



Stabilità microbiologica dei vini e chitosani, lo stato dell'arte

Il tema del controllo microbiologico è di stretta attualità. Nelle cantine così come negli istituti di ricerca sono molti gli sforzi per individuare soluzioni efficaci, salutari e sostenibili, in vini con pH sempre più elevati e livelli di solforosa sempre più bassi. I chitosani rappresentano una delle soluzioni più percorribili. Ne abbiamo parlato con Roberto Larcher, Stefano Amerighi e Federico Radi

La stabilità microbiologica del vino è un obiettivo che a volte pare difficilmente raggiungibile, in un periodo storico dove da un lato il cambiamento climatico e dall'altro i nuovi trend di consumo riducono le possibilità di azione degli enologi.

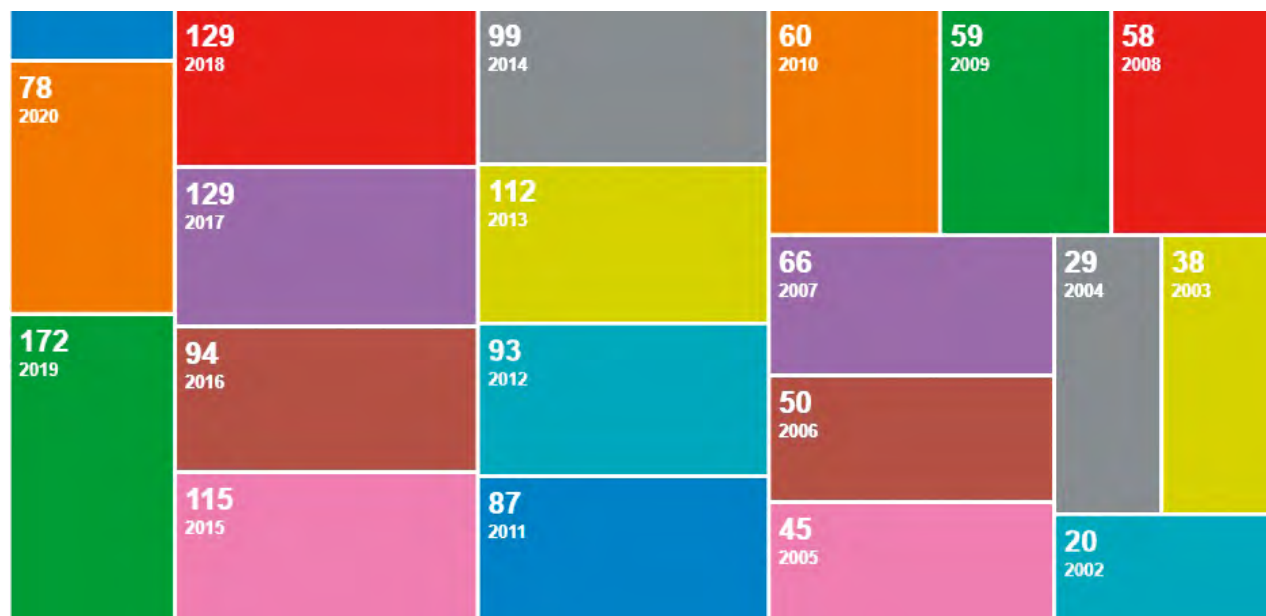
Incremento del grado alcolico potenziale, riduzione dell'acidità naturale dei vini, limitazioni nell'uso di anidride solforosa e di altri strumenti enologici, lasciano più spazio all'attività microbica lungo il processo di vinificazione. Se da un lato si è acquisita una maggior consapevolezza circa il ruolo positivo della microflora

"indigena" nelle prime fasi della vinificazione, per apportare complessità al vino, dall'altro è vero che se i microrganismi non sono eliminati dal vino al termine delle fermentazioni enologiche c'è il concreto rischio che prima o poi lo alterino, per il semplice motivo che la loro azione determina inevitabilmente una variazione compositiva non desiderata del substrato, cioè il vino. Il tema del controllo microbiologico del vino è dunque di stretta attualità non solo tra gli addetti ai lavori, ma anche nei laboratori di ricerca. Basta dare un'occhiata alle statistiche di uno dei principali motori di ricerca

in ambito scientifico, Web of Science™, per osservare come "*wine spoilage*", termine che significa alterazioni microbiologiche del vino, sia in costante crescita negli ultimi anni. Questo sforzo di ricerca ha portato allo sviluppo di nuove soluzioni per chi il vino deve farlo?

I CHITOSANI, UNA PANACEA A TUTTI I MALI?

Se c'è un coadiuvante enologico che negli ultimi anni ha cambiato le strategie di controllo microbiologico dei vini, questi è il chitosano. Ormai diffusissimo sul mercato, questo polimero con-



Articoli recensiti su Web of Science™, uno dei principali motori di ricerca in ambito scientifico, riguardanti l'argomento "*Wine Spoilage*", ovvero alterazioni microbiologiche del vino. L'aumento negli ultimi 20 anni è davvero significativo



Presso i laboratori della Fondazione Mach (San Michele all'Adige) si studiano i chitosani, per capirne meglio le caratteristiche e valorizzarne l'applicazione enologica. **Roberto Larcher (foto)**, direttore del laboratorio, ci fornisce un inquadramento di questa materia.

I chitosani oggi sono uno strumento diffuso in cantina, cosa sono effettivamente?

R.L. "Il chitosano è un materiale polimerico naturale ottenuto dal trattamento chimico di uno dei maggiori componenti della parete cellulare dei funghi, dell'esoscheletro di artropodi quali crostacei e insetti, ma anche delle squame dei pesci e dei becchi di polpi e calamari: la chitina. Esso rappresenta uno dei più abbondanti biopolimeri presenti in natura, ed è una lunga catena di unità di N-acetilglucosamina, un derivato del glucosio. Il chitosano trova utilizzo in disparati settori, da quello medico, ad esempio nel trattamento dell'obesità o come agente antibatterico, a quello agricolo,

come bio-fitofarmaco antifungino o nella concia delle sementi. Alla luce dei possibili rischi di reazioni anafilattiche nei consumatori, dovute a contaminazioni da proteine allergizzanti (tra cui la tropomiosina dei crostacei), l'OIV ha autorizzato i soli chitosani di origine fungina, quali quelli ottenuti da *Agaricus bisporus* o *Aspergillus niger*. Questo ne ha permesso tra l'altro una produzione destagionalizzata che non risente dei momenti di naturale sospensione delle attività di pesca. In enologia il chitosano è autorizzato come coadiuvante e agente di chiarifica e ne è previsto l'impiego nei mosti (OIV-OENO 336A-2009) per facilitare le chiarifiche e prevenire l'instabilità proteica e nei vini (OIV-OENO 337A-2009, 338A/2009) per precipitare le particelle in sospensione e prevenire la torbidità da instabilità proteica, per ridurre il contenuto di metalli pesanti ed evitare il rischio di intorbidamenti dovuto ad eccessi di ferro e rame. È inoltre autorizzato l'impiego per la rimozione di tossine, in particolare l'ocratossina A (500

sente di controllare i microrganismi alterativi, indipendentemente dal pH del vino, e riducendo il tenore di SO_2 , offre un approccio che interessa tutta la comunità dei produttori di vino, compresi coloro che rientrano nella galassia del cosiddetto "vino naturale".

CONTROLLO MICROBIOLOGICO E BIODINAMICA, L'ESPERIENZA DI UN PRODUTTORE

Stefano Amerighi produce Syrah a Cortona con metodo biodinamico e in pochi anni si è ritagliato una posizione di rilievo nel panorama enologico italiano, sia per la qualità dei suoi vini, sia per il suo lucido pensiero sul mondo dei vini naturali. Con lui ci siamo confrontati sul tema della gestione della microbiologia di cantina in un'azienda biodinamica.

Spesso la biodinamica è vista come assenza di interventi in cantina. Tu come ti poni rispetto a questo tema?

S.A. "Io fin dall'inizio del mio progetto ho cercato di sviluppare un tipo di agricoltura che potesse il più possibile curare la qualità del suolo, dell'ambiente e quindi dei frutti che ne derivavano. Per questo ho applicato la biodinamica. Non credo di fare un vino biodinamico perché per me la biodinamica è una visione agricola e non di trasformazione. In sostanza, non esistono vini biodinamici. Vinifico nella maniera più rispettosa possibile della personalità del frutto e per questo non utilizzo coadiuvanti che possano stravolgere questa spontaneità. Ma tutto secondo i criteri del buon padre di famiglia.

Se devo fare un travaso lo faccio, se devo mettere un po' di solforosa per salvare una vasca da qualche deriva microbiologica lo faccio".

La Syrah porta spesso a vini con pH piuttosto alti, l'acidità è considerata il principale conservante del vino. Come gestisci questo problema, quali altri equilibri hai trovato?

S.A. "Il rapporto tra acidità/pH della Syrah è un problema più nella gestione microbiologica che di "gusto" del vino. Nella mia vita ho assaggiato bottiglie, anche vecchie, di produttori del Rodano con pH di gran lunga più alti dell'acidità totale. L'equilibrio non è facile trovarlo, la tempestività della vendemmia è basilare, insieme a un equilibrio ve-

getativo adeguato e ad una ferrea igiene di cantina".

Quali pensi siano le sfide che attendono i produttori di vino "naturale" nei prossimi anni riguardo alla stabilità microbiologica?

S.A. "Sarà un capitolo sempre più importante. Voler fare vini digeribili con solforose basse e stagioni sempre più calde impone un'attenzione maggiore all'aspetto microbiologico del vino. La microbiologia del vino è da inquadrare in un sistema più ampio di quello della cantina tout court. Il movimento dei vini naturali deve avere come obiettivo una visione complessa e di sintesi tra il micro e il macro, con un approccio laico e innovatore".

g/hl) e microrganismi indesiderati, in particolare *Brettanomyces*."

L'origine dei chitosani è fondamentale per l'applicabilità in enologia. Ci sono metodi di analisi affidabili?

R.L. "Alla luce delle restrizioni imposte da OIV circa l'utilizzo del solo chitosano di origine fungina nel trattamento di mosti e vini, sono stati individuati specifici parametri compositivi, e i corrispondenti metodi analitici, utili alla caratterizzazione e alla discriminazione dei prodotti da origine fungina rispetto all'animale. Il chitosano deve presentarsi come una polvere inodore, insapore e di colore bianco, sostanzialmente insolubile in acqua (per meno del 5% in peso).

Deve essere commercializzato con un grado di purezza almeno del 95% e non deve perdere per essiccazione più del 10% del peso. Deve poi rispettare rigidi criteri di controllo produttivo quali il grado di acetilazione (numero di unità N-acetilglucosamina rispetto al numero di monomeri totali), le ceneri, il tenore di metalli pesanti (arsenico, cadmio, ferro, mercurio, piombo, rame e zin-

co), il residuo di ocratossina A e il controllo microbiologico (presenza di enterobatteri, salmonelle, coliformi, lieviti e muffe). Il riconoscimento dell'origine fungina è affidato alla valutazione congiunta di 3 caratteristiche chimico-fisiche: il tasso in glucani residui, la viscosità del chitosano in soluzione all'1% e la densità battuta. Secondo le indicazioni OIV, solo il chitosano d'origine fungina possiede, allo stesso tempo, un tasso in glucani residui > 2%, una densità battuta $\geq 0,7 \text{ g/cm}^3$ e una viscosità in soluzione 1% nell'acido acetico $1\% < 15 \text{ cPs}$."

Il laboratorio della Fondazione Mach ha esperienza nel controllo di questi coadiuvanti? Avete rilevato delle criticità o una effettiva variabilità tra prodotti commerciali differenti?

R.L. "Non è infrequente che la valutazione dei tre parametri indicati dall'OIV comporti difficoltà nell'attribuzione dell'origine, probabilmente in ragione delle innumerevoli fonti, animali e fungine, riscontrabili oggi sul mercato.

Noi abbiamo recentemente pubbli-

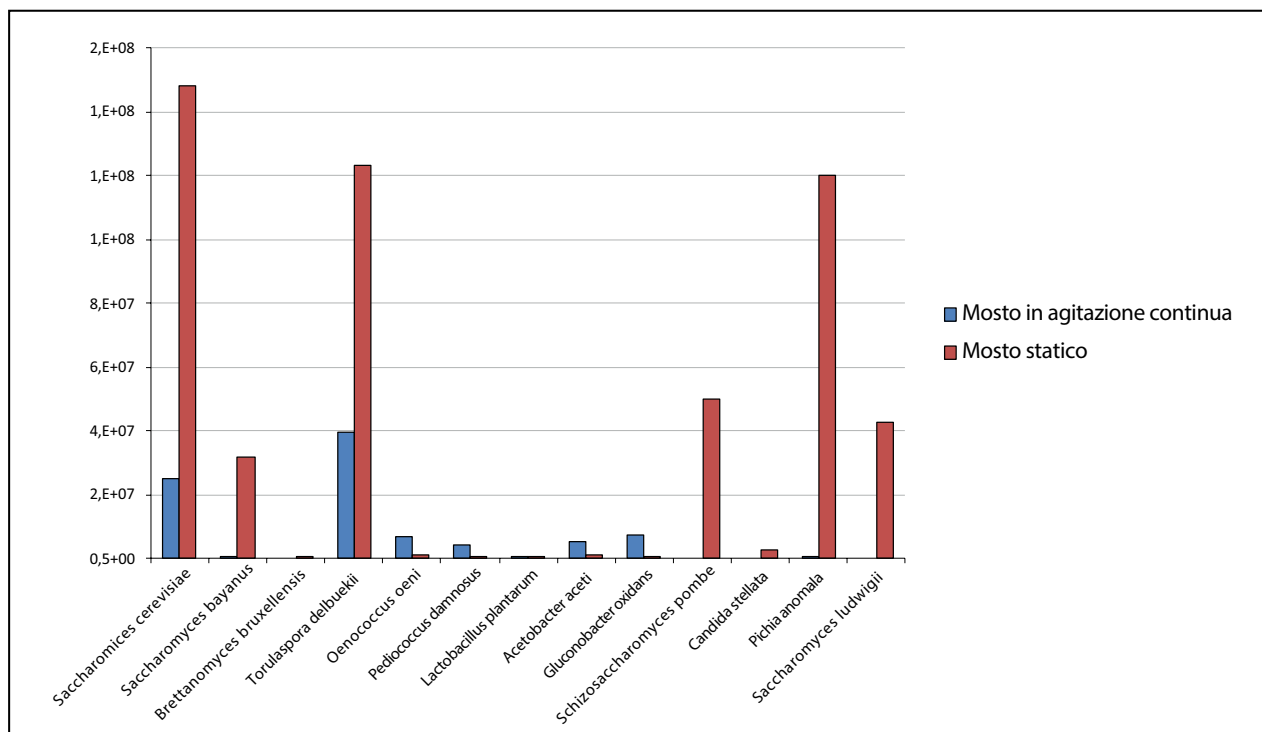
cato un approccio innovativo, basato sulla tecnica degli isotopi stabili, capace di operare un'adeguata differenziazione delle diverse origini e che è attualmente in valutazione presso OIV per una possibile adozione come nuovo metodo di riconoscimento."

LA RICERCA SUL CHITOSANO **Sul fronte della ricerca scientifica sono varie le pubblicazioni sui chitosani, tre suggerimenti per approfondire il tema.**

Il primo articolo che segnaliamo sperimenta i chitosani come stabilizzanti del colore su sei vini bianchi italiani, in comparazione con due chiarificanti convenzionali, il caseinato di potassio e il polivinilpirrolidone.

I chitosani hanno mostrato un'elevata affinità ai composti fenolici (polifenoli, acidi cinnamici, flavani, proantocianidine) responsabili dell'imbrunimento con un comportamento comparabile ai chiarificanti convenzionali. (Spagna G. et al. 1996. Food Research International, 29: 241-248).

Entrando nel merito del controllo microbiologico, già nel 2004, è



Efficacia di chitosani commerciali verso differenti microrganismi di interesse enologico in termini di riduzione della popolazione microbica. Dati originali degli autori. Il test è stato svolto in mosto sintetico a pH 3.5. La concentrazione cellulare iniziale era 1×10^7 u.f.c./mL. Le analisi sono state svolte dopo 3 giorni di incubazione in presenza di chitosani, a 25°C

L'ESPERIENZA DI UN ENOLOGO TOSCANO

Federico Radi ha una notevole esperienza in fatto di vini rossi da lungo affinamento, dopo aver lavorato nel Chianti e in Maremma, ora è direttore della Tenuta Greppo Biondi Santi a Montalcino. A lui abbiamo chiesto un parere sull'uso dei chitosani in cantina.

Federico, nella tua esperienza di enologo quali sono i momenti più critici per il controllo microbiologico?

F.R. "Il mosto è un mezzo "vivo", ritengo che il controllo microbiologico debba iniziare sin dalle prime fasi della vinificazione. Il corretto svolgimento della fermentazione alcolica è il risultato di una regolare cinetica di crescita dei *Saccharomyces*. Monitorare con costanza la biodiversità e l'evoluzione microbica del mosto ci permette di intervenire con puntualità qualora si manifestassero fenomeni di stress (biotici ed abiotici) che rallentano o impediscono la crescita dei lieviti utili. Le fasi immediatamente successive alla fermentazione alcolica sono altrettanto delicate da un punto di vista microbiologico ed è perciò necessario non abbassare la guardia. Il vino in questa fase è un ambiente idoneo allo sviluppo non solo di batteri lattici ed acetici, ma anche di *Brettanomyces bruxellensis* che, se non ben gestiti, possono proliferare rapidamente producendo aromi sgradevoli e fenoli volatili. Una volta terminata la fermentazio-

ne malolattica il vino è microbiologicamente più stabile, pulito e protetto, ma non siamo ancora completamente al sicuro dalle contaminazioni di *Brettanomyces*. È quindi indispensabile avere consapevolezza di ciò che accade nel mosto e nel vino in ogni fase, indipendentemente dai prodotti utilizzati, dalla tecnica di vinificazione e di affinamento. La presenza di un microscopio in cantina e un addestramento al riconoscimento dei microrganismi sono, dal mio personale punto di vista, un must have per la produzione di vini di qualità."

Chitosani, uno strumento molto attuale. Li utilizzi? Hai notato cambiamenti nei vini?

F.R. "Il chitosano è un prodotto di grande efficacia nel controllo delle contaminazioni da *Brettanomyces* che può essere impiegato su vini che hanno terminato la fermentazione malolattica. Questo polisaccaride agisce sulla parete cellulare del microrganismo alterandone la permeabilità e trascinandolo verso il fondo. È un prodotto ad impatto nullo sulle caratteristiche del vino e, cosa molto importante, non allergenico."



Hai qualche suggerimento da dare per un uso efficace dei chitosani? Quando invece non li utilizzeresti affidandoti ad altri strumenti, come la filtrazione?

F.R. "Come ogni prodotto anche il chitosano deve essere utilizzato con buon senso e solo nel caso di contaminazioni che minacciano la qualità del vino. È fondamentale agire in prevenzione, controllando periodicamente il corredo microbiologico del vino, specialmente nel post fermentazione malolattica e in fase di affinamento, in modo da arrivare in bottiglia il più "puliti" possibile, evitando al vino rosso lo stress di filtrazioni sterili."

stato studiato l'effetto del chitosano su *S. cerevisiae* e su 2 specie di Brett: *B. bruxellensis* e *B. intermedius*. L'effetto del chitosano è stato testato sia in singolo che in colture miste. I risultati dimostrano che il chitosano rallenta lo sviluppo dei Brett, prolungando la fase di latenza, mentre nel caso di *Saccharomyces* si assiste solo a un leggero rallentamento nel tasso di sviluppo. Nelle colture miste è stato osservato che i Brett non erano in grado di svilupparsi in presenza di chitosano, mentre la crescita di *S. cerevisiae* non era influenzata dal coadiuvante, con migliori performance nel consumo di glucosio rispetto al testimone. (Gomez-Rivas L. et al. 2004 Selective antimicrobial action of chitosan against spoilage yeasts in mixed culture fermentations. Journal of Indu-

strial Microbiology & Biotechnology, 31: 16-22).

Infine, il chitosano si è dimostrato efficace anche contro due ceppi di *Acetobacter*. L'efficacia del chitosano è stata comparata con quella dell' SO_2 in vini contaminati artificialmente con i batteri. Entrambe le molecole hanno ridotto l'attività metabolica dei batteri acetici, ma il chitosano si è dimostrato più efficace sia in termini di riduzione della concentrazione cellulare che della vitalità. (Valera J. et al. 2017. Effect of chitosan and SO_2 on viability of *Acetobacter* strains in wine. International Journal of Food Microbiology, 246: 1-4).

Anche presso la Fondazione Edmund Mach si stanno conducendo sperimentazioni sul chitosano. Oltre alla ricerca citata da Roberto Larcher

(Perini M. et al. 2020 Stable isotope ratio analysis as a fast and simple method for identifying the origin of chitosan. Food Hydrocolloids, 101: 105516) è in fase di revisione un lavoro che ha testato l'efficacia di diversi chitosani commerciali verso numerosi microrganismi enologici, in differenti condizioni di applicazione.

I chitosani sono dunque uno strumento efficace e versatile. Altre soluzioni per il controllo del Brett sono disponibili nelle prime fasi della vinificazione, come l'uso di lieviti non-*Saccharomyces* antagonisti del Brett perché in grado di competere per le fonti nutritive, o tecniche di filtrazione sempre più raffinate. Una scelta consapevole può garantire il controllo microbiologico e la qualità dei vini.