LALLEMAND WINE EXPERT

Marzo 2021

LAS AMINAS BIÓGENAS EN EL VINO

¿Qué son las aminas biógenas?

Las aminas biógenas son una clase de pequeños compuestos orgánicos nitrogenados que se encuentran en los alimentos fermentados, tales como el queso, los embutidos, los encurtidos y las bebidas fermentadas (cerveza, sidra y vino). En estos productos, se pueden formar diez aminas biógenas distintas a partir de la descarboxilación enzimática de los aminoácidos naturales. En el vino, las principales aminas biógenas son la histamina, la tiramina, la cadaverina y la putrescina, obtenidas a partir de la descarboxilación de la histidina, la tirosina, la lisina y la ornitina o la agmatina respectivamente (Figura 1). Otras aminas biógenas que se pueden encontrar a veces en el vino son la etilamina, la etanolamina, la feniletilamina, la dimetilamina, la espermina y las espermidina.

Es importante recordar que las aminas biógenas están también presentes de manera natural en los animales, incluidos los humanos, en los que pueden actuar como hormonas y neurotransmisores que influyen en diversas funciones metabólicas incluidas la presión arterial y la temperatura del cuerpo. La histamina puede ser liberada por el cuerpo como respuesta a los alérgenos y al daño tisular.

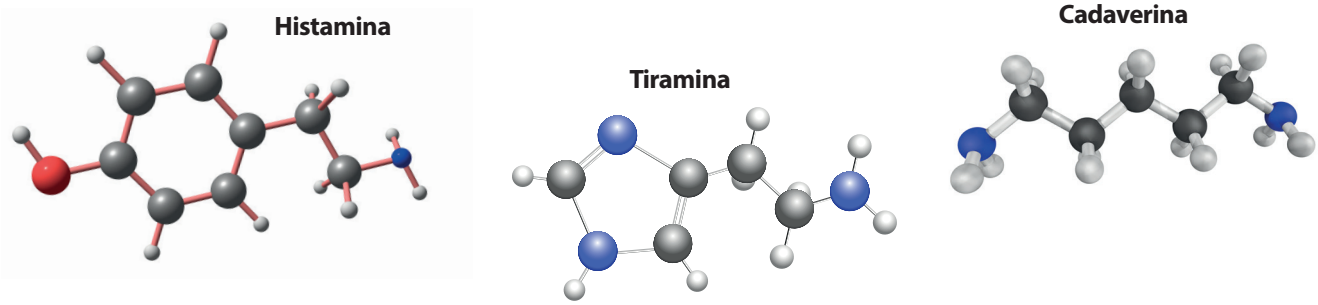


Figura 1. Tres de las aminas biógenas más importantes encontradas en el vino.

¿Cuáles son los efectos de las aminas biógenas en los vinos?

La presencia de aminas biógenas (AB) en el vino es cada vez más importante tanto para consumidores como para productores debido a los posibles peligros de reacciones alérgicas, la toxicidad para los seres humanos y las consecuentes implicaciones que pueda tener en el terreno comercial. Se ha publicado una importante cantidad de investigaciones realizadas sobre el impacto fisiológico negativo del exceso de histamina. Los síntomas pueden incluir nauseas, sofocos, dolor de cabeza, rubor facial y dificultad respiratoria. En general, los niveles de histamina en el vino no son suficientes para causar problemas a la mayoría de los individuos. Sin embargo, algunas personas pueden ser incapaces de metabolizar adecuadamente incluso niveles bajos de histamina. En esos casos, la cantidad acumulada de histamina (también procedente de otras fuentes alimenticias) podría ser posiblemente motivo de preocupación. Si se ingiere una baja concentración de aminas biógenas, normalmente se metaboliza por las amino oxidasas para producir aldehído, peróxido de hidrógeno y amoníaco, aunque la presencia de etanol y de acetaldehído puede inhibir este metabolismo normal en los humanos. Por lo tanto, la presencia de altas concentraciones de AB está relacionada con la seguridad del vino (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria 2011), pero también pueden ser indicadores de la calidad del vino y de las condiciones higiénicas.

Las aminas biógenas pueden causar una reducción del aroma global del vino, dando como resultado vinos sin carácter varietal. Los altos niveles de aminas biógenas pueden derivar en la formación de aromas metálicos, cárnicos o pútridos. Esto se demostró en una investigación realizada en la Universidad de La Rioja, España (Palacios et al., 2004), donde añadieron putrescina y cadaverina al vino. Las mayores concentraciones de putrescina no hicieron que se detectara este compuesto como tal, pero sí se usaron descriptores como fruta podrida, rancio y sucio para describir el impacto del aroma en general. La cadaverina no solamente fue identificada inmediatamente como el compuesto implicado, sino que además en mayores concentraciones el vino fue descrito como fuente de aromas sucios, cárnicos y avinagrados.

¿Cuáles son los límites legales para las aminas biógenas?

No existen límites legales para las aminas biógenas en los vinos aunque algunos países incluso han recomendado niveles maximos histamina en el vino (Costantini et al., 2019; Smit et al., 2008). La OIV aboga por el uso de prácticas vitícolas y de elaboración que reduzcan el riesgo de concentraciones elevadas de histamina en las uvas y en el vino.

¿Dónde se originan las aminas biógenas?

Incluso aunque la levadura puede contribuir a la producción de histamina, es la bacteria enológica la que contribuye significativamente al contenido de aminas biógenas en el vino. Las aminas biógenas están formadas principalmente por bacterias ácido lácticas (BAL) pertenecientes a las especies *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Oenococcus*. No todas las cepas incluidas en este grupo de especies tienen la capacidad de producir aminas biógenas. Depende de la presencia o de la ausencia en sus genomas de genes que codifican las descarboxilasas de aminoácidos, de ahí la importancia de un proceso de selección de bacterias enológicas riguroso para evitar la producción de AB. Asimismo, en el contexto del calentamiento global, mostos con pH más alto, estrategias de bajo SO_2, estrés hídrico en los viñedos, todo ello son condicionantes que favorecen el desarrollo de microorganismos contaminantes que producen aminas biógenas. Se está dando una reaparición de altos contenidos de AB en los vinos, lo que podría hacer que se exigiera de manera más severa la limitación de su contenido.

¿Cuáles son los mecanismos de la formación de las aminas biógenas por las bacterias enológicas?

La primera amino descarboxilasa biógena en ser estudiada en detalle fue la histidina descarboxilasa (HDC), enzima aislada de una histamina que produce la cepa enológica BAL, por Lonvaud-Funel & Joyeux (1994) y que desde entonces ha sido estudiada por varios autores. Coton et al. (1998b) purificó esta enzima HDC hasta homogeneidad y la caracterización proporcionó un patrón estructural y bioquímico valioso (Constantini et al 2019) (Figura 2). La secuencia genética ayudó a los investigadores a desarrollar sistemas de detección rápidos y específicos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para detectar potenciales bacterias productoras de histamina en el vino (Le Jeune et al., 1995; Coton et al., 1998a). Actualmente las cepas de bacterias seleccionadas están controladas por medio de la secuenciación por lo que es fácil detectar la ausencia de genes de la aminoácido descarboxilasa.

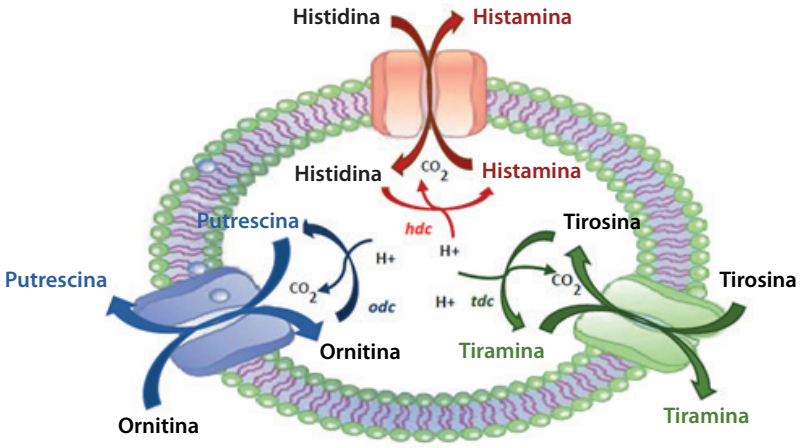


Figura 2. Formación de amina biógena a partir de sus precursores aminoácidos y de su consumo/absorción por el antiporte de la transmembrana.

¿Qué condiciones influyen en sus concentraciones?

La fertilización nitrogenada del suelo, el pobre estado de salud de las uvas combinado con moho, un pH alto y el desarrollo de ciertas levaduras durante la fermentación alcohólica pueden favorecer un nivel moderado de aminas biógenas; a partir de ahí, ciertas bacterias ácido lácticas pueden aumentar notablemente la presencia de aminas biógenas en el vino. La maceración posfermentativa y antes de embotellado son momentos en los que también se puede favorecer la formación de aminas biógenas. Son más frecuentes en los vinos tintos que en los blancos.

En general, los niveles de aminas biógenas son superiores en vinos con pH alto debido a la presencia de distinta microflora contaminante. Podemos deducir que el cambio climático podría tener como resultado un incremento de los niveles de aminas biógenas. Sin embargo, incluso con niveles bajos de pH, la fermentación maloláctica espontánea puede estar relacionada con la producción de aminoácidos puesto que siempre existe el riesgo de que la FML se lleve a cabo por BAL que tienen la capacidad de producir aminas biógenas. Se pueden encontrar mostos que ya tienen una cantidad significativa de AB dependiendo de la añada, la variedad de uva, el terroir y el clima. Es importante controlar el aumento de las AB en estos vinos en riesgo tan pronto como sea posible mediante la inoculación en la FLM con una bacteria seleccionada incapaz de producir AB.

THE WINE EXPERT

RESULTADOS

¿Cómo minimizar la producción de aminas biógenas en el vino?

Se pueden utilizar distintos métodos para reducir las aminas biógenas en el vino. La adición de SO2 o el uso de Bactiless™ (un producto natural de Aspergillus niger a base de quitosano) pueden ayudar a reducir el número de BAL indígenas que producen aminas biógenas, halladas a menudo en grandes cantidades en mostos con pH alto. La gestión adecuada de la FML es crítica para controlar las aminas biógenas. Esto se puede lograr mediante el saneamiento completo y exhaustivo de la bodega, una buena gestión del pH del vino, la estabilización del vino con dióxido de azufre y mediante la inoculación solo con conocidas cepas BAL enológicas seleccionadas y caracterizadas.

Un experimento realizado en un pinot noir, en el que se testearon cepas de BAL seleccionadas y microflora indígena por su capacidad para producir histamina y tiramina, destacó la importancia de usar conocidas cepas BAL seleccionadas para llevar a cabo la FML (IFV – Vincent Gerbaux, 2015). Las cepas seleccionadas son cribadas específicamente por su incapacidad de producir aminas biógenas.

Análisis tras FML (mg/L)	Pinot noir		Pinot noir + histidina + tirosina	
	Histamina	Tiramina	Histamina	Tiramina
BAL seleccionada	< 1		< 1	
Flora indígena	13,8	2,7	50,3	8,3

Tabla 1. Producción de aminas biógenas en pinot noir con bacterias enológicas seleccionadas y durante la FML espontánea.

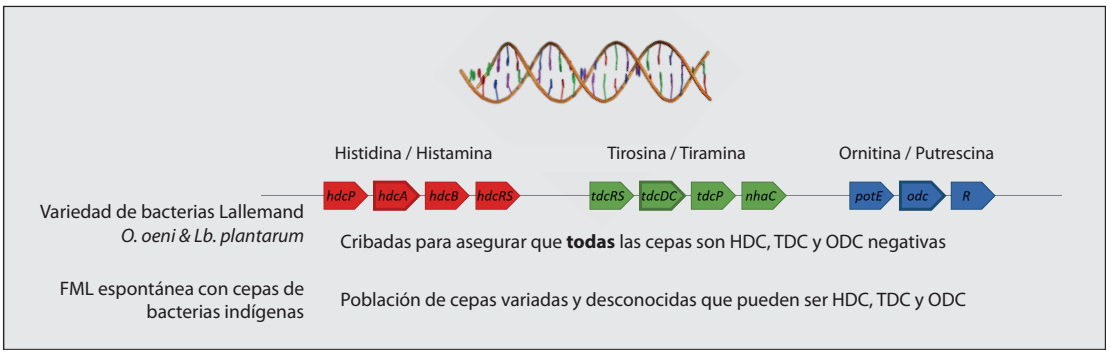


Figura 3. Resumen de los mecanismos de cribado para testear la capacidad de las BAL para producir aminas biógenas.

La coinoculación, para realizar la FML, con bacterias enológicas seleccionadas incapaces de producir aminas biógenas es beneficiosa para minimizar el riesgo del desarrollo de microflora indígena y la sobreproducción de aminas biógenas.

En el ejemplo, distintos ensayos de vino han demostrado que la inoculación con cepas de bacterias seleccionadas reduce el contenido biógeno del vino (Figura 4); el control es una FML espontánea.

La coinoculación también asegura que el vino se pueda estabilizar rápidamente y que también disminuya el riesgo de producción de AB durante los pasos previos al embotellado. Además, como las bacterias malolácticas son compatibles con la elaboración orgánica, son incluso más importantes para controlar los niveles de AB en esos vinos.

Con vinos con pH superior donde el SO_2 molecular será < 0,5 mg/L, se recomienda el uso de Bactiless™ después de la FML, dotando de mayor seguridad al vino.

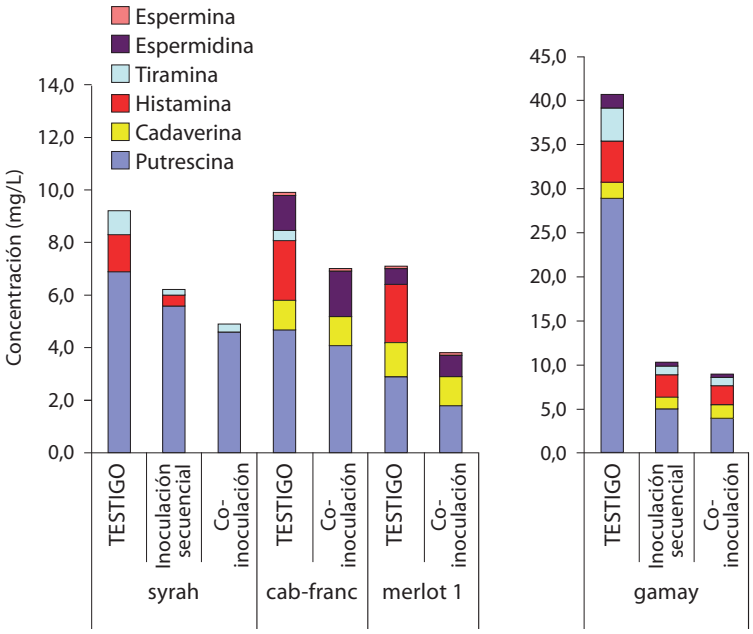


Figura 4. Niveles de AB después de la FML. Comparación entre diferentes momentos de inoculación

LALLEMAND
LALLEMAND OENOLOGY
Original by culture

THE WINE EXPERT

Algunas palabras de nuestro experto

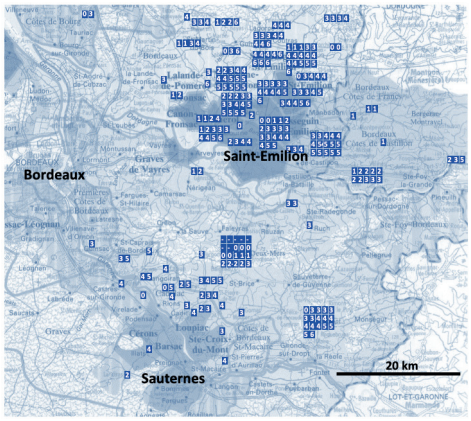
Patrick LUCAS es profesor de microbiología enológica y director adjunto de la Unidad de Investigación Enológica en el ISVV de la Universidad de Burdeos. Tras un doctorado en bioquímica y un posdoctorado en Canadá, se incorporó a la Unidad de Investigación Enológica en 2003 para llevar a cabo la investigación de las bacterias ácido lácticas en el vino. Se especializó en el estudio de las bacterias que producen aminas biógenas, sobre todo durante dos proyectos europeos de 2003 a 2012, así como en el estudio de la biodiversidad de la bacteria Oenococcus oeni *y en el papel que desempeña durante la fermentación maloláctica. Ha dirigido los trabajos de doctorado y posdoctorado de 11 estudiantes, ha realizado numerosas colaboraciones a nivel nacional e internacional y es autor de numerosas publicaciones, con más de 70 artículos conocidos.*

Las aminas biógenas son motivo de preocupación en toda la producción alimenticia. El primer trabajo científico relacionado con ello se remonta a los años 40 y ahora hay más de 11 000 publicaciones científicas. Solo en lo que se refiere al vino, existen alrededor de 400 publicaciones, lo que pone de relieve la importancia de este tema en la industria del vino.

A comienzos de los años 2000 se desarrolló un gran número de investigaciones para identificar las bacterias que producen las principales aminas biógenas en los vinos: histamina, putrescina, tiramina y cadaverina. Algunas cepas de *Oenococcus oeni*, especies *Lactobacillus* y *Pediococcus*, son capaces de producir aminas biógenas, pero solo aquellas que cuentan con los genes necesarios. Gracias a este conocimiento, se han desarrollado tests analíticos para detectar las cepas de bacterias que producen una o más aminas biógenas. Ahora los ofrecen los laboratorios para analizar la calidad de los vinos o la de las bacterias seleccionadas.

En 2005, nosotros mismos recurrimos a estos tests para localizar bacterias productoras de histamina en 264 vinos sometidos a la fermentación maloláctica. Detectamos estas bacterias en el 70 % de los vinos a niveles de población significativas. En algunos vinos, el contenido de histamina ya estaba por encima de los 10 mg/L antes de que finalizara la FML. Todas las bacterias responsables de esto fueron las Oenococcus oeni, que son bacterias nativas capaces de producir la FML al mismo tiempo que generan histamina. El riesgo de aparición de histamina o de otras aminas biógenas es, por tanto, permanente y significativo en el caso de la FML espontánea.

En 2011, basándose en todos los estudios científicos publicados, la OIV emitió un código de buenas prácticas de viticultura y de elaboración orientado a limitar el contenido de aminas en el vino. Las principales recomendaciones consisten en impedir la presencia de bacterias nativas durante la FML, mediante la fermentación con bacterias seleccionadas, así como durante la crianza y los periodos de almacenamiento de los vinos.



Los números representan los niveles de población de bacterias productoras de histamina en 264 vinos durante la FML añada 2004: 6= por encima de 10^E6 células/mL, 5= por encima de10^E5 células/mL, etc.

Resumen

Las aminas biógenas se encuentran en los alimentos y bebidas fermentadas, incluido el vino. De las muchas aminas biógenas que existen, la histamina, la tiramina y putrescina son las más importantes en el vino. Es el metabolismo de los aminoácidos por parte de las bacterias ácidas lácticas lo que hace que las aminas biógenas se encuentren en él. Los vinos tintos tienden a tener mayor contenido de aminas biógenas que los blancos, y este tipo de vino sufre totalmente la fermentación maloláctica impulsada por las bacterias.

La descarboxilación directa de los aminoácidos da como resultado la formación de aminas biógenas. Una amplia caracterización bioquímica y genómica ha conducido a la realización de tests sencillos para la identificación de genes de aminas biógenas en cepas BAL. Los vinos producidos utilizando microflora nativa pueden tener mayor contenido de aminas biógenas. La seguridad del consumidor justifica que se tomen mayores precauciones para evitar la producción de aminas biógenas.

Se han de aplicar las buenas prácticas de elaboración para evitar la producción de aminas biógenas: gestión del mosto y del pH del vino para minimizar la proliferación de la microflora nativa, estabilización de los mostos o de los vinos para una protección antimicrobiana con SO_2 o nuevas soluciones biológicas (tales como Bactiless™) y el uso de cepas de bacterias malolácticas (y particularmente en la coinoculación) que han sido cribadas por la ausencia de genes de aminas biógenas. Ya sea combinado con la elaboración orgánica o como parte de un método para reducir las adiciones químicas, el uso de las bacterias malolácticas es un paso clave para conseguir vinos con pocas aminas biógenas o sin ellas.