

MODELLARE IL PROFILO AROMATICO DEI VINI ATTRAVERSO LA GESTIONE DEL DIACETILE

Sibylle Krieger, Magali Délérès-Bou, Ann Dumont e José Maria Heras

Oltre a promuovere una disacidificazione biologica (A), i **batteri malolattici** (BML) influenzano l'aroma e il sapore del vino in vari modi, ad esempio producendo metaboliti volatili derivanti dall'uva e dal lievito. In particolare, uno di questi composti (il **diacetile** o 2,3-butandione) ha un forte impatto sullo stile del vino: si tratta di un composto chetonico intermedio nella decarbossilazione riduttiva dell'acido piruvico a 2,3-butandiolo che tende a dare un carattere "**burrato**" al vino.

La formazione e la degradazione del diacetile sono strettamente legate alla crescita dei BML (es. *Oenococcus oeni*) e al metabolismo di zuccheri, acido malico ed acido citrico. Anche i **lieviti** possono sintetizzare diacetile durante la fermentazione alcolica (FA).

È stato dimostrato che la **soglia di percezione** del diacetile nel vino dipende fortemente dallo stile e dal tipo di vino stesso, spaziando dagli 0,2 mg/L per lo Chardonnay, agli 0,9 mg/L per il Pinot Nero, fino ai 2,8 mg/L per il Cabernet Sauvignon (Rankine *et al.*, 1969, e Martineau *et al.*, 1995). Tale composto è ritenuto indesiderato dai consumatori quando è presente ad elevate concentrazioni (superiori ai 5-7 mg/L), mentre il suo contributo è visto come un apprezzabile carattere aromatico "di burro" o di "butterscotch" se presente attorno a 1-4 mg/L, a seconda della tipologia di prodotto (Rankine *et al.*, 1969, e Davis *et al.*, 1985).

Il diacetile nel vino

Numerose operazioni di vinificazione possono influenzare il contenuto di diacetile e, di conseguenza, il profilo sensoriale del vino stesso. Bartowsky e Henschke in un loro studio (2004) hanno illustrato i principali fattori della vinificazione che possono modificarne il contenuto (B). Tali fattori possono essere di tipo chimico-fisico (O_2 , SO_2 , T° , pH) o di tipo microbiologico.

1) L'**inoculo** di batteri malolattici influisce sul tempo di induzione e sul



(A) - Durante le operazioni di svinatura è buona norma ridurre al minimo le solfitazioni, per favorire la proliferazione dei batteri malolattici quando richiesto

completamento della fermentazione malolattica (FML). Gli starter selezionati normalmente apportano $0,5-5 \times 10^6$ cfu/mL di batteri, la biomassa critica necessaria per indurre una rapida degradazione dell'acido malico. Si è osservato che tassi inferiori di inoculo, dell'ordine di 10^4-10^5 ufc/mL, possono essere associati ad accumuli maggiori (fino a 8 volte) di diacetile nel vino.

2) La conversione di α -acetolattato a diacetile è una decarbossilazione non enzimatica favorita dalla presenza di **ossigeno** nel vino. Un esperimento condotto da Nielson e Richelieu (1999) ha mostrato che il quantitativo di diacetile accumulato nel vino durante una FML varia notevolmente, passando dai 2 mg/L formati in condizioni anaerobiche ai 12 mg/L in condizioni semi-aerobiche.

3) Quasi tutti i ceppi di *O. oeni* possono metabolizzare **acido citrico** durante la FML. Il metabolismo dello stesso, e quindi la quantità di diacetile formata, risente del ceppo batterico che conduce la FML.

4) Elevati picchi nelle concentrazioni di diacetile sono di norma correlati ad alte concentrazioni di acido citrico, tuttavia molti altri fattori possono interferire in questa relazione.

5) *S. cerevisiae* ha la capacità sia di sintetizzare (in fermentazione) che di degradare il diacetile. La presenza di **fecce fresche** nel vino con cellule di lievito vitali, specialmente se mantenute in agitazione, può ridurre il contenuto di diacetile libero.

6) La FML tende ad essere più lenta e con un maggiore accumulo di diacetile man mano che si abbassano **temperatura** (ad esempio $18^\circ C$ invece di $25^\circ C$) e pH. L'allungamento della FML coincide con la morte delle cellule di lievito ancora vitali dopo la FA. Di conseguenza il diacetile viene rimetabolizzato meno efficacemente ad acetoino e butandiolo. Anche una maggiore dissoluzione di O_2 spiegherebbe in parte il fenomeno.

7) L' **SO_2** può reagire con il gruppo carbonilico del diacetile in modo reversibile. In presenza di SO_2 , il diacetile viene ridotto e la concentrazione di diacetile libero nel vino diminuisce. Successivamente, al diminuire del contenuto di SO_2 (ad esempio durante l'invecchiamento), il tasso di diacetile libero può aumentare di nuovo, con ripercussioni sull'impatto sensoriale.

(B) - Fattori che possono influire sul contenuto di diacetile nei vini (da Martineau *et al.* modificato)

Variabile	Effetto sulla concentrazione di diacetile
Ceppo di batterio malolattico	I diversi ceppi di <i>O. oeni</i> producono quantità differenti di diacetile
Tipologia vino	Nei vini rossi rispetto ai bianchi la concentrazione di diacetile è più elevata
Dosaggio dei batteri	Basse dosi d'inoculo (10^4 rispetto a 10^6) favoriscono l'incremento del diacetile
Contatto con fecce di lieviti vivi	I lieviti rimetabolizzano il diacetile ad acetoino e 2-3 butandiolo
Contatto del vino con O_2 durante la FML	O_2 favorisce l'ossidazione dell' α -acetolattato a diacetile
Contenuto di SO_2	La SO_2 lega il diacetile rendendolo sensorialmente inattivo. La SO_2 al momento dell'aggiunta inibisce l'attività di lieviti e dei batteri stabilizzando il contenuto di diacetile
Concentrazione di acido citrico	Favorisce la produzione di diacetile. Anche i livelli di acido acetico tendono a crescere
Temperatura di FML	$18^\circ C$ vs $25^\circ C$ favoriscono una maggiore concentrazione di diacetile
pH del vino durante la FML	pH bassi favorirebbero livelli più elevati di diacetile
Concentrazione di zuccheri fermentescibili	Informazioni controverse; gli zuccheri residui ridurrebbero la produzione di diacetile

8) **Zuccheri residuali:** il co-metabolismo di zuccheri e acido citrico si è dimostrato necessario per la formazione di diacetile (Salou *et al.*, 1994), tuttavia altri lavori scientifici suggeriscono che il glucosio possa reprimere il metabolismo dell'acido citrico (Lonvaud-Funel *et al.*, 1984). Attualmente il ruolo degli zuccheri sulla regolazione del metabolismo dell'acido citrico e sulla formazione di diacetile richiede ulteriori studi.

L'inoculo sequenziale

Quando la FML è desiderata, i batteri rappresentano un importante fattore da controllare per pilotare la concentrazione finale di diacetile.

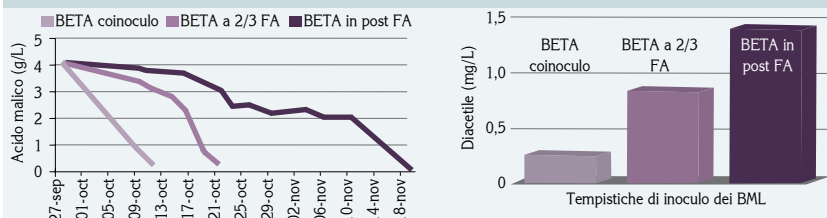
La formazione e la degradazione del diacetile sono strettamente legate alla crescita dei BML ed al metabolismo di zuccheri, acido malico ed acido citrico. È stato osservato che alcuni **ceppi di batteri malolattici** producono concentrazioni residuali di diacetile nel vino superiori rispetto ad altri, specialmente quando si utilizza un inoculo sequenziale per la FML. I risultati di uno studio condotto presso l'AWRI da Bartowski (2011), su vini Cabernet Sauvignon dell'Australia meridionale, hanno fatto emergere che durante l'inoculo sequenziale alcuni BML producono concentrazioni di diacetile significativamente diverse (C), comprese tra 4 e 14 mg/L.

Acido citrico e diacetile

Il metabolismo dell'acido citrico solitamente inizia dopo il consumo dell'acido malico. Tuttavia esiste una significativa variabilità tra i differenti ceppi di *O. oeni* in termini di tempo e velocità di degradazione del citrico.

Alcuni ceppi attaccano l'acido citrico già a metà della FML, mentre altri (es. VP41), iniziano la degradazione

(E, F) - Relazione tra cinetica di degradazione dell'acido malico e concentrazione di diacetile finale in funzione del momento di inoculo dei BML (Chardonnay 2010, Valle della Loira). Lievito utilizzato: CY3079 Yseo®



del citrico alla fine o dopo la conclusione della FML.

Alcuni ceppi di BML sono detti "**citrato-negativi**" poiché non sono in grado di metabolizzare l'acido citrico. Si pensava quindi che questi ceppi non fossero in grado di produrre il diacetile, in quanto questa molecola è il sottoprodotto della degradazione dell'acido citrico passando attraverso l'acido piruvico e l'acido α -acetolattico. Tuttavia, quest'ultimo non è il solo meccanismo coinvolto nella produzione di diacetile: l'acido piruvico può derivare anche dal metabolismo del glucosio. In uno studio condotto su degli Chardonnay del Baden, in Germania, è stata comparata la produzione di diacetile di diversi ceppi di BML: in questa sperimentazione non sembra che il carattere citrato-negativo ne diminuisca in maniera significativa la concentrazione. Entrambi i ceppi citrato-negativi testati si comportano in modo simile ai ceppi citrato-positivi VP41, PN4 e 22L9 (D).

Coinoculo per ridurre il diacetile

Nel vino, anche il **coinoculo di lieviti e batteri** selezionati ha importanti implicazioni stilistiche in termini di produzione di diacetile. Il coinoculo (inoculo dei batteri 24 ore dall'inoculo del lievito) permette l'acclimatamento dei BML durante la FA ed un inizio anticipato della degradazione dell'acido malico, che avviene verso la fine o

immediatamente dopo la FA (E, F). In queste condizioni riduttive, create dalle cellule di lievito che consumano parte dell'ossigeno disponibile, il diacetile è immediatamente ridotto ad acetoino ed in seguito a 2,3-butandiolo, molecola che ha uno scarso impatto sensoriale. Quando si effettua il coinoculo, inoltre, il vino può essere stabilizzato prima, riducendo il rischio di ossidazioni e contaminazioni biologiche. I nostri studi mostrano che mediante il coinoculo si ottengono spesso vini dalle note maggiormente fruttate, opposte al carattere lattico, di burro o di noce quando la FML inizia dopo il termine della FA. In generale, in coinoculo i vini mostrano bassi livelli di diacetile, a prescindere dal ceppo utilizzato.

Conclusioni

La fermentazione malolattica può essere un potente strumento per modellare lo stile del vino.

Il livello di diacetile può essere gestito a seconda delle tecniche di vinificazione (gestione delle fecce, dell'ossigeno, SO_2) utilizzate.

Il nostro programma di caratterizzazione dei ceppi di BML in base alla produzione di diacetile ci ha permesso di comprendere con maggiore chiarezza i fattori in grado di influenzare la concentrazione di questo composto.

Ricerche svolte dal reparto di R&D Lallemant mostrano come non solo la scelta del ceppo di batterio ma anche il modo in cui viene condotta la FML (in coinoculo o sequenziale) rappresentano dei punti chiave in quest'ottica. In particolare il coinoculo conduce sempre ad un livello di diacetile nei vini più contenuto.

La bibliografia verrà citata sul sito viten.net

Sibylle Krieger, Magali Délérès-Bou,
Ann Dumont e José Maria Heras
Lallemant INC
floparo@lallemant.com

(C) - Diacetile in Cabernet Sauvignon della Clare Valley e Adelaide Hills inoculati con differenti ceppi di batteri malolattici



(D) - Diacetile (mg/L) in Chardonnay '09 (Baden, Germania) dopo FML indotta con differenti ceppi (inoculo sequenziale)

