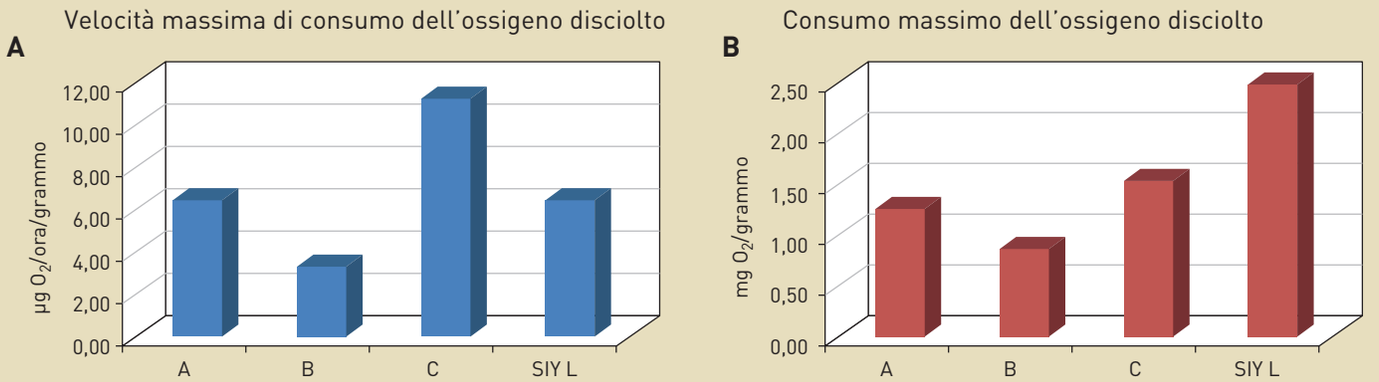
Lieviti inattivi per la gestione dell'ossigeno e la protezione in affinamento

NATHALIE SIECZKOWSKI, ANNE ORTIZ-JULIEN Lallemand SAS (Blagnac, Francia)
EMMANUELLE GARCIA, ALAIN SAMSON, JEAN-MICHEL SALMON INRA (Gruissan, Francia)
SOLINE CAILLÈ INRA (Montpellier, Francia)

A livello internazionale la reputazione dei vini bianchi e rosati è influenzata in modo preponderante dalle loro qualità aromatiche, perciò è importante evitare che nel corso della conservazione alcuni vini possano sviluppare difetti visivi e olfattivi riconducibili a reazioni ossidative (Rigaud *et al.*, 1990).

Durante un affinamento in ambiente ossidativo o una movimentazione impropria dei vini finiti (Vidal., 2003 e 2004), vi è un significativo incremento di aldeidi dovuto principalmente all'ossidazione di alcoli e meccanismi di ossidazione accoppiata che coinvolgono l'ossigeno atmosferico e di e tri-idroidrossifenoli. Un altro tipo di reazione osservata è l'acetalizzazione tra aldeidi, alcoli e polioli del vino come il glicerolo.
Queste reazioni chimiche avvengono spontaneamente per via dell'alta concentrazione di tali molecole reattive nel vino e i composti ossidati risultanti sono responsa-

IL CONSUMO DI OSSIGENO



Graf. 1 - Capacità specifiche dei migliori derivati di lievito testati. A: Velocità massima di consumo dell'ossigeno (µg O_2/ora/g di prodotto), B: Consumo massimo dell'ossigeno disciolto (mg O_2/g di prodotto).

bili di un deprezzamento sensoriale, sia per alterazione dell'equilibrio aromatico che per l'imbrunimento del colore (Rigaud *et al.*, 1990).

Ossigeno e lieviti vivi/morti

È stato dimostrato da molti anni che durante la fermentazione alcolica i lieviti vivi sono in grado di consumare una significativa quantità di ossigeno, attraverso la presenza di vie metaboliche non legate alla respirazione (Rosenfeld *et al.*, 2002); queste vie metaboliche sono conservate in modo analogo anche nei lieviti morti (Fornairon *et al.*, 1999; Salmon *et al.*, 2000; Fornairon-Bonnefond *et al.* 2003).

Questa capacità deriva da un fenomeno enzimatico saturabile (Salmon *et al.*, 2000) che dipende dalla temperatura e dalla concentrazione variabile di ossigeno disciolto, e varia in funzione del ceppo di lievito (Fornairon-Bonnefond, 2000). Più recentemente, a seguito di uno studio sul consumo di ossigeno di origine non respiratoria da parte dei lieviti enologici (Salmon *et al.*, 1998; Rosenfeld *et al.*, 2002), è stato chiaramente dimostrato che questa via metabolica, rilevabile nei lieviti morti, si origina dalla degradazione ossidativa dei lipidi cellulari (Fornairon-Bonnefond *et al.*, 2002a; Salmon, 2006).

Questo potenziale consumo di ossigeno può essere sfruttato come protezione dei vini durante le fasi di conservazione e affinamento (INRA, 2008) e recenti studi hanno rafforzato questa aspettativa sulla base di esperimenti in laboratorio mirati alla valutazione della capacità antiossidante di alcuni preparati a base di lieviti (Comuzzo *et al.*, 2015).

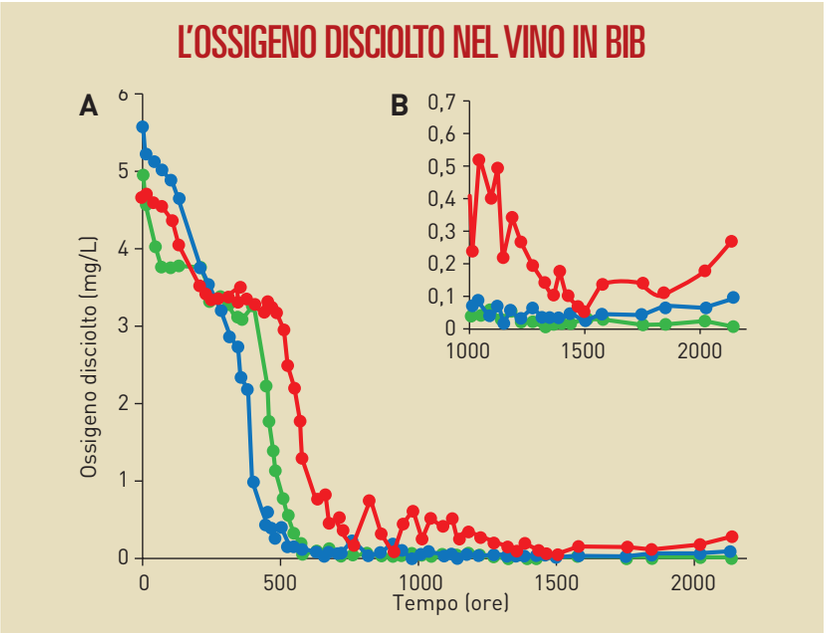
Lo studio presentato in questo articolo si concentra sull'individuazione di derivati di lievito con elevate capacità di consumo dell'ossigeno disciolto, con lo scopo di poterli utilizzare durante la conservazione dei vini più sensibili all'ossidazione. Nel corso dello *screening* è stato individuato il preparato dotato delle migliori caratteristiche, che è stato poi addizionato, in dosi enologiche, a diversi vini bianchi con o senza aggiunta di solfiti. L'effetto ottenuto contro l'ossidazione è stato misurato osservando l'evoluzione cromatica dei vini stessi e attraverso l'analisi sensoriale condotta da un panel di esperti.

Selezione di lieviti inattivi in grado di consumare l'ossigeno

Nell'ambito di una partnership di ricerca con Lallemand sono stati selezionati, tra numerosi derivati di lievito, quelli che mostravano le maggiori velocità e capacità massime di consumo dell'ossigeno disciolto, misurate a 20°C in un vino sintetico saturato di ossigeno. È stato notato come il fenomeno del consumo di ossigeno cessi con il diminuire dei composti che costituiscono il substrato di queste ossidazioni.

In merito alla selezione, considerando che la finalità della futura applicazione in cantina sarebbe stata la protezione del vino dalle ossidazioni nel medio-lungo termine, si è privilegiata l'individuazione del prodotto (un ceppo di lievito enologico abbinato a un particolare processo produttivo) in grado di consumare l'ossigeno disciolto in modo prolungato nel tempo, piuttosto che il formulato con il più elevato consumo istantaneo.

La preferenza si è orientata verso un'unica selezione di lieviti inattivi (nome sperimentale SIY L), le cui caratteristiche erano in grado di soddisfare al meglio le specifiche richieste (grafico 1). In condizioni normali di utilizzo (temperatura di 20°C, dosaggio 20 g/hL) con il lievito inattivo selezionato sono state misurate una velocità massima di consumo dell'ossigeno di 0,74 mg/ora e una capacità totale di assorbimento dell'ossigeno disciolto di 2,5 mg per grammo di prodotto (ulteriormente incrementata a 5 mg/g con l'ottimizzazione del processo industriale).



Graf. 2 - Evoluzione della concentrazione di ossigeno disciolto (mg/L) durante la conservazione a 20°C di un vino Sauvignon Blanc in bag-in-box. Tesi non solfitata (●), tesi solfitata a 60 mg/L (●) e non solfitata in presenza di 20 g/hL del lievito inattivo SIY L (●).

COLORE DEL SAUVIGNON BLANC IN BIB

Metodi	Parametri cromatici (CIE L*a*b*)		
	L*	a*	b*
Controllo senza solfiti	95,9	-0,185	10,386
Aggiunta di solfiti (60 mg/L)	97,5	-0,507	9,04
Aggiunta di SIY L (200 mg/L)	97,6	-0,698	8,242

Tab. 1 - Parametri colorimetrici dei diversi vini Sauvignon Blanc dopo 5 mesi di conservazione a 20°C in bag-in-box (valori medi delle tre ripetizioni).

Test pilota su vini conservati in bag-in-box

A conferma dei risultati ottenuti su vino sintetico, sono stati eseguiti dei test preliminari su un vino Sauvignon Blanc con o senza solfitazione. Per simulare un invecchiamento in ambiente ossidativo, il vino è stato conservato in bag-in-box poiché le sue pareti presentano un'elevata permeabilità all'ossigeno (A. Peychès-Bach, 2009). Il **monitoraggio dell'ossigeno disciolto** (grafico 2) dimostra che dopo 500-700 ore il contenuto di ossigeno nel vino scende a un livello pari a 0: da questo momento si raggiunge un equilibrio tra la permeazione dell'ossigeno attraverso le pareti del bag-in-box e il suo consumo nel vino. Non si sono osservate differenze significative in termini di consumo dell'ossigeno disciolto tra la tesi solfitata (60 mg/L) e quella in cui erano stati aggiunti 20 g/hL di SIY L senza SO_2 (grafico 2A). Dopo oltre 2 mesi (1500 ore) si osserva un nuovo aumento dell'ossigeno disciolto nel vino controllo non solfitato, mentre il vino solfitato e quello con SIY L mostrano ancora un'assenza di ossigeno disciolto, confermando che la capacità di consumo dell'ossigeno era ancora presente (grafico 2B). L'**analisi della componente cromatica** dei diversi vini dopo 5 mesi di conservazione (3600 ore) a 20°C indica che la componente L* del colore (luminosità) è più elevata e la componente a* (che misura la tendenza al viraggio verso tonalità più rossastre) è sempre inferiore per i vini integrati con solfiti o con il lievito inattivo SIY L (tabella 1). La componente b* (che misura lo spostamento verso tonalità gialle) non si presenta significativamente diversa nei 3 metodi testati (tabella 1). L'ossidazione ap-

LO SCREENING DEL CONSUMO DI OSSIGENO DA PARTE DEI DERIVATI DI LIEVITO

Un esperimento preliminare ha permesso di caratterizzare differenti derivati di lievito in termini di capacità di consumo dell'ossigeno disciolto. I prodotti testati differivano per composizione (lieviti inattivi, autolisati o pareti cellulari), processo produttivo e ceppo di lievito (tutti provenienti dalla collezione Lallemand) utilizzato nella formulazione. I test sono stati effettuati in fiale dotate di sensori PreSens® PSt3 (Precision Sensing GmbH, Germania) su vino sintetico sterile saturo di ossigeno; le fiale prima di essere sigillate con tappi in silicone sono state riempite in modo da eliminare l'ossigeno gassoso dallo spazio di testa. Eventuali bolle d'aria presenti sotto il tappo di silicone sono state rimosse usando una siringa attraverso il tappo. I tappi sono stati quindi fissati con un coperchio di alluminio e sigillati con cera calda per evitare qualsiasi scambio di gas con l'esterno. I campioni sono stati posti in una stanza a temperatura controllata a 20°C, mantenuti in agitazione, e l'ossigeno disciolto è stato misurato una o due volte al giorno fino al suo esaurimento. Tutti i derivati di lievito testati in duplicato avevano oltre il 93% di estratto secco e il dato sul consumo di ossigeno è stato fornito per grammo di prodotto utilizzato. I campioni sono stati messi a confronto utilizzando il test statistico LSD (P <0,05).

pare quindi nettamente inferiore nei vini cui sono stati aggiunti solfiti o il lievito inattivo selezionato (SIY L). Il 3-mercaptoesan-1-olo (3MH) e il suo acetato, il 3-mercaptoesil acetato (Ac3MH), sono due **tioli varietali** che, seppur presenti a concentrazioni bassissime (meno di 1 µg/L), riescono a impartire ai vini Sauvignon Blanc le caratteristiche note di pompelmo e frutto della passione (Roland *et al.*, 2011). Le soglie di percezione di queste molecole in vino sono rispettivamente di 60 ng/L e 4 ng/L (Tominaga *et al.*, 1998). Queste molecole altamente aromatiche sono estremamente sensibili all'ossidazione poiché chimicamente instabili, ovvero reagiscono facilmente con altri composti presenti nel vino mediante reazione nucleofila (Hofmann *et al.*, 1996; Sarrazin *et al.*, 2010). Al fine di preservarli è indispensabile proteggere il vino dall'ossigeno sia durante l'*elevage* che in bottiglia, ottimizzando la gestione dei solfiti, l'invecchiamento *sur lies*, l'inertizzazione dei contenitori e garantendo un imbottigliamento con metodi di chiusura appropriati che limitino la dissoluzione dell'ossigeno. Nelle condizioni del nostro esperimento, dopo 5 mesi di conservazione è stato osservato chiaramente che le te-

LE PROVE DI CONSERVAZIONE DEI VINI IN BAG-IN-BOX

Il vino non solfitato (varietà Sauvignon Blanc, TAV 13% vol., acidità volatile 0,32 g/L in H_2SO_4, pH 3,78) è stato portato, tramite un contattore a membrana Winebrane, a un livello di ossigeno disciolto di circa 0,7 mg/L nella vasca di riempimento, quindi a circa 5 mg/L di ossigeno disciolto sulla linea di confezionamento Condinnov. Il vino trattato è stato confrontato con due controlli: uno mantenuto senza solfiti e l'altro aggiunto di 60 mg/L di SO_2. Nelle prove, il lievito inattivo specifico scelto (SIY L) è stato aggiunto al vino non solfitato alla dose di 20 g/hL.

I vini sono stati poi confezionati in modo omogeneo in Bag-in-Box® (BIB) da 3 litri. Durante gli esperimenti, la misurazione dell'ossigeno disciolto è stata effettuata utilizzando dei sensori PreSens® PSt6, posizionati al livello dello speciale rubinetto Vitop®. Il vino è stato conservato per 5 mesi a una temperatura di 20°C e a un livello di umidità costante.
Tutti gli esperimenti sono stati condotti in duplicato o triplicato a seconda del vino disponibile.
I campioni sono stati messi a confronto utilizzando il test LSD ($P<0,05$).

LA BARBATELLA CHE INNESTA
TRADIZIONE E AGRICOLTURA BIOLOGICA

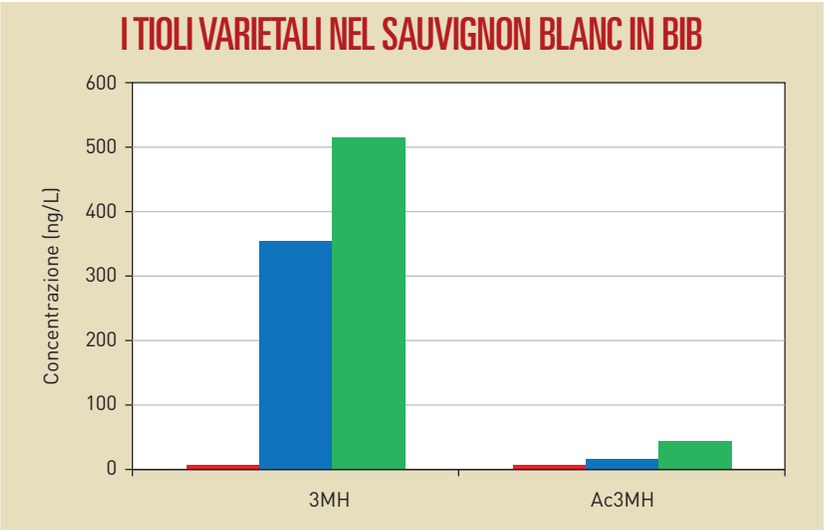
VITIS Rauscedo

VITIS Rauscedo nasce nel 1985 dalla cooperazione di 12 soci, oggi impegnati nella produzione annuale di oltre 6 milioni di barbatelle destinate alle zone viticole del mercato italiano ed estero. Radicata nella tradizione, **VITIS Rauscedo** è altresì da sempre attenta all'innovazione: recentemente ha avviato un ambizioso progetto finalizzato allo sviluppo di una filiera vivaistica sostenibile, per la tutela dell'ambiente agricolo, il miglioramento della qualità tecnico-sanitaria della barbatella e l'utilizzo razionale delle diverse risorse produttive. Una missione che segue i più rigorosi standard qualitativi e sanitari nel rispetto delle linee guida per l'**agricoltura biologica.**

Anni di sperimentazione hanno permesso di mettere a punto tecniche di produzione sempre più efficienti ed ecocompatibili, contribuendo alla nascita della barbatella biologica certificata **VITIS Bio®.**

VITIS Rauscedo
Società Cooperativa Agricola

via Richinvelda, 45
San Giorgio della Richinvelda (PN)
tel. 0427 94016
info@vitisrauscedo.com
www.vitisrauscedo.com



Graf. 3 - Concentrazione dei tioli varietali 3-mercaptoesan-1-olo (3MH) e 3-mercaptoesil acetato (Ac3MH) in un vino Sauvignon Blanc conservato in bag-in-box. Analisi dopo 5 mesi di conservazione a 20°C del testimone non solfitato (■), solfitato a 60 mg/L (■) e non solfitato in presenza di 20 g/hL SIY L (■).

si solfitate o integrate con SIY L mostravano livelli più elevati dei due tioli varietali (grafico 3). Le analisi dei tioli varietali sono state condotte dalla società Nyséos (Montpellier, Francia).

Al termine delle prove (2600 ore di conservazione a 20°C), i vini sono stati sottoposti a una giuria composta da 8 esperti assaggiatori. Questa degustazione si è concentrata sulla percezione dei caratteri ossidativi dei vari campioni, sia a livello di colore che a livello olfattivo e gustativo. Alla fine, è stato condotto un **test di preferenza** sui diversi vini, con i valori più bassi corrispondenti ai vini preferiti. Il test di preferenza condotto da un panel di 8 esperti ha identificato le tesi senza l'aggiunta di SIY L come le meno apprezzate (il valore più basso corrisponde al vino preferito, tabella 2). I dati di questa sperimentazione dimostrano come sia stato possibile ottenere una protezione adeguata dall'ossidazione sia mediante l'aggiunta dei lieviti inattivati testati che con il classico dosaggio di solfiti. L'effetto o meno del *bâtonnage* durante il test preliminare d'affinamento di 6 mesi in vasca, senza mai aprirla, non ha influenzato in modo significativo i parametri colorimetrici misurati (dati non mostrati).

LE ANALISI COLORIMETRICHE

L'influenza delle diverse modalità testate sui campioni di vino è stata misurata utilizzando un colorimetro professionale (CR-200, Minolta, Giappone). Il modello di rappresentazione del colore scelto è il CIE L*a*b* che consente di valutare un cambiamento cromatico e paragonarlo alla variazione di colore rilevabile a occhio nudo. Le relazioni non lineari per i tre parametri L*, a* e b* ricreano la risposta logaritmica dell'occhio, che corrisponde ad 1 punto di variazione di a* o b* per ogni 5 punti di L*. Il parametro L* corrisponde alla luminosità (parametro d'intensità). Varia da 0 (nero) a 100 (incolore).
I parametri a* e b* sono i parametri cromatici che descrivono il colore: la componente a* rappresenta l'asse dal rosso (valore positivo) al verde (valore negativo), passando per il bianco (0) con luminosità pari a 100. La componente b* rappresenta l'asse dal giallo (valore positivo) al blu (valore negativo), passando per il bianco (0) sempre a luminosità pari a 100.

IL TEST DI PREFERENZA

Modalità	Media e deviazione standard del test
Controllo senza solfiti	7,3 ± 2,08 b
Aggiunta di solfiti (60 mg/L)	7,7 ± 1,53 b
Aggiunta di SIY L (200 mg/L)	5,3 ± 1,53 a

Tab. 2 - Valori medi del test di preferenza dei vini Sauvignon Blanc dopo 5 mesi di conservazione in bag-in-box a 20°C. Valori più bassi corrispondono a un livello di gradimento maggiore. Le medie dei triplicati sono state confrontate utilizzando il test LSD (P<0,05). Le differenze significative sono segnalate da lettere diverse.

Uno strumento innovativo

Pur essendo noto da tempo che l'uso di fecce di lievito eserciti un effetto riduttivo sul vino, la loro capacità di consumare ossigeno è stata scoperta solo di recente (Fornairon *et al.*, 1999). Per eliminare la necessità di preparazione, separazione o purificazione di cui necessitano le fecce, è stata avviata una ricerca con dei preparati di lieviti inattivi specifici che mantengano questa particolare proprietà, in modo da poterli utilizzare più facilmente dal punto di vista tecnologico.

Uno *screening* su larga scala ha permesso di selezionare il lievito inattivo specifico SIY L (nome commerciale PURE-LEES™ Longevity), che presenta un consumo di ossigeno attivo e duraturo nel tempo.

Questo nuovo prodotto rappresenta uno strumento innovativo per la protezione dei vini dall'ossidazione e un eccellente aiuto per ridurre l'uso dei solfiti nei vini in stoccaggio, argomento che verrà approfondito nella seconda parte di questo articolo. ■

Gli autori desiderano esprimere il loro particolare ringraziamento a Camille Herpin, Camille Duc, Nicolas Deroyer, Romain Uséo, Aurélie Santini, Maeva Caron e, soprattutto, a Mélanie Veyret per il loro supporto tecnico nella conduzione degli esperimenti descritti in questo articolo. L'articolo in versione originale è stato pubblicato nella Revue des Oenologues, n° 159, aprile 2016. Una seconda parte della presente ricerca verrà pubblicata nel numero 1/2019 (Gennaio) di VVQ.

© RIPRODUZIONE RISERVATA