

LA GESTIONE DELLA FERMENTAZIONE NELLE VINIFICAZIONI LOW-INPUT, COME QUELLE IN REGIME BIO, DEVE ASSICURARE UNA NUTRIZIONE OTTIMALE AL LIEVITO

DIETE A MISURA DI LIEVITO

■ ROBERTO ZIRONI*, PIERGIORGIO COMUZZO*

La fermentazione alcolica rappresenta il cuore del processo produttivo enologico, il passaggio senza il quale la produzione di vino non potrebbe avvenire; per parafrasare un celebre spot pubblicitario di qualche anno fa, potremmo dire: "*no fermentation... no wine*".
Ovviamente, sappiamo bene che i fattori che determinano la qualità del prodotto finito sono molteplici, a partire dalle caratteristiche delle uve; tuttavia, sappiamo altrettanto bene che una corretta gestione del processo di trasformazione è fondamentale per preservare al meglio il livello qualitativo così faticosamente conquistato in vigneto.
Quest'ultima affermazione diventa tanto più vera in un'ottica di riduzione di additivi e di input tecnologici, ottica che in Italia si sta progressivamente diffondendo, non solo nel contesto delle produzioni biologiche, ma anche nell'ambito della cosiddetta vinificazione convenzionale.
Per farla breve, se la corretta gestione della fermentazione alcolica è una fase importante in un processo produttivo che potremmo definire *tecnologicamente tradizionale* (aggiunta di anidride solforosa in pre-fermentazione e impiego di lieviti selezionati), essa diventa addirittura cruciale in un processo di trasformazione *low-input* (senza cioè aggiunte di solfiti o addirittura di starter di lievito commerciale).
Ma cerchiamo di capire cosa, in tale contesto, intendiamo, per *corretta gestione della fermentazione*.

L'IMPORTANZA DELLA NUTRIZIONE DEL LIEVITO

C'è stata una fase, fino a qualche decennio fa, in cui l'enologo era portato a credere che l'impiego di microrganismi selezionati potesse rappresentare un fattore in grado di tutelarlo in modo assoluto dai rischi di un processo fermentativo deviato. In realtà, per chi si occupa di microbiologia enologica, l'importanza dei fattori nutritivi non è mai stata considerata una variabile di secondo ordine; già nella prima edizione di uno dei



La nutrizione azotata del vigneto influenza fortemente il contenuto in APA delle uve.

testi di riferimento utilizzati da generazioni di enologi, Zambonelli (1988) dava ampio spazio alla trattazione di quelli che sono i fattori nutritivi e di accrescimento necessari allo sviluppo dei lieviti. Fra questi, egli identificava i composti dell'azoto, alcuni fattori di accrescimento quali vitamine (es. biotina, tiamina) e alcuni elementi minerali (es. fosforo, zolfo e potassio). Con il progredire della ricerca e delle conoscenze, risulta oggi evidente che le esigenze nutrizionali dei lieviti sono in realtà più complesse; ne rappresentano un esempio composti quali acidi grassi a lunga catena e steroli, che vedremo essere strettamente legati al livello di aerazione del mezzo.

In assenza di una nutrizione bilanciata, gli stessi lieviti selezionati non sono in grado di garantire la completa trasformazione degli zuccheri in etanolo; ciò è tanto più vero nel momento in cui, in seguito a un minor utilizzo di input tecnologici, la competizione fra lo starter selezionato e i cosiddetti microrganismi selvaggi diventa per così dire più accesa.

FERMENTAZIONE LOW-INPUT: LE PROBLEMATICHE

In un mezzo povero di fattori di crescita, nel quale – a seguito di una mancata aggiunta di solfiti in pre-fermentazione – venga meno l'importante azione selettiva dell'anidride solforosa, il lievito selezionato si potrebbe trovare in condizioni di stress tali da compromettere il completamento del processo fermentativo, determinando un aumento del rischio di fermentazioni stentate e di arresti di fermentazione.

Scegliere il ceppo giusto

Un fattore da tenere in attenta considerazione, nel caso si voglia condurre la fermentazione alcolica in assenza di solfiti, è il fatto che, durante la fermentazione stessa, i lieviti medesimi possono produrre quantità significative di anidride solforosa. La scelta di vinificare a bassi livelli di additivo soddisfa specifiche richieste di mercato: utilizzare, in tali processi produttivi, lieviti che possono produrre elevate quantità di solfiti, non farebbe altro che vanificare gli sforzi compiuti in tal senso.

La capacità dei lieviti di produrre anidride solforosa è una caratteristica di ceppo ed è cosa nota da svariati decenni; vi sono ceppi che possono produrre fino a qualche centinaio di mg/L di solfiti durante la fermentazione. Rauhut e Werner sostengono, tuttavia, che la maggior parte dei ceppi oggi in commercio si possono considerare basso-produttori, visto che producono fino a 20 mg/L di anidride solforosa totale. Pochi ceppi sembrano però avere una produzione più alta, fino a 80 mg/L.

Scegliere il nutriente giusto

Secondo quanto riportato dagli stessi Autori, il ceppo non è l'unica variabile che determina tale produzione: anche la varietà di uva gioca un ruolo importante nel determinare la produzione naturale di solfiti, così come la composizione del mosto.

Da questo punto di vista, la nutrizione assume un'altra volta una posizione centrale. I lieviti appartengono a un gruppo di microrganismi che hanno la capacità di sintetizzare aminoacidi solforati utilizzando una fonte azotata e solfato inorganico; in tale processo, i solfiti, assieme all'idrogeno solforato, sono un intermedio metabolico e come tali possono essere secreti dalle cellule nel corso del loro ciclo vitale.

Una più elevata concentrazione di solfati nel mosto, dunque, realizzata ad esempio mediante l'aggiunta di solfato di ammonio come nutriente, può portare

SOLFITAZIONE E CARICHE MICROBICHE

Sappiamo bene come i ceppi selezionati siano in grado di tollerare concentrazioni di solfiti superiori rispetto ai microrganismi selvaggi. In presenza di solforosa, il rapporto fra le popolazioni di lieviti selezionati e indigeni rilevabile nel mosto dopo l'inoculo è nettamente spostato verso le prime e quindi lo starter può facilmente prendere il sopravvento nel mezzo. Nella tabella sotto, si osserva come già con 30 mg/L di solfiti aggiunti si assista alla totale scomparsa dei non *Saccharomyces* (apiculati), a vantaggio del ceppo selezionato. In assenza dell'additivo, invece, la situazione si fa più critica: le due popolazioni presentano circa lo stesso ordine di grandezza e ciò può ridurre la competitività dello starter inoculato.

Campione	Lieviti (*Saccharomyces*) (UFC/mL)	Lieviti (non *Saccharomyces*) (UFC/mL)
Mosto solfitato (30 mg/L)	1,0 x 10 6	n.d.
Mosto non solfitato	9,3 x 10 6	4,7 x 10 6

n.d.: non determinabile.

Effetto della solfitazione sulla carica microbica di un mosto di Pinot grigio inoculato con lieviti selezionati; zuccheri riducenti 190 g/L; campione analizzato 12 ore dopo l'inoculo.

Fonte: Progetto Orwine.

a un innalzamento dei tenori di solfiti naturalmente prodotti dal lievito. Nel grafico 1, ad esempio, si osserva chiaramente come i due ceppi di lievito, uno alto-produttore e uno basso-produttore di anidride solforosa, reagiscano diversamente alla presenza di solfato nel mezzo; il primo è in grado di utilizzare tale nutriente producendo quantità maggiori di solforosa, mentre il secondo non sembra in grado di fare altrettanto. La sostituzione del solfato di ammonio con il fosfato non determina un incremento della concentrazione in solfiti; per tale motivo è stato suggerito di utilizzare fosfato di ammonio come nutriente azotato per la fermentazione di mosti da uve biologiche.

Massimizzare la SO_2 libera

Un'ultima considerazione, anche se indubbiamente non per importanza, va fatta riguardo la necessità – fondamentale nel caso in cui si scelga una filiera low-input – di massimizzare l'efficacia dell'anidride solforosa presente, riducendo la concentrazione nel mezzo di composti che legano la SO_2 e ne abbattono la frazione libera.

È noto che la produzione di acetaldeide e delle altre sostanze leganti dipende dal ceppo di lievito e dalla composizione naturale del mosto; ancora una volta, però, la nutrizione gioca un ruolo chiave nel determinarne la formazione. In particolare, la presenza di una vitamina, la tiamina, può ridurre sensibilmente la concentrazione di tali composti, incrementando così il rapporto fra anidride solforosa libera e totale; la semplice aggiunta di nutrienti azotati non svolge il medesimo effetto (grafico 2).

La tiamina, infatti, essendo un coenzima essenziale per lo svolgimento della fermentazione alcolica, ne consente il completamento, evitando l'accumulo di intermedi quali il piruvato o l'acetaldeide, che avrebbero un effetto deleterio sulla combinazione dei solfiti.

GESTIRE LA NUTRIZIONE

Da tali premesse, emerge come la logica di *corretta gestione della fermentazione* in un'ottica low-input debba considerare necessariamente l'aumentato livello di rischio microbiologico dovuto al mancato o ridotto impiego di solfiti in fermentazione, contenendo allo stesso tempo la produzione naturale di anidride solforosa e di composti leganti l'additivo da parte del lievito fermentante. L'aggiunta di tiamina e il preferire l'impiego di fosfato di ammonio a quello del solfato rappresentano quindi un buon punto di partenza per ottimizzare la gestione dell'anidride solforosa, nel caso in cui vogliamo vinificare a ridotti livelli di tale additivo.

Resta da discutere l'aspetto legato all'aumentato livello di rischio microbiologico, dovuto alla mancanza dell'azione selettiva dei solfiti sui microrganismi presenti. Si è detto che in assenza di anidride solforosa, infatti, viene meno l'effetto dell'additivo sul controllo e sulla riduzione delle popolazioni microbiche indigene. In tali condizioni, si può optare per un inoculo in dosi più elevate, così come è indubbiamente consigliabile curare maggiormente l'acclimatazione del ceppo selezionato prima dell'aggiunta alla massa da fermentare; ancora una volta, tuttavia, l'attenzione agli aspetti nutrizionali diventa importante.

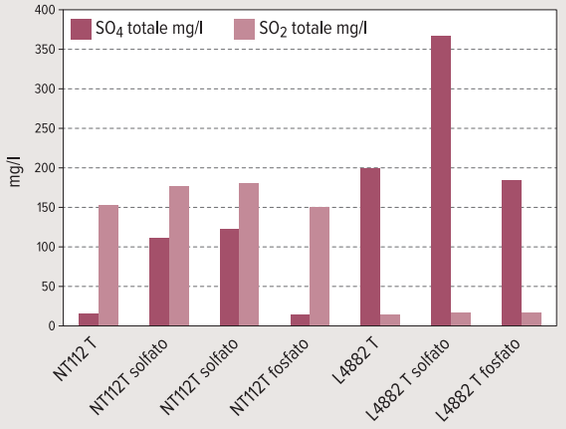
I fattori da considerare sono diversi, e strettamente interconnessi: sostanze azotate (intese come azoto assimilabile – APA) , sostanze lipidiche (acidi grassi insaturi e steroli) e aerazione.

L'APA

Saccharomyces cerevisiae è in grado di utilizzare diverse tipologie di fonti azotate, sostanzialmente ammonio e aminoacidi liberi (ad eccezione della prolina); non utilizza invece azoto proteico. Una volta assimilate, tali fonti azotate vengono utilizzate per costituire le proteine necessarie allo sviluppo della cellula: l'ammonio viene fissato a strutture carboniose, mentre gli aminoacidi assimilati subiscono reazioni enzimatiche complesse (transaminazione), attraverso le quali la cellula produce il proprio pool aminoacidico.

Secondo quanto riportato da Ribéreau-Gayon *et al.* (2006), una buona percentuale di mosti presenta problemi di carenze azotate: da un'indagine compiuta nella zona di Bordeaux, nell'arco di tre annate (1996-1999),

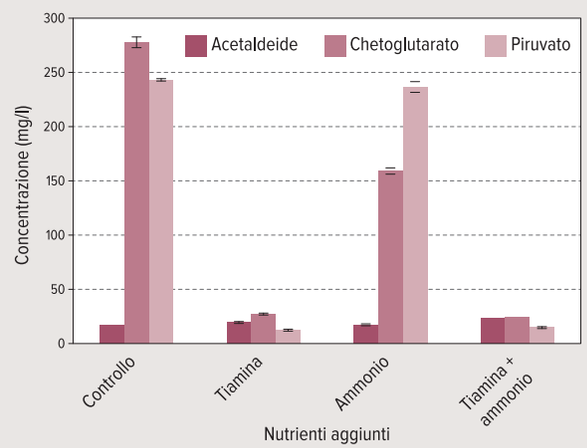
NUTRIZIONE DEL LIEVITO E PRODUZIONE DI SOLFITI



Graf. 1 - Nutrizione del lievito e produzione di solfiti. T: mosto testimone; solfato: mosto aggiunto di solfato di ammonio; fosfato: mosto aggiunto di fosfato di ammonio; NT112: ceppo alto-produttore di solfiti; L4882: ceppo basso-produttore di solfiti; SO_2: anidride solforosa; SO_4: solfati.

Fonte: Progetto Orwine, Cottereau, 2007; www.orwine.org.

NUTRIZIONE DEL LIEVITO E INATTIVAZIONE DELLA SOLFOROSA



Graf. 2 - Nutrizione del lievito e produzione di composti leganti l'anidride solforosa.

Fonte: Progetto Orwine, Rauhut e Werner, 2009.

EFFETTI DELL'AERAZIONE

Tempo (giorni)	Aerobiosi limitata (beute chiuse con tappo in cotone)		Anaerobiosi (beute chiuse con gorgogliatore)	
	Zuccheri residui (g/L)	Cellule totali (10^7/mL)	Zuccheri residui (g/L)	Cellule totali (10^7/mL)
7	86	-	140	-
14	2	-	75	-
21	2	10,7	75	5,0

Inoculo iniziale: 10^6 cellule/mL.

Tab. 1 - Effetto dell'aerazione sulla fermentazione di un mosto con elevato contenuto zuccherino (270 g/L).

Fonte: Ribéreau-Gayon et al., 2006.

è emerso che ciò è vero per il 20% circa dei vini bianchi e il 50% dei rossi. Sebbene a nostra conoscenza non esistano altre indagini scientificamente strutturate che lo dimostrino, il problema potrebbe essere ancora più sentito nelle zone sud dell'Europa, dove i tenori in APA delle uve sono tendenzialmente inferiori.
Nel caso poi di mosti da uve biologiche (quelli per i quali si dovrebbero utilizzare maggiormente tecnologie produttive low-input), è stata spesso riscontrata una scarsa concentrazione di elementi nutritivi azotati, presumibilmente legata ai minori apporti di azoto in vigneto.
La scarsità di azoto assimilabile nel mosto può essere anche ricondotta alla già menzionata aumentata competitività dei microrganismi selvaggi, dovuta alla non-solfitazione del mosto stesso; una maggior carica di lieviti indigeni consuma più rapidamente l'azoto assimilabile presente, soprattutto se andiamo a ritardare per qualsiasi motivo (es. illimpidimento e/o chiarifica del mosto) il momento dell'inoculo del ceppo selezionato. Capita frequentemente, in questi casi, di trovare tenori di APA inferiori ai 100 mg/L; il monitoraggio di tale parametro diventa quindi fondamentale per una razionale gestione del processo. In caso di quantità inferiori ai 130 mg/L sarebbe consigliabile reintegrarne il contenuto, ma senza eccedere nell'aggiunta, mantenendo un livello inferiore ai 200 mg/L, in modo da non avere pericolosi residui inutilizzati alla fine della fermentazione alcolica.

L'aerazione e gli acidi grassi

La sola aggiunta di azoto assimilabile non è tuttavia sufficiente a tutelarci in modo assoluto dal rischio di arresti fermentativi. L'aerazione, in particolare, è un'altra pratica oggi ritenuta necessaria.
È stato dimostrato che non solo la presenza di ossigeno aumenta la capacità del lievito di utilizzare le sostanze azotate, ma anche che in questo caso la fermentazione alcolica decorre con minore rischio di arresti, anche in situazioni che possono ritenersi difficili.
Ne è un esempio la fermentazione di taluni mosti a elevato tenore zuccherino; in tale circostanza, le fasi finali della fermentazione stessa avvengono in condizioni critiche per i lieviti, che si ritrovano con un'elevata quantità di zuccheri ancora da fermentare, in un mezzo ormai privo di fattori di crescita. L'enologo, in tali circostanze, si ritrova nelle fasi finali del processo con un ceppo selezionato che ormai è in piena fase di declino e una concentrazione di zuccheri fermentescibili ancora elevata. I dati della tabella 1 dimostrano come, anche in queste situazioni difficili, una blanda aerazione del mosto consenta di completare al meglio il processo fermentativo, mantenendo un numero di cellule superiore al campione fermentato in completa anaerobiosi.
L'aerazione, infatti, stimola la produzione di steroli e acidi grassi insaturi da parte del lievito, composti essenziali per la costituzione delle membrane cellulari; questa avviene in fase di crescita esponenziale, ovvero nelle fasi iniziali della fermentazione; tali composti rimangono dunque disponibili nel mezzo e consentono la maggior sopravvivenza delle cellule nelle fasi finali del processo di trasformazione.
Se nel caso di sostanze azotate e vitamine si parla di fattori di crescita, in questo caso si parla di fattori di sopravvivenza. L'aggiunta di steroli non è ovviamente contemplata in vinificazione (sono infatti sostanze liposolubili) e l'uva, del resto, ne possiede già una propria dotazione naturale, la pruina. Una strategia tuttavia utile a incrementarne i livelli è l'aggiunta di alcuni derivati di lievito (es. scorze, o lieviti inattivi); essi non solo sono in grado di detossificare il mezzo da alcuni composti nocivi per il lievito (es. acidi grassi a 6, 8 e 10 atomi di carbonio), ma possono anche apportare steroli e acidi grassi insaturi, in quantità tali da consentire la ripresa di processi fermentativi stentati.

I COMPOSTI CHE CATTURANO LA SO_2

Sappiamo che l'anidride solforosa si trova nel vino in due forme, quella libera e quella legata; in particolare, l'acetaldeide, ma anche altri composti come l'acido piruvico e l'acido α-chetoglutarico, prodotti naturalmente nel corso dei processi fermentativi, sono in grado di legare più o meno stabilmente l'additivo riducendone la frazione libera e quindi l'efficacia. I composti leganti sono prodotti nelle fasi iniziali del processo fermentativo, quando cioè la produzione di etanolo non è ancora significativa; nel caso si decida di operare riducendo significativamente le aggiunte di solfiti, diventa di fondamentale importanza ridurre al minimo la presenza di tali composti.

NON C'È SPAZIO PER L'EMPIRISMO

In base a quanto detto, dunque, un processo che noi, in modo forse un po' semplicistico, abbiamo definito low-input, è in realtà una trasformazione high-input. Quello che cambia è il concetto di input stesso: andiamo cioè a sostituire un unico input tecnologico, indubbiamente utilissimo, ma nocivo per la salute del consumatore, con una molteplicità di altri input a basso impatto sulla salute, che vanno gestiti sulla base di conoscenze precise e non empiriche o lasciate al caso.
Vinificare secondo tale approccio non è quindi una scelta facile; il basso impatto sulla salute si traduce cioè in un alto impatto in termini di conoscenze, controlli e tecnologie alternative applicate. ■

La Bibliografia può essere richiesta a costanza.fregoni@tecnichenuove.com

**Dipartimento di Scienze degli Alimenti Università degli Studi di Udine*

© RIPRODUZIONE RISERVATA