



Lieviti e batteri insieme

RAFFAELE GUZZON, MARIO MALACARNE, SERGIO MOSER, ROBERTO LARCHER

Centro di Trasferimento Tecnologico - Fondazione Edmund Mach (San Michele all'Adige, TN)

La fermentazione malolattica, ovvero la conversione biologica dell'acido malico naturalmente presente nei mosti e vini in *acido lattico*, è una delle trasformazioni fondamentali che intervengono durante la vinificazione.

Nonostante sia condotta sulla quasi totalità dei vini rossi e su una quota significativa di vini bianchi e spumanti, la fermentazione malolattica desta parecchie preoccupazioni a tecnici e cantinieri in quanto la sua corretta evoluzione non è oggi, ancora, scontata. I batteri lattici responsabili di questo processo si trovano infatti a lavorare nel vino, dopo la fermentazione alcolica, un ambiente non favorevole allo sviluppo microbico.

Le criticità

Il vino contiene numerosi fattori chimici in grado di limitare l'attività batterica, tra cui l'etanolo, l'anidride solforosa, i bassi pH, l'assenza di zuccheri fermentescibili. Recentemente poi sono state evidenziate altre concause dei numerosi problemi osservati nello svolgimento della fermentazione malolattica, tra cui squilibri nutrizionali dovuti alla precedente azione dei lieviti e composti tossici prodotti dai lieviti stessi o residuati nel vino come acidi grassi e polifenoli. Tutte queste concause fanno sì che spesso la fermentazione malolattica richieda per completarsi numerose settimane, tempi non sempre compatibili con i processi produttivi e che, in ogni caso, espongono i vini a rischi di alterazioni microbiologiche in quanto il prodotto deve per forza di cose rimanere *scoperto*, ovvero non protetto dalle proliferazioni microbiche, per non limitare l'azione dei batteri lattici. Tra gli approcci alternativi per la gestione della fermentazione malolattica vi è la fermentazione simultanea tra lieviti e batteri.

Insieme è meglio

Per fermentazione simultanea (o fermentazione malolattica in co-inoculo) si intende l'inoculo in mosto di colture selezionate di lieviti e batteri a circa 24-48 ore di distanza l'una dall'altra o comunque quando la coltura di lieviti, la prima ad essere inoculata, abbia iniziato la fermentazione alcolica. La ragione di questo approccio è piuttosto evidente: il mosto è un mezzo decisamente più adeguato allo sviluppo microbico, non contenendo molti dei fattori limitanti prima elencati.

Il rischio maggiore legato alla presenza di una flora di batteri lattici abbondante nei mosti, ancora ricchi di zucchero, è che prendano piede fenomeni alterativi legati al consumo degli zuccheri da parte dei batteri lattici, con importanti accumuli di acido acetico nei mosti/vini. Tuttavia selezioni mirate di microrganismi enologici e adeguati protocolli di gestione delle fermentazioni, unitamente a monitoraggi analitici puntuali, hanno di fatto eliminato questi rischi, garantendo ottimi risultati nelle

fermentazioni simultanee di diverse tipologie di vini tra cui vini bianchi, basi spumante e vini novelli. È questo il caso di alcune prove sperimentali condotte presso la cantina di microvinificazione della Fondazione Mach in collaborazione con Lallemand e volte a meglio chiarire le differenze, sia nel processo fermentativo sia nei vini ottenuti, indotte da diversi protocolli di gestione della fermentazione alcolica e malolattica.

Il piano sperimentale: tre tesi a confronto

La sperimentazione si è svolta nell'anno 2013 vinificando una massa di uve Chardonnay di origine Trentina secondo tre diversi protocolli. Una **vinificazione tradizionale**, dove la fermentazione malolattica è stata inoculata a seguito della fermentazione alcolica; una **vinificazione condotta con il coinoculo tra lieviti e batteri**; una **vinificazione con fermentazione malolattica spontanea**, ovvero non inoculata. In tutti i tre casi è stato impiegato il lievito secco attivo Lalvin CY3079, prodotto da Lallemand e, laddove fosse previsto dal piano sperimentale, è stato inoculato il ceppo di *Oenococcus oeni* PN4, prodotto da Lallemand e selezionato dalla Fondazione Mach alcuni anni orsono. Le vinificazioni sono state condotte secondo un classico protocollo di vinificazione in bianco, avendo cura di fornire adeguata nutrizione ai mosti e di proteggerli da ossidazioni eccessive mediante l'uso di gas inerti nelle fasi successive alla fermentazione alcolica. Le vinificazioni sono state monitorate mediante diverse tecniche analitiche, tra cui la conta su piastra delle popolazioni di lieviti e batteri e l'analisi dei principali parametri chimici dei vini mediante FT-IR (FOSS). Al termine delle fermentazioni sono state eseguite verifiche su campioni prelevati ogni 24-48 ore per monitorare la variazione dell'acido malico (mediante cromatografia ionica accoppiata a detector conduttimetrico) e lattico (mediante HPLC con detector a indice di rifrazione). Infine sui vini finiti è stata svolta una caratterizzazione del profilo aromatico mediante gascromatografia accoppiata a spettrometro di massa, cui è seguita una degustazione da parte di un panel di esperti appartenenti agli enti coinvolti nella sperimentazione.

I risultati

Andamento delle fermentazioni

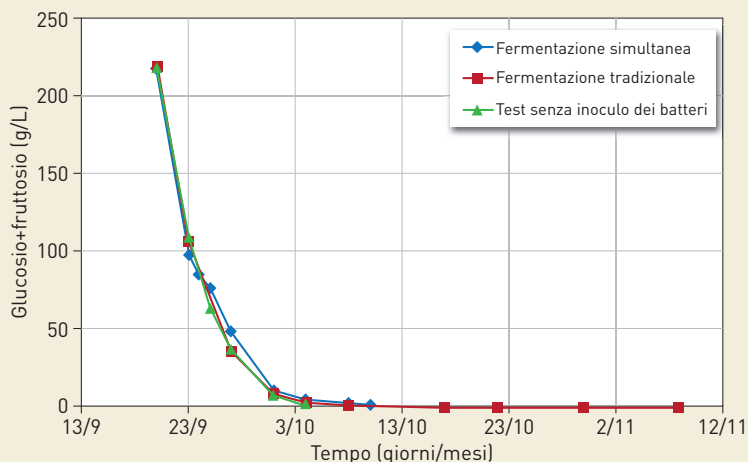
Uno dei rischi principali connessi all'inoculo simultaneo di lieviti e batteri nel mosto è legato alla incompatibilità tra i due ceppi coinvolti nelle fermentazioni enologiche. Pertanto un'adeguata scelta dei lieviti e dei batteri da impiegare è fondamentale, così come nel caso qui presentato. Non è stata osservata alcuna significativa differenza nell'andamento della fermentazione alcolica tra le tre tesi considerate, dimostrando l'assenza di interazioni negative tra i ceppi CY3079 e PN4.

Il **consumo degli zuccheri** nel mosto/vino contenente sia lieviti che batteri lattici (tesi Fermentazione Simultanea) ha mostrato lo stesso andamento riscontrato nel caso di vinificazioni convenzionali ovvero con l'inoculo dei batteri lattici al termine della fermentazione alcolica. Al contrario, è stato possibile osservare differenze rilevanti nell'**evoluzione della fermentazione malolattica** tra le tre tesi sperimentali. Nella vinificazione condotta con l'inoculo simultaneo di lieviti e batteri la fermentazione malolattica si è svolta insieme alla fermentazione alcolica, con un completo consumo di acido malico ancor prima della definitiva degradazione degli zuccheri. Nella vinificazione con inoculo sequenziale di lieviti e batteri la fermentazione malolattica è avvenuta al termine della fermentazione alcolica e l'intero processo di vinificazione ha richiesto circa 2 mesi per essere completato, rispetto alle 3 settimane del test svolto con inoculo simultaneo. Addirittura, nella prova non inoculata con batteri lattici la degradazione dell'acido malico non ha avuto corso nel periodo di osservazione (2 mesi) e ha richiesto ulteriori 45 giorni per essere completata. L'inoculo simultaneo di lieviti e batteri non ha influenzato **la composizione dei vini ottenuti**. In particolare, l'accumulo di acido acetico, uno dei principali rischi correlati all'attività dei batteri lattici in un ambiente contenente zuccheri, non differisce significativamente tra i 3 test effettuati. Questo risultato è particolarmente interessante se si considera che il pH a vino finito è prossimo a 3,5, valore ritenuto come soglia limite di rischio per l'attività dei batteri lattici in mosto d'uva.

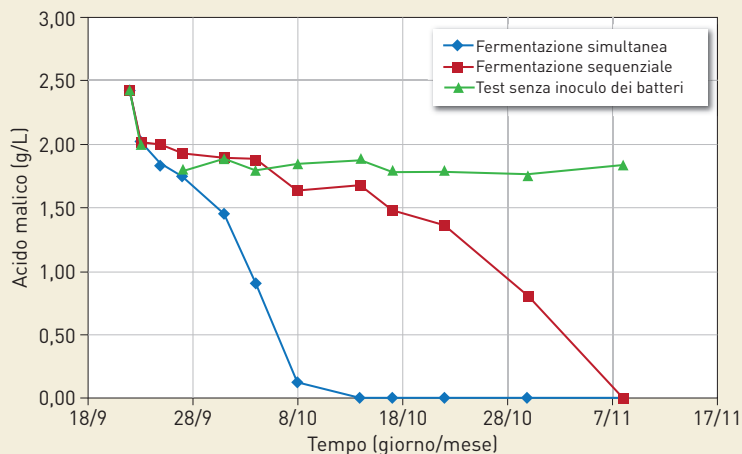
COMPOSIZIONE DEI VINI OTTENUTI

Protocollo	SO ₂ libera (mg/l)	SO ₂ totale (mg/l)	Alcol (% vol)	pH	Ac. tot. (g/l)	Ac. acetico (g/l)	Ac. tartarico (g/l)	Ac. citrico (g/l)	Ac. malico (g/l)	Ac. lattico (g/l)
Vinificazione con FML spontanea	29	89	12,98	3,48	3,8	0,21	1,45	0,12	0,16	1,76
Fermentazione tradizionale	44	93	12,91	3,49	3,6	0,23	1,39	0,005	0,04	1,96
Fermentazione simultanea	40	93	12,95	3,48	3,5	0,22	1,44	0,05	0,005	1,93

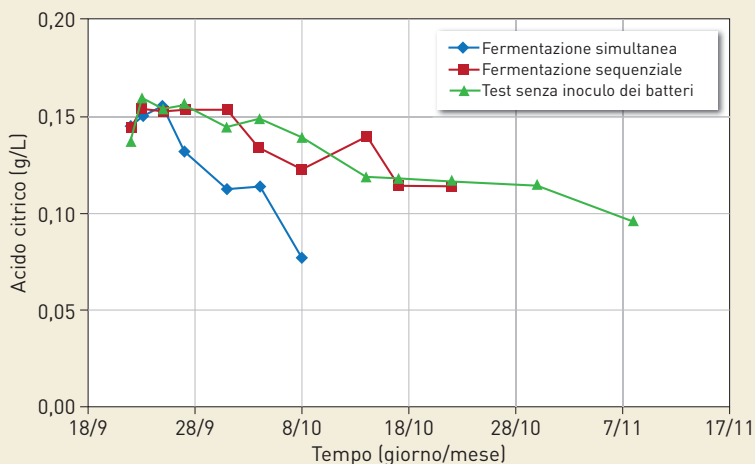
ZUCCHERI, ACIDO MALICO E ACIDO CITRICO



Andamento delle fermentazioni alcoliche, inteso come consumo degli zuccheri esosi presenti nel mosto. Non si evidenziano differenze significative tra le tre tesi sperimentali.



Andamento della degradazione dell'acido malico nelle tre tesi sperimentali.



Evoluzione del contenuto di acido citrico. Il consumo è proporzionale all'andamento della fermentazione malolattica ma non differisce in maniera significativa tra le tre tesi sperimentali.

Il **consumo di acido citrico** è risultato essere proporzionale all'andamento della fermentazione malolattica, senza tuttavia significative differenze, in termini di quantitativi residui, tra le tre tesi testate.

La caratterizzazione olfattiva

Sui vini finiti, dopo alcuni mesi di affinamento sulle fecce fini, è stata eseguita anche una caratterizzazione dei composti volatili presenti. Sono state riscontrate differenze sia nei componenti aromatici di origine varietale sia nelle molecole generate dal metabolismo fermentativo. Nella prima categoria di composti si possono segnalare le differenze osservate nel contenuto di geraniolo, nerolo e acido geranico. Tra i composti originati dal metabolismo fermentativo abbiamo individuato variazioni rilevanti nella concentrazione di acido caprico e del suo estere etilico, che risultano ridotti nei vini originati da fermentazione simultanea. Simili risultati si sono osservati nel caso dell'acido butirrico e dell'acido 3 - metilbutanoico. Al contrario, i vini ottenuti con inoculi simultanei di lieviti e batteri hanno presentato quantitativi maggiori di acetato di isoamile e acetato di butile. La degustazione condotta da un panel di esperti può aiutare a *tradurre* l'effetto delle variazioni analitiche sulla qualità dei vini ottenuti. Gli assaggi sono stati condotti 1 mese dopo l'imbottigliamento, nella tarda primavera del 2014. Il vino ottenuto dalla co-fermentazione di lieviti e batteri ha mostrato evidenti e complesse note floreali. Non sono stati evidenziati sentori *lattici*, risultanti da un'attività incontrollata dei batteri lattici. Il vino ottenuto dalla fermentazione sequenziale è risultato più evoluto, con sentori di frutta matura, lievi note ossidative e una leggera sensazione amara. Infine, il vino ottenuto dalla fermentazione malolattica spontanea era caratterizzato forti sensazioni fermentative, buon equilibrio al palato e moderata persistenza. La preferenza unanime degli assaggiatori, ovviamente su degustazioni condotte alla cieca, è andata al vino ottenuto mediante fermentazione simultanea.



www.vitevinoqualita.it/eSrjf

PER VINI DIVERSI

La fermentazione simultanea tra lieviti e batteri può essere una strategia enologica interessante in specifici contesti e nel totale controllo dei fattori di rischio. Se svolte in queste condizioni, le fermentazioni simultanee potranno consentire non solo di aumentare le percentuali di successo della fermentazione malolattica e ridurre i tempi del processo di vinificazione, ma anche di ottenere vini del tutto originali rispetto a quanto prodotto con i tradizionali protocolli di vinificazione.