

## INOCULO SEQUENZIALE DI *LACTOBACILLUS PLANTARUM*: FERMENTAZIONE MALOLATTICA E PRESENZA DI AMINE BIOGENE NEL VINO

Alessandro MONCALVO\*, Angela SILVA\*, Daniele DOMENEGHETTI\*, Maria Daria FUMI\*

\*Istituto di Enologia e Ingegneria Agro-alimentare - Università Cattolica del Sacro Cuore - Piacenza

\*Institut Agricole Régional – Reg. La Rochère – Aosta

Poster presentato a Enoforum 2013, 7-9 Maggio, Arezzo (Italia)

### INTRODUZIONE

Negli ultimi anni, il co-inoculo dei lieviti e dei batteri lattici nel corso della fermentazione alcolica (FA) è stato proposto quale strategia per migliorare la fermentazione malolattica (FML) in quei vini che presentano una composizione chimica ostile, come l'elevata acidità e etanolo. In genere l'inoculo dei ceppi di *Oenococcus oeni* può essere un co-inoculo o sequenziale nei vini con pH basso.

I cambiamenti climatici attuali influiscono sul valore del pH dell'uva/mosto, sulla concentrazione degli zuccheri e di conseguenza un contenuto più elevato di etanolo causa ulteriori problemi per la FML e per la stabilità microbiologica del vino.

Ceppi recenti di *Lactobacillus plantarum* mostrano risultati positivi per la loro capacità di svolgere la FML in mosti/vini con pH elevati (3.5÷3.8) (Fumi *et al.*, 2010). Inoltre, il carattere omofermentante di *L. plantarum* 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.

La FML è un passaggio importante e critico per la qualità e la sicurezza del vino. Molte ricerche vengono effettuate per studiare il rischio di produzione di amine biogene nel corso della FML (Lonvaud-Funel, 2001). Alcuni ricercatori (Massera *et al.*, 2009) hanno dimostrato che il diverso momento in cui viene eseguito l'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* e *O. oeni* in vini Malbec non influisce in modo significativo sul contenuto di amine biogene.

In studi precedenti, il ceppo *L. plantarum* V22, selezionato presso l'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, mostrava una FML veloce e affidabile, un impatto positivo sulle caratteristiche chimiche e sensoriali del vino, l'assenza di produzione di istamina e tiramina quando veniva inoculato in modo simultaneo o sequenziale in numerose varietà di mosti/vini con pH elevati (3.5÷3.8).

Lo scopo di questo lavoro era di verificare la performance del ceppo *L. plantarum* V22 quando era inoculato in mosto/vino con pH basso (pH 3.3) durante la FA e sequenzialmente e di seguire l'andamento delle amine dal mosto al vino all'imbottigliamento e a un anno dall'imbottigliamento.

### MATERIALI E METODI

Le prove sono state effettuate utilizzando la varietà Cornalin, una cultivar di *Vitis vinifera* autoctona della Valle d'Aosta. E' stato usato il ceppo QD145 di *S. cerevisiae* per la fermentazione. E' stato scelto il ceppo V22 di *L. plantarum* per la sua capacità di avviare la FML e per la mancanza di produzione di istamina e tiramina. La scelta dell'utilizzo combinato di QD145 e V22 derivava da uno studio precedente che mostrava una buona compatibilità tra questi microrganismi nelle prove di co-inoculo (Fumi *et al.*, 2010).

Gli elementi nutritivi apportati nel corso di queste prove erano: GO-FERM (30 g/hl alla reidratazione dei lieviti), FERMAID (30 g/hl a un terzo della FA) e Opti'Malo plus (20 g/hl alla fine

della FA). L'uva è stata diraspata e pigiata. Le bucce e il succo venivano suddivise in modo equo in damigiane da 20 l, addizionate con 40 mg/l di SO<sub>2</sub> totale e inoculate in diversi momenti.

Le tesi consistono in: tesi 1 batteri inoculati nel mosto e i lieviti 24 ore dopo, tesi 2 batteri inoculati 24 ore dopo i lieviti; tesi 3 batteri inoculati al 30% della FA; tesi 4 batteri inoculati al 60% della FA; tesi 5 batteri inoculati alla fine della FA; tesi 6 controllo non inoculato con batteri.

La FA e la macerazione erano condotte tra 17 e 23°C, il cappello veniva rotto tre volte al giorno. Alla fine della FML il vino veniva chiarificato, filtrato e imbottigliato. Venivano svolte analisi chimiche sui mosti e sui vini: zuccheri riducenti, acidità titolabile, pH, alcol, acidità volatile, SO<sub>2</sub> libera e totale, acido tartarico, acido L-malico, acido citrico (Metodi del compendio dell'OIV 2012); amine biogene quali l'istamina, etanolamina, etilamina, tiramina, feniletilamina, cadaverina (risoluzione OIV/OENO 346/2009).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

La caratterizzazione chimica del mosto è riportata nella **Tabella 1**. Il contenuto di zuccheri riducenti era elevato mentre i valori del pH erano bassi.

Zuccheri riducenti g/l	217	Etanolamina mg/l	10.6
Acidità titolabile g/l	6.47	Istamina mg/l	0.1
pH	3.27	Etilamina mg/l	0.5
Acido tartarico g/l	5.7	Tiramina mg/l	n.d.
Acido malico g/l	1.43	Feniletilamina mg/l	0.9
Acido citrico g/l	0.12	Cadaverine mg/l	0.1

Tabella 1 – Parametri chimici del mosto. n.d. non rilevato

Il momento dell'inoculo dei batteri non influisce sulla FA, la degradazione degli zuccheri è paragonabile tra le diverse tesi (**Figura 1**); il contenuto di acido acetico non mostrava differenze tra le diverse tesi (**Tabella 2**).

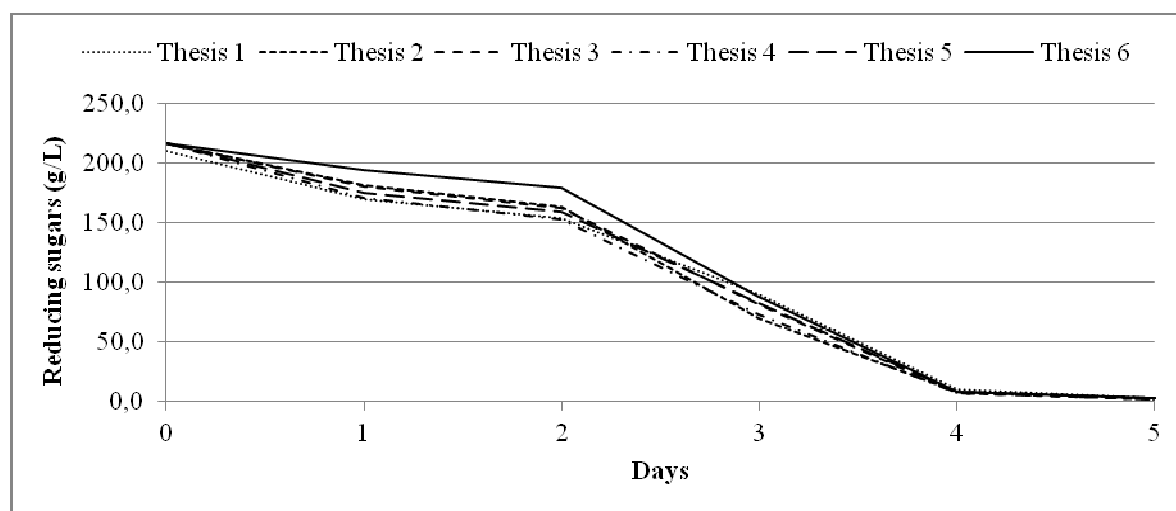


Figura 1 – Andamento della FA nelle diverse tesi con diversi momenti del co-inoculo e inoculo sequenziale

I batteri malolattici completano la degradazione dell'acido L-malico in 15-16 giorni e non c'erano differenze sostanziali tra le tesi inoculate (**Figura 2**). Nel controllo (tesi 6) il contenuto di acido malico non cambiava.

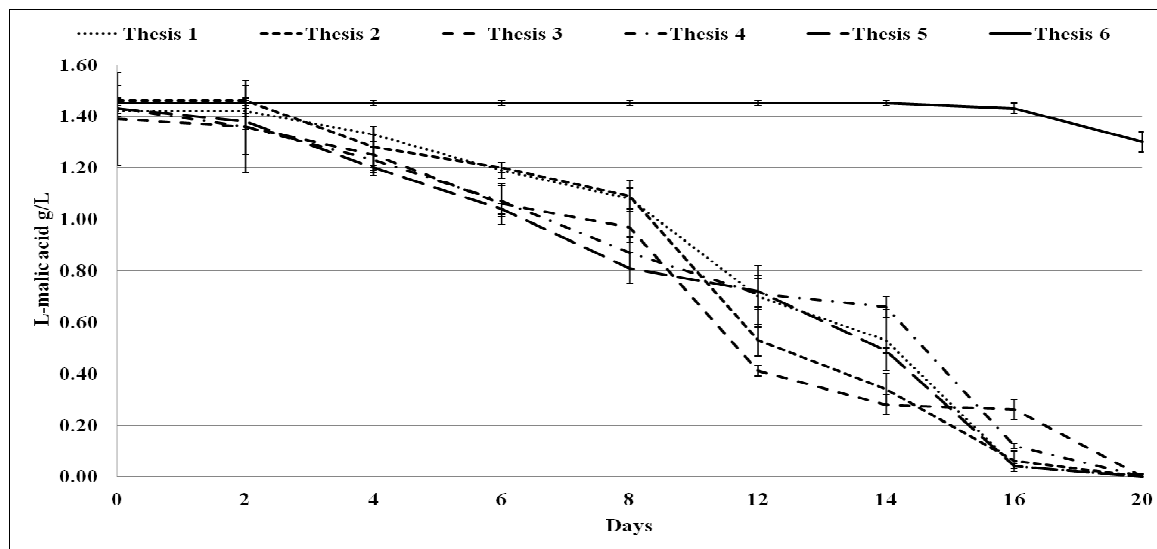


Figura 2 – Andamento della degradazione dell'acido L-malico nelle tesi con diversi momenti del co-inoculo e inoculo sequenziale

Dopo un anno dall'imbottigliamento, i valori dell'istamina, dell'etilamina e della fenietilamina erano simili in tutte le tesi e leggermente inferiori rispetto al momento dell'imbottigliamento; le tesi sono significativamente diverse per il contenuto di etanolamina (**Figura 3**).

	Tesi 1	Tesi 2	Tesi 3	Tesi 4	Tesi 5	Tesi 6
Alcol etilico % v/v	12,53 ± 0,01	12,72 ± 0,01	12,67 ± 0,01	12,73 ± 0,01	12,6 ± 0,01	12,32 ± 0,01
Zuccheri riducenti g/l	0,73 ± 0,13	0,79 ± 0,00	0,71 ± 0,33	0,77 ± 0,10	0,68 ± 0,23	0,82 ± 0,05
SO <sub>2</sub> totale mg/l	29,44 ± 0,01	30,08 ± 0,01	30,08 ± 0,01	30,72 ± 0,01	28,8 ± 0,01	26,88 ± 0,01
pH	3,36 ± 0,06	3,4 ± 0,04	3,44 ± 0,01	3,36 ± 0,08	3,43 ± 0,04	3,5 ± 0,01
Acidità titolabile g/l	4,22 ± 0,03	3,78 ± 0,21	4,17 ± 0,50	3,83 ± 0,01	4,18 ± 0,43	3,77 ± 0,09
Acido acetico g/l	0,26 ± 0,01	0,29 ± 0,05	0,30 ± 0,06	0,31 ± 0,08	0,41 ± 0,01	0,39 ± 0,15
Acido malico g/l	0,05 ± 0,01	0,09 ± 0,04	0,02 ± 0,03	0,11 ± 0,01	0,03 ± 0,04	0,1 ± 0,05
Acido L-lattico g/l	0,89 ± 0,01	0,88 ± 0,00	0,88 ± 0,04	0,87 ± 0,02	0,79 ± 0,00	0,85 ± 0,02
Acido citrico g/l	0,15 ± 0,01	0,01 ± 0,01	n.d.	n.d.	0,03 ± 0,02	n.d.
Etanolamina mg/l	7,70 ± 1,84	8,15 ± 0,35	7,65 ± 0,78	7,35 ± 0,07	8,35 ± 2,76	7,95 ± 0,35
Istamina mg/l	0,20 ± 0,14	0,35 ± 0,07	0,35 ± 0,07	0,30 ± 0,01	0,20 ± 0,14	0,40 ± 0,01
Etilamina mg/l	1,65 ± 0,64	2,25 ± 0,64	1,95 ± 0,78	2,05 ± 0,78	1,70 ± 0,42	1,65 ± 0,35
Tiramina mg/l	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Fenietilamina mg/l	1,35 ± 0,21	1,35 ± 0,07	1,25 ± 0,07	1,25 ± 0,07	1,30 ± 0,28	1,35 ± 0,21
Cadaverina mg/l	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,05 ± 0,07

Tabella 2 – Parametri chimici del vino alla fine della fermentazione malolattica. n.d. = non rilevati

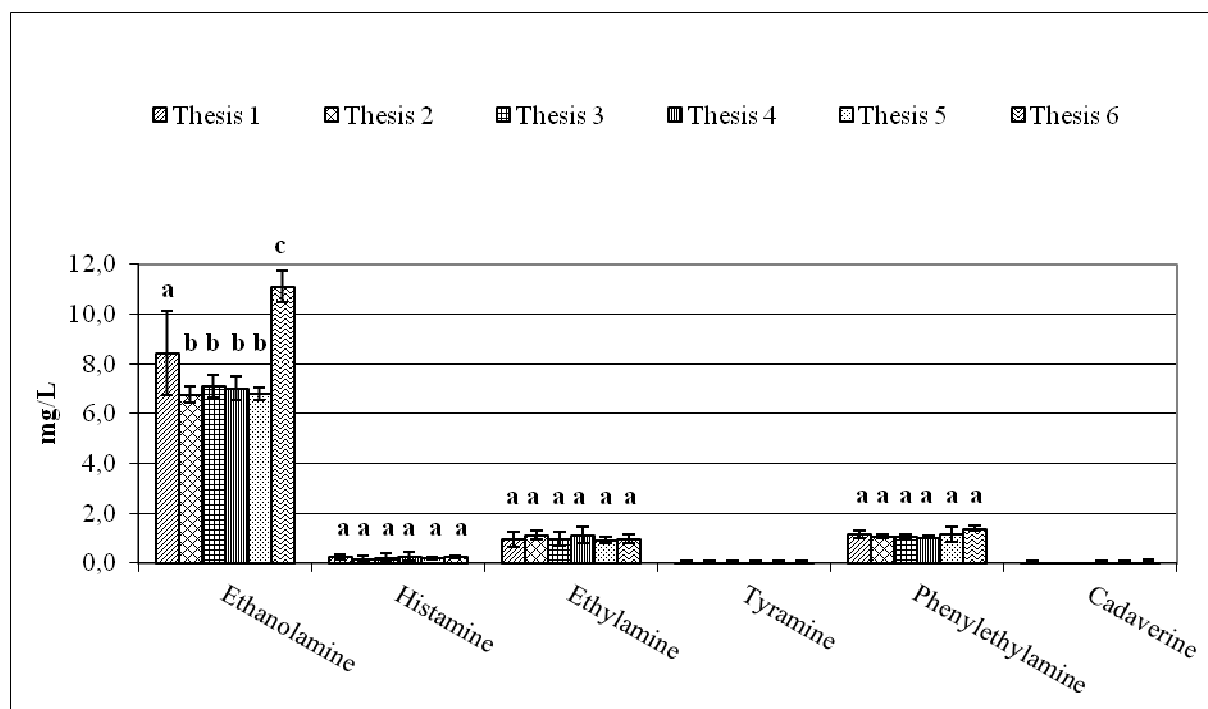


Figura 3 – Amine biogene nel vino dopo 1 anno in bottiglia. Barre di errore: deviazione standard. Le medie seguite dalla stessa lettera non sono significativamente diverse ( $P \leq 0.05$ )

## Conclusioni

In conclusione il ceppo *L. plantarum* V22 era in grado di degradare l'acido L-malico anche a pH bassi (~3.3), la FML era completata lentamente rispetto al vino con  $pH > 3.5$  (Fumi *et al.*, 2010); le amine nel vino non sono correlate all'attività di *L. plantarum* V22; *L. plantarum* V22 potrebbe essere utilizzato come starter per la FML in quanto è in grado di svolgere la FML in diverse condizioni di inoculo e con diversi valori di pH; inoltre, il rischio della presenza delle amine biogene istamina e tiramina, è minimizzato.

## Bibliografia

Fumi M. D., Silva A., Krieger-Weber S., Deleris-Bou M., Du Toit M. (2010). A new generation of malo-lactic starter cultures for high-ph wine. In: Proceedings Symposium "Intervitis Interfructa 2010" - Quality Sustainability Marketing Impact on Innovation. Stuttgart, 24-26 March 2010, 35-44, Stuttgart T:FDW - Association of German Wine-scientists.

Lonvaud-Funel A. (2001). Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, **199**, 9-13.

Massera A., Soria A., Catania C., Krieger S., Combina M. (2009). Simultaneous inoculation of Malbec (*Vitis vinifera*) musts with yeast and bacteria: effects on fermentation performance, sensory and sanitary attributes of wines. *Food Technology and Biotechnology*, **47** (2), 192-201.