

Fattori che influenzano la fermentazione alcolica da considerare per prevenire eventuali arresti di fermentazione:

Gli arresti di fermentazioni si manifestano soprattutto quando intervengono più cause congiuntamente tra di loro.

Composizione del mosto

Temperatura del mosto

Apporto di ossigeno

Antagonismo tra lieviti indigeni e lieviti selezionati

Antagonismo tra lieviti e batteri

Composizione del mosto

- **Contenuto zuccherino (uve di elevata qualità, uve appassite)**
- **Tenore alcolico (effetto tossico dell'etanolo sulle cellule di lievito)**
- **Contenuto in azoto assimilabile**
- **Presenza di tossine o sostanze antibiotiche (es. polisaccaridi prodotti da *Botrytis cinerea*)**
- **Presenza di residui di prodotti antiparassitari aventi un azione antifermentativa**



Interventi:

- *Scelta del ceppo di lievito*
- *Superiori apporti di azoto*

Contenuto in azoto assimilabile

- grado di maturazione (+ zuccheri, - azoto),
- annata,
- vitigno,
- interventi nel vigneto (concimazione, inerbimento, ecc..),
- sanità delle uve.

Agisce sulla moltiplicazione delle cellule e sulla velocità della fermentazione alcolica

Interventi:

- *aggiunta di azoto ammoniacale sempre necessaria quando il contenuto in azoto assimilabile è inferiore a 160 mg/L (Ribéreau-Gayon, 1999). Verificare l'interazione tra contenuto zuccherino e fabbisogno in azoto.*
- *criomacerazione del pigiato.*

Contenuto in sostanze azotate delle uve e dei mosti

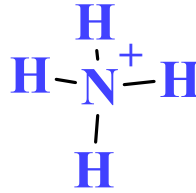
Dipende da:

- cultivar impiegata
- ambiente di coltivazione
- grado di maturazione delle uve
- pratiche agronomiche nel vigneto
- concimazioni azotate
- annata

Mediamente il contenuto in composti azotati del mosto è compreso tra 0,1 e 1 g/L, valore che equivale ad un quarto di quello che si può misurare nell'acino d'uva.

Quali sono le fonti azotate di interesse enologico?

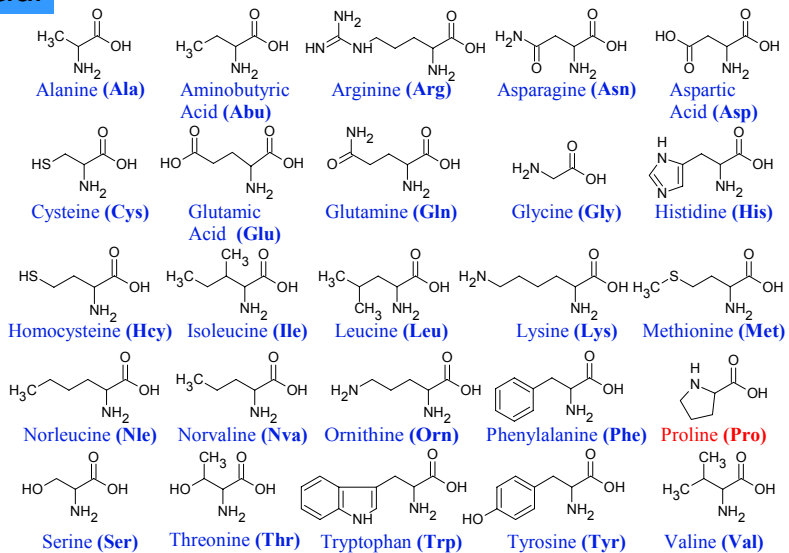
Ione ammonio



- La sua presenza nel mosto deriva dal processo di assorbimento dei composti azotati dal terreno nel corso della maturazione dell'uva;
- Rappresenta dal 3 al 10% dell'azoto totale del mosto;
- Può essere aggiunto al mosto in una concentrazione massima di 30 g/hL come $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Quali sono le fonti azotate di interesse enologico?

Aminoacidi



Quali sono le fonti azotate di interesse enologico?

Aminoacidi

Rappresentano dal 25 al 30% dell'azoto totale del mosto

Possono essere utilizzati dalle cellule del lievito:

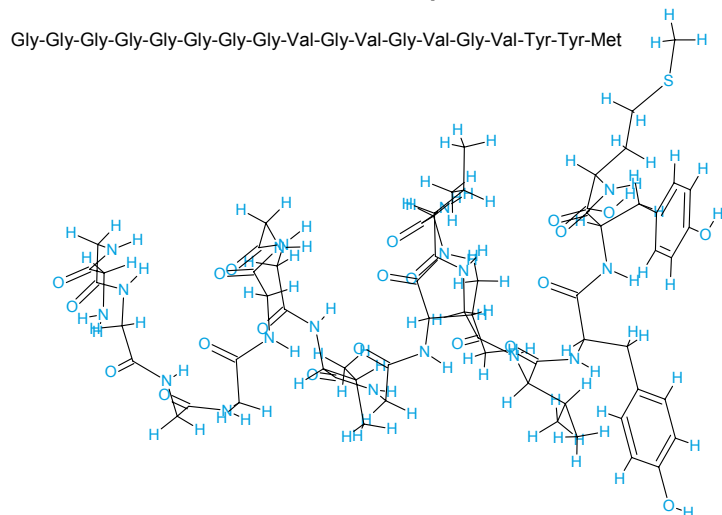
- Direttamente;
- Come fonte di azoto ammoniacale;
- Come fonte di carbonio organico.

Quali sono le fonti azotate di interesse enologico?

Polipeptidi e proteine

I polipeptidi costituiscono dal 25 al 40% dell'azoto totale del mosto, mentre le proteine sono rappresentate in tenori del 5, 10%. I lieviti del genere *Saccharomyces* **non** utilizzano direttamente proteine e polipeptidi dell'uva.

Per esempio:



Ruolo dell'azoto durante la vinificazione

La dotazione azotata del mosto può influenzare

- La moltiplicazione e l'accrescimento dei lieviti;
- L'andamento della fermentazione alcolica;
- Il contenuto in prodotti secondari della fermentazione alcolica;
- Il contenuto in sostanze volatili di origine fermentativa dei vini;
- La presenza di H_2S ;
- L'eventuale contenuto in etilcarbammato
- Di conseguenza la **qualità del vino**.

Ruolo dell'azoto sul decorso della fermentazione alcolica

Influisce sul metabolismo dei lieviti



Durante la fase esponenziale

- Interviene sulla sintesi proteica.
- favorisce la moltiplicazione e l'accrescimento cellulare.
- accelera la velocità della fermentazione alcolica (direttamente legata al trasporto degli zuccheri nella cellula).
- aumenta il valore della massima velocità di fermentazione.

Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

Influenza sulla carica finale dei lieviti presenti nel vino.

Esperienza condotta su mosti di uve Incroci Dalmasso.

Vendemmia 2003

Confronto tra una Tesi testimone (T) avente un contenuto in N assimilabile del mosto pari a circa 100 mg/L e la Tesi N aggiunta di 100 mg/L di N ammoniacale al mosto dopo sfecciatura.

	cell./mL	Abs 420	Abs 520	L	h*	C*
Azotato	185 * 10 ⁶	0.0622	0.0113	99,2	-1,32	5,6
Non azotato	152 * 10 ⁶	0.2166	0.0551	96.8	-1,45	18,6

Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

Influenza la carica finale dei lieviti presenti nel vino.

- L'entità dell'adsorbimento dei composti polifenolici sulle pareti del lievito durante la fermentazione alcolica;
- L'intensità colorante dei vini.

Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

Velocità di trasporto degli zuccheri all'interno della cellula

- La velocità della fermentazione è regolata dalla velocità di trasporto degli zuccheri all'interno della cellula del lievito.
- A sua volta, la sintesi dei trasportatori degli zuccheri (glicoproteine) che riguarda principalmente la fase esponenziale di accrescimento, è regolata dall'andamento della sintesi proteica.

Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

Il fabbisogno in azoto assimilabile di un mosto dipende dal suo contenuto zuccherino.

Si consiglia sempre di apportare N ammoniacale al mosto (contenuto zuccherino medio: 180 g/L) quando il suo contenuto in N prontamente assimilabile è inferiore a **140 mg/L**.

Tenore in azoto N mg/L (NOPA)	Contenuto in zuccheri	
	°Brix	g/L
200	21	202
250	23	224
300	25	248
350	27	270

da Bisson *et al.*, 2000

Ad esempio l'apporto di sostanze azotate ai mosti da uve appassite o infettate con muffa nobile risulta di particolare importanza a causa:
- della ricchezza in zuccheri,
- della minore disponibilità in azoto assimilabile (uve sovramature)

Ruolo dell'azoto sul decorso della fermentazione alcolica

Influisce sul metabolismo dei lieviti



Durante la fase stazionaria

- Interviene sulla sintesi proteica.
- Non modifica l'accrescimento e la moltiplicazione cellulare.
- Provoca un'accelerazione della velocità di fermentazione che tende fisiologicamente a ridursi al termine della fase esponenziale.
- Consente di ridurre la durata della fermentazione alcolica.

Ruolo dell'azoto sul decorso della fermentazione alcolica

- Di recente è stato evidenziato il ruolo positivo svolto dall'apporto di azoto durante la fase stazionaria sul decorso della fermentazione e sulla riduzione della durata delle fermentazioni stentate.

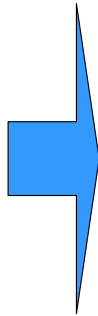
- Si parla di effetto dell'apporto di azoto sulla regolazione del meccanismo di trasporto degli zuccheri e sulla sintesi di nuovi trasportatori degli zuccheri.

Impiego dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

Si consiglia di effettuare apporti frazionati di N ammoniacale al mosto oppure in una dose unica entro la prima metà della fermentazione alcolica, abbinata ad un arieggiamento della massa in fermentazione.

L'apporto di ossigeno in questa fase:

- favorire la sintesi di steroli e di acidi grassi insaturi che migliorano la fluidità delle membrane e la loro resistenza alla perdita di selettività indotta dal crescente contenuto in etanolo



- prolunga la vitalità della cellula;
- migliora il meccanismo di trasporto degli zuccheri (FA) e dello **ione ammonio** nella cellula del lievito (efficacia dell'apporto azotato);
- migliora la resistenza del lievito alle alte temperature (effetto sinergico con l'etanolo).

Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

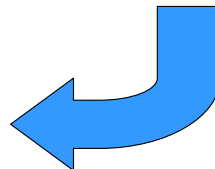
La disponibilità in azoto aumenta il fabbisogno di ossigeno dei lieviti

Un eccessivo contenuto di azoto nei mosti provoca un incremento della moltiplicazione e dell'accrescimento cellulare dei lieviti.



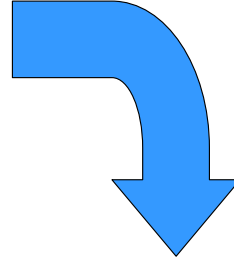
Diluizione del contenuto di steroli ed acidi grassi insaturi delle membrane del lievito

Maggiore fabbisogno di ossigeno per sintesi degli steroli ed degli acidi grassi insaturi delle membrane.



Ruolo dell'azoto in fermentazione. Aspetti tecnologici

- L'azoto assimilabile influenza l'entità del picco di fermentazione alcolica
- Andamento del riscaldamento del mosto durante la fermentazione alcolica.



- Rischi di arresti di fermentazione per eccessivo innalzamento delle temperature
- Controllo della temperatura di fermentazione

Influenza dell'azoto sul tenore in sostanze volatili di origine fermentativa.

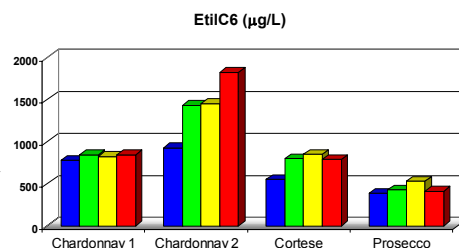
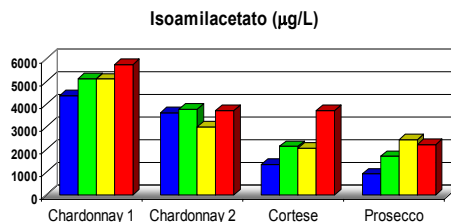
Esperienza condotta su alcuni vini bianchi (2 Chardonnay, Cortese e Prosecco).

Confronto tra tesi aggiunte di diverse quantità di N ammoniacale:

- Tesi A: + 100 mg/L di N ammoniacale
- Tesi B: + 200 mg/L di N ammoniacale
- Tesi C: + 300 mg/L di N ammoniacale
- Tesi D: + 400 mg/L di N ammoniacale

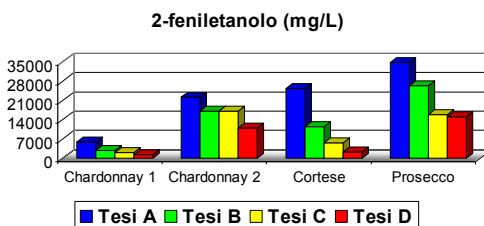
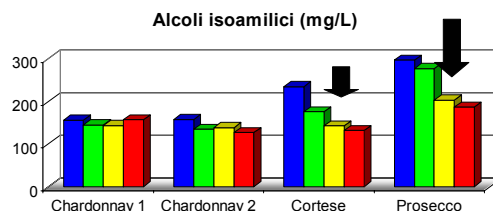
Sostanze volatili di origine fermentativa nei vini

- L'isoamilacetato è il composto ad essere maggiormente influenzato dal tenore in N ammoniacale.
- Si osserva un incremento medio, del contenuto in acido esanoico (differenze statisticamente significative) ed etilC6.
- Al crescere del PM degli acidi grassi e loro esteri etilici, l'effetto dell'N ammoniacale diventa trascurabile.
- Questi dati sono in accordo con quanto riportato da Ough *et al.* (1989). Al contrario alcuni Autori francesi ritengono che l'apporto di N determini una riduzione in acidi grassi e loro esteri etilici con una conseguente perdita di intensità aromatica.

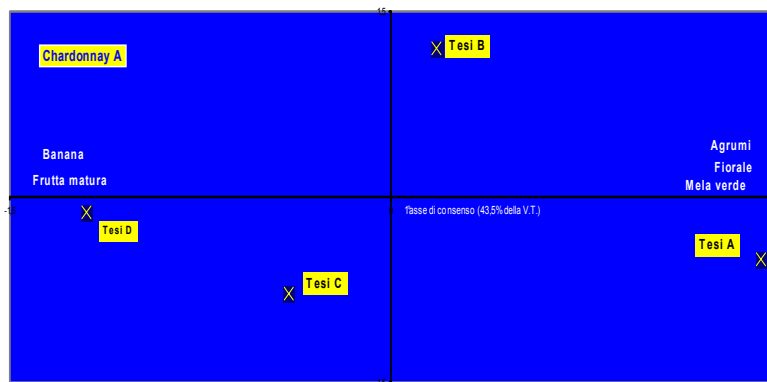


Sostanze volatili di origine fermentativa nei vini

- L'apporto di N ammoniacale al mosto ha provocato la riduzione del tenore in chetoacidi del mosto.
- Ciò ha determinato un inferiore contenuto in alcoli superiori (alcoli isoamilici, 2-feniletanolo, metiltiopropano-1...)
- Oltre una certo tenore in N ammoniacale si arresta la diminuzione del tenore in alcoli isoamilici si arresta.



Influenza sulle caratteristiche sensoriali dei vini



- I vini sono stati descritti impiegando una scheda a profilo libero (Free Choice Profiling). Dalla rappresentazione dei vini sullo spazio del consenso (Analisi generalizzata di Procruste) si osserva che il primo asse di consenso discrimina i vini in funzione degli apporti di azoto.
- Nei vini Chardonnay e Cortese, passando a dosi crescenti di N si accentuano le note fruttate di banana e frutta matura, mentre si attenuano i profumi più delicati di floreale e di agrumi.

Contenuto in N assimilabile e produzione di H₂S da parte del lievito

I composti solforati

- I composti solforati, in particolare mercaptani e solfuro di idrogeno, possono compromettere la qualità olfattiva di un vino a causa del loro odore sgradevole ed alle basse soglie di percezione;
- Derivano dal normale metabolismo dei lieviti;
- È stato dimostrato che la presenza di H₂S può essere correlata a carenze nel fabbisogno azotato del lievito.

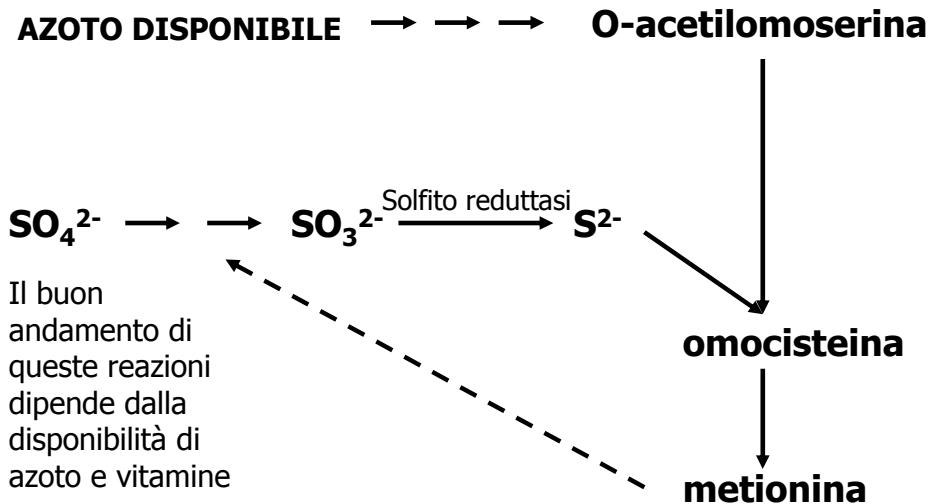
Carenza di azoto e produzione di solfuri

Come viene prodotto l'idrogeno solforato?

- Degradazione enzimatica di aminoacidi solforati contenuti nei mosti (metionina e cisteina). È un meccanismo che in enologia ha un'importanza limitata.
- Turnover delle proteine e dei polipeptidi intracellulari e degradazione degli aminoacidi solforati
- Utilizzo dello zolfo inorganico (solfati e solfiti) tramite la via del SRS (Sulfate reaction sequence).

Carenza di azoto e produzione di solfuri

La biosintesi degli aminoacidi solforati e la Sulfate Reaction Sequence.



Carenza di azoto e produzione di idrogeno solforato

La biosintesi degli aminoacidi solforati e la Sulfate Reaction Sequence.

- Recenti ipotesi prevedono che l'esaurimento dell'azoto assimilabile renda disponibile una insufficiente quantità di o-acetilomoserina.
- In tali condizioni l'eccesso di idrogeno solforato, impossibilitato a combinarsi, verrebbe rilasciato nel mezzo.

Interventi tecnologici per aumentare il tenore in azoto assimilabile dei mosti

Aggiunte di :

- Azoto sotto forma ammoniacale (nel limite massimo di 30 g/hL di fosfato o solfato diammonico al mosto o al mosto-vino entro la prima metà della fermentazione alcolica);
- Trattamento con caseinato di potassio o collaggio con gelatina (vini bianchi);
- Autolisati di lievito (in miscela con altri attivatori di fermentazione).

Temperatura del mosto

- Temperatura dell'uva all'arrivo in cantina
- Contenuto in sostanze nutritive
- Interventi che determinano un forte apporto di ossigeno (rimontaggi, délestage)...
- Dimensioni, forma delle vasche e sistemi di raffreddamento..

- basse temperature di fermentazione (12-14°C sui vini bianchi),
- alte temperature di fermentazione (oltre i 30°C, vini rossi)
- temperature estreme (alte o basse) durante la fase di moltiplicazione dei lieviti

Interventi:

- prima dell'inoculo del piede: portare ad una temperatura intorno ai 22°C dopo un trattamento prefermentativo a freddo o dopo un riscaldamento del pigiato. Avvio di fermentazioni a temperature più elevate possono provocare incremento di acidità volatile

- sbalzi termici durante la fermentazione (vasche all'aperto, gradiente termico in vasche con pochi rimontaggi).

Apporto di ossigeno

Consente la sintesi da parte del lievito di steroli ed acidi grassi insaturi

Interventi:

Si consiglia di effettuare un'ossigenazione nella fase finale di moltiplicazione dei lieviti. La dose di ossigeno consigliata è di circa 8 mg/L.

Vinificazione in bianco:

- asporto con la chiarifica delle sostanze contenenti steroli ed acidi grassi insaturi
- arieggiamento ridotto o assente che ne ostacola la sintesi da parte del lievito

Vinificazione in rosso:

- superiore contenuto naturale in steroli ed acidi grassi insaturi
- arieggiamenti periodici (rimontaggi all'aria, délestage o insufflazione di ossigeno) durante la macerazione del mosto.

Interventi:

- Preparazione di un pied de cuve con lieviti selezionati
- Scelta del ceppo di lievito
- Dose più elevata di lievito
- Chiarifica non troppo spinta dei mosti (80-100 NTU)
- Arieggiamento
- Aggiunta di prodotti contenenti steroli

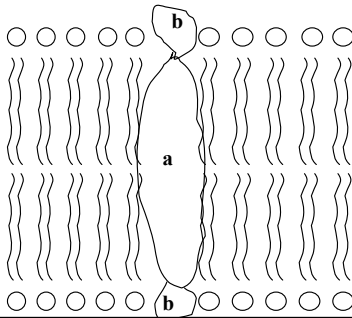
Il fattore ossigeno nella fermentazione alcolica dei vini

Ruolo dell'ossigeno: favorisce la sintesi degli steroli e degli acidi grassi insaturi della membrana cellulare durante la fase di accrescimento del lievito.

La membrana cellulare è una barriera altamente selettiva che controlla gli scambi tra la cellula vivente e l'ambiente esterno. Essa è fondamentale per la vita del lievito.

La membrana cellulare si compone di LIPIDI (40%), di PROTEINE (50%) E e di una bassa percentuale di GLUCANI e MANNANI.

I lipidi sono FOSFOLIPIDI (con acidi grassi a pari numero di atomi di C da 14 a 24) e STEROLI (DI CUI il principale è l'ERGOSTEROLO)



Rappresentazione schematica del doppio strato lipidico della membrana. A) proteina intrinseca e b) proteine estrinseche

La sintesi degli acidi grassi insaturi e degli steroli avviene nel corso della fase di accrescimento e richiede la presenza di ossigeno; gli steroli, in particolare, sono sintetizzati a livello dei mitocondri della cellula.

Gli acidi grassi insaturi e gli steroli: regolano la fluidità delle membrane

La ricchezza in steroli e in acidi grassi insaturi favorisce i meccanismi di trasporto nella cellula, ad opera di proteine specifiche, del glucosio e degli aminoacidi soprattutto durante la fase stazionaria e di declino. Questo spiega perché l'ossigenazione favorisce lo svolgimento della fermentazione alcolica,

Quando apportare ossigeno ai lieviti?

Il momento ottimale per l'apporto di ossigeno è al 2° giorno dall' inizio della fermentazione alcolica. Esso corrisponde al termine della fase di accrescimento del lievito, quanto è minimo il tenore in steroli ed acidi grassi insaturi delle membrane cellulari.

I lieviti secchi attivi (LSA) sono particolarmente ricchi in steroli ed acidi grassi insaturi perché vengono moltiplicati in condizioni di elevata disponibilità di ossigeno. Nel corso delle prime fase di moltiplicazione il fabbisogno in ossigeno, per questi lieviti è dunque ridotto, inoltre in questo momento, nel mosto sono ancora attivi enzimi ossidasici (tirosinasi ed eventualmente laccasi) che svolgerebbero azione di competizione per il consumo dell'ossigeno.

Qual è il fabbisogno in ossigeno dei lieviti?

E' stato calcolato (Sabloyeller) su un mezzo sintetico che il fabbisogno di Ossigeno dei lieviti è pari a circa 10 mg/l; nei vini, soprattutto se rossi o bianchi contenenti delle fecce il fabbisogno scende grazie alla presenza nel mezzo dei fattori di accrescimento (steroli ed acidi grassi) provenienti dalle uva . Si calcola, dunque, che, nei vini, il fabbisogno sia pari a 5 g/hl (l'apporto di questa quantità si raggiunge con l'effettuazione di un paio di rimontaggi del vino all'aria).

Il fabbisogno in ossigeno scende al crescere delle dosi di lievito impiegate. Dosi di 5 g/hl restano comunque sufficienti se il mosto viene aerato.

Antagonismo tra lieviti indigeni e lieviti selezionati

Caso in cui l'apporto di ceppi di lievito porta a fermentazioni alcoliche più lente che con i lieviti selvaggi.

- scarso adattamento del ceppo aggiunto alle condizioni del mezzo,
- produzione da parte dei lieviti selvaggi di tossine o proteine (fattore killer) tossiche per il ceppo inoculato,
- competizione per alcune sostanze, ad esempio consumo della vitamina B1 da parte di lieviti apiculati.

Interventi:

- ***Solfitazione del pigiato o del mosto***
- ***Accurata preparazione del pied de cuve***
- ***Scelta del ceppo di lievito***

Antagonismo tra lieviti e batteri

Si verifica quando, in concomitanza ad un rallentamento della fermentazione alcolica si accompagnano condizioni favorevoli allo sviluppo dei batteri (pH elevati, temperature elevate e ridotti tenori di SO_2). Rischi di spunto acetico e di arresti della fermentazione alcolica.

Interventi:

- *Interventi volti a favorire il rapido avvio della fermentazione alcolica (pied de cuve, apporto di sostanze nutritive..),*
- *Aggiunta di SO_2 sull'uva o al mosto*

Ad esempio durante la macerazione carbonica si consiglia, di effettuare una solfitazione dell'uva ed un inoculo della frazione di mosto che sgronda al fondo della vasca per evitare se non l'arresto di fermentazione, un'elevata produzione di acidità volatile da parte dei batteri lattici.