



LAFFORT - INFO

NUMERO 25 – SETTEMBRE 2002



SOMMARIO

1. Introduzione
2. Possibili applicazioni in enologia
3. Lisozima ed instabilità dei vini
4. Aspetti legislativi

IL LISOZIMA

1. INTRODUZIONE.

Il Lisozima é un enzima scoperto casualmente da Fleming nel 1921, abbondantemente impiegato nell'industria lattiero-casearia, é ormai da diversi anni testato anche in enologia, ove si é dimostrato essere interessante, in diverse applicazioni, nel controllo della flora lattica dei vini.

Enzima presente in natura, anche in diverse secrezioni umane, come la saliva, le lacrime o il latte materno, viene estratto industrialmente dal bianco d'uovo. Ha la proprietà di lisare la parete dei batteri lattici Gram + (Oenococcus, Lactobacillus, Pediococcus), provocandone la morte per shock osmotico, ma non agisce affatto sui batteri Gram – (batteri acetici).

Il lisozima costituisce il 3,4 – 3,5 % delle proteine dell'albume d'uovo di pollo, e può rappresentare fino allo 0,35 % del suo peso totale. E' composto da 129 residui di amminoacidi, per un peso molecolare complessivo di 14,5 Kda.

E' un enzima classificato come muramidasi (EC 3.2.1.17).

L'azione del lisozima é praticamente immediata, ma in seguito, date le condizioni del vino, soprattutto di pH, viene inattivato. Questo significa che i batteri lisati (morti) non possono più indurre trasformazioni nei vini, ma che dopo 15 – 20 giorni eventuali reinoculi di batteri, non vengono controllati dal lisozima.

Il controllo dei batteri lattici indigeni é importante in diverse fasi della vinificazione, in particolare per i vini ad elevato pH, sui quali l'azione antibatterica della SO₂ é limitata. Il Lisozima aiuta nella prevenzione di spunti lattici, controllo o blocco della fermentazione malolattica sui vini ove non é desiderata, riduzione della popolazione di batteri lattici e della produzione di ammine biogene durante l'affinamento dei vini. Inoltre consente di operare con dosaggi più bassi di SO₂.

Ai dosaggi ammessi e consigliati per le differenti applicazioni il Lisozima non dimostra avere alcuna interferenza con la fermentazione alcolica, che termina regolarmente.

2. POSSIBILI APPLICAZIONI IN ENOLOGIA

Inibizione della fermentazione malolattica nella vinificazione in bianco.

Questa applicazione era stata inizialmente presa in considerazione nell'ottica di eliminare l'impiego della SO₂. Visto però il ruolo antiossidante di quest'ultima, in nessun modo assolto dall'enzima, ci si é dovuti accontentare della sola riduzione della dose. Ciò permette normalmente di ridurre la dose di SO₂ da 2 fino a 4 volte.

La dose di Lisozima da aggiungere in questo caso può variare da 25 a 50 g/hl e questo in funzione della carica batterica (quanto maggiore é la carica tanto maggiore deve essere la dose, si indica come soglia limite una carica batterica pari 10⁷ CFU/ml) e del pH. Quest'ultimo aspetto é un po' controverso in quanto é vero che all'aumentare del pH, contrariamente a quanto accade per la SO₂, aumenta l'attività del Lisozima (attivo tra pH 2 e 10 con pH ottimale a 4,5), ma é altresì vero che all'aumentare del pH l'ambiente diviene più favorevole allo sviluppo dei batteri.

L'analisi sensoriale dei vini non fa registrare nessuna differenza tra i vini trattati con Lisozima ed i vini in cui la FML é bloccata con dosi superiori di SO₂.

L'aggiunta dell'enzima deve essere fatta il più presto possibile, ma comunque dopo la prima chiarifica e certamente dopo aver allontanato l'eventuale bentonite usata nel trattamento iniziale. Può essere aggiunto in un solo intervento, ma alcuni preferiscono dimezzare la dose operando un'aggiunta prima della fermentazione alcolica ed una alla fine. Ciò può essere funzione dell'obiettivo enologico, se si vuole solo ritardare la malolattica é meglio un unico intervento prima della F.A., se invece la si vuole completamente evitare sono meglio i due interventi.

Controllo della fermentazione malolattica per separarla dalla fermentazione alcolica soprattutto nel caso dei vini rossi o dei rallentamenti di fermentazione, o per modularla nel caso di alcuni vini bianchi.

In alcuni casi si assiste infatti all'avvio della malolattica prima che termini la fermentazione alcolica o la macerazione. Ciò accade più frequentemente nel caso di macerazione con uve intere, come nella macerazione carbonica per produzione di vini novelli, o nel caso di macerazioni tradizionali molto lunghe e soprattutto nelle situazioni in cui i pH sono molto elevati. Se impiegato in via preventiva deve essere aggiunto al

momento dell'introduzione dell'uva ammostata nella vasca di vinificazione, alla dose di 10 – 20 g/hl. Se la fermentazione alcolica si conclude regolarmente e velocemente si può, dopo la svinatura, avere FML spontanea o meglio inoculando batteri lattici selezionati. A questo punto infatti lo sviluppo dei batteri non è certamente più inibito dal Lisozima che viene eliminato nel caso della vinificazione in rosso per precipitazione con i polifenoli e per assorbimento sulle parti solide.

Nel caso di rallentamenti o arresti di fermentazione, al fine di evitare sviluppi batterici in presenza di zuccheri, con rischi di spunti lattici, conviene intervenire con dosi di 25 – 30 g/hl. Questo vale sia nel caso dei vini rossi che nel caso dei bianchi. L'intervento mirato con Lisozima permette di evitare aggiunte di SO₂ rendendo più facile il riavvio della F.A.

Se si vuole modulare l'acidità dei vini bianchi, controllando la dose di acido malico residuo, è certamente più sicuro e corretto tagliare lotti di vino a FML terminata con lotti di vino in cui la FML non è avvenuta affatto. In questo caso il Lisozima può essere utile per stabilizzare la cuvée.

Un'ultima applicazione nella quale il Lysozima può essere utilmente impiegato è la stabilizzazione dei vini a fine FML allo scopo di eliminare batteri che d'ora in poi possono risultare dannosi ai vini, soprattutto se indigeni, provocando innalzamento dell'acidità volatile e formazione di ammine biogene. A questo scopo la dose da impiegare può variare tra 15 e 25 g/hl. Questo permette di abbassare la dose di SO₂ che deve essere aggiunta in questa fase; avendo presente che 25 g/hl di Lisozima hanno, a livello dei batteri lattici, un'azione equivalente a 50 mg/l di SO₂. Il che sembra comportare un vantaggio dal punto di vista del colore, infatti nei vini in cui si utilizza Lisozima abbassando la dose di SO₂, dopo 6 mesi di conservazione si trovano livelli di colore significativamente più alti.

3. LISOZIMA E STABILITÀ DEI VINI

Nonostante si sia detto che il Lisozima, una volta introdotto nel mosto o nel vino, non ha una grande stabilità per cui tende a scomparire, in realtà, come si può vedere dalla tabella, ne resta nel vino un certo residuo, che varia a seconda della dose, del momento dell'aggiunta e della tipologia di vino (bianche e rosso, ma anche tra vitigni).

Questo residuo può avere differenti tipi di interazioni con il vino.

vino	CHARDONNAY			PINOT NERO		
	mosto	fine FA	fine FML	mosto	fine FA	fine FML
momento aggiunta						
dose(g/hl)	50	50	25	50	50	25
residuo (g/hl)	8	31,5	12	0	16,5	4
%	16	63	48	0	33	16

Tenori di Lisozima nei vini due anni dopo il trattamento

Può avere un effetto ritardante sullo sviluppo di ceppi di batteri lattici inoculati dopo fermentazione alcolica allo scopo di ottenere una corretta FML. Il ritardo risulta logicamente essere funzione della dose residua di Lisozima, del tipo di ceppo (più o meno sensibile) e del pH del vino. E' comunque solo un effetto ritardante e non inibente.

Può fare reagire positivamente il vino ai normali test di stabilità proteica quali il test al calore (80°C per 30') o i test chimici. Per addentrarci un po' più su questo punto faccio riferimento all'esperienza dell'ITV alsaziano il quale ci rassicura che comunque l'aggiunta di Lisozima non provoca instabilità proteica.

Ovviamente però per valutare la stabilità proteica di un vino trattato con Lisozima dopo fine fermentazione alcolica, non si può più fare affidamento ai test abituali. Sempre i ricercatori dell'ITV dell'Alsazia propongono di fare un test di stabilità sul vino prima del trattamento, se il vino risulta stabile, l'aggiunta dell'enzima non apporterà problemi di instabilità, questo anche se un ulteriore test fatto sul vino dopo aggiunta ne denunciassero forte instabilità.

Se il vino risulta invece instabile già prima dell'aggiunta un trattamento con bentonite diviene necessario; in questo caso converrà eseguire alcune prove preventive con dosi crescenti di bentonite sul vino non ancora trattato e fare il trattamento alla dose definita prima dell'aggiunta dell'enzima.

Possiamo comunque tener conto che la flocculazione del Lisozima inizia a 60° - 70° C, da qui la precipitazione nel test a caldo a 80°C. L'esposizione del vino, anche per periodi prolungati, a 50°C permetterà dunque di valutare i rischi di instabilità proteica naturale dei vini, senza indurre precipitazioni a livello di Lisozima.

Può reagire con due additivi enologici, i tannini e l'acido metatartarico, provocando intorbidamenti. Si deve quindi evitare di aggiungere questi due prodotti su vini trattati con Lisozima dopo la fine della fermentazione alcolica, e tanto meno addizionarli contemporaneamente ai vini, ad esempio in fase di imbottigliamento.

4. ASPETTI LEGISLATIVI

L'impiego del Lisozima in enologia è previsto dal Regolamento CE N 2066/2001 della Commissione del 22 Ottobre 2001 che modifica il Regolamento CE N 1622/2000 per quanto concerne l'utilizzazione del lisozima nei prodotti vitivinicoli.

In base a questo regolamento il Lisozima può essere aggiunto al mosto di uve, al mosto parzialmente fermentato ed al vino al fine di controllare la crescita e l'attività dei batteri responsabili della fermentazione malolattica in detti prodotti. La dose massima utilizzabile è pari a 50 g/hl e se l'aggiunta è fatta sia nel mosto che nel vino, è la quantità cumulata che non può superare detto limite