

# Sviluppo della citometria a flusso per il controllo microbiologico dei vini

Virginie Serpaggi, Patrick Vuchot

Inter Rhône - Service Technique - Orange (France)

**La citometria a flusso è un metodo di analisi ampiamente utilizzato in microbiologia alimentare, ma non è ancora molto sviluppata in enologia, nonostante che questa tecnologia consenta l'analisi rapida e multiparametrica dei microrganismi presenti nel vino. Infatti, grazie a sistemi ottici e fluidici di precisione, l'apparecchiatura fornisce in pochi minuti informazioni sulla morfologia dei microrganismi, il loro numero e il loro stato metabolico. L'uso di adatti marcatori fluorescenti offre l'opportunità di determinare in particolare la vitalità cellulare, parametro essenziale per il corretto monitoraggio delle fermentazioni. Inter Rhône ha sviluppato la citometria a flusso in enologia, per seguire le fermentazioni alcolica e malolattica in modo affidabile, veloce ed economico.**

In enologia, e particolarmente nella microbiologia del vino, le problematiche sono numerose e non smettono di causare dei problemi ai tecnici.

Si possono verificare problemi di contaminazione dei vini da parte di microrganismi indesiderati (come *Brettanomyces* o batteri acetici), problemi di impianto di lieviti nel momento dell'inoculo, rallentamenti o arresti di fermentazione, o anche una mediocre stabilità microbiologica prima dell'imbottigliamento del vino.

Ci sono diversi strumenti attualmente in uso per assicurarsi dell'assenza di questi problemi, ma hanno tutti dei limiti. L'uso della capsula di Petri è poco costoso, ma ha un tempo di risposta spesso troppo lungo (più di una settimana).

La capsula di Petri inoltre non consente di rilevare i microrganismi in stato di "Vitali Non Coltivabili" (VNC). La PCR quantitativa è veloce e prende bene in conto le cellule VNC, ma il suo costo e l'alto tecnicismo richiesti possono essere un ostacolo per un utilizzo di routine.

Questo spiega la necessità di sviluppare strumenti nuovi e migliori, più veloci e più precisi, pur mantenendo un costo accettabile per le cantine. La citometria a flusso è una tecnologia che soddisfa tutti questi parametri. Permette

una rapida analisi del campione (qualche ora), una specificità elevata, un'alta precisione rispetto alle informazioni ottenute, in funzione dei marcatori molecolari utilizzati.

La velocità del metodo e l'automazione del sistema permettono di offrire questa tecnologia a prezzi competitivi.

In questo contesto, Inter Rhône sta sviluppando all'interno del suo Servizio R&D la tecnologia di citometria a flusso per consentire una analisi microbiologica del vino più completa e più veloce. Questa tecnologia, che ha faticato a tro-

vare il suo posto come analisi di routine nella microbiologia del vino, si è invece sviluppata da molti anni nello studio di birra [3], sidro [2] e perfino mosti [1].

Il primo obiettivo del nostro ambizioso progetto è quello di fornire un conteggio rapido dei lieviti e dei batteri vitali nel vino, in qualsiasi momento del processo di vinificazione. Questo test potrebbe consentire, ad esempio, di verificare la vitalità delle cellule di lievito in caso di rallentamento della fermentazione alcolica (FA), allo scopo di capire rapidamente quale approccio sia

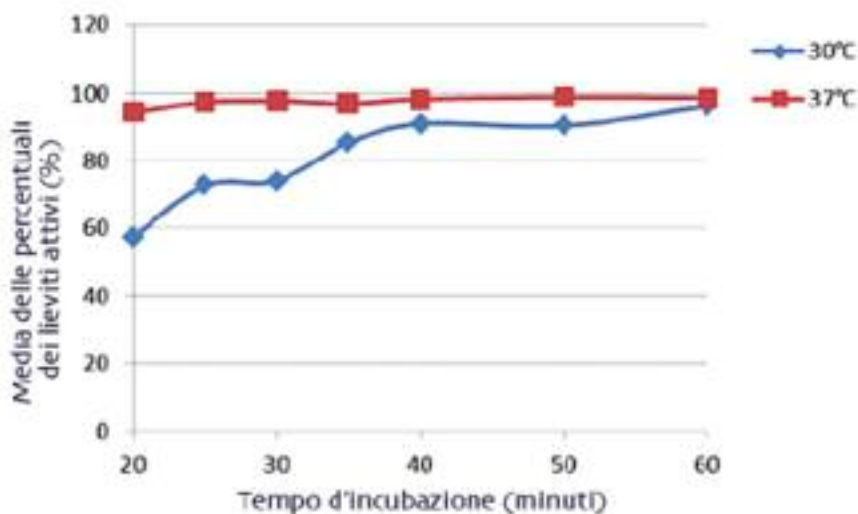


Figura 1 - Evoluzione della percentuale di lieviti attivi in funzione del tempo a 30 °C e 37 °C.