

di ALESSANDRA BIONDI BARTOLINI



# L'OSSIGENO NELLA FERMENTAZIONE ALCOLICA: NON SOLO PER IL BENESSERE DEI LIEVITI

## L'OSSIGENO E IL LIEVITO, UNA STORIA ORMAI NOTA

*Saccharomyces cerevisiae* è quello che si dice un organismo anaerobico facoltativo, in grado di svilupparsi sia in un ambiente aerobico sia in uno anaerobico in quanto dotato di entrambe le vie metaboliche necessarie per attivare in un caso o nell'altro rispettivamente la respirazione o la fermentazione degli zuccheri.

Ma c'è di più: il lievito della fermentazione alcolica fa parte del gruppo dei microorganismi dotati di metabolismo Crabtree positivo nei quali la respirazione è inibita in presenza di concentrazioni di zuccheri superiori al 2%, condizione sempre presente nei mosti d'uva per cui il metabolismo del lievito in vinificazione è esclusivamente di tipo fermentativo e il consumo di ossigeno avviene per vie diverse da quelle legate alla degradazione degli zuccheri.

La prima e la più indagata è quella che porta alla sintesi dei composti lipidici della membrana cellulare, acidi grassi insaturi e steroli, chiamati anche, e non a caso, fattori di sopravvivenza.

La membrana cellulare, che separa l'ambiente esterno dalla cellula e regola gli scambi, cioè l'assimilazione dei nutrienti e la liberazione dei prodotti di scarto del metabolismo, è formata da due foglietti di fosfolipidi e da molecole di ergosterolo. Il rapporto tra gli acidi grassi saturi e insaturi delle catene presenti nei fosfolipidi di membrana e di questi con l'ergosterolo ne condizionano

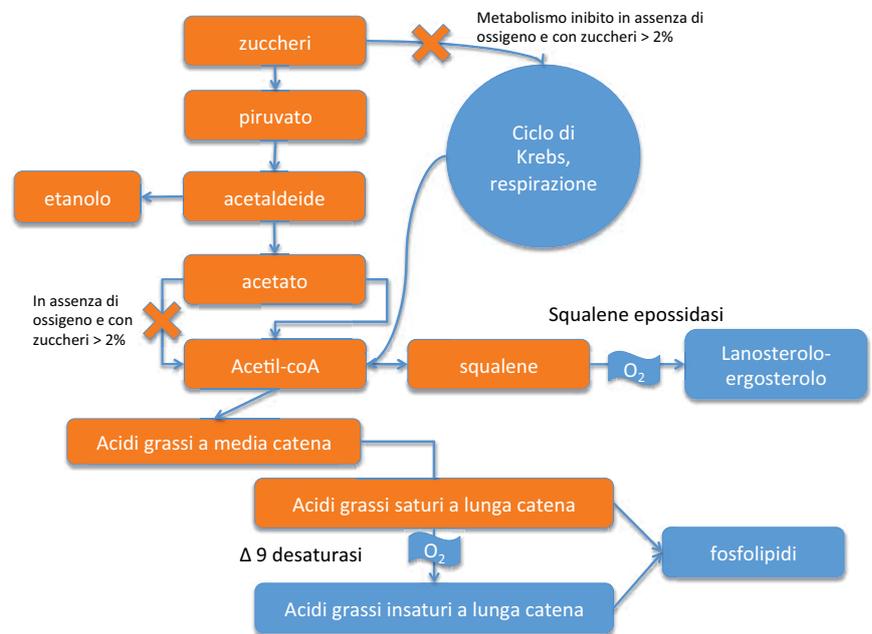


FIG. 1: LE VIE DI SINTESI DEI COMPOSTI LIPIDICI NELLA CELLULA DI SACCHAROMYCES CEREVISIAE: L'OSSIGENO È UN COFATTORE FONDAMENTALE PER LA SINTESI DEGLI ACIDI GRASSI INSTAURI A LUNGA CATENA E DEGLI STEROLI (MODIF. DA BARDI ET AL., 2004).

le caratteristiche di fluidità e di efficienza, legate a loro volta a caratteri come la capacità di adattarsi alle variazioni di temperatura e quella di resistere alle crescenti concentrazioni di etanolo che si sviluppano nel corso della fermentazione alcolica. In modo particolare un incremento nel contenuto in acidi grassi insaturi aumenta la caratteristica di fluidità della membrana reagendo ai fattori che ne causano l'irrigidimento come gli abbassamenti di temperatura, mentre la presenza e l'arricchimento in steroli ne provoca un irrigidimento adatto ad aumentare la resisten-

za all'etanolo.

In altre parole per mantenere la membrana efficiente nel corso di tutta la fermentazione il lievito deve bilanciare il suo contenuto in lipidi e steroli e per farlo deve essere in grado di continuare a sintetizzare acidi grassi insaturi ed ergosterolo, cosa che riesce a fare solo in presenza di ossigeno molecolare, che agisce da cofattore per gli enzimi che presiedono al processo di sintesi di acido oleico e palmitoleico e di lanosterolo ed ergosterolo, rispettivamente la  $\Delta 9$  desaturasi e la squalene epossidasi (fig.1).

In mancanza di ossigeno le riserve di fattori di sopravvivenza presenti in abbondanza dei lieviti al momento dell'inoculo (i Lieviti Secchi Attivi sono prodotti in condizioni di aerobiosi) vengono distribuite nel corso della fase di crescita nelle generazioni successive, le cui cellule presenteranno una membrana sempre più povera.

In realtà il lievito è in grado di utilizzare i fitosteroli presenti nel mosto e provenienti dall'uva, ma la loro efficacia nei confronti della resistenza all'etanolo non è comparabile con quella dell'ergosterolo, per cui in assenza di ossigeno la membrana cellulare a partire dalla fine della fase di crescita diviene gradualmente meno efficiente, gli scambi tra esterno e interno della cellula diminuiscono e con essi la vitalità dei lieviti decresce più o meno rapidamente. La conseguenza, se questa situazione di sofferenza della popolazione non viene gestita, è l'incremento del rischio di fermentazioni stentate e di arresti fermentativi.

Gli studi sulla gestione dei rischi fermentativi e dei fabbisogni nutrizionali del lievito sono stati affrontati tra la fine degli anni 90 e il 2000 principalmente dal gruppo di ricerca di Jean Marie Sablayrolles, all'INRA di Montpellier (Sablayrolles et al., 1996).

La quantità di ossigeno, individuata in quegli studi, che i lieviti richiedono per la sintesi dei fattori di sopravvivenza è compresa tra i 5 e i 10 mg/l in funzione delle caratteristiche del mosto (in mosti con concentrazione in zuccheri e grado di pulizia elevati il fabbisogno è maggiore).

Il periodo migliore per la somministrazione dell'ossigeno invece è quello che corrisponde alla fine della fase di crescita, a circa 1/4 del processo fermentativo o alla metà della fermentazione se l'ossigenazione è associata alla nutrizione azotata.

Sarebbe quello, alla fine della crescita esponenziale, il momento in cui i lieviti hanno maggiore capacità di utilizzare l'ossigeno, che viene assimilato in pochi minuti dalla sua aggiunta e in cui il rischio ossidativo a carico di altri componenti ossidabili

del mosto sarebbe pertanto ridotto al minimo.

Tuttavia portare a buon fine il consumo degli zuccheri evitando gli arresti di fermentazione è il primo ma non l'unico obiettivo di una fermentazione ben gestita.

E così, risolto il problema del quanto e quando l'ossigeno fosse necessario per mantenere in buona salute il lievito, gli scienziati si sono rivolti ad indagare alcuni aspetti più fini che coinvolgono e conseguono alla gestione dell'ossigeno nelle fasi fermentative, in modo particolare agli effetti dati dall'uso delle ossigenazioni nel corso della fermentazione sul profilo qualitativo finale dei vini.

Già gli studi svolti alcuni anni fa da Salmon e da Fornairon Bonnefond (Fornairon Bonnefond et al., 2002; Fornairon Bonnefond et al., 2003) avevano evidenziato come il lievito, soddisfatto il fabbisogno di sintesi in acidi grassi insaturi e steroli necessari per garantire l'efficienza della membrana citoplasmatica, fosse in grado di consumare quantità molto più elevate di ossigeno, attivando vie metaboliche diverse, alcune delle quali coinvolte nei processi di ossidazione degli stessi steroli. I lieviti "sovra-alimentati" in questo modo con ossigeno (si parlava in quegli studi di dosaggi di circa cinque volte superiori a quelli medi di 7 mg/l considerati sufficienti per garantire il regolare andamento fermentativo) manifestavano l'interessante caratteristica di una minore capacità di consumo dell'ossigeno nel periodo successivo alla fine della fermentazione alcolica, nel corso della loro autolisi o nell'affinamento *sur lies*.

Ma non è soltanto questo il motivo per cui i vini sottoposti a ossigenazione controllata nel corso della fermentazione alcolica si presentano, come spesso si osserva, più fruttati, aperti al naso e con una minore tendenza alla riduzione: oltre all'utilizzo "microbiologico" l'ossigeno somministrato nel corso della fermentazione, secondo alcuni studi recenti, avrebbe un ruolo diretto nella gestione (prevenzione e rimozione) dell'idrogeno solforato e di altri composti responsabili degli *off flavours* di riduzione.

## OSSIGENO IN FERMENTAZIONE: COMPOSTI SOLFORATI E QUALITÀ AROMATICA

Uno studio pubblicato pochi mesi fa sull'*Australian Journal of Grape and Wine Research* (che evidenzia tra le altre cose il superamento da parte dei ricercatori e produttori australiani di una certa per così dire "storica" diffidenza sull'uso dell'ossigeno in vinificazione) fa luce sulla relazione tra l'ossigeno somministrato nel corso della fermentazione alcolica e i composti solforati volatili presenti nei vini nel periodo che va dalla fine della fermentazione fino all'imbottigliamento e al periodo di conservazione successivo (Bekker et al., 2016).

Lo studio descrive una sperimentazione svolta nella fermentazione di uve Syrah sottoposte a livelli diversi di ossigenazione, con tesi ossigenate con iniezione di ossigeno presente in dosi diverse in miscela gassosa (al 20% come in aria e al 40%) e non ossigenate, con nessun utilizzo di gas nel controllo e con iniezione di azoto. L'obiettivo è di dare una risposta ad alcune domande, come ad esempio se la rimozione delle molecole solforate volatili prodotte in fermentazione sia o meno effetto di un'azione di strippaggio legata all'iniezione di un gas come l'ossigeno o l'azoto, quali siano i composti solforati che reagiscono con l'ossigeno, in che modo e in che rapporto con la dose di ossigenazione e infine quanto a lungo questo effetto possa ritenersi efficace.

Alla prima domanda i ricercatori danno facilmente una risposta: l'idrogeno solforato nel corso della fermentazione alcolica diminuisce nelle tesi ossigenate più velocemente e in modo significativamente superiore rispetto a quanto avviene nelle tesi non ossigenate, dove al contrario esso continua ad accumularsi più nella tesi trattata con azoto gassoso che nel controllo. Di conseguenza non si tratterebbe di un'azione fisica di rimozione da parte del gas, ma di un ruolo diretto dell'ossigeno, che reagirebbe per via chimica o biochimica con i composti solforati volatili,



provocando l'ossidazione a molecole non volatili o odorose o favorendone come già descritto da altri autori la reazione in complessi polimerici con i chinoni dei composti fenolici (Gomez Plaza e Cano Lopez, 2011; Nikolantonaki e Waterhouse, 2012).

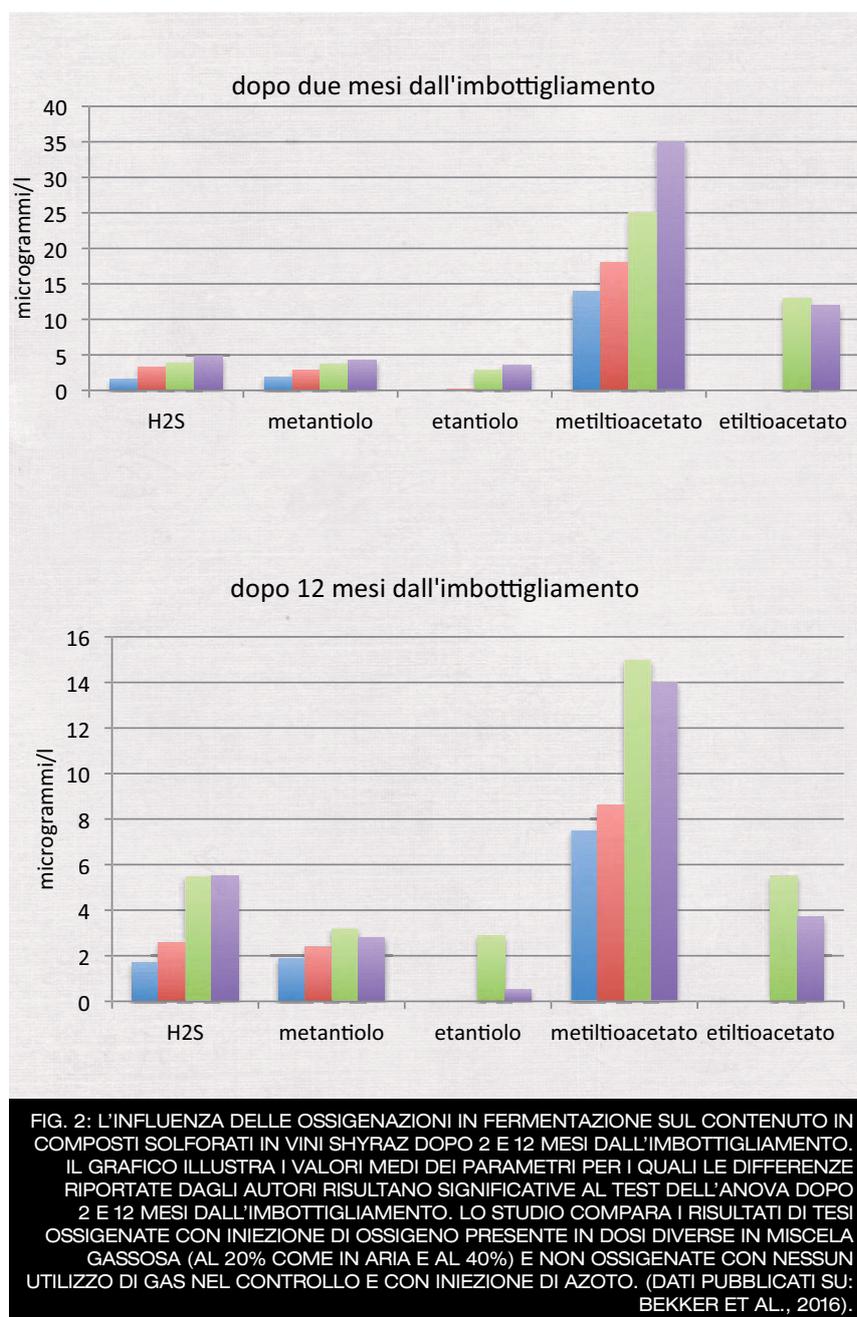
I risultati ottenuti analizzando il contenuto dei principali composti solforati volatili dei vini nel corso dell'affinamento, al momento dell'imbottigliamento e successivamente dopo 2 e 12 mesi, hanno messo in evidenza come l'ossigeno somministrato in fermentazione sia in grado di influenzare in modo significativo il contenuto in idrogeno solforato, metantiolo, etantiolo, etiltioacetato e metiltioacetato (fig. 2).

Ma la maggiore concentrazione in composti solforati nelle tesi non ossigenate non sarebbe l'unica differenza relativa ai composti volatili prodotti nel corso della fermentazione alcolica, tra i quali lo studio riporta per le tesi ossigenate maggiori concentrazioni in composti come il 2 metil propanolo, l'1-esanolo, l'esil acetato e l'etil 2 metil propanoato, responsabili di caratteri aromatici descritti come frutta sotto spirito, vegetale, profumi dolci e fruttati.

La maggiore espressione aromatica legata soprattutto ai caratteri fruttati nei vini sottoposti a ossigenazione controllata nel corso della fermentazione non sarebbe quindi dovuta soltanto all'eliminazione dell'azione di mascheramento esercitata dai composti solforati volatili sul profilo dei vini, ma anche ad un'azione diretta dell'ossigeno nella sintesi di alcuni composti aromatici fermentativi da parte dei lieviti.

### COME DARE OSSIGENO IN FERMENTAZIONE?

I rimontaggi all'aria sono il metodo più utilizzato tradizionalmente per ossigenare i mosti in fermentazione. La loro esecuzione tuttavia difficilmente può essere eseguita in modo tempestivo nei tempi che si sono evidenziati come ottimali per la gestione delle ossigenazioni, necessita di un controllo continuo da parte dell'operatore che deve essere presente per tutto il periodo dell'operazione con rischio di fuoriuscite e di imbrattamenti.



Il rischio è che l'apporto di ossigeno con i soli rimontaggi all'aria sia insufficiente o quantomeno difficile da quantificare, tenuto conto anche del fatto che le elevate concentrazioni di CO<sub>2</sub> disciolta nel mosto e nell'atmosfera che si forma intorno al liquido in fermentazione sono di ostacolo alla sua dissoluzione.

L'alternativa per sfruttare le potenzialità legate ad un uso razionale dell'ossigeno in fermentazione, dalla gestione del rischio fermentativo a quella dei difetti di riduzione, è data dall'uso di dispositivi diversi di ossigenazione che vanno dal Tubo Venturi che permette di distribuire aria al mosto generalmente nel corso di un rimontaggio, ai sistemi più

precisi di micro-ossigenazione adatti a svolgere la macro-ossigenazione in modo continuo o a somministrare ossigeno in singole dosi puntuali. Con la macro-ossigenazione l'ossigeno viene erogato in dosi precise al mosto in fermentazione attraverso un diffusore generalmente in acciaio sinterizzato, che rispetto ai materiali ceramici più utilizzati nella tecnica della micro-ossigenazione durante l'affinamento, presenta minori rischi di intasamento.

Naturalmente la gestione dell'ossigeno in fermentazione, finalizzata principalmente all'utilizzo metabolico da parte di *Saccharomyces cerevisiae* ma che come abbiamo visto va

a interessare anche altri obiettivi di carattere qualitativo, dovrà tenere conto della presenza di altri sistemi biologici o chimici, che in funzione delle condizioni di vinificazione potrebbero competere, nel bene e nel male, nel consumo di ossigeno.

Tra i primi si ricordano i microorganismi lieviti e batteri aerobici, come i lieviti della fioretta e i batteri acetici, il cui controllo dovrà essere particolarmente attento in caso di uve in condizioni sanitarie non ottimali e nelle fasi finali della fermentazione alcolica quando il consumo da parte dei lieviti comincia a diminuire, in modo particolare per alcune vinificazioni, come quelle realizzate con bassi contenuti o in assenza di solforosa e nelle fermentazioni spontanee.

Tra i secondi ci sono i composti fenolici tra i quali flavani e antociani, che nei vini rossi in caso di ossigenazioni realizzate nella seconda metà della fermentazione alcolica cominceranno ad avvantaggiarsi della presenza di ossigeno per la formazione di po-

limeri stabili. Ma di questo e del consumo dell'ossigeno per via chimica avremo modo di parlare nei prossimi numeri.

#### BIBLIOGRAFIA

*Bardi L., Belviso S., Marzona M., Biondi Bartolini A., 2004. La gestione nutrizionale in Saccharomyces cerevisiae: il ruolo delle sostanze azotate e del metabolismo lipidico nella fermentazione alcolica. Vignevini Ricerca, Vignevini n. 3, 77-82.*  
*Bekker M.Z., Day M.P., Holt H., Wilkes E., Smith P.A., 2016. Effect of oxygen exposure during fermentation on volatile sulfur compounds in Shiraz wine and a comparison of strategies for remediation of reductive character. Australian journal of Grape and Wine Research 22, 24-35, 2016.*  
*Biondi Bartolini A., Cavini F., De Basquiat M., Ossigeno e vino, dal ruolo dell'ossigeno alla tecnica della micro-ossigenazione. 2008. Parsec Edizioni.*

*Fornairon-Bonnefond C., Demaretz V., Rosenfeld E., Salmon J.M., 2002. Oxygen Addition and Sterol Synthesis in Saccharomyces cerevisiae during Enological Fermentation. J. BIOSCI. BIOENG., Vol. 93, 176-182.*

*Fornairon-Bonnefond C., Salmon J.M., 2003. Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autohydrolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. J. Agric. Food Chem., 51, 2584-2590.*

*Gomez Plaza E. Cano Lopez ;, 2011. A review on micro-oxygenation of red wines: claims, benefits and underlying chemistry. Food Chemistri, 125, 1131-1140.*

*Sablayrolles J.M., Dubois C. Manginot C., Roustan J.L., Barre P., 1996. Effectiveness of combined ammoniacal nitrogen and oxygen additions for completion of sluggish and stuck wine fermentations. J. Ferm. Bioeng. 82: 377-381.*

## GELO E GRANDINE, PRIMAVERA ACCIDENTATA

MAURIZIO GILY

Dopo un inverno particolarmente mite, il primo ritorno di freddo si è avvertito nella prima decade di marzo, con abbondanti nevicate al Nord, soprattutto, ma non solo, in montagna e collina. Nessun danno alle gemme già rigonfie ma ancora chiuse, ma solo un arresto temporaneo, con conseguente germogliamento in epoca abituale, annullando l'anticipo che si era osservato in precedenza. Tra il 26 e il 28 aprile, sospinta da correnti da Nord, si è abbattuta sull'Europa un'ondata di gelo fuori stagione. Il termometro ha registrato di notte temperature di vari gradi sotto zero in molti areali viticoli con rilevanti danni alla nuova vegetazione, compromettendo il futuro raccolto.

In Italia tra le zone più colpite ci sono le aree interne appenniniche e pre-appenniniche di Umbria, Lazio, Marche, Abruzzo, Irpinia e Sannio. Al Nord danni in genere meno gravi ma ben presenti, a macchia, in tutte le zone montane e collinari. Nella valli trentine e altoatesine si sono salvati i vigneti a pergola (**foto di Giacomo Widman, gelo sui i polloni**), mentre danni consistenti si sono avuti sulle spalliere dimostrando una volta di più il senso di certe tradizioni...

Peggio è andata in Francia, dove si stima un danno del 30% in tutta la Borgogna e oltre il 50% nel Nord della regione. Gravi danni anche in Germania e Austria, dove si sono aggiunte abbondanti nevicate, e in Est Europa.

A maggio la grandine ha poi fatto la sua comparsa in Piemonte, nella Langa astigiana e zone limitrofe, nel Piacentino e nel Padovano, nel Bergamasco e anche in Puglia (Putignano e Valle d'Itria).

