



SOMMARIO

1. Introduzione
2. Materiali e metodi
3. Risultati
4. Conclusioni

EFFETTO DEL COLLAGGIO SUL LIVELLO DI POPOLAZIONE DI ALCUNI MICRORGANISMI DI ALTERAZIONE RISCONTRATI NEI VINI.

Marie Laure MURAT – Florent DUMEAU
SARCO

1. INTRODUZIONE

Il collaggio consiste “nell’aggiungere nei vini un prodotto chiarificante capace di coagulare e formare dei fiocchi; la formazione dei fiocchi e la loro successiva sedimentazione trascina le particelle di torbido chiarificando i vini” (*Ribereau Gayon et al. 1977*). Oltre alle sue proprietà chiarificanti questa operazione induce una modificazione della struttura polifenolica dei vini ed un miglioramento della stabilità del colore eliminando le particelle che potrebbero precipitare successivamente in bottiglia (*Lagune-Ammirati et Glories, 1996*).

Tabella 1 – Tenore in SO₂ libera e pH dei vini prima del trattamento

	pH	SO ₂ libera (mg/l)
prova A	3,73	23
prova B1	3,51	18
prova B2	3,48	25
prova C1	3,62	18
prova C2	3,73	20
prova C3	3,54	19

Un altro effetto assai sconosciuto del collaggio é quello sui microrganismi, richiamato da *Ribereau Gayon et al. 1977*: “ Un collaggio precoce dei vini dopo il primo inverno é stato a volte raccomandato per eliminare le particelle in sospensione, i lieviti ed i batteri, in modo da facilitare il prosieguo della conservazione”. Più recentemente *Millet (2001)* ha evidenziato, impiegando albumina d’uovo su vini rossi, la parziale

eliminazione della popolazione di batteri lattici della specie *Oenococcus oeni*.

In questo lavoro sono stati presi in considerazione l’incidenza del tipo di colla e della sua dose sul livello di popolazione di alcuni microrganismi riscontrati nei vini rossi. Ci si é interessati particolarmente a due microrganismi di alterazione dei vini : i lieviti appartenenti al genere *Brettanomyces/Dekkera*, capaci di formare grosse quantità di etil fenoli (etil-4-fenolo) (etil-4-guaiacolo) (*Chatonnet et al 1992*) ed i batteri acetici (genere *Acetobacter*) in grado, in certe condizioni, di indurre aumenti indesiderati di acidità volatile.

2. MATERIALI E METODI

Le prove sono state condotte su vini rossi provenienti da diverse DOC bordolesi. Si tratta di vini della vendemmia 2001, conservati in barriques o in vasca inox. I tenori di SO₂ libera ed i valori di pH dei vini sono riportati in tabella 1.

Le conte dei microrganismi vivi sono fatte dopo sviluppo delle colonie formate in piastra su substrato nutritivo specifico. I batteri ed i lieviti sono contati seguendo le tecniche descritte da Lafon-Lafourcade et Joyeux 1979.

Tabella 2 – Piano sperimentale

	prova A	prova B1	prova B2	Prova C1	Prova C2	Prova C3
Testimone	A-T	B1-T	B2-T	C1-T	C2-T	C3-T
Albucooll 3*	A-A3	B1-A3	B2-A3	-	-	-
Albucooll 6*	A-A6	B1-A6	B2-A6	-	-	-
Albucooll 9*	A-A9	-	-	-	-	-
Gecoll S 3	A-GS3	B1-GS3	B2-GS3	C1-GS3	C2-GS3	C3-GS3
Gecoll S 6	A-GS6	B1-GS6	B2-GS6	-	-	-
Gecoll S 9	A-GS9	-	-	-	-	-
Gelarom 3	A-GA3	B1-GA3	B2-GA3	-	-	-
Gelarom 6	A-GA6	B1-GA6	B2-GA6	-	-	-
Gelarom 9	A-GA9	-	-	-	-	-

*dosi d’impiego della colla in cl/hl

Il tempo di incubazione é di 7 giorni per i *Brettanomyces* e di 5 giorni per i batteri acetici, a 25 °C. I risultati sono espressi in termini di Unità Formanti Colonia (UFC/ml).

Per identificare con certezza i lieviti *Brettanomyces* si é fatto ricorso al metodo PCR (Reazioni di Polimerizzazione a Catena) descritto da

Ibeas et al 1996. E' stato applicato sistematicamente alle culture realizzate a partire dalle colonie isolate sulle piastre.

Nella prova sono state utilizzate le due gelatine più frequentemente impiegate, Gecoll Supra e Gelarom, entrambe caratterizzate da una buona carica superficiale, ed una albumina d'uovo liquida, Albucooll. Su ogni vino trattato é stata fatta una conta ed una identificazione dei microrganismi come precedentemente descritto.

Il piano sperimentale delle prove condotte é riportato in tabella 2.

Preventivamente sono state condotte alcune prove in laboratorio (prove A) su campioni in bottiglie da 375 ml. I vini sono stati conservati su colla per 3 giorni. I prelievi dei campioni di vino per la conta sono stati fatti dopo travaso con l'aiuto di una pipetta Pasteur sterile.

Sono poi seguite le prove delle serie B e C. Le prove B sono state eseguite in barrique, all'introduzione della colla in barrique é seguito un energico batonnage. Le prove C sono state eseguite in vasca ed hanno previsto il solo trattamento con Gecoll Supra, addizionata con l'impiego di un enodosatore nel corso di un rimontaggio. In queste prove il vino é rimasto sulle colle per 3 settimane a cui é seguito il travaso da barrique a barrique o da vasca a vasca.

I campioni sono stati prelevati prima del trattamento e subito dopo il travaso. In tutti i casi il testimone non trattato é stato comunque travasato come i campioni trattati.

I risultati delle conte microbiche sono stati sottoposti ad analisi della varianza a due fattori senza ripetizione con soglia $\alpha = 0,05$ (ANOVA).

3. RISULTATI

In tutti i vini studiati la popolazione di batteri lattici é inferiore a 1 UFC/ml. Senza collaggio si osserva una diminuzione di popolazione di batteri acetici e lieviti *Brettanomyces* grazie

alla sola operazione di travaso : da 4 a più di 60 volte a seconda del vino e del microrganismo. In altri lavori (Millet, 2001) é stata messa in evidenza una moltiplicazione di batteri acetici nelle settimane successive il travaso, probabilmente in seguito alla dissoluzione di ossigeno che questa operazione comporta. In queste prove non si é avuto lo stesso riscontro in quanto i controlli sono stati realizzati immediatamente dopo il travaso.

Nelle condizioni sperimentali l'operazione di collaggio permette di ridurre significativamente le popolazioni di batteri acetici e lieviti *Brettanomyces* in rapporto al testimone dopo travaso (figure 1 – 2 – 3 – 4). Infatti a seconda dei vini, la popolazione di lieviti *Brettanomyces*, nei vini trattati e travasati, é di 40 (prova C3-GS3) fino a 2000 volte (prova B1-GS6) inferiore rispetto al testimone. Del tutto simile l'effetto sulla popolazione di batteri acetici che diminuisce fino a 1900 volte nel campione B2-GA6 in seguito a collaggio.

Pertanto l'effetto della dose di colla, nelle condizioni sperimentali, é statisticamente significativo in tutte le prove e per entrambi i microrganismi considerati (tabella 3). Le due popolazioni microbiche hanno una diminuzione direttamente proporzionale alla dose di colla. Per contro l'origine della colla utilizzata non ha effetto statisticamente significativo. A parità di dosaggio delle due gelatine o dell'albumina, la diminuzione di popolazione di microrganismi risulta molto simile.

Tabella 3 - Effetto della dose e del tipo di colla sulla popolazione di lieviti *Brettanomyces* e batteri lattici, elaborazione statistica dei dati.

Microrganismo	Prova	Effetto dose colla	Effetto tipo colla
<i>Brettanomyces</i>	A	***** (1)	ns (2)
	B1	*****	ns
	B2	***	ns
Batteri acetici	A	*****	ns
	B1	*	ns
	B2	**	ns

(1) : indica un **effetto statisticamente significativo** a $p < 10^{-3}$ (*), $p < 10^{-4}$ (**), $p < 10^{-5}$ (***), $p < 10^{-7}$ (*****).

(2) : non significativo.

Figura 1 – Effetto della dose e del tipo di colla sulla popolazione di lieviti *Brettanomyces* (prove A, B1 e B2)

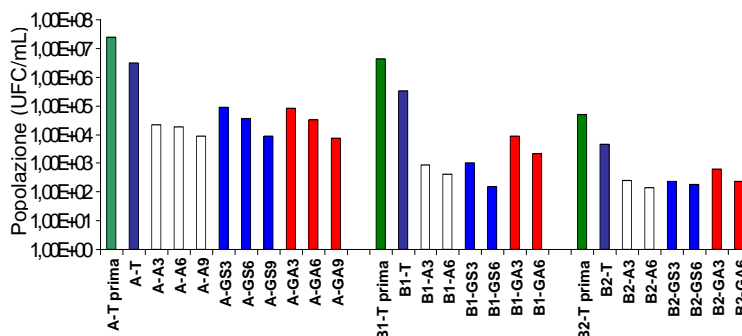


Figura 2 – Effetto del collaggio sulla popolazione di lieviti *Brettanomyces* (prove C1, C2 e C3)

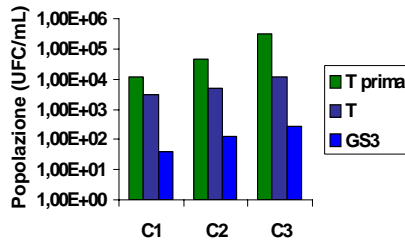
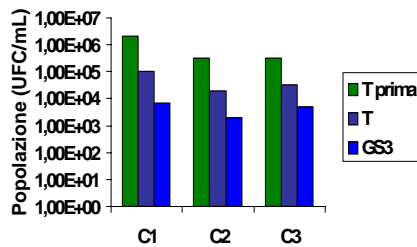


Figura 4 – Effetto del collaggio sulla popolazione di batteri acetici (prove C1, C2 e C3)



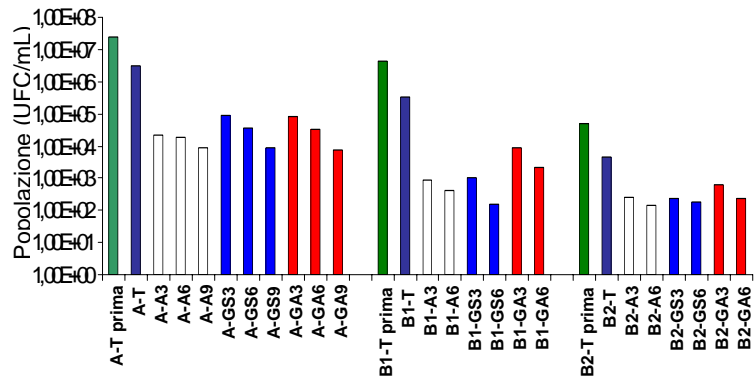
Nel quadro della stabilizzazione dei vini rossi con colle, sappiamo già, che la gelatina e l'albumina, a parità di dosaggio, coinvolgono quantità similari di tannini. Più l'aggiunta di proteine è importante, più la quantità di tannini coinvolti aumenta, senza che vi sia una reale proporzione tra i due. Noi constatiamo lo stesso fenomeno con i microrganismi.

La diminuzione di popolazione di batteri lattici dopo collaggio al bianco d'uovo fresco come recentemente evidenziata da Millet potrebbe essere imputabile all'effetto del lysozima contenuto nell'albumina d'uovo che agisce specificatamente sui batteri GRAM +.

La diminuzione di popolazione di batteri acetici e di lieviti *Brettanomyces* osservata in queste prove non può essere attribuita allo stesso fattore per due ragioni: il lysozima agisce specificatamente sui batteri lattici GRAM + e le gelatine non ne contengono affatto.

La diminuzione di popolazione di microrganismi osservata in queste prove potrebbe essere attribuita sia ad una flocculazione diretta dei microrganismi con le colle proteiche, sia ad una flocculazione delle colle con gli agglomerati colonizzati dai microrganismi. Ma non si può neppure escludere un semplice fenomeno di adsorbimento o trattenimento meccanico.

Figura 3 – Effetto della dose e del tipo di colla sulla popolazione di batteri acetici (prove A, B1 e B2)



4. CONCLUSIONE

Indipendentemente dalle reazioni tra tannini e proteine e dalle modificazioni della struttura polifenolica dei vini, interviene nel corso del collaggio un'azione diretta o indiretta delle proteine nei confronti dei microrganismi. Viene dimostrato infatti per la prima volta come il collaggio concorra alla diminuzione della popolazione di due microrganismi indesiderati, frequentemente riscontrati nei vini rossi, quali sono i batteri acetici ed i lieviti *Brettanomyces*. Oltre alle alterazioni organolettiche di cui essi sono responsabili, questi due microrganismi sono pure in grado, per livelli di popolazione elevata, di indurre problemi di colmataggio dei filtri al momento dell'imbottigliamento.

La decisione di fare un collaggio ai vini, presa fino ad ora in base alla struttura dei vini, e convalidata con l'ausilio della degustazione, potrebbe da oggi essere dettata anche da considerazioni circa la popolazione microbica inquinante.