

DOCUMENTO  
TECNICO

**\*Emanuele Tosi**  
**\*Michela Azzolini**  
**\*\*Giacomo Zapparoli**

*\*Centro per la Sperimentazione  
 in Vitivinicoltura, Provincia di  
 Verona, Servizio Agricoltura,  
 San Pietro In Cariano (VR)*

*\*\*Dipartimento di Biotecnologie,  
 Università degli Studi  
 di Verona, Verona.*



*Da sinistra:  
 M. Azzolini,  
 E. Tosi*

## EFFETTI DELL'AGGIUNTA DI ACIDO MALICO NEL MOSTO SULLA FERMENTAZIONE MALOLATTICA

Prove di microvinificazione in rosso nelle quali il mosto è stato acidificato utilizzando acidi diversi (L-malico, D L-malico, tartarico) hanno dimostrato come l'attività dei batteri malolattici aumenta in presenza di una maggiore concentrazione di acido L-malico mentre non subisce interferenze negative dovute alla presenza dell' isomero D.

### Introduzione

La frazione acida del mosto è principalmente costituita da acido tartarico, da acido malico e in misura minore da acido citrico. Il contenuto e la composizione sono influenzati da vari fattori quali le pratiche agronomiche, la forma di allevamento, la varietà, il portainnesto e non per ultimo l'andamento climatico stagionale.

In caso di basse concentrazioni di tale frazione è possibile procedere all'acidificazione del mosto. Tale opera-

zione prevede l'aggiunta di acido tartarico e dal 2009, in base al regolamento della Comunità Europea (CE) n. 606, è possibile impiegare anche altri acidi organici come l'acido L-malico, l'acido D,L-malico o l'acido lattico. La scelta di quale acido o miscela da utilizzare può influenzare alcuni aspetti tecnologici della vinificazione e le caratteristiche chimico-organolettiche del prodotto finale. L'acidificazione del mosto, infatti, incide in modo non trascurabile sui processi biologici vinari,

soprattutto, quando il correttivo è un substrato primario del metabolismo microbico.

L'acido L-malico è trasformato in acido L-lattico principalmente dai batteri attraverso la fermentazione malolattica (FML) anche se può essere metabolizzato parzialmente dai lieviti. L'acido tartarico è un metabolita che non è attaccato dai batteri malolattici; raramente può essere utilizzato da altri batteri e quando accade si rischia di incorrere in alterazioni indesiderate del vino (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

**Tab. 1 - Composizione dei mosti nelle microvinificazioni 1 e 2**

		microvinificazione 1		microvinificazione 2			
		non corretto	+ 1,5 g/L ac. DL-malico	non corretto	+ 1,5 g/L ac. DL-malico	+ 1,5 g/L ac. L-malico	+ 1,5 g/L ac. tartarico
zuccheri riducenti	Brix°	23,6	23,6	22,8	22,8	22,8	22,8
pH		3,54	3,28	3,59	3,35	3,38	3,28
acidità totale <sup>1</sup>	g/L	6,48	8,65	5,47	6,97	7,09	7,00
acido L-malico	g/L	1,86	2,62	1,85	2,70	3,32	1,88
acido D-malico	g/L	0,00	0,70	0,00	0,70	0,00	0,00

<sup>1</sup>in acido tartarico**Tab. 2 - Microvinificazione 1: composizione dei vini a fine FML**

		mosto acidificato con ac. DL-malico			mosto non acidificato	
		co-inoculo	inoculo post FA	FML spontanea	co-inoculo	FML spontanea
etanolo	% vol	13,39 ± 0,03	13,34 ± 0,00	13,41 ± 0,01	13,48 ± 0,02	13,23 ± 0,02
pH		3,68 ± 0,00	3,67 ± 0,01	3,68 ± 0,00	3,77 ± 0,01	3,79 ± 0,03
acidità totale <sup>1</sup>	g/L	5,86 ± 0,06	5,74 ± 0,08	5,73 ± 0,02	4,78 ± 0,06	4,63 ± 0,09
acido tartarico	g/L	4,88 ± 0,09	4,87 ± 0,10	4,84 ± 0,13	3,90 ± 0,42	4,00 ± 0,25
acido D-malico	g/L	0,68 ± 0,01	0,68 ± 0,02	0,62 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
acido L-malico	g/L	0,05 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,00
acido L-lattico	g/L	1,77 ± 0,11	1,69 ± 0,05	1,71 ± 0,01	1,30 ± 0,03	1,31 ± 0,06
acido acetico	g/L	0,58 ± 0,04	0,49 ± 0,03	0,52 ± 0,01	0,52 ± 0,01	0,55 ± 0,01
acido citrico	g/L	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,05	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,00 ± 0,00
polifenoli totali <sup>2</sup>	mg/L	1563 ± 19	1567 ± 11	1522 ± 9	1699 ± 28	1542 ± 16
antociani totali <sup>3</sup>	mg/L	322 ± 6	311 ± 8	310 ± 8	359 ± 17	340 ± 9

<sup>1</sup>in acido tartarico - <sup>2</sup>in acido gallico - <sup>3</sup>in malvidina 3-glucoside cloruro**Tab. 3 - Microvinificazione 2: composizione dei vini a fine FML**

		acidificante 1,5 g/L		
		ac. D,L-malico	ac. L-malico	ac. tartarico
etanolo	% vol	13,19 ± 0,01	13,20 ± 0,07	13,19 ± 0,04
pH		3,58 ± 0,00	3,60 ± 0,01	3,42 ± 0,01
acidità totale <sup>1</sup>	g/L	6,58 ± 0,06	6,40 ± 0,06	6,52 ± 0,04
acido tartarico	g/L	4,85 ± 0,15	4,91 ± 0,24	5,09 ± 0,21
acido D-malico	g/L	0,71 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
acido L-malico	g/L	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,01
acido L-lattico	g/L	1,89 ± 0,01	2,43 ± 0,06	1,44 ± 0,01
acido acetico	g/L	0,54 ± 0,01	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,03
acido citrico	g/L	0,07 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,15 ± 0,01
polifenoli totali <sup>2</sup>	mg/L	1303 ± 45	1381 ± 5	1327 ± 86
antociani totali <sup>3</sup>	mg/L	236 ± 20	247 ± 25	242 ± 3

<sup>1</sup>in acido tartarico - <sup>2</sup>in acido gallico - <sup>3</sup>in malvidina 3-glucoside cloruro

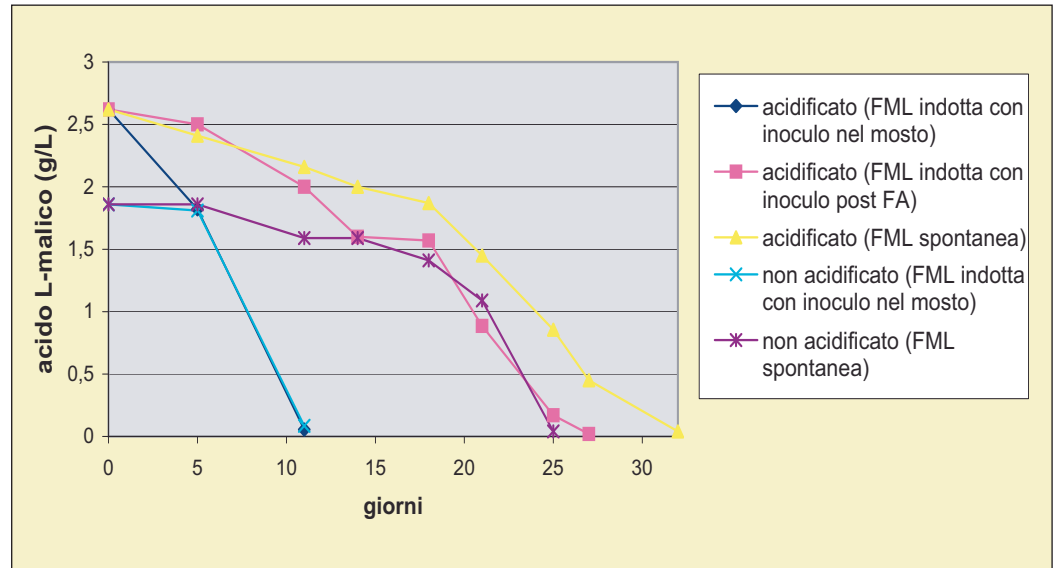
L'acido citrico, presente normalmente nei mosti anche se in quantità limitate, è generalmente metabolizzato dai batteri malolattici e può causare l'aumento dell'acidità volatile (Liu, 2002); per questo tale

degradazione, quando possibile, viene di norma evitata con le normali pratiche di cantina.

La correzione dell'acidità del mosto utilizzando l'acido L-malico, oltre a favorire la FML, determina un abbassa-

mento del pH riducendo il rischio di contaminazioni batteriche (Volschenk et al., 2006). L'utilizzo dell'acido D,L-malico consente di mantenere una maggiore acidità dei vini anche dopo la FML grazie alla permanenza dell'isomero D che risulta essere stabile e non metabolizzabile dai batteri malolattici. Ciò nonostante rimangono da valutare, da un punto di vista applicativo, le conseguenze dell'effetto dell'acido D-malico sulle cellule batteriche. Secondo Arthurs e Lloyd (1999) la presenza di quest'ultimo riduce significativamente l'assorbimento di L-malico nella cellula diminuendo l'attività dell'enzima malolattico responsabile della conversione dell'acido L-malico in L-lattico.

Considerando la carenza di informazioni su questi importanti aspetti di interesse tecnologico con questo studio si sono valutate le possibili interferenze dell'aggiunta di

**Fig. 1 - Microvinificazione 1: cinetiche di degradazione dell'acido L-malico**

acido L e D,L-malico sull'attività metabolica dei batteri malolattici.

## Risultati della ricerca

Sono state allestite due prove di microvinificazione, presso il Centro per la Sperimentazione in Vitivinicoltura della Provincia di Verona, utilizzando uve della varietà "Cabernet Sauvignon". Le fermentazioni alcoliche e malolattiche sono state condotte impiegando ceppi starter commerciali di *Saccharomyces cerevisiae* e *Oenococcus oeni*.

Con la prima microvinificazione si è studiato come la correzione con acido D,L-malico condizioni la FML sia spontanea che indotta. Nella seconda si sono confrontate tre tesi acidificate rispettivamente con acido D,L-malico, acido L-malico e acido tartarico per valutare l'attività batterica a seconda del tipo di acido impiegato.

**Microvinificazione 1.** Per valutare l'effetto dell'isomero D dell'acido malico sull'attività dei batteri malolattici è stata condotta una prima microvinificazione (tesi in doppio di circa 100 kg d'uva) nella quale il mosto è stato acidificato con 1,5 g/L di acido D,L-malico e messo a confronto con una tesi non

corretta (controllo).

La FA non ha risentito dell'acidificazione del mosto poiché le cinetiche di produzione di etanolo e di consumo di zuccheri sono risultate sovrapponibili tra le tesi acidificate e il controllo (dati non mostrati). La FML è stata indotta inoculando il ceppo sia in modo tradizionale, cioè a fine della fermentazione alcolica, sia con la tecnica del co-inoculo.

La FML, indotta e spontanea, si è completata in tutte le tesi e le cinetiche di consumo di acido L-malico sono risultate differenti in relazione alla tipologia di inoculo e al contenuto di acido L-malico iniziale (Fig. 1). Tra le tesi co-inoculate la velocità di consumo di acido L-malico è risultata superiore in quella acidificata rispetto a quella non corretta (il tasso di consumo medio giornaliero è stato di 0,24 e 0,17 g/L, rispettivamente). Nelle fermentazioni malolattiche spontanee il tasso di consumo medio giornaliero è risultato simile (0,08 e 0,07 g/L/giorno nella tesi acidificata e non corretta); il ritardo di circa 8 giorni tra le tesi è presumibilmente dovuto solo al diverso contenuto iniziale di acido L-malico.

A fine FML le analisi chimiche dei vini delle tesi acidificate mostrano valori di pH inferiori di circa 0,1 unità

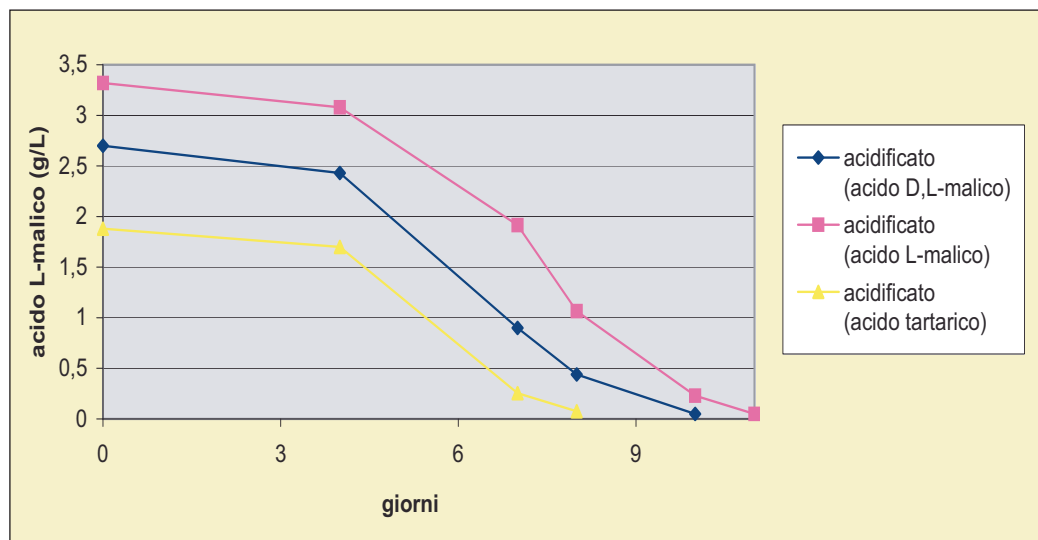
e di acidità totale (AT) superiore di 1 g/L rispetto alle tesi controllo (Tab. 2). Non si sono osservate sostanziali variazioni dei parametri chimici tra i vini ottenuti dal mosto acidificato sia in relazione alle diverse modalità di inoculo sia alle tesi dove la FML è stata spontanea.

**Microvinificazione 2.** Nella seconda microvinificazione (tesi in doppio di 100 kg d'uva) le tesi acidificate con acido D,L-malico sono state confrontate con altre prove acidificate mediante acido L-malico e acido tartarico. La FML è stata indotta con l'inoculo nel mosto dei batteri malolattici utilizzando la tecnica del co-inoculo.

Anche in questo caso le cinetiche di FA nelle varie tesi sono risultate simili (dati non mostrati).

I diversi acidi utilizzati non hanno influito in modo significativo sulla capacità fermentativa di *S. cerevisiae*. Questo risultato è in accordo con precedenti studi sugli effetti dell'aggiunta di acido tartarico o malico al mezzo di crescita per *S. cerevisiae* (Torija et al., 2003).

La FML, seppur con cinetiche di degradazione dell'acido L-malico differenti dovute al diverso contenuto nel mosto, è terminata in tutte le tesi (Fig. 2). I valori di consumo medio giornaliero

**Fig. 2 - Microvinificazione 2: cinetiche di degradazione dell'acido L-malico**

(di 0,30, 0,27 e 0,23 g/L/giorno per le tesi corrette con acido L-malico, acido D,L-malico e acido tartarico, rispettivamente) rilevano, analogamente alla microvinificazione precedente, che a concentrazioni superiori di acido L-malico maggiore è l'attività malolattica dei batteri. Si escludono anche in questo caso interferenze significative dell'isomero D.

Le analisi dei vini al termine della FML mostrano come non ci siano differenze sostanziali di acidità totale e pH tra le tesi addizionate con acido D,L-malico e L-malico (Tab. 3). La permanenza di acido D-malico nella tesi acidificata con acido D,L-malico viene di fatto compensata dalla maggior quantità di acido L-lattico presente nella tesi addizionata con solo acido L-malico.

In tutte e tre le tesi i valori analitici dei vini mostrano una concentrazione di acido tartarico simile. L'acido tartarico infatti presenta una scarsa stabilità e tende a combinarsi con il potassio presente nel mezzo ed a precipitare sotto forma di sali di bitartrato di potassio. La conseguenza è che, contemporaneamente alla diminuzione dell'AT, si ha anche una diminuzione del pH quando, come in questo caso, il valore originale del pH del mosto è inferiore a 3,7 (Ribereau-Gayon et al., 2006). A fine FA

le diverse tesi presentano analiticamente valori di acidità totale paragonabili tra di loro determinati però da un diverso rapporto tra i diversi acidi. Alla degustazione i vini non presentano, da un punto di vista olfattivo, differenze significative, contrariamente a quanto invece evidenziato dall'analisi degli aspetti gustativi.

I vini in cui l'acidità è stata corretta utilizzando acido D,L-malico si distinguono per una minore astringenza e per una percezione di acidità superiore che conferisce una sensazione di "freschezza". Le tesi aggiunte di L-malico, grazie alla maggior concentrazione di acido lattico, risultano in bocca più morbide. Infine l'aggiunta di acido tartarico sembra conferire ai vini una certa astringenza e un retrogusto leggermente amaro.

## Considerazioni conclusive

I risultati della sperimentazione hanno evidenziato che l'acidificazione del mosto con 1,5 g/L di acido D,L-malico o L-malico determina una maggiore velocità di fermentazione dei batteri malolattici rispetto le tesi non acidificate. La velocità di degradazione è in relazione alla concentrazione dell'isomero L presente nel mezzo. L'iso-

mero D non è metabolizzabile dai batteri e non interferisce sulla cinetica della FML e risulta rimanere stabile nei vini. La correzione dell'acidità con acido tartarico è meno efficace in quanto questo acido tende a precipitare sotto forma di sali. La scelta del tipo o miscela di acidi utilizzati nella correzione dei mosti sembra influire sulle caratteristiche organolettiche dei vini soprattutto per quanto riguarda i parametri gustativi. ■

## Bibliografia

Arthurs C.E., & Lloyd D. (1999). Kinetics, stereospecificity, and expression of the malolactic enzyme. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**: 3360-3363.

Coloretti F., Zambonelli C., Castellari L., Tini V., Raineri S. (2002). The effect of DL-Malic Acid on the Metabolism of L-malic Acid during Wine Fermentation. *Food Technol. Biotechnol.*, **40**, (4), 317-320.

Liu S.Q. (2002). Malolactic fermentation in wine – beyond deacidification, a review, *Journal of Applied Microbiology*, **92**: 589-601.

Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud-Funel A. (2006). *Handbook of Enology. The microbiology of wine and vinifications. Vol. 2., 2nd edition* Wiley & Sons, Chichester, UK.

Torija M.J., Beltran G., Novo M., Poblet M., Rozès N., Mas A., Guillamon J.M. (2003). Effect of organic acids and nitrogen source on alcoholic fermentation: study of their buffering capacity. *J. Agric. Food Chem.*, **51**: 916-922.

Volschenk H., van Vuuren H.J.J., Viljoen-Blom M. (2006). Malic acid in Wine: orinin, function and metabolism during vinification. *S.Afr. J. Enol. Vitic.*, **27**: 123-136.

**Ringraziamenti.** Si ringrazia la Ditta Lallemand Inc., in particolare la D.ssa Paola Vagnoli e la D.ssa Sybille Krieger, per l'importante contributo alla sperimentazione.