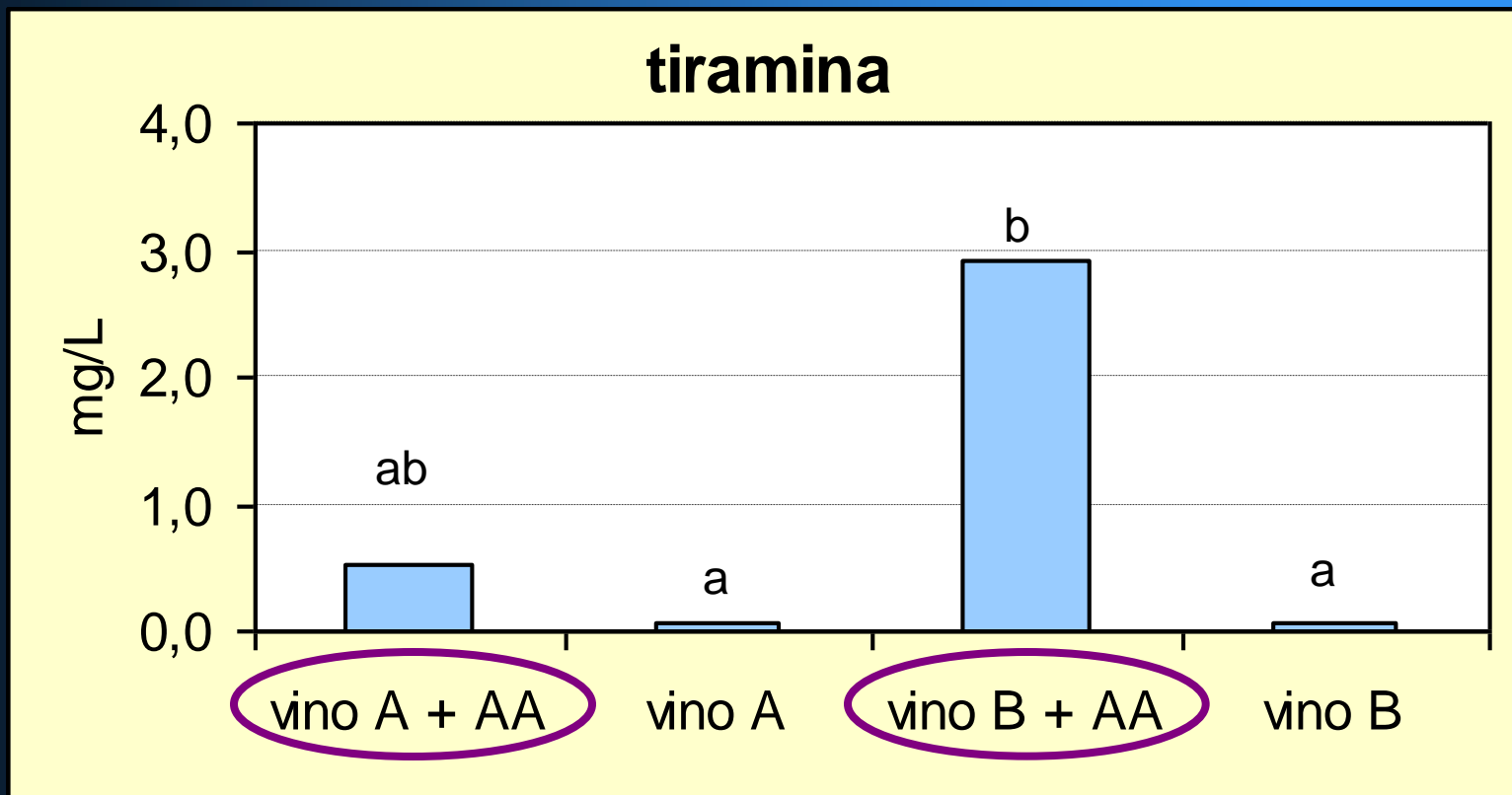
PUNTI DI CAMPIONAMENTO

1. mosto dopo aggiunta dei lieviti starter di fermentazione alcolica e dopo solfitazione
2. vino a fine fermentazione alcolica e dopo filtrazione (ove prevista)
3. vino dopo sosta di due mesi prima della fermentazione malolattica
4. vino dopo fermentazione malolattica

Composizione dei vini al termine della fermentazione alcolica

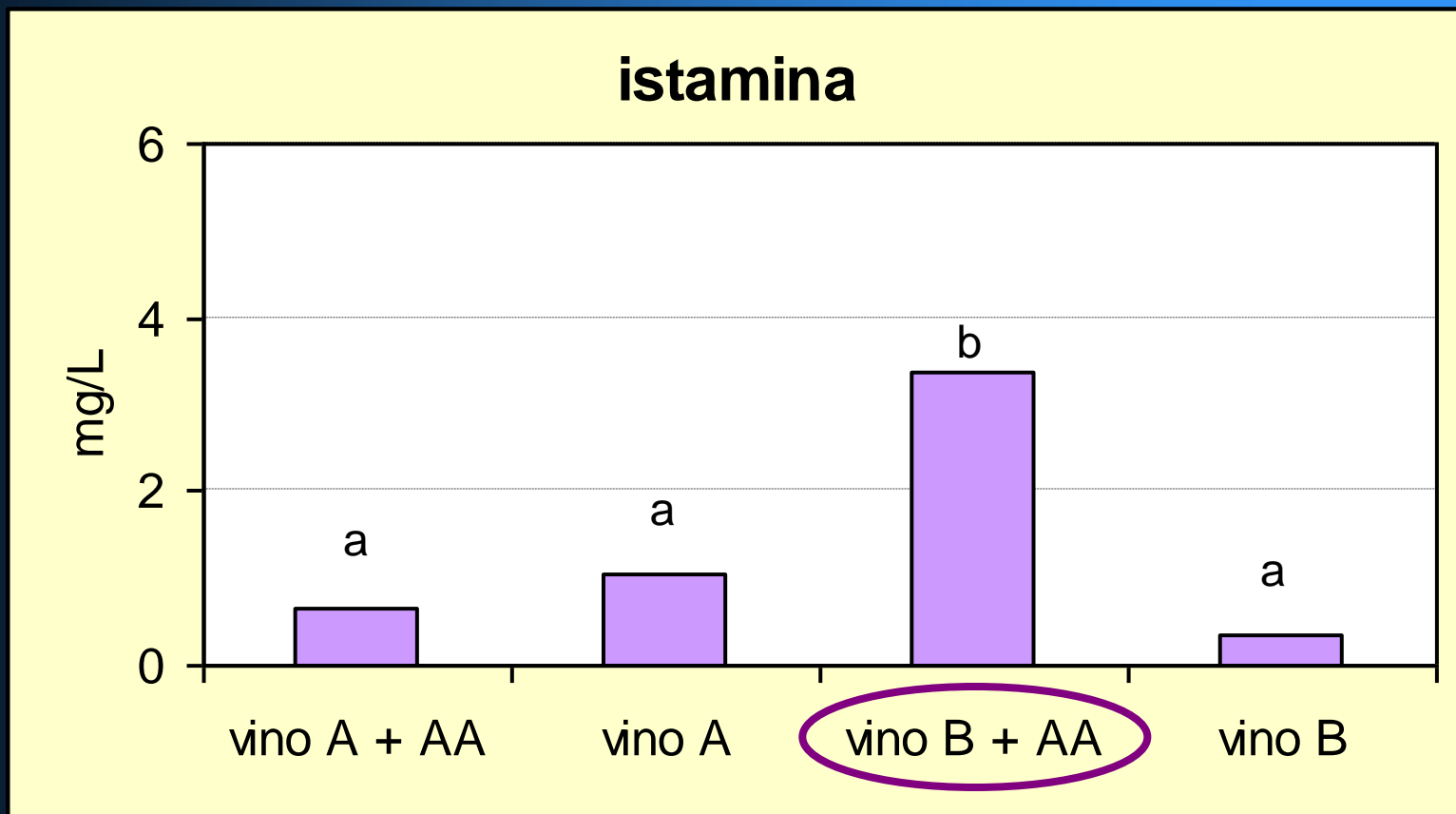
PARAMETRI		vino A NF	vino A F	vino B NF	vino B F
alcol svolto	vol. %	12,86	12,84	12,95	12,92
zuccheri riduttori	g/L	2,28	2,18	2,42	2,36
pH		3,17	3,16	3,48	3,45
acidità totale	g/L	6,98	7,04	6,55	6,59
acido malico	g/L	1,01	0,95	0,98	0,97
acido lattico	g/L	0,12	0,11	0,11	0,11
polifenoli totali	mg/L	1521	1489	1515	1496
antociani totali	mg/L	412	402	396	385
anidride solforosa tot.	mg/L	63	59	55	51
anidride solforosa lib.	mg/L	12,3	11,5	9,5	8,6

Contenuto in ammine biogene nei vini dopo la fermentazione malolattica



Istogrammi non identificati da lettere uguali sono significativamente diversi per $p < 0.05$

Contenuto in ammine biogene nei vini dopo la fermentazione malolattica



Istogrammi non identificati da lettere uguali sono significativamente diversi per $p < 0.05$

PARAMETRI		vino + ceppo 1	vino + ceppo 2
alcol svolto	% vol	12,89 n.s.	12,90 n.s.
zuccheri riduttori	g/L	2,23 n.s.	2,23 n.s.
pH		3,48 n.s.	3,47 n.s.
acidità totale		5,15 n.s.	5,17 n.s.
acido malico	g/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
acido lattico	g/L	1,123 n.s.	1,129 n.s.
anidride solforosa tot.	mg/L	49,25 n.s.	50,25 n.s.
anidride solforosa lib.	mg/L	13,125 n.s.	12,5 n.s.
polifenoli totali	mg/L	1418 n.s.	1442 n.s.
antociani totali	mg/L	374,6 n.s.	377,9 n.s.
intensità		8,683 n.s.	8,871 n.s.
tonalità		0,680 n.s.	0,690 n.s.
2 fenil etil ammina	mg/L	0,764 n.s.	1.041. n.s.
tiramina	mg/L	0,903 n.s.	0,884 n.s.
putrescina	mg/L	19,898 n.s.	17,841 n.s.
cadaverina	mg/L	19,456 n.s.	16,226 n.s.
istamina	mg/L	1,578 n.s.	1,138 n.s.
spermidina	mg/L	1,471 n.s.	1,204 n.s.
spermina	mg/L	0,075 n.s.	0,059 n.s.
glutammina	mg/L	44,674 n.s.	43,754 n.s.
idrossiprolina	mg/L	30,099 n.s.	29,136 n.s.
asparagina	mg/L	10,595 n.s.	9,409 n.s.
arginina	mg/L	54,676 n.s.	55,564 n.s.
ac. aspartico + citrullina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
serina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
acido glutammico	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
glicina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
treonina	mg/L	38,113 n.s.	38,991 n.s.
alanina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
prolina	mg/L	448,21 n.s.	461,70 n.s.
tirosina	mg/L	19,829 n.s.	19,306 n.s.
valina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
gaba	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
metionina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
triptofano	mg/L	11,121 n.s.	8,838 n.s.
fenilalanina	mg/L	15,246 n.s.	16,505 n.s.
isoleucina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
leucina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
cistina	mg/L	0,865 n.s.	0,658 n.s.
istidina	mg/L	75,144 n.s.	70,289 n.s.
cisteina	mg/L	2,746 n.s.	3,035 n.s.
lisina	mg/L	48,41 n.s.	47,80 n.s.
ornitina	mg/L	21,693 n.s.	21,68 n.s.

Composizione dei vini dopo fermentazione malolattica:

INFLUENZA DEL CEPPO

Valori non identificati da lettere uguali sono significativamente diversi per $p < 0,05$

PARAMETRI		vino NON filtrato	vino filtrato
alcol svolto	% vol	12,98 n.s.	12,82 n.s.
zuccheri riduttori	g/L	2,31 n.s.	2,16 n.s.
pH		3,44 n.s.	3,50 n.s.
acidità totale		5,23 n.s.	5,09 n.s.
acido malico	g/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
acido lattico	g/L	1,128 n.s.	1,124 n.s.
anidride solforosa tot.	mg/L	50 n.s.	50 n.s.
anidride solforosa lib.	mg/L	13,6 b	12,0 a
polifenoli totali	mg/L	1439 n.s.	1420 n.s.
antociani totali	mg/L	385 B	368 A
intensità		8,90 n.s.	8,65 n.s.
tonalità		0,687 n.s.	0,683 n.s.
2 fenil etil ammina	mg/L	1,211 n.s.	0,594 n.s.
tiramina	mg/L	0,575 n.s.	1,211 n.s.
putrescina	mg/L	19,24 n.s.	18,50 n.s.
cadaverina	mg/L	16,80 n.s.	18,88 n.s.
istamina	mg/L	1,650 n.s.	1,066 n.s.
spermidina	mg/L	1,612 n.s.	1,064 n.s.
spermina	mg/L	n.d. n.s.	0,084 n.s.
glutammina	mg/L	44,0 n.s.	44,5 n.s.
idrossiprolina	mg/L	29,9 n.s.	29,346 n.s.
asparagina	mg/L	10,73 n.s.	9,28 n.s.
arginina	mg/L	54,9 n.s.	55,3 n.s.
ac. aspartico + citrullina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
serina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
acido glutammico	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
glicina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
treonina	mg/L	38,6 n.s.	38,5 n.s.
alanina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
prolina	mg/L	451 n.s.	459 n.s.
tirosina	mg/L	20,99 n.s.	18,15 n.s.
valina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
gaba	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
metionina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
triptofano	mg/L	10,18 n.s.	9,778 n.s.
fenilalanina	mg/L	16,24 n.s.	15,52 n.s.
isoleucina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
leucina	mg/L	n.d. n.s.	n.d. n.s.
cistina	mg/L	0,810 n.s.	0,713 n.s.
istidina	mg/L	72 n.s.	73 n.s.
cisteina	mg/L	2,79 n.s.	2,99 n.s.
lisina	mg/L	49 n.s.	47 n.s.
ornitina	mg/L	21,8 n.s.	21,5 n.s.

Composizione dei vini dopo fermentazione malolattica:

INFLUENZA DELLA TECNOLOGIA

Valori non identificati da lettere uguali sono significativamente diversi per $p < 0,01$ (maiuscole) o $p < 0,05$ (minuscole)

CONCLUSIONI

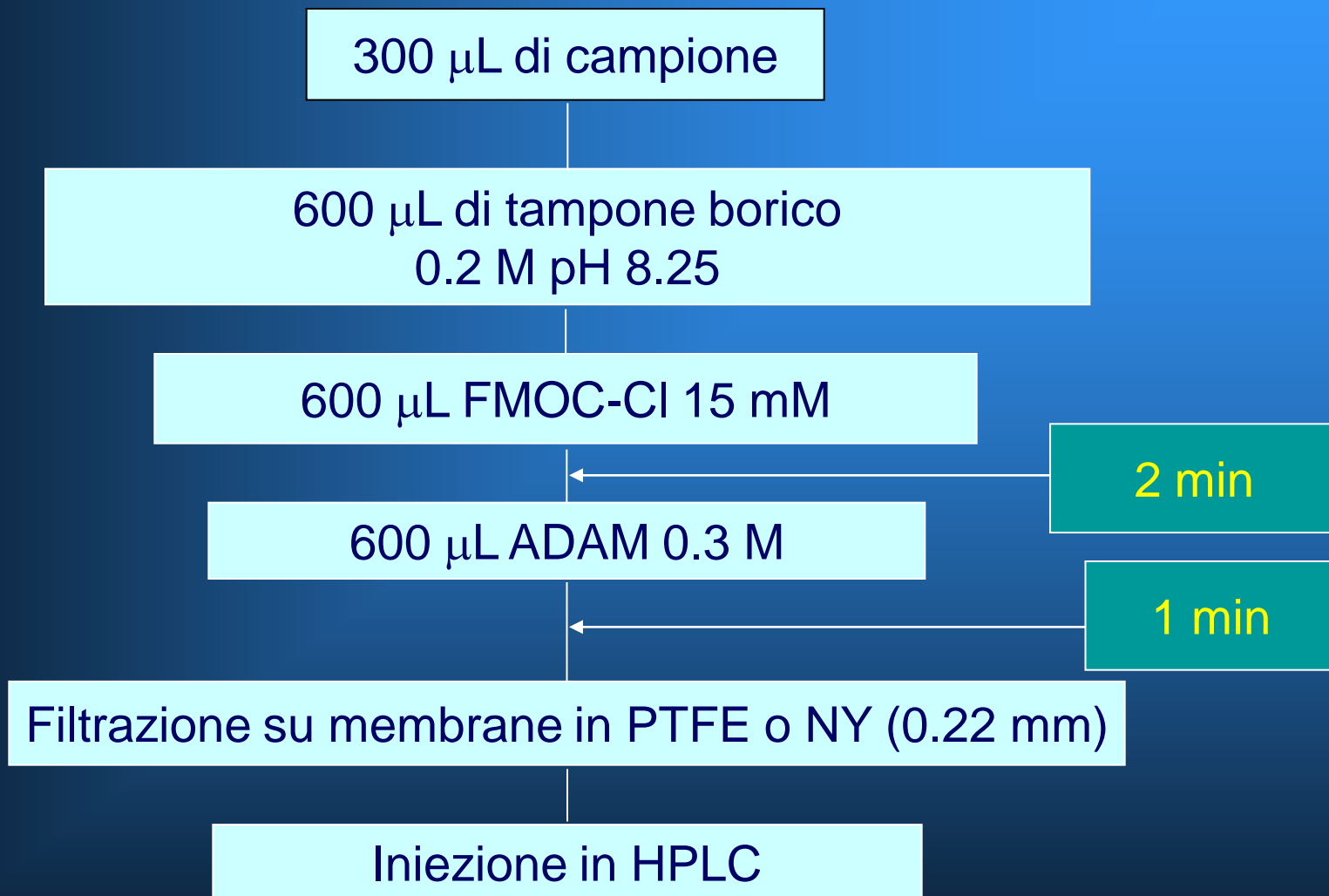
- ✓ La filtrazione non influisce in modo significativo né sulla concentrazione di amminoacidi nel mezzo, né sulla produzione di ammine biogene;
- ✓ il tipo di ceppo di batteri lattici non ha influenzato significativamente la produzione di ammine biogene;
- ✓ in molti casi il substrato amminoacidico influisce in modo statisticamente significativo sulla produzione di ammine biogene, quindi è consigliato l'impiego di tecniche enologiche che consentano una presenza limitata di amminoacidi;

- ✓ valori di $\text{pH} \geq 3,5$ influiscono molto sulla produzione di ammine biogene;
- ✓ è fondamentale considerare la capacità decarbossilasica nei criteri di selezione delle colture starter per la fermentazione malolattica.

**Un sentito ringraziamento al dott. Marco Simoni
di ASTRA per la fattiva collaborazione nella
realizzazione del piano sperimentale**

Dozza, 20 giugno 2009

Procedura di derivatizzazione



Gradiente di eluizione con colonna monolitica

<i>Tempo (min.)</i>	<i>% eluente A</i>	<i>% eluente B</i>
0	82	18
1	82	18
38	64	36
50	48	52
62	30	70
68	0	100
72	0	100
75	82	18