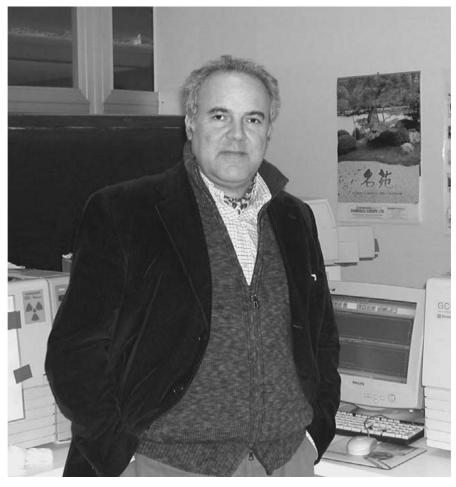
DOCUMENTO TECNICO



Giacomo Dugo G. Loredana La Torre Teresa Pellicanò Maurizio Croce Antonio Scerra

Dipartimento di Chimica Organica e Biologica, Università di Messina - Messina

G. Dugo

### TECNICHE COLTURALI E DI ALLEVAMENTO E CONTENUTO DI AMMINE BIOGENE IN MOSTI E VINI

È stato determinato, per HPLC/DAD, il contenuto di nove ammine biogene in campioni di mosto e vino rosso siciliani provenienti da cinque diverse varietà di uve allevate con cinque tecniche colturali diverse. I risultati hanno reso evidente che il contenuto di ammine biogene può variare in relazione alle tecniche colturali e alla varietà dei vitigni.

#### **Introduzione**

Chimicamente le ammine biogene, sono composti basici dell'azoto in cui due o tre atomi d'idrogeno dell'ammoniaca sono sostituiti da gruppi alchilici, aromatici ed eterociclici. Si formano dalla norma1e attività metabolica degli animali, delle piante e dei microrganismi, originandosi dai corrispondenti amminoacidi precursori in seguito a processi di decarbossilazione enzimatica (1-3) e possono raggiungere concen-

trazioni elevate in alimenti a matrice proteica che vanno incontro a lunghi periodi di stoccaggio e/o processi fermentativi (insaccati, prodotti ittici, formaggi, bevande fermentate).

Le ammine biogene appartengono ad una classe di composti con struttura molto eterogenea e comportamenti chimico-fisici diversi. Le principali ammine biogene che si ritrovano negli alimenti sono: tiramina, istamina, putrescina, cadaverina, triptamina, 2-feniletilammina, spermina e spermidina, sintetizzate per decarbossilazione rispettivamente dagli amminoacidi: tirosina, istidina, ornitina, lisina, triptofano, fenilalanina ed agmatina. Oltre alle principali qui citate, esistono altre ammine biogene, alcune delle quali hanno struttura chimica non definita.

Dal punto di vista igienico tale classe di composti è considerata fattore antinutrizionale poiché implicata in numerosi episodi di intossicazioni alimentari.











Tab. 1 - Test di recupero (media + ds) e limite di rivelabilità (mg/ml)

Ammina	Recupero (%)*	Limite di rivelabilità (µg/ml)#
triptamina	85.8 + 1.7	0.02
2-feniletilammina	98.6 + 2.6	0.01
1,4-diamminobutano (putrescina)	86.3 + 1.8	0.02
1,5-diamminopentano (cadaverina)	95.2 + 2.6	0.01
istamina	96.7 + 2.4	0.01
1,7-diamminoeptano	92.3 + 2.2	0.01
tiramina	85.1 + 1.4	0.01
spermidina	87.5 + 1.8	0.01
spermina	88.3 + 1.5	0.02

<sup>\*</sup> Media di tre determinazioni; #: tre volte il rumore di fondo.

Tab. 2 - Campioni sottoposti ad analisi

	Tecniche	colturali	Tecni	iche di alleva	mento
Varietà di uve	DRD	LED	CRT	CSP	ALB
Nero d'Avola			X	X	X
Cabernet Sauvignon			X	X	X
Merlot			X	X	X
Petit Verdot	X	X			
Cabernet Francese	X	X			

In basse concentrazioni, tali composti risu1tano essenziali per molte funzioni fisiologiche e presentano diversi effetti farmacologici, mentre a concentrazioni superiori causano effetti deleteri per la salute umana (4-6). Nell'uomo l'intossicazione da ammine biogene può causare nausea, mal di testa, ipertensione, palpitazioni cardiache, emorragie e, in taluni casi, morte (5). La loro tossicità è dovuta al fatto che, essendo sostanze vasoattive e psicoattive, sono in grado di esplicare la loro azione sul sistema nervoso centrale agendo sui neurotrasmettitori (6). Inoltre, è stato dimostrato che. cadaverina, spermidina, e spermina presentano cancerogenicità perché capaci di reagire con i nitriti per formare le nitrosoammine (7-10).

Nella Vitis vinifera le ammine biogene si sintetizzano in diverse parti della pianta, inclusi acini e foglie e sembrano comportarsi come regolatori della crescita allo stesso modo che negli organismi superiori (11). Nel vino la presenza di diversi amminoacidi che possono essere

decarbossilati, favorisce la formazione di diverse ammine quali istamina, tiramina, putrescina, cadaverina. Questa, in particolare nel vino rosso, è correlata sia alla fermentazione malolattica sia all'azione dei lieviti responsabili della fermentazione alcolica (12). Istamina, tiramina e putrescina sono le ammine biogene che si riscontrano in maggiore quantità nei vini; la loro concentrazione è bassa dopo la fermentazione alcolica ed aumenta in alcuni vini, durante la fermentazione malolattica. Le altre ammine sono presenti nel mosto e degradate durante la vinificazione (13).

Recenti studi hanno dimostrato che l'interazione tra 1'etanolo (un inibitore dell'ammina ossidasi) e le ammine sembra essere sinergica: questo può risultare pericoloso per i consumatori di vino che sono sensibili a tali composti (14). Inoltre, la presenza di ammine biogene nel vino può essere correlata con la cultivar, la regione di provenienza e le tecniche enologiche.

La difficoltà nell'identifi-

cazione e dosaggio delle ammine biogene, indipendentemente dalla natura del campione, ha origine da due particolari motivi: la loro forte polarità che non facilita 1'isolamento dalle matrici soprattutto acquose e il doverle derivare per dosarle con metodi spettoscopici o fiuorimetrici. I metodi analitici utilizzati per la loro determinazione nel vino prevedono 1'utilizzo di tecniche cromatografiche ad alta risoluzione come HPLC/RP (15-24), seguite da derivatizzazioni preo post- colonna utilizzando generalmente come agente derivatizzante la OPA (o-phtalaldeide) e/o il dansil cloruro, e la GC-MS (25). In questo lavoro sono state ottimizzate le condizioni di estrazione, purificazione e derivatizzazione delle ammine biogene in campioni di vino, analizzandone i dansil derivati e effettuandone il dosaggio mediante analisi HPLC in fase inversa.

Considerando che la moderna viticoltura persegue la qualità a partire dalla forma d'allevamento e dalla densità d'impianto, e che la possibilità di realizzare produzioni di qualità nell'ambito di un vigneto è subordinata all'ottenimento e mantenimento di condizioni ottimali di equilibrio vegeto-produttivo della pianta, il metodo è stato applicato su campioni di mosti e vini, prodotti in Sicilia a partire da ceppi di vite cresciuti con forme colturali e di allevamento diverse.

# Parte sperimentale

Reagenti e solventi. Il dansil cloruro e gli standard delle ammine, in forma di sali idro- e diidro- cloridrici [1,5-diamminopentano (DAP), 1,4-diamminobutano (DAB), istamina (IST), tiramina (TRIP), 2-feniletilammina (FEA), 1,7-diaminoeptano (DAE) e la spermina (SPM), spermidina (SPD)], sono stati acquistati dal commercio.

Sono stati utilizzati acetonitrile ed acqua puri per











Tab. 3 - Variazione della concentrazione di ammine biogene (mg/l) in mosti e vino da uve di cv. Nero d'Avola allevate ALB, CSP, CRT

ALB ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,10	0,11	0,05	1,04	0,00	0,00	0,00	0,00
6° giorno	0,03	0,10	0,11	0,03	1,77	0,00	0,00	0,00	0,00
_								*	
svinatura	0,04	0,38	0,34	0,62	2,98	0,08	0,03	0,00	0,00
sfecciatura	0,02	0,30	0,27	0,53	2,66	0,11	0,02	0,00	0,00
vino	0,09	0,24	0,22	0,49	2,52	0,16	0,01	0,00	0,00
CSP									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,07	0,02	0,03	0,92	0,01	0,02	0,00	0,00
6° giorno	0,02	0,10	0,11	0,07	1,48	0,02	0,03	0,00	0,00
svinatura	0,03	0,25	0,27	0,15	2,22	0,04	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,02	0,19	0,13	0,05	1,99	0,10	0,03	0,00	0,00
vino	0,03	0,16	0,10	0,01	1,84	0,11	0,01	0,00	0,02
CRT									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,05	0,02	0,09	1,39	0,03	0,02	0,00	0,00
6° giorno	0,03	0,08	0,12	0,17	1,68	0,07	0,03	0,00	0,00
svinatura	0,07	0,10	0,29	0,25	2,68	0,10	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,06	0,04	0,11	0,16	2,03	0,11	0,02	0,00	0,00
vino	0,07	0,02	0,09	0,13	1,83	0,16	0,01	0,00	0,00

HPLC, entrambi forniti dalla Carlo Erba.

Preparazione delle soluzioni standard di ammine biogene. Per ciascuna ammina biogena considerata sono state preparate soluzioni standard alla concentrazione di 10 mg/mL in HC1 0.1 M. Queste sono state conservate alla temperatura di 4° C sino al loro utilizzo.

Le rette di calibrazione per ciascun'ammina sono state ottenute preparando soluzioni di standard, a diverse concentrazioni, per diluizione della soluzione madre.

La miscela degli standard è stata ottenuta aggiungendo 0.1 mL di ciascuna delle precedenti soluzioni, in 10 mL di una soluzione di HCl 0.1 M. Anche questa soluzione è stata conservata nelle stesse condizioni.

La soluzione di cloruro di dansile (10 mg/mL), preparata sciogliendo 100 mg in 10 mL di acetone, è stata conservata a -4 °C sino ad utilizzo.

Per effettuare la reazione

di derivatizzazione delle ammine (formazione dei dansil derivati) è stata utilizzata una soluzione di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (40 g/L).

Reazione di derivatizzazione. La rezione di derivatizzazione è' stata effettuata tre volte per ogni singola soluzione di ammine standard considerata. Essa è stata eseguita aggiungendo, ad 1 ml di ogni soluzione standard, 3 ml di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ed 1,0 ml di cloruro di dansile. La miscela ottenuta è stata mantenuta a temperatura costante di 50 °C per un'ora, in un bagno termostatato al buio. Successivamente, i dansil derivati sono stati estratti con tre aliquote da 1 ml ciascuna di acetato di etile. Le fasi organiche sono state riunite e concentrate sotto flusso di gas inerte (N2). Il residuo finale è stato riportato ad 1 ml con acetonitrile e, prima dell'analisi all'HPLC, si è effettuata la filtrazione attraverso filtri in PTFE con pori da 0.45 µm.

Anche per i campioni di

vino la dansilazione è stata condotta come per le soluzioni standard utilizzando un'aliquota di 1.0 mL di campione di vino.

Analisi HPLC. La determinazione dei dansil derivati delle ammine biogene è stata effettuata utilizzando un cromatografo liquido HPLC composto da due pompe LC-10AD-Vp, un controller system SCL-10A-Vp, un iniettore con loop di 20 pL, un rivelatore DAD SPD-M10A-Vp. È stata utilizzata una colonna C-18 ODS Hypersil 250 x 4.6 mm, con dimensione delle particelle di 5 µm, avente una precolonna dello stesso materiale. La fase mobile era composta da acqua (solvente A) ed acetonitnle (solvente B) e per la separazione si è utilizzato il seguente gradiente: 0.01-6.00 min, 35-65 % B; 6.00-10.00 min, 65-80 % B; 10-15 min, 80-90 % B; 15-20 min, 90-35 % B. Per ottenere la separazione, è stato utilizzato un flusso di 0.8 mL/min e le analisi sono state condotte a











Tab. 4 - Variazione della concentrazione di ammine biogene (mg/l) in mosti e vino da uve di cv. Merlot allevate ALB, CSP, CRT

ALB ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,02	0,88	0,12	0,02	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00
6° giorno	0,03	1,17	0,33	0,16	0,12	0,04	0,03	0,00	0,00
svinatura	0,11	2,25	0,83	0,29	0,19	0,06	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,06	1,10	0,29	0,20	0,13	0,16	0,03	0,00	0,00
vino	0,10	1,04	0,28	0,21	0,11	0,19	0,02	0,00	0,00
CSP									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,02	1,52	0,02	0,02	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
6° giorno	0,04	2,14	0,07	0,12	0,12	0,01	0,04	0,00	0,00
svinatura	0,17	2,75	0,10	0,21	0,15	0,03	0,05	0,00	0,00
sfecciatura	0,08	2,31	0,06	0,19	0,12	0,07	0,03	0,00	0,00
vino	0,10	2,03	0,02	0,22	0,11	0,10	0,02	0,00	0,00
CRT									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,02	1,43	0,08	0,09	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00
6° giorno	0,11	2,16	0,36	0,26	0,04	0,15	0,03	0,00	0,00
svinatura	0,18	3,04	0,40	0,31	0,13	0,21	0,05	0,00	0,00
sfecciatura	0,08	2,12	0,31	0,23	0,10	0,38	0,03	0,00	0,00
vino	0,10	1,48	0,29	0,29	0,08	0,57	0,01	0,00	0,00

24°C. E' stata utilizzata la lunghezza d'onda del rivelatore di 254 nm. I singoli composti sono stati identificati confrontando i tempi di ritenzione e gli spettri UV-Vis di ogni picco con il corrispondente standard. L'analisi quantitativa è stata effettuata con il metodo dello standard esterno dopo la costruzione delle rette di taratura dei singoli standard. I risultati sono espressi come medie di tre determinazioni.

#### Caratteristiche del meto-

do. La linearità è stata calcolata analizzando soluzioni di standard a diverse concentrazioni. Si sono effettuate curve di calibrazione con un buon coefficiente di correlazione per tutti i composti (R2>0.99).

La sensibilità (limite di rivelabilità) del metodo analitico è stata calcolata con un rapporto segnale/rumore pari a tre.

Il recupero delle ammine biogene è stato calcolato su campioni di vino fortificati con diverse quantità note di ammine.

Sia i campioni fortificati che quelli non fortificati sono stati sottoposti a triplice analisi. Si sono ottenuti recuperi che variano da 85.0 a 98.6 %. I risultati sono riportati in Tab 1

La riproducibilità della procedura è stata determinata su tre diversi campioni di vino ed eseguendo su ciascuno di essi l'analisi tre volte.

**Campioni.** Come riportato in Tab. 2, sono stati analizzati complessivamente 5 tipologie di campioni, distinti per varietà di uve. Queste sono state allevate, per tre cultivar (Nero d'Avola, Merlot e Cabernet Sauvignon), con la tecnica dell'alberello (ALB), della cortina (CRT) e della controspalliera (CSP) mentre per gli altre due vitigni (Cabernet Francese e Petit Verdot) si è adottata la tecnica colturale del diradamento (DRD) e del non diradamento (LED).

La campionatura è stata ef-

fettuata prelevando campioni di mosto al 2° ed al 6° giorno di macerazione, dopo la svinatura e dopo la sfecciatura. A distanza di otto mesi dall'imbottigliamento è stato analizzato il vino ottenuto dal corrispondente mosto.

Una volta campionati, i mosti sono stati conservati alla temperatura di -20° C fino al momento dell'analisi.

Vinificazione. All'uva appena pigiata e diraspata sono stati aggiunti 5 g/hl di SO<sub>2</sub> e lieviti ed attivanti di fermentazione. Sono state eseguite 3 follature giornaliere per i primi due giorni e tre rimontaggi giornalieri con pompa fino al momento della svinatura. Giornalmente, sono stati effettuati i controlli dei parametri chimici ed enologici di fermentazione (alcool, acidità volatile, acidità totale, pH, SO<sub>2</sub> totale e acido malico). Una volta effettuata la sfecciatura, a fermentazione malolattica avvenuta, i vini ottenuti sono stati imbottigliati previa aggiunta di 3 g/hl di SO<sub>2</sub>.

### Risultati e discussione

Il riconoscimento qualitativo delle ammine biogene nei campioni di mosto e di vino, oggetto del presente studio, è stato basato sul tempo di ritenzione relativo dei singoli standards preventivamente dansilati e sulle informazioni fornite dal corrispondente spettro UV-Vis.

I profili cromatografici riportati nelle Fig. 1 e 2 evidenziano come sia le condizioni di eluizione a gradiente che di dansilazione permettano una buona separazione e quantificazione delle ammine biogene considerate.

L'analisi quantitativa è stata effettuata usando una retta di calibrazione preparava iniettando soluzioni di ciascuno standard a concentrazioni diverse. Ciascuna analisi è stata ripetuta tre volte, ed il risultato è il valore medio. Il coefficiente di variazione (CV%) delle tre analisi è risultato minore del 5%.











Tab. 5 - Variazione della concentrazione di ammine biogene (mg/l) in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Sauvignon allevate ALB, CSP, CRT

ALB									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,02	0,05	0,10	1,08	0,05	0,00	0,00	0,00
6° giorno	0,05	0,12	0,22	0,18	1,84	0,09	0,01	0,00	0,00
svinatura	0,07	0,29	0,40	0,14	1,95	0,10	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,06	0,11	0,35	0,11	1,73	0,10	0,03	0,00	0,00
vino	0,08	0,03	0,28	0,06	1,24	0,26	0,01	0,00	0,00
CSP									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,03	0,07	0,21	1,07	0,05	0,02	0,00	0,00
6° giorno	0,02	0,13	0,24	0,32	1,45	0,06	0,04	0,00	0,00
svinatura	0,08	0,23	0,28	0,25	1,58	0,08	0,05	0,00	0,00
sfecciatura	0,06	0,14	0,24	0,23	1,32	0,11	0,03	0,00	0,00
vino	0,14	0,03	0,12	0,06	0,93	0,39	0,01	0,00	0,00
CRT									
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,04	0,16	0,25	1,91	0,04	0,00	0,00	0,00
6° giorno	0,02	0,10	0,26	0,44	2,32	0,12	0,02	0,00	0,00
svinatura	0,04	0,15	0,53	0,15	2,68	0,26	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,02	0,08	0,51	0,04	2,13	0,34	0,02	0,00	0,00
vino	0,03	0,03	0,22	0,03	2,01	0,55	0,01	0,00	0,00

Nelle Tabelle 3-7 è riportato il contenuto medio di ammine biogene nei campioni di mosti e nei vini analizzati; questi sono stati raggruppati e distinti sia per tipologia del vitigno che per tecnica colturale.

#### Nero d'Avola

Le viti da cv. Nero d'Avola sono state allevate utilizzando tre diverse tecniche: alberello (ALB), controspalliera (CSP) e cortina (CRT).

Le Tab. 3 (a-c) e le Fig. 3-5 mostrano che il profilo relativo al contenuto della triptamina è simile per i tre lotti di campioni allevati con tecnica ALB, CSP e CRT: è dosabile solo al 6° giorno e cresce fino alla svinatura, decresce appena con la sfecciatura per poi continuare a crescere. Per il campione di vino ottenuto da uve allevate con la tecnica ALB si raggiungono concentrazioni superiori (0.09 mg/L); diversamente,

nel campione di vino ottenuto da uve allevate con la tecnica CSP, la triptamina presenta il contenuto minore (0.03 mg/L).

La 2-feniletilammina è già dosabile al 2° giorno, cresce sino alla svinatura e successivamente decresce. Dal confronto tra i dati relativi ai tre lotti di campioni, sembra che concentrazione quest'ammina subisca variazioni a seguito delle tecniche di allevamento adottate. Infatti, nei campioni provenienti da uve allevate con tecnica ALB, la 2-feniletilammina è sempre presente a concentrazioni superiori e raggiunge nel vino il valore di 0.24 mg/L; diversamente, i campioni ottenuti da uve allevate CRT presentano concentrazioni sempre minori e nel vino l'ammina è dosata per valori di poco superiori al limite di rivelabilità (0.02 mg/L).

Dall'analisi delle curve riportate in Fig. 3-5 emerge che il profilo relativo al contenuto di 1,4-diamminobutano, per i tre campioni, è cre-

scente fino alla svinatura indi, con la sfecciatura, si assiste ad una progressiva diminuzione del contenuto dell'ammina. In particolare, per i campioni ottenuti da viti allevate con il metodo CSP e CRT, tale ammina è presente inizialmente (2° giorno) a concentrazioni molto basse (0.02 mg/L), quindi la sua concentrazione subisce un aumento repentino fino alla svinatura (0.27 e 0.29 mg/L rispettivamente) e raggiunge valori confrontabili nel vino (0.10 e 0.09 mg/L rispettivamente). Per i campioni ottenuti da uve allevate con la tecnica ALB la stessa ammina presenta inizialmente concentrazioni più elevate (0.11 mgL al 2° giorno), alla svinatura raggiunge il contenuto massimo (0.34 mg/L) per poi decrescere a 0.22 mg/L nel vino che quindi presenta una concentrazione superiore rispetto ai vini prodotti da uve allevate con tecnica CSP e CRT.

Come mostrato in Fig. 3-5, l'andamento relativo alla va-

riazione del contenuto in 1,5diamminopentano, durante la maturazione del mosto a vino, evidenzia, ancora una volta, che la concentrazione aumenta fino alla svinatura, e che successivamente l'ammina viene degradata. Tale ammina raggiunge un livello maggiore per il campione di vino ottenuto da vitigni allevati con tecnica ALB (0.49 mg/L) mentre risulta appena apprezzabile per il campione di vino ottenuto da uve allevate CSP (0.01 mg/L).

Il profilo relativo al contenuto di istamina, per i tre gruppi di campioni allevati rispettivamente con le tecniche ALB, CRT e CSP, evidenzia che le tre curve hanno un andamento crescente dal 2° giorno alla svinatura, successivamente, con la sfecciatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione dell'ammina. Questa diminuzione è abbastanza moderata per i campioni ottenuti da uve allevate con tecnica CSP ed ALB mentre è più consistente per i campioni ottenuti







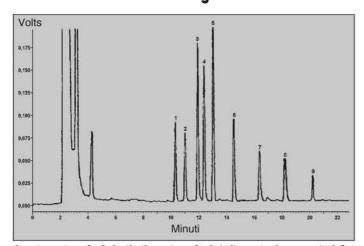




Tab. 6 - Variazione della concentrazione di ammine biogene (mg/l) in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Francese coltivate DRD, LED

DRD ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,20	0,35	0,08	0,87	0,00	0,00	0,00	0,00
6° giorno	0,03	0,53	0,43	0,61	1,13	0,07	0,02	0,00	0,00
svinatura	0,05	0,60	1,54	1,46	1,32	0,22	0,04	0,00	0,00
sfecciatura	0,02	0,43	0,87	0,58	1,23	0,25	0,03	0,00	0,00
vino	0,03	0,25	0,40	0,14	1,06	0,52	0,02	0,02	0,00
LED .				212	*am	212		ann.	an
ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,12	0,13	0,05	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00
6° giorno									
o giorno	0,02	0,20	0,20	0,27	0,92	0,08	0,02	0,00	0,00
svinatura	0,02 0,04	0,20 0,30	0,20 0,40	0,27 1,15	0,92 1,14	0,08 0,20	0,02 0,04	0,00	0,00
			*			*	*	*	*

Fig. 1 - Cromatogramma HPLC di una soluzione di standard di ammine biogene



1) triptamina, 2) 2-feniletilammina, 3) 1,4-diamminobutano, 4) 1,5-diamminopentano, 5) istamina, 6) 1,7-diamminoeptano, 7) tiramina, 8) spermidina, 9) spermina.

da uve allevate CRT. In particolare si osserva che, mentre nei vini ottenuti da uve allevate CSP e CRT le concentrazioni d'istamina sono confrontabili (1.84 e 1.83 mg/L rispettivamente), il vino prodotto con uve allevate con la tecnica ALB presenta concentrazioni superiori (2.52 mg/L).

L'analisi della curva relativa all'1.7-diamminoeptano (Fig. 3-5) mostra un andamento analogo per i tre campioni: crescente durante l'intero periodo considerato. Le concentrazioni riscontrate nei tre lotti di campioni sono assai simili, tutte coincidono alla sfecciatura e nei vini otte-

nuti da uve allevate con tecnica CRT e ALB; solo nel vino ottenuto da uve allevate con tecnica CSP si riscontra un valore leggermente inferiore (0.11 mg/L anziché 0.16 mg/L).

Le concentrazioni di tiramina, dosate nei tre lotti di campioni sono sempre assai simili e, in ogni modo molto basse, tanto da non superare mai 0.04 mg/L, (valore massimo raggiunto alla svinatura). Nei tre diversi campioni di vino la concentrazione di tale ammina raggiunge appena il limite di rivelabilità (0.01 mg/L).

In tutti i campioni la spermidina risulta sempre sotto i limiti di rivelabilità, mentre la spermina è appena dosabile solamente nel vino ottenuto da uve allevate con tecnica CSP.

#### Cultivar Merlot

Tali vitigni, come quelli Nero d'Avola, sono stati allevati utilizzando tre diverse tecniche: cortina (CRT), controspalliera (CSP) ed alberello (ALB).

Le Fig. 6-8 e le Tab. 5 (a-c) riportano i dati relativi alla variazione della concentrazione delle ammine per questo particolare vitigno.

Le curve riguardanti il contenuto della triptamina evidenziano che l'andamento è simile per i tre lotti di campioni: la concentrazione dell'ammina cresce progressivamente dal 2° giorno sino alla svinatura, raggiungendo la concentrazione massima nei campioni ottenuti da uve allevate con la tecnica CSP e CRT (0.17 e 0.18 mg/L rispettivamente); successivamente, con la sfecciatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione dell'ammina che poi ricomincia a crescere e raggiunge nel vino valori confrontabili (0.10 mg/L).

Nei campioni ottenuti da uve allevate con la tecnica CSP, la 2-feniletilammina presenta, mediamente, la concentrazione maggiore anche se nel campione ottenuto da uve allevate con tecnica CRT tale ammina è presente, alla svinatura, alla concentrazione maggiore rilevata (3.04 mg/L). Anche in questo caso. i tre gruppi di campioni, ottenuti da uve allevate con le tecniche ALB, CRT e CSP, presentano un profilo relativo alla variazione del contenuto dell'ammina assai simile: esso risulta crescente fino alla svinatura e successivamente decrescente. Nei campioni provenienti da uve allevate con tecnica ALB, la 2-feniletilammina è sempre presente a concentrazioni inferiori e raggiunge nel vino il valore di 1.04 mg/L; diversamente







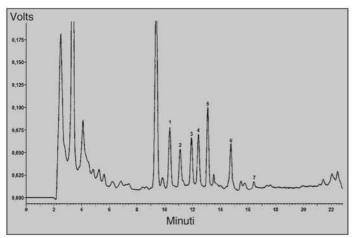




Tab. 7 - Variazione della concentrazione di ammine biogene (mg/l) in mosti e vino da uve di cv. Petit Verdot coltivate DRD, LED

DRD ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
2° giorno	0,00	0,15	0,37	0,04	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00
6° giorno	0,00	0,27	0,48	0,37	1,42	0,02	0,02	0,00	0,00
svinatura	0,00	0,31	0,93	0,46	1,44	0,08	0,05	0,00	0,00
sfecciatura	0,00	0,22	0,45	0,39	1,39	0,12	0,04	0,00	0,00
vino	0,00	0,16	0,29	0,22	1,34	0,35	0,03	0,01	0,00
LED.	mp.r	EEN	DAD	D.1.D.	TOTAL	DATE	TITE.	CDD	CDA #
LED ammine	TRI	FEN	DAB	DAP	IST	DAE	TIR	SPD	SPM
	<b>TRI</b> 0,00	<b>FEN</b> 0,02	<b>DAB</b> 0,10	<b>DAP</b> 0,06	<b>IST</b> 0,85	<b>DAE</b> 0,00	<b>TIR</b> 0,00	<b>SPD</b> 0,00	<b>SPM</b> 0,00
ammine									
ammine  2° giorno	0,00	0,02	0,10	0,06	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00
ammine  2° giorno 6° giorno	0,00	0,02 0,14	0,10 0,43	0,06 0,39	0,85 1,03	0,00	0,00 0,01	0,00 0,00	0,00

Fig. 2 - Cromatogrammma HPLC di un campione di vino



(Per l'identificazione dei picchi vedi Fig.1)

nel vino ottenuto da uve allevate con tecnica CSP raggiunge concentrazioni particolarmente elevate (2.03 mg/L).

Come mostrato nelle Fig. 6-8, il profilo relativo al contenuto dell'1.4-diamminobutano risulta confrontabile tra le tre diverse tecniche di allevamento: è crescente fino alla svinatura indi, con la sfecciatura, si assiste ad una progressiva diminuzione del contenuto dell'ammina. In particolare, tale ammina è appena dosabile al 6° giorno di fermentazione, nel campione ottenuto da uve allevate con tecnica CSP (0.02 mg/L), mentre raggiunge il valore massimo alla svinatura nel

campione ALB (0.83 mg/L). I valori ottenuti per i campioni di vino evidenziano che il vino ottenuto da uve allevate con tecnica CSP presenta la concentrazione nettamente più bassa in 1,4-diamminobutano (0.02 mg/L) mentre i due rimanenti mostrano concentrazioni confrontabili (0.28 e 0.29 mg/L nei campioni ALB e CRT rispettivamente).

Il profilo relativo al contenuto in 1,5-diamminopentano evidenzia che l'andamento è simile per tutte e tre le tipologie di campioni: la concentrazione dell'ammina aumenta dal 2° giorno alla svinatura, raggiungendo la concentrazione più elevata nel campione ottenuto da uve allevate CRT (0.31 mg/L), quindi, decresce con la sfecciatura per poi ricominciare a crescere nel vino sino ad assumere valori confrontabili nei campioni ottenuti da uve allevate ALB e CSP (0.21 e 0.22 mg/L rispettivamente). Il vino ottenuto da uve allevate con tecnica CRT presenta la concentrazione leggermente più alta (0.29 mg/L).

Dall'analisi dei dati relativi alla concentrazione in istamina emerge che l'andamento riguardante il contenuto dell'ammina, nei tre diversi gruppi di campioni, non sembra sia influenzato dalla tecnica d'allevamento. Infatti, il profilo relativo al contenuto di quest'ammina evidenzia che le tre curve hanno un andamento crescente dal 2° giorno alla svinatura; successivamente si registra un abbassamento della concentrazione dell'istamina. In particolare, per i campioni ottenuti da uve allevate con la tecnica CRT, l'istamina è dosabile a partire dal 6° giorno e la sua concentrazione risulta sempre leggermente più bas-

La variazione della concentrazione dell'1.7-diamminoeptano mostra un andamento analogo per i tre gruppi di campioni: crescente durante l'intero periodo considerato. I valori determinati per i tre lotti di campioni evidenziano che la diversa tecnica di allevamento influenza la concentrazione dell'1,7diamminoeptano. In particolare, i campioni ottenuti da uve allevate con tecnica CRT presentano sempre concentrazioni nettamente superiori dell'ammina considerata che, a differenza degli altri due campioni, è già dosabile al 2° giorno e raggiunge nel vino il valore di 0.57 mg/L. Il vino ottenuto da uve allevate con tecnica CSP presenta, invece, la concentrazione nettamente più bassa (0.10 mg/L).

L'analisi delle curve relative alle concentrazioni di tiramina mette in evidenza che i tre gruppi di campioni sono assai simili tra loro. Presenta-











Fig. 3 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Nero d'Avola allevate ALB

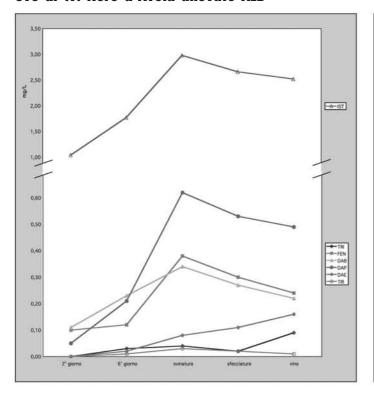
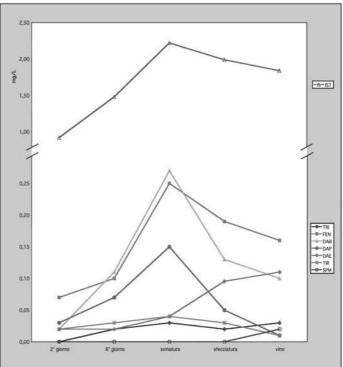


Fig. 4 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Nero d'Avola allevate CSP



no tutti concentrazioni molto basse dell'ammina, tanto da non superare mai 0.05 mg/L, (valore massimo raggiunto alla svinatura). Nei tre diversi campioni di vino la concentrazione di tale ammina risulta simile (0.02 mg/L per i campioni di vino ottenuti da uve allevate ALB e CSP, e 0.01 mg/L per il campione di vino ottenuto da uve allevate CRT).

In tutti i campioni la spermina e la spermidina risultano sempre sotto i limiti di rivelabilità.

#### Cabernet Sauvignon

Le Fig. 9-11 e le tab. 5 (a-c) riportano l'andamento della variazione delle concentrazioni delle ammine biogene nei mosti ottenuti da vitigni di cv. Cabernet Sauvignon allevati, anche questi, utilizzando tre diverse tecniche: alberello (ALB), controspalliera (CSP) e cortina (CRT).

Le curve riguardanti il contenuto della triptamina evidenziano che l'andamento è simile per i tre lotti di campioni: l'ammina risulta dosabile solo al 6° giorno e la sua concentrazione aumenta sino alla svinatura, raggiungendo la concentrazione massima nei campioni ottenuti da uve allevate con la tecnica ALB e CSP (0.07 e 0.08 mg/L rispettivamente); successivamente, con la sfecciatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione dell'ammina che indi ricomincia a crescere. Il vino in cui la trietilammina è presente alla concentrazione maggiore risulta essere quello ottenuto da uve allevate con tecnica CSP (0.14 mg/L) mentre la concentrazione più bassa è riscontrata nel vino prodotto con uve allevate con tecnica CRT (0.03 mg/L).

L'analisi dei dati relativi alla 2-feniletilammina evidenzia che, anche in questo caso, i tre gruppi di campioni, ottenuti da uve allevate con le tecniche ALB, CRT e CSP, presentano un profilo relativo alla variazione del contenuto dell'ammina assai simile: esso risulta crescente dal 2° giorno alla svinatura,

quindi decrescente per la restante parte del periodo considerato. L'analisi dei risultati permette di affermare che, sebbene alla svinatura il campione prodotto da uve allevate con tecnica ALB presenti la concentrazione più alta (0.29 mg/L), i tre diversi vini contengono la stessa quantità di 2-feniletilammina (0.03 mg/L).

Il profilo relativo al contenuto dell'1,4-diamminobutano appare confrontabile per i campioni ottenuti con le tre diverse tecniche d'allevamento. Tale ammina è dosabile già dal 2° giorno di fermentazione e raggiunge il valore massimo alla svinatura, indi decresce gradatamente. L'1,4-diammino butano raggiunge la concentrazione massima nel campione svinato ottenuto da uve allevate CRT (0.53 mg/L) ma il vino in cui tale ammina risulta presente con valori maggiori risulta essere quello prodotto con uve allevate con la tecnica ALB (0.28 mg/L).

L'analisi dei risultati relativi al contenuto in 1,5-diamminopentano evidenzia

che l'andamento è simile per tutte e tre le tipologie di campioni: la concentrazione dell'ammina, a differenza di quanto osservato per altre cultivar, aumenta dal 2° al 6° giorno, raggiungendo la concentrazione più elevata nel campione ottenuto da uve allevate CRT (0.44 mg/L), quindi, decresce sino ad assumere valori uguali nei campioni di vino ottenuti da uve allevate ALB e CSP (0.06 mg/L). Il vino ottenuto da uve allevate con tecnica CRT presenta la concentrazione più bassa (0.03 mg/L).

L'influenza della tecnica di allevamento risulta evidente sul contenuto di istamina. Dall'analisi dei dati relativi alla variazione della concentrazione di questa ammina emerge che le curve hanno un andamento crescente sin dal 2° giorno, quindi, dopo la svinatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione. I campioni ottenuti da vitigni allevati con la tecnica CRT presentano, generalmente, una concentrazione più elevata di istamina ed il vino così prodotto mostra valori di











Fig. 5 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Nero d'Avola allevate CRT

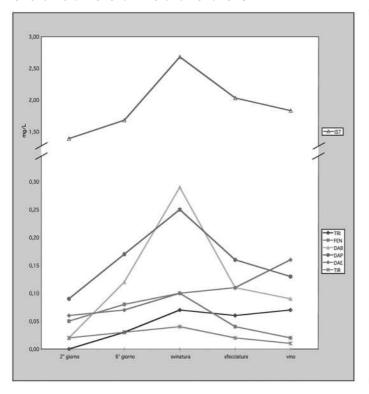
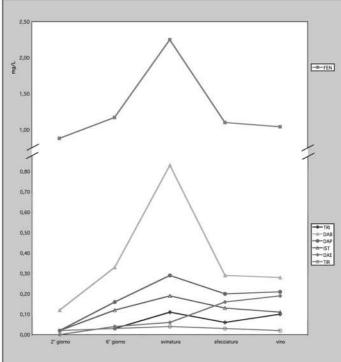


Fig. 6 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Merlot allevate ALB



gran lunga superiori (2.01 mg/L contro 1.24 e 0.93 mg/L determinati nei vini prodotti da uve allevate con tecnica ALB e CSP rispettivamente).

La variazione della concentrazione dell'1.7-diamminoeptano mostra un andamento analogo per i tre gruppi di campioni: crescente durante l'intero periodo considerato. Anche per l'1.7-diamminoeptano, analogamente a quanto precedentemente osservato per l'istamina, viene riscontrato che il vino prodotto con uve allevate con la tecnica CRT presenta la concentrazione più elevata di quest'ammina (0.55 mg/L contro 0.26 e 0.39 mg/L determinati nei vini prodotti da uve allevate con tecnica ALB e CSP rispettivamente).

Il dosaggio della tiramina mette in evidenza che i tre gruppi di campioni sono assai simili tra loro. Fatta eccezione per il campione ottenuto da uve allevate CSP, l'ammina è dosabile solo a partire dal 6° giorno; tuttavia essa mantiene concentrazioni molto basse, tanto da non

superare mai 0.05 mg/L (valore massimo raggiunto alla svinatura del campione CSP). Nei tre diversi campioni di vino la concentrazione di tale ammina risulta uguale (0.01 mg/L).

In tutti i campioni la spermidina e la spermina risultano sempre sotto i limiti di rivelabilità.

#### Cabernet Francese

Le viti di cv. Cabernet Francese sono state sottoposte alle tecniche DRD (diradamento) e LED (non diradamento). Le Fig. 12-13 e le tab. 6 (a-b) riportano l'andamento della variazione delle concentrazioni delle ammine biogene nei mosti e nei vini.

I risultati relativi al contenuto di triptamina evidenziano un andamento simile per i due lotti di campioni: l'ammina risulta dosabile solo al 6° giorno e la sua concentrazione aumenta sino alla svinatura; indi, con la sfecciatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione dell'ammina che successivamente ricomincia debolmente a crescere. In tutti i campioni la triptammina è stata riscontrata a bassissime concentrazioni, tuttavia i dati mettono in evidenza che l'utilizzo delle due diverse tecniche colturali non sembrano influenzare significativamente uno sviluppo diverso dell'ammina.

L'analisi dei dati relativi alla 2-feniletilammina evidenzia che, anche in questo caso, i due gruppi di campioni, presentano un profilo relativo alla variazione del contenuto dell'ammina assai simile: esso risulta crescente dal 2° giorno alla svinatura, quindi decrescente per la restante parte del periodo considerato. L'analisi dei risultati permette di affermare che l'utilizzo delle due diverse tecniche colturali sembra influenzare uno sviluppo diverso dell'ammina; infatti in tutti i campioni ottenuti da uve coltivate con la tecnica LED la 2-fenietilammina raggiunge concentrazioni più basse.

Un andamento analogo può essere evidenziato se si esaminano i dati relativi al contenuto dell'1,4-diamminobutano. Anche in questo caso, nei campioni ottenuti da uve coltivate con la tecnica LED l'ammina raggiunge concentrazioni più basse. Tale ammina è dosabile già dal 2° giorno di fermentazione e raggiunge il valore massimo alla svinatura, indi decresce gradatamente. L'1,4-diamminobutano raggiunge la concentrazione massima nel campione svinato ottenuto da uve coltivate DRD (1.54 mg/L) e nel vino decresce a valori nettamente superiori rispetto a quelli determinati nel vino ottenuto con uve coltivate LED (0.40 mg/L contro 0.18 mg/L).

L'analisi dei risultati relativi al contenuto in 1,5-diamminopentano evidenzia che l'andamento è simile per tutte e due le tipologie di campioni: la concentrazione dell'ammina aumenta dal 2° alla svinatura, raggiungendo la concentrazione più elevata nel campione ottenuto da uve coltivate DRD (1.46 mg/L), quindi, decresce sino ad assumere valori confrontabili nei campioni di vino (0.14 e 0.18 mg/L rispettivamente nei vini ottenuti da uve alle-











Fig. 7 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Merlot allevate CSP

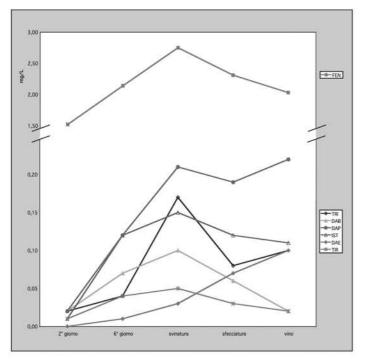
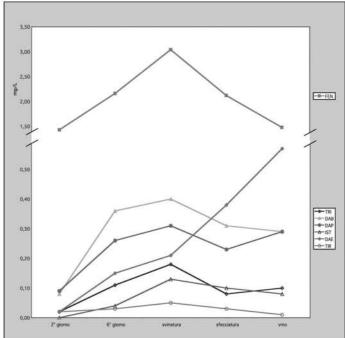


Fig. 8 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Merlot allevate CRT



vate DRD e LED).

L'influenza della tecnica di allevamento risulta evidente sul contenuto di istamina. Dall'analisi dei dati relativi alla variazione della concentrazione di questa ammina emerge che le curve hanno un andamento crescente sin dal 2° giorno, quindi, dopo la svinatura, si assiste ad un abbassamento della concentrazione. I campioni ottenuti da vitigni coltivati con la tecnica DRD presentano, generalmente, fatta eccezione che per il 2° giorno, una concentrazione più alta di istamina ed il vino così prodotto mostra valori superiori (1.06 mg/L contro 0.85 mg/L determinato nel vino prodotto da uve coltivate con tecnica LED).

La variazione della concentrazione dell'1.7-diamminoeptano mostra un andamento analogo per i due gruppi di campioni: crescente durante l'intero periodo considerato. In questo caso, sebbene sino alla sfecciatura le due curve risultino quasi coincidenti, i vini mostrano, alla fine, un diverso contenuto in 1.7-diamminoeptano. Infatti, viene riscontrato che il vino prodotto con uve alle-

vate con la tecnica DRD presenta quest'ammina in concentrazione doppia (0.52 mg/L contro 0.25 mg/L determinati nel vino prodotto da uve coltivate con tecnica LED)

Il dosaggio della tiramina è risultato possibile solo al 6° giorno e per valori pari al limite di rivelabilità. In questo caso non sembra che le due diverse tecniche colturali influenzino lo sviluppo dell'ammina dal momento che i valori risultano sempre coincidenti.

In tutti i campioni la spermina risulta sempre sotto i limiti di rivelabilità mentre la spermidina viene determinata nei due vini a concentrazioni basse e confrontabili (0.02 e 0.03 mg/L per i vini prodotti da uve allevate DRD e LED rispettivamente).

#### Petit Verdot

Le viti di cv. Petit Verdot sono state sottoposte alle tecniche DRD e LED. Le Fig. 14-15 e le tab. 7 (a-b) riportano l'andamento della variazione delle concentrazioni delle ammine biogene nei mosti.

In tutti i campioni sottoposti all'indagine la concentrazione della triptamina risulta sempre sotto i limiti di rivelabilità.

L'analisi dei dati relativi alla 2-feniletilammina evidenzia che, anche in questo caso, i due gruppi di campioni, presentano un profilo relativo alla variazione del contenuto dell'ammina assai simile: esso risulta crescente dal 2° giorno alla svinatura, quindi decrescente per la restante parte del periodo considerato.

L'analisi dei risultati permette di affermare che, analogamente a quanto osservato per i campioni di cv. Cabernet Francese, l'utilizzo delle due diverse tecniche colturali sembra influenzare uno sviluppo diverso dell'ammina; infatti, in tutti i campioni ottenuti da uve coltivate con la tecnica LED, la 2-feniletilammina raggiunge concentrazioni più basse.

Un andamento analogo può essere evidenziato se si esaminano i dati relativi al contenuto dell'1,4-diamminobutano. Anche in questo caso, nei campioni ottenuti











Fig. 9 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Sauvignon allevate ALB

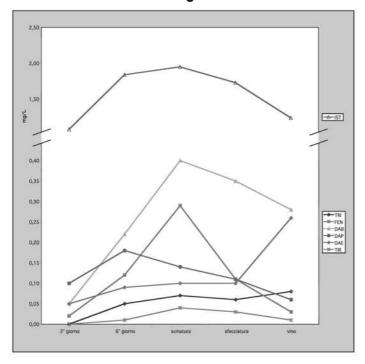
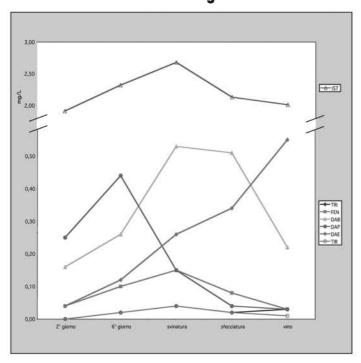
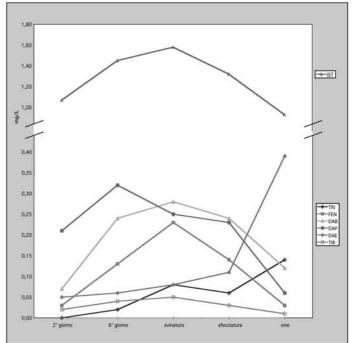


Fig. 11 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Sauvignon allevate CRT



da uve coltivate con la tecnica LED, l'ammina raggiunge concentrazioni più basse. Tale ammina è dosabile già dal 2° giorno di fermentazione e raggiunge il valore massimo alla svinatura, indi decresce gradatamente.

Fig. 10 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Sauvignon allevate CSP



L'1,4-diammino butano raggiunge la concentrazione massima nel campione svinato ottenuto da uve coltivate DRD (0.93 mg/L) e nel vino essa decresce a valori nettamente superiori rispetto a quelli determinati nel vino ottenuto con uve coltivate LED (0.29 mg/L contro 0.08 mg/L).

L'analisi dei risultati relativi al contenuto in 1,5-diamminopentano evidenzia che l'andamento è simile per tutte e due le tipologie di campioni: la concentrazione dell'ammina aumenta dal 2° alla svinatura, quindi decresce sino ad assumere valori confrontabili nei campioni di vino (0.22 e 0.21 mg/L rispettivamente nei vini ottenuti da uve allevate DRD e LED).

Anche lo sviluppo dell'istamina sembra essere influenzato da un diverso sistema di coltivazione della vite. Infatti, anche se al secondo giorno la concentrazione dell'ammina risulta confrontabile nei due diversi campioni (0.80 mg/L per il campione ottenuto da uve coltivate DRD e 0.85 mg/L nel campione prodotto da uve coltivate con tecnica LED), i campioni prodotti da uve coltivate con la tecnica DRD presentano una concentrazione più alta di istamina ed il vino così prodotto mostra valori di superiori (1.34 mg/L contro 0.75 mg/L determinato nel vino prodotto da uve coltivate con tecnica LED).

Anche la variazione della concentrazione dell'1.7-diamminoeptano mostra un andamento analogo per i due gruppi di campioni: è dosabile, per piccole concentrazioni, nei campioni DRD solo al 6° giorno (0.02 mg/L) ed in quelli LED alla svinatura (0.01 mg/L), indi i valori crescono nella fase successiva.

Anche in questo caso, come già osservato per la cv. Cabernet Francese, viene riscontrato che il vino prodotto con uve allevate con la tecnica DRD mostra l'1,7-diamminoeptano in concentrazione doppia (0.35 mg/L contro 0.18 mg/L determinati nel vino prodotto da uve coltivate con tecnica LED).

La tiramina è dosabile solo al 6° giorno e per valori pari o prossimi al limite di rivelabilità. In questo caso non sembra che le due diver-











Fig. 12 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Francese coltivate DRD

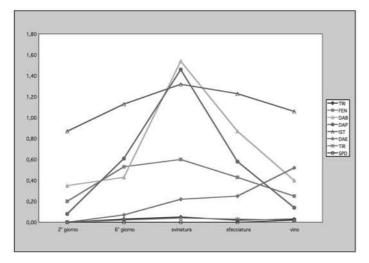
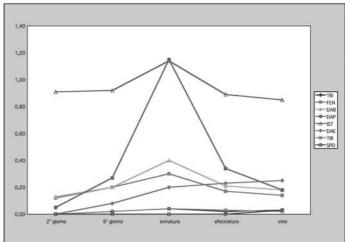


Fig. 13 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Cabernet Francese coltivate LED



se tecniche colturali influenzino lo sviluppo dell'ammina giacché i valori risultano sempre confrontabili.

In tutti i campioni la spermina risulta sempre sotto i limiti di rivelabilità mentre la spermidina viene determinata nei due vini a concentrazioni basse e confrontabili (0.01 e 0.02 mg/L per i vini prodotti da uve allevate DRD e LED rispettivamente).

## Considerazioni conclusive

Lo studio ha reso evidente che il contenuto di ammine biogene in campioni di mosto e vino può variare in relazione alle tecniche colturali e alla varietà e qualità dei vitigni.

L'indagine ha permesso di verificare tale dipendenza considerando tre diverse tecniche di allevamento e due diverse tecniche colturali applicate sia su vitigni autoctoni che alloctoni.

I vitigni di cv. Nero d'Avola, se allevati con la tecnica dell'alberello, favoriscono una maggiore presenza, nel vino, di istamina, 2-feniletilammina, putrescina e cadaverina.

La tecnica d'allevamento a cortina sembra invece determinare un innalzamento dell'1,7-diamminoeptano nei vini ottenuti da uve di cv. Merlot e Cabernet Sauvignon. Per quest'ultima cultivar si è inoltre osservato che la tecnica della cortina favorisce un maggiore sviluppo di istamina che, di fatto, presenta nel vino una concentrazione doppia.

Dal confronto dei dati relativi alle due tecniche colturali (LED e DRD) emerge che praticando il diradamento sulla pianta è possibile stimolare maggiormente la produzione di quegli amminoacidi che favoriscono lo sviluppo di 2-feniletilammina, 1,4-diamminobutano, istamina e 1,7-diamminoeptano.

Tenuto conto dell'assunzione giornaliera e dei risultati ottenuti in questo studio, si potrebbe ipotizzare un'assunzione quotidiana di ammine diversa per ogni tipo di vino

Si può probabilmente ipotizzare che comunque i valori riscontrati nei campioni in esame non rappresentino un rischio tossicologico elevato.

#### Riassunto

Nel presente studio, è stata condotta un'indagine sul contenuto di ammine biogene in campioni di mosto e vino rosso siciliani.

Considerando che la moderna viticoltura persegue la qualità a partire dalla forma di allevamento e dalla densità di impianto, e che la possibilità di realizzare produzioni di qualità nell'ambito di un vigneto è subordinata all'ottenimento e mantenimento di condizioni ottimali di equilibrio vegeto-produttivo della pianta, le ammine biogene sono state determinate, mediante cromatografia liquida in fase inversa, in mosti e vini provenienti da cinque diverse varietà di uve allevate con cinque tecniche colturali diverse.

Lo studio ha reso evidente che il contenuto di ammine biogene in campioni di mosto e vino può variare in relazione alle tecniche colturali e alla varietà e qualità dei vitigni.

L'indagine ha permesso di verificare tale dipendenza considerando tre diverse tecniche di allevamento e due diverse tecniche colturali applicate sia su vitigni autoctoni che alloctoni.

Parole chiave: vino, ammine biogene, HPLC.

### **Bibliografia**

1. Brink B., Damirik C., Joosten H.M. L. J., Huis Veld J.H.J. (1990). Occurence and formation of biologically actrive amines in foods. Itern. J. of Food Microb., 11, 73.

2. Halasz A., Barath A., Simon-Sarkadi L., Holzapfel W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci. Technol., 5, 42.

3. Silla Santos M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. Intern. J. Food Microb., 29, 213.

4. Shalaby Ali R. (1996). Significance of Biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Intern., 29, 675.

5. Rice S.L., Eitenmiller R.R., Koehler PE. (1976). Biologically active amines in food. A review. J. Milk Food Technol., 39, 353.

6. Lovenberg W. (1973). Some vaso- and psychroactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. Intoxicants Occurring Naturally in Foods, National Accademy of Science. Washington D.C.

7. Bills D.D., Hildrum K.I., Scanlan R.A., Libbey L.M. (1973). Potential precursor of N-nitrosopyrrolidine in bacon and other fried foods. J. Food Protect., 61, 608.

8. Warthesen J.J., Scanlan R.A., Bills D.D., Libbey L.M. (1975). Formation of heterocyclic N-nitrosamines from the reaction of nitrite and selected primary diamines and amino acids. J. Agric. Food Chem., 23, 898.

9. Smith T.A. (1980).











Fig. 14 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Petit Verdot coltivate DRD

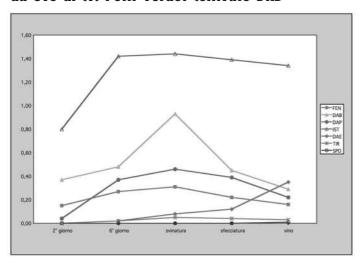
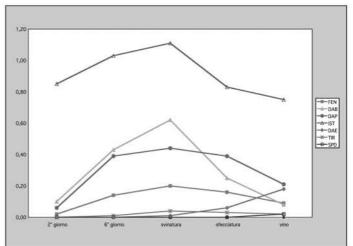


Fig. 15 - Andamento della variazione della concentrazione delle ammine biogene in mosti e vino da uve di cv. Petit Verdot coltivate LED



Amines in food. Food Chem., 6, 169.

10. Ochiai M., Wakabayashi K., Nagao M., Sugimura T. (1984). Tyramine is the major mutagen precursor in soy sauce, being convertible to a mutagen by nitrite. Gann, 75, 1.

11. Romero, R., Gazquez, D., Bagur, M.G., Sauchez-Vines, M. (2000). Optimization of chromatographic parameters for the determination of biogenic amines in wines by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chrom. A, 871, 75.

12. Adams, D.O., Frankel, K.E., Christensen, L.P. (1990). Elevated putrescine levels in grape vine leaves that display symtoms of potassium deficiency. Am. J. Enol. Vitic., 41, 121.

13. Maga, J.A. (1978). Amines in food. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 10, 373.

14. Soufieros, E., Barrios, M.L., Bertrand, A. (1998). Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. Am. J. Enol. Vitic., 49, 266.

15. Busto, O., Guasch, J., Borrull, F. (1996). Determination of biogenic amines in wine after precolumn derivatization with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate. J. Chrom. A, 737, 205.

16. Moret, S., Conte, L.S.

(1996). High-performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in foods. An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristics. J. Chrom. A, 729, 363.

17. Molis-Legua, C., Campis-Falco, P., Sevilla-no-Cabeza, A. (1998). Automated pre-column derivatization of amines in biological samples with dansyl chloride and with or without post-column chemilumine-scence formation by using TCPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Analyst, 123, 2871.

18. Molis-Legua, C., Campis-Falco, P., Sevilla-no-Cabeza, A., Pedròn-Pons, M. (1999). Urine polyamines determination using dansyl chloride derivatizationin solid-phase extraction cartridges and HPLC. Analyst, 124, 477.

19. Soleas, G. J., Carey, M., Goldberg, D. M. (1999). Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines. Food Chem., 64, 49.

20. Loukou, Z., Zotou, A. (2003). Determination of biogenic amines as dansyl derivatives in alcoholic beverages by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection and characterization of the dansylated amines by liquid chromatography-atmosphe-

ric pressure chemical ionization mass spectrometry. J. Chrom. A, 996, 103.

21. Zotou, A., Loukou, Z., Soufleros, E., Stratis, I. (2003). Determination of biogenic amines in wines and beers by high performance liquid chromatography with pre-column dansylation and ultraviolet detection. Chromatographia, 57, 429.

22. Anli, R. E., Vural, N., Yilmaz, S., Vural, Y. H. (2004). The determination of biogenic amines in Turkish red wines. J. Food Comp. Anal., 17, 53.

23. Marcobal, A., Polo, M. C., Martin-Alvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V. (2005). Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. Food Res. Inter., 38, 387.

24. Landete, J. M., Ferrer, S., Polo, L., Pardo, I. (2005). Biogenic Amines in Wines from Three Spanish Regions. J. Agric. Food Chem., 53, 1119.

25. Fernandes J. O., Ferreira M A. (2000). Combined ion-pair extraction and gas chromatography-mass spectrometry for the simultaneous determination of diamines, polyamines and aromatic amines in Port wine and grape juice. J. Chrom. A, 886, 183.









