N° 7/8 • LUGLIO/AGOSTO 2022

l'Enologo

DAL 1893 LA VOCE DI **ASSOENOLOGI**

Biologico: un mondo di cambiamento

Editoriale del presidente

Sostenibilità ambientale ed economica, un dovere per tutti

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

A cura di:

Amandine Deroite[1]

Anne Ortiz-Julien[1]

Anthony Silvano[1]

José Maria Heras[1]

Ann Dumont[1]

Marion Bastien[1]

INCREMENTARE ACIDITÀ E FRESCHEZZA DEI VINI CON UN'INNOVATIVA *LACHANCEA THERMOTOLERANS*

Un nuovo strumento naturale alternativo all'acidificazione chimica in grado di apportare freschezza nell'aroma e vivacità al palato migliorando l'equilibrio sensoriale generale dei vini rossi, bianchi e rosati

In un contesto di cambiamento climatico il progressivo innalzamento delle temperature determina nei vini un aumento della gradazione alcolica ed una perdita di acidità e freschezza sensoriale, obbligando le cantine ad intervenire sempre più frequentemente con acidificazioni chimiche durante il processo di vinificazione. L'acidificazione chimica oltre ad avere restrizioni di tipo legislativo (sono previsti stringenti limiti al tenore di acido tartarico che è possibile aggiungere) può comportare delle controindicazioni legate sia ad aspetti sensoriali che tecnici come l'alterazione del profilo organolettico e la stabilità nel tempo. Recentemente il mondo della ricerca ha iniziato ad esplorare la possibilità di un'acidificazione biologica mediante l'utilizzo di lieviti non-*Saccharomyces* in grado di aumentare naturalmente l'acidità dei vini grazie alla produzione di acidi organici (Morata *et al.* 2019).
Lallemand ha selezionato una *Lachancea thermotolerans* dalla peculiare capacità di produrre elevati tenori di acido lattico che, usata in inoculo sequenziale con *Saccharomyces cerevisiae*, apporta naturalmente acidità e freschezza migliorando il profilo sensoriale dei vini.

Proprietà enologiche e microbiologiche di *Lachancea thermotolerans*

Lachancea thermotolerans è un lievito ubiquitario presente sia in ambiente antropico che naturale (Hranilovic *et al.* 2017) compreso il vigneto e la cantina. Si trova spesso nel mosto dove però non è in grado di completare la fermentazione alcolica a causa dell'elevato fabbisogno di ossigeno (Holm Hansen et al. 2001; Petitgonnet *et al.* 2019) e della sua limitata resistenza all'etanolo. Nel caso di inoculo di *L. thermotolerans* è necessario infatti eseguire l'inoculo sequenziale con *S. cerevisiae* per garantire il completamento della fermentazione.
La caratteristica più interessante di questo lievito è la sua capacità di abbassare il pH dei vini durante la fermentazione alcolica (Comitini *et al.* 2011; Morata *et al.* 2019; Vaquero *et al.* 2020), aumentando

[1] Lallemand SAS - Blagnac, France

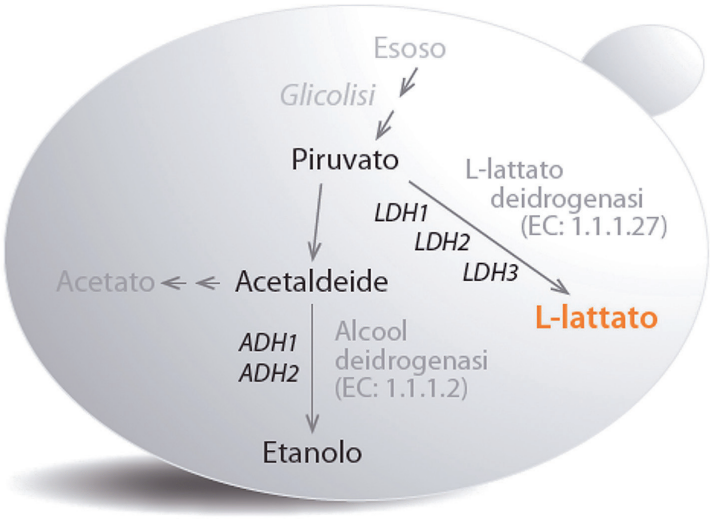

Fig. 1 - Metabolismo fermentativo degli zuccheri in *L. thermotolerans*. Schema di Sgouros *et al.* 2020 basato sul database del percorso KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

di conseguenza l'efficienza tecnologica della solforosa, ovvero consentendo una riduzione di utilizzo di questo additivo. Il suo potere acidificante è dovuto alla produzione di acido lattico a partire dal piruvato attraverso una reazione catalizzata da tre deidrogenasi: LDH1, LDH2 e LDH3 (**Fig. 1**). Il metabolismo dei composti carboniosi è "in competizione" con la via di produzione dell'etanolo e questo comporta una diminuzione del titolo alcolometrico finale variabile a seconda del ceppo e delle condizioni di fermentazione.

Dal punto di vista organolettico *L. thermotolerans* contribuisce positivamente alle sensazioni di acidità e freschezza in bocca grazie alla produzione di acido lattico, conferisce maggior volume e morbidezza vista una discreta produzione di glicerolo (Comitini *et al.* 2011; Gobbi *et al.* 2013) ed incrementa la produzione di esteri (etil-lattato e acetato di etile) e 2-fenil etanolo (Comitini *et al.* 2011; Gobbi *et al.* 2013; Morata *et al.* 2019; Sgouros *et al.* 2020; Hranilovic *et al.* 2021). Nel caso di varietà con precursori terpenici, grazie alla sua l'attività β-glucosidasica (Comitini et al., 2011), è in grado di aumentare il rilascio di linalolo (Hranilovic *et al.* 2021).

È importante sottolineare che esiste un'elevata variabilità tra i diversi ceppi di *Lachancea thermotolerans*, soprattutto per quanto riguarda la capacità di produzione di acido lattico anche a parità di matrice e condizioni di fermentazione (Hranilovic *et al.* 2018). È stato infatti dimostrato che la produzione di acido lattico è direttamente proporzionale all'espressione genica della deidrogenasi LDH2 (Sgouros *et al.* 2020; Gatto *et al.* 2020).

Alla luce di queste conoscenze Lallemand ha selezionato in Spagna da uve Tempranillo nella regione di La Rioja una *Lachancea thermotolerans* (nome commerciale **Level² LAKTIA™**) in grado di incrementare naturalmente acidità e freschezza nei vini.

Caratterizzazione approfondita di *Lachancea thermotolerans* Level² LAKTIA™

La prima caratterizzazione di Level² LAKTIA™ è stata condotta presso il centro di Ricerca & Sviluppo Lallemand di Blagnac (Francia) utilizzando la metodologia della superficie di risposta (Box Behnken) che consente di valutare la correlazione con più parametri. Le prove sperimentali sono state eseguite su mosto di uva Merlot analizzando la capacità di Level² LAKTIA™ di produrre acido lattico dopo 48 ore dall'inoculo

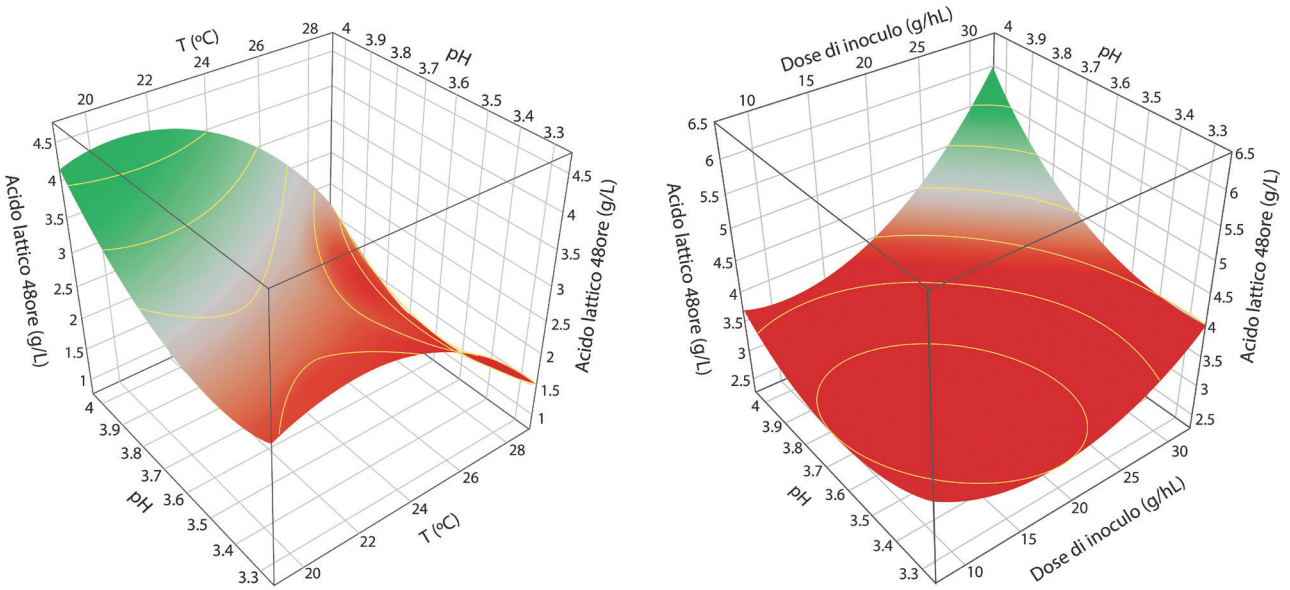

Fig. 2 - Produzione di acido lattico da parte di Level² LAKTIA™ dopo 48 ore dall'inoculo su mosto di uva Merlot (239 g/L di zucchero, 193 mg/L di APA) in relazione a pH, dose d'inoculo e temperatura

in funzione di temperatura (tra 18°C e 30°C), dose di inoculo (tra 8 g/hL e 32 g/hL) e pH iniziale (tra 3,25 e 4,05).
I risultati di questa sperimentazione mostrano come un pH iniziale più elevato, una maggior dose d'inoculo ed una temperatura ottimale di 18-22°C portino ad una maggior produzione di acido lattico (**Fig. 2**).
Gli stessi risultati sono stati confermati anche nell'ambito di una prova di laboratorio condotta su Syrah (240 g/L di zucchero, 144 mg/L di APA). La produzione di acido lattico è risultata condizionata allo stesso modo dai parametri precedentemente osservati, anche se le concentrazioni finali possono risentire di altri fattori ambientali come macerazione, aggiunta di SO_2, azoto, torbidità, ecc.
Questi risultati hanno permesso di definire le condizioni di vinificazione migliori per ottenere la massima produzione di acido lattico da parte di Level² LAKTIA™; tra questi, oltre alla temperatura, è stata individuata la dose ottimale di inoculo a 25 g/hL, dosaggio che è stato utilizzato per tutte le prove successive.

Prove su scala pilota e di cantina nella vinificazione in bianco, rosso e rosato

A partire dal 2018, dopo l'approfondita caratterizzazione in laboratorio di questa *L. thermotolerans* dalle proprietà uniche, il lavoro è proseguito con numerose prove sia su scala pilota che di cantina. Le prove sono state condotte su 16 vitigni in 5 paesi differenti su vini bianchi, rossi e rosati allo scopo di ottenere una migliore comprensione del comportamento e del contributo organolettico di Level² LAKTIA™ in un ampio range di condizioni. Dal punto di vista nutrizionale le prove sono state condotte adottando una strategia standard che prevede l'aggiunta di un nutriente organico dopo l'inoculo di *L. thermotolerans*; in linea generale si consiglia un'ulteriore aggiunta dopo l'inoculo del *S. cerevisiae* ad un terzo del consumo degli zuccheri.

Vinificazione in rosso

Nelle prove condotte in cantina nelle vinificazioni in rosso il principale parametro studiato per valutare il comportamento di Level² LAKTIA™ è stato la produzione di acido lattico in funzione di diverse variabili operative: tempo di contatto, utilizzo di diversi processi estrattivi come macerazione tradizionale e carbonica o la pastorizzazione flash (fase liquida).
A seconda delle prove è stato utilizzato come controllo un vino tal quale o un vino con aggiunta di 1,5 g/L di acido tartarico.
Nelle prove condotte in vinificazioni in rosso si è registrata una produzione di acido lattico generalmente compresa tra 2 e 3 g/L quando il tempo trascorso tra l'inoculo di Level² LAKTIA™ e quello del *S. cerevisiae* è stato di 24 ore. Con tempistiche di contatto superiori (48 e 72 ore) la produzione di acido lattico è aumentata fino ad un contenuto finale rispettivamente di 3-4 g/L e superiore a 5 g/L, indipendentemente dal tipo di macerazione. Come riscontrato anche nelle prove di laboratorio la produzione di acido lattico è risultata significativamente superiore alla media con un pH dei mosti superiore a 3,6 (**Fig. 3**).
Quando la produzione di acido lattico ha superato i 5 g/L è stata registrata anche una diminuzione del contenuto finale di etanolo (da 0,2 a 0,7% v/v).
Al momento dell'analisi sensoriale dei

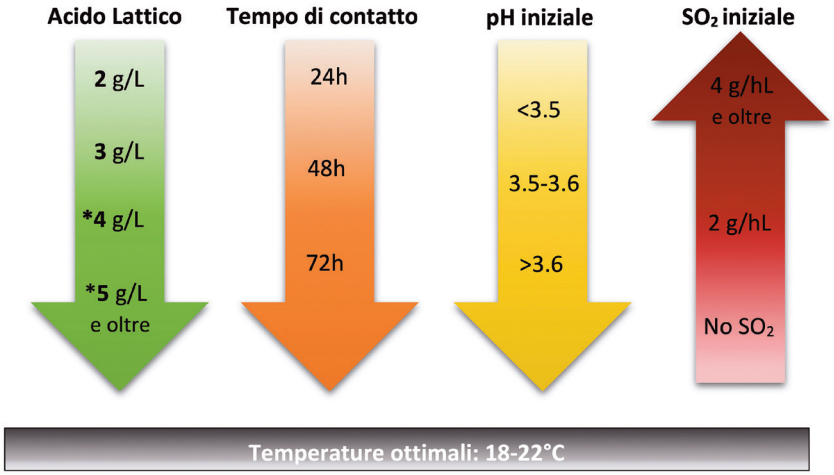

Fig. 3 - Produzione di acido lattico da parte di Level² LAKTIA™ (dose d'inoculo di 25 g/hL) in funzione delle condizioni di fermentazione nella vinificazione in rosso.
* Questi livelli possono inibire la fermentazione malolattica.

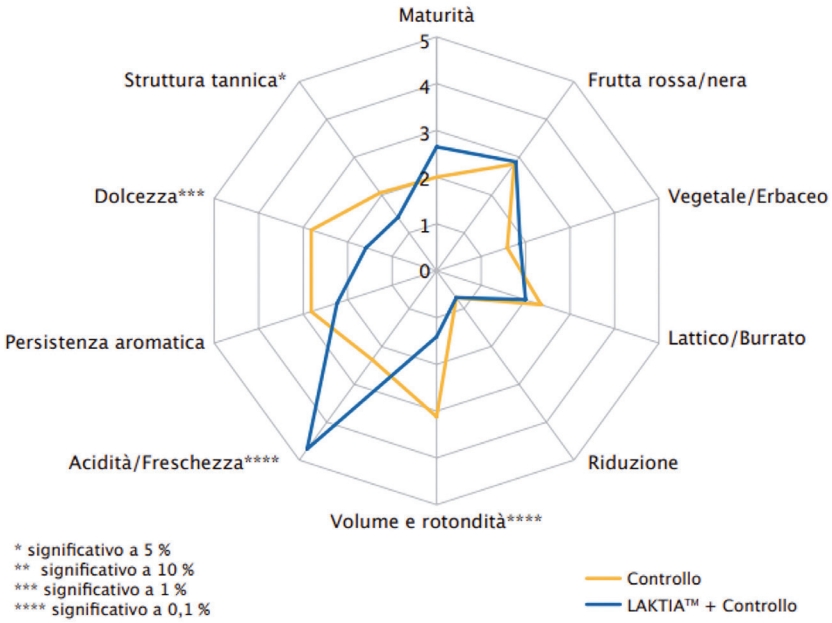

Fig. 4 - Analisi sensoriale su vino Merlot (Francia meridionale), confronto tra vino fermentato con *S.cerevisiae* e vino con Level² LAKTIA™ inoculato 24 ore prima dell'inoculo con lo stesso lievito *S.cerevisiae* del controllo

Impatto sensoriale nella vinificazione in rosso dell'utilizzo di Level² LAKTIA™ su diversi vini comparativi in Italia e Spagna, commenti provenienti dall'assaggio di un panel di esperti

vini in tutte le prove è stato riscontrato un profilo acidico decisamente più integrato ed equilibrato nei campioni con Level² LAKTIA™ rispetto ai vini controllo, con o senza aggiunta di acido tartarico, ed un quadro organolettico più complesso, fruttato e meno amaro.

In **Fig. 4** sono mostrati i risultati di un'analisi sensoriale condotta su due vini Merlot (Sud della Francia) dove l'unica differenza è stato l'utilizzo di Level² LAKTIA™ 24 ore prima dell'inoculo con *S. cerevisiae*. Questo vino è risultato avere una maggiore sensazione di freschezza e acidità rispetto al controllo.

L'acido lattico esercita un effetto inibitorio sui batteri lattici e quindi sulla riuscita della fermentazione malolattica. Lallemand ha messo a punto un protocollo di lavoro ottimizzato con batteri selezionati per garantire un corretto svolgimento della malolattica in fermentazioni condotte con *L. thermotolerans*: il batterio *Lactoplantibacillus plantarum* (ML Prime™) può essere coinoculato contemporaneamente a Level² LAKTIA™ o al momento dell'inoculo di *S. cerevisiae*. Nel caso dei batteri lattici *O. oeni* è invece consigliato l'inoculo simultaneo a quello di S. cerevisiae o 24 ore dopo l'aggiunta di *S. cerevisiae*; qualora invece si desideri procedere con un inoculo sequenziale (malolattica dopo l'alcolica), se il livello di acido lattico è superiore a 3 g/L il vino deve essere opportunatamente tagliato per diminuirne la concentrazione prima dell'aggiunta dei batteri.

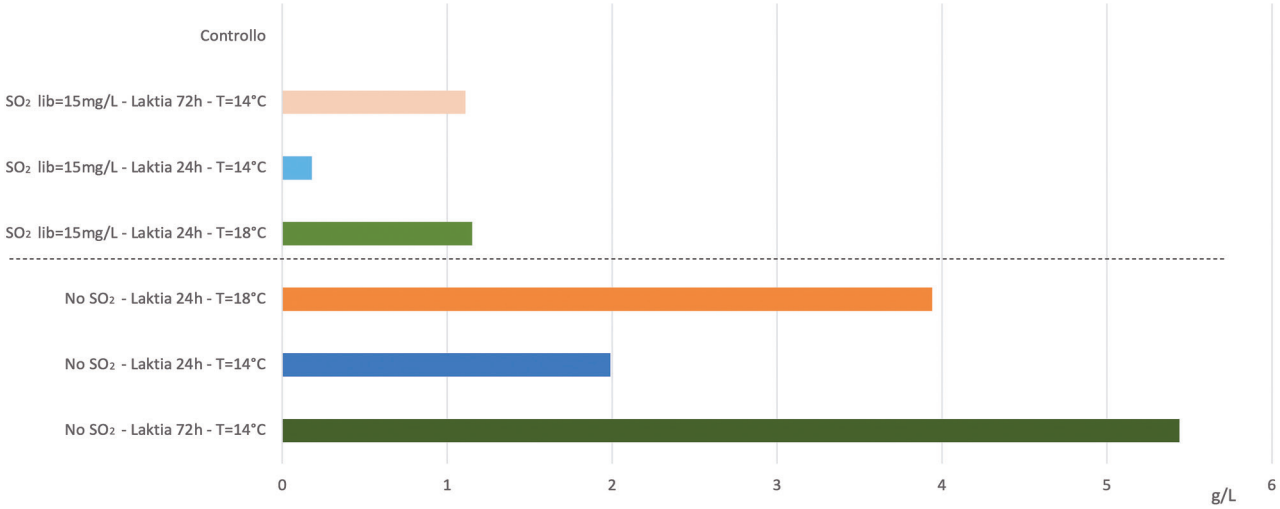

Fig. 5 - Produzione di acido lattico al termine della fermentazione alcolica. Maccabeu 2019, INRAE Pech Rouge, Francia (zuccheri = 215 g/L; pH = 3.74; acidità totale = 2,97 g/L; APA = 119 mg/L; acido malico = 1,02 g/L) con e senza Level² LAKTIA™ inoculata a 25 g/hL

Impatto sensoriale nella vinificazione in bianco dell'utilizzo di Level² LAKTIA™ su diversi vini comparativi in Francia, Italia e Spagna, commenti provenienti dall'assaggio di un panel di esperti

Vinificazione in bianco e rosato

Per valutare il comportamento di Level² LAKTIA™ nella vinificazione in bianco e rosato sono state condotte ulteriori prove in cui la produzione di lattico è risultata essere compresa tra 0,2 g/L e 8,7 g/L. Questa elevata variabilità nella produzione di lattico è determinata dalle condizioni di vinificazione come la concentrazione di SO_2 iniziale, la temperatura ed il tempo prima dell'inoculo del *S. cerevisiae*. Uno studio condotto nel 2019

presso l'INRAE di Pech Rouge (Francia) su Maccabeu con pH iniziale di 3,74 ha valutato l'effetto di diverse variabili: concentrazione iniziale di SO_2 (0 e 15 mg/L), temperatura (14°C e 18°C) e tempistiche di contatto di Level² LAKTIA™ (24 e 72 ore) a confronto con un mosto controllo fermentato solo con *S. cerevisiae* (Lalvin QA23®).

L'aggiunta di SO_2 sembra essere il fattore che influisca maggiormente sul contenuto finale di acido lattico, con una produzione media di 0,8 g/L rispetto a 3,8 g/L senza SO_2 (**Fig. 5**). Tempo di contatto più lungo (72 ore) e una temperatura più elevata (18°C) determinano un incremento nella produzione di acido lattico, raggiungendo rispettivamente valori di 5,4 g/L e 3,9 g/L, oltre ad un calo del tenore alcolico di 0,5% v/v.

I dati di questa prova confermano quanto osservato nelle prove pilota e di cantina dove i livelli più bassi di acido lattico sono stati ottenuti con concentrazioni più elevate di SO_2 iniziale, ad una temperatura iniziale più bassa e/o con un tempo di contatto più breve, nonché con un pH iniziale più basso (< 3,2). Su scala di laboratorio osserviamo un'interazione tra questi fattori ambientali con un effetto cumulativo positivo o negativo. Come già sottolineato l'abbassamento di pH che determina Level² LAKTIA™ consente una maggiore efficacia dell'SO_2, permettendo di ridurne la dose di utilizzo.

Riassumendo

L'acidificazione dei mosti, solitamente con acido tartarico, è diventata ormai una consuetudine per cercare di ovviare alla mancanza di acidità e freschezza nei vini, questa pratica però comporta alcune controindicazioni organolettiche come l'accentuazione delle sensazioni di astringenza e di amaro o la comparsa di sentori acidi aggressivi. Level² LAKTIA™ è una interessante alternativa naturale all'acidificazione chimica e in maniera sostenibile permette di riequilibrare il profilo acidico nei mosti bianchi, rossi e rosati apportando freschezza sensoriale ed esaltando le caratteristiche organolettiche del vitigno che sono sempre più spesso penalizzate da squilibri nella maturazione tecnologica e aromatica. ■

LE ESPERIENZE CONDOTTE IN ITALIA
Vendemmia 2021

Durante le ultime vendemmie in Italia sono state condotte numerose vinificazioni sia in cantina che presso istituti di ricerca con *Lachancea thermotolerans* Level² LAKTIA™ su mosti bianchi, rossi e rosati. Nella vendemmia 2021, nell'ambito di una sperimentazione in collaborazione con l'Università degli Studi di Udine (Dip. Scienze AgroAlimentari, Ambientali ed Animali Di4A), si è confermata la peculiarità di Level² LAKTIA™ nel produrre elevati tenori di acido lattico e il suo effetto sulla acidità totale e pH. In **Fig. 1** Level² LAKTIA™ aggiunta su mosto di Sauvignon blanc durante la chiarifica statica a freddo 10-12°C per 24 ore e successivo contatto di 48 ore con aumento di temperatura a 18°C, in comparazione con un altro ceppo di *L. thermotolerans* (A) (stesso protocollo) e una tesi controllo solo con *S. cerevisiae* Lalvin MSB inoculato dopo la chiarifica.

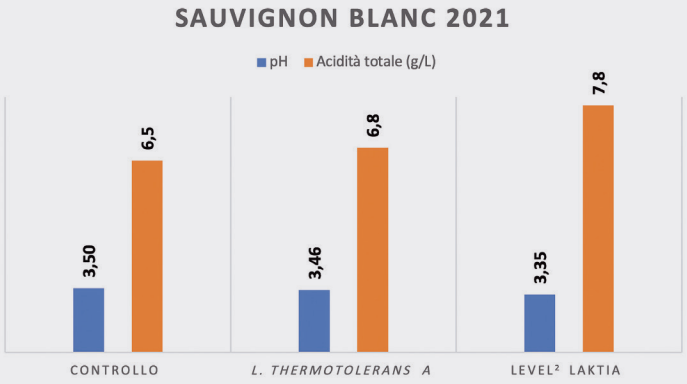

Fig. 1 - Impatto sull'acidità totale e sul pH su Sauvignon blanc 2021 - Università degli Studi di Udine (Dip. Scienze AgroAlimentari, Ambientali ed Animali Di4A), comparazione con e senza Level² LAKTIA™ e altro ceppo di *L. thermotolerans* A

Altra sperimentazione in collaborazione con l'Università di Palermo (Sez. Microbiologia Dip. SAAF Università di Palermo) con Level² LAKTIA™ su uve Syrah ad elevata maturità per valutare le potenzialità del ceppo nel riequilibrare il profilo acidico del vino in comparazione ad una vinificazione controllo e una con aggiunta di 1,5 g/hL di acido tartarico (**Fig. 2**).

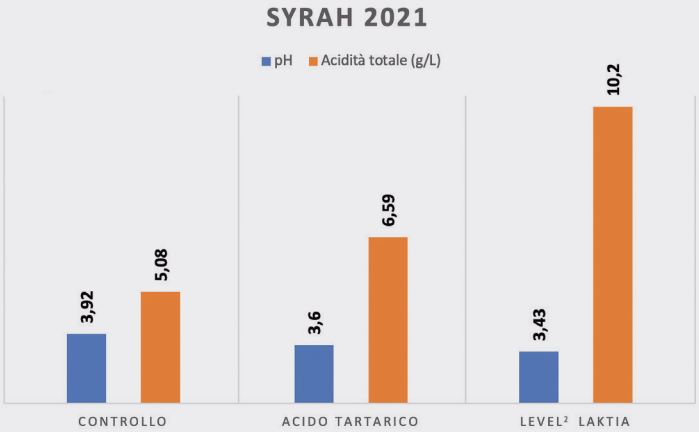

Fig. 2 - Impatto sull'acidità totale e sul pH su Syrah 2021 - Università degli studi di Palermo (Sez. Microbiologia Dip. SAAF Università di Palermo), comparazione con e senza Level² LAKTIA™ e aggiunta di acido tartarico