

# Nutrizione bilanciata per il rilascio dei tioli

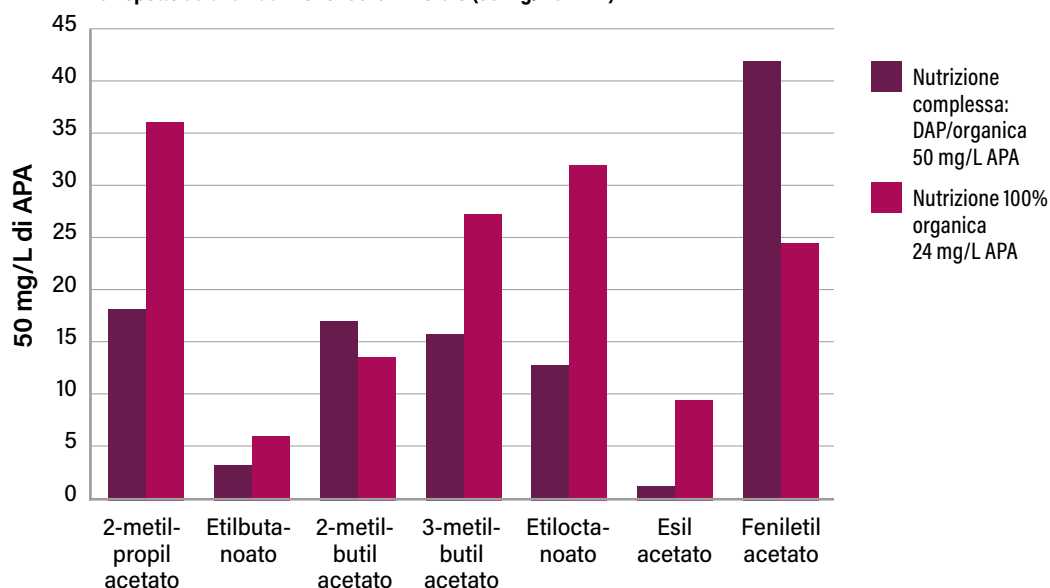
Anne Ortiz-Julien e Céline Raynal  
Lallemand Oenology, Blagnac, Francia

In un mercato sempre più competitivo migliorare la qualità dei vini, soprattutto dal punto di vista sensoriale, rappresenta una delle sfide principali degli enologi di oggi. Negli ultimi dieci anni le conoscenze sul ruolo della nutrizione del lievito nella produzione di sostanze aromatiche si sono ampliate moltissimo. Se, da un lato, l'importanza di un apporto nutritivo bilanciato per assicurare un buon decorso fermentativo è un aspetto ormai consolidato, dall'altro, recenti studi dimostrano come il contenuto in lipidi, in azoto e la presenza di altri micronutrienti abbiano un ruolo fondamentale nella formazione di un gran numero di composti aromatici da parte dei lieviti (Rollero et al. 2016).

## Il ruolo e la qualità dell'azoto durante la fermentazione alcolica

L'azoto presente nel mosto (sotto forma di ammonio, aminoacidi, peptidi e proteine) è uno degli elementi essenziali per permettere al lievito di completare la fermentazione alcolica (FA). Durante la FA il lievito per crescere utilizza l'azoto prontamente assimilabile (APA), una frazione azotata che include aminoacidi liberi (AA), ammonio e qualche peptide (Marsit et al., 2016). L'azoto è inoltre coinvolto nel metabolismo cellulare influenzando le attività enzimatiche e di trasporto di membrana. Nei mosti il contenuto di APA varia da circa 60 mg/L a 500 mg/L a seconda della varietà e dell'annata, solitamente 1/3 di questo è presente sotto forma di ammonio mentre il restante sono aminoacidi (Bely et al., 1990). In mosti carenti in azoto (APA <150 mg/L e 200-220 g/L di zuccheri) la moltiplicazione dei lieviti è limitata e la cinetica fermentativa rallentata. In questi casi è fondamentale prevedere aggiunte di azoto che possono essere fatte con azoto organico (proteine, peptidi, tripeptidi e aminoacidi liberi rilasciati dal lievito [lieviti inattivati e autolisati di lievito]) o inorganico (sali d'ammonio [DAP, DAS]). Il metabolismo dell'azoto, e in particolare quello degli aminoacidi, genera composti aromatici, quali alcoli superiori e i loro acetati, in grado di contribuire alla matrice sensoriale del vino. In prove comparative utilizzando nutrizione organica a

Figura 1 - Prova comparativa su Chardonnay (Barossa Valley) tra nutrizione complessa (DAP + azoto organico - 50 mg/L di APA) e una nutrizione totalmente organica - 24 mg/L di APA. I dati sono espressi come incremento % rispetto ad una nutrizione 100% minerale (50 mg/L di APA)

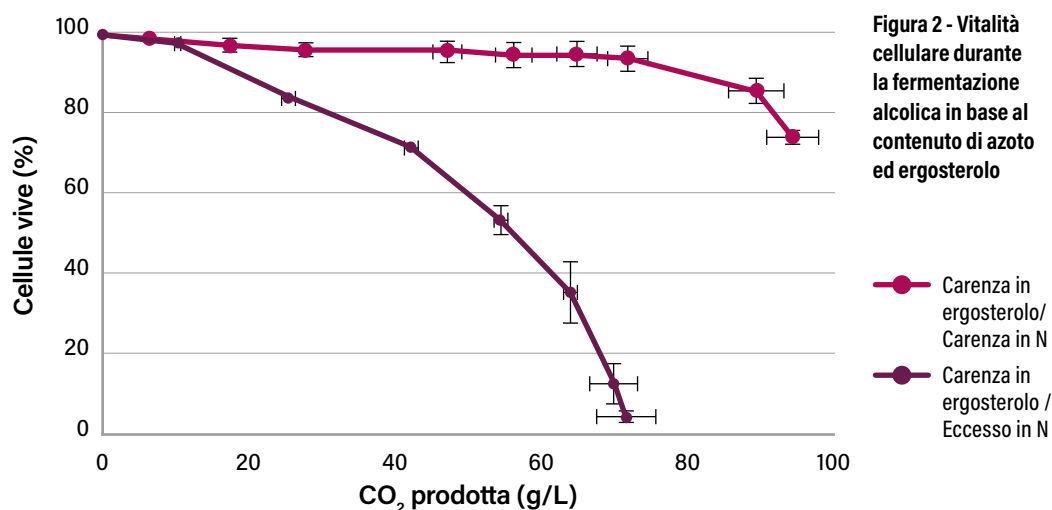


confronto con quella inorganica, emerge chiaramente come quella organica determini una maggiore produzione di esteri (Figura 1). Inoltre, come approfondiremo in questo articolo, il metabolismo del lievito influenza la liberazione e preservazione dei composti aromatici tiolici.

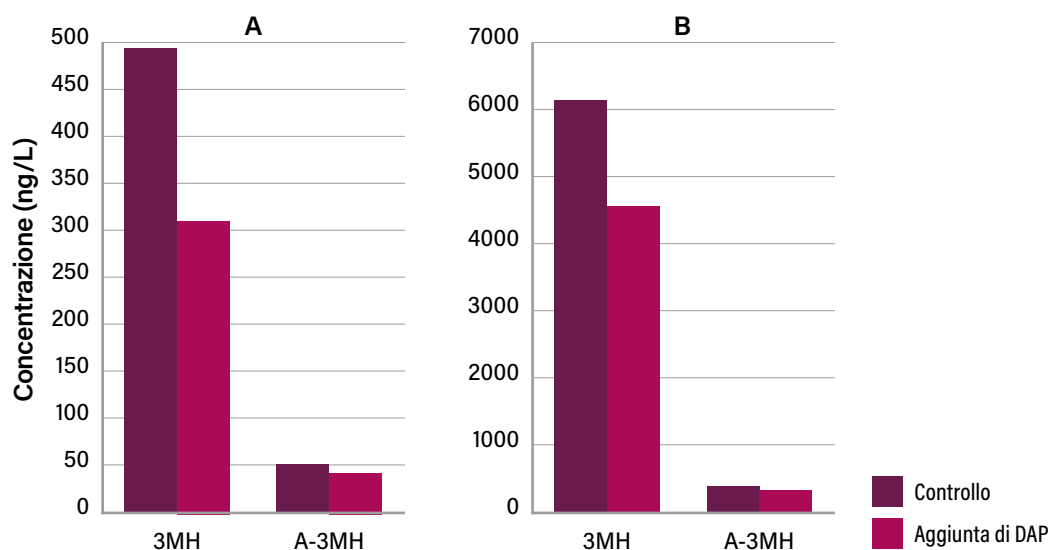
## Squilibri nutrizionali: lipidi e altri micronutrienti

Oltre a una buona gestione dell'azoto durante la FA recentemente si è compresa anche l'importanza dei lipidi (Tesnieres et al., 2013). Lo squilibrio tra azoto e lipidi può comportare la morte dei lieviti durante la fermentazione alcolica determinando rallentamenti o arresti fermentativi. I lipidi sono costituenti fondamentali della parete cellulare ed una loro limitazione determina una maggiore sensibilità all'etanololo dei lieviti dovuta ad una parete meno efficiente. Questo fenomeno si manifesta solitamente all'inizio della fase stazionaria ed è maggiormente accentuato nel caso di una singola aggiunta di nutriente piuttosto che con aggiunte frazionate. Quando il livello di lipidi è sufficiente, anche in condizioni di APA limitato (70 mg/L), non si osserva questo fenomeno.

Il livello di mortalità cellulare in presenza di una limitazione di ergosterolo varia in funzione della disponibilità azotata (Duc et al., 2017): in presenza di uno scarso contenuto di ergosterolo e un elevato contenuto in azoto la mortalità cellulare aumenterà molto nelle prime fasi della fermentazione. Al contrario basse disponibilità di ergosterolo e basse disponibilità azotate (APA a 70 mg/L) determinano un tasso di mortalità più contenuto in virtù di un maggior bilanciamento nutrizionale (figura 2). Numerosi studi hanno identificato altri squilibri



**Figura 3 - Effetto dell'aggiunta di DAP sul rilascio di 3MH e sulla produzione di A3MH, repressione da catabolita nel metabolismo dell'azoto (NCR) determina una riduzione nella liberazione di 3MH e del suo acetato in due Sauvignon blanc provenienti da Languedoc (A) e da Gers (B)**



nutrizionali che determinano un aumento del tasso di mortalità cellulare, ad esempio elevata disponibilità azotata associata a carenze di acido oleico, pantotenato o acido nicotinic. Quando questi micronutrienti sono limitati il tasso di sopravvivenza aumenta con bassi tenori azotati. Una nutrizione bilanciata è importante non solo per preservare la vitalità delle cellule di lievito e prevenire gli arresti fermentativi, ma anche per limitare lo sviluppo di composti organoletticamente sgradevoli. Ad esempio molti

studi hanno messo in luce come uno squilibrio tra un elevato contenuto di APA ed uno scarso livello di acido pantotenico nei mosti possa portare ad una significativa produzione di composti solforati, come l'H<sub>2</sub>S (Wang et al. 2003, Duc et al., 2017). Alcune carenze in termini di micronutrienti possono verificarsi a seconda delle pratiche enologiche utilizzate: la chiarifica può portare ad un impoverimento di lipidi, in special modo di steroli e di acidi grassi insaturi che sono micronutrienti essenziali per il lievito. Alla luce

di queste informazioni risulta evidente come la pratica dell'aggiunta di azoto debba prendere in considerazione l'interazione con gli altri micronutrienti per una corretta gestione del processo fermentativo.

### L'influenza della nutrizione sulla produzione di tioli

Il profilo aromatico del Sauvi-

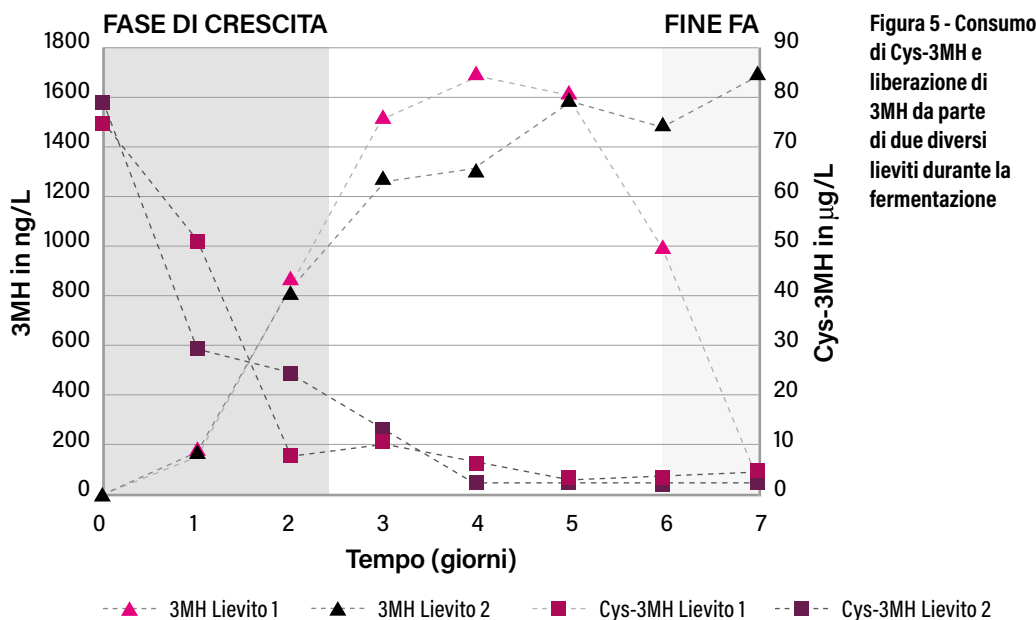
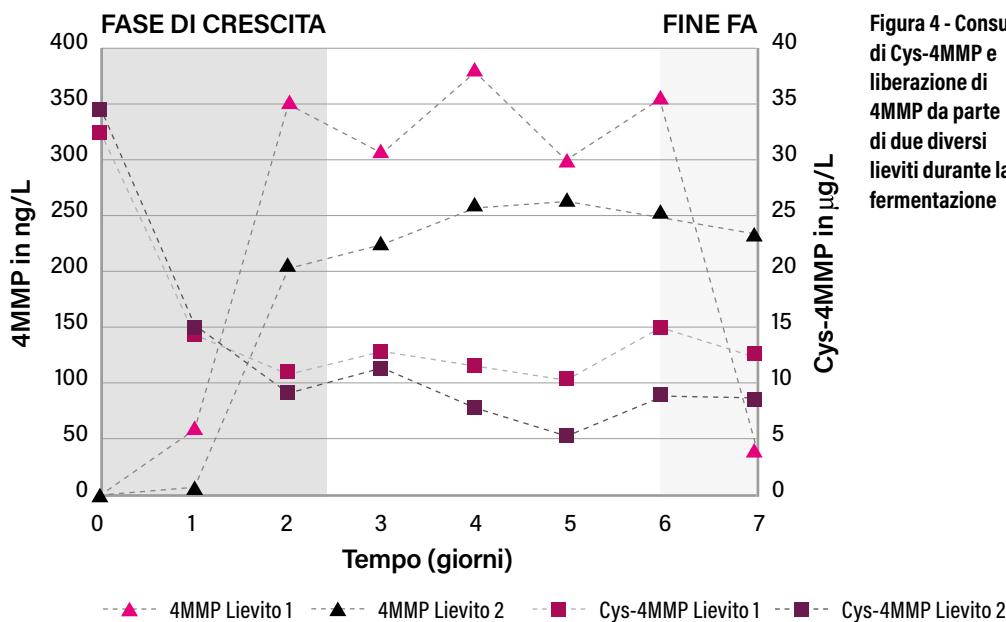
gnon blanc è caratterizzato principalmente da tre composti tiolici: 3-mercaptoesanolo (3MH), acetato di 3-mercaptoesile A3MH e 4-mercapto-4-metilpentan-2-one (4MMP). Il 4MMP e il 3MH non sono presenti nell'uva come tioli liberi ma vengono liberati dai lieviti durante la fermentazione alcolica a partire dai relativi precursori non odorosi-

steina o glutatione.

Il meccanismo di rilascio da parte del lievito prevede due passaggi: l'ingresso dei precursori tiolici nella cellula di lievito attraverso specifici trasportatori di membrana (ne sono stati identificati 5, tra cui i più importanti GAP1, OPT1, PTR2); la rottura, all'interno della cellula di lievito, del legame con glutatione e cisteina ad opera di una specifica beta-liasi (codificata da IRC7) consente la liberazione di 4MMP e 3MH (Roncoroni et al., 2011; Holt et al., 2011; Cordente et al., 2015).

La liberazione dei composti tiolici è inoltre condizionata da diversi fattori ambientali, come il contenuto di nutrienti e micronutrienti nelle uve. È stato messo in luce come la liberazione di 3MH sia influenzata dall'impatto di alcuni importanti parametri fermentativi, quali ossigeno, zucchero, ammonio, vitamine e steroli (M. Subileau, 2012): aggiunte di ergosterolo e vitamine determinano un aumento di 3MH mentre eccessi in azoto ammoniacale, ossigeno ed elevate concentrazione zuccherine hanno un effetto negativo sulla liberazione di 3MH. Ulteriori studi si sono focalizzati sulla fase di assorbimento da parte della cellula di lievito dei precursori Cys-4MMP e Cys-3MH, indagando il ruolo specifico di una delle principali permeasi (GAP1) che trasporta gli aminoacidi all'interno della cellula. Queste esperienze hanno evidenziato che livelli eccessivi o aggiunte di ammonio ad inizio fermentazione inibiscono l'attività di queste permeasi limitando il rilascio di tioli da parte del lievito (Figura 3), questo meccanismo viene comunemente chiamato NCR, ovvero repressione da catabolita nel metabolismo dell'azoto (Subileau et al., 2008).

Oltre il 70% di tioli volatili viene rilasciato nelle prime fasi della FA: nelle prime 48 ore per 4MMP (Figura 4)



e nei primi 3-4 giorni per 3MH (Figura 5). Il rilascio avviene durante la fase di crescita, quando il consumo delle fonti azotate è massimo e anche gli aminoacidi vengono assorbiti dal lievito, permettendo quindi anche un rapido assorbimento di Cys-3MH e Cys-4MMP. È infatti in questa fase che il lievito ha il massimo dell'attività enzimatica ( $\beta$ -liasi) in grado di liberare i precursori tiolici.

Alla luce di queste nuove conoscenze Lallemand ha condotto uno studio di ricerca approfondendo l'impatto della gestione nutrizionale dei lieviti sul profilo sensoriale dei vini con l'obiettivo di ottimizzare il rilascio del potenziale aromatico varietale delle uve attraverso una nutrizione bilanciata e il momento di aggiunta dei nutrienti.

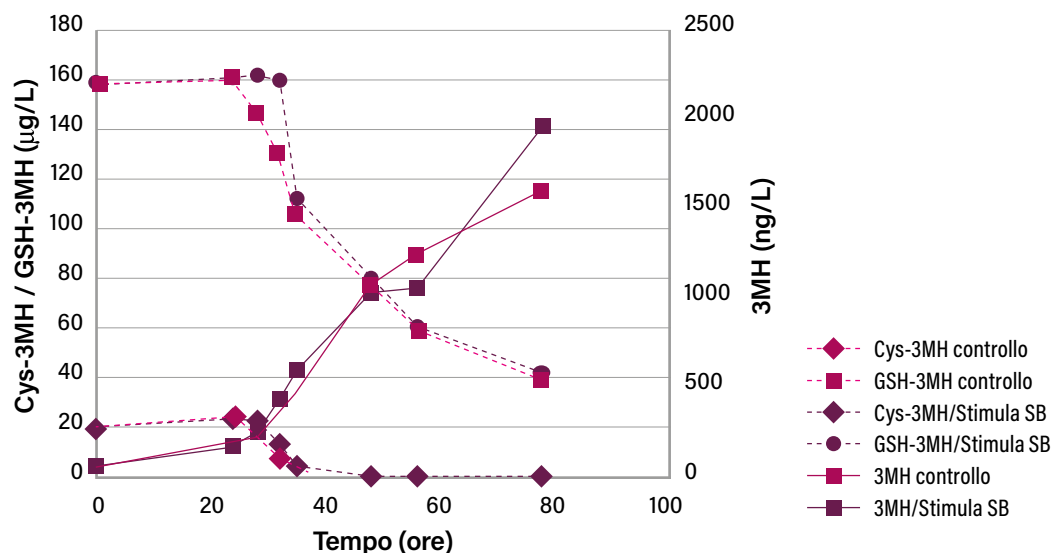
Questo lavoro ha condotto allo sviluppo di un nutriente specifico in grado di accrescere la capacità del lievito nell'assimilazione di precursori aromatici varietali, migliorandone la bioconversione in tioli volatili.

Questo nuovo nutriente organico, nome commerciale STIMULA™ Sauvignon blanc, utilizzato all'inizio della fermentazione alcolica, quando il lievito consuma attivamente azoto, è in grado di stimolare l'attività enzimatica del lievito, incrementando la rivelazione di aromi tiolici.

Nei risultati della prova comparativa condotta con lo stesso ceppo di lievito presentati in Figura 6, non ci sono differenze significative tra i due vini nella diminuzione dei precursori di 3MH (coniugati a cisteina e glutatione), mentre viene messo in luce l'aumento di 3MH nel vino con STIMULA™ Sauvignon blanc.

I risultati di una prova comparativa, realizzata in Nuova Zelanda su Sauvignon blanc, tra una nutrizione

**Figura 6 - Impatto dell'aggiunta di STIMULA Sauvignon blanc ad inizio FA sul contenuto di 3MH**



**TABELLA 1 - INCREMENTO DEL CONTENUTO DI 3MH E 4MMP CON AGGIUNTA DI STIMULA SAUVIGNON BLANC AD INIZIO FA, PROVA DI CANTINA -MARLBOROUGH, NUOVA ZELANDA, 2017**

	Controllo	Aggiunta di Stimula Sauvignon blanc
<b>3MH (ng/L)</b>	8742	11836
<b>A-3MH (ng/L)</b>	1539	1671
<b>4MMP (ng/L)</b>	55	160

con STIMULA™ Sauvignon blanc e una nutrizione aziendale (Controllo) hanno confermato un sostanziale incremento di 4MMP (+65%) e 3MH (+25%) nel vino con l'aggiunta di STIMULA™ Sauvignon blanc (Tabella 1).

## Riassumendo

L'aggiunta di azoto nel mosto è una pratica consolidata per compensare eventuali deficit in azoto assimilabile, mentre fino ad oggi, si è riservata poca attenzione all'impatto dei micronutrienti sulla cinetica e sulla qualità fermentativa.

Le nuove conoscenze sempre più approfondite sull'importanza dei micronutrienti, delle vitamine, degli steroli, del ceppo di lievito sull'influenza su assorbimento e rilascio dei composti tiolici in fer-

mentazione evidenziano come la nutrizione sia qualcosa di più complesso che una singola aggiunta di azoto. Il tutto non si traduce semplicemente in termini quantitativi ma in un equilibrio tra azoto e gli altri microelementi, solo una nutrizione bilanciata può assicurare infatti un buon metabolismo cellulare e una corretta cinetica fermentativa.

Alla luce di queste nuove conoscenze Lallemand ha sviluppato un nuovo nutriente organico specifico (STIMULA™ Sauvignon blanc) in grado di accrescere la capacità del lievito nell'assimilazione di precursori aromatici varietali, ottimizzando la bioconversione in tioli volatili.

I riferimenti bibliografici sono disponibili su richiesta alla redazione