



I batteri acetici nel vino, un problema reale?

Nell'immaginario comune i batteri acetici sono uno dei gruppi microbici più intimamente legati al contesto enologico, ovviamente con un'accezione negativa in quanto considerati capaci di depauperare i vini. Ma è vero?

Se in passato, in sistemi di vinificazione rudimentali, la contaminazione dei batteri acetici poteva essere rilevante, la moderna tecnologia sembra aver relegato questo gruppo microbico in secondo piano nella non esaltante classifica dei microrganismi più dannosi per il vino. In effetti, i principali problemi per la qualità e la salubrità del vino oggi provengono da sviluppi incontrollati di batteri lattici o lieviti non-*Saccharomyces* (vedi Box 1), tuttavia nemmeno verso i batteri acetici bisogna abbassare la guardia. In questa nota ecco dunque il punto su questo gruppo batterico, basato sulle più recenti conoscenze acquisite in merito

I BATTERI ACETICI, DUE GENERI, ANZI DI PIÙ

La classificazione dei batteri acetici ha subito una profonda evoluzione negli anni, con interessanti novità. Si è passati da una nomenclatura esclusivamente basata sui caratteri fisiologici, che ora sappiamo essere molto variabili anche all'interno dello stesso genere o specie, a una classificazione fondata sullo studio del genoma. In mezzo, differenti tentativi di ordinare questa vasta popolazione microbica hanno portato a numerosi cambiamenti nella nomenclatura e nella "reputazione" dei gruppi di batteri acetici, soprattutto in chiave tecnologica, ovvero nella spiegazione di quali microrganismi siano effettivamente utili alla produzione di aceti e quali, invece, dannosi nel settore viti-enologico. E come vedremo le due cose non sono spesso sovrapposte. Oggi possiamo identificare addirittura 19 generi e 92 specie di batteri acetici, ovviamente con diffusione non uniforme in termini geografici e quantitativi. Sono comunque tutti microrganismi associati al materiale vegetale ricco di zuccheri, frutti e infiorescenze, al tratto gastrointestinale di insetti e alla produzione di bevande fermentate acide. In ambito più prettamente viti-enologico sono quattro i generi di interesse: *Acetobacter*, *Komagataei-*

bacter *Gluconobacter* e *Gluconacetobacter*. I primi due hanno un ruolo tecnologico nell'industria degli aceti, mentre gli altri sono ampiamente diffusi sulle matrici alimentari e dunque prettamente contaminanti. Vediamo ora di approfondire i caratteri di ciascun genere.

I CARATTERI DEI GENERI PRINCIPALI

Acetobacter è il genere di batteri acetici per eccellenza, almeno nell'immaginario collettivo. La sua caratteristica principale è la capacità di ossidare l'etanolo dapprima ad acetaldeide e successivamente ad acido acetico mediante due enzimi della famiglia delle deidrogenasi,

sulla membrana cellulare. Curiosamente questo non è il genere di batteri acetici con la più elevata tolleranza all'acido acetico per la quale mediamente si pone l'asticella della tolleranza tra il 7 e l'8%: ceppi eccezionalmente resistenti di *A. pasteurianus* hanno raggiunto il 10% di acido acetico in soluzione, mai oltre. *Acetobacter* non è capace di utilizzare molecole minori come il glicerolo, il mannitolo o il sorbitolo per produrre acido acetico, è un microrganismo filmogeno, sviluppa biofilm di modesta entità, all'interfaccia tra liquido e aria. In ambito agroalimentare è utilizzato nella produzione di aceti di uva e frutta soprattutto in stabilimenti artigianali con processi non forzati

CHI FA VOLATILE NEL VINO?

Non solo i batteri acetici producono acidità volatile, anzi potremmo dire che nelle prime fasi della vinificazione sono incolpevoli rispetto all'accumulo di acido acetico. I principali responsabili possono essere i lieviti, anche *Saccharomyces cerevisiae*, a causa di stress nutrizionali o tecnologici (es. carenze azotate, eccessi di metalli pesanti, stress osmotico o temperature eccessive di fermentazione). Anche i batteri lattici possono produrre acido acetico dalla fermentazione eterolattica, ovvero dalla degradazione del glucosio ad acido acetico e acido lattico, metabolismo caratteristico di *Oenococcus spp.* e di alcuni generi di *Lactobacillus spp.*, o dalla degradazione dell'acido citrico. Il contenimento dell'acidità volatile passa dunque da una strategia complessiva di controllo della microflora, sia in termini di prevenzione dello sviluppo di microrganismi alterativi, sia di gestione del "benessere" della microflora utile.

nella cinetica fermentativa. In enologia è raramente isolato sulle uve mentre lo è molto frequentemente, e a lungo, nei vini. Sensibile a sorbati e solforosa molecolare superiore a 0,8 mg/L, questo batterio è inibito, ma non eliminato, dal dimetildicarbonato (DMDC).

Komagateibacter è un genere "nato" nel 2013 dalla riclassificazione di specie appartenenti al genere *Gluconacetobacter*. Può ossidare l'etanolo ad acido acetico e questi ad anidride carbonica ed acqua. Morfologicamente è caratterizzato dall'assenza di flagelli e dall'incapacità di produrre pigmenti bruni. Questo batterio può produrre notevoli dosi di cellulosa ed è incapace di sintetizzare 2,5-dicheto-D-gluconato. È invece responsabile della sintesi di diidrossiacetone dal glicerolo e può ossidare il glucosio, il galattosio, lo xilosio e l'arabinosio per produrre acidi organici. È questo certamente il genere di batteri acetici più resistente all'acido acetico, con ceppi di *Komagataeibacter* che possono re-

sistere al 15-20 % di acido acetico e sono utilizzati per produrre aceto di frutta e di alcol, anche in fermentazioni sommerse. Questo genere è largamente isolato in diverse regioni mondiali, nella produzione di aceti ad alta acidità. Le specie principali sono *K. europaeus*, *K. intermedius*, *K. oboediens* e *K. hansenii*. Non tollera l'SO₂, mentre risulta tollerante ai sorbati. Non è nota la reazione al DMDC.

Gluconobacter è caratterizzato dalla capacità di ossidare gli zuccheri, in una catena di reazioni che si arresta prima della trasformazione in CO₂ e H₂O. Tra le molecole associate all'attività di questo microrganismo vi sono L-sorbosio, l'acido D-gluconico, gli acidi 5- e 2-ketogluconico e il didrossiacetone. Pur essendo presente in fermentazioni acetiche artigianali è generalmente considerato un microrganismo alterativo sia di bevande alcoliche come birra, sidro e vino, che di vegetali. Largamente diffuso su uve e mosti è associato all'insorgenza di marciume acido o

ad attacchi di botrite; in cantina la mancanza di protezione dall'ossigeno e fermentazioni con avii lenti favoriscono lo sviluppo di *Gluconobacter*. L'accumulo di acido gluconico, dei lattoni suoi derivati e degli acidi cheto gluconici sono tipici di mosti e vini originatisi da uve alterate da questo microrganismo, che ne riduce il valore commerciale e la qualità organolettica. Reazioni causate da questo batterio portano al deterioramento ossidativo dei vini con sentori di muffa e odore fenolico. *Gluconobacter* può persistere durante i primi giorni di fermentazione alcolica, poi la concomitante azione di acidità ed etanolo portano alla sua scomparsa. La tolleranza all'acido acetico è modesta, così come quella al calore, tuttavia *Gluconobacter* è resistente all'acido sorbico, all'acido benzoico e al DMDC.

Gluconacetobacter è un genere oggi minoritario, visto il passaggio a *Komagateibacter* di alcune delle specie più diffuse. È tuttavia un buon produttore di acido acetico dall'eta-

SOLUZIONI ORIGINALI IN COMPRESSE PER BARRIQUE

Prodotti innovativi per la gestione della fermentazione malolattica e delle contaminazioni da *Brettanomyces* in legno


Veloce dissoluzione
e dispersione

malotabs™

Batterio *O. oeni*

Compresse effervescenti da aggiungere direttamente in barrique



Vincitore del premio
"New Technology SIMEI 2017"

**NO
BRETT
IN'TABS**

Chitosano specifico
per il controllo del Brett

Un solo aroma,
quello del vostro vino!



LALLEMAND
LALLEMAND OENOLOGY
Original by culture

nolo e produce acido ascorbico, la vitamina C. La produzione di cellulosa è modesta. Questo microrganismo è isolato in ambienti ricchi di zuccheri, dopo conversione di questi in alcol ad opera di altri microbi e ha tra le varie matrici fiori e frutti alterati. Può essere distinto da altri generi di batteri acetici mediante l'analisi cromatografica di frammenti proteici caratteristici, di origine enzimatica. È sensibile a sorbati e DMDC, così come all'etanolo al di sopra del 15% e a temperature superiori ai 30°C.

MECCANISMI DI RESISTENZA, UN'INGEGNOSA STRATEGIA EVOLUTIVA

L'acido acetico è altamente tossico per i microrganismi e già concentrazioni superiori ai 5 g/L sono inibenti per la crescita microbica e il metabolismo. Il motivo principale per cui l'acido acetico è tossico per i microrganismi è la sua capacità di attraversare liberamente la membrana cellulare ed entrare nelle cellule alterandone l'equilibrio, oltre a causare alterazioni dirette della membrana stessa. Come abbiamo visto vi sono profonde differenze nella tolleranza all'acido acetico da parte dei diversi generi batterici, che comunque risultano largamente più tolleranti di altri gruppi microbici di interesse



Colonie di batteri acetici su piastra

enologico, laddove 2-3 g/l possono già causare difficoltà. La resistenza dei batteri acetici è basata su diverse strategie concomitanti. Quella all'acido acetico è associata alla struttura cellulare e ai livelli di alcuni enzimi capaci di convertire questo composto in molecole innocue. Tra le molecole chiave per questo meccanismo

di resistenza vi sono i fosfolipidi di membrana, le pompe protoniche che regolano il flusso di H^+ da e per la cellula, enzimi alcol deidrogenasi chinone-dipendente (PQQADH) e alcuni enzimi e proteine dello stress nel ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA). Inoltre, alcuni generi sono in grado di cambiare la morfologia delle cellule e formare biofilm per aumentare la resistenza agli acidi. Questo "armamentario" metabolico pone i batteri acetici in condizioni di estremo vantaggio rispetto ai microrganismi loro competitori. I batteri acetici sono infatti in grado di ottenere energia da substrati non comunemente accessibili a tutti i microrganismi, come l'etanolo, accumulando nel contempo una molecola altamente tossica, l'acido acetico, per la quale hanno sviluppato caratteri di resistenza del tutto propri, assenti in altri gruppi microbici.

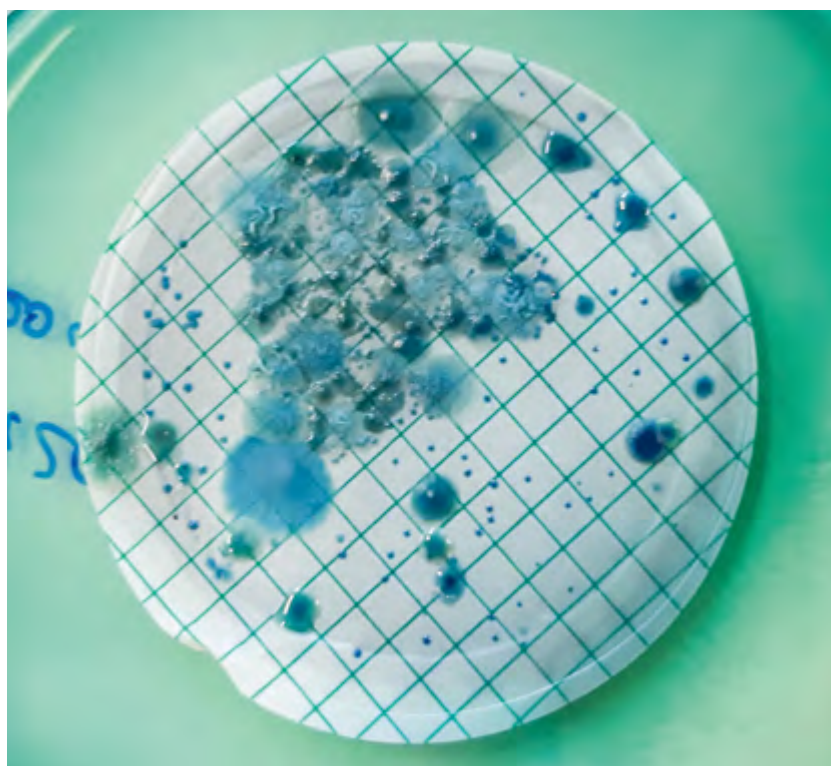
COME SI PRODUCONO GLI ACETI DI VINO?

La produzione di aceto di vino ha subito una notevole evoluzione negli anni. Possiamo schematizzare le metodiche produttive in due grandi categorie.

- Produzione discontinua. Tipica delle produzioni artigianali di alta qualità. Si tratta di porre vino in botti scolme, solitamente contenenti alcuni pezzi di legno che fungano da substrato per l'adesione batterica. La presenza di aria favorirà la formazione del tipico velo superficiale e una lenta acetificazione che, pur risultando scarsamente efficiente dal punto di vista produttivo, garantirà la preservazione di aromi tipici del vino (se di buona qualità) e dunque una notevole complessità organolettica. I prelievi e o rabbocchi delle botti non dovranno mai perturbare il velo superficiale e dunque dovranno esser fatti con cautela e senza mai vuotar completamente i contenitori.
- Produzione continua. Si tratta di far fluire il substrato (vino) su matrici solide di vari natura contenenti le colture batteriche. Nei sistemi più moderni a coltura sommersa i batteri sono distribuiti nel vino ed è l'ossigeno che è pompato all'interno della massa mediante setti porosi. Sono sistemi ad alta efficienza, ma che tendono a depauperare i caratteri organolettici del vino, dunque adatti a produzioni su larga scala o per aceti ad uso tecnologico, come ingredienti alimentari.

IL RUOLO ENOLOGICO OGGI

I batteri acetici accompagnano tutto il processo di vinificazione, fin dalle ultime fasi della maturazione delle uve, pur in un'alternanza di generi e specie in funzione delle mutate caratteristiche delle matrici enologiche. Vi sono ovviamente tipologie di vinificazione più sensibili all'attacco



Coltura su piastra, mediante filtrazione, di un vino affetto da sviluppo di batteri acetici

dei batteri acetici, come laddove si impiegano uve passite o bottrizzate, o dove vi siano uve compromesse da attacchi microbici nelle ultime fasi della maturazione.

Sulle uve prevale nettamente il genere *Gluconobacter*, in grado di accompagnare i vini fino a circa 1/3 della fermentazione alcolica, risultando più presente in caso di mosti da uve passite o alterate (**tabella 1**). I danni imputabili a questo batterio sono, come abbiamo già accennato, l'accumulo di acido gluconico, acido acetico e

altri composti minori e deviazioni organolettiche. La prevenzione sta sostanzialmente nella gestione della lotta fitopatologica e nella attenta selezione delle uve all'ingresso in cantina. In caso di presenza significativa di questo batterio la protezione dei mosti dall'ossigeno e un robusto inoculo di lieviti selezionati, unitamente a una modesta solfitazione, assicureranno l'instaurarsi di un ambiente riducente, sfavorevole al metabolismo di *Gluconobacter* e un tempestivo accumulo di etanolo che contribuirà al contrasto dei bat-

teri. Un controllo microbiologico sul vino al termine della fermentazione alcolica è comunque utile per sincerarsi che non vi sia una popolazione di batteri acetici residua che, come dimostrano numerose pubblicazioni scientifiche, possono permanere anche a lungo.

Nei vini, al contrario, sono i generi *Acetobacter* e *Komagataibacter* a prevalere e a mantenersi vitali, anche per tempi lunghi. Vi è infatti l'errata convinzione che i batteri acetici non siano in grado di sopravvivere se non in condizioni di abbondante areazione. Questa idea è errata. Se per una massiccia crescita di questo gruppo microbico, accompagnata dall'ossidazione dell'etanolo ad acido acetico l'aereazione è essenziale, è anche vero che in assenza di ossigeno i batteri acetici possono trovare altre molecole ossidabili, presenti in quantità minore del vino. In questo modo i batteri rimangono vitali, pronti a svilupparsi qualora vi sia un ingresso di ossigeno nel vino, come nel caso di un travaso o di un imbottigliamento. Inoltre, i vasi vinari in legno, parzialmente permeabili all'ossigeno, sono in grado di sostenere a lungo l'attività dei batteri. Anche il vino imbottigliato non è al riparo dalle alterazioni date da questo gruppo di microrganismi soprattutto se tappato con sughero, permeabile all'ossigeno. Studi condotti su vini rossi inoculati volutamente con dosi crescenti di batteri acetici hanno dimostrato che la loro presenza può alterare il profilo organolettico dei vini imbottigliati, in-

Sauterns (Uve appassite da vendemmia tardiva con attacco di <i>B. cinerea</i>)			Bordeaux (Uve fresche a piena maturità)		
Fase di campionamento	Concentrazione di batteri acetici	Distribuzione % dei generi (<i>Gluconobacter</i> vs. <i>Acetobacter</i>)	Fase di campionamento	Concentrazione di batteri acetici	Distribuzione % dei generi (<i>Gluconobacter</i> vs. <i>Acetobacter</i>)
Mosto	2×10^6 ufc/g	80/20	Mosto	1.6×10^4 ufc/g	100/0
Inizio fermentazione alcolica	8×10^4 ufc/g	0/100	Inizio fermentazione alcolica	1×10^2 ufc/g	55/45
Vino in affinamento	6×10^2 ufc/g	0/100	Vino in affinamento	2×10^1 ufc/g	30/70

Tabella 1 - Concentrazione di batteri acetici e distribuzione % dei generi di *Gluconobacter* e *Acetobacter* nella popolazione di uve, mosti e vini provenienti da uve passite (Sauterns) e fresche (Bordeaux). Modificato da Joyeux, S. Lafon-Lafourcade, and P. Ribéreau-Gayon. 1984. Evolution of Acetic Acid Bacteria During Fermentation and Storage of Wine. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 48, No. 1

Concentrazione di batteri acetici in bottiglia	6×10 ² ufc/g	1×10 ³ ufc/g	9×10 ⁴ ufc/g
Alcol (%)	13,30	13,30	13,10
SO ₂ totale	74	52	64
SO ₂ libera	17	7	< 5
Ac. Malico (g/L)	0,37	0,38	0,34
Ac. Acetico (g/L)	0,50	0,60	3,50
Etilacetato (mg/L)	100	108	730
Acetaldeide (mg/L)	36	70	160
Sentore fruttato (percezione)	buona	media	assente

Tabella 2 - Variazione della composizione di vini imbottigliati in funzione della contaminazione batterica all'atto dell'imbottigliamento, uva Syrah. Modificato da Bartowsky EJ, Xia D, Gibson RL, Fleet GH, Henschke PA. Spoilage of bottled red wine by acetic acid bacteria. *Lett Appl Microbiol.* 2003;36(5):307-14

terferendo su una pluralità di composti chiave (**tabella 2**).

In conclusione, il gruppo dei batteri acetici ha una insospettabile complessità e biodiversità, sia in termini di caratteri fisiologici che di interazione con l'ambiente enologico e con le matrici vitivinicole. Tuttavia, l'alternanza dei diversi generi lungo il processo di vinificazione, dalle uve

alla bottiglia, rappresenta un concreto rischio per la qualità dei vini. Il controllo e l'eradicazione anche di questi microrganismi non può dunque essere trascurato, non solo per contenere i tenori di acidità volatile, ma anche per preservare il profilo sensoriale originale dei vini, valorizzando i caratteri distintivi delle uve di origine.



Il velo batterico che si sviluppa nella produzione dell'aceto sulla superficie del vino in una produzione discontinua



Laboratorio di analisi e consulenza per settore enologico, agroalimentare e ambientale

Da sempre al servizio del mondo enologico e agroalimentare, il laboratorio offre analisi certificate ACCREDIA secondo la norma ISO17025

- Analisi di controllo maturazione su uva
- Analisi di routine per mosti e vini
- Analisi certificate per export vini UE ed Extra UE
- Analisi accreditate su distillati e bevande spiritose
- Controlli agrochimici su acqua, suolo e foglie
- Analisi microbiologiche su vino e mosti, acqua e alimenti
- Verifiche fitosanitarie certificate per settore viticolo e corilicolo

Oltre 20 anni di esperienza, strumentazione all'avanguardia e professionalità garantita

Scopri tutti i nostri servizi sul sito www.enocontrol.com



Contattaci per ricevere le nostre migliori offerte e per conoscere tutti i servizi di tuo interesse!

Enocontrol Scarl
C.so Enotria 2/C
12051 ALBA (CN)
Tel. 0173361501
Email eno@enocontrol.com