

BIOPROTEZIONE IN ENOLOGIA

Guido Parodi

Introduzione

Con il termine bioprotezione, in senso lato, si indica l'utilizzo di microrganismi o di loro metaboliti allo scopo di controllare popolazioni microbiologiche patogene, alteranti o comunque indesiderate in alimenti o intermedi di lavorazione di alimenti. Questo approccio di tipo biologico ha assunto particolare rilevanza negli ultimi anni, in seguito alla sempre maggiore attenzione del consumatore alla salubrità, freschezza e naturalezza dei prodotti alimentari.

Il successo di questi sistemi di protezione e conservazione è strettamente associato ai continui sviluppi della ricerca applicata, ad ogni specifico alimento.

I ricercatori hanno lavorato molto sia sullo studio dei microrganismi che sulle loro possibili applicazioni nei diversi comparti dell'industria alimentare.

Nel settore lattiero-caseario sono molteplici gli esempi di messa a punto di colture batteriche produttrici di batteriocine sfruttabili per il controllo della *Listeria* e del *Clostridium*.

Nel comparto delle carni fermentate e degli insaccati sono stati pubblicati diversi lavori che descrivono attività antimicrobiche, principalmente nei confronti di microrganismi patogeni, da parte sia di batteri lattici che di stafilococchi.

In altri ambiti alimentari si stanno studiando applicazioni come la bioprotezione di prodotti da forno mediante l'utilizzo di batteri lattici o la bioconservazione di prodotti vegetali di quarta gamma.

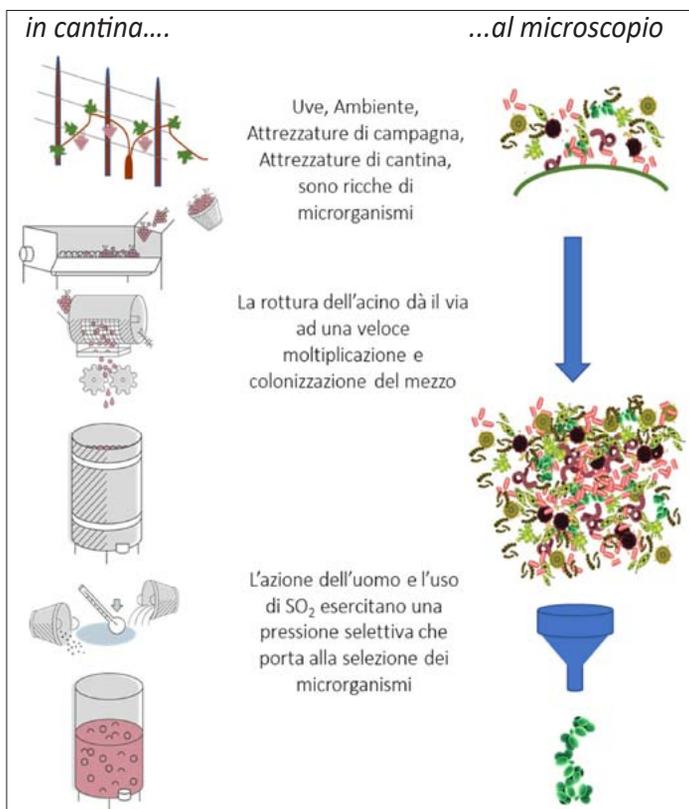
Si pensa di poter applicare i principi della bioprotezione anche al tratta-

mento di materiali plastici destinati al confezionamento e alla conservazione di alimenti.

In campo enologico è noto da tempo il concetto di fattore killer. Esso consiste nell'azione inibente di un certo lievito nei confronti di altri ceppi. Questa inibizione è dovuta alla produzione da parte del primo di una tossina, il fattore killer, di natura proteica o

partire dalla vigna e dall'uva, si è cominciato a ragionare in modo un po' diverso sulla dinamica delle popolazioni microbiche e sull'inoculo al momento della vinificazione. Nei loro lavori di ricerca alcuni autori sono arrivati a isolare sulle uve ancora in pianta oltre 60 specie di lieviti e 50 specie di batteri. Tra questi, i microrganismi di interesse enologico sono presenti ma non certo

maggioritari. Ci si trova dunque di fronte ad un ecosistema microbiologico naturale altamente diversificato e fortemente dinamico che, a partire dal momento in cui l'acino d'uva viene rotto (vendemmiatrice, pigiatrice o altro), dà il via ad una frenetica moltiplicazione, pronto a colonizzare il substrato mosto, fino a quel momento confinato e protetto all'interno dell'acino e come tale vergine. Nella pratica tradizionale di vinificazione tra la prima rottura dell'acino e l'inoculo, o comunque l'inizio della fermentazione ad opera di *Saccharomyces*, passa un intervallo di diverse ore durante il quale i microrganismi indigeni si moltiplicano in maniera esponenziale e tra questi anche i produttori di metaboliti indesiderati, tutti già presenti nel "brodo primordiale".



(A) - Le operazioni enologiche inducono la selezione dei microorganismi permettendo una corretta fermentazione. Se si vuole rinunciare ad alcune di queste pratiche (solfitazione, inoculo, ecc.) occorre mettere in atto strategie alternative.

glioproteica, capace di disattivare cellule sensibili.

Di particolare interesse oggi ed al centro di studi è la presunta capacità di *Pichia anomala* e *Kluyveromyces wickerhamii* di produrre tossine killer attive nei confronti di *Brettanomyces*.

In vinificazione

Sulla base di questi concetti, prendendo in considerazione studi di ecologia microbica in campo enologico a

Purtroppo non tutto ciò che è biodiversità produce qualità. Lo sviluppo di queste popolazioni è certamente condizionato dalle interazioni con il mondo esterno:

- ⇒ con la materia prima (concentrazione dei succhi, pH ed acidità, residui di fungicidi, ecc.);
- ⇒ con le particelle enologiche (vendemmia manuale o meccanica, pompaggi, macerazioni, ecc.);
- ⇒ con gli altri microrganismi (competizione, inibizione, ecc.).

Dobbiamo essere consapevoli che comunque l'uomo con le sue azioni (controllo temperatura, impiego SO₂, protezione da ossidazioni, igienizzazione cantina, ecc.) opera una pressione selettiva che favorisce l'egemonia di alcuni microrganismi a discapito di altri.

In questo contesto, la crescente tendenza a solfitare poco o affatto i mosti cambia enormemente le regole del gioco, lasciando spazio allo sviluppo di microrganismi indigeni, non sempre auspicabili (A).

Inoculo di lieviti non-Saccharomyces

Da qui l'idea, rifacendosi anche a concetti di lotta biologica, di applicare all'enologia i principi della bioprotezione, utilizzando in questa fase microrganismi selezionati, con caratteristiche note, in grado di colonizzare efficacemente il substrato in modo da prendere il sopravvento sulla microflora indigena negativa, limitandone lo sviluppo durante le fasi prefermentative.

La selezione dei microrganismi da applicare in bioprotezione viene fatta attingendo comunque alla microflora prefermentativa naturale ponendosi questi obiettivi:

- ⇒ isolare microrganismi che non apportino difetti;
- ⇒ con fase di latenza lunga, in modo da non avere avvio di fermentazione;
- ⇒ abili nella colonizzazione dei substrati uva/mosto;
- ⇒ adattabili a diverse situazioni.

Si sono dimostrati interessanti sia ceppi di *Torulasporea delbrueckii* che di *Metschnikowia pulcherrima*.

Il primo certamente più noto anche per altre applicazioni enologiche, ha una ridottissima produzione di acidità volatile, risulta essere criofilo, rivelatore di aromi tiolici e capace di conferire volume al palato; il secondo meno conosciuto, è in grado di rivelare aromi terpenici ed è un buon colonizzatore; entrambi non producono metaboliti negativi.

Per spiegarne meglio l'applicazione

e il tipo di impatto, riporto di seguito alcuni risultati ottenuti in vinificazione in bianco, su *Sémillon*, utilizzando quale mezzo di protezione del mosto durante la chiarifica statica, la miscela 1:1 dei due microrganismi sopra menzionati: *T. delbrueckii* (TD) e *M. pulcherrima* (MP). Si sono messe a confronto 3 modalità condotte in vasche gestite in maniera differente come indicato in (B).

Sul mosto a fine decantazione e prima dell'inoculo del *Saccharomyces* sono stati controllati alcuni parametri, riportati in (C), indicativi del comportamento microbiologico, da cui si evince che in nessuna delle vasche si è avuto

pratiche in cui l'avvio della fermentazione è ritardato rispetto al momento di rottura dell'acino (macerazione pre-fermentativa a freddo sui rossi, stabulazione liquida a freddo di bianchi e rosati, crio-macerazione o macerazione pellicolare sui bianchi, vendemmia meccanica) e si vuole ridurre o eliminare l'uso di solforosa.

Un punto chiave nella realizzazione della bioprotezione è il corretto equilibrio tra le popolazioni microbiche; si deve operare in modo da avere la prevalenza delle popolazioni buone senza indurre l'avvio di fermentazione. Qui l'importanza di ceppi con

buona capacità di impiantazione e sopravvivenza e ridotta capacità fermentativa, in grado di dominare la scena senza dare

inizio alla fermentazione. Questa situazione di equilibrio non può essere mantenuta all'infinito ma, a seconda del substrato, delle condizioni ambientali, del tipo di lavorazione ecc., lascia uno spazio temporale sufficiente affinché si possano svolgere le operazioni.

Un aspetto da non trascurare è che la bioprotezione non permette la difesa dalle ossidazioni della componente polifenolica ed aromatica dei vini, che deve essere comunque presa in considerazione e gestita diversamente, ad esempio con chiarifiche mirate dei mosti.

Altri aspetti interessanti, evidenziati durante le prove di vinificazione con bioprotezione, sono il più facile sviluppo di batteri lattici che rende molto più agevole il successivo avvio della FML, ove desiderata, il minor accumulo di prodotti

in grado di combinare la solforosa, fattore questo che permette di avere a parità di SO₂ totale una maggiore resa in SO₂ libera, dunque una sua migliore gestione. Il tutto si traduce nella pratica in vini dallo stile diverso e nel caso dei vini rossi in note cromatiche decisamente più interessanti.

(B) - Piano sperimentale vinificazione in bianco.

Modalità	SO ₂	Bioprotezione	Chiarifica mosto	Inoculo LSAS
Testimone	4 g/hL	No	Decantazione statica per 24 h a 12° C	20 g/hL
Tesi 1	0	3 g/hL mix TD + MP		20 g/hL
Tesi 2	0	3 g/hL mix TD + MP		No

inizio di attività fermentativa e che il controllo sullo sviluppo dei batteri acetici è stato soddisfacente anche in completa assenza di SO₂.

Dei vini a fine fermentazione riporto

(C) - Analisi dei mosti bianchi.

Parametro	Testimone	Tesi 1	Tesi 2
Zuccheri g/L	174	174	174
NTU	226	217	220
APA mg/L	151	150	149
SO ₂	26	5	4
Batteri acetici UFC/mL	1,4 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵
Batteri lattici UFC/mL	6,4 x 10 ²	9,8 x 10 ²	1,2 x 10 ²

to in (D) unicamente due parametri significativi circa l'effetto della bioprotezione. Essi indicano come, volendo

(D) - Parametri a fine fermentazione.

Parametro	Testimone	Tesi 1	Tesi 2
Acetato d'etile mg/L	42	40	67
Acidità volatile g/L	0,15	0,18	0,28

evitare l'uso di solforosa, con la bioprotezione si possano ottenere risultati buoni purché seguita da un regolare inoculo di *Saccharomyces*. La conduzione della fermentazione alcolica da parte della microflora indigena, come avvenuto nella prova 2, ha fatto invece registrare un aumento di acetato di etile e acidità volatile.

Con la bioprotezione si possono ottenere buoni risultati in tutte quelle