IVES Technical Reviews
vigna & vino

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2023.7868

No, *Brettanomyces bruxellensis* non è responsabile di tutte le malattie!

Pierre Moulis[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Céline Franc[1], Laurent Riquier[1], Stéphanie Marchand[1], Gilles de Revel[1], Doris Rauhut[2], Patricia Ballestra[1]

[1] Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, UMR 1366, OENO, ISVV, F-33882 Villenave d'Ornon, France

[2] Department of Microbiology and Biochemistry, Hochschule Geisenheim University, 65366 Geisenheim, Germany

Nei vini, gli aromi di galletta di riso e budello di salame sono generalmente associati al difetto chiamato "gusto di topo". Questo difetto è in recrudescenza in alcuni vini. Il lavoro presentato ha permesso di isolare i microrganismi presenti in 25 vini alterati. Sono stati identificati i lieviti alteranti *Brettanomyces bruxellensis* e batteri lattici delle specie *Oenococcus oeni* e *Lentilactobacillus hilgardii*. Inoltre, è stata verificata la loro capacità di produrre gli N-eterocicli responsabili del gusto di topo. *B. bruxellensis* è stato ritrovato solo in una minoranza dei vini affetti dal gusto di topo.

Introduzione

Il "gusto di topo" è caratterizzato da aromi che vanno dal "riso basmati" all'"urina di topo", passando per il "budello di salame". È percepibile solo per via retronasale, a causa della bassa volatilità dei composti responsabili del difetto al pH del vino[1]. Questi ultimi possono essere prodotti da batteri lattici come *Lentilactobacillus hilgardii* e *Oenococcus oeni*, nonché dal lievito *Brettanomyces bruxellensis*, già noto per la produzione del carattere fenolico nei vini[2 3]. In generale, molto spesso questo lievito viene accusato di essere responsabile del difetto, ma il suo impatto è così significativo come supponiamo? Infine, pochissimi lavori si concentrano sulla diversità microbica dei vini affetti dal "gusto di topo". Questo lavoro si concentra quindi sull'identificazione dei microrganismi presenti in 25 vini alterati e sullo studio della loro capacità di produrre alterazione in un mezzo modello.

Risultati

Un gruppo di 353 isolati microbici è *stato* isolato dai 25 vini che presentavano "gusto di topo". Questi diversi microrganismi sono stati identificati mediante MALDI-TOF MS. Tra i lieviti, 101 isolati rivelano la presenza di 4 specie: *B. bruxellensis, Pichia manshurica, Priceomyces carsonii* e *Saccharomyces cerevisiae*. Per quanto riguarda i 252 isolati di batteri lattici, sono state identificate 3 specie: *O. oeni, L. hilgardii* e *Pediococcus parvulus*. Le frequenze delle specie identificate sono mostrate nella Figura 1.

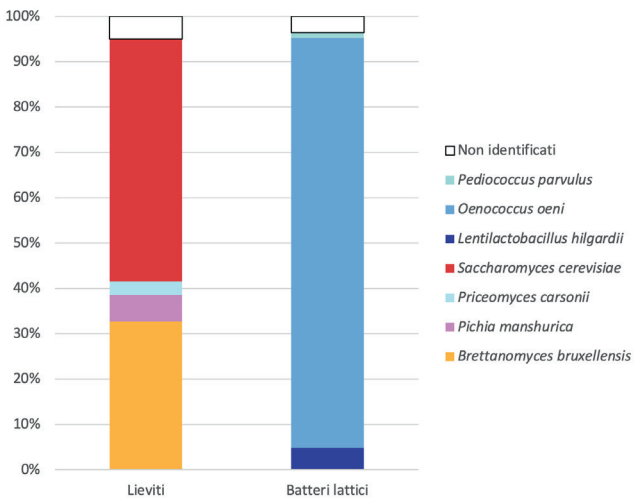


FIGURA 1. Specie microbiche identificate negli isolati dei 25 vini alterati[4].

La capacità di produrre il "gusto di topo" di questi diversi microrganismi isolati è stata valutata in un mezzo modello *N*HAM (mezzo contenente tutti i precursori fino ad oggi noti per la produzione di *N*-eterocicli). Questa capacità è stata monitorata analizzando i tre composti *N*-eterociclici noti per essere responsabili del "gusto di topo", vale a dire l'acetilpirrolina (APY), l'etiltetraidropiridina (ETHP) e l'acetiltetraidropiridina (ATHP)[5].

Solo 53 isolati sono stati in grado di produrre l'alterazione: 13 di *B. bruxellensis*, 3 di *L. hilgardii* e 37 di *O. oeni*, ovvero il 100% degli isolati testati di queste specie. Lo studio è stato poi esteso a 22 ceppi di *B. bruxellensis*, 20 ceppi di *O. oeni* e 10 ceppi di *L. hilgardii* provenienti da diverse collezioni (fornite dal CRBO (Bordeaux, Francia), dal laboratorio GMGM (Strasburgo, Francia), dall'AWRI (Adelaide, Australia) e dal DSM (Braunschweig, Germania)). L'obiettivo era di determinare la variabilità del livello di produzione dei tre composti *N*-eterociclici.

I risultati sono presentati nella Figura 2. Tutti i ceppi testati hanno prodotto almeno 2 di questi composti. I ceppi di *B. bruxellensis* hanno prodotto ATHP ed ETHP. I batteri lattici, dal canto loro, tendevano a produrre principalmente APY e ATHP. Si notano differenze nel livello di produzione dei tre composti tra i ceppi della stessa specie, ma non è stato possibile tracciare alcun collegamento tra la tipizzazione genetica dei ceppi testati e la loro capacità di produrre il "gusto di topo" in condizioni standardizzate (mezzo *N*HAM).

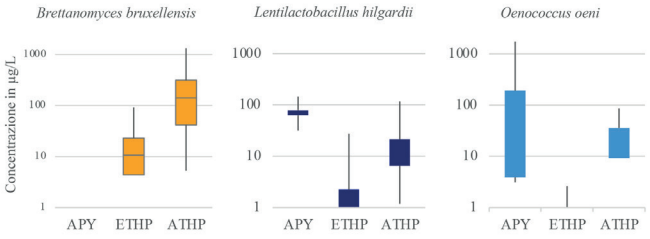


FIGURA 2. Composti d'alterazione in µg/L prodotti nel mezzo modello dai ceppi selezionati[4].

Queste tre specie produttrici sono state rilevate in alcuni dei vini studiati e non in altri. La loro prevalenza è indicata nella Figura 3. *O. oeni* è presente nell'84% dei vini mentre *B. bruxellensis* e *L. hilgardii* si trovano rispettivamente solo nel 20% e nel 12% dei vini. Per 2 di questi vini non è stato possibile isolare alcun microrganismo appartenente alle 3 specie. È interessante notare che uno dei due non conteneva alcun microrganismo. L'assenza di informazioni ottenute su questi vini non esclude la possibilità di una filtrazione prima del campionamento.

La traduzione di questo articolo in italiano vi stata offerta da WineHunter Hub. https://www.winehunterhub.com/

Il secondo invece conteneva altri microrganismi, come *Saccharomyces cerevisiae*. La possibilità che l'alterazione sia stata prodotta da specie diverse da queste 3 rimane un'ipotesi da studiare.

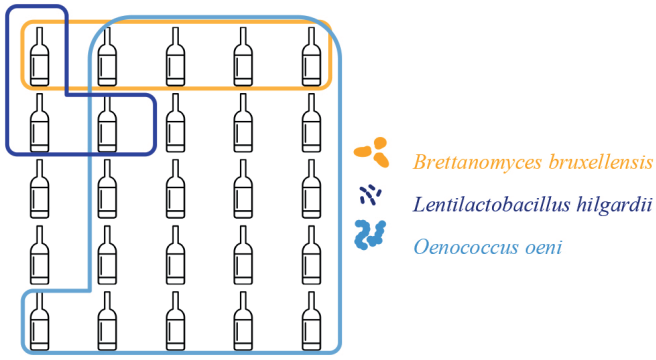


FIGURA 3. Prevalenza delle specie isolate da 25 vini alterati[4].

Un altro studio effettuato presso l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV, Villenave d'Ornon, Francia[6]), relativo allo sviluppo di un metodo per la misura degli *N*-eterocicli responsabili del deterioramento dei vini, si è interessato alla quantificazione di questi 3 composti in 62 vini difettosi. Ogni vino analizzato conteneva almeno uno dei 3 composti. Parallelamente agli *N*-eterocicli sono stati misurati il 4-etilfenolo e il 4-etilguaiacolo, responsabili del carattere fenolico prodotto da *B. bruxellensis*. Dei 62 vini alterati, solo 8 presentavano quantità significative di fenoli volatili (superiori ai limiti di quantificazione), ovvero il 12,9% dei vini. L'assenza di composti fenolici nella maggior parte dei vini affetti dal gusto di topo suggerisce che non esiste alcun legame tra le due alterazioni.

Conclusione

L'obiettivo di questo studio era di determinare la diversità dei microrganismi nei vini alterati dal "gusto di topo" e di valutare la loro capacità di produrlo in un mezzo modello. La maggior parte dei microrganismi isolati dai vini difettosi apparteneva alle specie *O. oeni*, *B. bruxellensis* e *S. cerevisiae*. Delle 4 specie di lievito isolate, solo *B. bruxellensis* ha mostrato la capacità di produrre l'alterazione in un mezzo modello. Allo stesso modo, solo *O. oeni* e *L. hilgardii* hanno questa capacità tra le 3 specie di batteri lattici isolati. Nella maggior parte dei vini (16/25 vini), l'unica specie microbica ritrovata e capace di produrre il difetto era *O. oeni*. D'altro canto, *B. bruxellensis*, spesso associato all'alterazione, si trova solo in meno del 20% dei vini difettosi. ■

Ringraziamenti: *Questa ricerca è stata finanziata nell'ambito dell'accordo internazionale di progetti Bordeaux-Adelaide-Geisenheim (BAG), attraverso il Collegio di dottorato franco-tedesco CDFA-03-18, la Regione Nouvelle-Aquitaine e il Land de Hesse.*

1 Tempère, S., Chatelet, B., de Revel, G., Dufoir, M., Denat, M., Ramonet, P.-Y., Marchand, S., Sadoudi, M., Richard, N., Lucas, P., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Riquier, L., Perello, M.-C., & Ballestra, P. (2019). Comparison between standardized sensory methods used to evaluate the mousy off-flavor in red wine. *OENO One, 53*(2). https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.2.2350

2 Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J., & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 60*(2), 165–178. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205

3 Peynaud, E., & Domercq, S. (1956). *Brettanyomyces* isolated from grapes and wine. *Archiv Fur Mikrobiologie, 24*(3), 266–280. https://doi-org.docelec.u-bordeaux.fr/10.1007/BF00419012

4 Moulis, P., Miot-Sertier, C., Cordazzo, L., Claisse, O., Franc, C., Riquier, L., Albertin, W., Marchand, S., De Revel, G., Rauhut, D., & Ballestra, P. (2023). Which microorganisms contribute to mousy off-flavour in our wines? *OENO One, 57*(2), 177–187. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.2.7481

5 Snowdon, E. M., Bowyer, M. C., Grbin, P., & Bowyer, P. K. (2006). Mousy off-flavor: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(18), 6465–6474. https://doi.org/10.1021/jf0528613

6 Kiyomichi, D., Franc, C., Moulis, P., Riquier, L., Ballestra, P., Marchand, S., Tempère, S., & de Revel, G. (2023). Investigation into mousy off-flavor in wine using gas chromatography-mass spectrometry with stir bar sorptive extraction. *Food Chemistry, 411*, 135454. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135454

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.