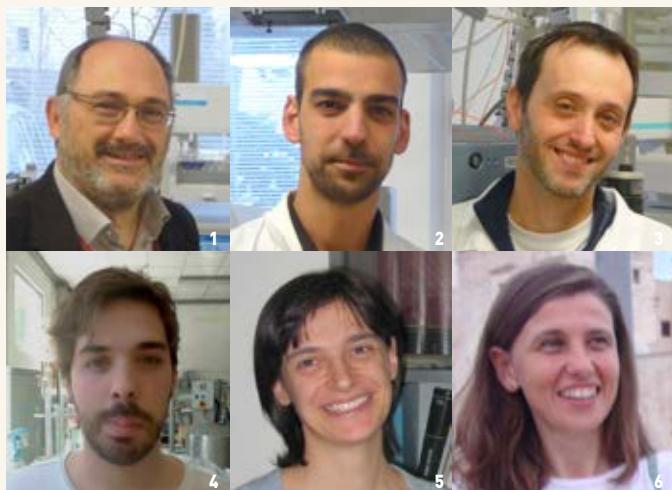


ABBATTIMENTO DI INSETTICIDI E FUNGICIDI DURANTE LA FERMENTAZIONE IN BIANCO DA PARTE DI COADIUVANTI ENOLOGICI

Pur a fronte della generalizzata riduzione dei residui di pesticidi nei vini rispetto al passato, la loro minimizzazione rimane un obiettivo di notevole interesse in termini di sicurezza alimentare. L'uso di vari prodotti enologici in fermentazione può contribuire, in maniera diversificata, al raggiungimento di questo obiettivo. Un nuovo prodotto a base di pareti cellulari e carbone, con tecnologia miniTubes™, è risultato particolarmente performante sia contro fungicidi che insetticidi.



Di
Giorgio Nicolini¹
Tomás Román²
Loris Tonidandel³
Massimiliano Sboner⁴
Centro Trasferimento Tecnologico, Fondazione
E. Mach, via E. Mach 1, San Michele all'Adige (TN)

Arianna Volpini⁵
Maria Manara⁶
Dal Cin SpA, via 1° Maggio 67, Concorezzo (MB)

INTRODUZIONE

● Un lavoro apparso recentemente sulle pagine di questa stessa rivista [Nicolini *et al.* 2016], al quale si rimanda per eventuali approfondimenti di letteratura, sottolineava come - pur a fronte di una generalizzata riduzione rispetto al passato dei residui di fungicidi di diversa origine nei vini - la loro minimizzazione rimanesse un obiettivo di notevole interesse in termini di sicurezza alimentare. Lo stesso lavoro concludeva ribadendo come l'uso di dosi molto piccole di carboni di diversa origine e forma, uti-

lizzati durante la fermentazione in bianco di mosti adeguatamente dotati di azoto assimilabile, fosse un'opzione enologica particolarmente interessante in alcuni contesti produttivi, capace di ridurre significativamente la concentrazione di molti fungicidi migliorando nel contempo sia la fermentescibilità dei mosti che il quadro aromatico fermentativo.

● Il lavoro che si presenta in questa sede si sviluppa sulla falsariga del precedente, nel convincimento che tutto quanto possa contribuire al miglioramento della sicurezza alimentare del vino valga la pena di essere approfondito. Questo, sia per

rispetto del consumatore che per interesse diretto dell'enologo il quale si deve confrontare con le condizioni sempre più stringenti delle transazioni commerciali e dei capitolati di acquisto dei vini: ad esempio, il ridotto numero dei principi attivi (p.a.) riscontrabili oltre il limite della rilevabilità analitica, quindi ben al di sotto dei limiti di legge, oppure il contenuto complessivo dei p.a. presenti, accettato se limitato, ad esempio, a poche centinaia di µg/L.
● Anche l'emergente comparto del biologico *s.l.* può trarre giovamento da approfondimenti sull'oggetto di questo lavoro, considerato che la produzione biologica

SPERIMENTAZIONE

DOCUMENTO AZIENDALE

Tab. 1 - Compisizione dei mosti decongelati.

Mosto	Brix (°)	pH	Acidità titolabile (g/L)	Acido tartarico (g/L)	Acido malico (g/L)	Potassio (g/L)	APA (mg/L)	N ammoniacale (mg/L)	N alfa-amminico (mg/L)
A	26.6	3.22	5.5	3.10	4.11	1.17	172	43	129
B	27.0	3.55	3.2	3.95	2.90	1.74	345	54	291
C	17.2	3.06	4.3	2.32	3.18	0.63	117	27	90
D	14.7	3.07	3.5	1.53	2.94	0,53	110	21	89
E	20.7	3.22	3.6	2.79	2.91	1.04	187	31	156

può doversi scontrare col problema delle derive di p.a. da aree a produzione convenzionale, ancorché integrata; infatti, limitatamente a ciascuno dei p.a. autorizzati per il convenzionale, per il biologico è ritenuta accettabile una presenza massima di soli 10 µg/L, più, naturalmente, l'eventuale tolleranza del metodo analitico applicato. Il presente lavoro ha inteso realizzare una serie di casistiche di scala semi-industriale attraverso cui verificare la capacità di abbattimento dei residui di fungicidi e insetticidi da parte di alcuni prodotti enologici di uso comune lasciati nel mosto durante l'intera fase di fermentazione in bianco; questo, con particolare riferimento a un nuovo prodotto commerciale denominato FITO-STOP.

MATERIALI E METODI

● Operando in condizioni di scala semi-industriale, sono stati utilizzati 5 mosti bianchi decongelati, solfitati e molto "tirati" (<15 NTU); quest'ultima condizione è stata scelta per evitare interferenze di fissazione e precipitazione dei p.a. col particellato feccioso. La composizione dei mosti è riportata in Tab. 1.

● I mosti sono stati successivamente "sporcati" con vari p.a. (fungicidi antibotritici: Boscalid, Cyprodinil, Fludioxonil, Fenhexamide, Pyrimethanil; antiperonosporici: Dimethomorph, Fluopicolide; antiodidici: Metrafenone, Penconazole, Trifloxystrobin. Insetticidi: Buprofezin, Dimethoate, Metoxyfenozide, Spinosad, Thiamethoxam). I vari p.a erano in proporzioni tra loro non identiche e in concentrazioni pari ad alcune volte la quantità con la quale gli stessi p.a. sono soventemente riscontrati nei vini. In altri termini, si è operato analogamente a quanto fatto nel

già citato lavoro di Nicolini *et al.* [2016], peraltro utilizzando dosi di p.a. tendenzialmente maggiori. Relativamente agli insetticidi, Buprofezin è stato aggiunto in quantità variabili fino a determinare un incremento massimo di 108 µg/L; analogamente è avvenuto per Dimethoate (246 µg/L), Methoxyfenozide (161 µg/L), Spinosad (113 µg/L) e Thiamethoxam (491 µg/L). Successivamente all'aggiunta dei pesticidi, i 5 mosti sono stati frazionati ciascuno in 8 aliquote. Le prime sette sono state singolarmente addizionate dei seguenti prodotti enologici (Dal Cin Gildo spa, Corezzo, MB) di cui si riportano tra parentesi i relativi dosaggi ritenuti dall'azienda d'uso potenzialmente normale: lievito inattivato (40 g/hL), pareti cellulari di lievito (40 g/hL), cellulosa lavorata (60 g/hL), bentonite attivata (30 g/hL), PVPP (40 g/hL), chitosano (30 g/hL) e un nuovo prodotto commerciale, FITO STOP (5 g/hL), costituito da una miscela di pareti cellulari e di carbone, prodotto con tecnologia miniTubes™ [Dal Cin e Manara 2015]. L'ottava aliquota ha costituito il controllo, addizionato di pesticidi ma fermentato senza alcun prodotto enologico. Tutti i mosti sono stati poi inoculati con un unico ceppo di lievito secco attivo e posti a fermentare a 20-22 °C.

● A fine fermentazione si è provveduto al travaso dei vini, al campionamento e all'analisi dei residui in UHPLC-MSMS, previa preparazione ed estrazione multiresiduo QuEChERS secondo il metodo standard europeo EN 15662 [Comitato Europeo per la Standardizzazione - CEN, 2008].

● L'elaborazione statistica dei dati (Anova; fonti di variazione: mosto, coadiuvante; test LSD di Fisher, $p<0.05$) è stata effettuata con Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

RISULTATI E DISCUSSIONE

● I dati riportati in Tab. 1, relativi alla composizione di base dei mosti, mostrano la grande variabilità compositiva delle matrici utilizzate per la sperimentazione. I soli vini ottenuti a partire dal mosto A hanno avuto qualche difficoltà di completamento della fermentazione alcolica, ragionevolmente in conseguenza dell'azione congiunta dell'alta gradazione alcolica e della non elevatissima dotazione di azoto assimilabile, ad esempio rispetto ai mosti B.

Antibotritici

● Le uniche differenze significative sia rispetto al controllo che tra i prodotti enologici hanno riguardato il FITO-STOP, con abbattimenti percentuali medi rispetto al controllo variabili tra il 35 e il 70% circa a seconda dell'antibotritico considerato (Fig. 1). Rispetto al controllo si osserva un andamento - generalizzato e atteso, benché per lo più non statisticamente significativo - alla diminuzione nei valori medi a seguito dell'uso dei vari prodotti mentre, se si esclude FITO-STOP, le differenze tra prodotti non sono mai risultate statisticamente significative. Per Fenhexamide e Pyrimethanil si può osservare tra i prodotti enologici un assoluto parallelismo nell'ordine delle quantità medie di p.a. lasciate.

Antiperonosporici

● Non molto diversa da quanto osservato nel caso degli antibotritici è risultata la situazione nei confronti dei 2 antiperonosporici analizzati, Dimethomorph e Fluopicolide (Fig. 2). Anche per questi p.a., in

Fig. 1 - Concentrazione media (N=5; µg/L) di antibotritici residuali in vini bianchi fermentati in presenza di diversi prodotti enologici.
(LEGENDA: CRTL = controllo; BENT = bentonite; LIEV = lievito inattivato; CHIT = chitosano; CLLS = cellulosa lavorata; PRTI = pareti cellulari; FITO = FITO-STOP. Iistogrammi collegati dalla stessa linea rossa non sono significativamente differenti ($p < 0.05$).

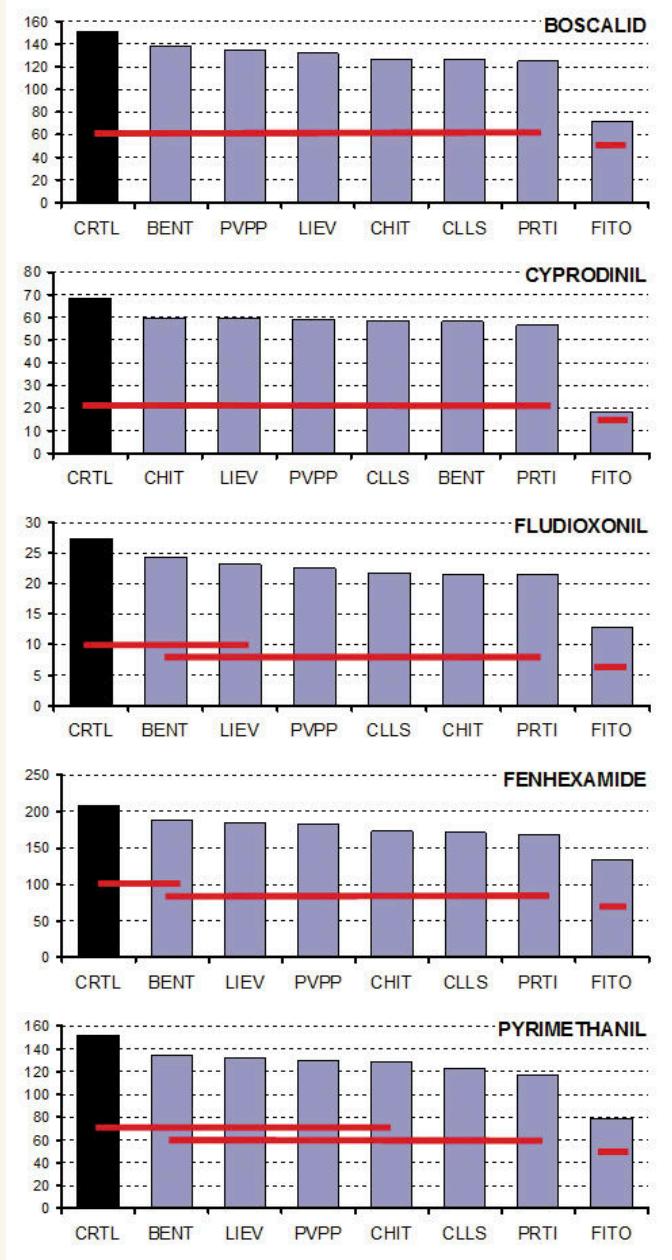
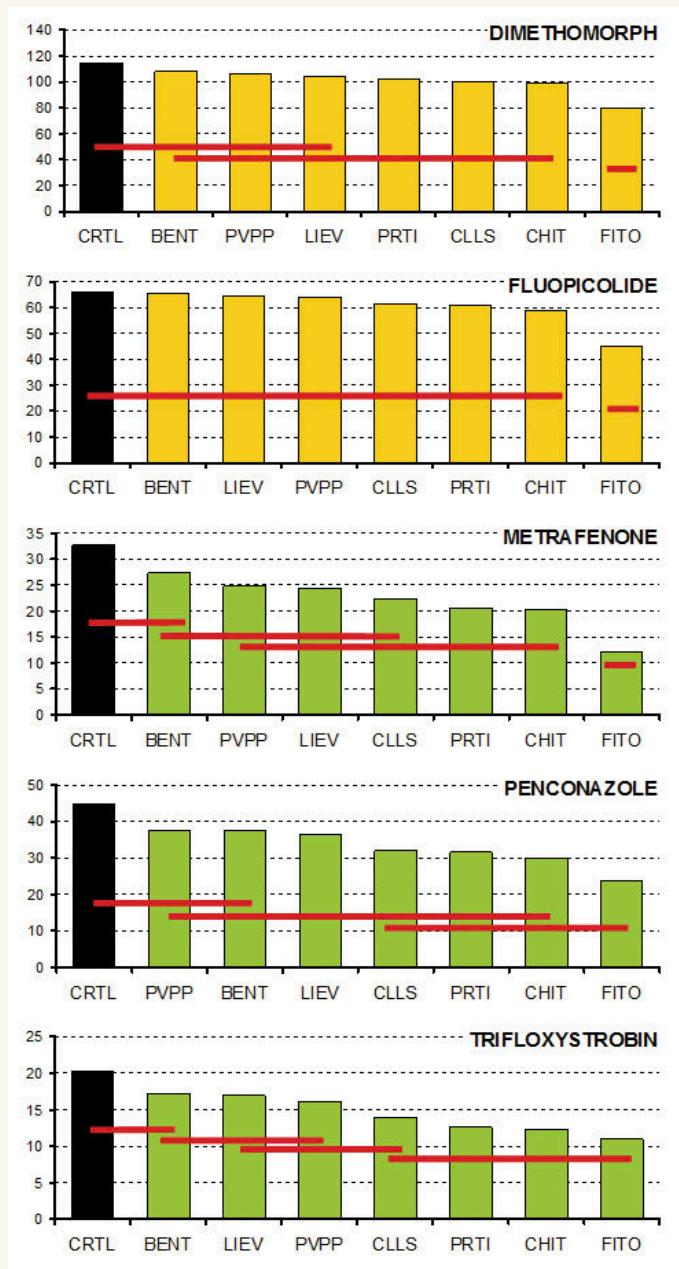


Fig. 2 - Concentrazione media (N=5; µg/L) di 2 antiperonosporici (sopra) e 3 antiodidici (sotto) residuali in vini bianchi fermentati in presenza di diversi prodotti enologici.
(LEGENDA: vedi Figura 1)



un contesto di generale benché per lo più non significativa e limitata diminuzione rispetto al controllo, FITO-STOP ha determinato gli abbattimenti più rilevanti, statisticamente differenti sia rispetto agli altri prodotti che al controllo.

● Per Dimethomorph, le concentrazioni residuali lasciate da pareti cellulari, cellulosa lavorata e chitosano sono significativamente minori rispetto al controllo mentre, con l'esclusione di FITO-STOP, nessuna differenza significativa è emersa per Fluopicolide.

Antiodidici

- Un qualche grado di maggior differenziazione tra prodotti appare all'interno della categoria degli antiodidici (**Fig. 2**), all'interno della quale FITO-STOP, pur non differenziandosi così chiaramente come nei casi precedenti, mostra comunque di lasciare i valori medi minori tra quelli dei diversi prodotti. La residualità degli antiodidici appare minore rispetto a quella dei 2 antiperonosporici. FITO-STOP, chitosano, pareti cellulari, cellulosa lavorata e lievito inattivato hanno sempre determinato

riduzioni significative rispetto al controllo. Si evidenzia inoltre un comportamento parallelo nelle medie dei 4 prodotti enologici - cellulosa, pareti cellulari, chitosano e FITO-STOP - capaci di lasciare le minori concentrazioni di residui.

Insetticidi

- Quanto al Buprofezin (**Fig. 3**), tutti i prodotti riducono in maniera statisticamente significativa e di un 15-20% circa i residui di p.a. rispetto al controllo, mentre tra prodotti le differenze - quantitativamente

SPERIMENTAZIONE

DOCUMENTO AZIENDALE

Tab. 2 - Effetto dei prodotti enologici sulla concentrazione media in principi attivi residuali nei vini, riportato distintamente per attività pesticida prevalente.

Anti-botritici

Trattamento	Somma p.a. (µg/L)	% residuale	Quantità eliminata (µg/L)
Controllo	606	100	0
Bentonite	543	90	63
Lievito inattivato	531	88	75
PVPP	529	87	77
Chitosano	510	84	96
Cellulosa lavorata	501	83	105
Pareti cellulari	488	80	118
Fito-Stop	315	52	291

Anti-peronosporici

Trattamento	Somma p.a. (µg/L)	% residuale	Quantità eliminata (µg/L)
Controllo	181	100	0
Bentonite	174	96	7
PVPP	171	94	10
Lievito inattivato	169	94	12
Pareti cellulari	163	90	18
Cellulosa lavorata	162	90	19
Chitosano	158	88	22
Fito-Stop	124	69	56

Anti-oidici

Trattamento	Somma p.a. (µg/L)	% residuale	Quantità eliminata (µg/L)
Controllo	98	100	0
Bentonite	82	84	16
PVPP	79	80	19
Lievito inattivato	78	80	20
Cellulosa lavorata	68	70	30
Pareti cellulari	65	66	33
Chitosano	62	64	35
Fito-Stop	47	48	51

Insetticidi

Trattamento	Somma p.a. (µg/L)	% residuale	Quantità eliminata (µg/L)
Controllo	520	100	0
Bentonite	470	90	50
Lievito inattivato	462	89	57
PVPP	445	86	75
Chitosano	414	80	106
Pareti cellulari	404	78	116
Cellulosa lavorata	390	75	130
Fito-Stop	368	71	152

limitate - sono non significative. Nessuna significatività tra i prodotti è emersa anche per il Dimethoate, per il quale FITO-STOP, chitosano, cellulosa lavorata e pareti si differenziano dal controllo. Relativamente a Metoxyfenozide, solo FITO-STOP si differenzia dal controllo, peraltro con abbattimenti percentualmente rilevanti, prossimi al 40%. Per quanto riguarda il Thiamethoxam si differenziano dal controllo FITO-STOP, pareti e cellulosa lavorata e lo stesso avviene per gli stessi prodotti più il chitosano anche per Spinosad. Relativamente a quest'ultimo p.a., la riduzione determinata dal FITO-STOP è del 50% circa.

Somma dei principi attivi

• L'impatto, nelle specifiche condizioni sperimentali, dei prodotti enologici sui singoli p.a. è riportato anche in **Fig. 4** a fini di semplificazione riassuntiva, esprimendo le variazioni in termini percentuali rispetto al controllo. Abbattimenti medi di p.a. prossimi o superiori al 50% sono stati fatti registrare solo da FITO-STOP, relativamente a Boscalid, Cyprodinil, Fludioxonil, Pyrimethanil, Metrafenone,

Penconazole, Trifloxystrobin e Spinosad.

• La concentrazione media della sommatoria dei p.a. residuali nei vini fermentati in presenza dei diversi prodotti è invece riportata in **Fig. 5**. I vini ottenuti fermentando con PVPP, chitosano, cellulosa lavorata e pareti cellulari hanno mostrato concentrazioni medie di residui significativamente inferiori rispetto al vino di controllo, senza differenziarsi peraltro dai fermentati con lievito inattivato e con bentonite. I vini prodotti con FITO-STOP hanno mostrato invece contenuti significativamente inferiori sia rispetto al controllo che rispetto a tutti gli altri trattamenti.

• In dettaglio, rispetto ai 1404 µg/L di residui nel controllo:

- la bentonite ne ha mediamente eliminati 135 µg/L lasciandone quindi nel vino ancora il 90%, il lievito inattivato 164 µg/L (88%) e il PVPP 181 µg/L (87%);
- il chitosano 259 µg/L (82%), mentre la cellulosa lavorata e le pareti cellulari circa 285 µg/L (80%);
- FITO-STOP ha invece eliminato ben 550 µg/L di p.a., lasciandone quindi nel vino il 61%.

Tre gruppi

• Nonostante la non completa differenziazione statistica tra i trattamenti (**Fig. 5**), il piano sperimentale - con i dosaggi di ciascun prodotto enologico in esso utilizzati - sembrerebbe tuttavia indicare una tendenza alla gerarchizzazione in tre gruppi caratterizzati da "capacità di abbattimento" crescente:

- bentonite, lievito inattivato e PVPP: in grado di abbattere la concentrazione dei p.a. complessivamente di circa il 10%;
- chitosano, cellulosa lavorata e pareti cellulari: capaci di riduzioni nell'ordine del 20% circa;
- FITO-STOP: capace di abbattimenti medi di circa il 40%.

• Come per la somma dei p.a., la differenziazione in tre gruppi si conferma anche all'interno di ciascuna delle quattro attività pesticide prevalenti (**Tab. 2**).

CONCLUSIONI

• Il lavoro si era posto un obiettivo molto pratico, ossia quello di verificare la capacità di riduzione dei residui di vari fun-

gicidi e insetticidi da parte di una serie di prodotti di comune uso enologico, applicando un approccio di scala semi-industriale a una discreta e ben differenziata casistica di situazioni; il tutto senza la pretesa di dimostrare a quali delle specifiche caratteristiche chimico-fisiche del singolo prodotto enologico fossero riconducibili le performance nei confronti dei singoli principi attivi né di monitorare gli eventuali possibili metaboliti. Bentonite, lievito inattivato e PVPP lasciati singolarmente nel mosto fino alla fine del processo fermentativo hanno mostrato, ai dosaggi utilizzati, una limitata capacità di riduzione della concentrazione complessiva dei pesticidi utilizzati, pari a circa il 10%. Chitosano, cellulosa lavorata e pareti cellulari hanno dato riduzioni più interessanti, nell'ordine del 20% circa. Il nuovo prodotto complesso (FITO-STOP), pur applicato ai dosaggi minimali di 5 g/hL, ha consentito di abbattere mediamente

Fig. 3 - Concentrazione media ($N=5$; $\mu\text{g/L}$) di insetticidi residuali in vini bianchi fermentati in presenza di diversi prodotti enologici. (LEGENDA: vedi Figura 1)

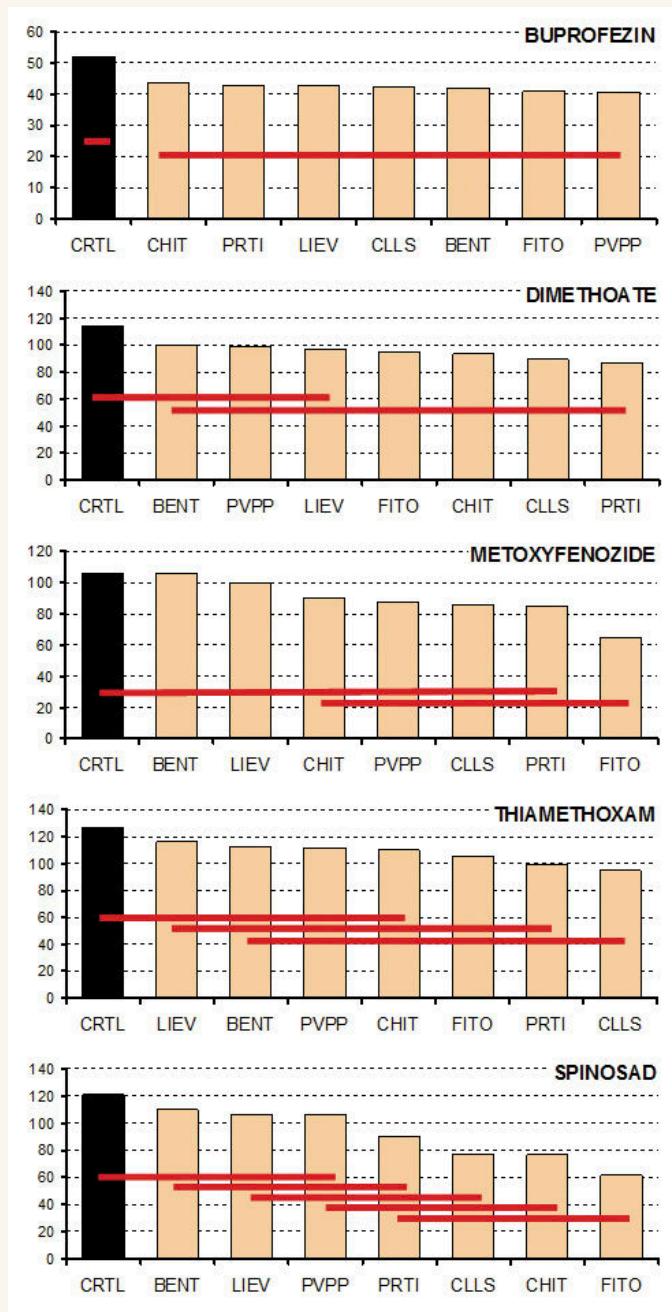


Fig. 4 - Variazione percentuale media rispetto al controllo dei principi attivi residuali in vini bianchi fermentati in presenza di diversi prodotti enologici.

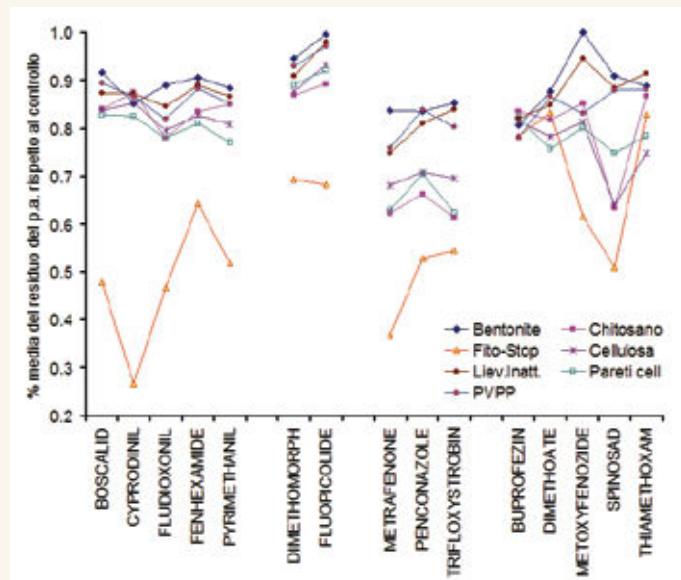
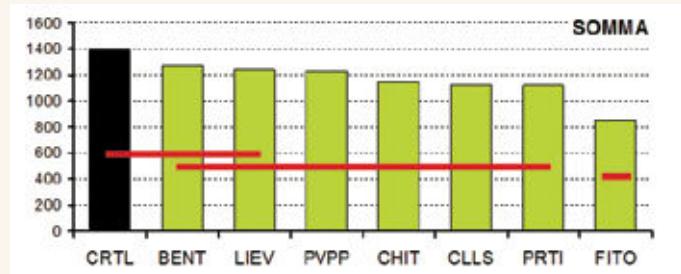


Fig. 5 - Concentrazione media ($N=5$; $\mu\text{g/L}$) della sommatoria dei principi attivi residuali in vini bianchi fermentati in presenza di diversi prodotti enologici. (LEGENDA: vedi Figura 1)



550 $\mu\text{g/L}$ di pesticidi, insetticidi inclusi, pari al 40% circa dei residui complessivi presenti nel vino di controllo. Alla luce di questi risultati nonché di precedenti esperienze, l'uso di FITO-STOP appare ragionevole in particolare dove non sia prevedibile la quantità e la tipologia di pesticidi presenti nei mosti, sincerandosi che questi ultimi siano adeguatamente dotati di nutrienti. Con la stessa precauzione, motivata dalle frequenti minori disponibilità azotate presenti nei mosti bianchi da produzioni biologiche rispetto a quelli da produzioni convenzionali [Nicolini et al. 2017], l'uso del prodotto adsorbente specifico potrebbe aiutare a minimizzare il rischio dovuto alle derive di trattamenti utilizzati su produzioni non biologiche. ●

BIBLIOGRAFIA

- Dal Cin M., Manara M. (2015). MiniTubes™: praticità, salubrità ed efficacia per i coadiuvanti enologici. (http://www.dalcin.com/altridw/pubblicazioni/2015/minitubes_2015.pdf) VQ, N°3, giugno 2015, 68-70.
- Nicolini G., Román T., Larcher R., Moser S., Tonidandel L. (2016). Vini bianchi da viticoltura convenzionale più sani con un poco di carbone in fermentazione. L'Enologo, N°10, ottobre 2016, 89-94. (<http://hdl.handle.net/10449/35789>)
- Nicolini G., Zanzotti R., Bertoldi D., Román T., Malacarne M., Mescalchin E. (2017). The comparison of organic, biodynamic and conventional farming in Pinot blanc and Rhine Riesling in the 2016 vintage year. Atti XX GiESCO, 5-10 novembre 2017, Mendoza, ARG (in stampa).