

LAFFORT - INFO

NUMERO
26
NOVEMBRE
DICEMBRE
2002



SOMMARIO

1. Introduzione
2. Comparsa di sentori animali
3. Contaminazione dei vini
4. Monitoraggio
5. Misure attuabili

IL BRETTANOMYCES, PROBLEMA ATTUALE, COME AFFRONTARLO.

1. INTRODUZIONE.

Grande interesse e preoccupazione in enologia stanno oggi suscitando i lieviti contaminanti appartenenti al genere *Brettanomyces* (forma perfetta *Dekkera*). La presenza e lo sviluppo di questi microrganismi é infatti la causa della comparsa nei vini di odori sgradevoli identificati con i descrittori: stalla, sudore di cavallo, urina, odore di topo, cuoio ecc. , che potremmo definire nel complesso note animali.

Queste note animali sono state attribuite alla presenza di particolari composti facenti parte della famiglia dei fenoli volatili (etil-fenoli e vinil-fenoli).

1. COMPARSA DI SENTORI ANIMALI

Nella tabella che segue sono riportate le soglie di percezione e i descrittori attribuiti ad alcuni fenoli volatili.

Composto	Soglia di percezione	Descrittore
4-vinil-fenolo	770 µg/l	farmaceutico chiodo di garofano
4-vinil-guaiacolo	440 µg/l	speziato
4-etil-fenolo	620 µg/l	sudore di cavallo
4-etil-guaiacolo	140 µg/l	speziato affumicato

Questi composti presenti in tracce nei mosti, possono raggiungere concentrazioni di alcune centinaia di µg/l nei vini. Essi si formano in seguito alla decarbossilazione e riduzione di certi acidi fenolici (acido paracumarico e ac. ferulico) ad opera di microrganismi.

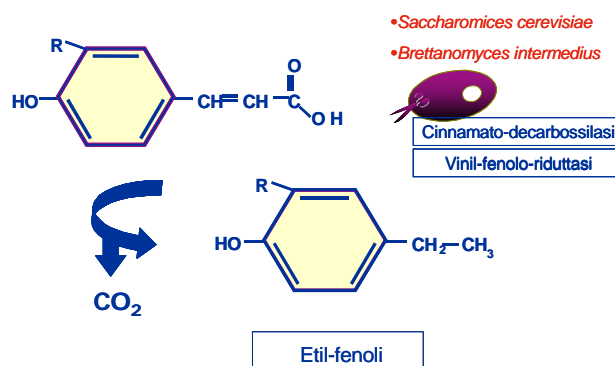
I lieviti del genere *Saccharomyces cerevisiae*, responsabili della fermentazione alcolica, non sono in grado di produrre quantità significative di fenoli volatili durante la vinificazione in rosso. I loro meccanismi enzimatici responsabili della trasformazione degli acidi fenolici in fenoli volatili corrispondenti, sono infatti inibiti dai polifenoli (tannini, antociani, flavonoli, ...) Per contro i lieviti del genere *Brettanomyces* non presentano questo tipo di inibizione e mantengono la loro capacità di produrre fenoli volatili, in quantità importanti, anche nei vini rossi.

Il *Brettanomyces* é un lievito molto diffuso in cantina, trova habitat idoneo al suo sviluppo all'interno dei rubinetti mal puliti, nelle canalette di scolo, nel foro di cocchiume delle barriques, nelle screpolature del

legno, nelle fecce. Possiamo quindi pensare che in tutte le cantine vi sia una popolazione di *Brettanomyces* più o meno numerosa. Per questo l'aspetto da tenere veramente in considerazione é la messa in atto di tutte le strategie volte a contenerne numericamente la popolazione.

La percezione sensoriale dei fenoli volatili costituisce un difetto per degustatori esperti a cui il problema é noto ed abituati a riconoscerlo. Per contro un gran numero di consumatori, ma anche di professionisti attribuiscono il sentore "fenolato" ad una certa tecnologia produttiva e ad una certa tipicità. Di fatto, i vini marcati da questo carattere non lasciano indifferenti, possono essere ricercati o completamente squalificati.

Fig. 1 – Schema di produzione dell'etil fenolo per intervento dell'attività dei microrganismi a partire dall'acido fenolico libero



E' stato dimostrato che, in vini in cui ci si avvicina a concentrazioni di fenoli volatili pari alla soglia di percezione, la perdita di qualità si esprime inizialmente come perdita di note aromatiche tipiche. Se le concentrazioni di fenoli-volatili aumentano ulteriormente si avverte allora la comparsa di sentori animali. Accade dunque che la complessità e la finezza aromatica di un vino sano vengono appiattite e banalizzate dalla comparsa dei sentori fenolati. Per tanto la comparsa di questi sentori deve essere considerata come un'alterazione che maschera l'espressione delle caratteristiche proprie del vitigno.

2. CONTAMINAZIONE DEI VINI

La contaminazione solitamente avviene sul prodotto in fase di affinamento, a fermentazione alcolica e malolattica ultimate. Per il suo sviluppo questo lievito può utilizzare tracce di zuccheri, anche in ambiente anaerobico stretto. La fermentazione di una quantità di zuccheri (glucosio, fruttosio, mannosio, galattosio, saccarosio, ecc.) intorno ai 300 mg/l è sufficiente per indurre la formazione di etil-fenoli a livelli pari alla loro soglia di percezione (circa 450 µg/l).

Spesso sono i vini più ricchi, cioè ad elevato grado alcolico, generati quindi da uve più mature, a bassa acidità fissa, frutto di lunghe macerazioni, ad essere i più vulnerabili, proprio perché maggiormente dotati di substrato per lo sviluppo dei *Brettanomyces*.

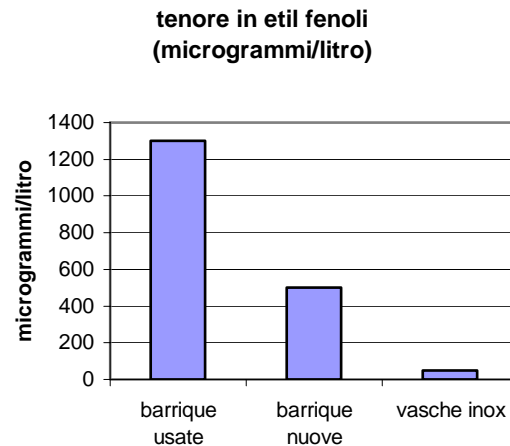
L'affinamento in barriques non è obbligatoriamente sinonimo di contagio, ma certamente l'impiego di legno non nuovo, mal conservato, in cantine poco adatte (temperature ed umidità non idonee) colmature e travasi non tempestivi con cattiva disinfezione dei fusti, rappresentano un insieme di fattori che favoriscono la contaminazione e lo sviluppo di questi lieviti inquinanti.

Nel caso delle barrique nuove la contaminazione è solitamente più bassa. Sicuramente al momento dell'arrivo in cantina le barrique tostate sono esenti da *Brettanomyces*. Purtroppo alcuni fattori quali il loro maggiore potenziale di ossidazione ed il maggior consumo di vino, che lascia le barrique scolme più frequentemente, fanno sì che il consumo di anidride solforosa sia più rapido, e ciò le rende più facilmente attaccabili.

Anche nel caso di chiusura di fermentazione alcolica stentata o di malolattica difficile si possono creare le condizioni adatte allo sviluppo del *Brettanomyces*. In queste situazioni si lasciano spesso i vini per settimane, se non mesi, a temperature più elevate, con bassi livelli di anidride solforosa ed in presenza di zuccheri. E' ovvio che, se in queste condizioni i vini entrano in contatto con il lievito contaminante, in breve tempo si avvertirà la presenza di etil-fenoli.

La possibilità di contaminazione durante la fermentazione alcolica o durante la macerazione esiste ma è molto più rara. Se si sviluppa può però portare a conseguenze assai gravi sul vino.

Fig. 2 - Influenza delle condizioni di affinamento sul tenore in etil fenoli. (P. Chatonnet)



4. MONITORAGGIO

Il pensare di mantenere un vino completamente esente da questo inquinamento è impossibile, più logico è cercare di controllare lo sviluppo di questo lievito in modo da avere la certezza che rimanga sempre al di sotto della soglia di rischio.

Importanti divengono quindi i metodi di monitoraggio a nostra disposizione e gli eventuali strumenti applicabili per il controllo.

Il monitoraggio di questo lievito inquinante ed indesiderato può essere fatto con metodi di microbiologia classica o con metodi appositamente sviluppati di monitoraggio rapido.

I metodi classici consistono nella coltura su terreni specifici, selettivi per il *Brettanomyces*, e nella successiva conta delle colonie sviluppatesi. I terreni possono essere preparati all'occasione in laboratorio, oppure si può ricorrere a terreni confezionati, reperibili in commercio. Questi metodi sono sufficientemente selettivi da permettere l'isolamento e la conta, in modo preciso, del livello di contaminazione, ma troppo lenti. Per poter avere lo sviluppo su piastra di colonie si deve nel migliore dei casi attendere 5-8 giorni, ma a volte anche più.

Tempi non compatibili con la gestione dei rischi di comparsa di sentori fenolati indesiderati.

Per questo sono stati messi a punto, da parte di laboratori specializzati, metodi atti ad un controllo più rapido.

Un metodo attualmente proposto ricorre ad un test genetico di PCR (Reazione di Polimerizzazione a Catena). Questo metodo individua le cellule di *Brettanomyces* grazie al riconoscimento del suo DNA. La sua soglia di sensibilità può arrivare 100 cellule la bottiglia, ma per test di routine è stato aggiustato a 10.000 cellule/bottiglia (750ml), soglia di popolazione inquinante al di sopra della quale il rischio di problemi a livello sensoriale si fa concreto. Presso

laboratori specializzati questo metodo ha tempi di risposta di 24 ore.

Un altro metodo rapido propone invece di seguire l'evoluzione della concentrazione nei vini di etilfenoli. Per questo tipo di controllo si fa ricorso alla gas cromatografia ed alla spettrometria di massa. Si possono avere risposte, da laboratori specializzati, nel giro di alcune ore. La metodica prevede di controllare la presenza dei prodotti dell'attività dei *Brettanomyces* sui vini una volta al mese, ma anche due volte al mese nel periodo estivo. In caso di eccessivo aumento della concentrazione di fenoli volatili si deve intervenire tempestivamente contro la popolazione di *Brettanomyces*.

Anche il laboratorio SARCO allo scopo di prevenire lo sviluppo di *Brettanomyces* nel corso dell'affinamento dei vini rossi propone un controllo periodico, di tutti i lotti ritenuti a rischio di contaminazione, comprendente oltre al monitoraggio della presenza di cellule inquinanti con il metodo PCR, un bilancio analitico completo ed un'analisi sensoriale. La frequenza dei controlli é da determinare in funzione delle condizioni di affinamento.

5. MISURE ATTUABILI

Come in ogni circostanza di questo tipo la miglior cura rimane la prevenzione. Prevenire in questo caso significa seguire in modo minuzioso l'igiene della cantina e dei recipienti, e gestire al meglio l'uso della solforosa.

In modo particolare si dovranno seguire i recipienti di legno, che come appare evidente sono i più a rischio, in quanto in essi il *Brettanomyces* si annida più facilmente.

La manutenzione e cura dei contenitori in legno deve prevedere un trattamento con acqua calda a 85° – 95° C, ad alta pressione ad ogni cambiamento di vino. L'utilizzo dell'alta pressione é sempre da preferire, sapendo che per pressioni al di sotto di 200 bar non si arrecano danni alle fibre di legno. Anche la durata del trattamento ha una sua importanza perché permette al calore di raggiungere una certa profondità nel legno. Se disponibile il trattamento con il vapore per un tempo sufficientemente lungo permette di disinfettare il legno in profondità. Nel caso dei recipienti di legno di più grandi dimensioni interessante diventa il trattamento che prevede il riempimento ed il mantenimento per un certo periodo con acqua calda (80° C per 3-4 ore). In questo modo sicuramente il calore passa anche negli strati più profondi.

Per i contenitori in legno, se l'acqua calda ed il vapore non vengono regolarmente utilizzati, il solfitaggio realizzato abbruciando pastiglie di zolfo nel recipiente vuoto permette certamente una buona disinfezione della superficie interna dello stesso.

Alcuni fornitori oggi propongono il trattamento con acqua arricchita di ozono. Questo elemento é sicuramente utile per la disinfezione di attrezzature

con superfici lisce (acciaio, resine, ecc) ma meno si addice al trattamento del legno.

La gestione della solforosa, a tutt'oggi riconosciuta come il mezzo più potente per il controllo del *Brettanomyces*, passa per il mantenimento di livelli adeguati di SO₂ libera nei vini. Ancor più che alla SO₂ libera si dovrebbe fare riferimento alla SO₂ attiva, ossia molecolare, vera responsabile del controllo di questo microrganismo. E' stato visto che i *Brettanomyces* sono inibiti da tenori di SO₂ molecolare intorno a 0,30 mg/l e distrutti da tenori superiori a 0,50 mg/l. E' noto che il livello di questa frazione di SO₂ dipende certamente dal contenuto di SO₂ libera ma é influenzato dal pH del mezzo. Si può così ritenere che un vino a pH 3,65 sia correttamente protetto da un tenore di SO₂ libera pari 25 mg/l, a pH 3,80 da un tenore di libera pari a 35 mg/l, ed a pH 4,0 il tenore di libera debba salire fino quasi a 60 mg/l.

In caso di contaminazioni messe in evidenza precocemente in occasione di fermentazioni rallentate o malolattiche stentate, é certamente preferibile solfitare e filtrare prima di reinoculare, al fine di prevenire l'alterazione di tutta la massa o di tutta la cantina.

Nelle situazioni più critiche si può far ricorso alla flash-pastorizzazione che risulta una procedura assai efficace anche se drastica.