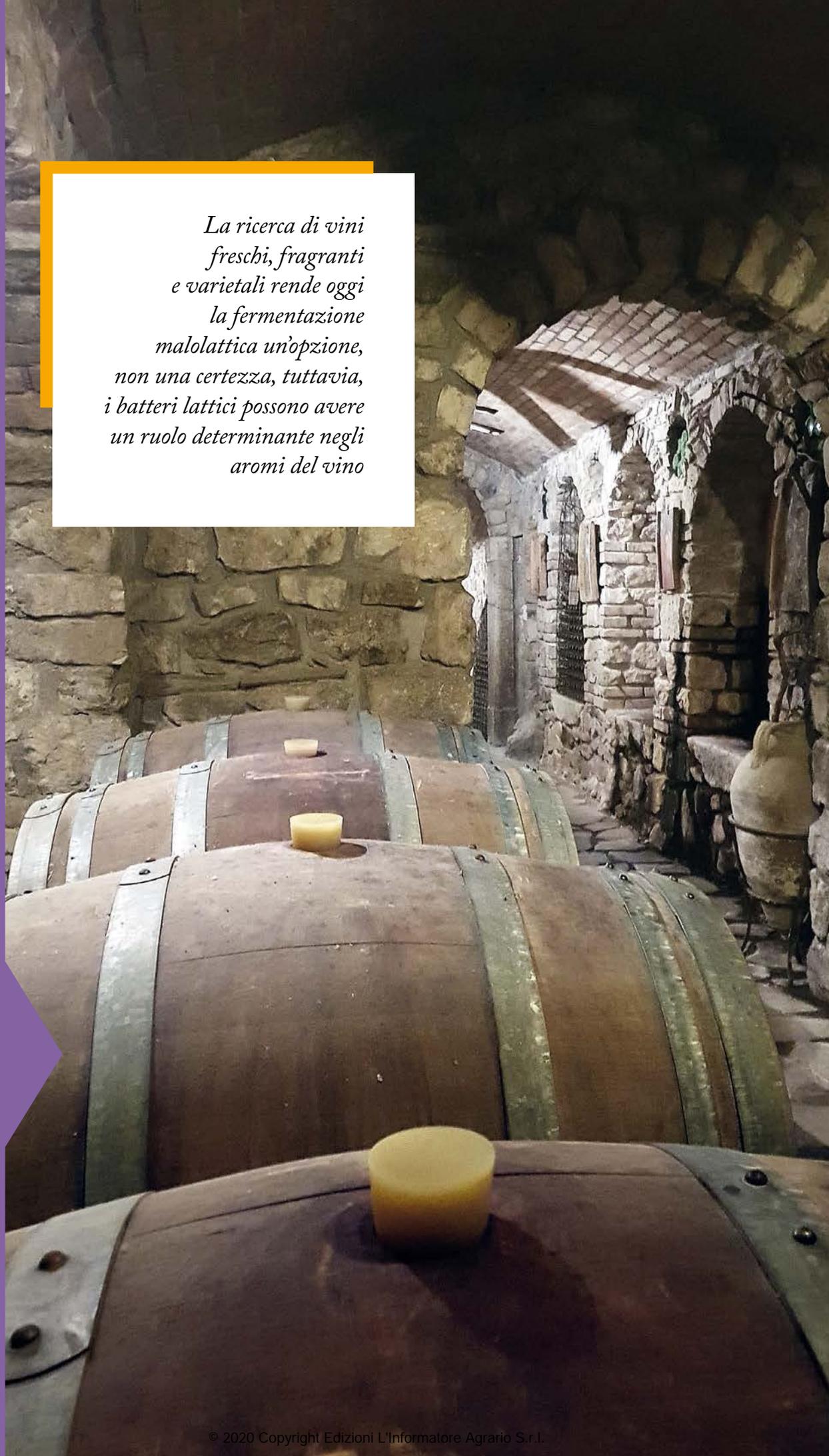


La ricerca di vini freschi, fragranti e varietali rende oggi la fermentazione malolattica un'opzione, non una certezza, tuttavia, i batteri lattici possono avere un ruolo determinante negli aromi del vino



BATTERI LATTICI E PROFILO AROMATICO DEI VINI:
LO STATO DELLA RICERCA

IL NUOVO RUOLO DEI BATTERI LATTICI

Oltre la malolattica

>> **Raffaele Guzzon**

Parlare di batteri lattici in enologia è da sempre sinonimo di fermentazione malolattica, ovvero la disacidificazione naturale del vino dovuta alla conversione dell'acido malico in acido lattico mediata da un numero ristretto di specie batteriche (*tabella 1*). Tuttavia, i cambiamenti climatici in corso, l'affinamento delle pratiche agronomiche e delle tecniche di cantina, nonché i trend di consumo hanno ormai messo in discussione la necessità della fermentazione malolattica anche in vini ove fino a pochi anni fa era ritenuta imprescindibile. È sotto gli occhi di tutti che l'acidità fissa dei mosti e dei vini sia spesso molto bassa e solo in parte le pratiche agronomiche possano invertire questo trend. D'altro canto proprio una maggiore attenzione in vigna ci consegna oggi vini con tannini più maturi, meno astringenti, mentre i consumatori apprezzano vini freschi, fragranti e varietali. Tutti questi fattori rendono oggi la fermentazione malolattica un'opzione, non una certezza.

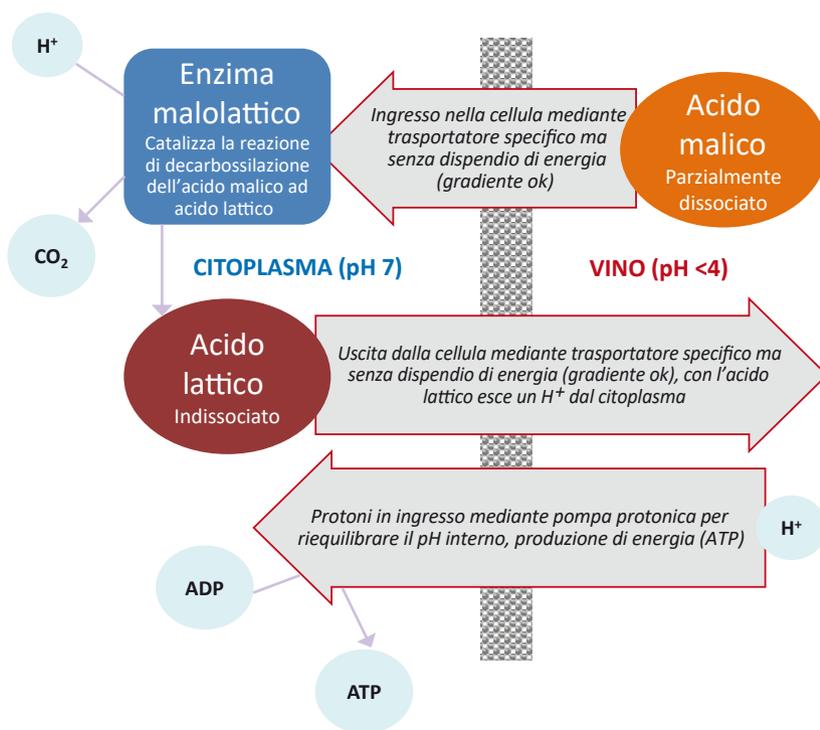
Dunque i batteri lattici sono inutili e la ricerca fatta negli ultimi decenni per comprenderne i metabolismi e ottimizzarne l'impiego in enologia risulta vana? Non è ovviamente così, anzi il potersi emancipare dalla mera disacidificazione del vino sta portando alla

valorizzazione di attività secondarie dei batteri lattici, attività che possono contribuire a disegnare profili sensoriali complessi e identitari in molte tipologie di vino. Ma andiamo con ordine e vediamo quali sono le conoscenze acquisite e le prospettive enologiche.

L'AROMA DI MALOLATTICA, IL METABOLISMO DELL'ACIDO CITRICO

La decarbossilazione dell'acido malico ad acido lattico è il metabolismo alla base della fermentazione malolattica. Le ragioni di questo processo sono da ricercare nella quota di energia che le cellule batteriche riescono a ricavare dal gradiente protonico tra interno ed esterno della cellula che la decarbossilazione dell'acido malico, con conseguente uscita di anidride carbonica e acido lattico indissociato, produce (*figura 1*). Dal punto di vista sensoriale questo processo biologico porta a una maggiore morbidezza del vino, visto che l'acido lattico monocarbossilico ha un impatto minore sulle nostre papille gustative. Tuttavia, la fermentazione malolattica propriamente detta non è responsabile di alcun sviluppo aromatico, da dove arrivano dunque le variazioni al profilo olfattivo dovute ai batteri lattici? L'impronta aromatica della

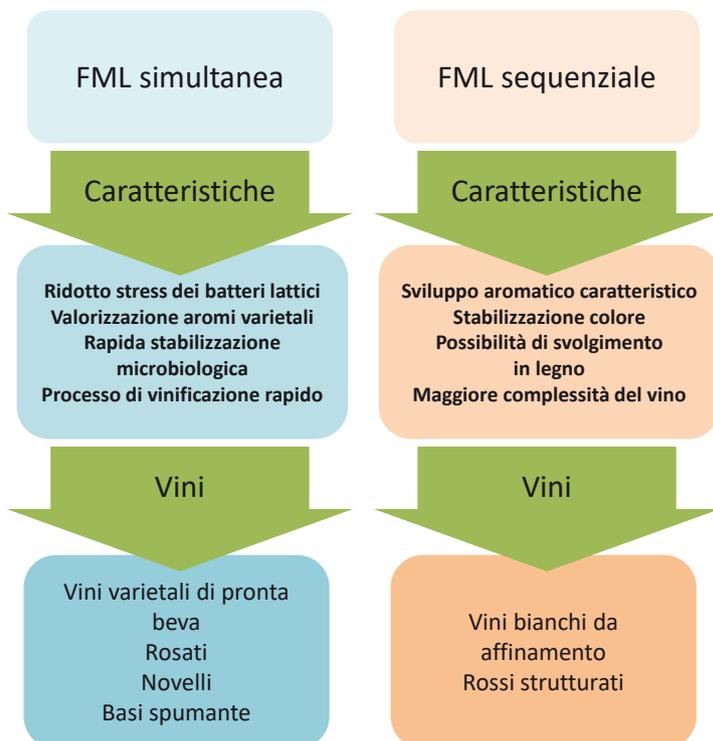
F.1 SCHEMA DELLA FERMENTAZIONE MALOLATTICA (1)



ATP = adenosina trifosfato; ADP = adenosina difosfato.

(1) La decarbossilazione dell'acido malico ad opera dell'enzima malolattico, con un opportuno gradiente di pH tra citoplasma e ambiente, consente la produzione di energia in un ambiente privo di zuccheri.

F.2 SINTESI DEI CARATTERI E DELLE APPLICAZIONI POSSIBILI DI DUE DIFFERENTI APPROCCI ALLA FERMENTAZIONE MALOLATTICA (FML): SIMULTANEA E SEQUENZIALE (1)



FML = fermentazione malolattica.

(1) Basati sul momento di inoculo dei batteri lattici liofilizzati (vedi grafico 1).

fermentazione malolattica è comunemente legata a sentori burrosi, la cui origine è da attribuirsi a tre molecole, diacetile, acetoino e butandiolo, prodotte dai batteri lattici nel metabolismo dell'acido citrico. Il diacetile ha un distinto aroma di burro con una soglia sensoriale compresa tra gli 0,2 mg/L nei vini bianchi e i quasi 3 mg/L nei vini rossi. In ogni caso è considerato un componente positivo dell'aroma di un vino quando la sua concentrazione non supera i 3 mg/L, oltre ai quali è riconosciuto come il difetto comunemente noto come «spunto lattico». Come sempre il ruolo della matrice, ovvero del vino, è fondamentale nel determinare la giusta concentrazione, in grado di apportare complessità senza prevaricare l'impronta varietale.

Il diacetile è sintetizzato sia da batteri omolattici, come *Pediococcus sp.* o *Lactobacillus sp.*, sia eterolattici, come *Oenococcus oeni*. Le vie di sintesi sono due: può derivare dal metabolismo degli zuccheri, assenti però nel vino o, più frequentemen-



te durante la fermentazione malolattica, dalla degradazione appunto dell'acido citrico. In quest'ultimo caso l'acido citrico è convertito mediante un enzima chiamato «citrato liasi» ad acido ossalacetico, questi è decarbossilato a piruvato. La via di produzione del diacetile dal piruvato è piuttosto complessa e prevede dapprima la decarbossilazione del piruvato, poi la condensazione con la tiamina pirofosfato. Questa molecola reagisce a sua volta con una seconda molecola di piruvato per ottenere l' α -acetolattato dal quale, per decarbossilazione ossidativa, il diacetile. Il diacetile può essere convertito, in equilibri ossidoriduttivi, in acetoino e 2,3-butandiolo. La produzione di diacetile porta ai batteri un vantaggio energetico nel vino, mezzo privo di fonti carboniose a maggior rendimento, come gli zuccheri. Oltre alle note burrose è evidente l'accumulo di acido acetico che dovrà essere tenuto sotto controllo per evitare deviazioni olfattive. È interessante notare che i trasporta-

T.1 PRINCIPALI CARATTERI DEI GENERI DI BATTERI LATTICI DI INTERESSE ENOLOGICO

	<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>Oenococcus</i> sp.	<i>Pediococcus</i> sp.
Morfologia cellulare	Bastoncellare, accoppiata	Cocchi rotondi o ovali, in paia o catene	Cocchi rotondi o ovali, in catene di varia lunghezza	Cocchi, raggruppati in tetradi
Dimensione cellulare (μm)	0,5-1,5 x 1-10	0,5-0,7 x 0,7-1,2	0,5-0,7 x 0,7-1,2	0,4-1,4
Fermentazione del glucosio	Omo- o eterolattica a seconda delle specie	Eterolattica	Eterolattica	Omolattica
Principali specie	Eterofermentanti: <i>L. brevis</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. delbruekii</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. sakei</i> Omofermentanti: <i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>O. oeni</i>	<i>P. damonosus</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>P. parvulus</i>

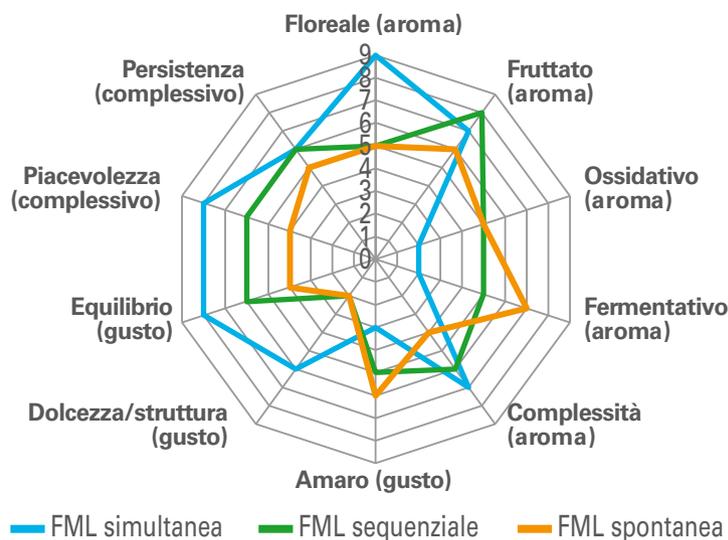
Nella fermentazione omolattica l'unico prodotto finale è il lattato; in quella eterolattica oltre all'acido lattico vengono prodotti etanolo e acido acetico.

tori di membrana dell'acido citrico sono meno efficienti di quelli dell'acido malico e dunque la degradazione dell'acido citrico, con conseguente accumulo di diacetile, sarà più lenta della demalicazione. In altre parole gestendo la velocità

della fermentazione malolattica posso regolare la quantità di diacetile prodotto dai batteri. Se punto a produrre un vino complesso cercherò di stimolare la produzione di diacetile con malolattiche lunghe, svolte al termine della fermentazione alcolica; se invece voglio preservare gli aromi varietali punterò a malolattiche brevi, condotte contemporaneamente alla fermentazione alcolica, con la tecnica del coinoculo (figura 2). Vi sono poi altri fattori in grado di modulare l'accumulo del diacetile (tabella 2). La concentrazione di batteri inoculati nel vino può regolare lo sviluppo di diacetile: è stato osservato, infatti, che inoculi nell'ordine di 104-105 Ufc/mL possono essere associati ad accumuli maggiori (fino a 8 volte) di diacetile nel vino rispetto ai classici inoculi di alcuni milioni di cellule/mL. Anche l'ossigeno ha un ruolo rilevante dato che la conversione dell' α -acetolattato a diacetile è una decarbossilazione non enzimatica favorita dalla presenza di O_2 . Esperimenti condotti negli anni '90 hanno dimostrato che



PROFILO SENSORIALE DI TRE VINI CHARDONNAY OTTENUTI DAL MEDESIMO MOSTO GIUDICATO DA UN PANEL DI ANALISTI ESPERTI, MA VINIFICATI CON TRE DIVERSI PROTOCOLLI DI FERMENTAZIONE MALOLATTICA (FML)



Dati medi (n = 5 cioè dati medi di 5 determinazioni). **FML simultanea** = coinoculo lieviti e batteri inoculati in mosto a 24 ore di distanza; **FML sequenziale** = batteri inoculati nel vino al termine della fermentazione alcolica; **FML spontanea** = senza batteri selezionati.

il quantitativo di diacetile accumulato nel vino varia notevolmente, passando dai 2 mg/L in condizioni anaerobiche ai 12 mg/L in condizioni semi-aerobiche. Anche la temperatura gioca un ruolo rilevante, a basse temperature (intorno ai 18 °C) la malolattica tende a essere più lenta, ma con un accumulo maggiore di diacetile.

Il metabolismo dell'acido citrico, rispetto a quello dell'acido malico, risente maggiormente dei caratteri specifici del ceppo batterico che conduce la fermentazione malolattica e ovviamente della concentrazione di acido citrico. Infine, l'SO₂ può reagire con il diacetile in maniera reversibile. In presenza di SO₂, il diacetile viene ridotto e la concentrazione di diacetile libero nel vino diminuisce. In ogni caso, al diminuire del contenuto di SO₂ (ad esempio durante l'invecchiamento), aumenta di nuovo il tasso di diacetile libero, con ripercussioni sull'impatto sensoriale.

ATTIVITÀ AROMATICHE SECONDARIE DEI BATTERI LATTICI

Sebbene il metabolismo del diacetile sia caratteristico dei batteri lattici, ridurre solo a questa molecola il contributo al profilo aromatico del vino sarebbe un errore. Vi sono altri metabolismi che possono apportare variazioni importanti al profilo aromatico del vino. Vediamo i principali.

Tutti i generi di batteri lattici coinvolti nelle produzioni enologiche hanno una provata attività esterasica, al termine della fermentazione malolattica è dunque lecito attendersi una variazione del profilo degli esteri, in particolare etilici.

Le esterasi agiscono sia nel senso della produzione sia dell'idrolisi di esteri, dunque il mutamento non sarà solo quantitativo, ma anche qualitativo. I batteri lattici sono in grado di rompere il legame tra il glucosio e la maggior parte dei pigmenti antocianici per utilizzare lo zucchero come

fonte energetica; questa attività – che può portare a variazioni della tinta del vino – è funzione del pH del mezzo e del contenuto di glucosio. La capacità glicosidica dei batteri lattici può portare anche alla liberazione di precursori aromatici, sebbene gli studi in merito siano piuttosto recenti e si evidenzia una notevole variabilità tra ceppo e ceppo. Un altro ambito in cui l'azione dei batteri lattici può essere rilevante è quello dei composti solforati. Il metabolismo degli aminoacidi nei batteri lattici è stato estensivamente studiato riguardo alla produzione di ammine biogene (molecole in ogni caso dotate di un impatto sensoriale non trascurabile), meno riguardo alla produzione di altre molecole di rilievo aromatico o alla liberazione di precursori tiolici di cui solo recentemente sono state raccolte evidenze sperimentali. È stata invece verificata la capacità di diversi ceppi di batteri lattici di metabolizzare aminoacidi solforati producendo composti sensorialmente rilevanti o con alta reattività, ad esempio da reazioni tra la cisteina e il diacetile. Infine, occorre segnalare l'attività dei batteri lattici verso i composti fenolici. Questa classe di composti deriva direttamente dall'uva e il loro accumulo nei vini è funzione delle pratiche agronomiche, della varietà, dell'epoca di raccolta e della tecnica di vinificazione. Questi composti, di cui si ipotizza un'azione tossica verso i microrganismi, sono trasportati all'interno della cellula da trasportatori attivi di membrana, qui decarbossilati a vinilfenoli e successivamente ridotti a etilfenoli. La produzione di etilfenoli è caratteristica di *Brettanomyces sp.*, ma può essere osservata in diversi gruppi di batteri lattici tra cui al-

cune specie di interesse enologico. Tuttavia riguardo all'effettivo rischio di alterazioni indotte dai batteri lattici per la produzione di etilfenoli vi sono pareri divergenti. In generale il contributo dei batteri lattici all'accumulo di etilfenoli non è particolarmente significativo e *Oenococcus oeni* è la specie meno attiva in questo senso.

UN NUOVO MODO DI INTENDERE I BATTERI LATTICI IN ENOLOGIA

Sulla base di queste evidenze scientifiche è dunque necessario ripensare l'impiego dei batteri lattici in enologia, distinguendo le attività propriamente collegate alla degradazione dell'acido malico, che potremmo definire attività starter, e le attività non starter, svincolate dalla fermentazione malolattica, ma di rilievo enologico.

Questa distinzione è comune in altri ambiti agroalimentari dove una successione di batteri induce dapprima modificazioni macroscopiche della matrice e, successivamente, ne affina i caratteri sensoriali. In enologia non siamo ancora a questo livello, sebbene vi siano ricerche in atto per valorizzare al massimo le attività metaboliche secondarie dei batteri lattici, ma modulando le variabili enologiche è possibile regolare l'attività batterica. La prima variabile riguarda la scelta della specie batterica

T.2 VARIABILI ENOLOGICHE IN GRADO DI REGOLARE IL CONTENUTO DI DIACETILE NEL VINO

Fattore	Impatto sulla concentrazione di diacetile
Ceppo batterico	L'accumulo è specie e genere dipendente, minore solitamente in <i>O. oeni</i> rispetto agli altri batteri lattici
Densità dell'inoculo	Un basso inoculo batterico favorisce l'accumulo di diacetile, attenzione alle fermentazioni malolattiche spontanee
Contatto con i lieviti (affinamento sulle fecce fini)	Lieviti attivi, favorita degradazione; lieviti morti, favorita sintesi
Contatto del vino con l'aria	La conversione non enzimatica di α -acetolattato in diacetile è stimolata dall'ossigenazione
Aggiunte di SO₂	Inibizione batteri, lega il diacetile in molecole non sensorialmente attive, fenomeni transitori
Aggiunte di acido citrico	Favorisce la sintesi e l'accumulo di acido acetico
Temperatura	Inversamente proporzionale all'accumulo di diacetile
pH	Bassi pH ritardano la crescita batterica ma favoriscono la sintesi di diacetile

da impiegare, del ceppo e della copia lievito/batteri. Oggi sul mercato sono disponibili sia ceppi di lattobacilli, batteri omofermentanti e scarsamente acidofili, sia



ceppi di *Oenococcus oeni*, eterofermentanti, ma più inclini a mantenere una buona attività anche a bassi pH o con rilevanti dosi di SO₂.

Non è poi da trascurare l'interazione tra batteri e lieviti in quanto, come abbiamo visto, i prodotti del metabolismo dei lieviti sono frequentemente utilizzati come substrati da parte dei batteri. Un'attenta scelta dei microrganismi è anche funzione del protocollo di fermentazione. Nel caso dell'inoculo simultaneo occorrerà tener presente che i batteri lattici utilizzeranno anche una quota di zuccheri e dunque sarà opportuno scegliere preferibilmente batteri omolattici che non accumulano acido acetico, ma possono contribuire all'acidità fissa del vino producendo una quota addizionale di acido lattico dal consumo del glucosio. Il momento dell'inoculo, è importante ribadirlo, regola la produzione di composti aromatici da parte dei batteri lattici.

Dato che il diacetile è prodotto lentamente, se paragonato alla velocità di consumo dell'acido malico, con una cofermentazione e una rapida stabilizzazione microbiologica del vino otterremo un profilo varietale. Al contrario se prolungheremo l'attività batterica, anche con frequenti batonages e affinamento in ambiente ossidativo, come in botte, l'accumulo di diacetile e la modificazione del profilo aromatico dei vini, rispetto a quanto ottenuto dalla fermentazione alcolica, saranno più marcate.

Un ruolo importante è rivestito anche dalla nutrizione dei batteri e dalle correzioni che possono intervenire sulla composizione di mosti e vini. Soprattutto nella fermentazione malolattica sequenziale occorre pensare a una nutrizione adeguata dei batteri che nel vino, già co-

lonizzato dai lieviti, possono non trovare tutti i substrati necessari. In caso di fermentazioni alcoliche stentate è poi probabile che i lieviti abbiano rilasciato molecole come l'anidride solforosa o acidi grassi a media catena che hanno un provato ruolo di inibizione nei confronti dei batteri lattici, dunque trattamenti detossificanti del vino, operati con scorze di lievito saranno essenziali. Infine occorre considerare i substrati a disposizione dei batteri, in particolare nel caso di fermentazioni malolattiche sequenziali, dopo la conclusione della fermentazione alcolica.

Carenze in acidità dei vini, se da un lato causano un minor stress ai batteri, dall'altro possono rivelarsi deleterie in quanto limitano i substrati a cui questi microrganismi possono accedere. Pertanto sarà opportuno integrare l'acidità utilizzando acidi organici assimilabili dai batteri. Anche qui due possibilità:

- per malolattiche efficienti e con uno scarso sviluppo aromatico sarà preferibile utilizzare acido malico;
- volendo valorizzare gli aromi prodotti dai batteri sarà preferibile usare l'acido citrico o una miscela dei due.

Modulando le variabili che abbiamo tentato sinteticamente di descrivere è possibile pertanto ottenere vini con profonde differenze in termini di complessità e profilo sensoriale, la fermentazione malolattica è dunque un'interessante fabbrica di diversità enologica che deve essere valorizzata al meglio.

Raffaele Guzzon

Centro di trasferimento tecnologico
Fondazione Edmund Mach
San Michele all'Adige (Trento)



www.viteevino.it



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.