



FOCUS MALOLATTICA

QUANDO LA "MALO" NON PARTE

■ CENNI STORICI

La fermentazione malolattica è stata oggetto di studio fino dai primi anni del 1800, anche se l'utilità e l'importanza di tale processo è risultata difficile da comprendere per molto tempo.

A lungo, infatti, la fermentazione malolattica è stata considerata una malattia e come tale veniva descritta all'interno dei libri di enologia. Allo stesso tempo, alcune scuole enologiche contestavano la sua stessa esistenza ed in particolar modo si rifiutavano di attribuire una qualsiasi importanza a tale processo.

Il motivo di tale errore è da attribuire al fatto che i batteri lattici, responsabili della fermentazione malolattica, sono responsabili anche di alcune alterazioni che affliggevano molto spesso i vini durante la loro conservazione.

Fu Pasteur a capire che all'origine di malattie quali il filante, il girato e l'agrodolce, c'erano proprio i batteri lattici: grazie all'utilizzo di anidride solforosa in fermentazione e alle moderne tecniche di vinificazione impiegate negli anni a venire tali malattie sono quasi del tutto scomparse. A partire dagli anni 50 del XX secolo, gli studi sui batteri lattici si sono concentrati sulla loro identificazione e classificazione, mentre con la seconda metà degli anni 80 è iniziata la commercializzazione di ceppi industriali selezionati per l'inoculo dei batteri lattici: prima di allora infatti, la fermentazione malolattica avveniva esclusivamente in modo spontaneo.

■ CHI LA FA E CHI NON LA FA

Praticamente tutti i vini rossi beneficiano della fermentazione malolattica, soprattutto se molto acidi e nelle annate dove la maturazione delle uve non è completa. La sostituzione



dell'acido malico con l'acido lattico comporta una diminuzione dell'acidità fissa con conseguente aumento del pH; l'acido lattico apporta un gusto più dolce al vino e indirettamente diminuisce la sensazione tannica.

A causa dell'aumento del pH si osserva una decolorazione degli antociani: sia l'intensità colorante che la tonalità risultano attenuate e i vini meno colorati.

La formazione di diacetile, metabolita dei batteri lattici, conferisce un gusto burroso che risulta gradevole nei vini, se la sua concentrazione non eccede i 2-3 mg/l. Al di sopra di tale concentrazione il diacetile è al contrario responsabile del difetto di gusto di rancido.

A discapito dell'effetto positivo sulla crescita batterica dell'aumento del pH, la FML contribuisce alla stabilità microbiologica dei vini, in quanto consente l'eliminazione di molti substrati fermentescibili (come amminoacidi e vitamine) potenzialmente utilizzabili da altri microrganismi indesiderati.

Nei vini bianchi la fermentazione malolattica è ricercata nei vini secchi

destinati all'affinamento in legno allo scopo di esaltarne il corpo, la pienezza e la complessità aromatica, mentre viene evitata nei vini che beneficiano del mantenimento delle note floreali o di frutta e di una certa freschezza.

Vista la spiccata attitudine a fermentare gli zuccheri da parte dei batteri lattici e la conseguente capacità di formare alte concentrazioni di acido lattico, acido acetico e di altri composti negativi come la mannite (responsabile dello spunto lattico), la fermentazione malolattica va sempre evitata nei vini dolci.

Coadiuvanti enologici come il lisozima o come il chitosano (antimicrobico di recente immissione sul mercato) sono risultati utili per ritardare o inibire del tutto la malolattica.

■ I BATTERI LATTICI E LA REAZIONE MALOLATTICA

La fermentazione Malo-Lattica è il processo di conversione dell'acido Malico in Lattico, ad opera dei batteri lattici ed in particolare *Oenococcus oeni*, la specie che meglio si adatta alla crescita e alla sopravvivenza in vino.

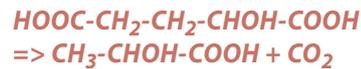
Oenococcus oeni è un batterio aerotollerante di tipo eterofermentativo: attacca gli esosi come il glucosio, il fruttosio e il trealosio formando acido lattico e alcuni sottoprodotti, tra cui l'acido acetico.

Il suo optimum di temperatura va dai 18 ai 24 gradi, mentre le temperature minime e massime a cui riesce a sopravvivere sono rispettivamente 10 e 35 gradi.

Oenococcus oeni non è l'unico microrganismo in grado di degradare l'acido malico in vino: anche *Lactobacillus Plantarum* è risultato adatto ad operare la FML, soprattutto in vini con pH elevato (3,5-3,8) e alto tenore in alcol. *L. plantarum* possiede inoltre un corredo enzimatico in grado di influire sul profilo organolettico del vino forse più marcato rispetto ad *O. oeni*.

Tra i punti di forza di *L. plantarum* troviamo il suo carattere omofermentante: ciò evita il rischio di una produzione eccessiva di acido acetico come conseguenza del metabolismo eterofermentativo dello zucchero che si può presentare quando *O. oeni* è inoculato in mosti con pH elevati.

Da un punto di vista chimico, come detto, la fermentazione malolattica consiste nella trasformazione dell'acido L-malico in acido L-lattico.



Tale trasformazione avviene ad opera di un enzima chiamato enzima malolattico, il quale necessita di NAD e Mn²⁺ come cofattori per far avvenire la reazione.

Il vantaggio per i batteri nello svolgere la fermentazione malolattica consiste nell'ottenimento di energia sotto forma di ATP, utile per compiere altre azioni metaboliche.

Dall'acido malico i batteri ottengono l'energia e per avere il carbonio - necessario alla costruzione delle proprie cellule - ricorrono agli zuccheri presenti nel vino.

I batteri lattici sono normalmente presenti sulle uve e si ritrovano nel mosto, ma l'aumento della biomassa dei lieviti e l'inizio della fermentazione alcolica determinano una brusca diminuzione della popolazione batterica, la quale rimane in fase di latenza.

La diminuzione a cui si assiste riguarda sia il numero che la variabilità di specie e a fine fermentazione alcolica la specie dominante è *Oenococcus oeni*. Contrariamente a ciò che si pensa, però, *O. oeni* è presente in concentrazioni molto basse sulle uve in vigna (dove al contrario proliferano altre specie batteriche più numerose e più vigorose): la sua presenza nei vini pare sia invece dovuta a ceppi rimasti latenti sulle attrezzature enologiche e negli ambienti di cantina. Una volta terminata la fermentazione alcolica e al verificarsi delle condizioni

idonee alla loro sopravvivenza, i batteri iniziano normalmente a riprodursi: al raggiungimento della concentrazione di 10⁶ cell/ml (condizione necessaria all'innescò) la fermentazione malolattica ha inizio.

Quando la fermentazione malolattica avviene spontaneamente, la sua durata è molto variabile: in buone condizioni di sviluppo batterico, la degradazione completa dell'acido malico può compiersi in meno di 10 giorni, mentre può protrarsi per mesi, oppure non avvenire del tutto, in caso l'ambiente sia sfavorevole.

Se da un lato decidere di inoculare una vasca costituisce un costo per l'azienda, dall'altro permette di tenere sotto controllo un processo che - come abbiamo visto - è estremamente dipendente dalle condizioni di sviluppo dei batteri indigeni.

La pratica più consueta di conduzione della fermentazione malolattica consiste nell'eseguire l'inoculo sequenzialmente a quello dei lieviti una volta terminata la alcolica; dal momento che gli zuccheri sono stati quasi totalmente fermentati dai lieviti, non c'è il rischio che l'acidità volatile aumenti (per consumo degli zuccheri da parte dei batteri), ma l'adattamento dei batteri al mezzo viene reso più difficile dall'alto tenore in alcol del vino.

Negli ultimi anni le cantine hanno iniziato ad utilizzare più frequentemente la tecnica del *coinoculo*: in questo caso l'inoculo di batteri lattici viene fatto contemporaneamente a quello dei lieviti.

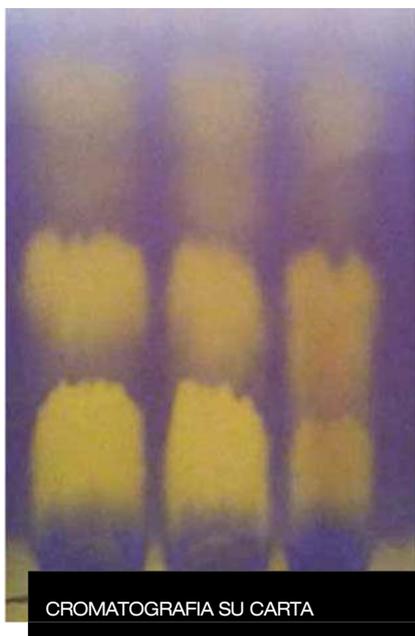
I vantaggi di questa pratica consistono in una riduzione dei tempi di adattamento dei batteri lattici al mezzo, a causa della maggiore disponibilità di nutrienti e del basso tenore in alcol: i vini sono spesso più morbidi e fruttati dei corrispettivi inoculati sequenzialmente ma presentano spesso una maggiore acidità volatile.

Il coinoculo rappresenta un vero rischio quando la fermentazione alcolica subisce un arresto o un rallentamento, poiché i batteri trovano a disposizione una grande quantità di zuccheri dai quali possono formare alte concentrazioni di acido acetico.



QUANDO LA MALOLATTICA NON PARTE

Sono molti i fattori che influenzano lo svolgimento della fermentazione malolattica. Accanto ai fattori chimico-fisici, fondamentali allo sviluppo dei batteri lattici nel mezzo, ve ne sono molti altri più difficili da controllare che possono impedire ai batteri di riprodursi. Particolarmente importanti - specie nel caso di fermentazioni spontanee - sono i possibili effetti negativi derivanti dall'interazione tra determinati ceppi di lievito e di batteri e la presenza di composti inibitori di difficile identificazione.



CRONATOGRAFIA SU CARTA

Fattori chimico-fisici:

■ pH

I batteri lattici sono batteri acidofili e per tale motivo il loro sviluppo avviene a pH compatibili con quelli del vino.

A differenza di altre specie, *O. oeni* è in grado di sopravvivere anche a pH molto bassi (3,0-3,2): tuttavia la crescita della popolazione batterica è favorita da pH superiori a 3,5.

Un pH più basso rende difficile il mantenimento del pH intracellulare del batterio e mette a rischio l'attività dell'enzima malolattico.

In funzione del pH, il batterio decide quale substrato utilizzare per ottenere l'energia di cui necessita; concretamente, al di sotto di un pH di 3,5 *O. oeni* è in grado di consumare esclusivamente l'acido malico, mentre al di sopra di tale valore tende a preferire gli zuccheri (con conseguente innalzamento della produzione di acido acetico).

Di contro, nei vini a pH alto (maggiore di 3,5) il rischio che si verifichino contaminazioni batteriche è alto, poiché i batteri si trovano in un ambiente favorevole alla propria sopravvivenza e la microflora presente nel vino risulta più abbondante e più variata.

Ceppi selezionati di *L. plantarum* sono risultati adatti allo svolgimento della malolattica con pH superiori a 3,5, portando risultati addirittura migliori rispetto a quelli ottenuti con *O. oeni*.

■ Anidride solforosa

La funzione antimicrobica del diossido di zolfo è nota: la parte attiva della solforosa libera (chiamata anche solforosa molecolare) è quella in grado di entrare per diffusione all'interno del citoplasma della cellula batterica, reagendo con vitamine, proteine, coenzimi e causando l'arresto della crescita cellulare fino a causarne la morte.

La quantità di solforosa libera presente in forma attiva nel vino aumenta con il diminuire del pH e si determina mediante la formula di Sudraud e Chauvet:

$$SO_2 \text{ molecolare (\%)} = \frac{100}{10^{pH-1,81+1}}$$

A sua volta la frazione libera della solforosa totale varia in funzione del potere di combinazione del vino, ovvero della sua capacità di renderla indisponibile per le attività antimicrobiche ed antiossidanti.

In linea generale possiamo dire che i batteri lattici si sviluppano difficilmente al di sopra dei 100 mg/l di solforosa totale e con livelli di solforosa libera superiore a 10 mg/l, soprattutto se il pH del vino è basso (3,2-3,4).

■ Temperatura

Assieme al pH, la temperatura rappresenta il fattore più importante per la moltiplicazione batterica e per lo svolgimento della fermentazione malolattica.

I batteri lattici presentano un optimum di temperatura di 20 gradi in vino: una temperatura eccessiva è dannosa per lo sviluppo dei batteri ed è causa di deviazioni organolettiche e della produzione di acido acetico.

Al contrario, i batteri lattici possono sopravvivere a temperature inferiori a 20 gradi (10-15 gradi) e - se la moltiplicazione cellulare è già avvenuta - portare a termine la fermentazione malolattica,

anche se con un prolungamento considerevole dei tempi di consumo dell'acido malico.

■ Alcool

Così come i lieviti, anche i batteri hanno una specifica tolleranza all'alcool: per effetto delle alte concentrazioni alcoliche la membrana plasmatica tende a non lavorare più correttamente. Nel caso si voglia svolgere la malolattica in un vino con alta gradazione alcolica (14 % vol o più), sarà pertanto opportuno ricorrere all'inoculo di ceppi di batteri selezionati o, ancora meglio, al coinoculo, in modo da consentire una migliore acclimatazione dei microrganismi al mezzo.

■ Ossigeno

L'effetto dell'ossigeno sulla crescita batterica rimane marginale poiché poco chiaro e poiché dipendente dalla specie batterica coinvolta nel processo fermentativo. Generalmente piccole dosi di ossigeno si dimostrano utili per l'avvio della FML, mantengono in sospensione i BL e ne favoriscono l'attività, mentre dosi eccessive ne ritardano l'avvio.

■ Fattori nutritivi

Per fattori nutritivi si intendono i composti presenti nel mezzo quali zuccheri, composti azotati ed elementi minerali. Gli zuccheri rappresentano la fonte di carbonio attraverso la quale i batteri rigenerano le molecole di coenzima necessarie all'ossidazione del glucosio.

Gli zuccheri presenti a fine fermentazione alcolica, in primis glucosio e fruttosio, sono presenti in concentrazione sufficiente per assicurare la crescita batterica e assicurare lo svolgimento completo della fermentazione malolattica. L'utilizzo di meno di 1 g/l di glucosio copre i bisogni dei batteri per formare la biomassa necessaria ad una fermentazione malolattica.

■ Amminoacidi

L'azoto assimilabile proviene dagli amminoacidi ed eventualmente dai peptidi e le esigenze dei batteri in azoto dipendono dalla specie e dal ceppo.

Raramente la composizione amminoacidica del vino rappresenta un problema, poiché a fine fermentazione alcolica il metabolismo e l'autolisi dei lieviti sono solitamente in grado di soddisfare ampiamente le esigenze dei batteri in

azoto.

Di contro, se da un lato l'attività degradativa a carico degli amminoacidi può incrementare la stabilità microbiologica del vino, dall'altro può portare alla formazione di ammine biogene, ritenute responsabili di vari effetti tossici e di reazioni allergiche nell'uomo.

Numerosi studi hanno evidenziato che nel processo di vinificazione la fermentazione malolattica è da ritenersi la fase più critica per l'accumulo di queste sostanze.

■ Elementi minerali

Particolarmente importanti sono i cationi Mg^{2+} e Mn^{2+} , entrambi cofattori nella reazione malolattica. Anche il fosforo è importante, poiché permette l'immagazzinamento dell'energia sotto forma di ATP ed assume un ruolo fondamentale nella costituzione di acidi nucleici e fosfolipidi.

Gli elementi minerali sono solitamente presenti in concentrazioni sufficienti nel vino e raramente rappresentano un problema nello svolgimento della malolattica.

Fattori di inibizione:

■ Interazione negativa lievito-batterio

Particolarmente importante è il rapporto che si instaura tra ceppo di lievito e ceppo batterico.

A inizio fermentazione alcolica, se entrambi gli organismi sono presenti nel mosto, il lievito inizia a moltiplicarsi utilizzando i fattori nutritivi disponibili nel mezzo: immediatamente prende il sopravvento sui batteri lattici, i quali diminuiscono di numero e di specie, fino a morire del tutto. Fa eccezione *O. oeni*, che rappresenta l'unica specie batterica in grado di adattarsi ai cambiamenti apportati dai lieviti al mosto e che in seguito alla fermentazione alcolica può iniziare a moltiplicarsi.

Normalmente il lievito svolge un'attività positiva nei confronti dei batteri, liberando nel mezzo vitamine, basi azotate, peptidi e amminoacidi utili per la propria crescita.

A fine fermentazione alcolica, l'autolisi dei lieviti è accelerata dagli stessi batteri, la cui crescita è a sua volta stimolata dagli autolisati.

Rimuovere il vino dalle proprie fecce

non è consigliato in questa fase, poiché da queste i batteri traggono la gran parte del nutrimento di cui necessitano.

Al contrario esistono casi in cui il lievito svolge un'attività inibitrice nei confronti della fermentazione malolattica.

Questo si verifica quando:

- il lievito è alto produttore di solforosa
 - il lievito produce acidi grassi a media catena, considerati tossici per il batterio
 - il lievito è un alto consumatore di sostanze utili alla crescita cellulare e il batterio non trova sufficienti nutrienti fondamentali alla riproduzione e alla formazione della membrana lipidica.
- In questi casi l'avvio della malolattica può essere difficile, anche nel caso si proceda con un inoculo di biomassa selezionata.

■ Composti fenolici

Alcuni composti fenolici possono influenzare negativamente lo svolgimento della fermentazione malolattica ma non è ancora noto come tali composti agiscano sulla cellula batterica.

Tra i composti in grado di inibire la fermentazione malolattica si ricordano l'acido vanillico, le procianidine dei semi e gli ellagitannini di quercia (Vivas et al., 1995).

Non tutte le interazioni instaurate con i batteri sono però di tipo inibitorio; al contrario, sono note interferenze positive tra antociani liberi, acido gallico e *O. oeni*.

■ Residui di lisozima e di fitofarmaci

Il lisozima è un enzima isolato dall'albume dell'uovo molto utilizzato per ritardare o evitare completamente la fermentazione malolattica nei vini. Svolge un'azione antimicrobica selettiva nei confronti dei batteri gram-positivi (*Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*), mentre non ha effetto sui lieviti e sui batteri acetici. La mancata rimozione del lisozima dal vino può causare problemi all'avvio della fermentazione malolattica, anche nel caso si proceda all'inoculo con ceppi selezionati di *O. oeni*. Problemi analoghi di avvio di FML sono stati riscontrati anche in vini contenenti residui di fitofarmaci.

Bibliografia

Bartolini A., Cavini F., De Basquiat M. - *Ossigeno e Vino* (2008), pag. 35-36

Bertrand A., Canal-Llaubères R.-M., Fuillat M., Hardy G., Lamadon F., Lonvaud-Funel A., Pellerin P., Vivas N. (2002) - *Prodotti di trattamento ed ausiliari di elaborazione dei Mosti e dei Vini*, VII: 83-90, IX, 125-136, XV: 234-238

Delteil D. (2004) - *Gestire la fermentazione malolattica*, *Vinidea.net*, *Rivista internet tecnica del vino*, N. 1

Fontanot S., Ninino M. E. (2005) - *Non tutto il male viene per nuocere*, *ERSA* 3: 20-26

Granchi L., Guerrini S., Bronzini M. (2012) - *Il controllo della fermentazione malolattica per tutela della qualità del vino*, "La ricerca applicata ai vini di qualità", 6: 156-159

Guzzon R. (2014) - *Strumenti per una corretta gestione della fermentazione malolattica*, *VQ Focus Cantina e Batteri*, Numero 4, Luglio 2014

Johnson H., Robinson J. (2014) - *Atlante mondiale dei vini*, pag. 26-29

Lonvaud A. (2002) - *Risposte sulla malolattica*, *Vinidea.net*, *Rivista internet tecnica del vino*, N. 5

Margalit Y. (2005) - *Elementi di chimica del vino*, 2, F: 88-95

Moncalvo A., Silva A., Domeneghetti D., Fumi M. D. (2015) - *Inoculo se sequenziale di *Lactobacillus plantarum*: fermentazione malolattica e presenza di amine biogene nel vino*, *www.infowine.com*, *Rivista internet di viticoltura ed enologia*, N. 5/3

Ribéreau-Gayon P., Dubordieu D., Donèche B., Lonvaud A. (2003) - *Trattato di Enologia. Volume 1. Microbiologia del Vino. Stabilizzazioni*, 6: 161-180, 8: 196-201, 12.7: 371-386

Rosi I. (2004) - "Gestione della malolattica: un problema risolto?", video presentazione da Enoforum 2004, *www.infowine.com*, *Rivista internet di viticoltura ed enologia*, 04/2012

Segeers S. (2008) - *Inoculare la malolattica secondo lo stile desiderato*, *www.infowine.com*, *Rivista internet di viticoltura ed enologia*, N. 10/3

Somme P., Bunter A., CHR Hansen (2007) - *Come condurre correttamente la fermentazione malolattica nel vino*, *www.infowine.com*, *Rivista internet di viticoltura ed enologia*, N 9/1

Zambonelli C. (2003) - *Microbiologia e biotecnologia dei vini. I processi biologici e le tecnologie della vinificazione*, 3.3: 76-89