

## MAXAFERM®

Verso una migliore gestione della fermentazione alcolica con l'aggiunta, al mosto, di un bioregolatore specifico: Impatto sulla velocità di fermentazione e sulle caratteristiche del vino.

*I rallentamenti e gli arresti di fermentazione, considerato il loro carattere poco prevedibile, costituiscono un problema primario per i produttori di vino.*

*Il problema sorge con maggiore incidenza nella fermentazione di mosti poveri in azoto assimilabile e con alta concentrazione di zucchero.*

*Alcuni appezzamenti viticoli sono caratterizzati dalla frequente insorgenza di difficoltà di fermentazione senza che le cause del problema siano sempre identificabili.*

*In ogni caso, i problemi di fermentazione sono sempre riconducibili ad una progressiva diminuzione di vitalità dei lieviti conseguente all'effetto concomitante di più fattori: perdita di permeabilità della membrana citoplasmatica del lievito a causa di una insufficiente attività di sintesi di steroli, assorbimento di grassi acidi tossici, aumento della concentrazione di alcol etilico, diminuzione della quantità di azoto assimilabile o forte concentrazione di CO<sub>2</sub>.*

*La molteplicità di queste possibili cause porta a due conseguenze: da un lato conferisce un carattere di difficile prevedibilità alle difficoltà di fermentazione che nessuna analisi preventiva del mosto è in grado di prevenire con certezza; dall'altro spiega perché l'aggiunta di sali d'ammonio non costituisce una panacea in quanto risolve esclusivamente i casi, relativamente semplici, riconducibili ad una carenza di azoto assimilabile.*

*Lo scopo di questo studio era l'elaborazione di un attivatore di fermentazione specifico, da aggiungere al mosto, in grado di prevenire (o di trattare) la maggioranza dei casi di arresto della fermentazione.*

*La formula elaborata comprende sali d'ammonio, tiamina e lieviti inattivati termicamente. Il ceppo di Saccharomyces cerevisiae utilizzato è stato selezionato per il suo elevato tasso di ergosterolo e zimosterolo*

### ► Le cause principali dei problemi di fermentazione

Sono numerose le cause segnalate di rallentamento o arresto della fermentazione (Tabella 1) riconducibili a tre categorie:

■ Quelle provocate dalla composizione iniziale del mosto: carenza di azoto assimilabile e di vitamine quali la tiamina (Bataillon e al. 1996), elevata concentrazione di zuccheri fermentescibili, bassi valori di pH;

■ Una padronanza insufficiente delle procedure di vinificazione nelle fasi di chiarifica, di inoculo del lievito (scelta inadeguata del ceppo, errata reidratazione e acclimatazione nel mosto), di ossigenazione e di monitoraggio della temperatura (Ribereau-Gayon et al. 1998 ; Sablayrolles, 1998) ;

■ La produzione, da parte dei lieviti, di inibitori quali etanolo, anidride carbonica e acidi grassi saturi C8 e C10 (Lafon-Lafourcade e al. 1984).

I problemi di fermentazione sono raramente riconducibili ad un'unica causa ma, piuttosto, a una concomitanza di diversi fattori che provoca un'importante perdita di vitalità dei lieviti.

Ciò nonostante, è stato dimostrato che alcune cause intervengono più frequentemente di altre (Sablayrolles e al. 1996).

La disponibilità di azoto è fondamentale per favorire lo sviluppo esponenziale iniziale del lievito, ma anche per consentire il continuo rinnovo del "pool" di proteine enzimatiche e dei vettori trans-membranici. L'aumento del tasso di etanolo nei mosti in fermentazione incide sulla permeabilità della membrana citoplasmatica dei lieviti, quindi sull'attività dei vettori trans-membranici dello zucchero (Salmon, 1989).

In questo modo gli zuccheri residui, con prevalenza di fruttosio, non possono essere metabolizzati dal lievito.

Di fatto, i lieviti devono adattare la composizione della membrana plasmatica con la sintesi continua di steroli e acidi grassi insaturi.

Questa sintesi si svolge in presenza di una concentrazione minima di ossigeno disciolto.



## ► Elaborazione di un bioregolatore specifico di fermentazione

### Composizione

Lo scopo del presente studio era l'elaborazione di un bioregolatore di fermentazione complesso, che fornisse una soluzione alla maggior parte delle cause dei problemi di fermentazione riscontrati in cantina.

La composizione di questo attivatore (Maxaferm®) e l'importanza di ognuno dei suoi componenti sono elencati nella Tavola 2.

L'ottimizzazione della composizione è stata incentrata principalmente sulla scelta del ceppo *S. cerevisiae* adottato per la formulazione del prodotto.

Perlo sono stati esaminati tutti i ceppi di lieviti prodotti dal gruppo DSM per determinare di ognuno il tasso di ergosterolo, zimosterolo, trealosio e glutatone.

Il dipartimento di ricerca della DSM ha identificato i ceppi di lievito con il tasso più alto di steroli e ha selezionato quello più efficace per la formulazione definitiva dell'attivante di fermentazione.

Nel corso di questa fase di ottimizzazione, è stata testata l'efficacia dei prodotti, per esempio, sulla riduzione del tempo di fermentazione di un mosto di Chardonnay che, in condizioni normali, presentava un rallentamento di fermentazione.

La composizione di Maxaferm® consente quindi sia di prevenire sia di trattare i rallentamenti e gli arresti di fermentazione. La presenza di lieviti inattivati permette l'allontanamento della CO<sub>2</sub> e l'assorbimento dei metaboliti tossici per il lievito (acidi grassi saturi a catene corte) e contribuisce ad apportare steroli, fosfolipidi, aminoacidi ed altri micronutrienti ai lieviti.

Maxaferm® contiene anche tiamina e sali di ammonio, che favoriscono la crescita ed il continuo rinnovo degli enzimi del metabolismo, consentendo così una migliore vitalità dei lieviti.

## ► Test per la prevenzione del rallentamento fermentativo

L'impatto di Maxaferm® sulla velocità di fermentazione è stato testato avviando delle micro-vinificazioni di mosti di Chardonnay che, in condizioni standard, con una temperatura di fermentazione costante a 24°C, presentavano una fermentazione rallentata.

La velocità di fermentazione è stata monitorata attraverso il tasso di produzione di anidride carbonica (Sablayrolles e al. 1987).

I mosti utilizzati hanno tutti presentato un rallentamento della fermentazione con durate superiori alle 300 ore, indipendentemente dal ceppo di lievito inoculato. I diversi lieviti secchi attivi sono stati inoculati in dose di 20g/hl.

## ► Importanza delle condizioni di aggiunta sulla durata complessiva della fermentazione

Sono stati fatti raffronti sull'efficacia dell'attivante di fermentazione in base al momento e alle condizioni di addizione al mosto.

Quando l'attivante è stato aggiunto al momento del riempimento della vasca, in dose di 300 mg/l, gli effetti principali osservati sono stati una riduzione della fase di latenza ed una rapida partenza della fase di crescita esponenziale dei lieviti (Figura 1).

Questo apporto precoce dell'attivatore non ha avuto però un effetto sensibile sulla durata complessiva della fermentazione, sulla percentuale di vitalità dei lieviti e sul tenore in zuccheri residui dopo 200h di fermentazione.

Alcontrario, un'aggiunta a metà fermentazione ha avuto un effetto immediato di riattivazione della fermentazione alcolica che si è conclusa in meno di 200. Anche l'addizione frazionata in due dosi da 150mg/l, l'aggiunte rispettivamente all'inizio e a metà fermentazione, ha avuto un impatto molto positivo sulla velocità di fermentazione (non rappresentato in figura).

## ► Impatto di diversi tipi di attivante sulla velocità di fermentazione e sulla vitalità dei lieviti

L'effetto dell'addizione di Maxaferm® è stato raffrontato a quello ottenuto dall'addizione di fosfato biammonico (20g/hl) da solo o in combinazione con una ossigenazione moderata (7mg/l).

Queste prove hanno dimostrato che il trattamento più efficace per prevenire il rallentamento della fermentazione consiste nell'addizione simultanea, a metà fermentazione, di 300mg/l di Maxaferm® ed ossigeno (Figura 2).

In questo prova, la fermentazione si è conclusa dopo 150 ore mentre il mosto testimone conteneva, dopo 300 ore, più di 10g/l di zuccheri residui. Questi risultati sulla durata complessiva di fermentazione erano in perfetta correlazione con i valori di vitalità dei lieviti a fermentazione conclusa (Figura 3).

Gli altri casi testati (fosfato di biammonio e ossigeno, addizionati da soli o in combinazione) hanno dato risultati intermedi tra i due sopra citati.

Nei campioni trattati con Maxaferm®, da solo o in combinazione con l'ossigeno, i lieviti vitali, a fine fermentazione, rappresentavano più del 50% delle cellule totali mentre con gli altri trattamenti la vitalità a fine processo era compresa tra il 40 e il 45%.

## ► Prove di vinificazione e conseguenze sulle caratteristiche del vino

### Influenza sulla durata complessiva di fermentazione

Nel corso della vendemmia 1999, in collaborazione con il "Centre Technique Interprofessionnel de la Vigne et du Vin" (ITV-Francia, Tours) sono state svolte delle prove di vinificazione campione. Il mosto utilizzato era stato ottenuto da sauvignon bianco, solfitato a 5g/hl e chiarificato dopo addizione dell'enzima pectolitico (Rapidase® CB) a 2g/hl. La concentrazione iniziale di zuccheri riducenti era prossima a 200g/l.

Dopo inoculo del lievito (Collection Cépage Sauvignon LW07) a 20 g/hl, la fermentazione alcolica del mosto testimone si è conclusa dopo 17 giorni, a temperatura compresa tra 19 e 20°C. Da ciò si può dunque concludere che il mosto testimone utilizzato per le prove non presentava problemi specifici che provocassero l'arresto di fermentazione.

L'addizione di Maxaferm® a 30 g/hl, dopo una diminuzione dello 0,035 di densità (IV giorno di fermentazione) ha permesso di ridurre a 13 giorni la durata complessiva della fermentazione.

L'utilizzo di questo attivante costituisce quindi un valido mezzo per ridurre la durata di fermentazione e per ottimizzare la gestione delle vasche negli stabilimenti vinicoli.

### Impatto sulle caratteristiche dei vini ottenuti

I diversi campioni di sauvignon bianco fermentati senza (Testimone) e con addizione di 30g/hl di Maxaferm® sono stati sottoposti ad analisi enologiche (Tabella 3) e ad una valutazione sensoriale. Il raffronto dei profili analitici del vino (Tabella 3) dimostra che l'utilizzo dell'attivante di fermentazione ha avuto un effetto positivo su svariati importanti parametri. Si è osservata:

- una più debole concentrazione finale di zuccheri riducenti ;
- acidità volatile ridotta di 0,17g/l (ossia una riduzione di oltre il 30% rispetto al vino testimone);
- tasso di glicerolo accresciuto del 10%.

Altri parametri, come il titolo alcolimetrico volumico, l'acidità totale o l'assorbanza a 420 nm non hanno subito modificazioni.

Questi stessi vini sono stati sottoposti ad una valutazione sensoriale dalla giuria dell' ITV-Francia, costituita da esperti della zona della Valle della Loira. La giuria ha valutato parametri sensoriali come aroma, intensità e qualità, aspetto, equilibrio, morbidezza, amaro, acidità, ecc...

I risultati sono stati sottoposti ad una interpretazione statistica. I due vini sono stati giudicati identici sotto tutti gli aspetti esaminati.

L'addizione di Maxaferm® durante la fermentazione non ha comportato modifiche sensoriali del vino.

### Test di vinificazione: effetto-dose e durata complessiva di fermentazione

In collaborazione con il CIVAM della Regione Corsica, sono state effettuate prove di vinificazione nel corso dell'ultima vendemmia. Il mosto utilizzato proveniva da pressatura soffice di Vermentino bianco solfitato a 4g/l e chiarificato con defecazione statica del mosto dopo addizione di enzima pectolitico (Rapidase CB®) a 2 g/hl. La torbidità iniziale è stata portata a 100 NTU prima di inoculare il lievito, a 20 g/hl, (ceppo Equinox B1).

L'uva utilizzata per questo studio proveniva da una particella identificata come produttrice di mosti soggetti a fermentazione rallentata. La fermentazione del mosto così ottenuto (13,5 % vol di alcool potenziale) è durata 31 giorni ad una temperatura di 18-19°C.

L'addizione di Maxaferm® è stata effettuata il secondo giorno di fermentazione e si è potuto osservare un effetto correlato alla dose. Un apporto di 10g/hl ha permesso di ridurre la durata complessiva di fermentazione a 21 giorni, una dose di 30g/hl ha ottenuto un effetto eclatante: la fermentazione si è conclusa dopo 13 giorni, con una riduzione del tempo pari quasi al 60% rispetto al testimone. Le caratteristiche analitiche e sensoriali dei vini ottenuti (valutate dalla giuria del CIVAM Corso) non ha evidenziato differenze di rilievo.

Questo nuovo test conferma quindi l'interesse di questo bioregolatore della fermentazione come strumento nell'ottimizzazione della gestione delle fermentazioni senza che la qualità dei vini venga modificata.

### Conclusione

***L'attivante di fermentazione elaborato dal dipartimento di ricerca della DSM e sottoposto a prove nel corso di questo studio, si è rivelato un efficacissimo mezzo per ridurre i tempi di fermentazione alcolica ed evitare le principali cause di problemi di fermentazione.***

***L'addizione di Maxaferm® a metà fermentazione permette una riduzione sensibile della frequenza e dell'intensità delle difficoltà di fermentazione (rallentamento o arresto).***

***Inoltre, alcuni parametri analitici possono risultare migliorati senza che ne consegua la minima modificazione sensoriale del vino.***

***Questo prodotto può essere altresì usato per il trattamento dell'arresto di fermentazione abbinato all'inoculo di ceppi come il Fermichamp® (ceppo 67J INRA Narbonne).***

**Tabella 1:**  
**Principali cause dei problemi di fermentazione.**

COMPOSIZIONE DEL MOSTO		
Fattore	Conseguenza	Commenti
Carenza d'azoto.	Crescita esponenziale dei lieviti e fermentazione rallentata.	Il quantitativo di azoto disponibile presente nel mosto dipende: ■ dal territorio e dalle modalità colturali della vigna (inerbimento,...), ■ dalla varietà d'uva ■ dalla maturità dell'uva.
Elevata concentrazione di zuccheri.	Mortalità iniziale dei lieviti ed elevato grado alcolico finale.	La scelta di lieviti resistenti alle pressioni osmotiche e a gradi alcolici elevati permette di ovviare il problema.
Carenza di tiamina.	Moltiplicazione limitata dei lieviti.	Per favorire lo sviluppo dei lieviti, la tiamina dev'essere addizionata molto presto, prima della fermentazione.

PROCESSO DI VINIFICAZIONE		
Fattore	Conseguenza	Commenti
Eccesso di SO <sub>2</sub> .	Inibizione dei lieviti. Forte concentrazione di etanolo.	La tossicità aumenta con un pH basso e una chiarifica eccessiva.
Mosto impoverito di svariati nutrienti.		Le particelle in sospensione: ■ contengono lipidi (acidi grassi insaturi), ■ consentono la nucleazione della CO <sub>2</sub> e la sua eliminazione.  La torbidità del mosto dev'essere mantenuta tra 0 e 200 NTU secondo lo stato di sanità dell'uva ed il ceppo di lievito usato.
Carenza d'ossigeno.	Accresciuta tossicità alcolica con conseguente perdita di vitalità dei lieviti.	L'effetto della carenza di ossigeno è aggravato dall'eccessiva chiarifica e da eccessive misure di protezione contro l'ossidazione.  Aggiungendo ossigeno a metà fermentazione, il rischio di ossidazione è praticamente irrilevante.
Temperature estreme.	Una temperatura superiore a 32°C favorisce la morte dei lieviti. Una temperatura inferiore a 15°C ne rallenta l'attività.	Tra i diversi ceppi di lieviti vi sono notevoli differenze di tolleranza alle temperature estreme.  Il calore amplifica l'effetto dell'alcol sulla membrana del lievito. Evitare ogni shock termico superiore a 10 °C in fase di inoculazione (perdita di vitalità della colonia iniziale dei lieviti).

METABOLITI AUTO-TOSSICI DEL LIEVITO		
Fattore	Conseguenza	Commenti
Etanolo.	L'etanolo, in sinergia con altri inibitori, provoca la morte dei lieviti.	Il potere di produrre alcol dei lieviti selezionati è superiore a quello dei lieviti indigeni.
Eccesso di CO <sub>2</sub> .	Mortalità dei lieviti.	Alcuni ceppi di lievito tollerano elevati tassi di CO <sub>2</sub> .
Acidi Grassi C8, C10.	Tossici per i lieviti da fermentazione.	La membrana cellulare dei lieviti assorbe questi inibitori.

## Tabella 2:

*Composizione dell'attivante di fermentazione messo a punto.*

Composto	Commenti
Lieviti inattivati.	Eliminazione della CO <sub>2</sub> . Assorbimento degli acidi grassi tossici. Fonte di steroli, glutazione, aminoacidi e oligoelementi.
Ammonio solfato, Ammonio bifosfato, idrogenofosfato.	Favoriscono la moltiplicazione e la vitalità a lunghissimo termine dei lieviti.
Tiamina.	Favorisce la crescita esponenziale dei lieviti.

## Tabella 3:

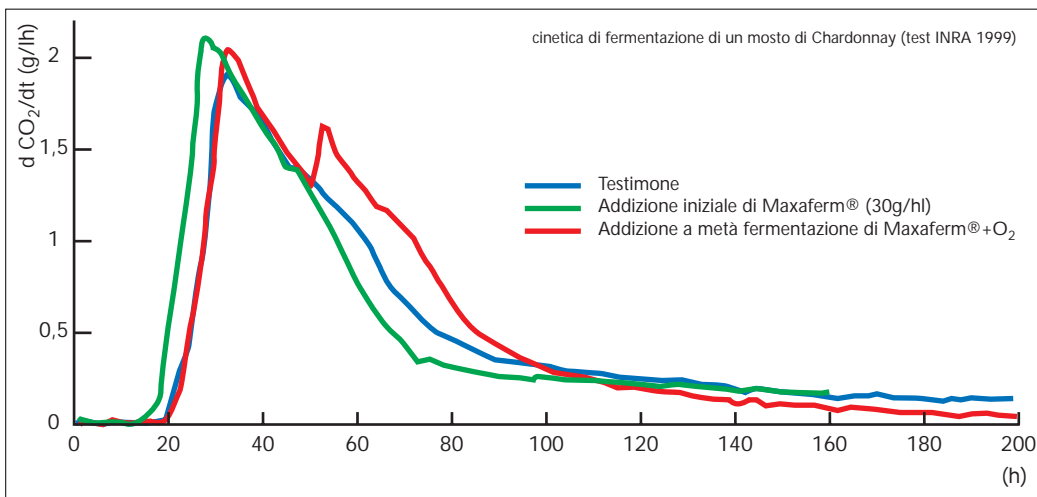
*Analisi comparative dei vini bianchi fermentati senza (Testimone) e con addizione di 30g/hl di Maxaferm® dopo 4 giorni di fermentazione. Dati: ITV-Francia (Tours).*

Parametro	Testimone	Vino ottenuto con Maxaferm®
Zuccheri riducenti (g/l)	1,3	0,9
Acidità volatile (g/l-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0,46	0,29
Titolo alcolimetrico (% vol)	12,3	12,4
pH	3,08	3,03
Acidità totale (g/l-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	5,25	5,5
Glicerolo (g/l)	5,9	6,5
Potassio (g/l)	0,52	0,54
Assorbenza a 420 nm/1 cm	0,035	0,034

## Figura 1:

*Velocità di fermentazione alcolica di un mosto di Chardonnay che ha presentato un rallentamento della fermentazione: Testimone (curva blu), dopo addizione iniziale di 300mg/l di Maxaferm® (curva verde) e a metà fermentazione (curva rossa).*

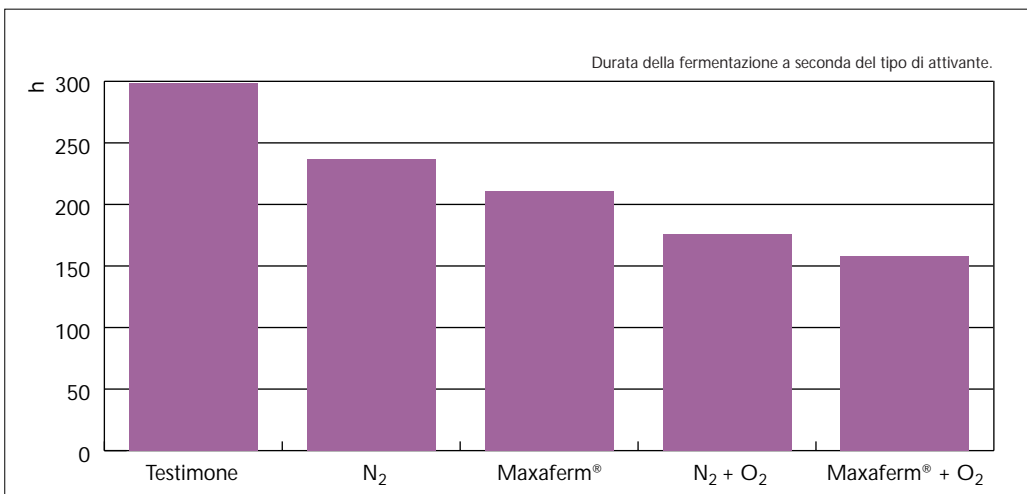
*Dati: UMR Sciences pour l'Oenologie (INRA-Montpellier, Francia).*



**Figura 2:**

*Completamento della fermentazione di un mosto di Chardonnay ottenuto con differenti trattamenti: aggiunta di fosfato biammonico (200mg/l) e di Maxaferm® (300mg/l), da soli o in combinazione con ossigeno (7mg/l); gli apporti sono avvenuti una volta raggiunto il valore di 1040 di densità del mosto.*

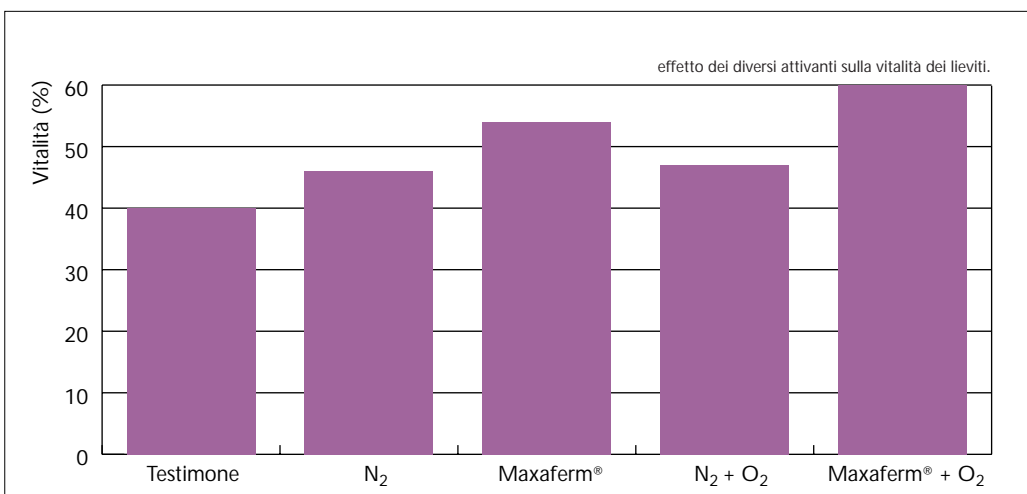
*Dati: UMR Sciences pour l'Oenologie (INRA-Montpellier, Francia).*



**Figura 3:**

*Vitalità (in %), alla fine della fermentazione alcolica, delle cellule di lievito di un mosto di Chardonnay sottoposto a diversi trattamenti: aggiunta di fosfato biammonico (200mg/l) e di Maxaferm® (300mg/l), da soli o in combinazione con ossigeno (7mg/l), una volta raggiunto il valore di 1040 di densità del mosto.*

*Dati: UMR Sciences pour l'Oenologie (INRA-Montpellier, Francia).*



Patrice Pellerin  
 Research Application Manager  
 DSM Food Specialties Oenology

■ Ringraziamenti:

*Gli autori ringraziano la Signora Nathalie Uscidda del CIVAM della Regione Corsica per la realizzazione delle prove di vinificazione di Vermentino bianco, il Signor Christian Picou e il Dottor Jean-Marie Sablayrolles dell' "Unité Mixte de Recherche Sciences pour l'Oenologie" (INRA-Montpellier) per la realizzazione delle prove di micro-vinificazione.*

■ Riferimenti:

*Bataillon M., Rico A., Sablayrolles J.M., Salmon J.M., Barre P. (1996) Early thiamin assimilation by yeasts under enological conditions: impact on alcoholic fermentation kinetics. J. Ferm. Bioeng. 82: 101-106.*

*Lafon-Lafourcade S., Geneix C., Ribereau-Gayon P. (1984) Inhibition of alcoholic fermentation of grape musts by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. Appl. Environ. Microbiol. 47: 1246-1249.*

*Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. (1998) Traité d'Œnologie. Vol 1. Microbiologie du Vin, Vinifications. Dunod, Paris.*

*Sablayrolles J.M. (1998) Conduite de la fermentation alcoolique. In : Œnologie. Fondements Scientifiques et Technologiques. Flanzy (ed.) Lavoisier Tec&Doc, Paris: 415-444.*

*Sablayrolles J.M., Barre P., Grenier P. (1987) Design of laboratory automatic system for studying alcoholic fermentations in anisothermal enological conditions. Biotech. Techniques. 1: 181-184.*

*Sablayrolles J.M., Dubois C., Manginot C., Roustan J.L., Barre P. (1996) Effectiveness of ammoniacal nitrogen and oxygen combined additions during sluggish and stuck wine fermentations. J. Ferm. Bioeng. 82: 145-150.*

*Salmon J.M. (1989) Effect of sugar transport inactivation in *Saccharomyces cerevisiae* on sluggish and stuck fermentations. Appl. Environ. Microbiol. 55: 953-958.*