

COMPOSTOS NITROGENADOS DO VINHO: FATORES ENVOLVIDOS NA FORMAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E AMINAS BIOGÊNICAS

SCHUMACHER, Rafael Lizandro[†]; GARDIN, João Peterson Pereira^{**}; COLIMO, Aline Garus Saint Clair^{****}; BETTONI, Jean Carlos^{****}; MESSERSCHMIDT, Iara^{*****}

Resumo

A presença de aminas biogênicas em alimentos é considerada um ponto crítico na segurança alimentar, dada a sua implicação nos fenômenos de intoxicação dos consumidores. Em razão das às vias metabólicas de formação desses compostos estarem relacionadas com a atividade microbiana presente no meio, os vinhos são produtos que apresentam quantidades relativamente grandes destes compostos. A formação de aminas biogênicas nos vinhos tem sido um grave problema enfrentado pela maioria das vinícolas. Embora ainda não existam limites legais da concentração destes compostos nos vinhos, muitos países europeus desenvolveram suas próprias restrições, principalmente no que diz respeito à histamina. Portanto, além dos prejuízos à saúde humana e às características organolépticas dos vinhos, concentrações elevadas de aminas biogênicas também podem gerar prejuízos econômicos, visto que existe a possibilidade de embargos comerciais por parte destes países quando os vinhos apresentarem concentrações de aminas biogênicas acima dos limites preestabelecidos. Dessa maneira, faz-se necessário um melhor entendimento dos processos envolvidos na formação destes compostos nas uvas, mostos e vinhos, de modo que possamos reduzir ao máximo sua formação.

Palavras-chave: Aminoácidos. Aminas Biogênicas. Vinhos. Uvas.

[†] Engenheiro agrônomo; Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos; Doutorando em Enologia, Departamento de Química Analítica e Tecnologia dos Alimentos, Universidad de Castilla La-Mancha, Ciudad Real, Espanha; Bolsista doutorado FAPEG, Projeto Xisto Agrícola, Petrobrás/Embrapa/Epagri/Iapar. rlschumacher@gmail.com

^{**} Engenheiro Agrônomo, Doutor e Professor de Fisiologia Vegetal e Bioquímica na Universidade do Oeste de Santa Catarina Campus de Videira; joao.gardin@unoesc.edu.br

^{***} Química, Mestranda em Química na Universidade Federal do Paraná Campus de Curitiba; alngrs@gmail.com

^{****} Engenheiro Agrônomo, Coopervil, Caçador/SC; jcbettoni@gmail.com

^{*****} Química Industrial; Doutora na Universidade Federal do Paraná; Curitiba,PR; iaramesser@ufpr.br

Nitrogen compounds in wine: factors involved in formation of amino acids and biogenic amines

Abstract

The presence of biogenic amines in foods is considered a turning point in food safety, given their involvement in food poisoning. Due to the metabolic pathways, formation of these compounds are related to microbial activity, which makes wines products with relatively large amounts of these compounds. The formation of biogenic amines in wines has been a serious problem faced by most wineries. Although there are no legal limits on the concentration of these compounds in wines, many European countries have developed their own restrictions, especially with regard to histamine. Therefore, besides the damage to human health and organoleptic characteristics, high concentrations of biogenic amines can cause economic losses, once that there is the possibility of embargo of parts of those countries where the wines have concentrations of biogenic amines above the legal limits.

Keywords: Amino Acids. Biogenic Amines. Wines. Grapes.

1 INTRODUÇÃO

A presença de constituintes minoritários não nutritivos nos alimentos com ação fisiológica relevante, na maior parte das vezes prejudiciais para os consumidores, constitui um dos desafios mais interessantes em matéria de investigação alimentar. Com o intuito de reduzir os riscos para a saúde humana, o controle destes constituintes nos alimentos tem movido a comunidade científica no sentido de conhecer melhor suas vias de formação, permitindo sua identificação e/ou quantificação de forma inequívoca, de modo que possibilite a correta avaliação dos fatores de risco correlacionados com a ingestão do produto.

As aminas biogênicas fazem parte desse grupo de compostos, que apesar da sua relevância fisiológica, são susceptíveis de provocar intoxicações alimentares quando presentes em quantidades elevadas em determinados alimentos, como é o caso do pescado, do queijo e do vinho (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012; GARCÍA-MARINO; TRIGUEROS; ESCRIBANO-BAILÓN, 2010). O grau de intoxicação depende das concentrações de aminas biogênicas presente nos alimentos ingeridos, da quantidade ingerida destes alimentos, bem como do grau de sensibilidade dos indivíduos e da ingestão concomitante com álcool e/ou fármacos. Aos efeitos prejudiciais que podem desencadear na saúde dos consumidores, somam-se, também, outros efeitos negativos que afetam as características organolépticas dos alimentos (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

Desse modo, são necessários estudos mais detalhados com o intuito de avaliar o real impacto das aminas biogênicas na saúde humana. Para isso, é preciso conhecer melhor cada fator que está envolvido na formação e na concentração destes compostos nos alimentos. Esta revisão bibliográfica teve por objetivo abordar os temas relevantes que afetam as concentrações de aminas biogênicas nas uvas, bem como a influência que os processos de vinificação exercem na formação destas aminas nos mostos e nos vinhos resultantes.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 AMINOÁCIDOS

Os aminoácidos são unidades químicas de baixo peso molecular que possuem pelo menos um grupamento amina e outro carboxila ligados ao mesmo átomo de carbono. Os tecidos animais e vegetais possuem uma pequena porção do nitrogênio aminoacídico na forma livre, enquanto o restante está na forma proteica (FARFAN, 1994a). Apesar de não apresentarem valor nutricional, os aminoácidos livres são considerados de extrema importância em relação à qualidade sensorial e tecnológica dos produtos, assim como do ponto de vista da autenticidade da matéria-prima ou do produto final (FARFAN, 1994b).

Os aminoácidos estão entre os compostos nitrogenados mais conhecidos e estudados do vinho e compõem, junto com as proteínas e peptídeos, de 30 a 40% do nitrogênio total (SOUFLEROS et al. 2003). Estes compostos servem como nutrientes para as leveduras durante a fermentação alcoólica e participam do metabolismo das bactérias lácticas durante a fermentação malolática (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009; GOMEZ-ALONSO; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ; GARCIA-ROMERO, 2007).

Existe uma grande variabilidade na origem dos aminoácidos livres presentes nos vinhos. Além dos que estão presentes na própria uva e que podem ser totalmente ou parcialmente metabolizados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica, existem aqueles que são excretados pelas leveduras vivas no final da fermentação. Alguns são liberados por proteólise durante a autólise das leveduras mortas, e outros, pela degradação enzimática das proteínas da uva (BIDAN; FEUILLAT; MOULIN, 1986; SOUFLEROS et al., 2003).

Nas uvas, a importação e transporte de compostos nitrogenados nas bagas ocorre, na sua maior parte, depois do *veraison*, e a acumulação pode continuar durante a maturação (RODRIGUEZ-LOVELLE; GAUDILLÈRE, 2002). A glutamina é o principal composto nitrogenado transportado. As enzimas aminotransferases convertem a glutamina das bagas em outros aminoácidos, como a arginina e a prolina que, em conjunto, representam de 60 a 70% do total de aminoácidos das uvas maduras (BELL; HENSCHKER, 2005; GOES DA SILVA et al., 2005).

Nos mostos, os aminoácidos presentes são utilizados como nutrientes para o crescimento das leveduras, já que são consumidos como fontes de nitrogênio durante a fermentação alcoólica (SOUFLEROS et al., 2003). No início do processo fermentativo, as leveduras utilizam o nitrogênio dos sais de amônio para o seu desenvolvimento, seguido pelo nitrogênio dos aminoácidos livres. Alguns destes, particularmente, arginina, ácido glutâmico, glutamina, ácido aspártico, asparagina, treonina e serina, são preferentemente assimilados (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009). Isso explicaria a redução nas concentrações totais de aminoácidos nos períodos iniciais da fermentação (KATO et al., 2011). Por outro lado, os processos enzimáticos de degradação das proteínas e a autólise das leveduras incrementam as concentrações de aminoácidos nas etapas finais e posteriores à fermentação alcoólica (KATO et al., 2011; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009; FEUILLAT; BRILLANT; ROCHARD, 1980).

Os aminoácidos e o íon amônio também são importantes fatores de crescimento das bactérias lácticas, as quais são responsáveis pela fermentação malolática dos vinhos (GOMEZ-ALONSO; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ; GARCIA-ROMERO, 2007). Em geral, as concentrações de aminoácidos diminuem drasticamente nessa etapa da vinificação, uma vez que os peptídeos e os aminoácidos de

baixo peso molecular consistem na principal fonte de nitrogênio para as bactérias lácticas. Entre os aminoácidos, a leucina, arginina, metionina e histidina são os preferentemente assimilados. Por outro lado, existem outros aminoácidos que são consumidos quando as fontes primárias de nutrientes se terminam, como é o caso da glicina, alanina, asparagina e do ácido β -aminobutírico (BARRADO; RODRIGUEZ; CASTRILLEJO, 2009).

Vários estudos associam a composição de aminoácidos nos vinhos com a fermentação malolática. Soufleros et al. (2003) concluíram que há maior concentração de aminoácidos nos vinhos que não passaram por esse processo fermentativo. Isto se deve, principalmente, às mudanças mais pronunciadas nas concentrações de arginina e ácido g-aminobutírico, o qual mostrou uma concentração de quase cinco vezes menor nos vinhos que haviam completado a fermentação. De acordo com Ough, Crowell e Mooney (1988), a arginina, após a aparição das bactérias lácticas, metaboliza-se em ornitina, que logo é convertida em prolina e ureia. Estas descobertas estão de acordo com as observações feitas por Soufleros; Barrios e Bertrand (1998), os quais informam que, após a fermentação malolática, a concentração de aminoácidos nos vinhos geralmente se reduz, com exceção da fenilalanina e da ornitina.

No entanto, as mudanças nas concentrações de aminoácidos durante a fermentação malolática parecem estar diretamente relacionadas com as cepas de bactérias lácticas utilizadas. Por exemplo, em estudos feitos com quatro culturas diferentes de bactérias lácticas das espécies *Oenococcus oeni* e *Lactobacillus plantarum* durante a fermentação malolática dos vinhos, Pozo-Bayon et al. (2005), encontraram variações significativas nas concentrações de glutamina, glicina, β -alanina, α -alanina, ácido g-aminobutírico, valina e lisina. Do mesmo modo, Remize et al. (2006) determinaram os aminoácidos metionina, ácido glutâmico, serina, fenilalanina e tirosina como os essenciais para o desenvolvimento de cinco cepas de *Oenococcus oeni*. Por outro lado, Fernández e Manca de Nadra (2006), apontam que pode haver um aumento na concentração de alguns aminoácidos que seriam produzidos a partir da estimulação do sistema proteolítico pela mescla de algumas bactérias lácticas, em especial *Oenococcus oeni* e *Pediococcus pentosaceus*.

Em geral, o conteúdo total de aminoácidos presente nos vinhos depende de vários fatores, em especial, da cultivar, do porta-enxerto, da fertilização da videira, das condições climáticas, da localização geográfica do vinhedo, da safra e das práticas vitícolas empregadas, além dos métodos e características das vinificações como o tempo de maceração, o tipo de fermentação, o armazenamento, o envelhecimento, etc. (BARRADO; RODRIGUEZ; CASTRILLEJO; 2009; GARDE-CERDÁN et al., 2009; PEREIRA et al., 2008; BAUZA, KELLY, BLAISE, 2007; HERNÁNDEZ-ORTE et al., 2005; SOUFLEROS et al., 2003; SOUFLEROS, BARRIOS; BETRAND, 1998). No entanto, a fermentação alcoólica e a malolática superam todos os outros fatores sendo, portanto, os mais importantes na evolução desses compostos nos vinhos (HERBERT et al., 2005).

O total de nitrogênio amínico livre (soma dos aminoácidos, exceto a prolina) pode ser utilizado como indicador da qualidade do mosto, dado que baixos valores refletem em insuficientes reservas nutricionais para o desenvolvimento das leveduras, promovendo um prolongamento no tempo de fermentação (HERBERT et al., 2000).

As quantidades adequadas de nitrogênio nos mostos não se restringem apenas pela importância em promover a fermentação alcoólica, mas também em garantir a complexidade aromática final dos vinhos. O metabolismo dos aminoácidos pode originar a ésteres, alcoois superiores e ácidos graxos voláteis, compostos que estão envolvidos diretamente na formação do perfil sensorial dos vinhos

(HERBERT; SANTOS; ALVES, 2001; GARDE-CERDÁN; ACÍN-AZPILICUETA, 2008). Além disso, a composição de aminoácidos que sobra nos vinhos influencia nos aromas durante o processo de maturação e envelhecimento destes (ESCUDEIRO et al., 2000).

Desse modo, uma prática comum utilizada na enologia é adicionar sais de amônio aos mostos. Hernández-Orte et al., (2005) suplementaram os mostos da cultivar *Airén* (*Vitis vinifera* L.) com amônio e aminoácidos e notaram melhoras nos vinhos desde o ponto de vista organoléptico, por meio da diminuição das notas de enxofre e incremento das notas florais e cítricas. No entanto, esta adição deve ser controlada, visto que um excesso de nitrogênio pode gerar instabilidade microbiológica em decorrência do crescimento bacteriano e da produção de compostos carcinogênicos, como o carbamato de etilo (GARDE-CERDÁN; ACÍN-AZPILICUETA, 2008).

O perfil de aminoácidos dos vinhos apresenta uma grande variabilidade. Mesmo assim, sua composição pode ser uma ferramenta importante para a classificação do produto de acordo com sua cultivar, origem geográfica, tecnologia de produção, safra, etc. (SOUFLEROS et al., 2003; BARRADO; RODRIGUEZ; CASTRILLEJO, 2009).

Em relação à origem geográfica, Garde-Cerdán et al., (2009) em estudo feito com diferentes cultivares (Monastrell, Syrah, Merlot e Petit-Verdot), em duas safras distintas, observaram uma melhor adaptação destas à região de *Jumilla*, Espanha, pela análise do perfil de aminoácidos. A coincidência do perfil de aminoácidos majoritários e minoritários nestas cultivares demonstra uma contribuição para a classificação destes vinhos, segundo a sua origem geográfica. Do mesmo modo, Herbert et al. (2005) puderam diferenciar alguns vinhos portugueses de uma mesma cultivar, mas de regiões distintas pelas concentrações variáveis de aminoácidos.

Por outro lado, o perfil de aminoácidos pode ser utilizado para a diferenciação dos produtos e sua autenticidade. Soufleros et al., (2003) utilizaram o perfil de aminoácidos para diferenciar os autênticos champanhes franceses dos vinhos espumantes; Herbert et al., (2000) utilizaram o perfil de aminoácidos para comprovar a autenticidade dos vinhos fortificados do Porto.

2.2 AMINAS BIOGÊNICAS

As aminas biogênicas são bases orgânicas de baixo peso molecular que desempenham um papel importante como reguladores de diversos processos fisiológicos no organismo humano. Estão presentes nos produtos alimentícios em concentrações variáveis, em geral, como resultado da existência de processos fermentativos ou em razão das contaminações bacterianas (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012; GARCÍA-MARINO; TRIGUEIROS; ESCRIBANO-BAILÓN, 2010; LOPEZ et al., 2012). Dessa maneira, produtos fermentados como a cerveja, o vinho e o queijo são bons exemplos de substâncias que apresentam certas quantidades de aminas biogênicas (LOPEZ et al., 2012; ROMANO et al., 2012).

De acordo com a Figura 1, as aminas biogênicas podem ser classificadas, segundo sua estrutura química, em alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina e espedidina), aromáticas (tiramina e feniletilamina) e heterocíclicas (histamina e triptamina) (LONVAUD-FUNEL, 2001; SMIT; DU TOIT; DU TOIT; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

A evolução e a presença, tanto quantitativa como qualitativa, das aminas biogênicas nos vinhos não está bem definida e, às vezes, os resultados publicados são contraditórios (DEL PRETE et al., 2009). Na atualidade, a tendência é aceitar a existência da fermentação malolática como um dos

fatores mais importantes que determinam a presença destas amins nos vinhos (GARCÍA-MARINO; TRIGUEIROS; ESCRIBANO-BAILÓN, 2010; HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012; LOPEZ et al., 2012; PINEDA et al., 2012).

Em geral, as amins biogênicas são formadas mediante a descarboxilação de seus aminoácidos precursores, conforme indica a Figura 2. Esta descarboxilação é enzimática e se deve à presença de enzimas descarboxilases, que estão associadas à ação das leveduras e bactérias fermentativas, ou à ação de micro-organismos contaminantes (ARRIETA et al., 2012; HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012; LONVAUD-FUNEL, 2001; PINEDA et al., 2012). No entanto, a presença do gene que codifica para a formação das descarboxilases não garante que a enzima vai ser funcional e que haverá formação de amins biogênicas. É necessário também que o ambiente seja propício para a dita atividade enzimática. Assim, os parâmetros enológicos como pH, grau alcoólico, anidrido sulfuroso livre e temperatura influenciam diretamente nesta atividade (SMIT; DU TOIT; DU TOIT, 2008).

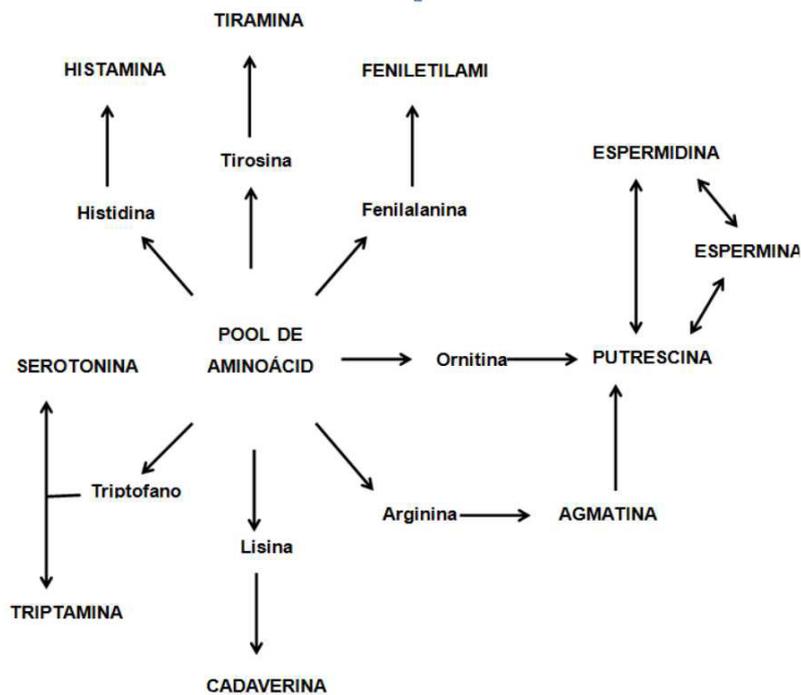
Além disso, alguns autores afirmam que as amins biogênicas podem-se originar nos vinhos por outras vias que não a descarboxilação dos aminoácidos. Del Prete et al., (2009), apontam que a formação de algumas amins pode estar relacionada à hidrólise de amidas derivadas dos ácidos hidroxicinâmicos procedentes das uvas, como resultado da ação das leveduras e bactérias lácticas. Estas amidas de ácidos hidroxicinâmicos podem se acumular nas plantas em resposta a algum distúrbio fisiológico. No entanto, não existem estudos específicos sobre a acumulação destas amidas nas uvas (JIN et al., 2003). Por outro lado, algumas amins podem ser encontradas naturalmente nas uvas, como é o caso, principalmente, da putrescina.

Figura 1 – Estrutura química de algumas amins biogênicas

AMINAS ALIFÁTICAS	
<p>Putrescina</p> <chem>NCCCCCN</chem>	<p>Metilamina</p> <chem>CN</chem>
<p>Etilamina</p> <chem>CCN</chem>	
<p>Cadaverina</p> <chem>NCCCCCCN</chem>	<p>Agmatina</p> <chem>NCCCCCN=C(N)N</chem>
<p>Espermidina</p> <chem>NCCCCCN(C)CCCN</chem>	<p>Espermina</p> <chem>NCCCCN(C)CCCCN(C)CCCN</chem>
AMINAS AROMÁTICAS	
<p>Tiramina</p> <chem>NCCc1ccc(O)cc1</chem>	<p>Feniletilamina</p> <chem>NCCc1ccccc1</chem>
AMINAS HETEROCÍCLICAS	
<p>Histamina</p> <chem>NCCc1c[nH]cn1</chem>	<p>Triptamina</p> <chem>NCCc1c[nH]c2ccccc12</chem>

Fonte: adaptado de Moreno-Arribas; Polo (2009).

Figura 2 – Aminas biogênicas e seus aminoácidos precursores.



Fonte: Ancín-Azpilicueta, (2008).

A presença de aminas biogênicas nos vinhos tem sido amplamente estudada nos últimos anos como consequência da crescente atenção à proteção da saúde dos consumidores (DEL PRETE et al., 2009). Em baixas concentrações, estes compostos são essenciais para o metabolismo normal e funções fisiológicas dos animais, plantas e micro-organismos. No entanto, estas aminas de origem biológica podem ter efeitos adversos em concentrações elevadas e representam um risco para a saúde humana, sobretudo para indivíduos sensíveis a estes compostos (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012; HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

Em condições normais, as aminas exógenas ingeridas como parte da dieta humana são absorvidas e transformadas rapidamente no organismo pela ação das enzimas monoamino oxidases, diamino oxidases e histamina-*N*-metil transferase (MARQUES; LEITÃO; SAN ROMÃO, 2008; LONVAUD-FUNEL, 2001). As oxidases catalisam as aminas biogênicas e produzem aldeídos, peróxido de hidrogênio e amoníaco, que são compostos menos ativos (GARDINI et al., 2005). No entanto, quando as rotas catabólicas normais das aminas são inibidas ou uma grande quantidade de alimentos que contém aminas biogênicas é ingerida, várias mudanças fisiológicas podem ocorrer. De fato, o nível toxicológico das aminas biogênicas depende da tolerância do indivíduo, da concentração total de aminas biogênicas ingeridas e do consumo concomitante de álcool e/ou medicamentos. No caso do álcool, existe diminuição da atividade das enzimas mono e diamino oxidase, as quais são responsáveis pelo catabolismo das aminas (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012; HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012; PINEDA et al., 2012).

A histamina é a amina biogênica mais tóxica e, por isso, a mais estudada. Sua presença nos vinhos pode causar uma série de efeitos adversos como dores de cabeça, edemas e erupções cutâneas, hipotensão, vômitos, palpitações, diarreias e problemas cardíacos. Outras aminas como a tiramina e a feniletilamina podem causar hipertensão e sintomas associados com a vasoconstrição, causada pela liberação de noradrenalina, como hemorragias cerebrais e enxaquecas (ARRIETA; PRATS-MOYA,

2012; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009; SILLA-SANTOS, 1996). Embora a cadaverina e a putrescina individualmente não possuam toxicidade, podem potencializar a toxicidade de outras amins por favorecerem a sua absorção (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012). Ainda com relação à toxicidade, a putrescina e as amins biogênicas secundárias como a espermidina e espermina, podem reagir com o ácido nitroso ou seus respectivos sais para a formação de nitrosaminas, que são consideradas como substâncias carcinogênicas (ANCÍN-AZPILICUETA; GONZÁLEZ-MARCO; JIMENÉZ-MORENO, 2008; COTON et al., 2010).

Além de possuírem efeitos negativos à saúde humana, existem algumas amins biogênicas que podem influenciar na qualidade sensorial dos vinhos, como é o caso da putrescina e da cadaverina, que atuam negativamente sobre o aroma dos vinhos dando-lhes sabores de putrefação e carne podre, respectivamente (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

Os limites tóxicos das amins biogênicas ainda não são conhecidos com precisão. Em geral, as doses tóxicas nas bebidas alcoólicas, que podem causar efeitos fisiológicos negativos, estão entre 8 e 20 mg.L⁻¹ para a histamina, 25 e 40 mg.L⁻¹ para a tiramina e 3 mg.L⁻¹ para a feniletilamina (SOUFLEUROS; BARRIOS; BERTRAND, 1998, 1998). Porém, a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), ainda não estabelece os limites máximos de amins biogênicas permitidas nos vinhos. Desse modo, alguns países elaboram suas próprias recomendações, especialmente para as concentrações de histamina. Enquanto Suíça e Áustria impõem restrições aos vinhos que contém mais de 10 mg.L⁻¹ de histamina, a França estabelece 8 mg.L⁻¹ como limite máximo, seguido por Bélgica com 5 a 6 mg.L⁻¹. Em outros países, estes limites são ainda mais restritos, como na Alemanha e na Holanda, que estabelecem como limite máximo 2 mg.L⁻¹ e 3 mg.L⁻¹, respectivamente (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009). Estas restrições podem ter efeitos negativos desde o ponto de vista econômico, visto que podem levar a embargos comerciais para os vinhos que contêm concentrações de amins superiores a estes limites (HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012).

2.2.1 As amins biogênicas das uvas e a influência dos fatores vitícolas

Várias amins biogênicas são constituintes normais das matérias-primas utilizadas na vinificação. Suas concentrações, tanto quantitativa quanto qualitativa, podem variar de acordo com inúmeros fatores. Entre eles, podemos citar cultivar, tipo e composição do solo, fertilização, condições climáticas do vinhedo e grau de maturação das uvas (ARRIETA; PRATS-MOYA, 2012; MANFROI et al., 2009). A putrescina e a espermidina geralmente são mais abundantes nas uvas, enquanto agmatina, cadaverina, espermina, histamina, tiramina e feniletilamina são encontradas em baixas quantidades (GARCÍA-VILLAR; HERNÁNDEZ-CASSOU; SAURINA, 2007; SOUZA et al., 2005; HAJÓS et al., 2000; GLORIA et al., 1998).

Segundo Del Prete et al. (2009) e Soufleros et al. (2007), é evidente que existe uma correlação entre a cultivar de uva utilizada e a presença de amins biogênicas nos vinhos. Broquedis, Dumery e Boucard (1989) mencionaram a espermidina e a putrescina como as amins quantitativamente mais importantes das uvas *Cabernet Sauvignon* e *Ugni Blanc*. Gloria et al. (1998) encontraram diferenças nas concentrações de histamina, putrescina e tiramina entre as variedades *Pinot Noir* e *Cabernet Sauvignon*, cultivadas na mesma região. Já Kiss, Korbász e Sasskiss, (2006) encontraram putrescina, cadaverina e espermidina no pericarpo e nas sementes de uvas das cultivares *Furmint* e *Hárslevelü*,

cultivadas na Hungria. Por outro lado, Soufleros et al. (2007) encontraram diferenças significativas de putrescina, cadaverina e espermidina em vinhos gregos elaborados a partir das mesmas condições de vinhedo e de práticas enológicas, porém, de diferentes cultivares. Marques, Leitão e San Romão, (2008), avaliando vinhos portugueses de diferentes cultivares, encontraram diferenças nas concentrações de aminas biogênicas, em especial tiramina. Manfroi et al. (2009) encontraram apenas espermidina, putrescina e cadaverina nas amostras de vinhos elaborados com uvas *Merlot*, cultivadas no Brasil. Cejudo-Bastante, et al. (2010) apontam apenas a espermidina e a putrescina como aminas oriundas das uvas *Trebbiano* e *Sauvignon Blanc*, cultivadas na Itália.

Considerando que as aminas são formadas pela descarboxilação dos aminoácidos precursores, é coerente pensar que seus níveis influenciam de alguma maneira na produção de aminas. Porém, existem controvérsias nos resultados e é difícil estabelecer uma conexão direta entre estes dois fatores. Um exemplo desta controvérsia são os trabalhos desenvolvidos por González-Marco, Jimenez-Moreno e Ancín-Azpilicueta (2006) e Soufleros et al. (2007). Os primeiros notaram um aumento nas concentrações de aminas biogênicas nos vinhos após a adição de aminoácidos nos mostos, já os segundos não verificaram correlações entre o consumo de aminoácidos precursores e a produção de aminas biogênicas nos vinhos.

A fertilização nitrogenada do vinhedo é outro fator que aumenta o conteúdo de compostos nitrogenados na uva, e por consequência, pode aumentar as concentrações de aminas biogênicas nos vinhos (BAUZA et al., 1995; BERTRAND; INGARGIOLA; DELAS, 1991). Segundo Bertrand, Ingargiola e Delas, (1991), o fornecimento de 100 kg de nitrogênio por hectare.ano⁻¹, duplicou as concentrações de todas as aminas em comparação com as videiras que não haviam recebido fertilização nitrogenada. No entanto, Soufleros et al., (2007) não encontraram diferenças nas concentrações de aminas nos vinhos provenientes de uvas cultivadas em sistema orgânico e convencional. Além disso, estudos indicam que solos deficientes em potássio podem favorecer o aumento na concentração de putrescina nas uvas (LANDETE et al., 2005).

As condições climáticas também parecem influenciar nos conteúdos de aminas biogênicas das uvas. Del Prete et al. (2009) apontam que os vinhos produzidos a partir de uvas cultivadas em condições climáticas adversas apresentam concentrações superiores de aminas, em uma comparação com aqueles vinhos provenientes de uvas cultivadas em condições favoráveis. Isso ocorre, ao menos em parte, pelas más condições de maturação das uvas em razão do desenvolvimento de fungos e podridões, o que leva a uma atividade microbiológica distinta daquela presente nas uvas saudáveis, aumentando assim as concentrações de algumas aminas (MARQUES, LEITÃO, SAN ROMÃO, 2008). Segundo Eder, Brandes e Poar (2002), as condições higiênicas das uvas afetam os níveis de algumas aminas, ou seja, as uvas podres apresentam maiores concentrações de aminas, especialmente isopentilamina e feniletilamina que as uvas de boa sanidade. Isso explica o fato de que os vinhos elaborados por meio de uvas botritizadas (podridão nobre), contêm mais aminas que os demais vinhos (HAJOS et al., 2000).

Variações nas concentrações de aminas biogênicas também são encontradas dependendo da safra. Marques, Leitão e San Romão, (2008) encontraram diferenças no conteúdo de aminas em vinhos de duas safras distintas e atribuem estas diferenças à diversidade de micro-organismos do vinho, os quais são naturalmente selecionados a cada ano de maneira diferente, provavelmente em decorrência das condições climáticas e das práticas vitícolas e enológicas empregadas.

Alguns autores indicam que existem diferenças nas concentrações de aminas de acordo com a região geográfica em que os vinhos são produzidos. Marques, Leitão e San Romão, (2008)

encontraram diferentes quantidades de aminas em vinhos portugueses provenientes de três regiões distintas. Herbert et al. (2005) encontraram diferenças nas concentrações de aminas em vinhos portugueses originados de sub-regiões dentro da região do Alentejo; Landete et al., (2005) notaram as diferenças nas concentrações de aminas em vinhos de diferentes regiões da Espanha. No entanto, estas variações também parecem estar diretamente relacionadas com as práticas vitícolas e enológicas utilizadas, além das condições do solo e do clima já descritas anteriormente.

2.2.2 Influência dos processos de vinificação na formação de aminas biogênicas nos vinhos

Potencialmente, todos os grupos microbianos que participam do processo de vinificação podem estar associados com a produção de aminas biogênicas. No entanto, é de comum acordo que as bactérias lácticas têm uma contribuição mais importante que as leveduras da fermentação alcoólica na concentração total de aminas biogênicas nos vinhos (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

Em geral, os vinhos que terminaram a fermentação malolática apresentam maiores níveis de aminas biogênicas que aqueles que não levaram a cabo a fermentação. Isso explicaria, ao menos em parte, o fato de que os vinhos tintos possuem maiores concentrações de aminas biogênicas que os vinhos brancos (HENRÍQUEZ-AEDO et al., 2012; ROMANO et al., 2012).

Apesar da microbiologia da fermentação malolática nos vinhos atualmente ser mais controlada mediante o uso de culturas selecionadas, em diversas vinícolas continua sendo desenvolvida de forma espontânea, a partir de bactérias autóctones (GARCÍA-MARINO, TRIGUEIROS; ESCRIBANO-BAILÓN, 2010; IZQUIERDO-CAÑAS et al., 2012). Essa diferença na composição bacteriana responsável pela fermentação malolática é a que pode levar a maiores ou menores concentrações de aminas biogênicas nos vinhos.

Vários estudos apontam que a utilização de bactérias selecionadas, especialmente *Oenococcus oeni*, podem reduzir a formação de aminas biogênicas nos vinhos. Martín-Álvarez, et al., (2006), apontam uma diminuição na formação de histamina, cadaverina e tiramina nos vinhos com a utilização de bactérias selecionadas. Estes resultados estão de acordo com os estudos feitos por Marques, Leitão e San Romão (2008), que demonstraram uma redução nas concentrações de aminas biogênicas nos vinhos com a utilização de bactérias lácticas selecionadas. Da mesma forma, Izquierdo-Cañas et al., (2008), verificaram um aumento significativo de histamina, tiramina e putrescina nos vinhos durante a fermentação malolática conduzida de forma espontânea.

No entanto, outros autores apontam que *Oenococcus oeni* é capaz de contribuir de maneira significativa para o conteúdo total de histamina nos vinhos; a capacidade desta espécie em produzir aminas biogênicas também varia de acordo com as cepas utilizadas (COTON et al., 1998; GUERRINI et al., 2002). De maneira geral, a conexão entre a fermentação malolática e a formação de aminas é uma questão de controvérsias e os resultados carecem de estudos mais detalhados.

A fermentação alcoólica é desempenhada por uma grande variedade de espécies de leveduras autóctones, juntamente com cepas comerciais de *Saccharomyces cerevisiae*. Em geral, se aceita o fato de que as leveduras não são capazes de liberar quantidades significativas de aminas nos vinhos. Granchi et al., (2005) verificaram que 50 cepas de leveduras isoladas de uvas e de vinhos não foram capazes de produzir algumas aminas, como a histamina, putrescina e tiramina. Estas descobertas são corroboradas por Landete Pardo e Ferrer (2007), que não encontraram produção de nenhuma amina

biogênica por 36 cepas de diferentes espécies de leveduras. Del Prete et al. (2009), também concluíram que *Saccharomyces cerevisiae* não tem a capacidade de produzir histamina, putrescina, cadaverina, tiramina e agmatina nos vinhos durante a fermentação alcoólica.

Por outro lado, Caruso et al. (2002), apontam que várias cepas de *Saccharomyces cerevisiae* podem incrementar os níveis de aminas biogênicas nos vinhos. García-Marino, Trigueiros e Escribano-Bailón (2010), descobriram maiores concentrações de aminas nos vinhos durante a fermentação alcoólica, principalmente por um incremento nos níveis de etilamina. Já Manfroi et al., (2009) encontraram maiores níveis de espermidina nos vinhos *Merlot* quando foram utilizadas cepas de leveduras *S. cerevisiae*, em comparação com as leveduras *S. bayanus* e com a fermentação espontânea. Garde-Cerdán e Ancín-Azpilicueta (2007) observaram a formação de putrescina durante a fermentação alcoólica espontânea da uva *Parellada*. Segundo Bover-Cid et al. (2006), os níveis de algumas aminas geralmente diminuem durante a fermentação alcoólica pelo fato de que estas aminas podem ser utilizadas como fontes de energia pelas leveduras. Portanto, as mudanças nas concentrações destas aminas podem estar relacionadas com a capacidade que cada cepa de levedura tem em utilizar ditas fontes de energia para o seu metabolismo.

Alguns fatores enoquímicos como o pH e o dióxido de enxofre (SO_2) tem um efeito notável sobre a atividade dos micro-organismos e, portanto, na formação de aminas biogênicas nos vinhos. As altas concentrações de SO_2 têm uma influência negativa sobre a atividade bacteriológica, enquanto que um pH alto favorece uma microflora bacteriana mais complexa (GARCÍA-VILLAR; SAURINA; HERNANDEZ-CASSOU, 2006).

Com o objetivo de atender a demanda dos consumidores, os vinhos tendem a ser menos ácidos que no passado. A maturação da uva costuma ser mais prolongada, com a finalidade de aumentar a extração de compostos fenólicos e a concentração de precursores de aromas. Como resultado, a acidez dos vinhos deve ser menor e maior é o pH. Dessa maneira, a microflora presente na vinificação aumenta as possibilidades de formação de aminas biogênicas (LONVAUD-FUNEL; JOYEUX, 1994).

Segundo Soufleros et al. (2007), os vinhos que contêm altas concentrações de aminas biogênicas apresentam quantidades relativamente baixas de ácido tartárico. Além disso, indicam que existe uma correlação negativa entre o conteúdo total de aminas e a soma dos ácidos málico, tartárico e cítrico. Estes estudos sugerem que sob níveis mais baixos de acidez (valores altos de pH) as bactérias são mais capazes de crescerem e metabolizarem estes componentes no vinho. Estes resultados são coerentes com os de outros autores como Lonvaud-Funel (2001), o qual afirma que em pH alto as aminas biogênicas são produzidas sempre em grandes quantidades, e por García-Villar, Saurina e Hernandez-Cassou, (2006), que indicam que a um pH alto a atividade descarboxilase da histidina é maior, produzindo maiores concentrações de histamina. De fato, vários estudos têm demonstrado que os vinhos tintos com um alto conteúdo de histamina ($> 10 \text{ mg.L}^{-1}$) se caracterizam por um pH superior a 3,7 (LANDETE et al., 2005; MARCOBAL et al., 2006).

O dióxido de enxofre é o agente antimicrobiano utilizado tradicionalmente nas vinícolas para eliminar os micro-organismos indesejáveis. Segundo alguns autores, a adição de SO_2 não afeta a formação de aminas biogênicas durante a fermentação alcoólica (GARDE-CERDÁN et al., 2007; CEJUDO-BASTANTE, et al., 2010). Por outro lado, a adição de SO_2 em concentrações capazes de reduzir a população bacteriana indesejável após a fermentação malolática, previne a formação de aminas biogênicas durante o envelhecimento e armazenamento dos vinhos tintos (MARCOBAL et al.,

2006). No entanto, valores elevados de pH e uma alta concentração de polifenóis podem prejudicar a eficiência do dióxido de enxofre e aumentar as concentrações de histamina nos vinhos de guarda (GARCÍA-MARINO et al., 2010; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

A maceração é uma técnica comum utilizada na elaboração de vinhos tintos. Além de extrair compostos fenólicos e precursores de aromas, a maceração aumenta a extração de outros componentes da uva, dentre eles, os aminoácidos. Uma vez que estes aminoácidos são precursores das aminas biogênicas, a formação destas se vê favorecida e suas concentrações nos vinhos pode aumentar (GARCÍA-MARINO; TRIGEUIROS; ESCRIBANO-BAILÓN; MARQUES; LEITÃO; SAN ROMÃO, 2008; MORENO-ARRIBAS; POLO 2009).

Durante o envelhecimento, o contato mais prolongado dos vinhos com as borras parece aumentar os níveis de aminas biogênicas, provavelmente em decorrência das proteínas presentes no meio, resultantes da autólise da levedura que são hidrolisadas a peptídeos, sendo estes degradados mais tarde em aminoácidos e aminas (MARQUES et al., 2008; BAUZA, et al. 1995). Além disso, de maneira geral, os vinhos que passaram por um período mais longo de envelhecimento apresentam maiores concentrações de aminas, em comparação com os vinhos mais jovens (SOUFLEROS et al., 2007).

Alguns tratamentos enológicos também podem afetar a concentração de aminas. De acordo com a literatura, o uso de bentonita, por exemplo, pode diminuir a concentração de algumas aminas, como a histamina, putrescina e isoamilamina (SOUFLEROS et al., 2007). Por outro lado, o uso de enzimas proteolíticas pode favorecer a formação de aminoácidos precursores de aminas biogênicas (MORENO-ARRIBAS, et al. 1998).

3 CONCLUSÃO

A presença das aminas biogênicas nos vinhos tem sido amplamente estudada, e sua formação ocorre por meio de um processo complexo que envolve muitos fatores, principalmente relacionados às condições de vinificação e fatores ambientais. No entanto, as informações ainda são insuficientes e muitas vezes controversas, indicando a necessidade de estudos mais detalhados. Espera-se que uma maior investigação sobre este assunto forneça respaldo para a criação de uma legislação específica para estes compostos, além de oferecer orientações básicas para que o vinicultor adeque o processo de vinificação visando ao seu cumprimento.

Nesse sentido, os pesquisadores da Estação Experimental da Epagri de Videira-SC, juntamente com pesquisadores do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, e da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos da *Universidad de Castilla La-Mancha*, Espanha, vêm desenvolvendo estudos na área enológica para avaliar o efeito dos tratamentos culturais dos vinhedos, bem como a influência dos processos de vinificação na formação de aminas e aminoácidos nas uvas, mostos e vinhos. Os resultados dessas pesquisas serão informados em publicações futuras.

REFERÊNCIAS

- ANCÍN-AZPILICUETA, C.; GONZÁLEZ-MARCO, A.; JIMÉNEZ-MORENO, N. Current knowledge about the presence of amines in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 48, p. 257-275, 2008.
- ARRIETA, M. P.; PRATS-MOYA, R. S. Free amino acids and biogenic amines in Alicante Monastrell wines. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1511-1519, 2012.
- BARRADO, E.; RODRIGUEZ, J. A.; CASTRILLEJO, Y. Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid magnet-chromatography. **Talanta**, Seattle, v. 78, p. 672-675, 2009.
- BAUZA, T. et al. Determination of biogenic amines and their precursor amino acids in wines of the Vallée du Rhône by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorimetric detection. **Journal of Chromatography A**, Tallahassee, v. 707, p. 373-379, 1995.
- BAUZA, T.; KELLY, M. T.; BLAISE, A. Study of polyamines and their precursor amino acid in Grenache Noir and Syrah grapes and wines of the Rhone Valley. **Food Chemistry**, Reading, v. 105, p. 405-413, 2007.
- BELL, S. J.; HENSCHKE, P. A. Implication of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 11, p. 242-295, 2005.
- BERTRAND, A.; INGARGIOLA, M. C.; DELAS, J. Incidence de la fumure azotée de la vigne et du greffage sur la composition des vins de merlot en particulier sur présence de carbamate d'éthyle et des amines biogènes. **Revue Française d'Oenologie**, Lattes, v. 31, p. 7-13, 1991.
- BIDAN, P.; FEUILLAT, M.; MOULIN, J. P. Techniques d'élaboration et appréciation de la qualité. Rapport de la France. **Bulletin de l'OIV**, Paris, v. 663-664, p. 563-626, 1986.
- BOVER-CID, S. et al. Biogenic, mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation. **Food Chemistry**, Reading, v. 96, p. 43-47, 2006.
- BROQUEDIS, M.; DUMERY, B.; BOUCARD, J. Mise en Évidence de polyamines (putrescine, cadaverine, nor-spermidine, spermidine, spermin) dans les feuilles et les grappes de *Vitis vinifera* L. **Connaissance de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 23, p. 1-6, 1989.
- CARUSO, M. et al. Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeast. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 18, p. 159-163, 2002.
- CEJUDO-BASTANTE, M. J. et al. Fermentation of sulphite-free white musts with added lysozyme and oenological tannins: Nitrogen consumption and biogenic amines composition of final wines. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 43, p. 1501-1507, 2010.

COTON, E. et al. Histamine-producing lactic acid bacteria in wines; early detection, frequency and distribution. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 49, p. 199-204, 1998.

COTON, M. et al. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. **Food Microbiology**, Summit-Argo, v. 27, p. 1078-1085, 2010.

COSTANTINI, A. et al. Biogenic amine production by contaminating bacteria found in starter preparations used in winemaking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 57, p. 10664-10669, 2009.

DEL PRETE, V. et al. Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. **Food Chemistry**, Reading, v. 112, p. 474-481, 2009.

EDER, R.; BRANDES, W.; PAAR, E. Einfluss von Traubenfäulnis und Schönungsmitteln auf Gehalte biogener Amine in Mästen und Weinen. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruchteverwertung**, Klosterneuburg, v. 52, p. 204-217, 2002.

ESCUADERO, A. et al. Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 48, p. 4268-4272, 2000.

FARFAN, J. A. Os aminoácidos. In: _____ (Org.). **Química de proteínas, aplicada à ciência e tecnologia de alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, p. 17-30, 1994a.

_____. Determinação de aminoácidos livres em alimentos. In: SEMINÁRIO SOBRE ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS EM ALIMENTOS E OUTROS MATERIAIS BIOLÓGICOS, Campinas, 1994. **Palestras**. Campinas: ITAL, 1994b.

FERNÁNDEZ, P. A. A.; MANCA DE NADRA, M. C. Growth response and modification of organic nitrogen compounds in pure and mixed cultures of lactic acid bacteria from wine. **Current Microbiology**, Braunschweig, v. 52, p. 86-91, 2006.

FEUILLAT, M.; BRILLANT, G.; ROCHARD, J. Mise en évidence d'une production de protéases exocellulaires par les levures au cours de la fermentation alcoolique du Mouët de Raisin. **Connaissance de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 14, p. 37-52, 1980.

GARCÍA-MARINO, M.; TRIGUEROS, Á.; ESCRIBANO-BAILÓN, T. Influence of oenological practices on the formation of biogenic amines in quality red wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, Grangues, v. 23, p. 455-462, 2010.

GARCÍA-VILLAR, N.; HERNÁNDEZ-CASSOU, S.; SAURINA, J. Characterization of wines through the biogenic amine contents using chromatographic techniques and chemometric data analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 55, p. 7453-7461, 2007.

GARCÍA-VILLAR, N.; SAURINA, J.; HERNANDEZ-CASSOU, S. High-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in wines with an experimental design optimization procedure. **Analytica Chimica Acta**, Louisville, v. 575, p. 97-105, 2006.

GARDE-CERDÁN, T.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. Effect of SO₂ on the formation and evolution of volatile compounds in wines. **Food Control**, Reading, v. 18, p. 1501-1506, 2007.

_____. Effect of the addition of different quantities of amino acids during wine alcoholic fermentation. **LWT – Food Science and Technology**, Zurich, v. 41, n. 3, p. 501-510, 2008.

GARDE-CERDÁN, T. et al.. Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differential grape varieties and cultivated system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 57, n. 6, p. 2410-2419, 2009.

GARDINI, F.; et al. Factors influencing biogenic amine production by a strain of *Oenococcus oeni* in a model system. **Food Control**, Reading, v. 16, p. 609-618, 2005.

GLORIA, M. B. A. et al. A survey of biogenic amines in Oregon Pinot Noir and Cabernet Sauvignon wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 49, p. 279-282, 1998.

GOES DA SILVA, F. et al. Characterizing the grape transcriptome. Analysis of expressed sequence tags from multiple *Vitis* species and development of a compendium of gene expression during berry development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 139, p. 574-597, 2005.

GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; GARCÍA-ROMERO, E. Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 55, p. 608-613, 2007.

GONZÁLEZ-MARCO, A.; JIMENEZ-MORENO, N.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. Influence of addition of yeast autolysate on the formation of amines in wine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 86, p. 2221-2227, 2006.

GRANCHI, L. et al. Production of biogenic amines by wine microorganisms. **Bulletin de l'OIV**, Paris, v. 78, p. 595-609, 2005.

GUERRINI, S. et al. Biogenic amine production by *Oenococcus oeni*. **Current Microbiology**, Braunschweig, v. 44, p. 374-378, 2002.

HAJÓS, G. et al. Changes in biogenic amine content of Tokaj grapes, wines, and Aszú-wines. **Journal of Food Science**, Malden, v. 65, p. 1142-1144, 2000.

HERBERT, P. et al. HPLC determination of amino acids in musts and Port wines using OPA/FMOC derivatives. **Journal of Food Science**, Malden, v. 65, n.7, p. 1130-1133, 2000.

HERBERT, P. et al. Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. **Journal of Food Engineering**, Davis, v. 66, p. 315-322, 2005.

HERBERT, P.; SANTOS, L.; ALVES, A. Simultaneous quantification of primary, secondary amino acids, and biogenic amines in musts and wines using OPA/3-MPA/FMOC-CI fluorescent derivatives. **Journal of Food Science**, Malden, v. 66, n. 9, p. 1319-1325, 2001.

HERNÁNDEZ-ORTE, P. et al. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory proprieties of the obtained wine. **Food Chemistry**, Reading, v. 89, p. 163-174, 2005.

HENRÍQUEZ-AEDO, K. et al. Evaluation of biogenic amines content in chilean reserve varietal wines. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, p. 2742- 2750, 2012.

IZQUIERDO-CAÑAS, P. M. et al. Amino acids and biogenic amines during spontaneous malolactic fermentation in Tempranillo red wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, Grangues, v. 21, n. 8, p. 731-735, 2008.

IZQUIERDO-CAÑAS, P. M. et al. Influence of inoculation time of an autochthonous selected malolactic bacterium on volatile and sensory profile of Tempranillo and Merlot wines. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, p. 245-254, 2012.

JIN, S. et al. Accumulation of hydroxycinnamic acid amides in winter wheat under snow. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 67, n. 6, p. 1245-1249, 2003.

KATO, S. et al. Alteration in D-amino acids concentration and microbial community structures during the fermentation of red and white wines. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Ishikawa, v. 111, n. 1, p. 104-108, 2011.

KISS, J.; KORBÁSZ, M.; SASS-KISS, A. Study of amine composition of botrytized grape berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 53, p. 8909-8918, 2006.

LANDETE, J. M. et al. Biogenic amines in wines from three Spanish regions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 53, p. 119-1124, 2005.

LANDETE, J. M.; PARDO, I.; FERRER, S. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. **Food Control**, Reading, v. 18, p. 1569-1574, 2007.

LONVAUD-FUNEL, A. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, Birmingham, v. 19, p. 9-13, 2001.

LONVAUD-FUNEL, A., JOYEUX, A. Histamine production by wine lactic acid bacteria: isolation of a histamine-producing strain of *Leuconostoc oenos*. **Journal of Applied Bacteriology**, Belfast, v. 77, p. 401-407, 1994.

LÓPEZ, R. et al. Elaboration of Tempranillo wines at two different pHs. Influence on biogenic amine contentes. **Food Control**, v. 25, p. 583-590, 2012.

MANFROI, L.; SILVA, P. H. A.; RIZZON, L. A.; SABAINI, P. S.; GLÓRIA, M. B. A. Influence of alcoholic and malolactic starter cultures on bioactive amines in Merlot wines. **Food Chemistry**, Reading, v. 116, p. 208-213, 2009.

MARCOBAL, A. et al. Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 69, p. 391-396, 2006.

- MARQUES, A. P., LEITÃO, M. C., SAN ROMÃO, M. V. Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. **Food Chemistry**, Reading, v. 107, n. 2, p. 853-860, 2008.
- MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J. et al. Technological factors influencing biogenic amine production during red wine manufacture. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 222, p. 420-424, 2006.
- MORENO-ARRIBAS, M. V. et al. Changes in the amino acids composition of the different nitrogenous fractions during the aging of wine with yeast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 46, p. 4042-4051, 1998.
- MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. Nitrogen compounds, In: _____(Org.). **Wine chemistry and biochemistry**. Madrid: Springer, 2009. cap. 6, p. 161-230.
- OUGH, C. S.; CROWELL, E. A.; MOONEY, L. A. Formation of ethyl carbamate precursors during grape juice (Chardonnay) fermentation. I. Addition of amino acids, urea and ammonia: effects of fortification on intracellular and extracellular precursors. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 39, p. 243-249, 1988.
- PEREIRA, V. et al. Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. **Journal of Chromatography A**, Tallahassee, v. 1189, p. 435-443, 2008.
- PINEDA, A. et al. Preliminary evaluation of biogenic amines content in Chilean young varietal wines by HPLC. **Food Control**, V. 23, P. 251-257, 2012.
- POZO-BAYÓN, M. A. et al. Wine volátiles and amino acid composition after malolactic fermentation: Effects of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* stater cultures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 53, p. 8729-8735, 2005.
- REMIZE, F. et al. *Oenococcus oeni* preference for peptides: quantitative and qualitative analysis of nitrogen assimilation. **Archives of Microbiology**, Paris, v. 189, n. 6, p. 459-469, 2006.
- RODRIGUEZ-LOVELLE, B.; GAUDILLÈRE, J. P. Carbon and nitrogen partitioning in either fruiting or non-fruiting grapevines: effects of nitrogen limitation before and after veraison. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 8, p. 86-94, 2002.
- ROMANO, A. et al. Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry. **Food Chemistry**, v.135, p. 1392-1396, 2012.
- SILLA-SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 29, n. 2-3, p. 213-231, 1996.
- SMIT, A. Y.; DU TOIT, W. J.; DU TOIT, M. Biogenic Amines in Wine: Understanding the Headache. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 29, n. 2, p. 109-127, 2008.

Rafael Lizandro Schumacher et al.

SOUFLEROS, E. H.; BARRIOS, M. L.; BERTRAND, A. Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 49, n. 3, p. 266-278, 1998.

SOUFLEROS, E. H. et al. Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. **Food Chemistry**, Reading, v. 80, p. 261-273, 2003.

SOUFLEROS, E. H. et al. Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC and ultraviolet detection after dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. **Food Chemistry**, Reading, v. 101, p. 704-716, 2007.

SOUZA, S. C. et al. Bioactive amines in Brazilian wines: Types, levels and correlation with physico-chemical parameters. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 53-62, 2005.

Agradecimentos

Ao projeto Xisto Agrícola, uma parceria entre a Embrapa Clima Temperado, Petrobrás, Iapar e Epagri.

Recebido em 10 de agosto de 2012

Aceito em 28 de outubro de 2012