

## Fermentazione malolattica: aspetti chimici e biologici

Dott. Simone Bellassai | Laboratori di ricerca CDR.

Il vino è un ecosistema biologicamente complesso nel quale avvengono una moltitudine di reazioni chimiche e bio-chimiche, fra loro fittamente interconnesse. Fra i processi biologicamente fondamentali che avvengono nel vino, vi sono la fermentazione alcolica e la degradazione dell'acido malico. I lieviti, responsabili della fermentazione alcolica, producono etanolo e anidride carbonica a partire da glucosio e fruttosio, i batteri lattici sono, invece, gli attori della cosiddetta "fermentazione malolattica" nella quale si ha il consumo di acido L-malico con formazione di acido L-lattico e anidride carbonica. L'epiteto "cosiddetta" è dovuto all'improprio utilizzo del termine "fermentazione" in quanto il processo malolattico non è che una mera degradazione enzimatica dell'acido L-malico (Fig.1).

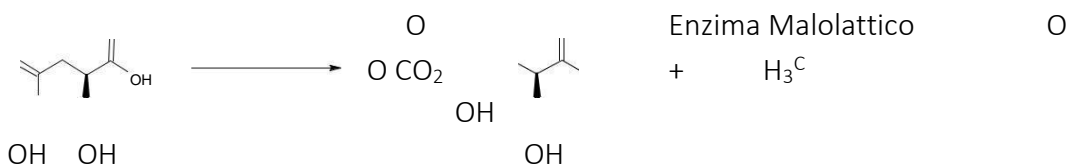


Fig. 1

Il processo di degradazione dell'acido malico, ad opera dei batteri lattici, è comunque accettato dalla nomenclatura enologica con il termine di "fermentazione".

Quali sono gli effetti della fermentazione malolattica sul vino? Quali sono i parametri che la influenzano? Come si può controllare? Il panorama che si estende su questo argomento è molto vasto e non del tutto nitido. La degradazione dell'acido malico è un processo molto importante per i vini rossi i quali vengono così stabilizzati sia sotto l'aspetto biologico che sotto quello organolettico. Il vino rosso perde così acidità, acquisendo morbidezza e corpo. Nei vini bianchi e rosati solitamente questo processo viene evitato in quanto, per questi prodotti, si prediligono le note di fruttato e le sensazioni di acidità e freschezza.

### Evoluzione dei batteri lattici nel vino

Dall'uva al vino finito le popolazioni batteriche presenti possono essere molto variegata sia considerando il numero dei microrganismi sia considerando la varietà delle specie presenti. I batteri che si possono trovare nel sistema mosto/vino appartengono perlopiù alle specie *Pediococcus*, *Lactobacillus*, e *Oenococcus*. La specie *Oenococcus Oeni* è quella che si adatta nel modo migliore alle ostili condizioni chimico-fisiche del vino.

Nelle prime fasi della vinificazione la biomassa batterica può presentarsi in quantità variabile a seconda delle condizioni climatiche e dello stato sanitario dell'uva. La fase di ammostamento dell'uva vede un aumento della biomassa batterica, la quale regredisce bruscamente in concomitanza dell'avvio della fermentazione alcolica e quindi dell'aumento della biomassa dei lieviti, che si adattano molto meglio all'ambiente "mosto". Durante il processo di fermentazione alcolica i batteri rimangono quindi in una fase di latenza dovuta alla preponderante presenza dei lieviti e alle condizioni critiche del mosto (acidità, pH, solforosa). Tutto questo risulta valido in un normale

processo di vinificazione; talvolta la difficoltà di innesco della fermentazione alcolica, unita a condizioni chimico-fisiche favorevoli ai batteri, permettono la contemporanea presenza di lieviti e batteri. Questa situazione risulta altamente pericolosa per le caratteristiche organolettiche del futuro vino in quanto i batteri lattici possono degradare gli zuccheri portando ad un brusco aumento di acido acetico e acido D-lattico, fenomeno che prende il nome di "spunto lattico". La fase finale della fermentazione alcolica prevede una diminuzione della popolazione dei lieviti con un netto aumento della lisi di queste cellule ed il rilascio di peptidi, amminoacidi e vitamine nel mezzo che contribuiscono così all'innesco della fermentazione malolattica. Fattore determinante è la produzione, da parte dei lieviti, degli acidi grassi a catena corta principalmente ottanoico e decanoico. Questi metaboliti prodotti dai lieviti, oltre ad ostacolare la fermentazione alcolica stessa, possono pregiudicare la successiva fermentazione malolattica. La loro azione sui batteri si esplica al livello delle membrane biologiche. Questi composti infatti si inseriscono nel doppio strato fosfolipidico destabilizzandolo e provocando così la morte della cellula.

Un normale processo di vinificazione in rosso prevede quindi, come step successivo alla fermentazione alcolica, l'innesco della fermentazione malolattica con la quale si ha la scomparsa dell'acido L-malico e la formazione di acido L-lattico. Questa reazione provoca un aumento del pH e una diminuzione di acidità totale in virtù del fatto che scompare un acido bicarbossilico, l'acido L-malico, e si forma un acido monocarbossilico l'acido L-lattico. L'aumento del pH è accompagnato da uno spostamento del colore verso la tonalità malva dovuta alle reazioni acido-base degli antociani. La diminuzione dell'acido L-malico può avvenire in una percentuale variabile dal 10 al 30% anche durante la fermentazione alcolica con il meccanismo della fermentazione malo-alcolica (Fig. 2).

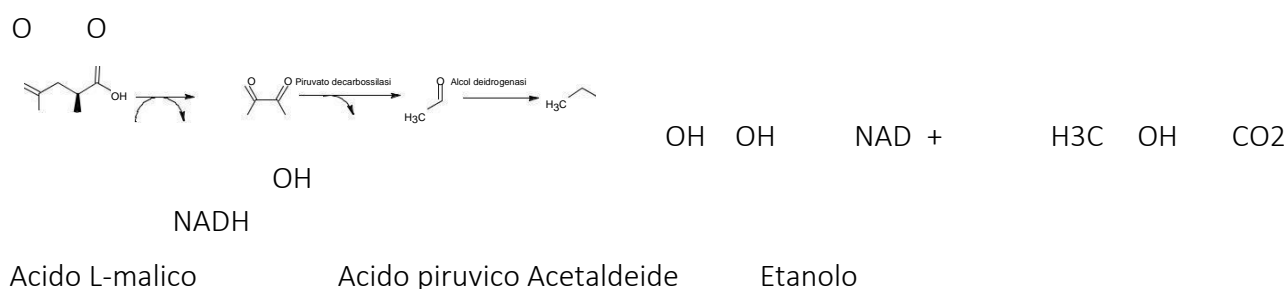
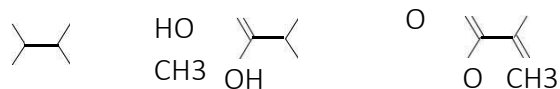


Fig. 2

I batteri lattici oltre a degradare l'acido L-malico metabolizzano anche l'acido citrico anche se con velocità nettamente inferiore. Le vie metaboliche di utilizzo dell'acido citrico sono principalmente due, una orientata alla produzione di fosfolipidi di membrana e l'altra utilizzata dai batteri come via di detossificazione che porta alla produzione di composti come l'acetoino, il 2,3 butandiolo ed il diacetile (Fig. 3). Tra questi il diacetile è sicuramente quello più importante in quanto esso incide sulle caratteristiche organolettiche del vino. Questo composto infatti se presente in concentrazioni di 2-4 ppm apporta note di burro che possono migliorare notevolmente il bouquet aromatico del vino. Se la concentrazione di questo composto supera i 6 ppm la sua influenza sull'aroma può invece essere deleteria. La formazione di diacetile è quindi fortemente legata alla velocità di crescita batterica. Infatti con una crescita stentata il metabolismo batterico orienta il metabolismo verso la produzione di sostanze detossificanti (Fig.3) mentre in presenza di una crescita elevata la forte richiesta anabolica guida il consumo di acido citrico verso la produzione lipidica.



H3C OH                      H3C OH                      H3C O  
 2,3-butandiolo              Acetoino                      Diacetile

Fig.3

Durante la fermentazione malolattica si ha anche la formazione delle ammine biogene. Tra queste la più importante è l'istamina ma si possono ritrovare in concentrazioni inferiori la putrescina, la cadaverina la tiramina e la fenilettilammina. Le ammine biogene sono responsabili di disturbi fisiologici quali mal di testa, mal di testa e reazioni allergiche di vario tipo. Queste molecole hanno origine fermentativa e si formano per decarbossilazione dei loro precursori. L'istamina, per esempio, si forma per decarbossilazione dell'istidina già durante la fermentazione alcolica, ma aumenta in modo molto più marcato durante la fermentazione malolattica. La causa e le condizioni chimicobiologiche che portano alla formazione delle ammine biogene da parte dei batteri non sono ancora ben note. La loro produzione è comunque strettamente legata al ceppo batterico che conduce la fermentazione malolattica.

### Fattori chimico-fisici della crescita batterica

I parametri chimico-fisici che regolano la crescita dei batteri lattici nel vino sono il pH, la temperatura, la solforosa ed il grado alcolico. Tali parametri sono tra loro strettamente legati. La crescita della popolazione dei batteri lattici è favorita da un pH superiore a 3,5. Un pH più basso pone un ostacolo al loro sviluppo in quanto risulta più difficile, per i batteri, mantenere il pH intracellulare ottimale per l'attività dell'enzima malolattico. pH elevati favoriscono quindi la fermentazione malolattica di contro rendono però i vini più fragili dal punto di vista microbiologico in quanto può essere più elevata la gamma dei batteri presenti. La concentrazione dell'anidride solforosa è un parametro molto importante per l'avvio della fermentazione malolattica. Nel vino è presente in forma libera ed in forma combinata. La prima è costituita dallo ione bisolfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) e dal diossido di zolfo ( $\text{SO}_2$ ) comunemente apostrofato con il termine di 2 "solforosa molecolare". Lo ione solfito ( $\text{SO}_3^-$ ) al pH del vino è praticamente assente. La forma combinata è invece quella quota di solforosa legata a vari composti organici che presentano un gruppo funzionale carbonilico. Tra questi la formazione più importante di solforosa combinata è data dall'acetaldeide. La solforosa totale è quindi il computo tra solforosa libera e combinata. A parità di solforosa totale l'inibizione dei batteri malolattici dipende dal grado di combinazione del vino. Infatti maggiore è il potere di combinazione del vino e minore è il livello di solforosa libera. Di questa solo la solforosa molecolare ha un forte effetto sui batteri lattici. Essa aumenta al diminuire del pH in quanto l'equilibrio acido-base dello ione bisolfito (Fig. 4) si sposta verso sinistra, inibendo ancor più la crescita batterica.

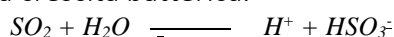


Fig.4

La temperatura influenza la crescita di tutti i microrganismi in quanto le reazioni chimiche e in particolare quelle biochimiche sono ad essa fortemente correlate. L'intervallo di temperatura ottimale per la fermentazione malolattica è 20-22°C, temperature inferiori rischiano di rallentarla o

se troppo basse possono anche determinarne l'arresto. Temperature superiori ai 25°C rischiano invece di far aumentare in modo pericoloso l'acidità volatile.

Come per i lieviti, concentrazioni elevate di etanolo hanno un effetto tossico anche per i batteri e quindi ostacolano la fermentazione malolattica. L'etanolo infatti si inserisce nelle membrane cellulari destrutturandole e riducendo quindi l'assimilazione dell'acido L -malico.

Anche la quantità di questo acido influisce notevolmente sull'avvio della fermentazione malolattica. Infatti concentrazioni inferiori ad 1 g/L possono renderla difficoltosa, in questo senso la determinazione analitica di questo acido in fase pre -fermentativa diviene molto importante per gestire le fasi di vinificazione successive.

## Controllo analitico della fermentazione malolattica

I metodi moderni di controllo della fermentazione malolattica si basano sull'analisi dei due acidi organici coinvolti in questo processo, l'acido L-malico e l'acido Lattico. I principali metodi chimici quantitativi per la loro determinazione sono, l'analisi enzimatica spettrofotometrica e l'analisi per HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Questi due metodi permettono quindi di seguire decorso della fermentazione malolattica (Fig. 1). L'analisi enzimatica dell'acido Lattico è sicuramente il modo migliore per riconoscerne il suo inizio. L'analisi per HPLC standard infatti, oltre a determinare l'acido L -lattico rileva anche il suo isomero D, formato dai lieviti durante la fermentazione alcolica. Tale analisi non permette quindi di conoscere in modo univoco la **concentrazione dell'acido L-lattico** il quale è il solo parametro indicativo dell'avvio della fermentazione malolattica.

Un valore superiore a 0,1 g/L di acido L -lattico indica che il processo fermentativo è avviato. Dopo averne constatato l'avvio si può quindi controllare il decremento dell'acido L-malico fino alla sua pressoché totale scomparsa ovvero ad una concentrazione inferiore a 0,2 g/L. L'**analisi chimica dell'acido L-malico** aiuta inoltre l'enologo, non solo a controllare il normale decorso della fermentazione malolattica, ma anche a prevederne un innesco ottimale. In questo senso risulta essere molto importante l'analisi dell'acido L-malico su mosto. Questo dato infatti aiuta l'enologo a capire con largo anticipo quale sarà il valore dell'acido L-malico all'inizio della fermentazione malolattica potendo quindi così progettare in anticipo le operazioni volte ad un corretto svolgimento fermentativo.