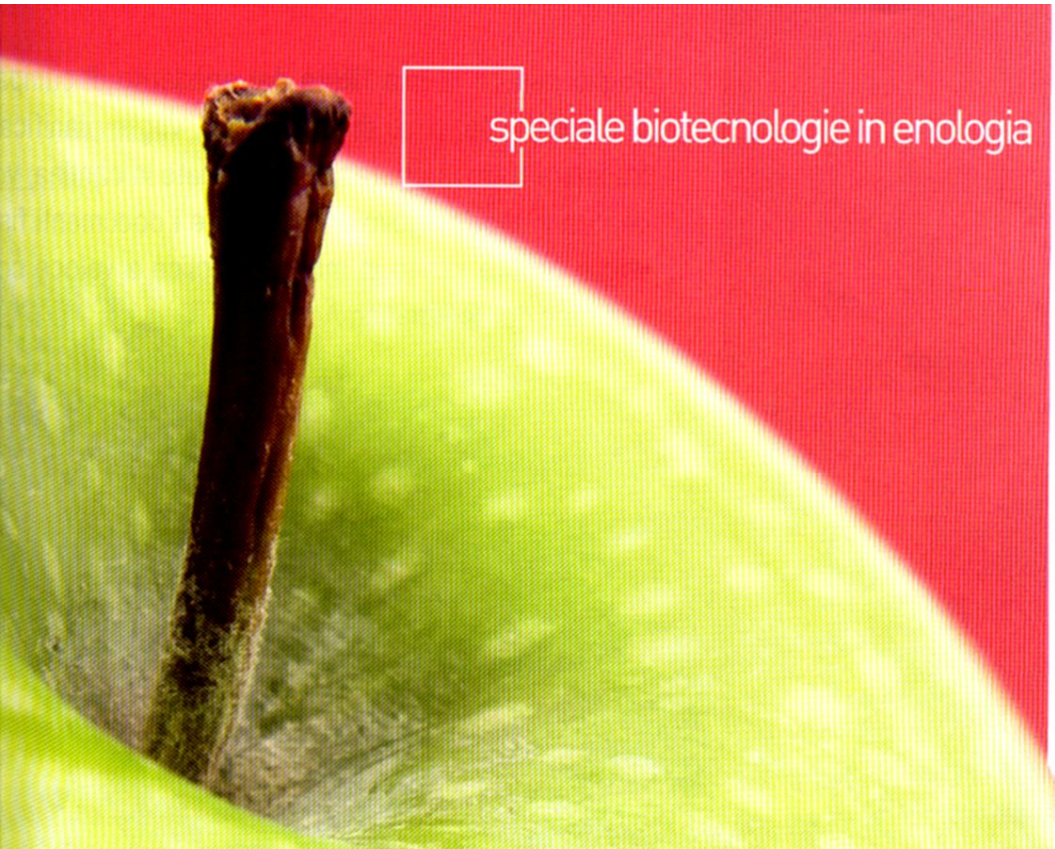


ACETALDEIDE? LIMITARLA SI PUÒ

UN NUTRIENTE PER LIEVITI MOSTRA L'INTERESSANTE CAPACITÀ DI LIMITARE LA PRODUZIONE DI ACETALDEIDE IN DIVERSE CONDIZIONI TECNOLOGICHE. POSITIVI I RIFLESSI SUL PROFILO SENSORIALE

ENRICO BOCCA**, ROBERTO FERRARINI*, ENRICO D'ANDREA**, ELISA DAI PRÈ**

L'acetaldeide (etanale CH_3CHO) è un potente composto aromatico presente in diverse bevande e cibi come succo di mela, birra, sidro, vino, formaggi, yogurt e burro nei quali, a seconda delle concentrazioni, può dar luogo a sentori apprezzati o, viceversa, sgradevoli. In enologia, essa assume un duplice ruolo durante la fermentazione alcolica, agendo sia da stimolo sia da inibente. Mentre bassi livelli di acetaldeide possono essere stimolanti, alte concentrazioni di questo composto (sia intracellulari sia extracellulari) possono ritardare o inibire la fermentazione alcolica, con conseguenze quali fermentazioni stentate o arresti. L'acetaldeide è infatti estremamente polare e può determinare tanto stress idrico quanto la nota inibizione da etanolo sui lieviti.

Numerose sperimentazioni fanno riferimento a come, assicurando ai lieviti diversi elementi nutrizionali, si possano ottenere performance di fermentazione molto differenti in termini di cinetica e di metaboliti prodotti. Molti di questi meccanismi sono già conosciuti, altri sono tutt'ora oggetto di studio e approfondimento. In quest'ottica nella presente sperimentazione si introduce la variabile di un particolare attivante, studiato già per limitare la produzione di acidità volatile da parte dei lieviti.

A concentrazioni elevate l'acetaldeide può dar luogo a sentori erbacei e di mela verde.

DA DOVE VIENE L'ACETALDEIDE?

L'acetaldeide è un composto secreto durante la fermentazione alcolica. In tabella 1 sono rappresentati I diversi livelli di acetaldeide prodotti da lieviti appartenenti a specie e generi differenti. Nostre precedenti sperimentazioni non pubblicate confermano un'influenza intragenerica (*cerevisiae / bayanus ex uvarum*) nella tendenza alla produzione di acetaldeide.

Anche se gli zuccheri sono il substrato primario per la formazione di acetaldeide, anche il metabolismo degli aminoacidi, come l'alanina, può contribuire alla formazione di questo composto. L'acetaldeide viene prodotta principalmente durante la fase di crescita e può essere ri-catabolizzata nelle fasi intermedie e finali della fermentazione.

La produzione di acetaldeide è inoltre influenzata da alcuni parametri chimico–tecnologici quali la temperatura, l'ossigeno e la concentrazione di anidride solforosa.

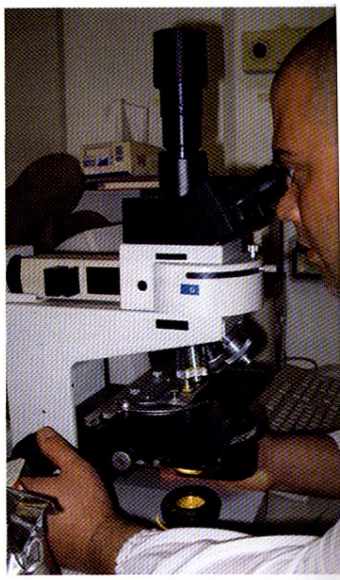
Lo scopo del presente lavoro è quello di concorrere alla comprensione dei meccanismi di produzione dell'acetaldeide per limitarne la concentrazione. Questo effetto, oltre a essere migliorativo dal punto di vista organolettico, permetterebbe una migliore gestione delle fermentazioni, aumentando nello stesso tempo la frazione di solforosa libera a parità di tenore di solforosa totale presente. Lo studio dei fattori che influenzano la produzione dell'acetaldeide, di conseguenza, consentirebbe di identificare quali sono gli interventi tecnologici atti alla produzione di vini con basso tenore di solforosa.

LIEVITI E ACETALDEIDE: UNA RASSEGNA

Lievito	Acetaldeide (mg L^{-1})
Saccharomyces cerevisiae	0.5–286
Saccharomyces uvarum	110–350
Saccharomyces bayanus	16–683
Saccharomyces oviformis	36–125
Saccharomyces fructuum	10–33
Saccharomyces ludwigii	30
Kloeckera apiculata	6–66
Torulaspora delbrueckii	0.5–5
Hanseniaspora guilliermondii	10.5–28
Metschnikowia pulcherrima	23–40

Tab. 1 - Livelli di acetaldeide prodotta da lieviti appartenenti a generi e specie diversi.

Fonti: Cortes et al. (1998), Di Stefano & Ciolfi (1982), Farris et al. (1983), Fleet & Heard (1993), Herraiz et al. (1989, 1990), Ibeas et al. (1997), Longo et al. (1992), Martínez et al. (1997), Millán & Ortega (1988), Rankine & Pocock (1969), Romano et al. (1994, 1997, 1998), Stratford et al. (1987), Weeks (1969).



La conta delle cellule vitali con camera di Burker e successiva lettura al microscopio comporta la possibilità di errori dovuti alla soggettività.

IL PIANO SPERIMENTALE

Sono state allestite due prove distinte: una in fermentazione primaria e una in presa di spuma in autoclave partendo da mosto. Il mosto utilizzato per le prove è stato analizzato e i dati analitici sono riportati in tabella 2.

Nella prova di fermentazione i fattori presi in considerazione sono stati: ceppo di lievito, concentrazione di anidride solforosa, concentrazione di rame ed effetto dell'aggiunta di attivanti di fermentazione. In particolare sono stati testati tre ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* scelti in base alla loro produzione di anidride solforosa: i ceppi V e S bassi produttori, il ceppo F elevato produttore. L'attivante utilizzato è V Starter Premium: una speciale miscela di scorze di lievito e tiamina già messa a punto per minimizzare la produzione di acido acetico in fermentazione. Questo attivante è stato ideato proprio con questa finalità partendo da un'accurata selezione fra diverse materie prime di questa ampia e non semplice categorie merceologica. Tale valutazione è stata eseguita non solo tenendo conto dei parametri classici, ma anche attraverso il controllo di fattori di crescita, al fine di migliorare le performance di fermentazione. In questa esperienza, in particolare, si introduce questo particolare attivante per verificarne l'influenza sulla produzione di acetaldeide.

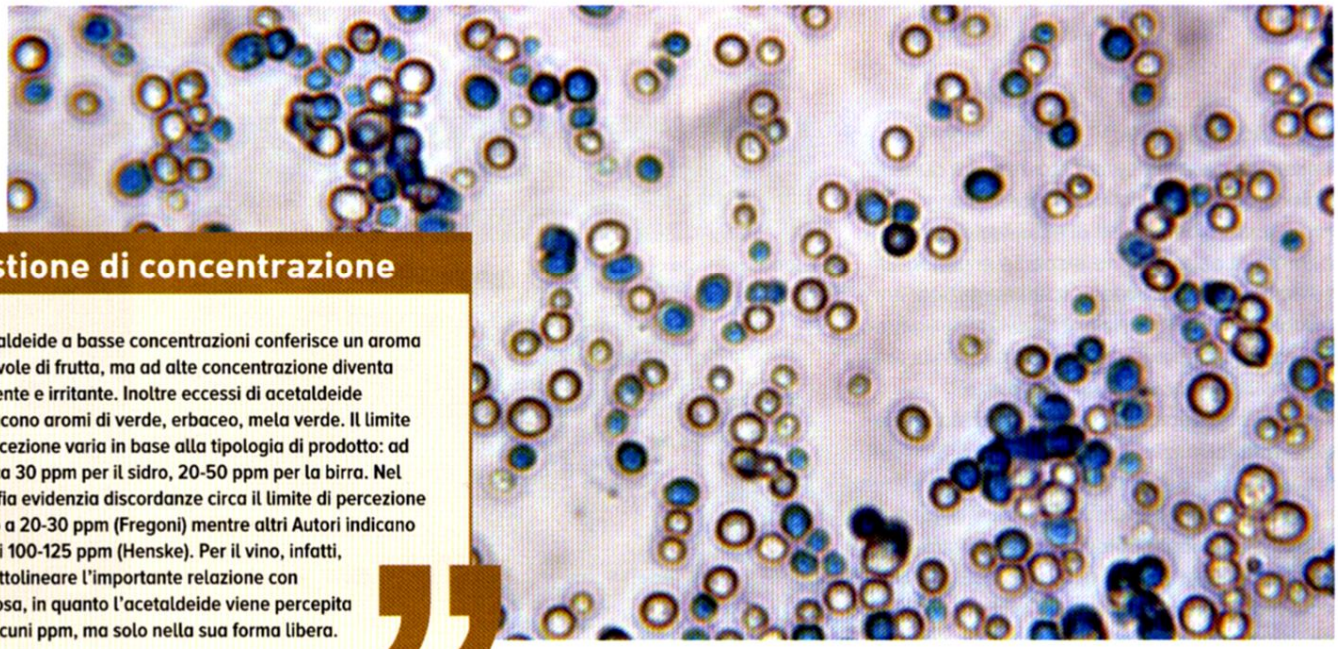
Sono state allestite 81 prove di fermentazione: i fattori presi in considerazione sono stati: ceppo (V, S e T), aggiunta di attivante (V Starter Premium 20 g/hL) e aggiunta di 5 mg/L di Rame. Tutte queste condizioni sono state valutate a tre concentrazioni diverse di anidride solforosa (34, 77 e 113 ppm).

Durante le prove di fermentazione primaria è stata controllata la cinetica fermentativa per

LA COMPOSIZIONE DEL MOSTO

Parametri	Valore	Unità di misura	Metodica analitica
Alcol	-	% vol.	Distillazione
Zuccheri	148	g/L	Enzimatica
Acidità volatile	0	g/L	Enzimatica
Cu	5	ppm	Assorbimento atomico
SO_2 libera	2,5 - 5,0	ppm	(CEE - Ripper)
SO_2 totale	34 - 40	ppm	(CEE - Ripper)

Tab. 2 - Parametri analitici del mosto utilizzato per le prove.



Cellule vitali evidenziate dalla conta con camera di Burker.

Questione di concentrazione

L'acetaldeide a basse concentrazioni conferisce un aroma piacevole di frutta, ma ad alte concentrazione diventa pungente e irritante. Inoltre eccessi di acetaldeide producono aromi di verde, erbaceo, mela verde. Il limite di percezione varia in base alla tipologia di prodotto: ad esempio è di circa 30 ppm per il sidro, 20-50 ppm per la birra. Nel vino la bibliografia evidenzia discordanze circa il limite di percezione che viene fissato a 20-30 ppm (Fregoni) mentre altri Autori indicano concentrazioni di 100-125 ppm (Henske). Per il vino, infatti, è appropriato sottolineare l'importante relazione con l'anidride solforosa, in quanto l'acetaldeide viene percepita già a livello di alcuni ppm, ma solo nella sua forma libera.

pesata e a fine fermentazioni sono state eseguite le analisi chimiche.
I test in presa di spuma sono stati impostati valutando in triplo due ceppi di lievito (V e S) a tre concentrazioni di anidride solforosa (34, 74 e 128 ppm) e nel corso della fermentazione in autoclave sono stati controllati: la vitalità dei ceppi mediante camera di Burker e Nucleocounter, il consumo di zuccheri e la produzione di acetaldeide.

COSA EVIDENZIANO I RISULTATI

Fermentazione primaria

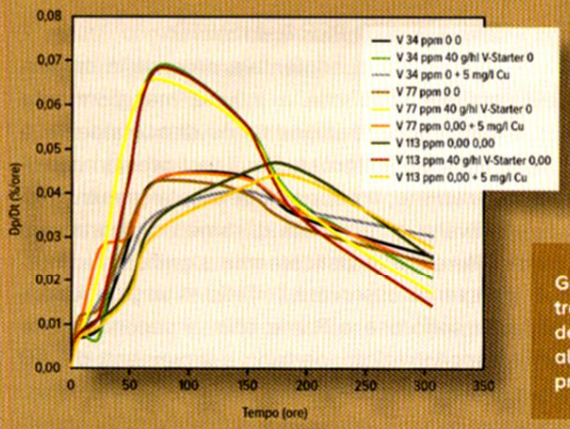
Le fermentazioni sono proseguite in maniera regolare fino all'esaurimento completo degli zuccheri. Nel grafico 1 sono riportati gli effetti cinetici dei diversi inibenti. Come atteso, l'aumento di anidride solforosa e rame determina un rallentamento nella cinetica fermentativa fin dalle prime fasi. Questo effetto inibente viene ridotto da un appropriato attivante. Dal punto di vista compositivo l'effetto dell'aggiunta di rame ha comportato un tendenziale aumento della concentrazione di acido acetico a fine fermentazione, confermando come questo metallo sia da considerarsi un fattore critico nella gestione delle fermentazioni.
Considerando l'effetto del ceppo, della concentrazione di rame e dell'aggiunta di attivante non vi sono differenze statisticamente significative nella produzione di acetaldeide

LA SIGNIFICATIVITÀ DEI DIVERSI FATTORI

Lievito	Condizione	Solforosa					
		34		77		113	
		Acetaldeide					
		Media	Dev.Std	Media	Dev.Std	Media	Dev.Std
Ceppo V	Mosto TQ	42	29,69848	42	4,242641	109,5	12,02082
Ceppo S	Mosto TQ	62,5	9,192388	50,5	10,6066	92,5	14,84924
Ceppo F	Mosto TQ	54	35,35534	46,5	4,949747	101	14,14214
Ceppo V	V-Starter Premium 20 g/hL	28,5	0,707107	55,5	14,84924	66,5	7,778175
Ceppo S	V-Starter Premium 20 g/hL	30	2,828427	51	7,071068	70,5	4,949747
Ceppo F	V-Starter Premium 20 g/hL	24,5	3,535534	42,5	6,363961	126,5	98,28784
Ceppo V	+ 5 mg/L Cu	49,5	3,535534	45	0	129,5	23,33452
Ceppo S	+ 5 mg/L Cu	68,5	6,363961	42,5	2,12132	119,5	6,363961
Ceppo F	+ 5 mg/L Cu	34,5	17,67767	117	31,1127	130	31,1127

Tab. 3 - Effetti dei parametri considerati sulla concentrazione finale di acetaldeide.

L'ANDAMENTO DELLA FERMENTAZIONE PRIMARIA



Graf. 1 - Confronto tra andamenti delle fermentazioni alcoliche nelle prove allestite.

INTERRELAZIONI TRA RAME, SOLFOROSA E ACETALDEIDE

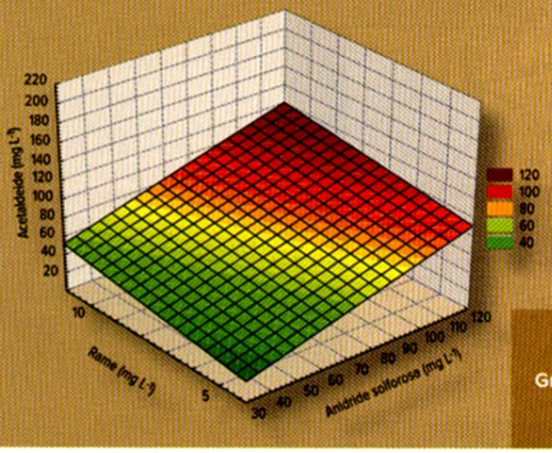


Grafico 2

(tabella 3). L'anidiride solforosa, nei più alti dosaggi, risulta essere invece la condizione determinante per elevate produzioni.
Risulta inoltre interessante valutare l'effetto combinato Solforosa e Attivante e si vede come l'analisi statistica renda tre classi distinte ($p<0,10$): fino a concentrazioni di 77 ppm l'anidride solforosa non determina aumenti nella produzione di acetaldeide, per concentrazioni di 113 ppm la produzione è statisticamente superiore, l'effetto però è ridotto in modo significativo dalla presenza di V Starter Premium (tabella 4).

Lo studio combinato dei diversi fattori evidenzia invece come vi siano effetti sinergici nella produzione di acetaldeide fra le variabili Anidride Solforosa e Rame: nel grafico 2 si vede come per concentrazioni di anidride solforosa di 113 ppm all'aumentare della presenza di rame la produzione di acetaldeide aumenti del 50% passando da 80 ppm a 120 ppm circa. Valutando inversamente le variabili a 10 ppm di rame, all'aumentare della solforosa l'acetaldeide aumenta del 100% passando da 60 a 120 ppm circa.

SOLFOROSA, ACETALDEIDE E NUTRIENTI

Solforosa	Attivante	Media	A	B	C
34	V St Pr	27,6667	****		
77	V St Pr	49,6667	****		
34	0	51,8333	****		
77	0	57,2500	****		
113	V St Pr	87,8333		****	
113	0	113,6667			****

Tab 4 - Effetto del V Starter Premium nel limitare la concentrazione finale di acetaldeide.

DAL LIEVITO PER IL LIEVITO

Dal quadro sperimentale emerge la conferma del fatto che a influire maggiormente sulla concentrazione finale di acetaldeide è l'anidride solforosa. Per i casi presi in considerazione, il ceppo di lievito, la presenza di attivanti e l'aggiunta di rame non portano a differenze statisticamente significative. Interessante osservare l'effetto sinergico Anidride solforosa e Rame che, a seconda delle concentrazioni, portano a incrementi dal 50 al 100% circa.

Fermentazione in autoclave

Nei test condotti in autoclave, si può osservare come l'acetaldeide venga prodotta e riassorbita più volte nel corso della fermentazione. Anche in questo caso, la risposta delle cellule di lievito a una presenza superiore di anidride solforosa si concretizza con una produzione di acetaldeide più consistente.

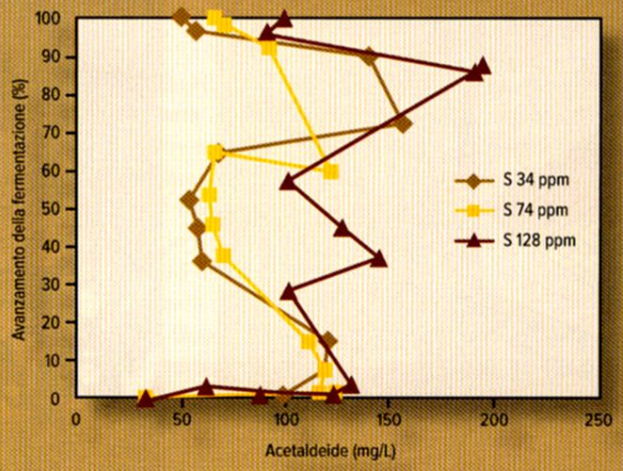
Il metabolismo del lievito in pressione (grafico 3) conferma precedenti esperienze pubblicate, condotte in fermentazione primaria (Millan, Ortega).

Per la prima volta viene anche testato uno strumento innovativo (Nucleocounter) per il conteggio della vitalità cellulare, confrontandone i risultati con il tradizionale controllo mediante camera di Burker (grafico 4).

I dati raccolti confermano come i due metodi messi a confronto siano coerenti; questa verifica si ritiene utile come strumento per il controllo delle fermentazioni, anche per i dati raccolti durante la fermentazione che evidenziano la regolarità della fermentazione stessa.

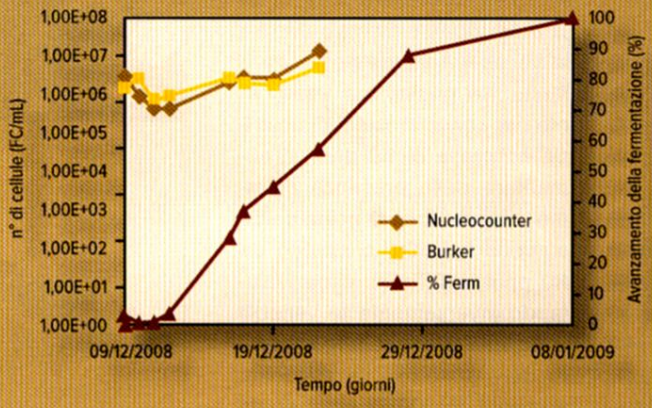
Molto interessante questo controllo anche per la celerità del metodo, tanto da essere stato inserito in un processo integrato (PFP – Processo di Fermentazione di Precisione) nei più avanzati protocolli aziendali di gestione delle fermentazioni: a differenza della classica camera di Burker, il dato viene ottenuto in soli due minuti di analisi e rende minimo l'errore che deriva dalla soggettività di una tradizionale conta al microscopio.

L'ACETALDEIDE IN AUTOCLAVE



Graf. 3 - Evoluzione della concentrazione di acetaldeide durante la rifermentazione in autoclave in corrispondenza di diverse concentrazioni di solforosa aggiunta.

LA CONTA CELLULARE

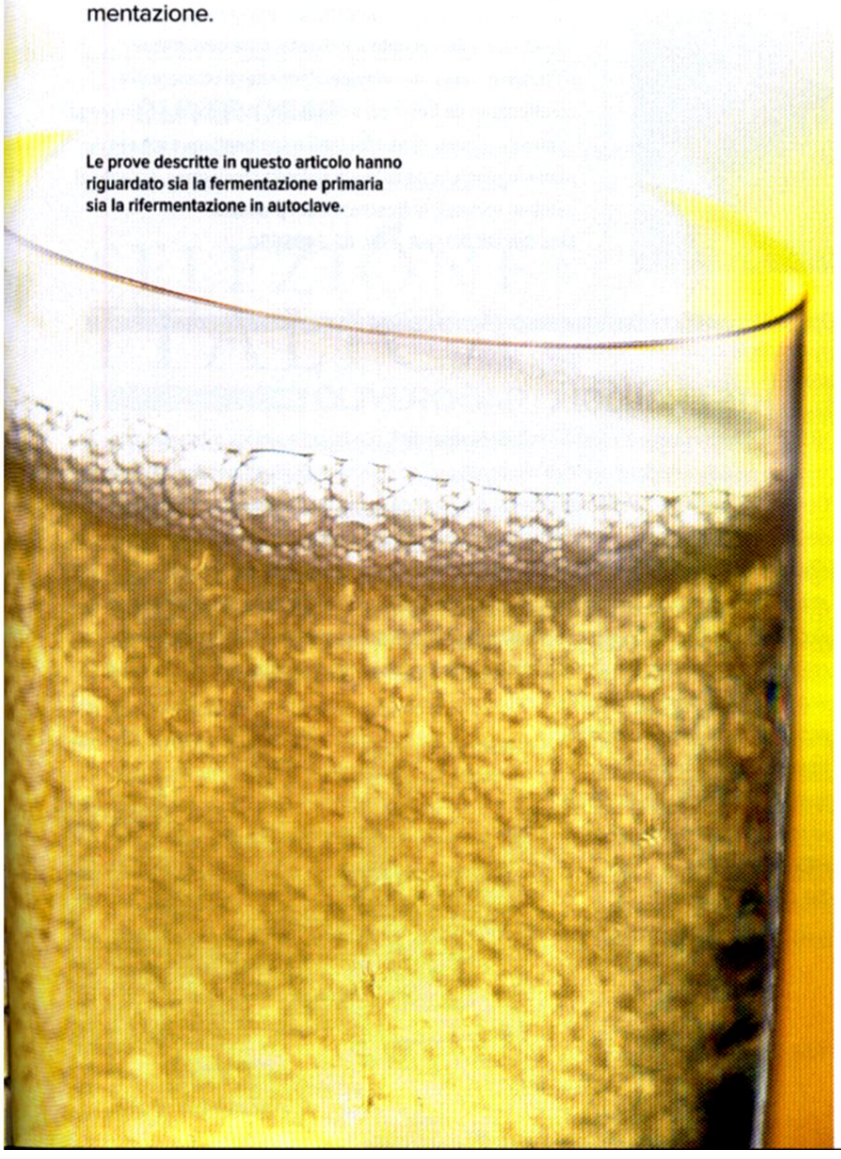


Graf. 4 - Confronto tra camera di Burker e Nucleocounter per la conta delle cellule vitali durante la rifermentazione in autoclave.

L'analisi combinata degli effetti dati dai fattori Anidride Solforosa e V Starter Premium evidenzia come questo attivante, studiato in origine per limitare la produzione di acido acetico, risulti efficace in modo significativo dal punto di vista statistico nel contenere la produzione di acetaldeide provocata da eccessi di anidride solforosa. Evidentemente in certe scorze di lievito sono presenti alcuni elementi importanti per regolare il metabolismo dei lieviti. Si sottolinea l'importanza dello studio di tali materie prime anche per il fondamentale ruolo che rivestono nel determinare la composizione finale del vino, non solo dal classico punto di vista cinetico, come confermato nella presente sperimentazione.

Le prove condotte in autoclave hanno consentito di valutare il profilo di produzione di acetaldeide, che è estremamente variabile nel corso della presa di spuma. I dati raccolti confermano quanto già evidenziato in bibliografia su fermentazioni primarie. Di certo interesse tecnologico è questa osservazione nella produzione di vini spumanti in quanto anche questo aspetto, se controllato, può concorrere alla produzione di vini più salubri, nella tendenza generale di limitare la presenza di anidride solforosa. ■

*Dipartimento di Scienze, Tecnologie, Mercati della Vite e del Vino - Università degli Studi di Verona - S. Floriano (VR)
**Enologica Vason - Pedemonte (VR)



Le prove descritte in questo articolo hanno riguardato sia la fermentazione primaria sia la rifermentazione in autoclave.