Il vino può essere soggetto a gravi alterazioni dovute a lieviti contaminanti capaci di modificarnele proprietà organolettiche e di produrre sostanze potenzialmente tossiche.
La consapevolezza circa questo rischio è ormai radicata nei tecnici e nei ricercatori che si occupano di enologia, tanto che numerosi lavori scientifici hanno indagato la biologia di questi lieviti, chiarendone l'origine, i meccanismi d'azione e le pratiche enologiche ritenute utili per contrastarne l'evoluzione. Tuttavia il problema delle contaminazioni microbiche rimane presente nell'industria enologica a causa delle peculiari caratteristiche del vino, che rendono spesso inapplicabili trattamenti di stabilizzazione ormai largamente diffusi nell'industria agroalimentare. Inoltre, alcune delle tecnologie adottate durante la vinificazione favoriscono lo sviluppo di microrganismi indesiderati, come la vinificazione o l'affinamento del vino in botti o barrique. È, infatti, noto che i vasi vinari in legno conferiscono al vino peculiari caratteristiche sensoriali e contribuiscono alla stabilizzazione delle componenti polifeniche, ma lo stesso legno di cui questi contenitori sono fatti protegge i microrganismi dai trattamenti di sanificazione, favorendone la proliferazione a discapito della qualità del vino e rendendo possibili contaminazioni incrociate tra vini di diverse annate.

IL VINO BUONO STA... NELLA BOTTE PULITA!

LEGNI SANITIZZATI IN MODO EFFICACE PER VINI AL RIPARO DA CONTAMINAZIONI MICROBICHE INDESIDERATE. COME?

RAFFAELE GUZZON*
TIZIANA NARDIN*
MARIO MALACARNE*
ROBERTO LARCHER*



I CASI SONO IN AUMENTO

Se le problematiche di sanitizzazione dei vasi vinari in legno sono note ormai da diversi anni, si assiste oggi a un aumento degli episodi di gravi alterazioni microbiologiche dei vini, anche in aziende che adottano le corrette pratiche per la pulizia delle attrezzature di cantina. Le cause della recrudescenza delle alterazioni microbiche sono molteplici, e solo in parte dovute a errate scelte tecniche. Le variazioni climatiche riscontrate negli ultimi anni stanno portando a un'evoluzione delle caratteristiche dei vini, in particolare riducendone l'acidità, che li rende più ospitali per numerose specie microbiche spesso indesiderate. Inoltre, a causa della maggiore sensibilità dei consumatori, l'uso di antisettici tradizionalmente impiegati in enologia, come l'anidride solforosa, si è sensibilmente ridotto fino a valori spesso privi di una reale azione antisettica.

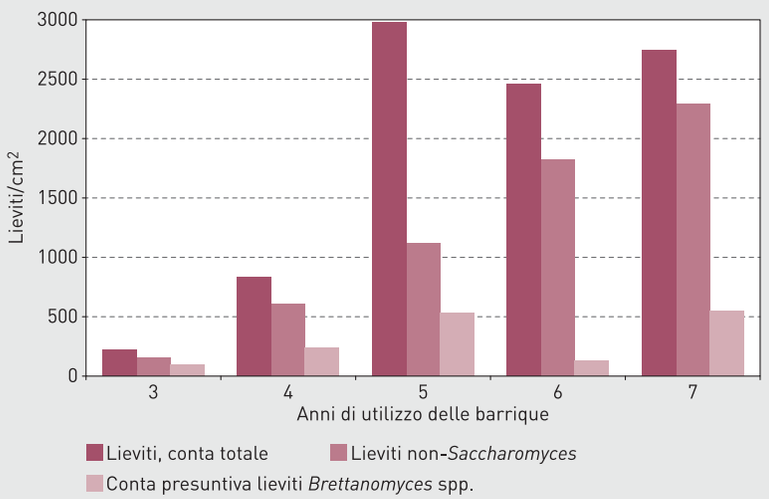
NEL CONCRETO

Nel triennio 2009 - 2012 i tecnologi del Centro di Trasferimento Tecnologico della Fondazione Edmund Mach (San Michele all'Adige, TN) hanno svolto diversi monitoraggi microbiologici in aziende viti-enologiche italiane, per meglio comprendere i meccanismi legasti alla proliferazione microbica all'interno dei vasi vinari e per individuare le strategie più utili per un efficace contrasto. Particolarmente rappresentativo è il piano campionario eseguito presso un'importante cantina toscana durante l'annata 2010 i cui risultati, ormai completamente elaborati, possono fornire una chiave di lettura utile a comprendere l'evoluzione della flora contaminante e le strategie utili per il suo contenimento.

Le conte microbiche

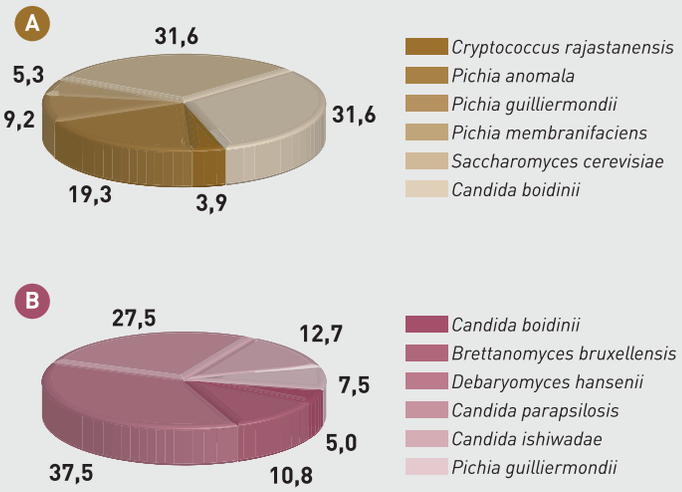
Come prima cosa si è valutato il grado di contaminazione delle botti presenti presso l'azienda, dedita alla produzione di vini rossi che tradizionalmente maturano in barrique. I risultati dei campionamenti (grafico 1) hanno dimostrato come la contaminazione delle botti aumenti proporzionalmente all'età dei vasi vinari. Barrique usate per più di tre anni sono caratterizzate da una concentrazione di lieviti prossima o superiore alle 1000 cellule per cm^2, un valore di almeno dieci volte superiore rispetto a quello di botti più recenti. È interessante osservare che le botti monitorate sono state regolarmente pulite, durante il loro uso, utilizzando le tecnologie disponibili nell'industria enologica. Questi dati confermano quindi la difficoltà nell'ottenere una reale ed efficace sanitizzazione delle botti, con la conseguenza che al loro interno viene ad accumularsi una consistente microflora in grado di alterare i vini che in quelle botti venissero conservati. La caratterizzazione biomolecolare dei lieviti isolati ha permesso di identificare le specie di lievito che caratterizzavano la popolazione delle botti. I lieviti appartenenti ai generi *Pichia* e *Candida* rappresentano più del 50% della popolazione microbica all'interno delle botti. *Saccharomyces* è presente in ragione del 20% della carica microbica totale (grafico 2). I dati raccolti concordano con lavori scientifici precedenti svolti in diversi contesti enologici (Francia, America Latina ecc…) e inducono a ipotizzare che le caratteristiche delle popolazioni di lieviti contaminanti non dipendano dalle peculiarità delle diverse zone enologiche, ma piuttosto dalle caratteristiche del vino che, essendo un

CONTAMINAZIONE ED ETÀ DEI VASI VINARI



Graf. 1 - Evoluzione della concentrazione di lieviti misurata all'interno di barrique in relazione agli anni di utilizzo. È evidente l'aumento della popolazione microbica all'aumentare dell'età dei vasi vinari, segno che i trattamenti di sanificazione non sono efficaci.

I MICRORGANISMI CONTAMINANTI



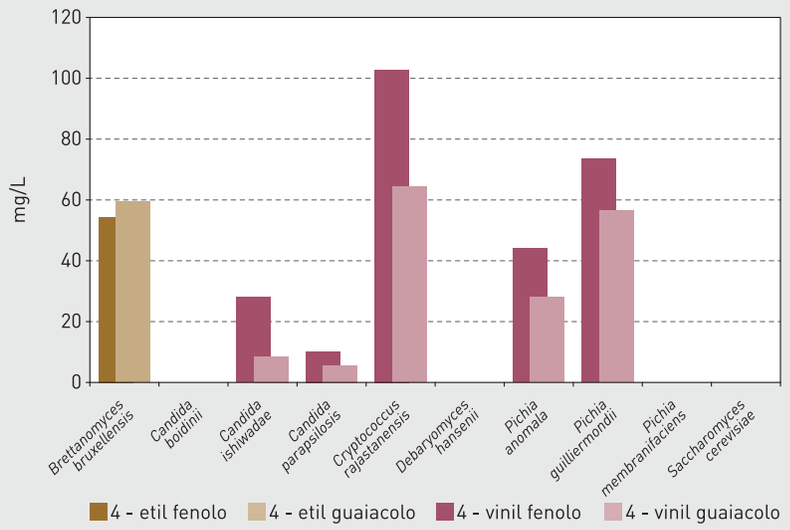
Graf. 2 - Composizione % della popolazione di lieviti presente all'interno delle botti. A: dati ottenuti su terreno generico. B: dati ottenuti su terreno DBDM Agar. Dominano i lieviti non-*Saccharomyces; Brettanomyces* rappresenta circa il 10% della flora microbica isolata su uno specifico terreno di crescita. Non è stato possibile isolare questo lievito su un terreno generico per la crescita dei microrganismi enologici.

ambiente fortemente selettivo per lo sviluppo microbico, permette la sopravvivenza di un limitato numero di microrganismi. *Brettanomyces/Dekkera*, il lievito contaminate più dannoso, in quanto in grado di produrre composti aromatici sgradevoli e dalla bassissima soglia olfattiva, rappresenta circa il 10% della popolazione microbica totale all'interno delle botti (vedere box).

Gli aspetti sensoriali

Al termine del monitoraggio microbiologico in cantina sono stati svolti, presso i laboratori della Fondazione Mach, una serie di test con l'obbiettivo di valutare la capacità dei lieviti isolati dalle botti di produrre alcune delle molecole con il più grave impatto sulle qualità sensoriali del vino: i fenoli volatili. I risultati dei test (grafico 3) hanno dimostrato che cinque tra le specie di lievito isolate in cantina sono in grado di produrre fenoli volatili a concentrazioni superiori alla soglia sensoriale, quindi con un impatto negativo sulla qualità del vino. Com'era lecito aspettarsi, *Brettanomyces* ha prodotto etilfenoli mentre lieviti appartenenti ai generi *Candida, Pichia* e *Cryptococcus* hanno prodotto rilevanti quantità di vinilfenoli, con tassi di conversione del substrato, gli acidi cinnamici, compresi tra il 24 e il 100%.

LA PRODUZIONE DI FENOLI VOLATILI



Graf. 3 - Concentrazione di fenoli volatili dopo 5 giorni di incubazione in terreno sintetico inoculato con diverse specie di microrganismi alterativi.

BRETT, DIFFICILE DA MONITORARE

È utile sottolineare come non si sia riusciti a isolare *Brettanomyces* utilizzando un comune terreno microbiologico per la conta dei lieviti. L'isolamento di questa specie è stato possibile solo utilizzando uno specifico substrato preparato presso il laboratorio, a dimostrazione di quanto sia complesso il monitoraggio di *Brettanomyces* e di come sia necessario affidarsi a laboratori specializzati. Infatti, la presenza nell'ambiente enologico di diverse specie di lievito caratterizzate da una crescita vigorosa può inibire lo sviluppo di *Brettanomyces* durante l'analisi microbiologica, rendendo complessa la sua corretta quantificazione e identificazione.

METODI A CONFRONTO

Per rispondere a diverse sollecitazioni, giunte da operatori del settore, durante le attività condotte nell'annata 2010 sono stati testati 4 trattamenti di sanificazione su un set di barrique di età variabile tra i 3 e i 5 anni di utilizzo. Vista la notevole varietà di tecnologie per la sanificazione disponibili sul mercato, si è deciso di confrontare 4 tecnologie che non richiedano l'uso di composti chimici che possano potenzialmente residuare in cantina o nell'ambiente (figura 1 e grafico 4).
I trattamenti con vapore e ozono hanno dato i migliori risultati, eliminando fino al 90% dei lieviti presenti. L'elevata efficacia dei trattamenti termici nell'abbattere la flora microbica all'interno delle botti era del tutto attesa, dato che i microrganismi enologici non sono in grado di generare forme termoresistenti, come le spore. Nonostante i tempi e le temperature applicate in questa prova (30 minuti di trattamento con vapore fluente) fossero superiori a quelli solitamente utilizzati nell'industria agroalimentare, una parte significativa della popolazione di lieviti è comunque sopravvissuta, probabilmente grazie all'inerzia termica del legno, che ha protetto le cellule dal danno termico.
L'ozono, il secondo agente sanitizzante testato,



è già stato utilizzato come nell'industria alimentare. L'azione di questa molecola si basa sulla sua forte reattività verso molecole essenziali alla vita cellulare, come gli acidi grassi o le molecole cicliche. I risultati dei test di sanificazione delle botti con trattamenti con ozono, sia utilizzato direttamente come gas sia disciolto in acqua, sono comparabili con quelli dei trattamenti termici con vapore

I METODI TESTATI

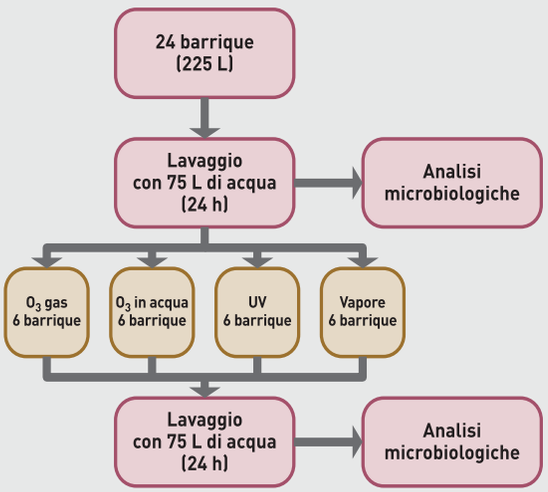
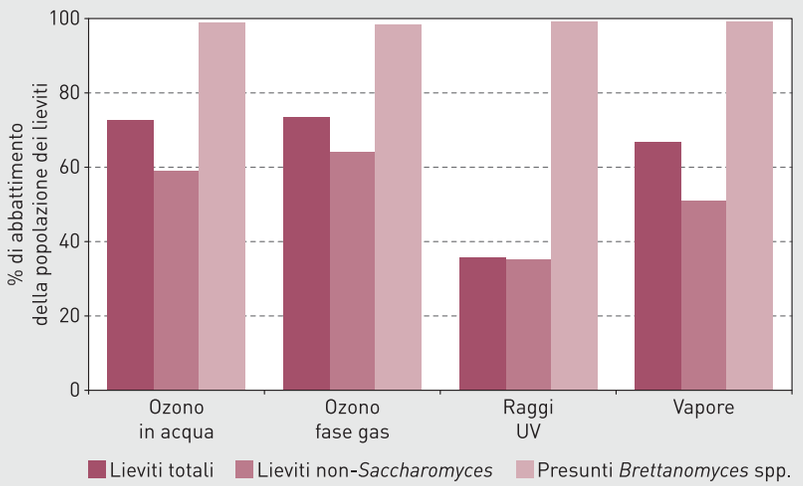


Fig. 1 - Piano sperimentale dei test volti a confrontare diversi trattamenti di sanitizzazione.

EFFICACIA A CONFRONTO



Graf. 4 - Efficacia antimicrobica, espressa in % di cellule eliminate, dei 4 trattamenti per la sanitizzazione di vasi vinari testati.

in termini di efficacia, ma hanno un consumo energetico notevolmente inferiore. La parziale perdita di efficacia dell'ozono rispetto alle performance osservate in diversi ambiti industriali è imputabile alla presenza di materiale organico all'interno delle botti, che ha causato un rapido decadimento dell'ozono; un'accurata pulizia prima del trattamento di sanificazione è dunque indispensabile.
L'irraggiamento con radiazioni ultraviolette, già applicato alla pastorizzazione *a freddo* di acqua o bevande alimentari e ai trattamenti di superfici, ha avuto scarsa efficacia nelle botti, eliminando mediamente solo il 35% dei lieviti. Tali risultati sono probabilmente dovuti alla porosità del legno, capace di proteggere le cellule dall'irraggiamento diretto.

UNO STEP CRITICO

In conclusione, è possibile affermare che la prevenzione delle alterazioni del vino dovute a lieviti non-*Saccharomyces* rimane un punto critico del processo di vinificazione.
I risultati di questo studio hanno confermato che le botti contengono elevate concentrazioni di microrganismi, causando la contaminazione del vino durante l'affinamento. L'identificazione dei lieviti presenti all'interno delle botti ha confermato la presenza di numerose specie, la cui concentrazione è legata agli anni di utilizzo del vaso vinario.
I lieviti appartenenti al genere *Brettanomyces* hanno confermato la loro capacità di produrre elevate quantità di etilfenoli, tuttavia diversi altri generi microbici sono stati in grado di produrre molecole con negativi effetti sulla qualità dei vini. Il vapore e l'ozono si sono dimostrati validi agenti sanitizzanti, in grado di abbattere la carica microbica all'interno dei vasi vinari, sebbene i risultati dei trattamenti siano fortemente influenzati dalle peculiarità delle singole botti. Nuovi studi sono però necessari per arrivare a definire un protocollo che consenta di ottimizzare l'efficacia di questi trattamenti di sanificazione in vasi vinari di legno. ■

**Unità Chimica Vitienologica e Agroalimentare Centro di Trasferimento Tecnologico, Fondazione Edmund Mach - San Michele all'Adige (TN)*

© RIPRODUZIONE RISERVATA