

# LA TECNICA DEL COINOCULO

I VANTAGGI DELL'INOCULO DI LIEVITI E BATTERI MALOLATTICI SELEZIONATI IN SEQUENZA RAPIDA NEI MOSTI

## Che cos'è il coinoculo?

Il coinoculo consiste nell'inoculo dei batteri selezionati in uno stadio precoce (24 ore dopo l'inoculo del lievito) del processo di vinificazione. Si tratta di una tecnica sempre più utilizzata perché presenta alcuni vantaggi.

Nel caso l'enologo opti per l'utilizzo di batteri malolattici selezionati, vi sono diverse possibilità per quanto riguarda la scelta del momento dell'inoculo. Una di queste è il coinoculo, cioè l'inoculo dei batteri nel mosto all'inizio della fermentazione alcolica (FA), poco dopo l'aggiunta del lievito. Un'altra possibilità è l'inoculo durante la fermentazione alcolica (inoculo precoce); infine è possibile effettuare l'inoculo dopo il completamento della FA (inoculo sequenziale) che è il sistema per così dire più "classico".

## Come funziona?

Il ricorso alla tecnica del coinoculo permette ai batteri di trovare un ambiente più favorevole alla loro crescita: il mosto d'uva, il quale, rispetto al vino, presenta concentrazioni di etanolo inferiori ed una maggiore disponibilità di nutrienti. Poiché il lievito cresce nel mosto in maniera più vigorosa, l'attività dei batteri malolattici (BML) risulterà inibita durante le fasi di attiva fermentazione alcolica, tuttavia in questa fase i batteri selezionati si acclimateranno lentamente ai crescenti livelli di alcol.

La transizione dei batteri dalla fase di latenza a quella di crescita logaritmica coincide con l'inizio della fase di mortalità del ciclo di crescita del lievito. Questo fenomeno può liberare nutrienti essenziali per i batteri, derivanti dalla morte e dalla successiva autolisi del lievito.

L'inoculo a metà della fermentazione alcolica dà luogo molto spesso ad un'inibizione decisamente più significativa

dei BML. In questa fase sono stati osservati i fenomeni di antagonismo più marcati, dovuti alla produzione di metaboliti come l'acido decanoico da parte dei lieviti in fase di piena crescita.

In caso di pH molto bassi (<3,15) e su mosti solfitati può essere opportuno ritardare l'inoculo batterico ad 1/3 della fermentazione alcolica per evitare un elevato impatto della SO<sub>2</sub> molecolare contro i batteri.

Riguardo alla scelta del lievito, bisogna tener conto che i ceppi più compatibili con le strategie di inoculo precoce sono

**DURANTE IL  
COINOCULO, L'ATTIVITÀ  
MICROBIOLOGICA DEI  
LIEVITI E DEI BATTERI È  
TALE CHE C'È MENO  
SPAZIO PER LO SVILUPPO  
DI MICRORGANISMI  
CONTAMINANTI COME LE  
SPECIE ETEROFERMENTANTI  
DI LACTOBACILLUS,  
PEDIOCOCCUS E DEI LIEVITI  
BRETTANOMYCES**

scarsi produttori di SO<sub>2</sub>, hanno un fabbisogno di azoto da basso a medio e cinetiche di fermentazione moderate.

## Una tecnica sicura

Quando si parla di coinoculo, è importante valutare il problema della possibile produzione di acido acetico da parte dei batteri a partire dagli zuccheri. Motivo per cui tradizionalmente l'inoculo nel vino di colture malolattiche starter veniva eseguito dopo la fine della fermentazione alcolica, quando tutti gli zuccheri fermentescibili erano stati consumati

dal lievito e gli zuccheri residui risultavano inferiori a 2 g/L. Diverse sperimentazioni (Semon *et al.*, 2001; Rosi *et al.*, 2003; Jussier *et al.*, 2006) hanno però mostrato che durante la crescita dei BML e la fase di FML attiva non viene prodotto acido acetico a partire dagli zuccheri. In effetti, le sperimentazioni condotte mediante coinoculo non hanno mai mostrato differenze significative nel contenuto finale in acido acetico rispetto al controllo.

Più recentemente, uno studio condotto da Zapparoli *et al.* (2009) su vini ad elevato tenore alcolico ha mostrato che nelle varietà Corvina e Rondinella, impiegate per la produzione dell'Amarone, i livelli di acido acetico sono risultati praticamente identici nei casi di coinoculo e in quelli sottoposti a inoculo sequenziale dei batteri. Ad esempio, con il coinoculo si sono misurati 0,19 g/L di acido acetico, mentre con l'inoculo sequenziale 0,20 g/L.

Inoltre bisogna tener conto che il tempo che intercorre tra la fine della fermentazione alcolica e l'inizio della fermentazione malolattica è un periodo critico, in quanto il vino non è ancora stabilizzato ed è quindi suscettibile di deviazioni microbiologiche e sensoriali.

Il coinoculo con un *Oenococcus oeni* selezionato può contribuire a evitare la **produzione di molecole potenzialmente contaminanti**, in primo luogo riducendo **il rischio di una FML spontanea** durante la fermentazione alcolica (FA), riducendo drasticamente la crescita dei batteri selvaggi e permettendo allo stesso tempo lo svolgimento di una FML più controllata.

Questo è importante soprattutto per i vini rossi a pH elevato, in cui durante la FA può verificarsi una FML spontanea, con rischio di blocchi di FA e aumento di acidità volatile (Van der Merwe *et al.* 2006).

Durante il coinoculo, l'attività microbologica dei lieviti e dei batteri è tale che c'è meno spazio per lo sviluppo di microrganismi contaminanti come le specie eterofermentanti di *Lactobacillus*, *Pediococcus* e dei lieviti *Brettanomyces*.

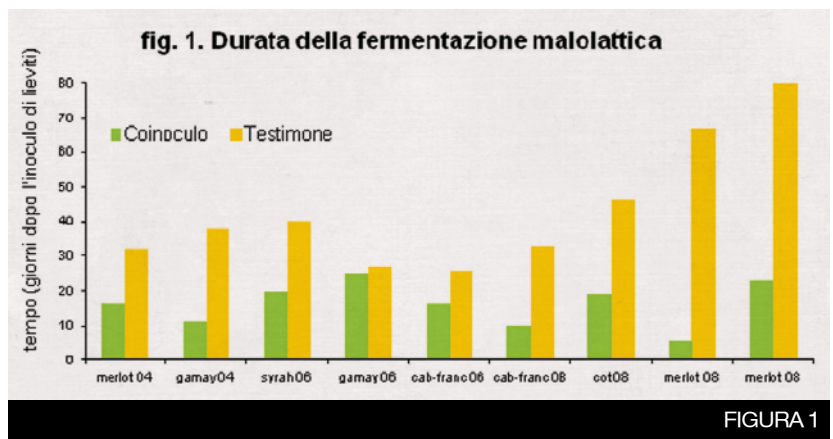
**Quali sono i vantaggi?**

Molti studi recenti (Knoll *et al.*, 2012, Costello *et al.* 2012, Bartowsky *et al.*, 2011, Azzolini *et al.*, 2010) hanno mostrato che i batteri selezionati hanno la **capacità di influenzare il profilo aromatico dei vini** producendo metaboliti volatili secondari o modificando i metaboliti derivanti

*Figura 2. Consumo di acido malico (in nero) e produzione di acido L-lattico (in bianco) in campioni coinoculati (■□), inoculati con batteri al termine della FA (▲△) e non inoculati con batteri (○●). Le frecce indicano il momento dell'inoculo batterico, rispettivamente prima e dopo la FA. Le prove sono state svolte in triplicato, i valori sono espressi come media ± la deviazione standard.*

Sperimentazioni condotte in collaborazione con l'Università Cattolica del Cile, hanno valutato l'importanza delle tecniche di coinoculo in mosti dal pH elevato e con elevati tenori di alcol potenziale. In una

in cui si è lasciato che la FML avvenisse spontaneamente. Nei climi freschi e temperati la durata ridotta della FML e l'affidabilità del suo completamento rappresentano un importante vantaggio in quanto riducono significativamente la necessità di riscaldare la cantina, cosa invece spesso necessaria nell'inoculo sequenziale, visto che normalmente la FML si svolge a stagione più inoltrata, e dunque più fredda. Un altro vantaggio è dato dalla possibilità di avere vini stabilizzati prima e dunque pronti per il commercio in un periodo di tempo più breve rispetto ad esempio al ricorso all'inoculo sequenziale o alla FML spontanea.



**IN FRANCIA ED IN SPAGNA QUASI IL 50% DELLE FML CONTROLLATE SONO CONDOTTE CON IL METODO DEL COINOCULO**

**La gestione dei composti contaminanti e della flora indigena indesiderabile**

In una sperimentazione condotta in collaborazione con la Stellenbosch University (Maret du Toit *et al.*, 2007, Van der Merve *et al.*, 2006), si è verificato come mediante coinoculo con starter Uvaferm ALPHA® e Lalvin VP41® si sia prodotta una quantità significativamente inferiore di ammine biogene ed una produzione nulla di istamina e tiramina rispetto all'inoculo dopo il termine della fermentazione alcolica. Come nel caso di molti altri batteri selezionati per l'enologia, anche questi ceppi gli sono stati monitorati durante le procedure di selezione mediante tec-

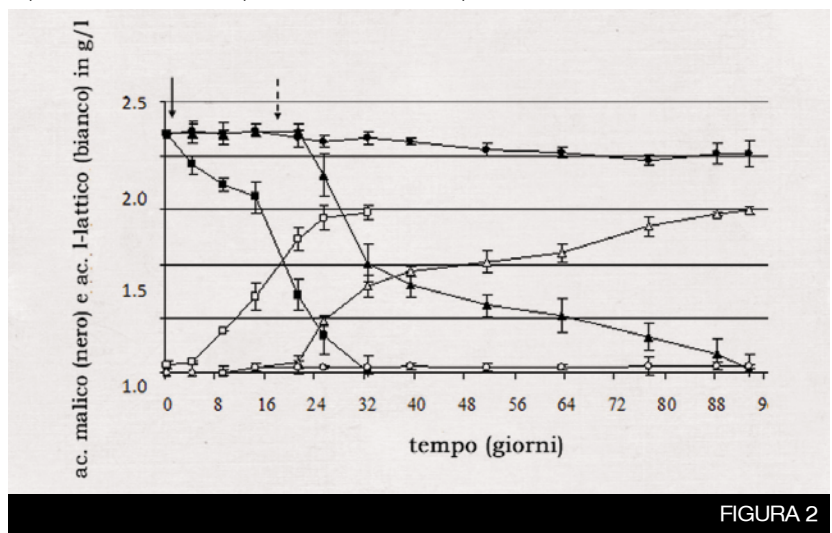
dall'uva o dal lievito, come ad esempio gli esteri etilici, gli acetati, gli acidi e gli alcoli. Questi cambiamenti dipendono notevolmente dal ceppo utilizzato nella FML, ma anche le tecniche di vinificazione sono molto importanti per l'aroma e il gusto del vino.

La Figura 1 mostra il confronto tra coinoculo e FML spontanea in numerose sperimentazioni condotte su differenti vitigni, in differenti annate e con differenti batteri enologici selezionati. In tutti i casi la durata nei campioni sottoposti a co-inoculo risulta notevolmente ridotta. Non solo il coinoculo accorcia la FML, ma nella maggioranza delle situazioni, si dimostra una tecnica molto affidabile.

La Figura 2 mostra i risultati in un Amaronone 2006 derivato da uve parzialmente passite (pH 3,3, alcol 15,5% v/v, SO2 totale 50 mg/L). Zapparoli e Tosi (2006) sono riusciti a portare a termine con successo la FML in 32 giorni mediante coinoculo con batteri Lalvin VP41 MBR® (batteri ad inoculo diretto). Questo non è accaduto con l'inoculo sequenziale e la FML spontanea, che dopo 90 giorni non era ancora iniziata.

vendemmia condotta nel 2005, si sono utilizzati 8 diversi lotti di uve (Carménère, Syrah, Merlot, Cabernet Sauvignon e Petit Verdot) ad elevato pH (da 3,5 a 3,9) con alcol potenziale tra il 14% ed il 15%: il co-inoculo di batteri è stato effettuato 24 ore dopo l'inoculo del lievito ed è stato confrontato con i vini di controllo non sottoposti a inoculo batterico.

La durata totale della FML dall'inoculo è risultata circa la metà nei campioni sottoposti a co-inoculo, rispetto ai controlli

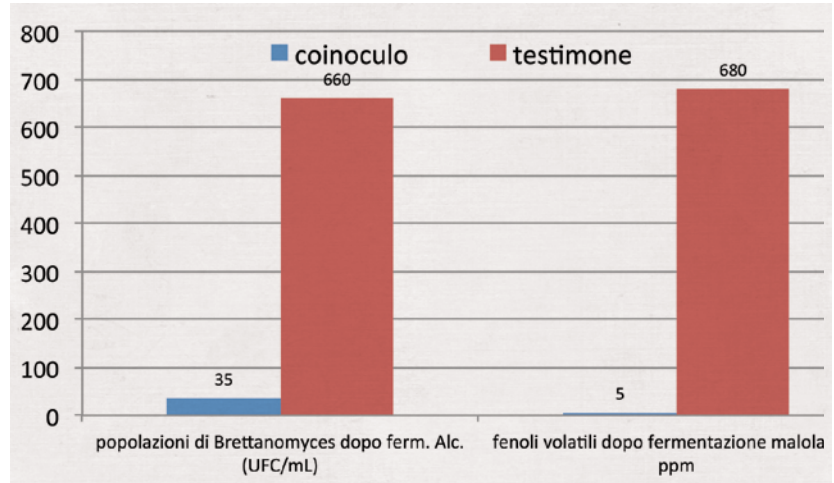


niche genetiche, per assicurarsi dell'assenza dei geni responsabili della codifica dell'istidina decarbossilasi e dell'ornitina decarbossilasi, enzimi responsabili della formazione di ammine biogene.

Il co-inoculo può anche rivelarsi un utile strumento per prevenire la formazione dei fenoli volatili 4-etilfenolo e 4-etilguaiacolo. Se la fermentazione malolattica avviene immediatamente dopo la fermentazione alcolica, vi sono maggiori possibilità di evitare lo sviluppo del *Brettanomyces*, in quanto il vino viene stabilizzato in tempi più brevi.

**La Figura 3** mostra i risultati di una sperimentazione condotta su un Cabernet Franc francese: l'inoculo con BML in coinoculo ha drasticamente ridotto la popolazione di *Brettanomyces* e i livelli di fenoli volatili nei vini.

Il coinoculo non incide solamente sul *Brettanomyces*, ma limita anche lo sviluppo di altri batteri non desiderati come *Pediococcus* e *Lactobacillus*, soprattutto nei vini con pH superiore a 3,5. In questo modo si limita l'insorgenza di aromi sgradevoli e si dà luogo a vini più puliti e aromatici.



**FIGURA 3. CABERNET FRANC 2006: ANALISI DELLA CONTAMINAZIONE DA BRETTANOMYCES E FENOLI VOLATILI**

### Conclusioni

La pratica del coinoculo sta diventando sempre più popolare tra gli enologi. In Francia ed in Spagna, ad esempio, quasi il 50% delle FML controllate sono condotte con l'ausilio di questa tecnica. I vantaggi della gestione della FML in coinoculo sono numerosi: si ottiene un processo più rapido e sicuro limitando lo sviluppo di microrganismi non desiderati, spesso associati alla formazione di aromi

sgradevoli e maggiori quantità di amine biogene. La minor produzione di diacetile, e la maggiore concentrazione di alcuni esteri etilici e acetati, agisce da importante modulatore nello sviluppo sensoriale e concorre alla produzione di vini dal carattere maggiormente fruttato.

Sibylle Krieger, Lallemand office Korntal-Münchingen – Germania, J. Francesco Lo Paro, Lallemand Italia, Castel D'Azzano (VR)