

CURA DEL CARATTERE BRETT DEI VINI CON POLIMERI CELLULOSICI. NUOVA SOLUZIONE E OPPORTUNITÀ INDUSTRIALE PER NUOVI PRODOTTI ENOLOGICI

Giorgio NICOLINI*, Stephan ROHREGGER, Mario MALACARNE, Christian PUECHER, Roberto LARCHER

Centro Trasferimento Tecnologico, Unità Laboratorio Chimico e Consulenza Enologica, FEM-IASMA, via Mach 1, 38010 S. Michele all'Adige (TN)

* giorgio.nicolini@iasma.it

Lavoro presentato alla 7ª edizione di Enoforum, Arezzo, 3-5 maggio 2011

4-etilfenolo (4EP) e 4-etilguaiacolo (4EG) sono notoriamente conosciuti come i principali responsabili del "carattere Brett" dei vini, carattere che si manifesta più facilmente - con la comparsa di note fenoliche, animali e da sudore di cavallo - in prodotti passati in legno dove il lievito *Brettanomyces* trova più facili condizioni di sviluppo e maggiore protezione dagli interventi di sanitizzanti [Guzzon et al. 2010]. Questi etilfenoli sono presenti in aceti, birre, vini, sidri e distillati, tutti prodotti nei quali, solo in casi e prodotti particolari, possono non essere considerati degli *off-flavours*.

Tali composti sono stati misurati con tecniche gascromatografiche relativamente laboriose fin dagli anni '70 e solo recentemente si sono rese disponibili tecniche HPLC decisamente più rapide, in grado di fornire quantificazioni accurate nell'arco di pochi minuti per concentrazioni dei composti coerenti con gli intervalli di reale interesse enologico [Larcher et al. 2006; Nicolini et al. 2007].

Per la riduzione degli etilfenoli nei vini sono stati proposti finora vari approcci tecnologici con efficacia, e costi ipotizzabili, diversi. Tra di essi si possono ricordare quelli per osmosi inversa e assorbimento [Ugarte et al. 2005], la fissazione su fecce e pareti cellulari di lievito [Chassagne et al. 2005; Pradelles et al. 2008, 2009] e l'uso di polimeri particolari [Garde-Cerdán et al. 2008], oltre ovviamente al più tradizionale - ma purtroppo aspecifico - trattamento deodorante con carboni.

Si presentano in questa sede i risultati di recenti sperimentazioni mirate alla valutazione delle performance di alcuni polimeri di cellulosa esterificata nella cura di vini rossi affetti dal carattere "Brett" dovuto ad anomale concentrazioni di etilfenoli.

Materiali e metodi

Nella preparazione della fase mobile HPLC sono stati utilizzati acetonitrile, metanolo e acido fosforico della VWR-International (Darmstadt, Germania) mentre acetone (>99%), etanolo (96%), idrossido di sodio (99%) e sodio fosfato monobasico (98%) sono stati acquistati da Carlo Erba Reagents (Rodano, Milano, Italia). Le soluzioni standard di 4EP e 4 EG (Lancaster Synthesis Ltd.; Morecambe, Lancashire, ENG) sono stati preparate in acqua:etanolo (50:50 in volume) con acqua Milli-Q (Millipore, Bedford, MA). Catechine e proantocianidine reattive alla vanillina (VAN), proantocianidine (PROC) e antociani totali (ANT) sono stati quantificati secondo Rigo et al. [2000], mentre le altre determinazioni sono state effettuate in accordo a quanto previsto nella Raccolta Internazionale dei Metodi di Analisi dell'O.I.V., 2009. Gli etilfenoli sono stati misurati per HPLC-ECD [Larcher et al. 2006].

Cellulosa acetato (CA; CAS 9004-35-7), cellulosa acetato propionato (CAP; CAS 9004-39-1), cellulosa acetato butirato (CAB; CAS 9004-36-8) e cellulosa propionato (CP; CAS 9004-48-2) (Aldrich; Steinheim, Germania) sono stati ridotti in forma fibrosa facendo scendere attraverso un capillare i polimeri preventivamente disciolti (5 % in peso) in acetone, con un flusso di 5 mL/min, in un bagno d'acqua a 20 °C tenuta in agitazione (60 rpm) per garantire adeguata turbolenza. La fibra è stata successivamente asciugata su carta, lavata con acqua e seccata (70 °C).

Le diverse prove sono state effettuate mettendo le fibre in vino (200 mL) tenuto a 20°C in agitazione con ancorotta magnetica (60 rpm) per 60 minuti.

Risultati e discussione

Una valutazione preliminare della capacità di abbattimento degli etilfenoli da parte dei 4 polimeri disponibili singolarmente utilizzati alla dose di 4 g/L ha messo in evidenza come il comportamento abbattente di ciascun polimero si manifestasse in maniera sostanzialmente analoga sul 4EP e sul 4EG e come i prodotti esterificati col propionico dessero prestazioni migliori, con punte di abbattimento anche superiori al 40% (Figura 1).

Poiché tuttavia l'acetato propionato di cellulosa risulta avere una miglior classificazione FDA come "indirect additives used in food contact substances" (<http://www.accessdata.fda.gov>), si è scelto tale polimero per ulteriori verifiche in termini di studio degli effetti della dose utilizzata, del tempo di contatto, dell'incidenza sul quadro polifenolico nonché sulle caratteristiche cromatiche dei vini e sugli aspetti della piacevolezza organolettica.

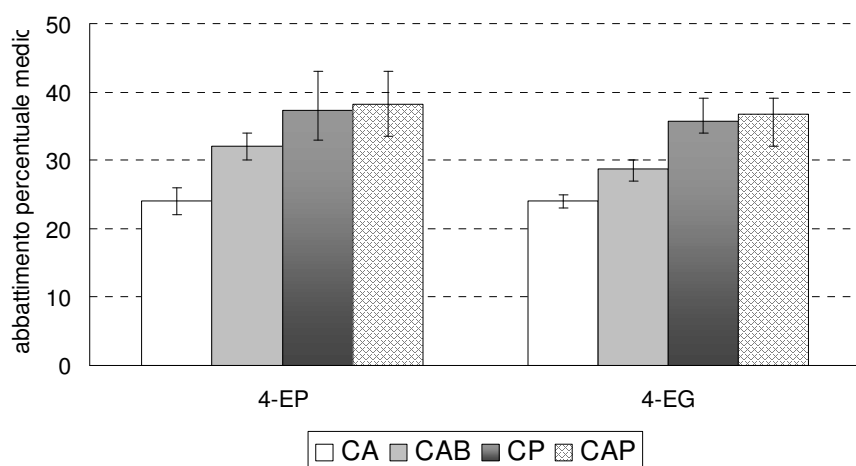


Figura 1. Abbattimenti percentuali medio, minimo e massimo determinati nel contenuto in 4-etilfenolo (4-EP) e 4-etilguaiacolo (4-EG) dal trattamento (4 g/L) con cellulosa acetato (CA), cellulosa acetato propionato (CAP), cellulosa acetato butirrato (CAB) e cellulosa propionato (CP). Misure effettuate su uno stesso vino rosso portato a 3 livelli di concentrazione degli etilfenoli (0.5, 1.0 e 2.0 mg/L).

L'effetto dell'uso di dosi crescenti di CAP fino a 20 g/L è stato indagato in vino rosso preventivamente arricchito di 4EP e 4EG tenuto in agitazione a 60 rpm e 20°C. Gli etilfenoli sono stati portati ciascuno a 3 livelli di concentrazione finale pari a 0.5, 1.0 e 2.0 mg/L ed erano congiuntamente presenti nel vino da sottoporre a trattamento.

Da quanto si evince dalla Figura 2, l'efficacia percentuale di abbattimento cresce con la dose di polimero - benché in maniera meno marcata oltre i 4-6 mg/L di CAP - e raggiunge valori percentuali molto elevati. L'abbattimento è simile per ambedue i fenoli volatili e sostanzialmente indipendente dalla concentrazione iniziale del fenolo, come viene messo in evidenza dalle strette barre di errore che mostrano i valori massimo e minimo degli abbattimenti percentuali ottenuti.

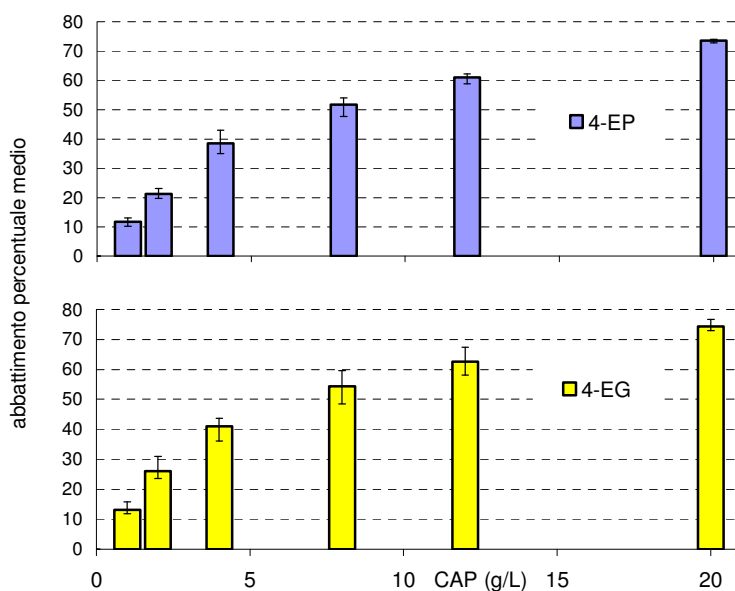


Figura 2. Effetto della dose di utilizzo dell'acetato propionato di cellulosa nell'abbattimento di 4-etilfenolo (4-EP) e 4-etilguaiacolo (4-EG). Si riportano i valori percentuali medi, minimi e massimi osservati su uno stesso vino rosso portato a 3 livelli di concentrazione (0.5, 1.0 e 2.0 mg/L).

L'effetto del tempo di contatto del CAP col vino rosso è stato studiato in condizioni di operatività (60 rpm; 20°C) e di concentrazione degli etilfenoli (0.5, 1.0 e 2.0 mg/L) analoghe alle precedenti, utilizzando l'acetato propionato di cellulosa all'unica dose di 4 g/L e campionando in momenti successivi nell'arco di 60 minuti. Dalla Figura 3 si ha conferma della similitudine di comportamento del polimero rispetto ai 2 fenoli, e della sostanziale indipendenza di tale comportamento dalla concentrazione iniziale degli stessi, come indicato dalle strette barre di errore. Si osserva inoltre il raggiungimento di un plateau attorno ai 15 minuti di trattamento.

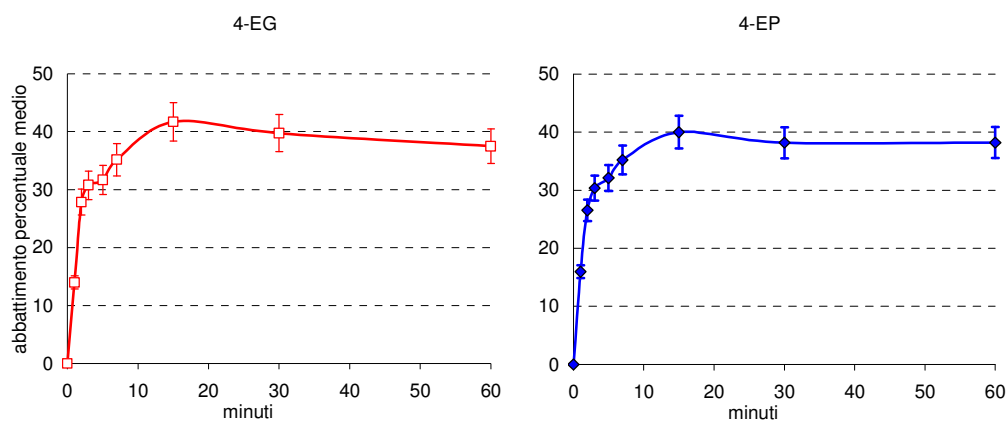


Figura 3. Abbattimento percentuale medio di 4-etilguaiacolo (4-EG) e 4-etilfenolo (4-EP) in relazione al tempo di contatto con l'acetato propionato di cellulosa (4 g/L) in vino. Le barre di errore indicano i valori percentuali minimi e massimi osservati su uno stesso vino rosso portato a 3 livelli di concentrazione (0.5, 1.0 e 2.0 mg/L).

Incidenza su polifenoli e colore

Gli effetti del CAP sui polifenoli e sul colore sono stati studiati utilizzando 10 diversi vini rossi, praticamente secchi (< 2.9 g/L di zuccheri), aventi un grado alcolico tra 12.0 e 13.8 % vol e naturalmente dotati, o parzialmente arricchiti, di etilfenoli. Il trattamento è stato effettuato nelle usuali condizioni (200 mL di vino, 20°C, 60 rpm, 60 min) con 4 g/L di CAP.

Il trattamento ha determinato abbattimenti statisticamente significativi ($p < 0.01$, test a coppie di Wilcoxon) di ambedue gli etilfenoli; mediamente 4EP e 4EG si ritrovano rispettivamente nei vini in concentrazioni ridotte del 31 e 32 %, con minimi del 25-27% e massimi del 41-40 %.

Le variazioni in diminuzione osservate per intensità colorante e antociani totali, benché statisticamente significative, sono tecnologicamente di poco significato essendo rispettivamente, come dato medio, del 4.9 e del 6.6 %. Per gli altri parametri relativi al colore e

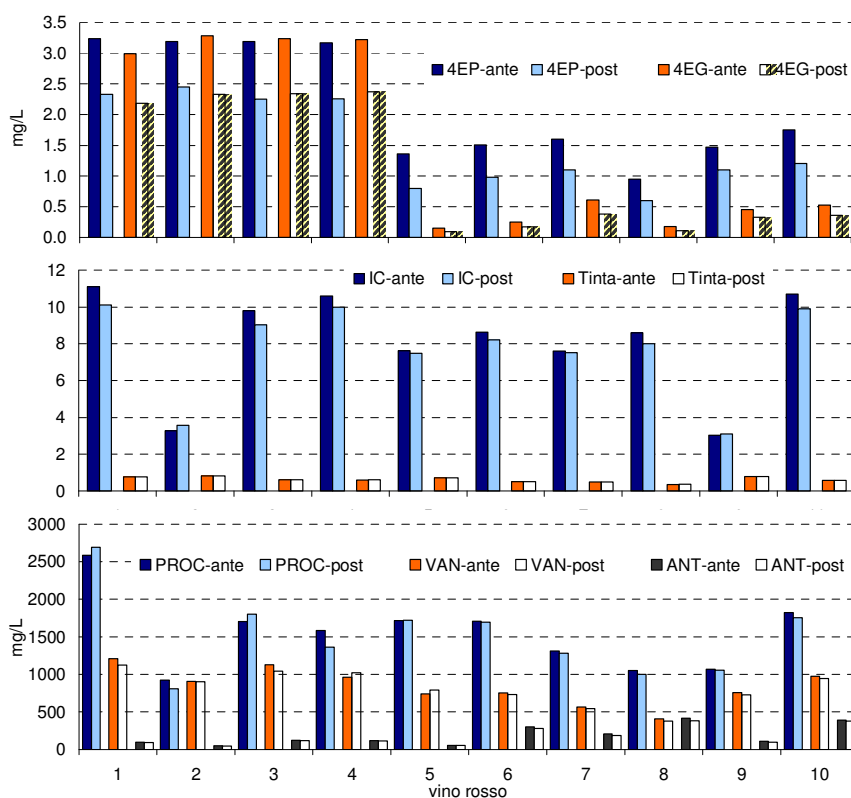


Figura 4. Variazioni del quadro polifenolico e del colore determinate dal trattamento (post) con cellulosa acetato propionato (4 g/L) in vini rossi rispetto ai corrispondenti controlli non trattati (ante).

(VAN = catechine e proantocianidine reattive alla vanillina; PROC = proantocianidine; ANT = antociani totali; IC = intensità colorante)

al quadro polifenolico non sono state osservate differenze né di significatività statistica né tecnologica.

Valutazione sensoriale

Gli stessi 10 vini rossi sono stati valutati - in bicchieri neri per annullare qualsiasi possibile interferenza di giudizio dovuta a potenziali differenze nel colore - da 12-16 degustatori esperti utilizzando il duo-trio test e il test di preferenza a coppie. Tutti i vini trattati sono stati giudicati significativamente differenti all'olfatto e preferiti rispetto ai corrispondenti testimoni di controllo.

Riutilizzabilità del polimero

Nella logica di minimizzare la quantità di polimero da utilizzare e del conseguente rifiuto prodotto a seguito del trattamento, si è ritenuto particolarmente utile verificare la possibilità di rigenerazione del polimero dopo ciascuna utilizzazione. Lavaggi con alcool 99 % o, più semplicemente dal punto di vista della possibilità di realizzazione in cantina, con una soluzione acquosa di NaOH (pH 12, 60 rpm, 10 min) hanno messo in evidenza la possibilità di rigenerare e riutilizzare per una ventina di volte la fibra di CAP senza che si manifestino sostanziali perdite di efficacia abbattente degli etilfenoli, mantenutasi attorno al 33-38%. Il polimero è inoltre riciclabile.

Conclusioni

Tra le quattro cellulose esterificate testate nella sperimentazione, l'acetato propionato è apparso come il più promettente. Infatti, oltre ad abbattere ambedue gli etilfenoli mediamente del 30 % circa, non modifica in maniera tecnologicamente rilevante i polifenoli e il colore dei vini rossi, migliorandone invece significativamente la qualità sensoriale. Le sue caratteristiche intrinseche oltreché la possibilità di rigenerazione in condizioni compatibili con le normali procedure di cantina e la possibilità di un significativo riutilizzo senza sostanziale perdita di efficacia aprono prospettive molto interessanti per una ingegnerizzazione della cellulosa acetato propionato in forma di letti, strati e membrane filtranti funzionali alla cura dei "Bretty wines" o di altre bevande simili. Più problematico appare invece l'uso efficace in bevande ad alta gradazione alcoolica.

Bibliografia

- Chassagne D., Guilloux-Benatier M., Alexandre H. & Voilley A. (2005). Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91, 39-44.
- Garde-Cerdán T., Zalacain A., Lorenzo C., Alonso J.L. & Rosario-Salinas M. (2008). Molecularly imprinted polymer-assisted simple clean-up of 2,4,6-trichloroanisole and ethylphenols from aged red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, 396-400
- Guzzon R., Widmann G., Larcher R. & Nicolini G. (2010). Esperienze di sanitizzazione di vasi vinari in legno. *Industrie delle Bevande* 39(229):15-19.
- Larcher R., Nicolini G., Puecher Chr., Bertoldi D., Moser S. & Favaro G. (2006). Determination of volatile phenols in wine using high-performance liquid chromatography with coulometric array detector. *Analytica Chimica Acta*, 582, 55-60.
- Nicolini G., Larcher R., Bertoldi D., Puecher C. & Magno F. (2007). Rapid quantification of 4-ethylphenol in wine using high-performance liquid chromatography with a fluorimetric detector. *Vitis*, 46, 202-206.
- Pradelles R., Alexandre H., Ortiz-Julien A. & Chassagne D. (2008). Effects of yeast cell-wall characteristics on 4-ethylphenol sorption capacity in model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11854-11861.
- Pradelles R., Vichi S., Alexandre H. & Chassagne D. (2009). Influence of the drying processes of yeasts on their volatile phenol sorption capacity in model wine. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 152-157.
- Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rossetto M., Scarpa M., Vrhovšek U. & Mattivi F. (2000). Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1996-2002
- Ugarte P., Agosin E., Bordeu E. & Villalobos J.I. (2005). Reduction of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol concentration in red wines using reverse osmosis and adsorption. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 30-36.