



Selezione di batteri lattici autoctoni

e studio della loro influenza sulle caratteristiche sensoriali dei vini. Uno studio su vini piemontesi

MARIA CARLA CRAVERO, FEDERICA BONELLO, ANTONELLA COSTANTINI, FRANCESCA DORIA, LUCA CHIUSANO, EMILIA GARCIA-MORUNO CRA-ENO Centro di Ricerca per l'Enologia, Asti

DANIELE DELLAVALLE, Vignaioli Piemontesi

Introduzione

La fermentazione malolattica (FML) è un importante processo che avviene solitamente al termine della fermentazione alcolica (FA). Essa è condotta dai batteri lattici, i quali trasformano l'acido L-malico in acido L-lattico ed anidride carbonica. La FML influenza notevolmente le qualità organolettiche attraverso modificazioni a livello del colore, degli aromi e della struttura dei vini, inoltre apporta anche stabilità microbiologica.

Diversi generi di batteri lattici sono in grado di compiere la FML; tra questi, la specie *Oenococcus* oeni è quella più frequentemente associata a tale processo in quanto è la più adatta a sopravvivere e crescere nelle condizioni stressanti del vino.

Lo sviluppo spontaneo dei ceppi di *O. oeni* nel vino dipende dalla diversa capacità di utilizzare fonti come zuccheri e aminoacidi, ma soprattutto dalla capacità di tollerare condizioni particolari legate al pH, alla SO₂, all'elevato contenuto di etanolo e alle basse temperature (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006; Renouf *et al.*, 2008). Ci sono inoltre proprietà ceppo-specifiche di *Oenococcus* oeni, che portano alla formazione di una serie di composti secondari, che nel loro insieme contribuiscono in maniera decisiva alle caratteristiche dei vini.

Negli anni 1980 sono stati introdotti in commercio preparati liofilizzati di batteri selezionati per la FML, che permettono di avere un miglior controllo del momento d'inizio, del decorso della fermentazione e del genere che porta a termine il processo. Infatti, l'inoculo con batteri selezionati di *O. oeni* impedisce lo sviluppo di batteri contaminanti appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Pediococcus*; questi batteri possono produrre elevate concentrazioni di acido acetico, che altera le qualità organolettiche dei vini, e sostanze indesiderabili dal punto di vista della salute, come le ammine biogene. Tuttavia, anche l'utilizzo di questi starter, non sempre garantisce una fermentazione di successo, soprattutto in annate particolari.

L'obiettivo del lavoro è stato di selezionare alcuni ceppi

malolattici autoctoni, in grado di portare a termine la FML senza produzione di composti indesiderati ed in grado di valorizzare le particolarità organolettiche dei diversi vini del Piemonte. A tale scopo si è proceduto inizialmente con l'isolamento e caratterizzazione di batteri malolattici da alcuni vini piemontesi bianchi (Arneis, Chardonnay) e rossi (Nebbiolo, Barbera, Dolcetto, Grignolino). Successivamente si è effettuata una selezione dei ceppi migliori da utilizzare come starters che, in seguito, sono stati utilizzati per realizzare delle FML nei vini in studio, in piccola quantità (5L). Questi vini sono stati confrontati con gli analoghi vini in cui la FML era avvenuta spontaneamente.

Materiali e metodi

Nel corso della vendemmia 2008 sono stati presi in esame 10 campioni di vino, vinificati in 6 cantine del Piemonte: Nebbiolo (3), Barbera (3), Dolcetto, Grignolino, Arneis, Chardonnay. Al termine della FA sono stati prelevati dei







campioni di tutti i vini; una parte è stata filtrata con filtri da 0,2 mm per le prove di fermentazione con i batteri selezionati (5L), una parte è stata tenuta in cantina in damigiane da 5L in modo che la FML fosse condotta spontaneamente. Sui tali campioni la FML è stata monitorata mediante analisi HPLC degli acidi fissi. Sono stati realizzati controlli chimico-fisici e sensoriali sui vini alla fine della FA e alla fine delle FML.

Dai campioni di tutti i vini sono stati realizzati degli isolamenti di batteri lattici. Le colture ottenute sono state caratterizzate a livello di specie mediante PCR *Oenococcus-*specifica (Zapparoli et al., 1998); successivamente le colonie di *O. oeni* isolate sono state biotipizzate a livello di ceppo per valutare la variabilità intraspecifica (Reguant *et al.*, 2003). Sono stati condotti saggi per la valutazione delle caratteristiche tecnologiche dei ceppi in studio, alcol tolleranza, acido tolleranza e capacità fermentativa.

Sono stati selezionati i ceppi migliori e si sono ricercate le condizioni ottimali per ottenere un'elevata biomassa di *O. oeni.* Infine, la miscela di ceppi è stata utilizzata per valutare la capacità di questi batteri di portare a termine la FML in fermentazioni da 5L di vino, utilizzando tutte le qualità di vino in studio prelevati a fine-FA.

Questi campioni sono stati confrontati con i loro omologhi vini ottenuti con fermentazione spontanea, in particolare, si sono eseguiti controlli chimico-fisici e sensoriali al termine della fermentazione alcolica (FA), dopo FML spontanea e dopo FML indotta da batteri selezionati. La descrizione dei profili sensoriali è stata realizzata sempre in doppio con il *panel* (10-14 assaggiatori) del CRA-ENO, utilizzando una procedura derivata dalle norme UNI-ISO, ampiamente sperimentata (Cravero *et al.*, 2008). La misura dell'intensità dei descrittori scelti sulla base delle frequenze di individuazione, si esegue su schede a ruota a scale astrutturate (valore massimo 80 mm).

Risultati

Nei vini si sono isolate 162 colonie batteriche. Dalle PCR specie-specifiche, si è osservato che la specie predominate (97%) era *Oenococcus oeni*. Le colonie sono state sottoposte a vari screening per poter operare una selezione; a questo scopo sono stati condotti diversi saggi sia tecnologici che biomolecolari. Sulla base dei risultati ottenuti da queste prove sono stati selezionati i sei ceppi migliori (provenienti da Barbera e Nebbiolo).

I risultati hanno mostrato che la miscela di ceppi è in grado di portare a termine la FML in tutti i 10 vini inoculati, in un tempo compreso tra i 20 e 40 giorni.

In figura 1 sono rappresentati, a titolo di esempio, gli andamenti di fermentazione di due vini, un Nebbiolo e un Barbera.







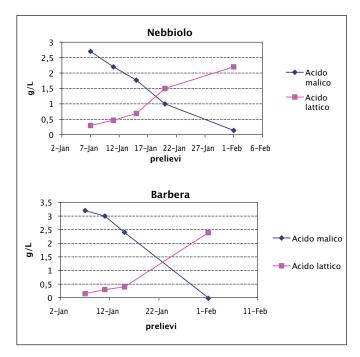


Fig. 1 - Andamento di fermentazione in vini Nebbiolo e Barbera inoculati con i batteri selezionati

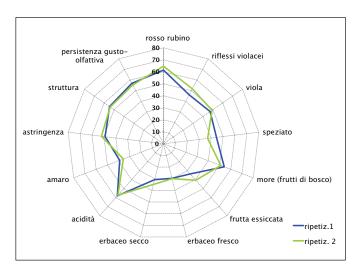


Fig. 2 - Profilo sensoriale del vino Nebbiolo dopo FA (sono riportati i due profili ottenuti nelle due sedute di assaggio: ripetizione 1 e 2)

Quindi, si può concludere che il lavoro di screening svolto, in cui sono state valutati le capacità di adattamento e il profilo fermentativo, ha permesso di ottenere un pool di ceppi capaci di crescere e condurre con successo la FML in diverse tipologie di vino, anche diverse da quella in cui si erano isolati.

Dal confronto tra le prove dopo FML spontanea e quelle dopo FML condotta dai batteri selezionati, si sono notate, per alcuni campioni, differenze interessanti a livello sensoriale.

Di seguito sono presentati a titolo di esempio i profili sensoriali medi di un vino Nebbiolo sottoposto alla sperimentazione. In fig. 2 è mostrato il profilo del vino dopo FA, in fig. 3 il vino dopo FML spontanea e infine in fig. 4 il vino con FML indotta da batteri selezionati.

L'osservazione del profilo sensoriali dopo fermentazione

alcolica, (fig.2), evidenzia un bouquet caratterizzato da profumi fiorali (viola), speziati, fruttati (more, frutta essiccata) e vegetali ("erbaceo fresco" ed "erbaceo secco"). Il vino dopo FML (fig.3) ha sviluppato descrittori notevolmente diversi: "more" è stato sostituito dal più generico "frutti di bosco", e si sono aggiunti i descrittori "ciliegia" e il più specifico "tabacco/fieno" al posto di erbaceo secco. Se esaminiamo il vino dopo FML indotta da batteri selezionati (fig.4) possiamo notare che sono state individuate differenze rispetto al vino precedente. I descrittori comuni sono presenti con intensità notevolmente maggiori ed è stata identificato anche il descrittore confettura/marmellata.

Confrontando i vini a livello visivo, si può notare il cambiamento di tonalità colorante dal vino dal rosso rubino con riflessi violacei (dopo FA) al granato con riflessi aranciati (dopo FML indotta). Anche a livello gustativo l'acidità elevata percepita dopo FML si è smorzata dopo la FML, in particolare dopo quella indotta (fig.4). Inoltre, in vino dopo FML indotta è risultato meno astringente, come confermato dalle analisi chimico-fisiche (proanto-

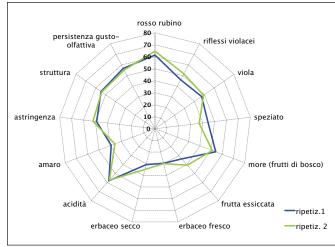


Fig. 3 - Profilo sensoriale del vino Nebbiolo dopo FML spontanea (sono riportati i due profili ottenuti nelle due sedute di assaggio: ripetizione 1 e 2)

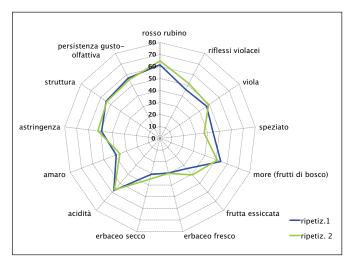


Fig. 4 - Profilo sensoriale del vino Nebbiolo dopo FML indotta da batteri selezionati (sono riportati i due profili ottenuti nelle due sedute di assaggio: ripetizione 1 e 2)





cianidine e flavani reattivi alla vanillina). La struttura e la persistenza sono risultate più elevate: probabilmente una minor ruvidità va ad aumentare la sensazione di rotondità e di pienezza così da renderle maggiormente percepite.

infatti, tutelano le caratteristiche tipiche del vino e nel contempo assicurano la presenza esclusiva di batteri positivi, in quali non apportano eventuali difetti al vino e ne garantiscono il legame con il territorio.

Conclusioni

In questo lavoro sono stati caratterizzati *O. oeni* autoctoni isolati da 10 vini piemontesi. In seguito ai diversi saggi effettuati, è stato possibile selezionare 6 ceppi con buone caratteristiche fermentative.

Questo pool di ceppi è stato in grado di crescere e di condurre a termine con successo la FML nei diversi vini in studio, anche se diversi da quello in cui erano stati isolati

I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'inoculo con i ceppi selezionati non ha alterato le caratteristiche dei vini e spesso le ha migliorate, apportando maggior intensità olfattiva, morbidezza e struttura.

Si conferma che l'inoculo di una miscela di ceppi è una garanzia di successo per la FML, in quanto dà la possibilità che almeno un ceppo si adatti a variazioni del vino in diverse annate.

I batteri autoctoni selezionati, utilizzati in coltura fresca e non liofilizzati, possono essere, quindi, una valida alternativa agli starter commerciali nell'induzione della FML,

Bibliografia

Cravero M.C., Ubigli M., Bonello F., Pisano G., Tsolakis C., Serpentino M.L. 2008. *L'Enologo* XLIV, (10), 89-94.

GONZÁLEZ-ARENZANA, LÓPEZ R.,. SANTAMARÍA P., TENORIO C., LÓPEZ-ALFARO I. 2012. *Microbiol Ecol*, 63,12–19.

REGUANT C., BORDONS A. 2003. J Appl Microbiol, 95,344-53.

Renouf V., Delaherche A., Claisse O., Lonvaud-Funel A. 2008. *Microbiol Biotechnol*, 35, 27-33.

RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B., LONVAUD-FUNEL A. 2006. Handbook of Enology. Wiley and Sons, Chichester, UK.

Zapparoli G., Torriani S., Pesente P., Dellaglio F. 1998. Lett Appl Microbiol, 27, 243–246.

I risultati esposti sono stati ottenuti nell'ambito del progetto triennale della Regione Piemonte: Isolamento e caratterizzazione di batteri lattici autoctoni per l'ottenimento di una fermentazione malo-lattica (FML) sicura e per la valorizzazione della tipicità dei vini piemontesi.

