130° ANNIVERSARIO

l'Enologo

N° 7/8 • LUGLIO/AGOSTO 2021

DAL 1893 LA VOCE DI **ASSOENOLOGI**

Intervista esclusiva

Sting: il vino è come una canzone, deve raccontare una storia

Editoriale del presidente

L'arte incontra il vino e tutto diventa poesia

20121 MILANO - VIA PRIVATA VASTO, 3 - TEL 02.99785721 - FAX 02.99785724 - POSTE ITALIANE - SPEDIZIONE IN ABBONAMENTO POSTALE 70% CN/BO

SVILUPPO DI UN NUOVO LIEVITO PER LA BIOPROTEZIONE DI MOSTI BIANCHI E ROSATI IN FASE PREFERMENTATIVA

A cura di:

Marion Bastien [1]

Anthony Silvano [1]

Anne Ortiz-Julien [1]

Vincent Gerbaux [2]

Isabelle Davanture [2]

[1] Lallemand SAS - Blagnac France

[2] IFV - Unité de Beaune France

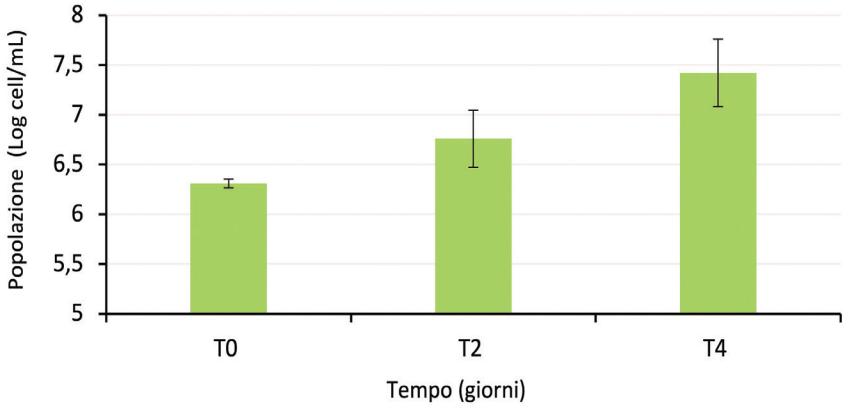
Il concetto di "bioprotezione" associato all'uso di lieviti non-*Saccharomyces* in fase prefermentativa ha portato il mondo della ricerca a considerare e investigare maggiormente questi microrganismi come alternative naturali all'utilizzo della solforosa

Le fasi prefermentative nella vinificazione in bianco e in rosato rappresentano un momento di elevata criticità in cui i mosti sono particolarmente sensibili a fenomeni ossidativi e contaminazioni microbiche capaci di determinare un'inevitabile perdita di qualità. L'impiego di solfiti rappresenta la pratica più comune per ovviare a questi problemi grazie alla sua azione antisettica, antiossidante e antiossidasica. Tuttavia, lo sviluppo di pratiche enologiche alternative, gli aggiornamenti delle normative in vigore assieme all'attuale e crescente domanda dei consumatori per vini con un limitato intervento chimico, stanno determinando una significativa diminuzione del suo utilizzo. Parallelamente lo sviluppo del concetto di "bioprotezione" associato all'uso di lieviti non-*Saccharomyces* in fase prefermentativa ha portato il mondo della ricerca a considerare ed investigare maggiormente questi microrganismi come alternative naturali all'utilizzo della solforosa.

La selezione

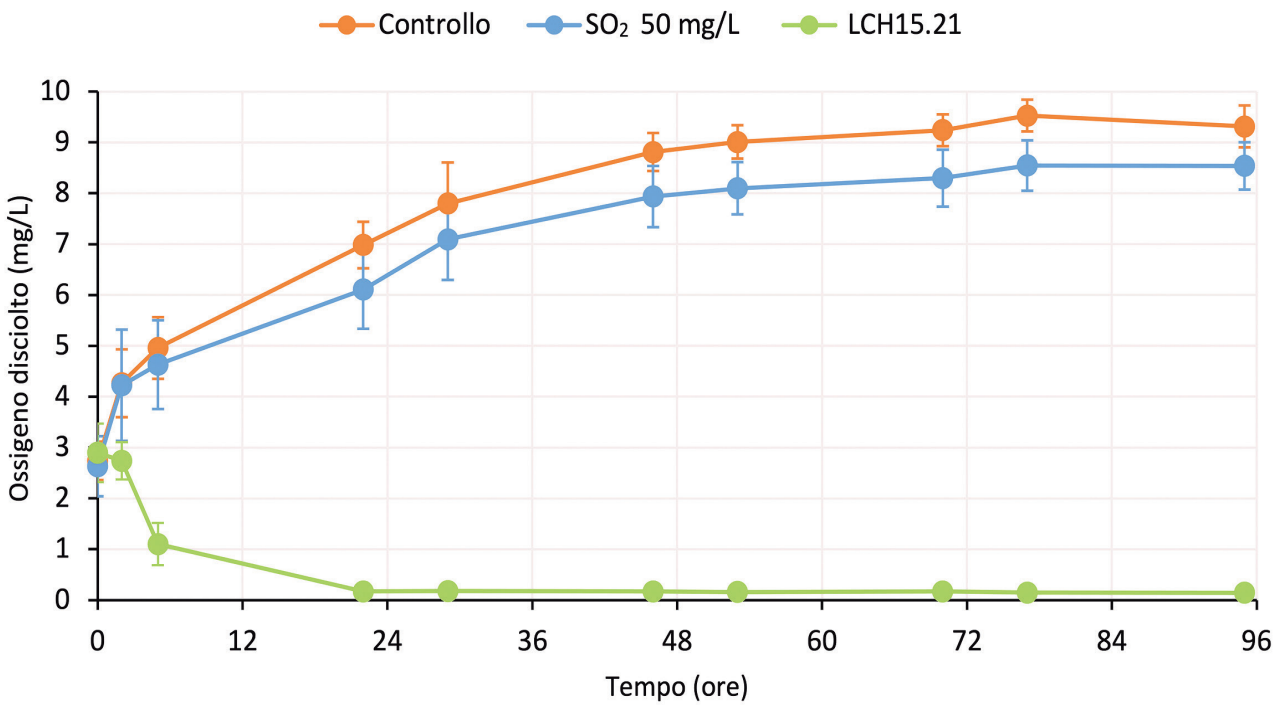
Uno studio condotto dall'IFV (Institut Français de la Vigne et du Vin) di Beau-

Fig.1 - Popolazione di *M. pulcherrima* LCH15.21 in mosto non solfitato – valore medio di mosti Chardonnay, Riesling, Sauvignon blanc e Grenache rosato. (Zuccheri 213 ± 11g/L; APA 160 ± 60 mg/L, Temperatura 12 °C)



ne, in Borgogna, partito da una collezione di oltre 500 ceppi isolati da uve e mosti ha portato alla selezione di un nuovo ceppo di *Metschnikowia pulcherrima* IFV LCH15.21 caratterizzata dall'elevata capacità di consumo dell'ossigeno disciolto e dalla sua abilità nella protezione dei mosti dalla microflora contaminante.
È importante ricordare che ogni specie di lievito ha le sue peculiarità e all'interno della stessa specie si possono osservare specificità differenti, ad esempio, è risaputo che *M. pulcherrima* non è in grado di assor-

Fig. 2 - Comparazione tra tesi controllo, aggiunta di 50 mg/L SO_2, aggiunta di *M. pulcherrima* LCH15.21 nell'evoluzione del consumo di ossigeno in mosti pastorizzati di Chardonnay, Sauvignon blanc, Riesling e Grenache rosato incubati alla temperatura di 12°C. Le barre di errore che indicano la deviazione standard sono molto piccole ad indicare valori molto simili per i quattro vitigni



bire in maniera efficace i lipidi, costituenti fondamentali per la parete cellulare, ma deve sintetizzarli autonomamente e ciò comporta un elevato consumo di ossigeno (Pina *et al.* 2004; Mejía-Barajas *et al.* 2018).
Dagli studi di caratterizzazione eseguiti da Lallemand è stato dimostrato che esiste però una variabilità intraspecifica tra le diverse *M. pulcherrima* nell'utilizzo di ossigeno per sintetizzare questi composti: il lievito LCH15.21 si è dimostrato essere il più abile.
Oltre a queste proprietà specifiche, altre caratteristiche che hanno guidato la selezione sono state: la bassa capacità fermentativa, la limitata produzione di acido acetico, la buona capacità di colonizzazione del mezzo anche a basse temperature e il rispetto dell'equilibrio aromatico.
Questo nuovo lievito viene prodotto in forma secca attiva da Lallemand ed è commercializzato con il nome di LEVEL² INITIA™.

Le prove su scala di laboratorio

Le prime prove dell'IFV, condotte su mosti su scala di laboratorio, si sono concentrate sul confermare la capacità di colonizzazione e di consumo di ossigeno di questa nuova *M. pulcherrima* su mosti bianchi e rosati. La prova, allo scopo di rimuovere le ossidasi presenti nell'uva ed in particolare le polifenolossidasi che durante l'ossidazione dei fenoli consumano

ossigeno, è stata condotta su mosti pastorizzati a 75°C, in questo modo è stato possibile correlare il contenuto di ossigeno disciolto direttamente al trattamento applicato evitando altre interferenze.
La prova è stata condotta su quattro mosti (Chardonnay, Sauvignon blanc, Riesling e Grenache rosato) suddivisi in tre tesi: controllo non trattato, solfitazione a 50 mg/L e inoculo con LCH15.21 a 10 g/hL; ogni modalità è stata successivamente incubata a 13°C per quattro giorni.

Capacità di colonizzazione di mosti bianchi e rosati

La dose di inoculo di LCH15.21 a 10 g/hL corrisponde ad una popolazione di 2 milioni cellule/ml, dopo quattro giorni la popolazione ha raggiunto una media di 40 milioni cellule/ml nelle quattro tesi dimostrando un'eccellente capacità di colonizzazione del mezzo anche a basse temperature (**Fig. 1**).

Bioprotezione dall'ossidazione: l'abilità di consumare ossigeno e rame

Nella stessa prova durante la fase prefermentativa è stato monitorato il contenuto di ossigeno disciolto mediante sensori Nomasens PST3. I risultati riportati in **Fig. 2**, media dei quattro vini, mostrano come il contenuto di ossigeno presente nelle tesi controllo sia aumentato nei primi due giorni fino a raggiungere un livello di circa 9 mg/L per poi stabilizzarsi, i mosti solfitati hanno mostrato un tenore di ossigeno disciolto inferiore di solamente 1 mg/L rispetto al controllo. Del tutto differente è l'evoluzione del consumo di ossigeno nella tesi con LCH15.21 che diminuisce nelle prime 24 ore fino ad arrivare ad un valore prossimo allo zero.
Dopo i quattro giorni di fase prefermentativa la fermentazione alcolica (FA) è stata condotta con diversi *S. cerevisiae* a seconda della varietà ad una temperatura di 18 °C per 20 giorni. A parità di gestione della nutrizione azotata la bioprotezione non ha influenzato in alcun modo il decorso della FA indipendentemente dal vitigno e dal *S. cerevisiae* utilizzato.
L'analisi colorimetrica dei vini al ter-

Fig. 3 - Assorbanza all'imbottigliamento di Riesling e Sauvignon blanc, comparazione tra tesi controllo, aggiunta di 50 mg/L di SO_2, aggiunta di *M. pulcherrima* LCH15.21 a 10 g/hL

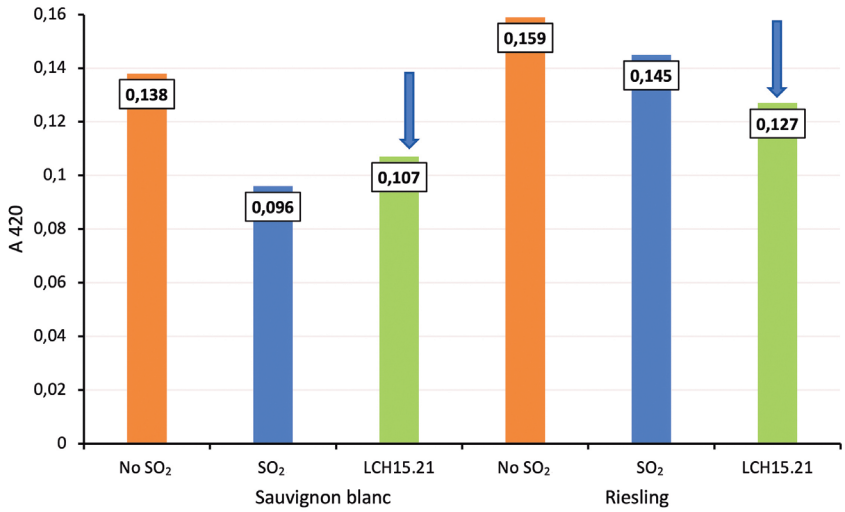


Fig. 4 - Contenuto di rame in un mosto di Chardonnay - Languedoc, Francia, con aggiunta di 10 g/hL di differenti ceppi di *M. pulcherrima* prima della stabulazione a freddo (2 giorni a 15°C), T0 indica il contenuto di rame di partenza (prima della stabulazione), gli altri dati sono stati misurati alla fine della stabulazione

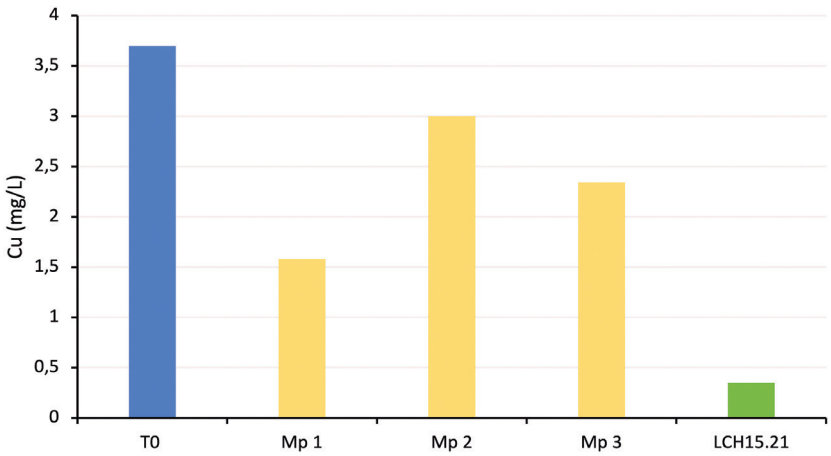


Fig. 5 - Evoluzione della popolazione di *Hanseniaspora uvarum* in un mosto Chardonnay con e senza aggiunta di *M. pulcherrima* LCH15.21 a concentrazioni zuccherine iniziali differenti

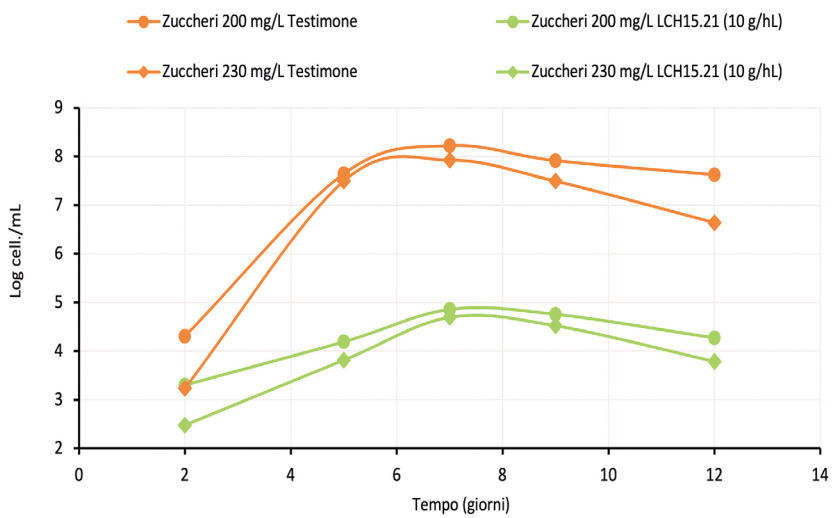


Fig. 6 - Analisi del contenuto di ossigeno disciolto in un mosto di Sauvignon blanc all'uscita dalla pressa, confronto tra aggiunta di LCH15.21 a 20 g/hL, aggiunta di SO_2 a 4 g/hL, nessuna aggiunta (controllo) – Università degli studi di Udine, 2020

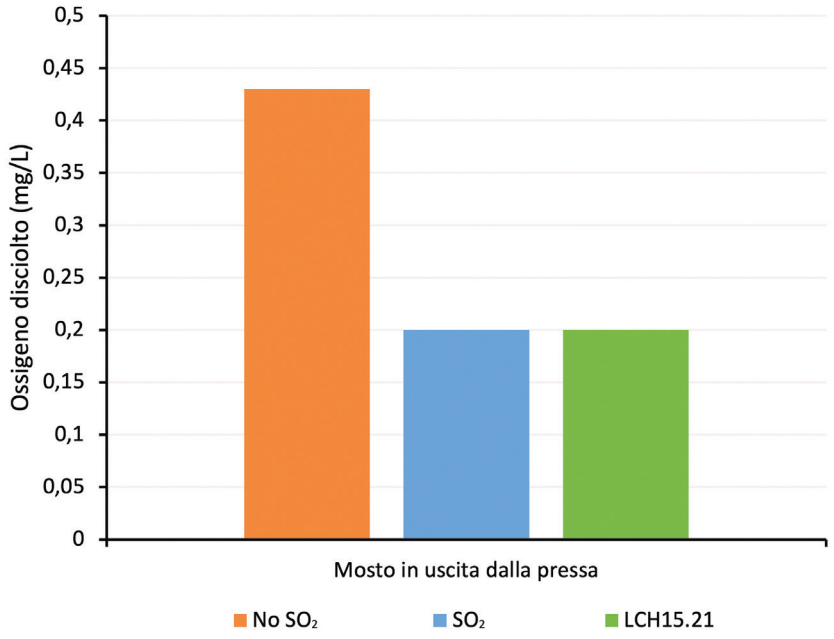
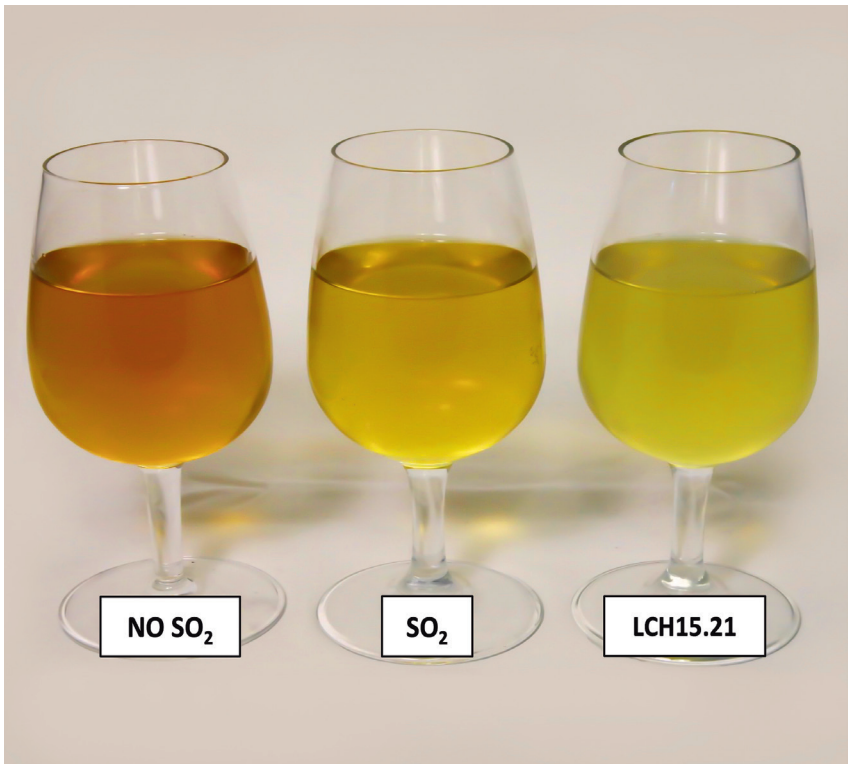


Fig. 7 - Colore finale di un vino Sauvignon blanc, confronto tra aggiunta di LCH15.21 a 20 g/hL, aggiunta di SO_2 a 4 g/hL, nessuna aggiunta (controllo) - Università degli studi di Udine, 2020



mine della fermentazione alcolica ha mostrato un'assorbanza 420 (tonalità del giallo) significativamente inferiore per i mosti di Sauvignon blanc e Riesling inoculati con LCH15.21 rispetto ai controlli senza SO_2 (**Fig. 3**), mentre nel Grenache rosato si è evidenziato un colore più chiaro e meno aranciato.

L'analisi sensoriale di questi vini ha inoltre dimostrato che le modalità con bioprotezione presentavano un'intensità fruttata maggiore ed una migliore qualità complessiva (dati non mostrati).

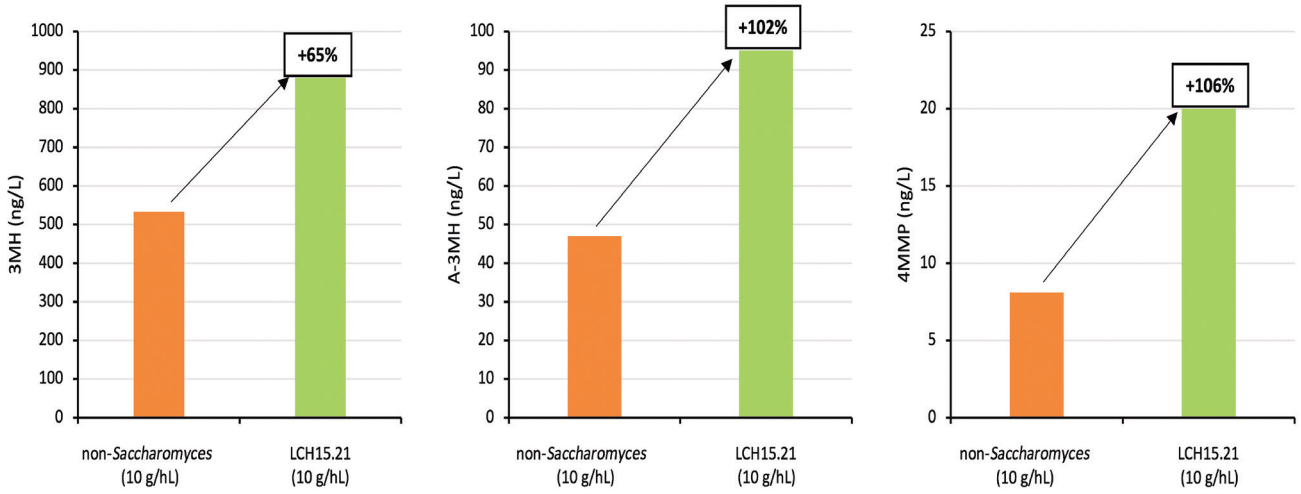
Oltre al consumo di ossigeno un'ulteriore peculiarità del lievito LCH15.21 è l'attitudine a diminuire il contenuto di rame nei mosti. Sebbene i meccanismi alla base di questa capacità rimangano ancora oggi oggetto di approfondimenti, anche in questo caso è stata dimostrata una variabilità intraspecifica: il lievito LCH15.21 presenta caratteristiche peculiari rispetto ad altri ceppi per quanto riguarda la capacità di diminuire le concentrazioni di rame nei mosti. In una prova comparativa eseguita su Chardonnay tra diverse *M. pulcherrima* (**Fig. 4**) inoculate a 10 g/hL prima della stabulazione a freddo (2 giorni a 15°C) LCH15.21 presenta il più alto tasso di consumo di rame. In un'ulteriore sperimentazione su scala di laboratorio su un mosto di Sauvignon blanc in cui sono stati aggiunti 6,3 mg/L di rame, il lievito LCH15.21 inoculato alla dose di 10 g/hL ha ridotto il contenuto di rame del 41% in 24 ore e del 57% in 48 ore.

L'ossigeno è alla base sia delle reazioni di ossidazione enzimatiche (polifenolossidasi) che chimiche ed il rame gioca un ruolo di catalizzatore in queste reazioni. La riduzione dell'ossigeno disciolto in sinergia alla diminuzione del contenuto di rame da parte di LCH15.21 contribuisce a limitare i fenomeni di ossidazione preservando la qualità del vino.

Non solo ossigeno e rame: bioprotezione da contaminazioni microbiche

L'interesse enologico di LCH15.21 risiede anche nella sua capacità di proteggere naturalmente i mosti da contaminazioni microbiche indesiderate. Questa proprietà è stata confermata per la prima volta dall'IFV di Beaune in una sperimentazione su un mosto pastorizzato di Chardonnay (pH 3,4 – APA 210 mg/L – senza aggiunta di SO_2) aggiustato a due diverse concentrazioni zuccherine (200 e 230 g/L) prima di essere inoculato con *Hanseniaspora uvarum* al fine di simulare una contaminazione microbica. Le tesi sono state inoculate con *M.*

Fig.8 - Analisi del contenuto in tioli (3MH, A3MH e 4MMP) all'imbottigliamento su vino Sauvignon blanc, regione di Valencia, Spagna, prova su scala di cantina (100 hL). Confronto tra aggiunta di *M. pulcherrima* LCH15.21 ed un non-*Saccharomyces* di riferimento entrambi a 10 g/hL prima di una stabulazione a freddo di 5 giorni a 4 °C



pulcherrima LCH15.21 alla dose di 10 g/hL e, dopo una fase di stabulazione a freddo di 5 giorni a 13 °C, sono state inoculate con *S. cerevisiae*. Come mostrato in **Fig. 5**, indipendentemente dalla concentrazione zuccherina iniziale, la presenza di LCH15.21 ha soppresso fortemente la proliferazione del lievito apiculato: senza bioprotezione la popolazione di *H. uvarum* ha raggiunto i 100 milioni di cellule/mL durante la fase prefermentativa, mentre in presenza di LCH15.21 si è ridotta notevolmente. Di conseguenza anche il contenuto finale di acido acetico è risultato considerevolmente inferiore (35% e 38% in meno rispetto al controllo) nei vini inoculati con LCH15.21.

Validazione in condizioni reali di cantina

Durante la vendemmia 2020 Lallemand ha condotto numerose prove pratiche in collaborazione con cantine ed università che hanno confermato quanto osservato su scala di laboratorio, inoltre l'inoculo con LCH15.21 non ha mai influito né sul processo di chiarifica né sul corretto svolgimento della fermentazione alcolica.
La capacità di colonizzazione è stata confermata anche in condizioni reali. In una prova condotta in collaborazione con l'Università degli Studi di Udine dal team della Dott.ssa Lucilla Iacumin è stata confermata la capacità di LCH15.21 di consumare ossigeno disciolto. Una partita omogena di Sauvignon blanc (pH di 3.9 con una presenza di flora indigena considerevole) è stata suddivisa in tre tesi: aggiunta di LCH15.21 a 20 g/hL (dosaggio elevato visto il basso stato sanitario delle uve), aggiunta di SO_2 a 4g/hL e controllo senza alcuna aggiunta. Dopo una fase di macerazione pellicolare a freddo (24 ore a 8 °C), eseguita in pressa, l'analisi del contenuto di ossigeno disciolto nel mosto di sgrondo (**Fig. 6**) conferma come l'aggiunta *M. pulcherrima* sia risultata equiparabile alla protezione con solforosa. La capacità di bioprotezione dall'ossigeno di LCH15.21 è stata avvalorata dalla differenza nel colore finale dei tre vini, effetto visibile anche ad occhio nudo (**Fig. 7**). Tutte le tesi dopo la macerazione a freddo sono state inoculate con lo stesso *S. cerevisiae* che ha portato a termine con successo la fermentazione alcolica.
In un'altra prova comparativa eseguita in una azienda vinicola in Spagna su Sauvignon blanc con stabulazione a freddo (**Fig. 8**) la tesi inoculata con LCH15.21 è stata confrontata con un altro lievito non-*Saccharomyces* di riferimento per la bioprotezione. L'analisi dei tioli all'imbottigliamento ha mostrato contenuti più elevati nella tesi con LCH15.21, a conferma delle capacità di bioprotezione dai fenomeni ossidativi e quindi della preservazione della frazione aromatica.

Conclusioni

L'innalzamento del pH dei mosti legato agli effetti del riscaldamento globale ha portato sia ad un incremento del rischio associato alle contaminazioni microbiche sia ad una diminuzione del potere antisettico ed antiossidante della solforosa, rendendo sempre più difficile proteggere i mosti bianchi e rosati nelle prime fasi di lavorazione.
Il nuovo lievito selezionato LCH15.21 (nome commerciale LEVEL^2 INITIA™), grazie alla sua duplice azione bioprotettiva nei mosti, antiossidante per limitare fenomeni di ossidazione e antimicrobica per evitare i rischi associati alle contaminazioni indesiderate, risulta essere un valido strumento per preservare le potenzialità organolettiche e la qualità finale dei vini bianchi e rosati durante la gestione delle fasi prefermentative. ■