

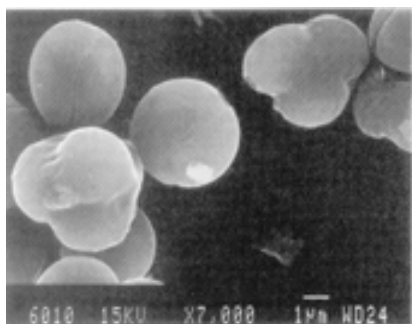


# LAFFORT – INFO



NUMERO  
37  
Settembre  
2004

## A proposito di fermentazione e nutrienti



Tra le mille preoccupazioni della vendemmia torna quella delle fermentazioni e di come gestirle al meglio per non avere problemi di arresti e non sprecare inutilmente costosi prodotti. Inoltre, lieviti che lavorano in sofferenza possono essere sinonimi di cattivi gusti nei vini, vedi la formazione di acido solfidrico (H<sub>2</sub>S) in caso di carenza di azoto.

Eccoci dunque a proporvi alcuni spunti di riflessione.

Importante innanzitutto fare una piccola distinzione tra fermentazioni lente e fermentazioni stentate.

Le fermentazioni che procedono con una bassa produzione di anidride carbonica ed hanno un basso valore della sua produzione massima possono essere definite "lente". Queste sono solitamente causate da carenze azotate e possono essere previste stimando la concentrazione di APA iniziale nel mosto.

Le fermentazioni per contro che vanno incontro ad una repentina diminuzione della velocità verso la fine possono essere definite "stentate" e facilmente vanno in arresto. Queste sono caratterizzate da una scarsa vitalità finale dei lieviti, dovuta principalmente all'accumulo di alte concentrazioni di alcool o di altri fattori di inibizione

o alla carenza di ossigeno o altri fattori di sopravvivenza.

Le prime possono essere migliorate ma non sempre rappresentano un rischio, e solitamente arrivano a compimento.

Le seconde devono essere seguite e gestite accuratamente per evitarne l'arresto.

In caso di mosti difficili da fermentare ormai sembra essere accertato che le fermentazioni risultano più sicure e la vitalità finale delle cellule maggiore se la popolazione è minore; ossia popolazioni di cellule meno numerose, che inducono fermentazioni lente, fanno abbassare il rischio di arresti. In queste condizioni infatti si ha un minor numero di divisioni cellulari a cui corrisponde una minore diluizione lipidica a livello delle membrane che comporta una migliore vitalità a fine fermentazione.

Un'escamotage per non avere comunque fermentazioni troppo lente, ma evitare l'eccessivo impoverimento delle membrane cellulari dovuto alle numerosi divisioni è, in caso di condizioni di conclamata difficoltà di fermentazione, aumentare la dose di inoculo. Raddoppiando la dose si ottiene la stessa popolazione con una divisione cellulare in meno, preservando dunque una maggiore ricchezza e funzionalità delle membrane.

### DETERMINAZIONE DELL'APA

#### METODO DI SÖRENSEN O NUMERO DI FORMOLO

##### Principio del metodo

Consiste nel bloccare la funzione amminica degli amminoacidi per addizione di aldeide formica in eccesso. Il derivato metilenico che si forma contiene il gruppo carbossile degli amminoacidi, ma non possiede più il gruppo basico. In questo modo è possibile titolare con soda la funzione acida che risulta fortemente dissociata.

##### Modalità di analisi

50 ml di mosto sono portati a pH 8,5 con NaOH 1N. La presenza di SO<sub>2</sub> libera induce un errore per difetto nella titolazione degli amminoacidi. Nel caso di mosti solfitati si dovrà quindi aggiungere qualche goccia di acqua ossigenata al 30%. Al mosto vengono aggiunti 20 ml di aldeide formica precedentemente portati a pH 8,5. Dopo qualche minuto di riposo il pH si abbassa, a questo punto si deve titolare fino a pH 8,5 impiegando NaOH 0,1N, la titolazione deve essere seguita impiegando un comune pHmetro. Il volume di NaOH 0,1 N impiegato, espresso in ml, può essere indicato con A.

L'azoto assimilabile espresso in mg/l di N si ottiene moltiplicando A per 28.

$$\text{APA (mg/l)} = A \times 28$$

### Come ragionare l'impiego degli attivatori di fermentazione.

Bisogna innanzitutto conoscere qualche parametro riguardante la fermentescibilità del mosto. Importanti sono la presenza naturale di APA (azoto prontamente assimilabile – azoto ammoniacale ed amminico) ed il grado alcolico potenziale, consapevoli che questo è solo uno dei fattori che possono rendere una fermentazione difficile (unitamente a temperature estreme, grado di illimpidimento dei mosti, vinificazione in assoluta assenza di ossigeno, ecc).

Si deve avere chiaramente presente il panorama degli attivatori di fermentazione disponibili e quale effetto hanno sull'attività dei lieviti.

**L'azoto assimilabile**, fornito solitamente sotto forma di sali ammoniacali (solfato o fosfato d'ammonio), è necessario per la sintesi delle proteine e per la moltiplicazione dei lieviti. Se aggiunto all'inizio della fermentazione, ha un grosso effetto sull'accrescimento della popolazione e dunque sulla velocità massima di fermentazione, ma ciò non toglie che ad un certo punto si possa avere un brusco rallentamento. Se aggiunta a metà fermentazione non da grossi risultati a livello di incremento della popolazione e della velocità di fermentazione, ma migliora la vitalità finale dei lieviti.

**La tiamina**, unica vitamina la cui addizione è autorizzata in enologia alla dose massima di 60 mg/hl, indispensabile alla moltiplicazione dei lieviti. Essa gioca anche un ruolo di cofattore enzimatico, permettendo di minuire l'accumulo di composti chetonici che si combinano con la  $SO_2$ . In teoria la quantità presente naturalmente nei mosti dovrebbe essere sufficiente, ma i lieviti indigeni si comportano nei suoi confronti come delle spugne, consumandola tutta molto rapidamente. Ovviamente le pratiche che favoriscono la permanenza e lo sviluppo dei lieviti indigeni (Stabulazione liquida a

freddo, macerazione pellicolare, macerazione prefermentativa a freddo,...) ne determinano sovente una carenza. L'aggiunta di tiamina è dunque raccomandata in avvio di fermentazione ma qualche ora dopo il solfitaggio, dato che la  $SO_2$  la blocca.

**I lieviti inattivati**, lieviti devitalizzati con uno shock termico, mantengono tutto il loro contenuto, sono dunque una ricca fonte di composti nutritivi per i lieviti viventi. Possono liberare azoto amminico e più lentamente piccoli peptidi. Acidi grassi a lunga catena che entrano nella costituzione delle membrane dei lieviti, infine vitamine e minerali con diversi ruoli come cofattori enzimatici o trasportatori di elettroni.

**Le scorze di lievito**, costituite dalle pareti cellulari dei lieviti svuotate del loro contenuto, apportano lipidi e assolvono in modo ottimale alla funzione di adsorbire molecole che possono risultare inibenti o tossiche per i lieviti come gli acidi grassi a catena corta.

**La cellulosa** microgranulata, funge da elemento inerte di supporto ed intorbidamento, ed eventualmente ha funzioni adsorbenti, detossificanti.

Fig. 1 – Schema riassuntivo dei nutrienti per lieviti della gamma Laffort

	THIAZOTE	BIOACTIV	NUTRISTART	SUPERTART	GRANUCEL
<b>COMPONENTE</b>					
Cellulosa micronizzata		XXX			XXX
Lieviti inertati		XXX	XXX	XXX	
Azoto ammoniacale	XXX		XXX		
Tiamina	XXX		XXX		
Sol di silice			XXX	XXX	
Autolisato					
Scorze di lieviti		XXX		XXX	
Caseina idrolizzata				XXX	
APA 10 g/hl prodotto	20	0	12,5	2,5	0

Infine si deve capire quale può essere il momento più utile per addizionarli.

A questo proposito si deve tener presente che in enologia la maggior parte degli zuccheri viene metabolizzata dopo che la crescita della popolazione micetica si è fermata, ossia in fase stazionaria, nella quale i lieviti enologici hanno un diverso fabbisogno in azoto.

Questo a volte è messo in evidenza dalla comparsa più o meno frequente ed intensa di sentori di ridotto dovuti alla produzione di  $H_2S$ , di cui sono state ipotizzate diverse vie di formazione, ma tutte riconducibili ad una carenza di azoto.

Una via sembra coinvolgere la degradazione enzimatica di amminoacidi solforati (cisteina, metionina) per poterne utilizzare una parte come fonte alternativa di azoto. Questa degradazione causa il rilascio della componente solforata sotto forma di  $H_2S$ . Nonostante l'efficacia dimostrata di questo meccanismo esso non giustifica appieno la formazione di  $H_2S$  in quanto nei mosti d'uva si trovano quantità limitate di amminoacidi solforati.

Altra via prevede che in situazioni di carenze azotate il lievito avvii meccanismi di sfruttamento delle riserve intracellulari. Il composto di riserva organico principe è il glutatione, il cui utilizzo ne determina la degradazione che porta alla liberazione di  $H_2S$ .

Ma la via principale di formazione sembra essere quella del metabolismo generale dello zolfo. Questo elemento è essenziale per la crescita del lievito e generalmente non è un fattore limitante in quanto in carenza di amminoacidi solforati i lieviti utilizzano lo zolfo inorganico presente nel mosto. Il solfato, attraverso un trasportatore, viene introdotto nella cellula ove, con intervento dell'enzima solfito riduttasi, viene progressivamente ridotto a solfito e solfuro. Il solfuro a questo punto viene incorporato nei composti organici azotati, precostituiti per altra via nella cellula, dando origine agli amminoacidi solforati. L'esaurimento dell'azoto assimilabile farebbe mancare i precursori azotati con i quali normalmente i solfuri si combinano, e questo porterebbe alla escrezione da parte della cellula del solfuro durante la fermentazione con le indesiderate conseguenze sul vino. Da queste note si evince quanto sia importante la corretta gestione dell'alimentazione azotata, che può cambiare da ceppo a ceppo di lievito, che diviene anche strumento per fronteggiare la maggior parte dei problemi di formazione di H<sub>2</sub>S.

Tenendo presente la composizione degli attivatori di fermentazione presenti nella nostra gamma cerchiamo quindi di proporvi uno schema guida per suggerire la strategia di alimentazione che, in base alle nostre conoscenze ed esperienze, ci sembra più corretta e razionale, tenendo in considerazione anche l'eventuale adattamento alle diverse situazioni della dose di inoculo.

A seconda della disponibilità naturale di nutrimenti e del grado di difficoltà di fermentazione dei mosti, alla luce dell'insieme delle considerazioni sopra fatte possiamo pensare di operare in questo modo. Se l'APA naturale è al di sotto della soglia dei 100 mg/l possiamo pensare che sia necessario un apporto di azoto

iniziale, a cui si aggiunge un secondo apporto a circa 1/3 – 1/2 della fermentazione. All'avvio, in modo da favorire lo sviluppo di cellule micetiche con membrane ricche e funzionali è sicuramente utile fornire substrati ricchi di fattori di sopravvivenza quali acidi grassi e steroli (Bioactiv). Nel caso di elevata difficoltà di fermentazione (gradazioni alcoliche potenziali elevate, o altro) risulta interessante l'impiego di un attivatore di lieviti specifico (Superstart) da utilizzare in fase di reidratazione, in modo di predisporre al meglio il lievito alle fatiche della fermentazione.

Se la disponibilità di APA naturale è maggiore, indicativamente al di sopra della soglia di 100 mg/l, possiamo pensare di avere azoto a sufficienza per garantire l'iniziale moltiplicazione del lievito;

### **SUPERSTART®**

#### **ATTIVATORE DI LIEVITI**

L'incorporazione in fase di reidratazione di questo attivatore deve la sua efficacia al fatto che non si hanno fenomeni di competizione con altri microrganismi, e fenomeni di dispersione o blocco di elementi da parte di altri substrati del mosto; l'aggiunta precoce permette uno sviluppo ottimale delle prime generazioni di lieviti e semplifica l'impiego degli altri attivatori. Superstart non migliora la moltiplicazione dei lieviti, ma piuttosto la loro vitalità.

I risultati che si ottengono possono essere così riassunti e generalizzati:

- ✓ una popolazione di lieviti che mantiene un maggior numero di cellule vive a fine fermentazione;
- ✓ fermentazioni più brevi, non tanto per aumento della velocità massima, ma per chiusure più nette e pulite;
- ✓ minor produzione di acidità volatile.

Il protocollo di utilizzo del SUPERSTART® è molto semplice:

Ad esempio supponendo di dover inoculare una vasca da 100 hl con una dose di lievito di 20 g/hl si dovranno preparare 20 litri d'acqua alla solita temperatura di 35° - 38° C. Nei 20 litri d'acqua dovranno essere introdotti 3 Kg di SUPERSTART® avendo la precauzione di agitare leggermente la sospensione. Quando l'attivante è ben omogeneizzato si dovranno aggiungere i 2 Kg di lievito agitando leggermente come d'abitudine, si dovranno attendere i canonici 20 minuti, trascorsi i quali si potrà rimescolare ancora leggermente la sospensione e procedere all'introduzione dell'inoculo in vasca di fermentazione o al raddoppio dell'inoculo con mosto da fermentare per favorire l'acclimatamento progressivo del lievito se la temperatura del mosto è molto bassa.

l'apporto di azoto sarà dunque limitato ad un intervento nella seconda fase, in modo da garantirne la disponibilità nella fase stazionaria. In fase di avvio interverremo solo con l'apporto di fattori di sopravvivenza che in caso di mosti particolarmente ricchi e non troppo illimpiditi può anche essere evitato.

Nel caso di fermentazioni comunque in condizioni difficili (alcol potenziale elevato, NTU bassa, basse temperature, riduzione spinta, ...) resta interessante l'impiego dell'attivatore di lieviti (Superstart) in fase di reidratazione.

In alcuni casi o impiegando alcuni ceppi di lievito può risultare importante frazionare ulteriormente il secondo apporto di azoto in due interventi.

Nel caso particolare di elaborazione di vini bianchi liquorosi (sempre carenti in azoto) alcuni autori hanno recentemente messo in evidenza come sia importante portare con un unico intervento l'azoto iniziale a

190 mg/l. In questo modo risulta fortemente limitata la produzione di acidità volatile.

In alcuni casi si potrebbe avere uno stato di malessere del lievito interpretabile come carenza di azoto, causato invece dall'accumulo dell'alcool e dalla carenza di ossigeno, che compromettono la funzionalità dei sistemi di trasporto della membrana, compresi quelli di trasporto per l'azoto.

Per questo motivo in tutti i casi prefigurati, al momento dell'aggiunta di azoto ad 1/3 – 1/2 del consumo degli zuccheri è consigliabile operare anche un'ossigenazione della massa. L'ossigeno è richiesto dal lievito per la sintesi dei composti cellulari, soprattutto steroli e degli acidi grassi insaturi, necessari per mantenere l'integrità della membrana citoplasmatica, soprattutto ad elevate concentrazioni di etanolo.

La quantità media di ossigeno richiesta è compresa tra 5 e 10 mg/l. Non è necessario misurare in modo accurato la quantità di ossigeno immesso nel mosto in fermentazione, ma è sufficiente farne una stima approssimata. Si deve sapere che il livello di saturazione dell'ossigeno disciolto nel mosto non in fermentazione è pari a 7 mg/l, ma in fermentazione questo parametro non può essere misurato in quanto in molti casi la velocità di consumo è superiore alla velocità di trasferimento dell'ossigeno.

L'ossigeno in questa fase può dunque essere apportato con tecniche tradizionali di rimontaggio all'aria, tenendo presente che in media la quantità di ossigeno necessaria viene trasferita al mosto operando un rimontaggio di volume compreso tra una e due volte il volume della vasca.

E' possibile ossigenare anche impiegando tecniche più moderne di apporto di ossigeno puro o aria in vasca, anche in questo caso si deve far conto sull'ossigeno disciolto e non su quello erogato.

Aggiunte di azoto ed ossigeno fatte in mosti in realtà senza rischi (che completerebbero comunque la fermentazione) portano ad una diminuzione della sua durata anche di un terzo. Questo per sottolineare che l'aggiunta di azoto e di ossigeno è efficace anche quando non indispensabile.

Infine, come affermato in precedenza, non dobbiamo dimenticare che, all'aumentare delle difficoltà di fermentazione, una strategia vincente o comunque attenuante il rischio di arresto può essere rappresentata dall'incremento della dose di inoculo, che ci permette di arrivare in fase finale di fermentazione con un maggior numero di cellule vive e con un tasso di attività migliore vista la minor diluizione di componenti nobili della membrana.

Fig. 2 - Schema riassuntivo delle diverse strategie di apporto dei nutrienti al mosto.

