

NOTIZIE FLASH

- ❖ Nel corso degli studi effettuati da Lallemmand sui suoi ceppi di lievito selezionato in relazione alla loro capacità di consumare il fruttosio, è stato riscontrato che il lievito **Uvaferm 43® YSEO®** - selezionato per riavviare fermentazioni stentate o in arresto - è anche particolarmente efficiente nell'utilizzo del fruttosio. Tra oltre 50 lieviti selezionati disponibili sul mercato, **Uvaferm 43® YSEO®** si è regolarmente dimostrato il ceppo più efficiente nell'utilizzo del fruttosio anche in condizioni di carenze nutrizionali, e ciò è particolarmente significativo poiché in caso di fermentazioni stentate o in arresto, lo zucchero residuo è per la maggior parte fruttosio.
- ❖ Con il processo **YSEO®**, i lieviti possiedono una maggiore resistenza all'alcol e si adattano meglio a condizioni di fermentazione difficili, ad esempio, quando il tenore di alcol è elevato, i nutrienti specifici sono scarsi, o le temperature sono inferiori a quelle ideali. Il processo **YSEO®** favorisce l'attivazione della membrana e degli enzimi del lievito, col risultato di una lag-fase (fase di latenza) più breve all'avvio della fermentazione e di una fermentazione stessa più affidabile, anche in presenza di elevati livelli di alcol. Dalla vendemmia 2008 sono disponibili nuovi lieviti - **Cross-Evolution®**, **BA11™** e **L2226™** - che vanno ad arricchire la gamma dei lieviti prodotti con il processo **YSEO®**.



WINEMAKING UPDATE

WINEMAKING UPDATE è una pubblicazione di Lallemmand Inc. finalizzata ad informare i tecnici enologi delle novità scaturite dalle più recenti ricerche. Per avere i precedenti numeri, porre domande o inviare commenti, contattare:

Lallemmand
Paola Vagnoli
Via Rossini 14/B
37060 Castel D'Azzano, Italia
Tel. (39) 04 55 12 555
pvagnoli@lallemmand.com

Le informazioni tecniche contenute in **WINEMAKING UPDATE** sono veritiere e precise; considerando l'enorme diversità delle situazioni operative di vinificazione, tutti i consigli e gli avvertimenti vengono dati senza garanzie ed impegni formali. I prodotti Lallemmand sono facilmente disponibili grazie alla capillare rete di distribuzione. Per localizzare il distributore più vicino fare riferimento al contatto sopra citato.

Condizioni più o meno conosciute che hanno effetto sulla FML:
Strategie per una fermentazione malolattica efficace

Quando la fermentazione malolattica (FML) tarda ad avviarsi, quando parte e poi rallenta o va in arresto, l'enologo può ottenere un vino di minore qualità.

Sappiamo che il pH ha un'influenza importante sul processo. Un pH basso inibisce la crescita degli *Oenococcus oeni*, i batteri malolattici (BML) considerati più interessanti per la FML. Tuttavia, quando il pH è troppo alto, si possono sviluppare batteri competitori (ad esempio, *Lactobacillus* e *Pediococcus*) in grado di alterare le caratteristiche sensoriali del vino. Sebbene l'affidabilità e l'efficacia degli starter selezionati siano considerevolmente migliorate nell'ultima decade, numerosi altri fattori sono coinvolti nel buon esito della FML. L'aumento delle conoscenze relative alla comprensione di questi elementi contribuirà a migliorare la nostra abilità nella vinificazione e nell'ottenere un vino corrispondente allo stile desiderato. Questo numero speciale di *Winemaking Update* illustra le scoperte derivate dalle più recenti ricerche sull'argomento.

I- Condizioni conosciute che inibiscono la FML

Nei principali studi scientifici su questo argomento, i fattori che si sono rivelati in grado di influenzare la sopravvivenza e la crescita dei BML nel vino possono essere classificati in tre categorie:

• **Composizione fisico-chimica del vino**

- Il pH è uno dei parametri che influisce maggiormente sul comportamento dei BML. Il pH determina quali specie di BML si svilupperanno più facilmente, e influenza la loro vitalità e velocità di crescita. Agisce anche sulla rapidità della degradazione dell'acido malico e sull'andamento metabolico delle specie batteriche.

Valori bassi di pH (inferiori a 2,9) limitano lo sviluppo batterico, mentre un pH di 3,4-3,5 può considerarsi ideale. Livelli di pH inferiori a questo intervallo complicano l'avvio della FML, ma la situazione microbiologica del vino è più facile da gestire, perché il pH basso aiuta a prevenire la crescita della maggior parte dei microrganismi

inquinanti favorendo la dominanza dei BML selezionati, più resistenti e più indicati per lo svolgimento della FML.

Un pH più alto, d'altra parte, aumenta il rischio di crescita di organismi contaminanti come *Brettanomyces*, i quali possono rallentare la FML. Se ciò dovesse accadere, un inoculo precoce del mosto con uno starter selezionato permette all'enologo di ritardare o addirittura inibire lo sviluppo degli organismi contaminanti.

- La SO₂ ha un forte effetto inibitorio sulla crescita dei BML in particolare quando il pH è basso poiché aumenta la sua frazione molecolare dotata di elevato potere antimicrobico.

- Il grado alcolico inizia ad essere un fattore inibente per la crescita dei BML non appena raggiunge il 6% in volume. Oltre il 14% di alcol, la tolleranza all'etanolo della maggior parte dei batteri è nulla, nonostante ciò, la resistenza all'alcol dei ceppi commerciali selezionati raggiunge spesso valori più elevati.

- Una carenza di nutrienti, in particolare acido malico o azoto α-aminico (a volte correlata al ceppo di lievito), sono correlati con un rallentamento della FML.

- La temperatura ha un effetto ben noto sulla FML. I BML sono mesofili, il che significa che la loro temperatura ottimale di crescita si situa tra i 15 e i 30 °C. A basse temperature, la crescita batterica e la velocità della FML diminuiscono significativamente.

• **Fattori associati alla vinificazione**

Una chiarifica spinta può ridurre significativamente la popolazione naturale di BML ed eliminare alcuni nutrienti, così come le particelle in sospensione che stimolano la crescita batterica. Si ritiene inoltre che vini ottenuti tramite termovinificazione siano meno adatti alla FML.

Altri fattori intervengono a creare un ambiente adeguato per i BML, come il tipo di contenitore (barrique, vasca in acciaio inox, forma della vasca, e così via), la concentrazione di tannini estratti dalle uve,

Tabella 1. Compatibilità tra lieviti e batteri riguardo alla fermentazione malolattica.

CEPPO DI LIEVITO – PROPRIETÀ E COMPATIBILITÀ NEI CONFRONTI DELLA FML					
Lieviti con basse esigenze nutritive, nessun composto inibente ++++ FML	Lieviti con medie esigenze nutritive +++ FML	Lieviti con medie esigenze nutritive, potenziale produzione di composti inibitori ++ / - FML	Lieviti con elevate esigenze nutritive, buona autolisi ++ FML	Lieviti con elevate esigenze nutritive + / - FML	Lieviti relativamente inibenti per la FML - FML
Consigli per l'inoculo dei batteri malolattici					
<i>Inoculo simultaneo (coinoculo) possibile</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti ai lieviti.	<i>Inoculo simultaneo (coinoculo) possibile</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti ai lieviti ed ai batteri.	<i>Inoculo simultaneo (coinoculo) possibile</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti ai lieviti ed ai batteri. Fare attenzione al contenuto di SO ₂	<i>Inoculo dopo la FA o successivamente</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti ai lieviti ed ai batteri.	<i>Inoculo dopo la FA o successivamente</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti ai lieviti ed ai batteri.	<i>Inoculo dopo FA o successivamente. E' consigliato un tasso d'inoculo batterico maggiore se di desidera la FML</i> Assicurare una buona disponibilità di nutrienti al lievito ed ai batteri.
Apporto di attivanti					
- Protezione del lievito: GoFerm® Protect (30 g/hL) nell'acqua di reidratazione. - Nutrizione dei lieviti: Fermaid® E, Fermaid® E Blanc e/o Fermaid® O in funzione del contenuto in azoto del mosto e della necessità dei lieviti. I tempi e i dosaggi variano in funzione delle applicazioni. - Nutrizione dei batteri: Acti-ML™ (20 g/hL) a fine FA o prima dell'inoculo per stimolare l'attività dei batteri in caso di necessità.					
<i>La compatibilità tra lieviti e batteri è molto influenzata dalla matrice vino.</i>					
<i>In condizioni di stress un determinato ceppo di lievito può muoversi verso un livello di compatibilità inferiore, come pure in condizioni ottimali un lievito che di norma ostacola l'attività batterica può favorirla. In ogni caso la gestione della nutrizione è un parametro cruciale per il successo della FML.</i>					

l'aggiunta di tannini enologici, l'ossigenazione ed il livello di ossigeno disciolto nel vino, l'aggiunta di nutrienti, la compattazione delle fecce, etc. Queste condizioni sono meno conosciute.

• **Interazioni tra BML e altri microrganismi nel vino**

Le interazioni con altri batteri (il cui sviluppo può essere favorito dal pH del vino) possono impedire lo sviluppo del ceppo inoculato. Alcuni BML sono in grado di produrre **batteriocine** (peptidi o proteine che sono tossici per i BML), le quali riducono la possibilità di completare la FML (Bauer *et al.*, 2003).

Anche i lieviti possono avere un effetto antagonistico, entrando in competizione per i nutrienti (Nannelli *et al.*, 2004), e producendo inibitori della crescita batterica, quali SO₂, acidi grassi a catena media e peptidi (tra 5 e 10 kDa) (Nehme, 2008). Questi effetti dipendono dalla natura e dal livello di acidi grassi nel vino, e possono venire amplificati dai pH bassi.

Studi condotti da Lallemand e da altri gruppi di ricerca hanno messo in evidenza come alcuni lieviti possono produrre uno o più composti antimicrobici; ne consegue che la scelta della combinazione ceppo di lievito/ceppo batterico gioca un ruolo importante nel successo della FML.

A partire dal 1998, le nostre ricerche hanno scoperto che certi lieviti favorivano maggiormente la FML rispetto ad altri, e che ciò è correlato alla composizione in nutrienti del mosto. Maggiori sono le esigenze nutrizionali del lievito, più questo impoverisce il mezzo di nutrienti, rendendo più difficoltoso lo sviluppo dei BML.

La tabella 1 confronta le proprietà dei lieviti e la compatibilità con i BML durante la fer-

mentazione, quando il processo fermentativo si svolge secondo un piano preciso e ben gestito.

Recenti lavori del gruppo di Ricerca & Sviluppo hanno portato a considerevoli miglioramenti sulle coppie lievito/batterio. Il nuovo **Duo-Riesling™**, per esempio, è composto da lieviti selezionati particolarmente adatti all'elevata acidità dei Riesling e da batteri selezionati veramente efficaci in termini di fermentazione e di contributo al profilo sensoriale di questa varietà. Diversi anni di ricerche e prove in diversi paesi con Duo-Riesling™ hanno dimostrato i suoi risultati in fermentazioni alcoliche e malolattiche simultanee, con la creazione di un ambiente riducente in grado di preservare le caratteristiche varietali e fruttate dell'uva.

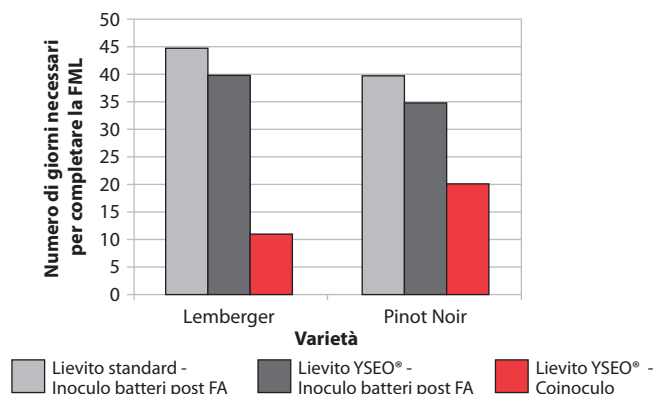
È stato di recente dimostrato in diverse prove di cantina che i lieviti prodotti tramite il processo YSEO® favoriscono lo sviluppo delle colture malolattiche selezionate. È probabile

che i lieviti YSEO®, i quali sono più adatti a completare la fermentazione in condizioni difficili, siano meno esigenti in termini nutrizionali e rilascino meno composti inibitori.

I risultati preliminari hanno anche evidenziato che il vantaggio dei lieviti YSEO® è più evidente durante il co-inoculo, perché il tempo necessario a completare la FML è ulteriormente ridotto. La figura 1 mostra i risultati ottenuti fermentando vini tedeschi Lemberger e Pinot nero con lieviti YSEO® e non-YSEO®, in abbinamento a batteri malolattici selezionati inoculati durante (coinoculo) e dopo la fermentazione alcolica.

Ancora, il contatto con le fecce di lievito ha un forte effetto stimolante sulla FML. Il processo di autolisi rilascia aminoacidi e vitamine, arricchendo il mezzo di nutrienti per i BML. Secondo alcuni vi è un effetto detossificante per opera dei polisaccaridi del lievito, che possono adsorbire o complessare i composti inibitori.

Figura 1. Tempo necessario a completare la FML in vini tedeschi Lemberger e Pinot nero fermentati con lo stesso ceppo di lievito selezionato YSEO® e non YSEO®. I batteri malolattici sono stati inoculati nel mosto durante la fermentazione alcolica (coinoculo) o dopo il suo completamento (inoculo post FA).



II- Condizioni meno note che inibiscono la FML

Il contributo di altri fattori meno conosciuti in relazione all'innesco della FML è stato il focus di numerosi studi recenti.

• Contenuto di polifenoli nel vino

Alcuni **composti fenolici** sono in grado di inibire la FML (Ribereau-Gayon *et al.*, 1975; Stead, 1993), mentre altri stimolano l'attività di *Oenococcus oeni* (Vivas *et al.*, 1994, 1995, 1997).

Knoll (2004), in collaborazione con la facoltà di enologia di Bordeaux e con l'Istituto di Geisenheim, ha valutato gli effetti di tre acidi fenolici (caffeico, cumarico e ferulico) su crescita, attività e vitalità di diversi ceppi di BML in un mezzo modello (pH 3,8; etanolo 12% vol.). **L'acido caffeico**, alle concentrazioni della prova (50 e 100 mg/L), ha un effetto positivo sulla crescita e sulla degradazione dell'acido malico. In funzione del ceppo utilizzato, **l'acido ferulico** può avere un'influenza negativa sulla crescita e sul consumo di acido malico da parte dei batteri. L'acido fenolico col maggior effetto inibitorio è stato l'acido **p-cumarico**, e il suo impatto negativo cresceva con la concentrazione. I meccanismi alla base degli effetti inibitori o stimolanti degli acidi fenolici su *O. oeni* sono un argomento attualmente in corso di studio.

Knoll ha anche valutato l'effetto sui BML di composti fenolici estratti da vini Merlot, Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc, ma non ha osservato differenze statisticamente significative sulla crescita e l'attività dei BML tra le diverse varietà.

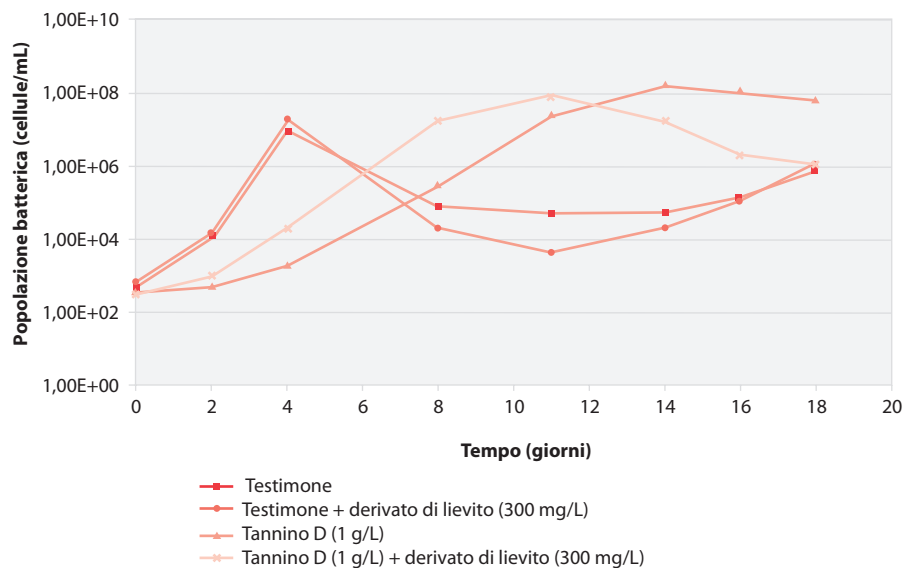
Un'ulteriore prova in un terreno modello (pH 3,5; etanolo 3,3% vol.) ha rivelato che gli antociani alla concentrazione di 250 mg/L hanno stimolato la crescita di tre ceppi di BML (tabella 2). All'opposto, i tannini avrebbero la tendenza a ritardare la crescita batterica, in particolare quelli di vinacciolo a dosi elevati (aggiunta di 1 g/L).

La figura 2 mostra che i tannini possono influenzare lo sviluppo della popolazione di BML. Quando viene aggiunto il tannino D, la crescita della popolazione è ritardata in

Tabella 2. Riassunto dell'effetto dei composti fenolici sulla crescita dei batteri.

Composti Fenolici	Concentrazione	Effetto
Antociani	250mg/L	Stimolazione della crescita
Estratto di vino	1,25g/L 2,75g/L	Effetto minimo Rallentamento della crescita
Tannino A di vinacciolo	1g/L	Rallentamento della crescita
Tannino B di vinacciolo	1g/L	Rallentamento della crescita
Tannino C di buccia	1g/L	Nessun effetto
Tannino D	1g/L	Forte rallentamento della crescita

Figura 2. Effetto dell'aggiunta di un prodotto a base di lievito sulla popolazione batterica.



confronto al testimone, ma l'aggiunta di un prodotto a base di lievito può attenuare l'effetto inibitorio dei tannini.

• Compattamento delle fecce

Soprattutto in vasche di grandi dimensioni, le fecce sul fondo della vasca possono essere compattate fino al punto di impedirne il movimento e, di conseguenza, l'efficacia degli scambi tra batteri e loro nutrienti. Questa osservazione potrebbe spiegare perché la FML impieghi più tempo ad avviarsi in vasche grandi. Tuttavia, la partenza ritardata della FML in vasche di grandi dimensioni può essere evitata agitando le fecce per alcune ore prima dell'inoculo.

• Residui di fitofarmaci

Numerosi fitofarmaci ed i loro residui possono causare FML stentate o bloccate, o addirittura impedirne del tutto l'avvio. Nel corso di due prove condotte dal gruppo di B. Schildberger presso l'università e l'Istituto Federale di Viticoltura e Frutticoltura di Klosterneuburg, Austria, sono state studiate le possibili interazioni tra antibiotici (applicati nel momento indicato dal produttore o 14 giorni prima della raccolta) e qualità della FML. Nel 2006, uve di Grüner Veltliner sono state trattate con diversi fitofarmaci seguendo le istruzioni dei produttori. In un caso, il prodotto è stato applicato quando indicato dal produttore, in un altro caso 14 giorni prima della vendemmia. La tesi di controllo non è stata trattata con prodotti contro la muffa grigia. La prova è stata ripetuta nel 2007.

I risultati di entrambe queste prove indicano che residui o molecole derivate dai composti attivi di alcuni fitofarmaci hanno un significativo effetto negativo sulla FML.

III- Strategie per innescare la FML

Per avviare la FML l'enologo deve creare le condizioni favorevoli per la crescita dei BML utilizzando vari metodi, tra cui i seguenti:

– Aggiungere SO₂ in dosi opportune in relazione alla condizione delle uve, alla temperatura, al pH (l'effetto inibente della SO₂ aumenta quando il pH è basso).

– Mantenere una temperatura appropriata (in genere da 18 a 22 °C), evitare raffreddamenti improvvisi, così come riscaldamenti eccessivi (26 °C o più), soprattutto se il vino ha un livello di SO₂ elevato (SO₂ totale > 40 mg/L).

– Agitare con regolarità le fecce (una volta a settimana) per assicurarsi che batteri e nutrienti rimangono in sospensione.

– Aspettare la fine della fermentazione alcolica (FA) prima di effettuare il travaso, così il vino può beneficiare del contatto ottimale con i composti del lievito presenti nelle fecce che, in funzione delle loro caratteristiche, stimolano l'avvio della FML.

– Aggiunta di nutrienti: *O. oeni* (Henick-Kling, 1988) ha esigenze nutrizionali molto precise relativamente alle fonti di carbonio (zuccheri), azoto (aminoacidi liberi e peptidi), vitamine (acido nicotinico, tiamina, biotina e acido pantotenico), minerali (manganese, magnesio, potassio e sodio) e derivati della purina (guanina e adenina, etc.).

Secondo uno studio recente (Rauhut *et al.*, 2004), l'aggiunta di cisteina e glutatione dopo la FA contribuisce a stimolare la crescita dei BML. Si sa anche che l'aggiunta di nutrienti complessi contenenti aminoacidi durante la FA riduce l'assimilazione di azoto da parte dei lieviti, i quali smettono di consumare in abbondanza gli aminoacidi del mezzo, che sono vitali per i batteri.

– Scegliere il ceppo di BML selezionati più adatto: l'inoculo con una coltura selezionata specifica riduce il rischio di compromettere la qualità del vino per l'intervento di altri tipi di BML. L'aggiunta di uno starter enologico favorisce il rapido avvio della FML ed un miglior controllo sui composti con effetto aromatico e gustativo (Bauer e Dicks, 2004).

In presenza di elevate gradazione alcoliche si consiglia di scegliere il ceppo batterico tenendo conto della sua alcol-tolleranza abbinandolo con un lievito compatibile.

Sono in rapida evoluzione ulteriori ricerche sulle interazioni tra microrganismi per determinare quali siano le coppie lieviti-batteri più adatte in condizioni difficili o in alcune varietà, e ciò sarà di grande aiuto per gli enologi.

• **Precauzioni relative alle colture selezionate**

I batteri selezionati possono essere inoculati nel mosto all'inizio della FA (fermentazione alcolica) 24 ore dopo l'inoculo dei lieviti (co-inoculo) o al suo termine (inoculo sequen-

ziale). L'inoculo può anche essere effettuato alcuni giorni o addirittura alcune settimane dopo la fine della FA (inoculo differito). La maggior parte degli enologi inocula dopo la FA, per prevenire il rischio di "spunto lattico" e un'eccessiva produzione di acido acetico.

Tuttavia, secondo recenti ricerche, la tecnica del co-inoculo presenta tre principali vantaggi:

- facilita l'acclimatazione dei batteri in assenza di alcol;
- incrementa l'assorbimento di nutrienti (rispetto all'inoculo post fermentativo);
- rispetta il carattere fruttato dei vini.

Inoltre il co-inoculo è apprezzato dal punto

di vista della sicurezza microbiologica poiché facilita la dominanza del ceppo selezionato e assicura un maggior controllo sulla FML.

Il co-inoculo aiuta anche a proteggere il vino dai lieviti contaminanti del genere *Brettanomyces*, il cui sviluppo avviene in genere durante la fase di latenza tra la fine della fermentazione alcolica e l'inizio della FML.

Il tasso d'inoculo batterico è parimenti molto importante. Si ritiene che per avviare la FML sia necessaria una popolazione minima di 10⁶ cellule/mL, se questa soglia non è raggiunta, l'avvio ed il termine della FML possono essere considerevolmente ritardati.

RIASSUNTO

Anche quando si utilizzano colture malolattiche selezionate, numerosi fattori come la carenza di nutrienti, la competizione tra microrganismi e la presenza di inibitori nel vino sono ancora di difficile valutazione.

La scelta dei batteri lattici da impiegare per la fermentazione malolattica deve essere basata sulle caratteristiche fisico-chimiche del mosto/vino e sul loro contributo alle caratteristiche organolettiche del vino finale.


A tal scopo il kit Duo-Riesling™ è il primogenito di una linea di coppie lieviti/batteri dedicate ad applicazioni specifiche in funzione della varietà e dello stile di vino, ed è particolarmente adeguato in termini di efficacia fermentativa e contributo aromatico.

Lallemand ha anche messo a punto una tabella (vedi tabella 3) per valutare la fattibilità della FML secondo alcuni parametri del vino.

Tabella 3. Test di fattibilità per la fermentazione malolattica nel vino.

Sommare il totale dei punti ottenuti secondo le caratteristiche fisico-chimiche del proprio vino per determinare se questo presenta condizioni favorevoli, poco favorevoli o difficili per l'instaurarsi della FML.

I fattori che influenzano lo svolgimento della fermentazione malolattica

	il mio vino	Assegnazione dei punti				Punteggio assegnato
		1 punto	2 punti	8 punti	10 punti	
Alcol (% vol.)		< 13	da 13 a 15	da 15 a 17	> 17	
pH		> 3,4	da 3,1 a 3,4	da 2,9 a 3,1	< 2,9	
SO ₂ libera (mg/L)		< 8	da 8 a 12	da 12 a 15	> 15	
SO ₂ totale (mg/L)		< 30	da 30 a 40	da 40 a 60	> 60	
Temperatura (°C)		da 18 a 22	da 14 a 18 e da 22 a 24	da 10 a 14 e da 24 a 29	< 10 y > 29	
Fabbisogno in azoto dei lieviti		Basso	Medio	Elevato	Molto elevato	
Andamento della fermentazione alcolica		Senza problemi	Leggero stress dei lieviti	Stentata, in arresto	Contatto prolungato con i lieviti	
Concentrazione iniziale di acido malico (g/L)		da 2 a 4	da 4 a 5 e da 1 a 2	da 5 a 7 e da 0,5 a 1	> 7 e < 0,5	
Velocità massima della fermentazione alcolica (perdita massima di punti di densità in un giorno)		< 8	da 8 a 16	da 16 a 24	> 24	
NOTA: altri fattori attualmente meno studiati non sono tenuti in considerazione in questa tabella: ossigeno disciolto, contenuto in polifenoli, compattamento delle fecce, residui di pesticidi, lisozima.....						
						TOTALE

