

DIFERENCIAS EN LA GENERACIÓN DE AMINAS EN LA VINIFICACIÓN DE LAS VARIEDADES TEMPRANILLO Y CABERNET SAUVIGNON

Lucía Polo, Sergi Ferrer, Isabel Pardo

Dpto. Microbiología y Ecología. Facultad de Biología. Universidad de Valencia
963544390 .Lucia.polo@uv.es

Resumen:

Las aminas biógenas son bases orgánicas de bajo peso molecular que se forman con frecuencia en alimentos y bebidas. La amina más abundante en el vino es la putrescina, encontrándose también en concentraciones más bajas histamina, tiramina y feniletilamina, se pueden formar como consecuencia de la descarboxilación de los aminoácidos del mosto o del vino por las bacterias lácticas.

En este trabajo se han comparado la evolución de las aminas durante la fermentación y el envejecimiento del vino de dos variedades distintas: Cabernet Sauvignon y Tempranillo en la DO Somontano y se ha relacionado con la microbiota existente. Los resultados muestran una mayor concentración de putrescina en mostos de Cabernet Sauvignon que en Tempranillo. Los mostos de Tempranillo son más susceptibles a la formación de aminas. La formación de aminas durante la fermentación alcohólica (FA) se debe a las levaduras y durante la fermentación maloláctica (FML) y crianza a *O. oeni*. Se han aislado tres cepas de esta especie. V.oenos y S1 aparecen asociadas a la FML y S2 está presente durante la crianza y es la responsable de la mayor producción de putrescina, cadaverina y tiramina.

Palabras claves: aminas biógenas, bacterias lácticas, vino, Tempranillo, Cabernet Sauvignon

1. INTRODUCCIÓN

Las aminas biógenas son compuestos nitrogenados que aparecen con frecuencia en alimentos fermentados (vino, quesos, salchichas, etc.) y que tienen efectos negativos sobre la salud humana y la calidad de estos alimentos. De las aminas presentes en vinos podemos destacar la histamina y la tiramina por sus efectos perjudiciales sobre la salud humana (nauseas, hipertensión, palpitaciones, enrojecimientos, dolor de cabeza, etc.) [1], y la putrescina por ser la más frecuente y abundante. La putrescina y otras aminas como la cadaverina, la feniletilamina y la triptamina tienen un efecto negativo sobre el aroma y sabor, además de potenciar, junto con el alcohol, los efectos perjudiciales sobre la salud de la histamina y la tiramina [2]. La presencia de la histamina en vinos supone una barrera a la exportación, países como Suiza tienen límites de 10 mg/L y otros países como Francia, Bélgica y Alemania se plantean disminuir incluso hasta 2 mg/L los límites permitidos. En este trabajo se estudia la influencia de la variedad de uva, de la microbiota presente durante la vinificación y del tipo de recipiente en el que se realiza la FML sobre la generación de aminas biógenas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras se obtuvieron en distintos momentos de la vinificación y crianza en bodega de mostos procedentes de las variedades tintas Tempranillo y Cabernet Sauvignon. Estos vinos se inocularon con la levadura UCLMS 377, (Bio Springer Maisons-Alfort, Francia) y realizaron la FA en depósito, posteriormente parte del vino se trasvasó a bodega y parte se mantuvo en depósito donde realizaron la FML es-

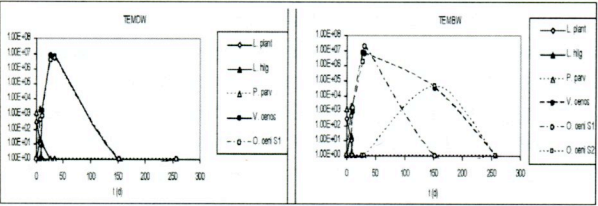
pontánea. Posteriormente los que habían hecho la FML en depósito se distribuyeron en barricas donde envejecieron por un periodo de 8 meses. Los momentos de muestreo fueron: mosto antes de fermentación, tras la fermentación alcohólica (FA), tras la fermentación maloláctica (FML), a los 4 y 8 meses de crianza en bodega. Se cuantificaron histamina, tiramina, putrescina y cadaverina mediante HPLC según describieron H. Orte *et al.* [3]. Se llevaron a cabo un recuento y aislamiento de bacterias lácticas mediante siembra en placas de MRS y MLO que se incubaron a 28 °C durante 4-7 días. Las colonias aparecidas se aislaron en estos medios y se identificaron mediante 16S-ARDRA (Rodas *et al.*) [4]. Las bacterias aisladas pertenecientes a *O. oeni*, se tipificaron mediante la técnica de RAPD con el cebador M13 según Zapparoli *et al.* [5].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la variedad Tempranillo se produce formación de aminas durante la fermentación alcohólica (FA), sobre todo de histamina, putrescina y cadaverina se forman en menor cantidad. Este aumento de aminas se debe posiblemente a la actividad de levaduras, ya que las únicas especies de bacterias lácticas que aparecen (*L. plantarum*, *L. hilgardii* y *P. parvulus*) están exclusivamente en el mosto en muy baja concentración y desaparecen durante la fermentación alcohólica. Las aminas biógenas sufren dos aumentos importantes, uno entre FA y final FML y otro desde final FML a 4 meses de crianza, destacando la histamina y la putrescina en este último periodo. No se aprecian modificaciones importantes en las concentraciones de tiramina ni de cadaverina en el envejecimiento (Tabla 1). Mayor concentración de putrescina e histamina en TEMBW que en

TEMDW .Durante la FML aparecen dos cepas de la especie *O. oeni*; una cepa autóctona (S1), ya presente en baja concentración al final de la FA y una cepa comercial Viniflora oenos. Esta última que ha sido utilizada en la bodega para inoculación de vinos aparece en estos vinos no inoculados posiblemente por la contaminación accidental debida al uso de maquinaria de bodega común (Fig. 1). En el período de final FML a 4 meses de crianza, aislamos Viniflora oenos y S2, una segunda cepa autóctona distinta de S1.S2 aparece en TEMBW coincidiendo con el incremento de putrescina e histamina.

Fig.1. Evolución de la microbiota láctica durante la elaboración y crianza. S1 y S2 son cepas de *O. oeni* autóctonas). V. oenos es la cepa comercial. Rec BAL: recuento total de bacterias lácticas). L. plant: *Lactobacillus plantarum*). L. hilg.: *Lactobacillus hilgardii*) P. parv: *Pediococcus parvulus*).



En la variedad Cabernet Sauvignon cabe destacar que partimos de una concentración de aminas muy diferente a la variedad Tempranillo, siendo relevante la elevada concentración en mosto de la putrescina, que aumenta sobre todo a lo largo del envejecimiento, equiparándose a las cantidades encontradas en Tempranillo.

Se aprecian ligeros aumentos de la histamina, putrescina y cadaverina durante la FA, la tiramina permanece igual. Estos cambios se deben a la actividad de las levaduras ya que no se han aislado bacterias lácticas ni en mosto ni tras la FA. En el periodo desde el final de la FA hasta el final FML la histamina, tiramina y putrescina aumentan levemente debido a la presencia de V. oenos y S1. La cadaverina no sufre a penas variación.

En CAMDW se produce un mayor aumento que en CAMBW de histamina, tiramina y putrescina entre los 4 y 8 meses de envejecimiento en barrica. En CAMBW la evolución de la putrescina y tiramina es similar a CAMDW, manteniéndose constante la histamina durante todo el proceso de crianza.

Durante los 4 primeros meses de envejecimiento se han detectado los tres tipos de cepas S1 y S2 en el caso de CAMDW y V. oenos y S2 en el caso de CAMBW. (Fig.2)

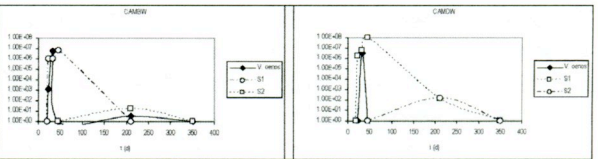
A partir de estos datos podemos deducir que S2 es la cepa que produce mayor cantidad de putrescina, aunque también produce histamina y tiramina en menor cantidad, las diferencias entre CAMDW y CAMBW se deben a las distintas concentraciones bacterias, S1 también produce putrescina pero en menor cantidad que S2; V. oenos es una de las responsables del aumento de histamina.

No parece haber una influencia notable en el tipo de recipiente sobre la concentración de aminas.

Tabla 1: Evolución de la concentración de aminas (mg/L) a lo largo de la vinificación y envejecimiento de la variedad de uva Tempranillo. a): Mosto antes de la fermentación alcohólica (T = 0 días); b): Vino después de la fermentación alcohólica (T = 8 días); c): Vino después de la fermentación maloláctica: c1) T = 31 días, c2) T = 27 días, c3)=45días; d): Vino después de 4 meses de envejecimiento en barrica d1)T = 152 días y d2)T = 211 días; e): Vino después de 8 meses de envejecimiento en barrica e1)T = 257 días y e2) T =351

Muestra	Amina s	Mosto	FA	FFML	4 meses	8 meses
		A	B	C	D	E
TE	Histamina	0	4.43			
	Tiramina	0.93	0.64			
	Putrescina	4.17	5.98			
	Cadaverina	0.48	0.8			
TEMDW	Histamina			4.92 c2	6.11 d1	6.16 e1
	Tiramina			0.67 c2	0.54 d1	0.85 e1
	Putrescina			6.93 c2	8.24 d1	8.84 e1
	Cadaverina			0.79 c2	0.77 d1	0.84 e1
TEMBW	Histamina			4.67 c1	15.26 d1	18.03 e1
	Tiramina			0.66 c1	0.51 d1	0.87 e1
	Putrescina			6.74 c1	15.58 d1	16.8 e1
	Cadaverina			0.75 c1	0.86 d1	1.03 e1
CA	Histamina	2.59	3.04			
	Tiramina	0.008	0.71			
	Putrescina	15.73	16.05			
	Cadaverina	0.53	1.48			
CAMDW	Histamina			3.76 c3	3.69 d2	6.07 e2
	Tiramina			0.57 c3	0.59 d2	2.56 e2
	Putrescina			16.59 c3	15.88 d2	18.56 e2
	Cadaverina			1.34 c3	1.37 d2	1.38 e2
CAMBW	Histamina			3.81	3.56 d2	3.75 e2
	Tiramina			0.55	0.75 d2	2.51 e2
	Putrescina			16.65	15.77 d2	18.32 e2
	Cadaverina			1.33	1.48 d2	1.33 e2

Fig.2. Evolución de la microbiota láctica durante la elaboración y crianza. S1 y S2 son cepas de *O. oeni* autóctonas. V. oenos es la cepa comercial.



4. CONCLUSIONES

Se ha observado que existe una relación entre la generación de aminas, el tipo y concentración de cepa de *O. oeni* y el momento de la vinificación pero no con el tipo de recipiente donde se realiza la fermentación maloláctica. La mayor acumulación de aminas se produce fundamentalmente durante el periodo de crianza y las aminas que más aumentan son la histamina y la putrescina. Las cepas que mayoritariamente aparecen durante la crianza en barrica son V. oenos y S2; ambas se han mostrado productoras de histamina, siendo la cepa S2 la principal responsable de la síntesis de putrescina. También ambas pueden producir cadaverina y tiramina. La cantidad de estas aminas al final de la crianza está relacionada con la concentración de células viables, tanto de V. oenos como S2, y con el tiempo que

permanecen vivas durante el envejecimiento. A pesar de que aparecen las mismas cepas en Cabernet y Tempranillo, se aprecia que la variedad Tempranillo es más susceptible a la generación de aminas, sobretodo de histamina y putrescina.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. BAUZA, T., BLAISSE, A., TEISSEDE, P.L., CABANIS, J.C., KANNY, G. Y MONERET-VAUTRIN, D.A. **Les amines biogènes du vin, métabolisme et toxicité.** *Bull. O.I.V.* 767-768:42-67 (1995).
2. TEN BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.L.J. Y HUIS IN'T VELD, J.H.J. **Ocurrence and formation of biologically active amines in foods.** *Int. J. Food. Microbiol.* 11, 73-84 (1990).
3. HERNÁNDEZ-ORTE, P., M. J. IBARZ, J. CACHO, AND V. FERREIRA. **Determination of the biogenic amines in must and wines before and after malolactic fermentation using 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) as the derivatizing agent.** *Journal of Chromatography.A.*1129 (2):160-164. 2006
4. RODAS, A. M., S. FERRER, AND I. PARDO. **16S-ARDRA, a tool for identification of Lactic Bacteria Isolated from Grape Must and Wine.** *Systematic and Applied Microbiology.*26, 412-422(2003)
5. ZAPPAROLI, G., C. REGUANT, A. BORDONS, S. TORRIANI, AND F. DELLAGLIO. **Genomic DNA fingerprinting of *Oenococcus oeni* strains by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA-PCR.** *Curr. Microbiol.* 40:351-355. (2000).