RISOLUZIONE OIV-OENO 632-2021

TECNICHE ANALITICHE E DI CONTROLLO MICROBIOLOGICO ANALISI COMUNI A TUTTE LE MONOGRAFIE

ATTENZIONE: questa risoluzione modifica le seguenti risoluzioni:
- OENO 17/2003
- OIV-OENO 328-2009
- OIV-OENO 329-2009

L'ASSEMBLEA GENERALE,

VISTO l'articolo 2, paragrafo 2 b) iv dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

SU PROPOSTA del Gruppo di esperti "Microbiologia",

CONSIDERATA la necessità di aggiornare le tecniche analitiche e di controllo microbiologico,

DECIDE di riorganizzare e modificare i paragrafi 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 della scheda F-COEI-2-CONBAC del Codex enologico internazionale come segue (la scheda F-COEI-2-CONBAC è costituita da diverse pagine; tuttavia, nell'ambito del presente progetto di risoluzione, sono riportate solo le prime 7 pagine in quanto le modifiche da apportare riguardano solo queste):

1. Reidratazione preliminare dei lieviti (Saccharomyces e non-Saccharomyces): LSA (lieviti secchi attivi), AFY (lieviti congelati attivi), COY (lieviti compressi), CRY (crema di lieviti), ENY (lieviti incapsulati e lieviti immobilizzati), levain de tirage

Pesare circa 10 g di preparazione in condizioni sterili (annotare il peso esatto per il calcolo finale della concentrazione).

In condizioni sterili, portare a 100 mL con acqua peptonata salina sterile* a 20-37 °C oppure seguire le indicazioni del fabbricante.

Omogeneizzare delicatamente con una bacchetta, la technica dello stomacher o un agitatore magnetico per 5 min.

Interrompere l'agitazione e lasciar riposare per 20 min a una temperatura ambiente di

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021

20-30 °C.

Omogeneizzare nuovamente a temperatura ambiente per 5 min.

In condizioni sterili, preparare delle diluizioni decimali in serie in acqua o in acqua peptonata salina sterile*; quindi, procedere ai controlli microbiologici sulla soluzione madre omogeneizzata.

Nel caso dei levain de tirage usati per i vini spumanti, in condizioni sterili, prelevare 1 mL e preparare delle diluizioni decimali in serie in acqua o in acqua peptonata salina sterile*; quindi, procedere ai controlli microbiologici sulla soluzione madre omogeneizzata.

*Soluzione peptonata salina: 1 g/L di peptone batteriologico e 8,5 g/L di cloruro di sodio; pH finale 7,0.

2. Reidratazione preliminare delle preparazioni di batteri lattici

Pesare circa 10 g di preparazione di batteri lattici in condizioni sterili (annotare il peso esatto per il calcolo finale della concentrazione).

In condizioni sterili, portare a 100 mL con acqua peptonata salina sterile* (a 25 °C).

Omogeneizzare con un agitatore magnetico o la technica dello stomacher per 5 min.

Interrompere l'agitazione e lasciar riposare per 20 min sempre a temperatura ambiente di 20-30 °C.

Successivamente, omogeneizzare per 5 min a temperatura ambiente.

In condizioni sterili, preparare delle diluizioni decimali in serie in acqua o in acqua peptonata salina sterile*; quindi, procedere ai controlli microbiologici.

*Soluzione peptonata salina: 1 g/L di peptone batteriologico e 8,5g /L di cloruro di sodio; pH finale 7,0.

3. Controllo microbiologico di altri prodotti riportati nel Codex enologico internazionale

Prodotti per i quali è necessario eseguire un controllo della contaminazione batterica/da lieviti/da muffe.

Pesare circa 10 g di prodotto enologico da sottoporre a controllo in condizioni sterili (annotare il peso esatto per il calcolo finale della concentrazione).

In condizioni sterili, portare a 100 mL con acqua peptonata salina sterile*.

Omogeneizzare con un agitatore magnetico o la technica dello stomacher per 5 min.

In condizioni sterili, preparare delle diluizioni decimali in serie in acqua o in acqua

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021

peptonata salina sterile*; quindi, procedere ai controlli microbiologici.

*Soluzione peptonata salina: 1 g/L di peptone batteriologico e 8,5 g/L di cloruro di sodio; pH finale 7,0.

4. Conta dei lieviti totali

Mezzo YM (MALT WICKERHAM) agarizzato

Agar batteriologico	15 g
Estratto di lievito	3 g
Estratto di malto	3 g
Peptone	5 g
Glucosio	10 g
Acqua	q.b. per 1000 mL

YPD

Estratto di lievito	10 g
Peptone	20 g
Glucosio	20 g
Agar	10 g
Acqua	q.b. per 1000 mL

Subito dopo la preparazione, sterilizzare il mezzo in autoclave a 120 °C per 20 min.

In caso di incubazione prolungata, per prevenire la crescita batterica, aggiungere cloramfenicolo a una concentrazione finale di 100 mg/L.

Dopo l'inoculo con adeguate diluizioni del campione, al fine di poter ottenere 30-300 colonie, incubare le piastre a 25-30 °C in condizioni aerobiche per 48-72 ore.

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021

Procedere alla conta delle UFC sulle piastre contenenti da 30 a 300 colonie e rapportare al peso della sostanza secca.
Oltre ai mezzi di coltura proposti, è possibile utilizzare qualsiasi altro terreno riconosciuto a livello internazionale per la coltura di questi microrganismi.

5. Conta di lieviti non-Saccharomyces

5.1. Mezzo contenente lisina

Coltivare i lieviti su un terreno contenente lisina caratterizzato dalla composizione seguente:

Agar	20 g
L-lisina monocloridrato	5 g
Glucosio	1 g
Violetto di bromocresolo	0.015 g
Acqua	q.b. per 1000 mL
Aggiustare il	pH 6.8 $\pm$ 0.2

Per garantire la completa dissoluzione, portare a ebollizione per 1 min e poi sterilizzare in autoclave a 120 °C per 20 min.
In caso di incubazione prolungata, per prevenire la crescita batterica, aggiungere cloramfenicolo a una concentrazione finale di 100 mg/L.
Dopo l'inoculo con adeguate diluizioni del campione, incubare le piastre a 25 o 30 °C per 48-96 ore.
Procedere alla conta delle UFC (piastre contenenti da 30 a 300 colonie) e rapportare al peso della sostanza secca.
Oltre ai mezzi di coltura proposti, è possibile utilizzare qualsiasi altro terreno riconosciuto a livello internazionale per la coltura di questi microrganismi.

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA
© OIV 2021

5.2. Mezzo YPD a cui è stato aggiunto cicloesimide 10 mg/L e incubazione per 6-7 giorni in condizioni aerobiche

In caso di incubazione prolungata, per prevenire la crescita batterica, aggiungere cloramfenicolo a una concentrazione finale di 100 mg/L.

6. Conta dei batteri lattici

MRS (Man, Rogosa e Sharpe) modificato

Coltivare i batteri su un terreno MRS (Man, Rogosa e Sharpe, 1960) a cui è stato aggiunto del succo di pomodoro, caratterizzato dalla composizione seguente:

Agar	15 g
Bacto-peptone	10 g
Estratto di carne	8 g
Estratto di lievito	4 g
Acetato di sodio	5 g
K_2HPO_4	2 g
Citrato trisodico	2 g
MgSO_4 (100mg/L)	2.5 mL
MnSO_4 (20mg/L)	2 mL
Tween 80	1 mL
Glucosio	20 g oppure Glucosio 10 g + Fruttosio 10 g
HCl oppure NaOH q.b. affinché il pH sia	4,8
Acqua distillata q.b. per	1000 mL q.b. (quanto basta)

*Il succo di pomodoro serve a migliorare la crescita dei batteri lattici. Preparazione:

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021

succo di pomodoro commerciale (senza additivi) o prodotto in proprio, centrifugare a 4000g per 20 min, filtrare se necessario e utilizzare la frazione chiara del succo.

Sterilizzare in autoclave a 110 °C per 20 min.

Quando si versa il terreno nella piastra Petri, aggiungere pimaricina a una concentrazione finale di 10 mg/L per inibire la crescita di lieviti e muffe.

Incubare a 25 °C per 8-10 giorni in condizioni anaerobiche.

Oltre ai mezzi di coltura proposti, è possibile utilizzare qualsiasi altro terreno riconosciuto a livello internazionale per la coltura di questi microrganismi.

7. Conta delle muffe

Mezzo Czapek-Dox/s agarizzato

Agar	15 g
Saccarosio	30 g
$NaNO_3$	3 g
K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4$	0.5 g
KCl	0.5 g
$FeSO_4$	0.01 g
Acqua	q.b. per 1000 mL
Aggiustare il	pH 7

Sterilizzare in autoclave a 120 °C per 20 min.

Nella piastra Petri contenente il terreno, aggiungere cloramfenicolo a una concentrazione finale di 100 mg/L per inibire la crescita batterica.

Incubare a 20 °C per 10 giorni in condizioni aerobiche.

Oltre ai mezzi di coltura proposti, è possibile utilizzare qualsiasi altro terreno riconosciuto a livello internazionale per la coltura di questi microrganismi.

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12 Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021

8. Conta dei batteri acetici

Agar batteriologico	20 g
Estratto di lievito	5 g
Idrolisato di caseina	5 g
Glucosio	10 g
Aggiustare	pH 4.5
Acqua	q.b. per 1000 mL

Sterilizzare in autoclave a 120 °C per 20 min.

Quando si versa il terreno nella piastra Petri, aggiungere pimaricina a una concentrazione finale di 100 mg/L per inibire la crescita di lieviti e muffe e penicillina a una concentrazione finale di 12,5 mg/L per inibire la crescita dei batteri lattici.

Incubare a 25 °C per 4 giorni in condizioni aerobiche.

Oltre ai mezzi di coltura proposti, è possibile utilizzare qualsiasi altro terreno riconosciuto a livello internazionale per la coltura di questi microrganismi.

Esemplare certificato conforme Parigi, riunione ibrida, 12
Luglio 2021
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2021