

Sandra Torriani

Dipartimento di Biotecnologie – Università di Verona  
Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino



## IL CHITOSANO: UNA PROMESSA PER IL CONTROLLO MICROBIOLOGICO DEI VINI

Per contrastare le proliferazioni dei microrganismi che possono causare alterazioni durante la filiera di produzione del vino sono state proposte soluzioni alternative ai composti chimici di sintesi, il cui uso, per varie motivazioni, deve essere ridotto nel settore alimentare. Tra queste spicca il chitosano, un derivato N-deacetilato del polisaccaride chitina, che si presenta sotto forma di polvere bianca priva di sapore e odore.

La chitina è il biopolimero naturale più abbondante sulla Terra dopo la cellulosa: si trova nella parete cellulare dei funghi e delle alghe, nell'esoscheletro degli artropodi (insetti e crostacei) e nei molluschi. I derivati della chitina, i chitosani e i chitina-glucani, sono già utilizzati da parecchi anni nei settori più diversi quali: agricoltura, biomedicina, biotecnologia, industria tessile e alimentare. La parziale sottrazione del gruppo acetilico ( $\text{CH}_3\text{-CO}$ ) della chitina porta alla formazione del copolimero lineare, il chitosano, costituito da N-acetil-D-glucosammina (unità acetilata) e D-glucosammina (unità deacetilata), legati tramite legami  $\beta(1-4)$  (Figura 1). Il grado di acetilazione dei chitosani varia tra il 70 e il 95%; quindi ci saranno chitosani con proprietà chimiche, biologiche e fisiche differenti in base al tipo di estrazione e in base alla variazione del grado di acetilazione (DA) e del peso molecolare (PM).

Queste molecole policationiche offrono una serie di vantaggi di estremo interesse applicativo in quanto sono biodegradabili, non tossiche, biocompatibili e bioattive, con un'azione antimicrobica verso molti batteri, lieviti e miceti filamentosi. Il chitosano è l'unico polimero cationico solubile in acqua disponibile in commercio a causa

delle cariche positive sui suoi aminogruppi. Per la presenza di D-glucosammina, è solubile in soluzioni deboli di acidi organici ( $\text{pH} < 5-6$ ), come acido acetico, acido lattico e acido malico, insieme a HCl diluito.

Sebbene i meccanismi dell'attività antimicrobica del chitosano non siano ancora completamente compresi, sono stati proposti tre modelli: a) l'interazione ionica con la superficie cellulare che determina la fuoriuscita di componenti citoplasmatici; b) l'inibizione della sintesi di mRNA e proteine a seguito dell'ingresso del chitosano nel nucleo dei microrganismi; c) la formazione di una

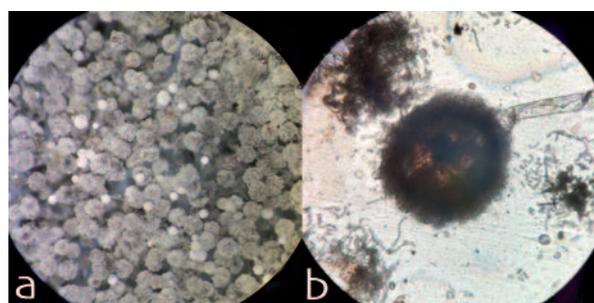


Figura 2 - Morfologia di *Aspergillus niger*.  
a) allo stereomicroscopio 35x; b) al microscopio ottico 400x.

barriera esterna, che chela i metalli e sottrae sostanze nutritive essenziali alla crescita microbica. A differenza della  $\text{SO}_2$ , è stato osservato che il chitosano agisce più velocemente sui funghi che sui batteri. In generale, più bassi sono il PM e il DA, maggiore sarà l'efficacia sulla riduzione della crescita e la moltiplicazione dei microrganismi.

L'utilizzo di chitosano in enologia è, ad oggi, ancora limitato e soggetto a studi da parte del mondo vitivinicolo e sanitario. L'Organizzazione Internazionale della Vite e Vino (OIV) e l'Unione Europea hanno approvato, rispettivamente nel 2009 e 2011, l'uso di chitosano di origine fungina come una nuova pratica enologica.

Il chitosano fungino enologico, ottenuto dall'idrolisi della chitina estratta da *Aspergillus niger* (Figura 2), può intervenire in diversi aspetti del processo produttivo,

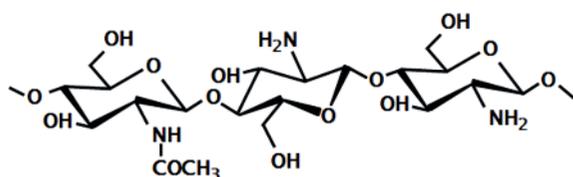


Figura 1 - Struttura del chitosano, un polimero di N-Acetil-D-glucosammina e D-Glucosammina uniti da un legame  $\beta(1-4)$ .

quali: stabilizzazione, chiarifica, disacidificazione, riduzione di metalli, ocratossina A, enzimi e pesticidi. Diversi studi hanno riportato che bastano basse concentrazioni di chitosano in soluzione acida per avere una diminuzione delle cellule vive di *Brettanomyces bruxellensis* e che l'effetto è esteso su molte altre specie di lieviti e batteri indesiderati per la qualità del vino. Sono stati ottenuti buoni risultati per quanto riguarda l'inibizione di *Oenococcus oeni*, batterio Gram-positivo, responsabile della fermentazione malolattica (FML) del vino.

Attualmente, l'uso del chitosano di estrazione animale, derivante soprattutto dal guscio di diversi crostacei (disponibili in grande quantità come residui di lavorazione), non è approvato in ambito enologico. Sono state sollevate preoccupazioni che i vini trattati con chitosano potrebbero innescare reazioni nei pazienti con allergie ai frutti di mare. Gli allergeni più importanti coinvolti in queste allergie sono le proteine muscolari, come la tropomiosina; inoltre, allergeni minori clinicamente rilevanti, come l'arginina chinasi, sono stati trovati nei gusci dei gamberi. Tuttavia, la severa procedura chimica di isolamento del chitosano dovrebbe rimuovere tutte le proteine e i contaminanti. Infatti, il chitosano derivato da gamberetti è stato riconosciuto generalmente come sicuro (GRAS) da parte dell'*American Food and Drug Administration* (FDA) nel 2012. Uno studio recente, inoltre, ha confermato la sicurezza del vino trattato con chitosano animale in pazienti con severa allergia ai gamberetti e precedenti episodi anafilattici. Pertanto l'applicazione di chitosano di origine animale come tecnologia antimicrobica nell'industria enologica, anche dato il suo minor costo, potrebbe offrire buone potenzialità per limitare la crescita di diversi microrganismi di alterazione.

Nell'ambito di un più ampio programma sviluppato in collaborazione tra "Collis Veneto Wine Group" di Monteforte d'Alpone (VR), responsabile del progetto

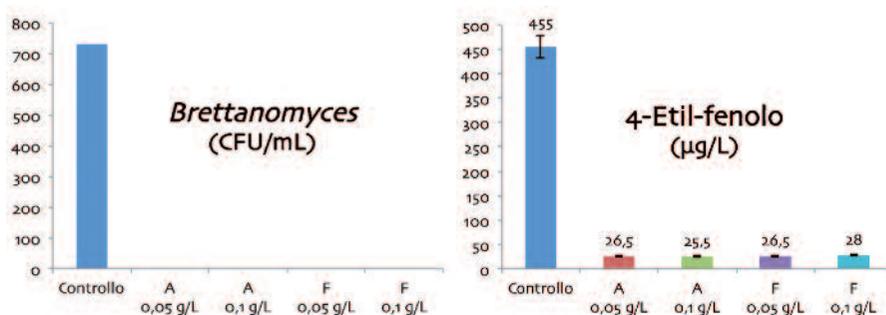


Figura 3 - Popolazione di *Brettanomyces* e concentrazione di 4-etil-fenolo in vino Valpolicella di controllo e trattato con due preparati commerciali di chitosano: A di origine animale e F di origine fungina a due differenti dosi dopo 3 mesi di conservazione in bottiglia.

Enol. Gianni Conte, e il Dipartimento di Biotecnologie dell'Università di Verona è stata comparata l'efficacia antimicrobica di diversi preparati industriali a base di chitosano. In una sperimentazione di laboratorio condotta su vino Valpolicella inoculato artificialmente con *B. bruxellensis* (103 UFC/mL) e trattato con chitosano fungino (F) o chitosano animale (A) alle dosi di 50 e 100 mg/L, la popolazione di *Brettanomyces* e i livelli di fenoli volatili nel vino sono stati controllati in modo significativo (Figura 3). Inoltre, la degustazione effettuata da un panel addestrato di otto giudici ha valutato positivamente

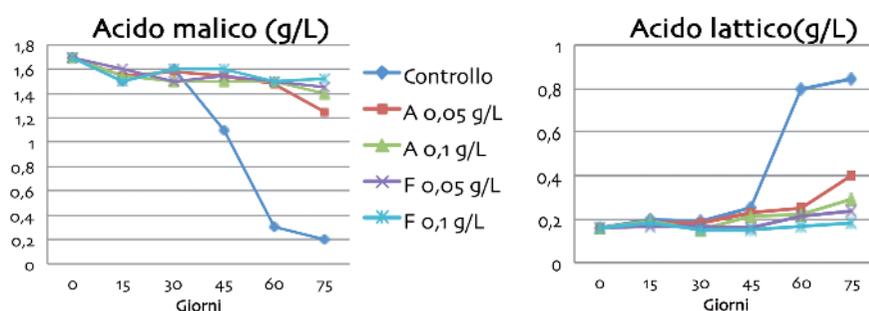


Figura 4 - Evoluzione degli acidi malico e lattico in vino Soave inoculato con  $10^6$  UFC/mL di batteri malolattici indigeni dopo conservazione in bottiglia per 75 giorni. A: chitosano di origine animale. F: chitosano di origine fungina.

il profilo sensoriale dei vini trattati con entrambi i tipi di chitosano alla dose di 50 mg/L.

Gli stessi preparati sono stati testati su vino Soave inoculato con un elevato numero di batteri malolattici indigeni ( $5 \times 10^5$  UFC/mL) per verificarne l'efficacia nell'inibire la FML. La Figura 4 mostra che l'acido malico non è stato degradato nelle tesi con chitosano dopo 75 giorni di conservazione in bottiglia. Questo andamento è confermato dai valori dell'acido lattico.

I dati ottenuti da queste prove di laboratorio e da quelli della letteratura confermano l'efficacia del chitosano nel contrastare lo sviluppo di microrganismi deterioranti nel vino e che questo composto può contribuire a ridurre l'uso dell'anidride solforosa in cantina.