

## GESTIONE DELL'IGIENE NELLE FASI D'AFFINAMENTO E CONDIZIONAMENTO DEI VINI PRODOTTI IN ZONE MERIDIONALI

### PARTE 1: STUDIO ED EVOLUZIONE DELLE POPOLAZIONI MICROBICHE

**Béatrice Cao-Thanh**

Institut Rhodanien, Orange, France

La gestione dell'igiene in cantina è uno dei principali temi di questo studio condotto nella Côtes du Rhône settentrionale. Quella della gestione dell'igiene infatti, è una preoccupazione largamente diffusa tra i produttori della Vallée du Rhône, ma è ancor più sentita nella parte settentrionale, a causa delle caratteristiche tecnologiche dei vini di questa zona – acidità basse, favorevoli allo sviluppo dei batteri – e delle condizioni d'affinamento. Una migliore gestione dell'igiene nelle fasi d'affinamento e di condizionamento dei vini è dunque un obiettivo prioritario al fine di prevenire alterazioni microbiologiche (spunto acetico, filante, *Brettanomyces*,.....), produzione di composti potenzialmente pericolosi (carbammato d'etile, amine biogene, clorofenoli, ..... ) ed i problemi di stabilità e di conformità microbiologica dei vini in bottiglia.

In questa prima parte del lavoro vengono illustrati i risultati relativi allo sviluppo della popolazione microbica in tre cantine che presentano condizioni d'affinamento differenti.

In una parte successiva verranno mostrati invece i dati relativi all'evoluzione dei composti fenolici.

#### Schema sperimentale

Nell'ambito di questo studio si è cercato di definire quale incidenza abbia il percorso seguito dal vino in fase d'affinamento sulle sue caratteristiche fisico –chimiche e microbiologiche.

Il lavoro è stato realizzato in tre cantine diverse. In ogni cantina, una partita di vino viene monitorata al fine di studiare l'evoluzione della popolazione batterica durante l'affinamento in funzione del tipo di contenitore utilizzato (in legno: botte o fusto; in vasca: inox o cemento) e in funzione del processo tecnologico applicato (affinamento su feccia, batonnage, affinamento dopo filtrazione grossolana, travasi ecc.).

Il controllo microbiologico è realizzato secondo i metodi classici per coltura in piastra su terreni specifici. Vengono analizzati i parametri fisico-chimici di base e dosati i composti fenolici (metodo Stonestreet). La struttura dei tannini è caratterizzata attraverso tre indici (Glories, 1978): l'indice HCl, che corrisponde ai tannini più condensati, l'indice di gelatina, che esprime l'astringenza del vino e l'indice di etanolo, che rappresenta i tannini allo stato colloidale. La caratterizzazione dei tannini è effettuata a inizio, metà e fine affinamento allo scopo di seguirne l'evoluzione e di valutare l'eventuale correlazione tra struttura tannica del vino e crescita della biomassa microbica. Anche la presenza di contaminanti microbici o di origine microbica (lieviti del genere *Brettanomyces*, istamina) è presa in esame.

L'affinamento è monitorato a partire dalla fine della fermentazione malolattica (sfecciatura, riempimento del contenitore e solfitazione) fino all'imbottigliamento, cioè durante un periodo di 8 – 12 mesi (da novembre 2000 a novembre 2001). Nei primi tre mesi, per ogni contenitore impiegato si effettua un prelievo ogni 15 giorni. Nei mesi successivi, il controllo diventa mensile. Al termine della sperimentazione, per ogni cantina sono effettuati dai 70 ai 115 prelievi.

#### Schema sperimentale della cantina A

Un lotto omogeneo di 410 HL di vino, corrispondente a due vasche di fermentazione travasate e assemblate prima della fermentazione malolattica, rappresenta il punto di partenza. I vini sono ottenuti da mosti inoculati con lieviti selezionati. La fermentazione alcolica si svolge regolarmente, così pure quella malolattica, ad opera di batteri indigeni. Al termine della malolattica, il vino è addizionato di 5 g/hl di SO<sub>2</sub> e ripartito in 6 contenitori diversi:

- una vasca di cemento rivestita di resina epossidica da 97 hl,
- una vasca in acciaio inox da 85 hl,
- una botte da 100 hl,
- la parte restante è suddivisa in 27 fusti da 4hl ciascuno: 3 fusti costituiscono altrettante prove nell'ambito della sperimentazione.

L'affinamento è monitorato per otto mesi, fino all'assemblaggio delle diverse tesi. Durante questo periodo, non viene fatto alcun travaso. La SO<sub>2</sub> è controllata e regolata nelle diverse tesi a 1, 3 e 6 mesi d'affinamento.

**Schema sperimentale della cantina B**

Un lotto omogeneo di 90 HL di vino, corrispondente a due vasche di fermentazione travasate e assemblate prima della fermentazione malolattica, rappresenta il punto di partenza. I vini sono ottenuti da mosti inoculati con lieviti selezionati. La fermentazione alcolica si svolge regolarmente, così pure quella malolattica, ad opera di batteri indigeni. Al termine della malolattica, il vino è aggiunto di 2 g/hl di SO<sub>2</sub> e ripartito in 7 tesi

- una vasca di cemento rivestita in resina epossidica da 45 HL
- 23 HL sono suddivisi in fusti di legno da 225 litri: 3 fusti vengono monitorati nel corso della sperimentazione
- la parte restante è dapprima filtrata su strati K7 e poi suddivisa in fusti di legno da 225 litri: 3 fusti rientrano nel piano sperimentale.

L'affinamento è monitorato per 12 mesi, fino all'assemblaggio delle diverse tesi. Durante questo periodo, la vasca di cemento è travasata dopo 3 mesi e la dose di SO<sub>2</sub> libera portata a 1,5 g/hl. Per le tesi in legno, viene effettuato un travaso dopo 6 mesi e la dose di SO<sub>2</sub> libera portata a 1 g/hl.

**Schema sperimentale della cantina C**

Una vasca da 100 hl di vino costituisce il punto di partenza. Il vino è ottenuto da un mosto inoculato con lieviti selezionati. La fermentazione alcolica si svolge regolarmente come anche quella malolattica, ad opera di batteri indigeni. Al termine della fermentazione malolattica, la vasca è addizionata di 2 g/hl di SO<sub>2</sub> e suddivisa in due botti da 50 hl.

L'affinamento è monitorato per 12 mesi, fino all'assemblaggio delle due botti. Durante questo periodo, non vengono effettuati né travasi né solfitazioni; ma le due botti sono colmate ogni 15 giorni.

**Risultati**

I tre vini hanno delle acidità totali basse (da 2,7 a 2,8 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per **A**, da 2,85 a 2,95 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per **B** e da 2,7 a 2,9 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per **C**) e dei pH elevati (da 3,90 a 4,00 per **A**, da 3,85 a 3,90 per **B** e 4,05 per **C**). Tali valori sono normali per i vini della Côtes du Rhône Settentrionale. Gli altri parametri analitici di base corrispondono ai valori attesi per un Crozes Hermitage (precisamente, un titolo alcolimetrico di 13,05% (v/v) per la cantina **A** e di 13,20 – 13,25 % (v/v) per le cantine **B** e **C**).

Le tre cantine scelte per questo studio, presentano delle caratteristiche peculiari, soprattutto in merito ai criteri di dosaggio della SO<sub>2</sub> e di controllo della temperatura. Allo stesso modo, si differenziano per le attrezzature di cui sono dotate e l'igiene applicata. In genere, la cantina **A** mantiene delle dosi di SO<sub>2</sub> elevate e delle temperature basse e stabili; la cantina **B** opta per dosaggi di SO<sub>2</sub> e delle temperature più bassi e stabili mentre la cantina **C** lavora con dosi medie di SO<sub>2</sub> e temperature variabili (forte escursione termica tra mesi invernali ed estivi).

Durante l'affinamento, le differenze analitiche tra le diverse tesi sono poco o per nulla marcate. Lo stesso accade per la popolazione microbica ritrovata nei diversi contenitori di una stessa cantina. Ciò si osserva in tutte e tre le cantine. Le figure da 2 a 10 mostrano l'evoluzione della popolazione microbica e dei parametri temperatura/acidità volatile/SO<sub>2</sub> libera in ciascun contenitore delle tre cantine monitorate.

**Evoluzione della popolazione blastomicetica**

In generale, la temperatura sembra avere un effetto più o meno marcato sui lieviti: la curva che rappresenta la popolazione dei lieviti infatti ha la stessa tendenza di quella delle temperature. Mediamente, quando la temperatura è inferiore a 15°C, i lieviti tendono a diminuire; al di sopra dei 15°C, la crescita dei lieviti riprende.

Il parametro che più incide sulla popolazione blastomicetica è la SO<sub>2</sub>. In effetti, quando la dose di SO<sub>2</sub> libera diminuisce, la carica di lieviti tende ad aumentare, dopo un solfitaggio invece diminuisce sensibilmente. Tuttavia, in certe tesi, non è stato possibile isolare alcun lievito, ciò è dovuto ad una mancanza di omogeneità del prelievo del campione. I lieviti infatti, hanno una tendenza molto più spiccata a sedimentare rispetto ai batteri, cosa che a volte spiega le differenze che ne conseguono.

**Evoluzione della popolazione batterica**

In tutte e tre le cantine, la popolazione batterica si è mantenuta su livelli elevati durante l'affinamento. In media il minimo è stato raggiunto dopo 5-6 mesi. A seconda della cantina e del contenitore, tale minimo va da 10<sup>4</sup> a 10<sup>5</sup> batteri vivi per ml. L'entità della diminuzione subita dalla popolazione batterica varia in funzione della cantina: nella cantina **A**, si abbassa di tre ordini di grandezza, e soltanto di due nella cantina **B**. Nella cantina **C**, la popolazione resta praticamente costante (dell'ordine di 10<sup>6</sup> batteri vivi per

ml). Ciò sembra dovuto alla dose di SO<sub>2</sub> libera che rimane insufficiente rispetto alla popolazione batterica iniziale. L'igiene dei contenitori è senza dubbio un altro parametro importante. Infatti, i fusti vengono sciacquati solo con acqua fredda prima di essere riempiti e la flora batterica delle botti è probabilmente già piuttosto elevata al momento dell'infustamento.

Nei mesi di giugno e luglio, quando le temperature salgono al di sopra dei 15°C, la popolazione batterica aumenta di nuovo di almeno una potenza. Questo aumento si accompagna ad un incremento dell'acidità volatile nella cantina **B**, resta invece invariata nella cantina **A**. Nella cantina **B** inoltre, nonostante una diminuzione della temperatura (riportata a 12 – 14°C), la carica batterica non scende oltre, al contrario continua ad aumentare.

### **Incidenza della solfitazione sui microrganismi e sul loro metabolismo.**

La dose di SO<sub>2</sub> impiegata varia in funzione della cantina: quando è bassa, lo è in tutti le tesi e così quando è alta. La solfitazione non sembra essere ragionata in funzione del tipo di contenitore impiegato, piuttosto risponde ad una scelta del tecnico.

La dose di SO<sub>2</sub> sembra avere un'incidenza diretta sull'evoluzione del vino: quando la dose è alta, l'acidità volatile non cambia in modo significativo durante l'affinamento e ciò indipendentemente dall'andamento della biomassa microbica. Ciò è quanto è stato osservato nella cantina **A**. Al contrario, quando la dose di SO<sub>2</sub> è mediamente bassa, come nel caso delle cantine **B** e **C**, l'acidità volatile evolve in una maniera più o meno importante in funzione di altri parametri, quali la temperatura e la carica microbiologica, in particolare quella batterica.

Se l'effetto della SO<sub>2</sub> libera risulta limitato sulla carica batterica, sul metabolismo batterico sembra invece essere più importante. L'evoluzione dell'acidità volatile ne è un esempio e la produzione di istamina conferma quest'osservazione. In effetti, quando la dose di SO<sub>2</sub> libera è elevata e costante, come nel caso della cantina **A**, la produzione di istamina è bassa o nulla. Al contrario, quando la SO<sub>2</sub> libera è mediamente bassa, la quantità di istamina cresce (cantine **B** e **C**) fino a raggiungere livelli importanti, come nel caso della cantina **C** (tabella 1).

Tabella 1: evoluzione dell'acidità volatile e del tenore in istamina durante l'affinamento nelle tre cantine.

cantina	tesi	Parametro analitico	Giorno 0	Dopo tre mesi	Fine affinamento
<b>A</b>	cemento	Acidità volatile (g/l)	0,35	0,37	0,33
		istamina (mg/l)	< 1,0	< 1,0	< 1,0
	inox	Acidità volatile (g/l)	0,35	0,36	0,34
		istamina (mg/l)	< 1,0	< 1,0	< 1,0
	botte	Acidità volatile (g/l)	0,35	0,37	0,38
		istamina (mg/l)	< 1,0	1,0	1,0
	Media dei tre fusti	Acidità volatile (g/l)	0,35	0,39	0,39
		istamina (mg/l)	< 1,0	1,3	1,0
<b>B</b>	cemento	Acidità volatile (g/l)	0,37	0,45	0,50
		istamina (mg/l)	4,4	6,0	8,0
	Media dei tre fusti (lotto non filtrato)	Acidità volatile (g/l)	0,38	0,43	0,58
		istamina (mg/l)	4,4	5,0	6,0
	Media dei tre fusti (lotto filtrato)	Acidità volatile (g/l)	0,38	0,42	0,56
		istamina (mg/l)	4,4	4,4	5,0
<b>C</b>	botte II	Acidità volatile (g/l)	0,29	0,35	0,44
		istamina (mg/l)	< 1,0	3,0	12,0
	botte VI	Acidità volatile (g/l)	0,29	0,35	0,41
		istamina (mg/l)	< 1,0	1,0	13,0

Figura 2: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in vasca di cemento (cantina A)

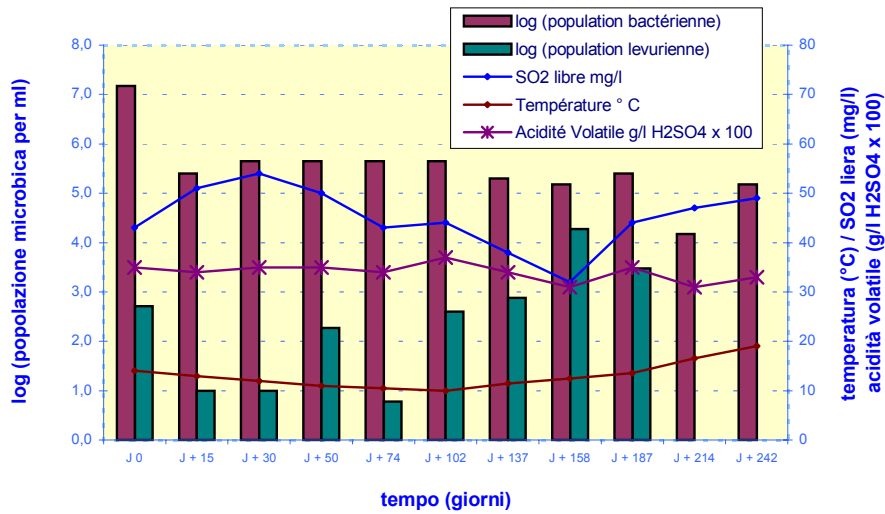


Figura 3: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in vasca d'acciaio inox (cantina A)

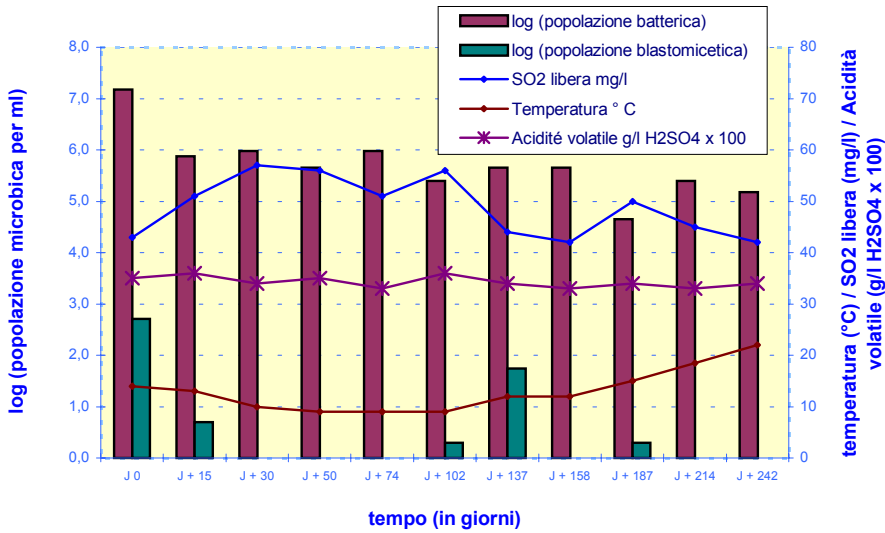


Figura 4: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in botte (Cantina A)

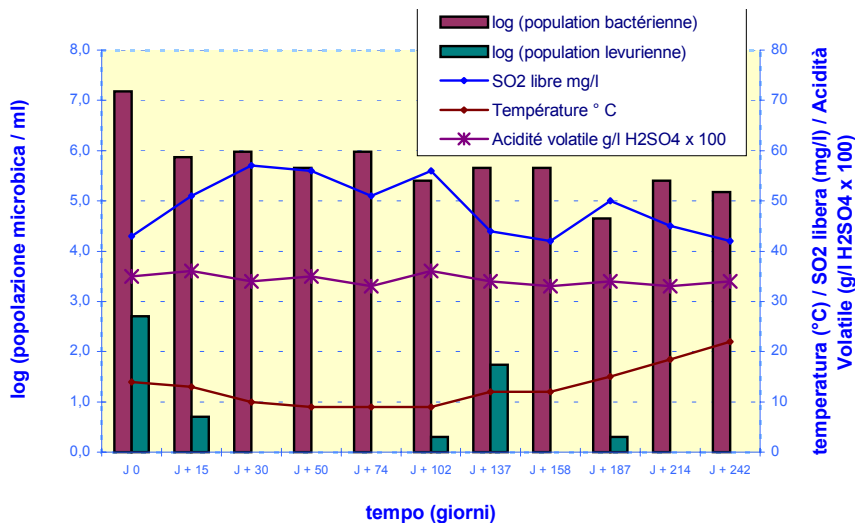


Figura 5: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in fusti: media dei tre fusti (cantina A)

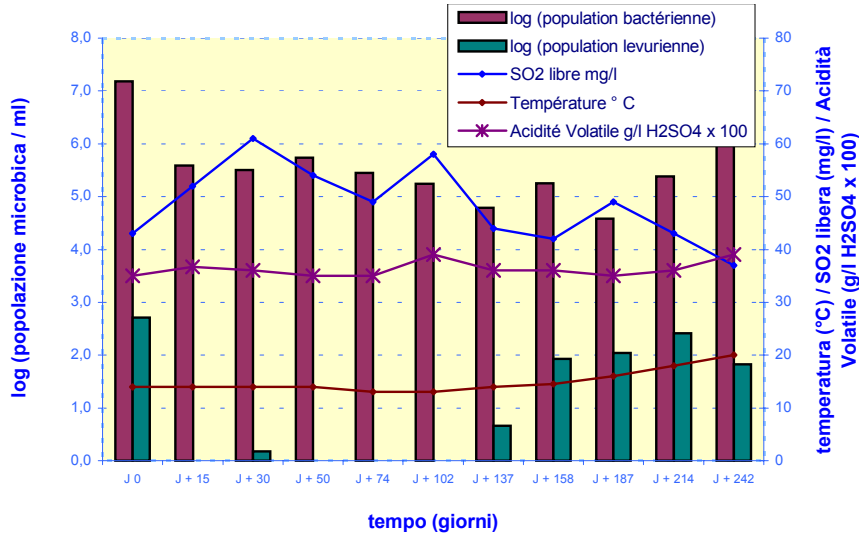


Figura 6: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in vasca di cemento (cantina B)

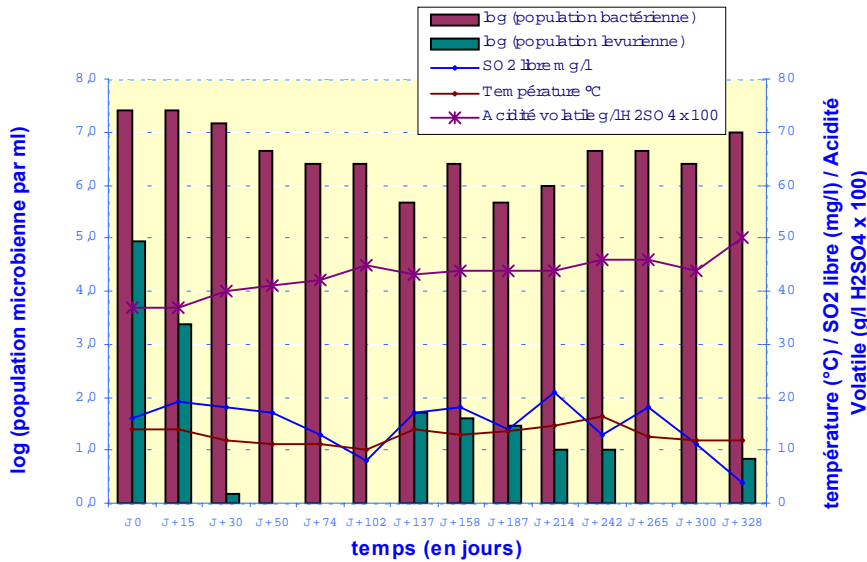


Figura 7: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in fusti, lotto non filtrato, media dei tre fusti (Cantina B)

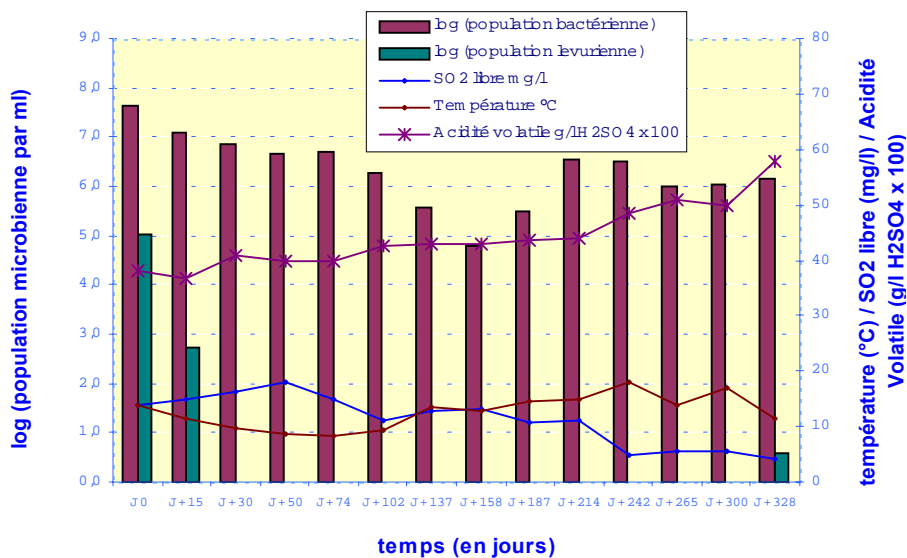


Figura 8: evoluzione della popolazione durante l'affinamento in fusti, lotto filtrato, media dei tre fusti (Cantina B)

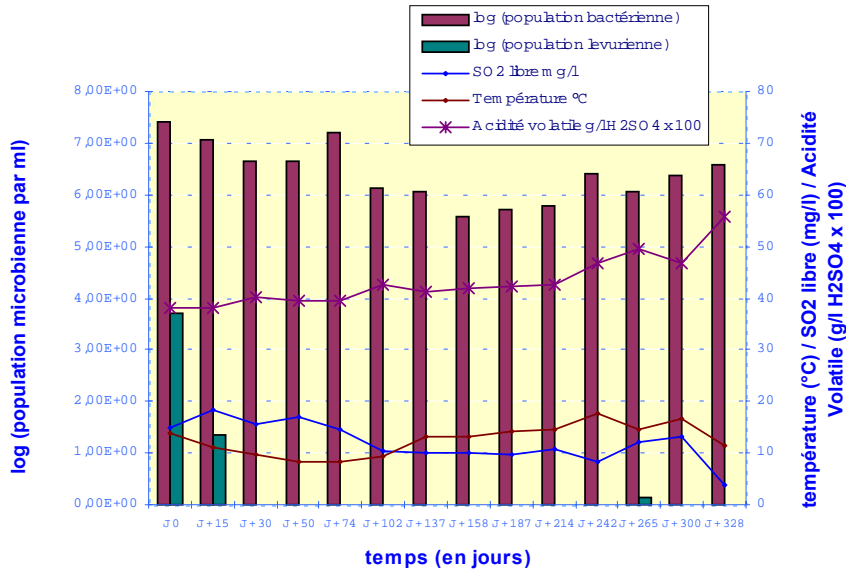


Figura 9: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in botte F II (cantina C)

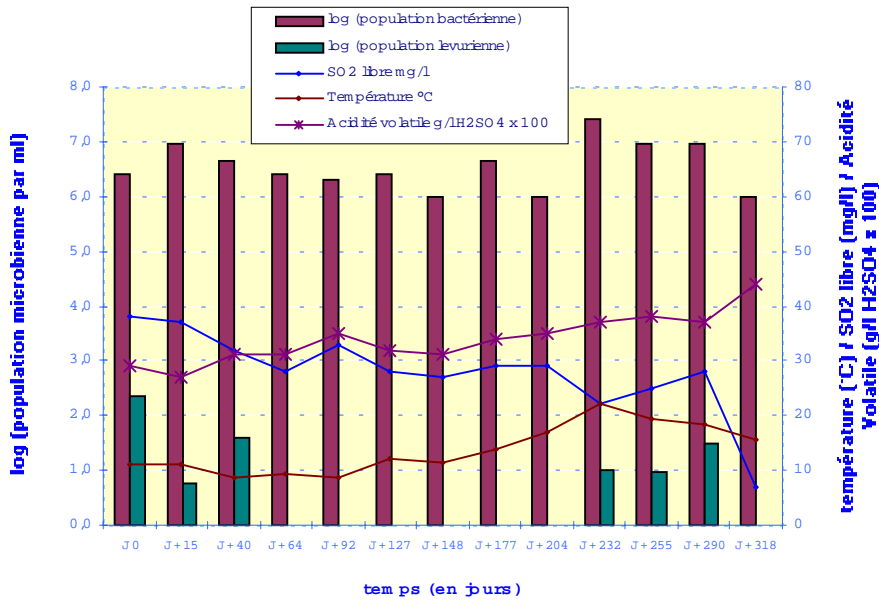
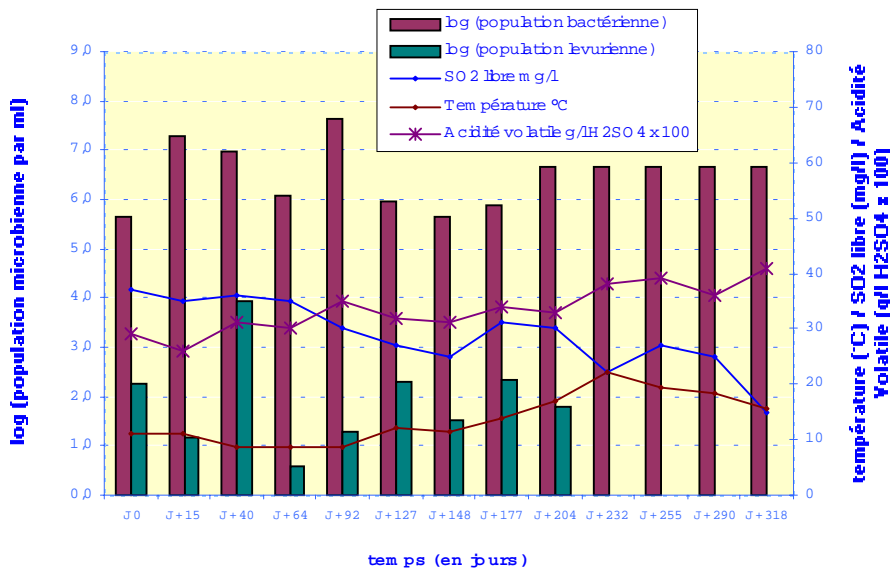


Figura 10: evoluzione della popolazione microbica durante l'affinamento in botte F IV (cantina C)



### **Conclusioni sull'evoluzione della popolazione microbica in corso d'affinamento**

In questo studio, si è potuta apprezzare l'incidenza di vari fattori sull'evoluzione del vino durante l'affinamento. Questi fattori sono, oltre alla composizione chimico-fisica iniziale dei tre vini oggetto del lavoro, il tipo di contenitore, la frequenza o l'assenza di travasi, la dose di SO<sub>2</sub> impiegata, la temperatura. Essi hanno un'incidenza diretta sulla biomassa microbica, che induce un'evoluzione differente dei vini.

La popolazione blastomicetica diminuisce rapidamente fin dal primo mese d'affinamento. Due sono i fattori che sembrano avere un'influenza sulla biomassa blastomicetica: la temperatura e la dose di SO<sub>2</sub>. Tale influenza tuttavia, varia in funzione della cantina e, più verosimilmente, in funzione della natura dei ceppi di lievito che costituiscono la biomassa. Uno studio più approfondito della popolazione potrebbe spiegare tali variazioni. E' infatti plausibile che i ceppi di lievito ritrovati dopo alcuni mesi d'affinamento siano diversi da quelli individuati all'inizio.

Il pH dei vini delle tre cantine sono favorevoli alla sopravvivenza dei microrganismi ed in particolare dei batteri. Il pH infatti, agisce a diversi livelli: partecipa alla selezione delle specie in funzione della loro acidoresistenza, ne orienta il metabolismo e ne determina la velocità di moltiplicazione. Nei vini a pH elevati, la popolazione batterica è generalmente molto variegata (lattobacilli e pediococchi sono di solito più abbondanti). Ne consegue il mantenimento di livelli molto elevati di popolazione al termine dell'affinamento. Il fattore più influente sull'evoluzione dei vini è la dose di SO<sub>2</sub> libera. Il suo effetto maggiore è sulla biomassa batterica. In realtà la SO<sub>2</sub> agisce come batteriostatico: malgrado forti concentrazioni di SO<sub>2</sub>, i batteri possono rimanere inattivi (nessuna produzione di amine biogene o di acido acetico) senza perdere la capacità di riprodursi (lavori di Delfini e Morsiani – 1992 – sulla resistenza alla SO<sub>2</sub> di diversi ceppi di *Leuconostoc oenos* e *Lactobacillus* sp.). L'effetto più marcato della SO<sub>2</sub> è sul loro metabolismo: quando la dose di SO<sub>2</sub> libera è elevata e costante, l'acidità volatile e il contenuto in istamina non cambiano in maniera significativa. Nel caso contrario, l'aumento è significativo. L'effetto della SO<sub>2</sub> sul metabolismo batterico è amplificato dalla temperatura: l'evoluzione dei tenori di istamina e acido acetico è tanto più rapido e marcato quanto più la temperatura è elevata e variabile (escursione termica tra inverno ed estate). Ancora una volta inoltre, è probabile che i fattori favorevoli alla produzione d'istamina ed acido acetico siano variabili in funzione dei ceppi batterici presenti nel vino.

L'igiene della cantina, in particolare dei contenitori destinati all'affinamento, è ugualmente importante per l'evoluzione dei vini. Nella misura in cui questo fattore favorisce lo sviluppo di certi microrganismi, condiziona la presenza di flore d'alterazione in proporzioni variabili e quindi il mutare del vino nel corso dell'affinamento.