di CLAUDIO GORI

# FENOLIVOLATILI EAMMINE. POSSIBILE INTERAZIONE?



Circa quattro anni fa, ad un convegno a Lisbona presso l'Instituto Superior De Agronomia, il prof. Loriero insieme al suo collaboratore prof. Manuel Malfeito Ferreira, esposero le ricerche svolte dal loro dipartimento riguardo la problematica di Brettanomyces e la formazione del 4-etilfenolo e del 4-etilguaiacolo. E' proprio in quell'occasione che ho trovato lo spunto per iniziare questa nostra ricerca: c'erano in degustazione due vini, uno con oltre 1000 µg /L di 4-etilfenolo e l'altro con appena 500 µg /L di fenolo volatile; bene, durante la degustazione notammo che mentre il primo risultava piacevole in bocca e al naso, il secondo presentava caratteristiche olfattive pessime tipiche dei fenoli volatili. Da qui l'importante domanda del prof. Loriero: "Perché il primo non raggiunge la soglia di percezione olfattiva e quindi non presenta i tipici difetti e il secondo sì?"; a mio avviso entrano in gioco altre sostanze che rendono sensibili all'olfatto i fenoli volatili.

# BRETTANOMYCES E FENOLI VOLATILI

Ma facciamo un passo indietro...

Da diversi anni ormai si sente sempre più parlare di uno dei problemi più importanti che sta colpendo sempre più aziende produttrici di vini: *Bretta*nomyces e i fenoli volatili.

Spesso capita di assaggiare vini, anche tra i più pregiati, in cui a livello olfattivo è evidente la contaminazione da *Brettanomyces*, con i classici sentori di cuoio bagnato, sudore di cavallo, tabacco umido, che all'inizio quando i fenoli volatili non sono in grandi quantità, possono risultare piacevoli, ma che poi con l'andar del tempo e l'aumento della loro concentrazione risultano molto sgradevoli.

Ormai le pubblicazioni su questo annoso problema sono molte e gli studi fatti ancora di più.

Allo stato attuale dei lavori siamo in grado di poter affermare che *Brettanomyces* è tra i maggiori responsabili dell'origine di odori e aromi sgradevoli nel vino; simili effetti, quantitativamente però meno rilevanti, possono essere dovuti ad alcune specie di batteri del genere *Lactobacillus* spp. e anche al lievito *Pichia guilliermondii*, per quest'ultimo soprattutto a fine della Fermentazione Alcolica.

Il problema però è che non è ancora stato trovato un modo per debellare in maniera definitiva *Brettanomyces* oppure un modo per evitare che entri in contatto con il vino.

Molto spesso, ed erroneamente, si ritiene che la causa della contaminazione da parte di questo lievito sia la poca igiene della cantina e dei contenitori, soprattutto il legno, dove viene tenuto il vino nella fase di affinamento. Però anche questi luoghi comuni sono stati sfatati da ricerche in cui si è trovato Brettanomyces in vasche di acciaio e soprattutto, cosa più strana, nella no-

LA CONTAMINAZIONE DA BRETTANOMYCES NON È NECESSARIAMENTE LEGATA ALLA POCA IGIENE DELLA CANTINA E DELLE BOTTI COME SPESSO ERRONEAMENTE SI CREDE

stra esperienza pluriennale di consulenza abbiamo ritrovato il lievito in vini prodotti il primo anno in una cantina nuova dove non era possibile aver avuto una contaminazione da Brettanomyces.

Quindi un punto fondamentale nella ricerca su questo problema sta nel capire l'effettivo metabolismo di *Brettanomyces* e soprattutto studiare un metodo per prevenire nella maniera più assoluta il suo sviluppo all'interno dei locali di vinificazione ed affinamento.

### **AMMINE BIOGENE**

Altro argomento introdotto da questo nostro articolo sono le ammine biogene, composti chimici presenti in molti alimenti e che da tempo sono alla base di numerosi studi riguardo la loro potenziale tossicità per l'organismo umano.

La loro presenza è stata riscontrata nel vino ed in particolare nei vini rossi (soprattutto durante e dopo la fermentazione malolattica), nei quali si hanno tenori tendenzialmente maggiori rispetto ai bianchi.

La produzione delle ammine biogene avviene a partire da precursori che sono gli acidi amminati presenti nel mosto provenienti dalle uve. Dagli studi condotti emerge che i produttori di ammine biogene sono i batteri appartenenti ai generi Pediococcus e Lactobacillus che sfruttano l'istidina (acido amminato presente nel vino) decarbossilandola ad istamina, traendone un guadagno sotto il profilo energetico. Riguardo a questo tipo di trasformazione c'è da fare un'ulteriore considerazione sui contenuti in ammine biogene che aumentano durante e dopo la malolattica. Questo fenomeno ha portato ad isolare ceppi di L. oenos in grado di produrre istamina a partire dal suo acido amminato, l'istidina, grazie alla presenza della istidina-decarbossilasi nel loro corredo enzimatico. Dalle prove condotte in laboratorio i ricercatori hanno visto che la produzione di guesta ammina non è costante. L'istidina infatti viene prodotta solo quando la cellula si trova in condizioni di crescita sfavorevoli. quando cioè vengono a mancare altri substrati, in particolare quando siamo in assenza di zuccheri, a pH acidi ed in presenza di etanolo. Questi fattori sono poi da unire alla concentrazione di istidina che i microrganismi trovano già nel mezzo, fattore questo molto importante visto che negli ultimi anni è diventato sempre più frequente l'uso di lisato di lieviti, sostanze che arricchiscono il vino in acidi amminati e peptidi.

### LA NOSTRA RICERCA:

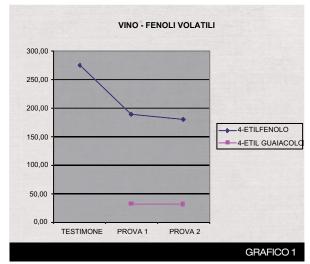
E' a partire dalla degustazione insieme al prof. Loriero sopra citata che ci siamo voluti spingere dentro il problema e cercare di dare una risposta al quesito suscitato in quell'occasione. In questi anni abbiamo confrontato, in varie degustazioni di prodotti che presentavano questi problemi, sia le impressioni personali che i dati analitici dei vari vini; incrociando i vari dati che avevamo, ci siamo accorti che ci potrebbe essere una qualche relazione tra il contenuto in ammine biogene, soprattutto cadaverina e putrescina, e la concentrazione di fenoli volatili.

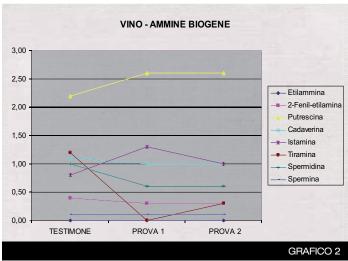
Spesso infatti abbiamo trovato vini in cui era molto marcato l'odore tipico

UNA DELLE MOLTE
PROVE EFFETTUATE PER
TRATTARE I VINI DIFETTOSI
È STATA L'APPLICAZIONE
DI IMPIANTI A OSMOSI,
CON DIVERSI TIPI DI
MEMBRANE E DIVERSI TIPI
DI IMPIANTI

dei fenoli volatili, ma che a livello analitico presentavano quantità di 4-etilfenolo molto al di sotto della soglia di percezione, ma che allo stesso tempo avevano grandi quantità di putrescina e cadaverina; oppure casi completamente opposti a quello appena citato. Una delle molte prove effettuate è stata l'applicazione di impianti a osmosi per trattare i vini difettosi. Le prove sono state effettuate con diversi tipi di membrane e diversi tipi di impianti andando ad analizzare proprio il comportamento sia delle ammine biogene e sia dei fenoli volatili durante questi trattamenti, prendendo in considerazione sia il vino che i permeati e lavorando in diverse condizioni di pressione e concentrazione. Esaminando i vari dati che sono nati da queste prove e assaggiando i vari prodotti nelle varie fasi di lavorazione, abbiamo potuto constatare che effettivamente dei cambiamenti a livello organolettico ci sono stati: vini che prima del trattamento presentavano forti difetti, dopo il trattamento non presentavano problemi alla degustazione.

A rigor di logica si potrebbe pensare che con il trattamento ad osmosi si





rischi di concentrare le sostanze dannose nel prodotto, ma così non è: abbiamo visto analiticamente che anche se si va a concentrare le sostanze, allo stesso modo, si toglie con i permeati una certa quantità delle stesse sostanze, e alla fine ci ritroviamo comunque con una diminuzione delle concentrazioni. E, anche se pur minime, queste differenze sono molto evidenti a livello organolettico.

Nel **grafico 1** è possibile vedere come il contenuto in fenoli volatili diminuisce, in special modo il 4-etilfenolo, in un vino trattato con l'osmosi inversa. Con Prova 1 è stata indicata la fase iniziale del trattamento e con Prova 2 la fase finale.

Nel **grafico 2** seguente, invece, c'è la variazione del contenuto in ammine biogene dello stesso vino che ha subito lo stesso trattamento. Anche qui è possibile notare come il loro contenuto varia all'inizio e dopo il trattamento con l'osmosi inversa.

Invece nei due grafici che seguono (grafico 3 e 4) è possibile vedere come i due tipi di componenti variano nei permeati estratti dall'impianto a osmosi inversa durante il trattamento.

# NUOVE PROVE SULL'INTERAZIONE AMMINE BIOGENE – ETILFENOLI E LORO IMPATTO SENSORIALE

Le nuove analisi effettuate nel corso degli ultimi 2 anni, su vini contaminati con ammine biogene e fenoli volatili, prima e dopo trattamento con osmosi, confermano in parte i risultati del 2005. Come possiamo vedere dalla tabella sottostante, che riporta le analisi effettuate presso un'azienda vinicola di Velletri (RM) su di un vino del 2012 [VINO 1], blend Cabernet Sauvignon-Cabernet Franc, affinamento 18 mesi in legno.

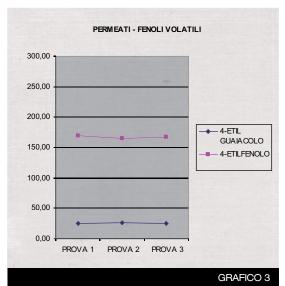
Riduzione di ammine biogene e fenoli volatili confermata anche, seppur in maniera meno sensibile, dalle analisi effettuate su un Cabernet Sauvignon del 2011 [VINO 2], trattato con osmosi inversa, prodotto dalla stessa azienda, 12 mesi di affinamento in legno.

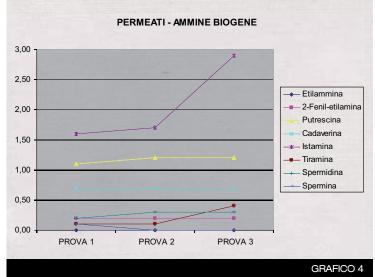
La cosa sorprendente però è come i vini osmotizzati risultino ad una analisi organolettica molto più profumati, senza odori sgradevoli, più puliti sia al palato che in bocca, meno astringenti rispetto ai vini testimone, in una maniera molto superiore a quanto i dati analitici lascerebbero supporre.

I grafici a ragnatela (grafico 5 e 6) mostrano la diversa percezione, indicata con un valore da 1 a 5, di 11 descrittori sensoriali. Si nota come in entrambi i casi vi sia una maggior percezione dei descrittori "positivi" a fronte di una diminuita percezione dei descrittori "negativi" nei vini che hanno subito un trattamento di osmosi inversa.

## **CONCLUSIONI:**

A conclusione di queste nostre prove, possiamo dire che effettivamente una





VINO	ISTAMINA (MG/L)	PUTRESCINA (MG/L)	CADAVERINA (MG/L)	<b>4-ETILFENOLO</b> μg/L	<b>4-ETILGUAIACOLO</b> µg/L
VINO 1 TQ	6,8	6,8	0,9	248,0	85,0
VINO 1 OSMOSI	5,3	8,4	1,7	210,0	60,0
PERMEATO	<0,2	1,1	<0,2	19,0	10,0

TABELLA 1

VINO	ISTAMINA (MG/L)	PUTRESCINA (MG/L)	CADAVERINA (MG/L)	<b>4-ETILFENOLO</b> μg/L	<b>4-ETILGUAIACOLO</b> μg/L
VINO 2 TQ	9,3	28,3	1,1	53,0	<10
VINO 2 OSMOSI	7,6	25,6	0,9	29,0	<10
PERMEATO	<0,2	<0,2	<0,2	10,0	<10

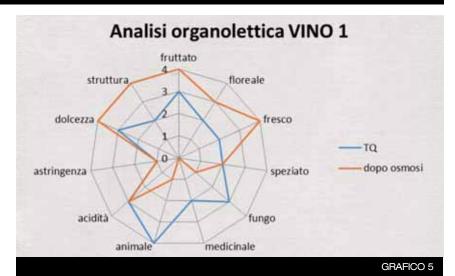
TABELLA 2

qualche relazione tra ammine biogene e fenoli volatili c'è, resta da capire che tipo di relazione essa sia.

I vini che all'inizio presentavano problemi organolettici seri, dopo il trattamento con osmosi inversa subivano un forte miglioramento da quel punto di vista e anche analiticamente presentavano concentrazioni minori. Abbiamo anche eseguito trattamenti sui permeati di vino, trattamenti che ci sono sembrati molto validi per ridurre i contenuti di sostanze sgradite, ma che vanno ancora messi a punto accuratamente.

Ma questo semplice articolo non vuol essere una conclusione, ma piuttosto l'inizio di una ricerca più approfondita.

Vogliamo rivolgere ai tecnici, agli enologi, ai produttori, agli istituti di ricerca una proposta operativa: "Signori, che lo vogliate ammettere oppure no, il problema c'è ed è così per tutti. Perché non cercare di mettere insieme le capacità e gli studi di ognuno di noi, e cercare di trovare una soluzione a questo problema?"



Trovare un sistema che debelli Brettanomyces alla sua fonte, in vigna, non è semplice, in quanto si rischierebbe di eliminare insieme a lui altri organismi utili. Quindi dobbiamo trovare un protocollo di lavoro sicuro, che ci permetta nella pratica quotidiana di tenere sotto controllo il suo sviluppo e limitarlo il più possibile, in modo da non ritrovare più vini con concentrazioni di fenoli volatili intorno a 23.000 μg/L (cosa realmente accaduta).

La ricerca scientifica è importantissima negli studi sull'enologia e può darci un grande aiuto in questo nostro lavoro, però c'è bisogno di una ricerca che cammini di fianco alla pratica quotidiana e l'enologo deve fare da anello di congiunzione tra queste due fondamentali realtà.

E' con questo scopo che proponiamo un incontro, una tavola rotonda, per unire le nostre forze e trovare la soluzione.

# Analisi organolettica VINO 2 fruttato struttura floreale dolcezza fresco 1 TQ dopo osmosi astringenza speziato fungo acidità animale medicinale **GRAFICO 6**

### **BIBLIOGRAFIA**

- Minacci, Ferrari, ISVEA. Poggibonsi – VINIDEA.NET Rivista Internet Tecnica del Vino, 2005, N.5/2
- P. Chatonnet/ Arn. J. Enol. Vitic., Dec 1995; 46: 463-468
- Ferreira et coll., Int. J. Food Microbiol. 2005 Oct 14