



# IL LAVAGGIO DELLE UVE: EFFETTO SULLE SOSTANZE INQUINANTI

Il consumatore è sempre più sensibile alla "salubrità" dei beni alimentari infatti, gli organi competenti impongono normative che regolano l'uso dei prodotti fitosanitari sempre più rigide e restrittive. Vista la necessità di produrre vini di alta qualità e privi di difetti, nonché esenti da contaminazioni esterne, è nata l'idea di approfondire la tematica di lavaggio delle uve al fine di migliorare le performance fermentative e la "pulizia" dell'uva e del vino.



Di  
**Roberto Ferrarini<sup>1</sup>**  
**Luca Bonetti**  
**Davide Manara**  
**Valeria Guantieri**  
 Università degli Studi di Verona  
 Perfect Wine

**Fabio Finato**  
 Unione Italiana Vini

**Enrico Dalla Bernardina**  
**Francesco Lonardi**  
 Perfect Wine

## INTRODUZIONE

■ La realizzazione dell'idea, illustrata in premessa, è stata possibile con la presentazione di un progetto dal titolo "Eliminazione dei trattamenti chimici comportanti residui in campo ed in cantina", acronimo "RESIDUO 0", finanziato nell'ambito del Piano di Sviluppo Rurale della Regione Veneto, 2007-2013, DGR 1604 del 31/07/2012, misura 124 - Az. S "Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nel settore agricolo, alimentare e forestale.

■ L'obiettivo del progetto è di ridurre sensibilmente o di sostituire del tutto l'impiego di sostanze chimiche tradizionalmente utilizzate in viticoltura e in enologia rispettivamente nella difesa da patogeni e nella disinfezione delle cantine. Sono stati impiegati prodotti a basso

o nullo impatto ambientale che non lasciano residui, come l'acqua elettrolizzata e l'acqua ozonizzata.

■ L'utilizzo di tali prodotti evidenziano risultati che sono in grado di apportare benefici per i consumatori, per l'ambiente, per la popolazione che vive nelle zone di intensa viticoltura, nonché per le aziende che potranno ridurre o eliminare i costi legati all'acquisto dei prodotti chimici necessari per i trattamenti tradizionali. I partner coinvolti in questa progettualità sono l'azienda Bisol Desiderio & Figli-società agricola s.s., Perfect Wine S.r.l., il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto per la protezione delle piante (CNR-IPP), il Consorzio Tutela del Vino Conegliano Valdobbiadene Prosecco e il Consorzio Tutela Vini Soave e Recioto di Soave.

■ Le numerose e complesse attività che hanno visto impegnati i partner stanno mostrando interessanti risultati in linea con gli obiet-

tivi prefissati. In particolare, Perfect Wine pur collaborando in tutti gli ambiti previsti nel progetto è stata coordinatore e responsabile di quattro attività:

- definizione di un protocollo scientifico. È stato realizzato, in seguito ad un'intesa attività di ricerca bibliografica, un protocollo scientifico in grado di soddisfare le esigenze operative (parametri operativi) di costruzione e funzionamento del prototipo per la produzione di acqua ozonizzata in campo;
- revisione dei protocolli sperimentali in campo. Dall'analisi dei dati ottenuti in campo sono state individuate le criticità del metodo; ciò ha permesso una rapida correzione e/o integrazione dei protocolli;
- realizzazione della sperimentazione in post raccolta dell'uva. Un'accurata sperimentazione, in sintonia con i protocolli realizzati, ha permesso di effettuare una serie di confronti



DOCUMENTO TECNICO

mirati per valutare l'efficacia del trattamento sull'uva in post-raccolta;

- revisione dei protocolli sperimentali in post raccolta dell'uva. Analogamente a quanto effettuato per la revisione dei protocolli sperimentali in campo, anche per la fase di post raccolta delle uve, un costante monitoraggio dei risultati delle analisi ha permesso di integrare e/o modificare i protocolli individuati per raggiungere gli obiettivi prefissati.

■ I fitosanitari sono utilizzati in agricoltura per preservare l'integrità del prodotto finale, al fine di proteggere il prodotto stesso da eventuali attacchi delle principali patologie. Tuttavia, il loro eccessivo utilizzo, soprattutto negli anni passati e attualmente nei paesi in via di sviluppo, ha portato a problematiche sia a livello salutistico che di inquinamento ambientale. In particolare, possono causare problemi di fitotossicità o altri effetti negativi, anche sull'uomo se impiegati in dosi superiori al limite consentito dalle norme vigenti.

■ L'uva usata per la vinificazione è forse l'unica materia prima che non viene lavata prima della lavorazione; tale frutto è molto sensibile ad attacchi di agenti fungini e parassiti con la conseguenza di un elevato utilizzo di fitofarmaci. Tali sostanze di sintesi si accumulano sulla superficie dell'acino e vengono portate in soluzione dopo l'ammestamento e la fermentazione essendo il vino una soluzione idroalcolica acida e quindi altamente solvente. L'interazione di questi agenti con la qualità dell'uva si può notare anche dal semplice assaggio degli acini, che risultano spesso terrosi e metallici. La presenza di metalli e fitofarmaci sulle uve

ha oltretutto la conseguenza di interagire con la microflora presente nel mosto causando un notevole peggioramento delle performance fermentative aumentando, quindi, il rischio di arresti fermentativi, produzione di acido acetico e idrogeno solforato. Alcuni pesticidi, come ad esempio il rame, possono ritardare la crescita dei lieviti e dare origine a problemi di fermentazione (Regueiro *et al.* 1993).

■ Le uve sono una risorsa primaria di lieviti e le specie che abitualmente danno inizio alla fermentazione spontanea sono quelle predominanti sugli acini al momento della raccolta. Anche nel caso in cui vengano addizionati lieviti secchi attivi (LSA), il contributo dato dalla crescita dei lieviti non-Saccharomyces indigeni permane durante tutta la fermentazione (Heard and Fleet, 1985; Fleet *et al.* 1993; Beltran *et al.* 2002, Pretorius 2000) di solito in modo indesiderato. Pertanto, al fine di ridurre i contaminanti esterni (chimici e microbici) ma senza alterare eccessivamente la naturale microflora dell'uva, è nata l'idea di applicare le tecnologie di lavaggio della frutta e anche dell'uva.

■ Il lavaggio ha lo scopo di rimuovere lo sporco, residui di pesticidi e microrganismi responsabili della perdita di qualità, nonché per preraffreddare e rimuovere essudati cellulari che possono fungere da substrato per una crescita microbica (Zagory, 1999).

■ L'industria fresh-cut ha utilizzato per molto tempo il cloro, uno dei prodotti disinfettanti più efficaci nel garantire la sicurezza dei prodotti trattati. Tuttavia, vi è una tendenza ad eliminare il cloro dal processo di disinfezione a causa delle preoccupazioni riguardanti la

sua efficacia sulla produzione di prodotti puliti e soprattutto sui rischi ambientali e sanitari associati con la formazione di sottoprodotti di disinfezione alogenati cancerogeni come i trialometani (THM) ed acidi aloacetici (Haas) (Ölmez e Kretschmar, 2009). L'industria agro-industriale è ora alla ricerca di valide alternative al cloro che garantiscano sia la sicurezza dei prodotti sia il mantenimento della qualità e che possano permettere una shelf-life abbastanza elevata. I principali agenti alternativi igienizzanti che vengono utilizzati al posto del cloro possono essere l'acido citrico, l'ozono e il bicarbonato di potassio e/o di sodio.

■ L'acido citrico, essendo un acido organico, è un agente chelante (La chelazione è una reazione chimica in cui solitamente un atomo metallico, comportandosi da acido di Lewis, viene legato da un reagente detto chelante) che può sequestrare i metalli.

■ Gillian A. Francis & David O'Beirne (2002) hanno rilevato che una soluzione all'1,0 % di acido citrico ha ridotto la densità di popolazione di batteri mesofili su lattuga di circa 1,5 log CFU/g in 5 min. Il trattamento di lattuga iceberg con una soluzione allo 0,5 % di acido citrico per 2 minuti è risultato più efficace, in termini di riduzione della carica microbica, rispetto ad un trattamento con 100 ppm di cloro naturale (Akbas & Ölmez, 2007).

■ L'ozono è una forma allotropica dell'ossigeno con un potere ossidante molto elevato. Per molti anni è stato utilizzato principalmente in soluzione con acqua. Esso ha guadagnato lo status di GRAS (generalmente riconosciuto come sicuro) nel 1997, ed il suo uso negli ali-

Fig. 1 - Nastro di "aspersione"



Fig. 2 - Lavatrice manuale a "borbottaggio"



Fig. 3 - Cassetta piena d'uva appena lavata mentre scorre sul nastro di asciugatura





menti è stato approvato in Europa e negli Stati Uniti. Il suo utilizzo è efficace contro molti batteri, muffe e lieviti anche a basse concentrazioni (1-5 ppm) e per tempi di esposizione brevi (1-5 minuti). Grazie alla sua instabilità, l'ozono non può produrre residui di disinfezione persistenti (Kim, Yousef, e Khadre, 2003; Singer, 1994). Pertanto, non pone il problema di residui e non crea sottoprodotti consentendo il riutilizzo e il riciclaggio delle acque di processo.

■ Il bicarbonato è un sale debolmente alcalino che agisce neutralizzando gli acidi ed ha azione denaturante sulle proteine. Grazie a queste sue proprietà è utilizzato come emolliente su proteine alimentari e detergente su proteine di struttura dei microrganismi, azione che combinata all'innalzamento del pH dell'ambiente, ostacola la crescita batterica sulla superficie interessata.

## MATERIALI E METODI

■ Il presente lavoro, svoltosi durante la vendemmia 2013, ha lo scopo di studiare l'effetto di diverse tipologie di lavaggio sulla riduzione di fitosanitari, metalli e inquinante microbico dalla superficie dell'uva. Le prove di lavaggio sono state eseguite utilizzando un prototipo manuale. L'uva era posta all'interno di cassette in plastica per semplificare le operazioni.

### Sistema di lavaggio

■ Il prototipo è formato da tre diversi macchinari, un nastro trasportatore munito di alcuni ugelli dai quali fuoriesce acqua di rete (aspersione) (Fig. 1); una lavatrice manuale a borbottaggio (Fig. 2) che svolge una doppia azione di tipo idraulico e pneumatico, lavando delicatamente il prodotto e miscelandolo al contempo (il borbottaggio è generato da un ventilatore che crea una sorta di "idromassaggio"). La lavatrice manuale si compone di una vasca in acciaio inox suddivisa in due scomparti, uno adibito al lavaggio vero e proprio e uno adibito al risciacquo delle uve, e infine, il terzo macchinario è un nastro di asciugatura per eliminare l'acqua residua (Fig. 3).

### Processo di lavaggio

• L'uva, mentre scorre sul nastro trasportatore viene investita da getti d'acqua che eliminano lo sporco grossolano, tralci, insetti, foglie, ec-

etera, (Fig. 1), per poi essere raccolta all'interno di cassette in plastica.

• La cassetta viene posizionata sul supporto della lavatrice manuale e, tramite un pulsante, immersa nella soluzione di lavaggio (Fig. 2).

• Al termine della prima fase di lavaggio, la cassetta contenente l'uva, viene posizionata sul supporto della seconda vasca e, tramite un pulsante, immersa nella soluzione di risciacquo.

• Si procede con l'ultima fase, l'asciugatura. Grazie all'utilizzo di una serie di aspiratori e di soffianti viene eliminata l'acqua residua (Fig. 3).

### Protocolli di lavaggio

■ Il lavoro ha previsto l'uso di diverse soluzioni di lavaggio e di risciacquo. Le sostanze utilizzate erano: acido citrico (1% in soluzione acquosa), bicarbonato di potassio (1% in soluzione acquosa), ed ozono in soluzione acquosa. I tempi di immersione variano da 2 a 8 minuti. Tutti i protocolli (Tab. 1) prevedevano un'aspersione iniziale ed una asciugatura finale. Per alcune tipologie di lavaggio non è stato effettuato il risciacquo finale (lavaggio 2, 3, 4 e 5) al fine di confrontare solamente i parametri di lavaggio (citrico e bicarbonato di potassio con diverse tempistiche); in questo caso, al termine della fase di lavaggio, l'uva è stata risciacquata con pochi ml di acqua affinché le sostanze chimiche presenti nella soluzione di lavaggio (citrico o bicarbonato) non interferissero con l'analisi.

### Analisi

■ L'approccio ideato per questo studio ha previsto una metodica innovativa. In tutti i precedenti lavori la valutazione dei residui presenti sulle uve veniva eseguita frullando gli acini (come previsto dalla metodica ufficiale) tuttavia, essendo il lavaggio un processo che agisce in superficie, si è deciso di mettere a punto una metodica in grado di determinare gli inquinanti presenti sulla bacca. Il principio di questo metodo è quello di estrarre i residui presenti sulla superficie degli acini utilizzando una soluzione estraente per poi analizzare tali residui. Così facendo si semplifica l'analisi che viene eseguita su una matrice "pulita", inoltre, i dati possono essere espressi in mg/kg di uva o in mg per unità di superficie (mg/cm<sup>2</sup>).

■ Al termine di ciascuna prova di lavaggio le

## DOCUMENTO TECNICO

Tab. 1 - Le diverse tipologie di lavaggio testate

Codice	Protocollo seguito
Uva non lavata	Uva non lavata
Lavaggio 1	Aspersione
Lavaggio 2	Lavaggio: citrico (2 min)
Lavaggio 3	Lavaggio: citrico (4 min)
Lavaggio 4	Lavaggio: citrico (8 min)
Lavaggio 5	Lavaggio: Bicarbonato (4 min)
Lavaggio 6	Lavaggio: citrico (4 min) + Risciacquo: bicarbonato 4 min
Lavaggio 7	Lavaggio: citrico (4 min) + Risciacquo: Acqua 4 min
Lavaggio 8	Lavaggio: citrico (4 min) + Lavaggio O <sub>3</sub> (4 min)

uve sono state campionate in triplo. Le analisi eseguite sono state le seguenti:

• Analisi di base: secondo le metodiche ufficiali (G.U. CEE 2676/90).

• Analisi degli antiparassitari: seguendo la metodica VMI-EN 15662: 2009, con Agilent 7890 GC accoppiato a 7000 A MS Triple Quad e Agilent HPLC 1200 accoppiato a 6460 Triple Quad LC/MS.

• Analisi dei metalli: seguendo la metodica OIV-MA-AS323-07 R2010, con Agilent 77990 ICP-MS.

• Analisi microbiologiche: semine in piastra utilizzando terreni MEA e WL nutrient agar effettuando le opportune diluizioni. L'estrazione della flora microbica presente sulla superficie dell'uva è stata effettuata utilizzando una soluzione fisiologica.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

■ Le concentrazioni dei metalli e dei pesticidi erano molto basse in tutte le prove, probabilmente perché l'annata 2013 è stata molto piovosa ma, osservando i dati presentati, si può notare come il lavaggio dell'uva prima della operazioni di vinificazione consente di diminuire abbondantemente la concentrazione di tali sostanze presenti sulla superficie del frutto.

### Principi attivi

■ Il Fludioxonil è un fungicida ad ampio spett-



DOCUMENTO TECNICO

tro, non sistemico, con una lunga attività residua. Come si può notare in **Fig. 4**, applicando diversi protocolli di lavaggio, si ottiene una consistente diminuzione del residuo tossico rispetto al testimone (non lavato). Il protocollo che prevede la sola aspersione delle uve è risultato il meno efficace probabilmente perché troppo rapido e "privo" di agenti chimici come l'acido citrico o altro.

■ Il Fenexamide è un fungicida di copertura dotato di limitata penetrazione nel tessuto fogliare e solo parziale attività translaminare, appartenente alla famiglia chimica delle idrossianilidi. Anche in questo caso (**Fig. 5**) i diversi protocolli di lavaggio sono risultati molto efficaci nella riduzione del residuo, probabilmente perché è un principio attivo non sistemico.

■ Il Dimetomorf è un fungicida che svolge un'azione sistemica sul grappolo, quindi lo si trova principalmente all'interno dell'acino. Osservando la **Fig. 6** si nota come le diverse tipologie di lavaggio siano risultate piuttosto inefficaci nella rimozione della sostanza inquinante probabilmente perché, essendo un principio attivo con azione sistemica, l'effetto del dilavamento superficiale è basso. Le concentrazioni in gioco sono comunque molto basse e un errore di campionamento può essere molto frequente tantoché, in alcuni casi, la concentrazione della sostanza è risultata maggiore sull'uva lavata rispetto al testimone non lavato, fenomeno poco probabile.

■ Il processo di lavaggio delle uve è risultato efficace anche per molti altri principi attivi con un andamento simile a quelli appena illustrati (Iprovalicarb, Emamectina benzoato B1a, Mandipropamide, ecc.).

Metalli

■ Il lavaggio delle uve prima delle operazioni di vinificazione è risultato efficace nella rimozione di metalli come Rame (**Fig. 7**), Ferro, Manganese e Zinco; il Piombo era presente in tracce.

■ Il rame è un fungicida che viene usato nei trattamenti in campo, svolge un'azione prevalentemente di copertura nei confronti del grappolo, quindi lo si può trovare principalmente all'esterno dell'acino. Tutti i protocolli di lavaggio sono risultati molto efficaci con, in alcuni casi, dilavamento del metallo fino a più dell'80% (**Fig. 7**). Questo fenomeno è molto positivo in quanto è stato rilevato (Regueiro *et al.* 1993) che il rame può ritardare la crescita

Fig. 4 - Concentrazione di Fludioxonil espressa in mg/kg di uva

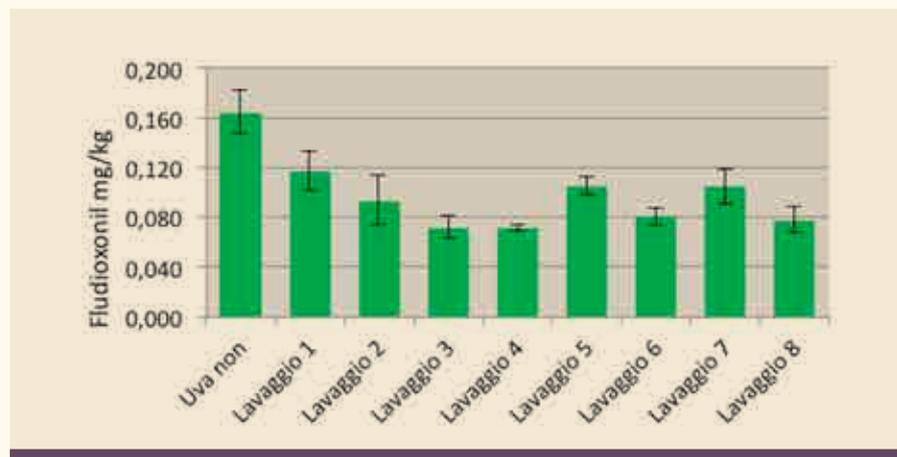


Fig. 5 - Concentrazione di Fenexamide espressa in mg/kg di uva

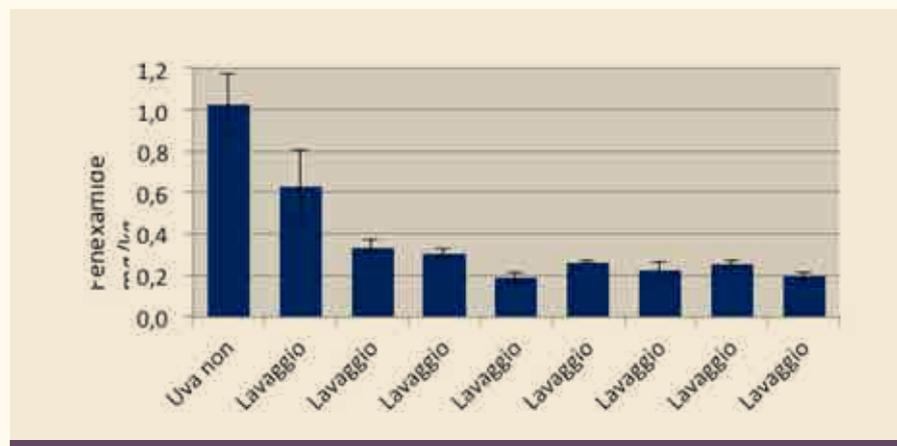
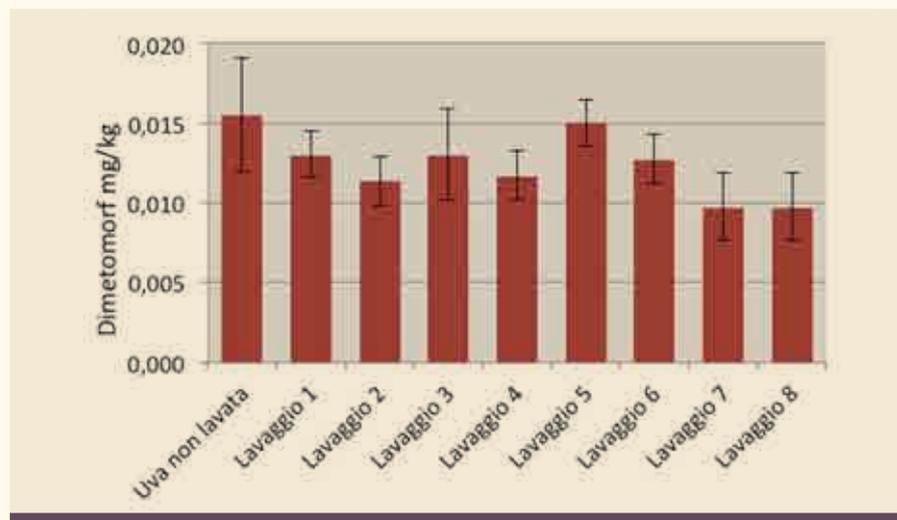
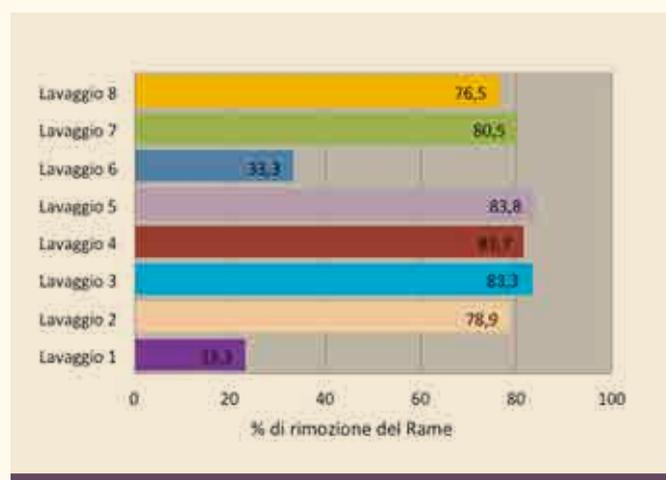


Fig. 6 - Concentrazione di Dimetomorf espressa in mg/kg di uva

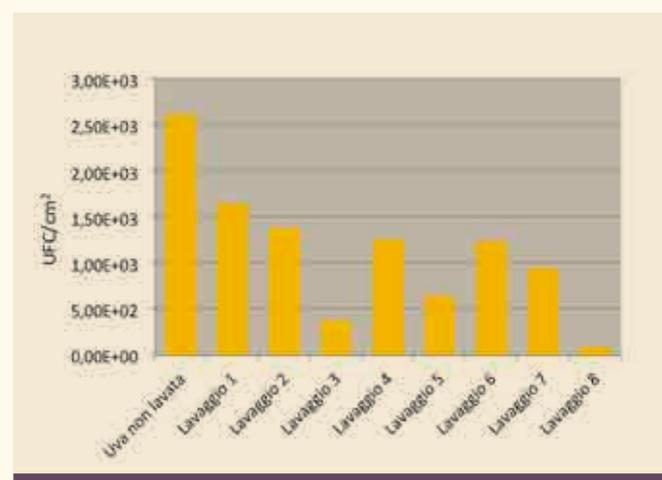




**Fig. 7** - Riduzione percentuale di rame rispetto a uva non lavata in seguito a diverse tipologie di lavaggio



**Fig. 8** - Carica microbica espressa in UFC/cm<sup>2</sup> presente sulla superficie degli acini d'uva



dei lieviti e dare origine a problemi di fermentazione. I lavaggi meno performanti sono risultati quelli che prevedono la sola asperzione (lavaggio 1) o l'uso di bicarbonato in fase di risciacquo (lavaggio 6) probabilmente perché l'agente chimico utilizzato (bicarbonato di potassio) svolge un'azione prevalentemente antibatterica ed essendo basico non svolge un'azione chelante nei confronti del metallo (David L. Jones *et al.* 1996). Tuttavia l'uso di bicarbonato in fase di lavaggio (lavaggio 5) è risultato efficace riconducendo il caso precedente, probabilmente, ad un errore di campionamento.

### Analisi microbiologiche

■ La flora microbica presente sulla superficie degli acini d'uva è soggetta ad un forte ridimensionamento in seguito al lavaggio; la presenza di sostanze aggressive come acido citrico e ozono o antibatteriche come il bicarbonato garantiscono un'efficacia di processo piuttosto elevata.

■ La **Fig. 8** evidenzia che tutte le diverse tipologie di lavaggio causano una diminuzione della carica microbica presente sull'uva. Alcune tipologie sono risultate più efficaci di altre, in particolare, l'uso di ozono consente di diminuire la carica microbica di due logaritmi probabilmente grazie al forte potere ossidante.

■ Il protocollo meno performante, anche in questo caso, è risultato quello che prevede la sola asperzione, anche se consente di ridurre la carica microbica del 40%.

## CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

■ L'attività svolta da Perfect Wine nell'ambito del progetto di ricerca "RESIDUO 0" ha permesso di dimostrare come il lavaggio delle uve prima delle operazioni di ammostamento siano un processo che permette di ridurre le sostanze inquinanti presenti sul frutto ed ottenere, quindi, un prodotto più salubre. Essendo un processo che agisce in superficie, risulta idoneo nella rimozione di sostanze non sistemiche che rimangono nella parte esterna dell'acino.

■ Il lavoro ha previsto l'uso di un prototipo manuale di piccole dimensioni per la valutazione dei diversi parametri di lavaggio riproducibile anche su scala industriale.

■ Si è proceduto a verificare l'efficacia di diverse tipologie di lavaggio nella rimozione dei residui di fitosanitari e di metalli, oltreché nella riduzione della flora microbica dalla superficie dell'uva. In particolare, protocolli che prevedono l'uso di acido citrico combinati ad un risciacquo con acqua o acqua ozonizzata sono risultati molto efficaci. L'uso di ozono nella fase di risciacquo, consente di abbattere la carica microbica di due logaritmi, il che lo rende idoneo a queste applicazioni. Inoltre, considerando che l'ozono ha un'attività residua nulla, le ripercussioni sull'ambiente e sulla popolazione che vive nelle zone di intensa viticoltura, nonché per le aziende, sono esigue.

■ Particolarmente significativa è la rimozione della quantità di rame presente sugli acini, me-

tallo che può influire negativamente sull'attività del lievito e conseguentemente sulle performance fermentative.

■ Attualmente, sono in atto sperimentazioni per valutare l'effetto del lavaggio sulle cinetiche fermentative e per identificare le specie microbiche che vengono maggiormente colpite. Altre attività in corso d'opera mirano ad individuare eventuali annacquamenti che potrebbero verificarsi in caso di non adeguate operazioni di asciugatura della materia prima. ■

## BIBLIOGRAFIA

- Beltran G, Torija MJ, NovoM, Ferrer N, Poblet M, Guil-lamon JM, Rozes N & Mas A. 2002. Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. *Syst. Appl. Microbiol.* 25: 287-293.
- Fleet, G. H., Heard, G. M. 1993. Yeasts-growth during fermentation. In *Wine Microbiology and Biotechnology*. Harwood, Philadelphia, PA, pp. 27-54.
- Gillian A. Francis & David O'Beirne. Effects of vegetable type and antimicrobial dipping on survival and growth of *Listeria innocua* and *E. coli*. *International Journal of Food Science and Technology* 2002, 37, 711-718.
- Heard G.M., Fleet G. H. 1985. Growth of Natural Yeast Flora during the Fermentation of Inoculated Wines. *Appl. Environ. Microbiol. Sep.* 50(3):727-728.
- Ölmez, H., Kretzschmar, U., 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact.
- LWT- Food Science and Technology 42, 686-693. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 619-624.
- Pretorius, I. S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*; 16(8): 675-729.
- Regueiro, L. A., Costas, C. L., López Rubio, J. E. 1993. Influence of Viticultural and Oenological Practices on the Development of Yeast Populations during Winemaking. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44: 405 - 408.