

SE IL LIEVITO HA FAME

LA CORRETTA NUTRIZIONE DEI LIEVITI È UN PRESUPPOSTO FONDAMENTALE PER FERMENTAZIONI REGOLARI E COMPLETE

■ GUIDO PARODI*

L'andamento della fermentazione nel processo di vinificazione è strettamente legato alla composizione del mosto, substrato di crescita per i lieviti. Come tutti gli organismi viventi, i lieviti necessitano di carbonio, la cui fonte è rappresentata dal glucosio e fruttosio presenti in quantità non limitante nei mosti. Seguono l'azoto e, tra i fattori di crescita, le vitamine e i sali minerali. Altro ruolo hanno i composti definiti fattori di sopravvivenza, steroli e lipidi; effetto non trascurabile riveste poi l'ossigeno.

CIÒ CHE NON DEVE MANCARE

L'**azoto** è elemento plastico indispensabile in quanto entra in tutti i processi in cui sono coinvolte le proteine. È importante nella fase di moltiplicazione cellulare per la produzione di nuovo materiale organico, è fondamentale per la sintesi di proteine enzimatiche, entra nella composizione dei sistemi di trasporto degli zuccheri, partecipa alla sintesi di composti aromatici. La forma di azoto assimilata dai lieviti è sia quella amminica (organica) sia quella ammoniacale (inorganica). Nel mosto la somma di queste due forme può variare naturalmente tra 40 e 350 mg/l, ma non sono da escludere valori limite al di fuori di questo range. Se guardiamo la distribuzione naturale dell'azoto totale nel mosto (tabella 1), ci rendiamo conto che la frazione amminica è da 3 a 10 volte superiore alla frazione di azoto ammoniacale. Durante la maturazione dell'uva si osserva una progressiva diminuzione del contenuto in azoto ammoniacale, compensata dall'aumento degli amminoacidi tra i quali spiccano la serina, l'alanina, l'arginina, l'acido glutammico e la prolina. Grande importanza per la nutrizione rivestono la velocità e la dinamica di assimilazione delle diverse forme azotate da parte dei lieviti. L'azoto inorganico viene metabolizzato molto rapidamente e

QUANTI TIPI DI AZOTO NEL MOSTO?

Frazione azotata	% su azoto totale
Azoto ammoniacale	3 – 10 %
Azoto amminico	25 – 30 %
Peptidi (glutatione etc.)	25 – 50 %
Proteine	3 – 10 %
Altre forme (vitamine, ac. nucleici etc.)	micro quantità

Tab. 1 - Distribuzione naturale dell'azoto nel mosto.

prima di molti amminoacidi. Nel complesso, al contrario, l'azoto organico è assorbito in maniera più lenta e dilazionata nel tempo rispetto alla forma inorganica. Alla disponibilità di azoto assimilabile sono correlate molte funzioni del lievito. Maggiore è la concentrazione iniziale di azoto, più elevato è il numero di cellule che si sviluppano nel mezzo. Questo fatto come vedremo ha altre ripercussioni sull'andamento della fermentazione. Influisce sulla produzione di acidità volatile, sulla velocità di fermentazione e sul metabolismo dello zolfo. È ampiamente noto il fatto che quando una vasca di mosto in fermentazione tende ad andare in riduzione, ossia ad accumulare prodotti solforati, è sufficiente un apporto di azoto per eliminare il problema. I solfati e i solfiti introdotti nel lievito entrano in una via metabolica di riduzione il cui prodotto finale è lo ione solfuro, destinato alla sintesi degli amminoacidi solforati metionina e cisteina. Se il lievito è in condizioni di carenza d'azoto, viene a mancare l'accettore del solfuro, che deve essere liberato sotto forma di idrogeno solforato. Alcuni lieviti, selezionati per la loro scarsa produzione di H_2S, si fermano allo stato di riduzione precedente, per cui in carenza di azoto liberano SO_2. L'azoto interviene poi nella produzione da parte dei lieviti di alcoli superiori ed esteri, composti che possono avere un importante ruolo nell'espressione aromatica dei vini. L'azoto inorganico, segue prevalentemente vie metaboliche che incentivano la produzione di esteri; l'azoto organico, favorisce piuttosto la formazione di alcoli superiori.
Non dobbiamo tralasciare il ruolo dei **micronutrienti**, vitamine e sali minerali. Le prime sono importanti bioregolatori che intervengono soprattutto in condizioni di stress, aiutando il corretto svolgimento della fermentazione. Le più note sono: la tiamina (Vit. B1), che interviene direttamente sull'attività delle cellule di lievito rendendo la fermentazione più veloce; la niacina (Vit. B3), implicata nelle funzioni di riparazione del Dna, che aiuta a regolare la produzione e l'equilibrio energetico della cellula; l'acido pantotenico (Vit. B5), indispensabile nella sintesi degli amminoacidi solforati metionina e cisteina; l'cido folico (Vit. B9), che partecipa alla sintesi degli acidi nucleici e di alcuni amminoacidi.
I microelementi minerali (magnesio, manganese, zinco...) in generale rivestono il ruolo di cofattori enzimatici, ossia permettono il buon funzionamento delle vie metaboliche catalizzate da enzimi, glicolisi in primis, trasporto attivo, sintesi proteica.
Di vitale importanza è il ruolo dei **lipidi** e il loro metabolismo. Per tutte le attività cellulari è indispensabile che la membrana adempia al meglio alle sue funzioni di trasporto e di regolazione degli scambi tra il substrato e il citoplasma.

LO SCHEMA DELLA PROVA

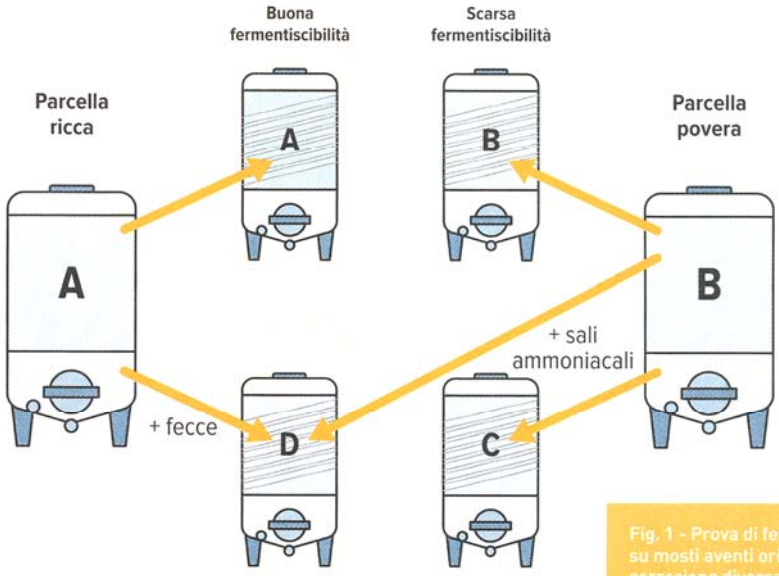


Fig. 1 - Prova di fermentazione su mosti aventi origine e correzione diverse.

UN CASO PRATICO

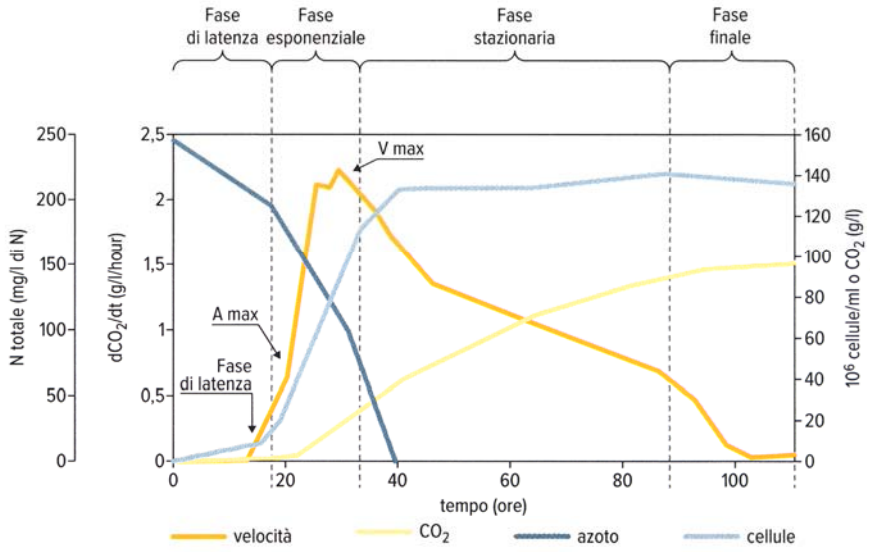
A corollario di questa rapida panoramica sui principali composti che intervengono nella nutrizione del lievito è interessante riportare una semplice esperienza (figura 1).
Presi due mosti di uve bianche, uno derivante da una parcella di vigneto vigorosa, dunque naturalmente ben dotata di azoto assimilabile, l'altro derivante da una parcella povera, dunque naturalmente carente in azoto, sono state allestite 4 prove avviate alla fermentazione:

- A: mosto naturalmente ricco;
- B: mosto naturalmente povero;
- C: mosto povero con aggiunta di soli sali ammoniacali;



I mosti da uve raccolte su ceppi più vigorosi saranno naturalmente più ricchi in azoto.

L'EVOLUZIONE DELLA FERMENTAZIONE



Graf. 1 - Curve che illustrano la normale cinetica della fermentazione alcolica.

- D: mosto povero con aggiunta di sali ammoniacali oltre a fecce di chiarifica del mosto A.

Risultato:

- nel mosto B si ha arresto di fermentazione con circa 100 g/l di zucchero residuo;
- nel mosto C si ha ancora arresto di fermentazione con circa 15 g/l di zucchero residuo;
- nei mosti A e D la fermentazione si chiude correttamente.

Questa prova richiama alla memoria la famosa legge del minimo formulata dal Liebig, secondo la quale il livello di produzione di una coltura, in questo caso microbica, è limitato dall'elemento che si trova in quantità più scarsa in rapporto ai bisogni della coltura stessa. L'azoto non è il solo elemento carente nel mosto B, infatti il solo ripristino della sua dotazione (caso C) ne migliora la fermentescibilità ma non è risolutivo. Risolutiva nel caso D è l'ulteriore aggiunta delle fecce di A, che apportano tutti i micronutrienti e i fattori di sopravvivenza di cui non è possibile controllare mosto per mosto la dotazione.

LE QUATTRO FASI DELLA FERMENTAZIONE

Per parlare di alimentazione dei lieviti si deve infine fare riferimento alla cinetica del processo di fermentazione dei mosti rappresentata dalle curve in grafico 1, che illustrano l'evoluzione della popolazione microbica e i principali cambiamenti che avvengono nel substrato.

La fase iniziale, detta di latenza, è il momento nel quale i lieviti devono adattarsi al nuovo substrato e alle nuove condizioni di vita. La durata di questa fase varia in funzione del ceppo di lievito e delle caratteristiche del substrato. È caratterizzata da una attività fermentativa molto ridotta. Non si ha ancora aumento di popolazione microbica, ma avvengono per contro l'assorbimento di fattori di crescita e un primo consumo di azoto da parte del lievito.

Segue la fase di crescita esponenziale del lievito, nella quale si sviluppano 4-6 generazioni di cellule e si ha il consumo di quasi tutto l'azoto assimilabile, che diviene l'elemento limitante. Durante questa fase la fermentazione raggiunge la sua velocità istantanea massima. Tuttavia al suo termine solo il 30% circa dello zucchero risulta consumato. L'apporto di APA in questa fase stimola molto la moltiplicazione cellulare, con conseguente forte aumento del numero di cellule e della velocità massima di fermentazione. La successiva fase stazionaria, vede il numero di cellule rimanere pressoché invariato e il consumo del rimanente 70% degli zuccheri. La funzione chiave è ora il trasporto degli zuccheri all'interno della cellula: maggiore e più regolare è il trasporto, migliore è il processo fermentativo. Questa funzione è favorita dalla disponibilità di azoto, che serve alla sintesi dei trasportatori. In questa fase l'apporto di azoto induce aumento della velocità istantanea di fermentazione senza far aumentare sensibilmente il numero di cellule. Questo effetto è tuttavia decrescente man mano che si va verso la fase finale. La fase finale di esaurimento degli zuccheri è espressione della tolleranza del lievito all'alcol, che dipende sia da fattori genetici sia dalla corretta gestione dell'alimentazione e disponibilità di acidi grassi e steroli. L'apporto di nutrienti ai lieviti deve essere fatto tenendo conto di questa successione di fasi, del diverso effetto che i nutrienti hanno nei differenti momenti e della composizione del mosto iniziale.

IL DIVERSO ASSORBIMENTO DEGLI AMMINOACIDI

Gli amminoacidi, nel corso della fermentazione alcolica, vengono assorbiti dai *Saccharomyces* in modo differenziato, seguendo una dinamica scalare che permette di suddividerli in diversi gruppi (tabella sottostante). Quelli del gruppo A sono assorbiti abbastanza rapidamente. Seguono quelli elencati nel gruppo B e, solo dopo che questi sono stati completamente metabolizzati, si passa al gruppo C. Il gruppo D è rappresentato dalla prolina che, pur essendo molto abbondante, sovente non viene completamente utilizzata in quanto la sua assimilazione è vincolata alla presenza di ossigeno.

Gruppo A Arg, Asp, Asn, Gln, Lys, Ser, Thr, Ile, Leu	Gruppo B His, Val, Glu, Ala, Phe, Met	Gruppo C Gly, Trp, Tyr	Gruppo D Pro
Assimilazione rapida	Assimilazione lenta	Assimilazione quando gruppo A e B esaurito	Assimilazione parziale

QUANDO E COME INTERVENIRE

Non è possibile indicare un protocollo preciso di nutrizione, ma alla luce di tutte queste



La valutazione dell'Azoto Prontamente Assimilabile contenuto naturalmente nelle uve ammostate è il punto di partenza per l'impostazione di una corretta nutrizione dei lieviti, laddove necessaria.

considerazioni è possibile suggerire linee guida per operare il più correttamente possibile.
La **determinazione dell'APA iniziale** rimane indispensabile per avere un'idea del livello di carenza nutrizionale dei mosti, interpretando questo valore come un indice delle condizioni nutrizionali generali del mosto, sapendo che dietro la carenza di azoto si può nascondere la carenza di altri fattori di crescita e sopravvivenza. La soglia minima di azoto per condurre correttamente una fermentazione è indicata da differenti autori sui 150 mg/l. La carenza è tanto più grave quanto maggiore è il grado alcolico potenziale del mosto: indicativamente oltre i 12% vol si devono sommare ai 150 mg/l altri 30 mg/l di APA per ogni grado alcol aggiuntivo.
In caso di necessità si potrà quindi intervenire a più riprese nelle diverse fasi della fermentazione con i differenti strumenti che oggi abbiamo a disposizione. In fase di **reidratazione del lievito secco attivo** è sempre più diffuso l'impiego di specifici preparati a base di scorze di lievito in grado di apportare al nostro lievito elementi minerali, vitamine e soprattutto acidi grassi e steroli. La somministrazione di questi particolari nutrienti in fase di reidratazione permette di fornire elementi strategici solo al lievito scelto senza metterli a disposizione degli altri microrganismi indigeni presenti in vasca. Non si evidenzia alcun particolare cambiamento nella fase iniziale della fermentazione, ma il loro vero beneficio si coglie in fase finale, risultando aumentata la resistenza del lievito all'alcol.
Al momento dell'**inoculo**, salvo casi di forte carenza, non è ragionevole apportare dosi importanti di azoto che, stimolando la moltiplicazione cellulare, fanno aumentare il numero di cellule e il picco di velocità massima di fermentazione, con il rischio di avere molte cellule ma di scarsa qualità. In questa fase si rivelano invece interessanti i nutrienti a base di azoto organico. L'assimilazione degli amminoacidi avviene sfruttando meccanismi di trasporto attivo attraverso proteine di membrana. Il trasporto attivo richiede energia e man mano che le cellule invecchiano tra i meccanismi che vengono inattivati vi è l'assimilazione degli amminoacidi stessi. Questa avviene agevolmente entro i primi 4 gradi di alcol. L'impiego iniziale di nutrienti a base di lieviti inattivati, che apportano azoto in forma amminica, facente funzione di *azoto a lenta cessione*, favorisce l'accumulo nella cellula di forme di azoto nobili che saranno successivamente utilizzate, non soltanto per la costruzione di nuove strutture cellulari, ma anche come precursori aromatici. Se la carenza azotata è importante, la sua correzione non può fare affidamento solo sull'apporto di nutrienti organici, ma dovrà sempre essere integrata con azoto di tipo ammoniacale. Nella scelta tra il solfato e il fosfato d'ammonio dobbiamo principalmente tener presente che l'aggiunta di 10 g/hl di solfato d'ammonio portano ad un aumento di 70 mg/l di solfati, che questa non è la sola fonte e che in Italia esiste il limite legale di 1 g/l.
All'**inizio della fase stazionaria** (consumo 35% degli zuccheri) resta sempre valido il consiglio di addizionare un'aliquota di azoto (20-30 mg/l) a cui dovrà seguire (metà fermentazione) un apporto di ossigeno. In questa fase l'azoto stimola molto meno la moltiplicazione cellulare mentre favorisce l'attivazione del trasporto degli zuccheri all'interno della cellula. L'ossigeno permette la sintesi da parte dei lieviti di steroli, ma solo se le temperature non superano i 25°C. Verso la **fine della fase stazionaria**, soprattutto se il grado alcolico potenziale è elevato e l'attività dei lieviti rallenta, è utile ricorrere all'aggiunta di scorze di lievito. Queste in parte agiscono apportando steroli e lipidi di cui beneficiano le membrane cellulari, e in parte adsorbendo cataboliti inibitori (esempio ac. grassi a corta catena). Nel caso dei vini bianchi è in questa fase che può essere interessante ricorrere a scorze un po' particolari, ricche di glutatione e suoi precursori. Oltre ad aiutare la chiusura della fermentazione, esse aumentano la protezione della frazione aromatica nei confronti delle ossidazioni. L'aggiunta in questa fase finale assicura il trasferimento al vino di glutatione nella sua forma ridotta e quindi attiva, nell'ottica di migliorare la protezione del patrimonio aromatico dei vini.

Laffort Italia – Tortona (AL)

© RIPRODUZIONE RISERVATA

QUANDO MANCANO I LIPIDI

La membrana cellulare, così come tutte le membrane che costituiscono gli organelli intracellulari, è costituita da un doppio strato fosfolipidico, in cui troviamo anche steroli e molecole proteiche. Se il lievito non ha a disposizione una corretta dotazione di lipidi, durante la moltiplicazione ripartisce tra le cellule figlie il patrimonio lipidico della cellula madre e questo fa sì che le ultime generazioni risultino strutturalmente poco dotate di lipidi, dunque meno funzionali.

