



FERMENTAZIONE ALCOLICA: AFFINIAMO LE CONOSCENZE E LE TECNICHE

Non se ne avverte ancora il profumo ma certamente il frastuono che ogni anno la precede; più o meno puntualmente anche quest'anno é ora di vendemmia, dunque di fermentazione. Come ogni anno anche a noi piace dire la nostra a questo proposito; questa volta vorremmo richiamare alla memoria il complicato ed affascinante biochimismo della glicolisi e fermentazione, per capire a quali livelli il meccanismo si potrebbe inceppare ed il perché delle nuove proposte in campo di coadiuvanti ed attivatori di fermentazione.

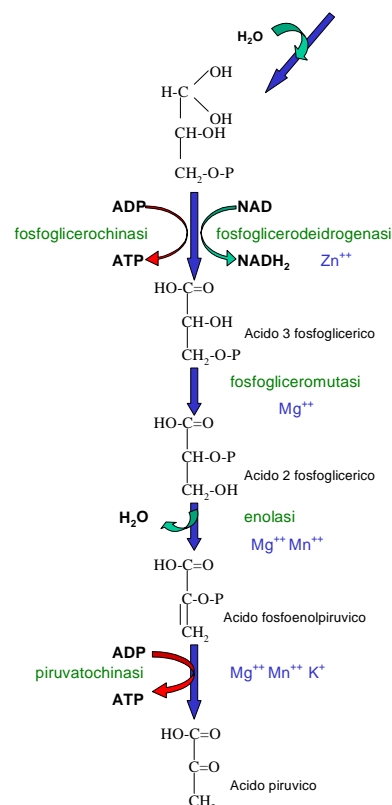
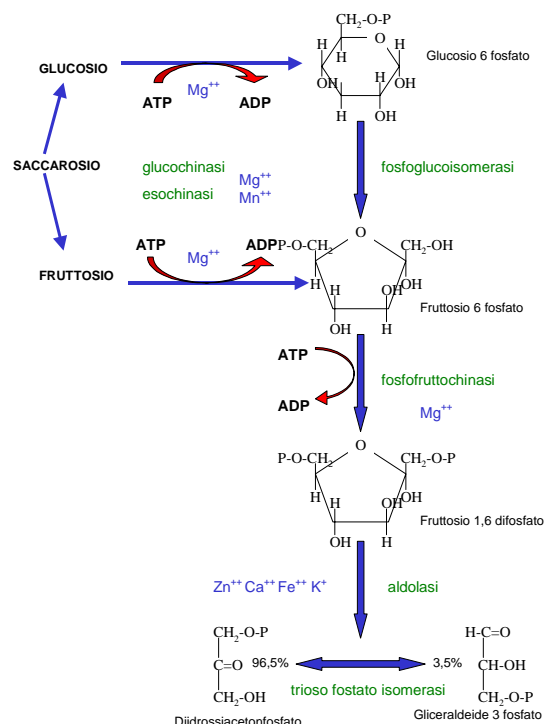
1. BIOCHIMISMO DELLA FERMENTAZIONE ALCOLICA

Quella che normalmente tutti conosciamo come fermentazione alcolica é un sistema multienzimatico che catalizza la degradazione delle molecole degli zuccheri per il recupero di energia indispensabile alla vita dei microrganismi, nella fattispecie lieviti enologici.

La prima parte di questo processo, comprendente l'insieme delle reazioni che portano dagli zuccheri a 6 atomi di carbonio (glucosio e fruttosio) sino ad acido piruvico, viene definita glicolisi, ed é comune sia alla via aerobica (respirazione) che alla via anaerobica (fermentazione). La fase finale, che comprende la trasformazione dell'acido piruvico in etanolo, é invece unicamente anaerobica e tipica dei lieviti.

Il primo atto della glicolisi é la formazione degli esteri fosforici degli zuccheri glucosio e fruttosio. Tutti gli intermedi della glicolisi tra glucosio ed acido piruvico sono infatti composti fosforilati. I gruppi fosforici hanno differenti funzioni tra cui certamente la piú importante é quella legata alla conservazione dell'energia per la formazione finale di ATP. Il glucosio-6-fosfato viene convertito in fruttosio-6-fosfato ad opera dell'enzima fosfoglucoisomerasi, con una reazione che é reversibile.

Il fruttosio-6-fosfato viene ulteriormente fosforilato, con consumo di altro ATP, in fruttosio-1,6-difosfato. Questa molecola che possiede un ciclo furano a 5 atomi di carbonio, poco stabile é il punto di rottura della catena carboniosa che passa da 6 atomi di carbonio a due molecole a 3 atomi di carbonio, il diidrossiacetone fosfato e la gliceraldeide-3-fosfato.



Queste rappresentano all'equilibrio rispettivamente il 96,5% ed il 3,5%. Essendo però la seconda sottratta perché degradata direttamente nelle successive reazioni, l'equilibrio è continuamente spostato in suo favore.

Con questa reazione si conclude la prima parte della glicolisi in cui abbiamo avuto l'attivazione della molecola (fosforilazione) e la scissione.

La seconda fase della glicolisi comprende le reazioni di ossidoriduzione, oltre a quelle di recupero di energia grazie alla formazione di ATP. Poiché da una molecola di glucosio si formano due molecole di gliceraldeide-3-fostato, entrambe le metà della molecola di glucosio seguono la stessa via.

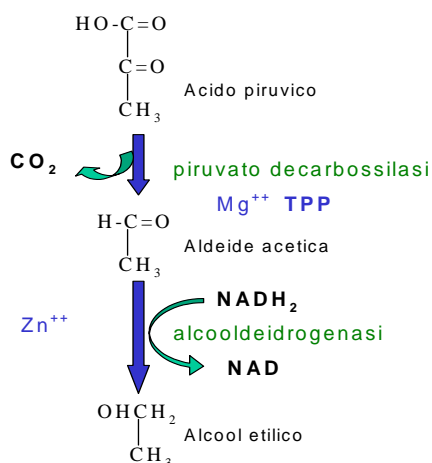
Si assiste dapprima ad un'ossidazione della gliceraldeide-3-fostato (reazione di ossido-riduzione), previa idratazione, con formazione dell'intermedio 3-fosfoglicerilfosfato, composto fosforilato ad alto livello energetico. Ciò permette il trasferimento del gruppo fosfato all'ADP con produzione di energia sotto forma di ATP e formazione dell'acido-3-fosfoglicerico. Per mezzo di queste due reazioni consecutive l'energia derivante dall'ossidazione di un gruppo aldeidico a carbossilico viene conservata sotto forma di ATP.

Segue la conversione dell'acido 3-fosfoglicerico ad acido-2-fosfoglicerico che per deidratazione conduce alla formazione dell'acido fosfo-enolpiruvico con liberazione di acqua.

Questa reazione di ossido-riduzione interna permette la formazione di una molecola ad elevato livello energetico. Il successivo trasferimento del gruppo fosforico dall'acido fosfoenolpiruvico ad ADP consente la produzione di una seconda molecola di ATP, quindi immagazzinamento di energia, e la formazione dell'acido piruvico.

Qui si conclude la seconda fase della glicolisi.

Nelle due reazioni successive, tipiche dei lieviti che trasformano glucosio in etanolo e anidride carbonica, avviene la decarbossilazione dell'acido piruvico ad acetaldeide (aldeide acetica o etanale), seguita dalla sua riduzione in etanolo (reazione di ossido riduzione).



La decarbossilazione dell'acido piruvico è irreversibile e richiede oltre alla presenza di ioni magnesio di un coenzima, la tiamina pirofosfato.

Etanolo e CO_2 sono, dal punto di vista nostro di vinificatori, i prodotti finali della fermentazione alcolica. In realtà per i lieviti il risultato positivo è rappresentato dall'ottenimento, per ogni molecola di esoso di partenza, di due molecole di ATP, preziosa riserva energetica.

Considerando che sul piano energetico, complessivamente la trasformazione chimica da glucosio a etanolo e CO_2 , comporta una variazione di energia libera pari a -40 Kcal/mole, di cui solo 14,6 Kcal/mole recuperate sotto forma di ATP, è chiaro come le rimanenti 25,4 Kcal/mole vengano disperse sotto forma di calore; ecco spiegato il riscaldamento delle nostre vasche di fermentazione.

2. L'IMPORTANZA DEI COFATTORI, CONCETTO DI MICRONUTRIENTI.

Inizialmente abbiamo definito la fermentazione alcolica come un sistema multienzimatico. È catalizzata infatti dall'azione in successione di un gruppo di 11 enzimi, indicati nello schema con la scritta verde. Gli enzimi come noto sono proteine specializzate nella catalisi delle reazioni biologiche, quelli della fermentazione alcolica fanno parte del patrimonio dei lieviti. Ma l'attività di molti enzimi non dipende soltanto dalla loro struttura proteica ma richiede anche la presenza di uno o due componenti non proteici chiamati cofattori. Il cofattore può essere uno ione metallico o una molecola organica detta coenzima. Nella rappresentazione schematica della fermentazione sono indicati, ai vari livelli, gli ioni che entrano in gioco nella fermentazione. Solitamente gli ioni metallici fungono da ponte di unione tra substrato ed enzima, oppure stabilizzando l'enzima nella sua forma cataliticamente più attiva. Logicamente è la disponibilità nel mezzo di reazione di questi ioni che può fare la differenza.

Il Magnesio è cofattore di numerosi enzimi, stimola la sintesi di acidi grassi utili, aiuta la regolazione delle funzioni di membrana;

Il Manganese oltre al ruolo di cofattore enzimatico a diversi livelli della glicolisi favorisce la sintesi di alcune proteine e della tiamina;

Lo Zinco svolge il ruolo di cofattore di diversi enzimi, lo troviamo accanto alla fosfoglicerodeidrogenasi, all'aldolasi ed all'alcool deidrogenasi. Oltre che sulla fermentazione influisce anche sulla crescita dei lieviti;

Un certo ruolo è svolto anche dal Ferro e dal Potassio che oltre ad essere un importante cofattore della piruvato chinasi, assume un ruolo chiave nella regolazione degli scambi degli altri metalli tra cellula ed ambiente esterno.

I coenzimi che partecipano alla fermentazione sono rappresentati da:

NAD (Nicotinammide adenindinucleotide), che serve da trasportatore di elettroni ed infatti interviene in quelle reazioni che abbiamo detto di ossido-riduzione;

TPP (Tiamina pirofosfato) detta anche cocarbossilasi, che interviene nella decarbossilazione dell'acido piruvico;

ADP, ATP (Adenosin di/tri fosfato) che come abbiamo visto svolgono un ruolo fondamentale nei processi di trasferimento di energia;

Coenzima A o acido pantotenico, trasportatore di gruppi acile nelle reazioni enzimatiche dell'ossidazione degli acidi grassi.

Ecco allora che nasce il concetto di micronutrienti, ossia di quell'insieme di sostanze, necessarie in piccole quantità, si parla di milligrammi o microgrammi per litro, ma con funzioni importantissime per il metabolismo cellulare dei lieviti.

Tra i micronutrienti possiamo annoverare anche le vitamine, bioattivi indispensabili al metabolismo cellulare. Alcune in effetti le abbiamo già nominate come cofattori degli enzimi della fermentazione, altre sono coinvolte nei trasferimenti di energia e nel mantenimento della funzionalità delle membrane. Normalmente il mosto contiene tutte le principali vitamine richieste dai lieviti, ma queste sono rapidamente consumate in fase iniziale, non solo dai lieviti inoculati ma anche da microrganismi indigeni che le sottraggono.

Altro elemento essenziale è l'ossigeno che interviene nella sintesi degli steroli e dell'ergosterolo, e degli acidi grassi insaturi, tutti composti che giocano un ruolo importante nel mantenimento delle strutture delle membrane cellulari.

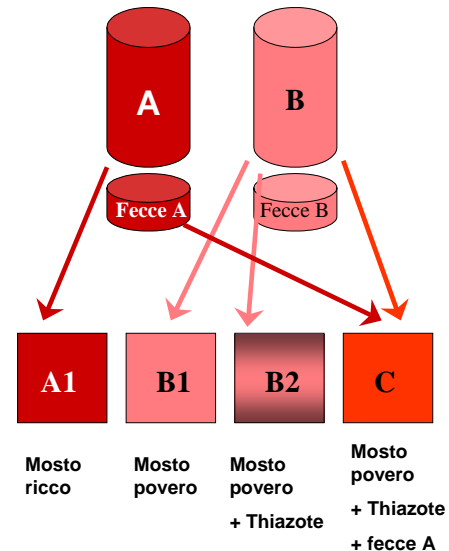
3. LE IMPLICAZIONI PRATICHE

L'ampliamento delle conoscenze scientifiche, anche se non ancora esaustive, confermate da esperienze pratiche e prove sperimentali condotte in cantina nell'ambito delle ultime vendemmie ci hanno fatto capire che gli elementi importanti per lo sviluppo dei lieviti sono molteplici: azoto assimilabile, acidi grassi a lunga catena, steroli, ossigeno molecolare, vitamine, oligoelementi.

Ferme restando le acquisizioni riguardanti il controllo iniziale sui mosti dell'azoto assimilabile e della sua eventuale integrazione, i lavori di ricerca che vengono inesorabilmente condotti allo scopo di migliorare l'efficacia degli attivatori di fermentazione hanno condotto i ricercatori a concepire un nuovo concetto di attivatore, particolarmente adatto alle fermentazioni di mosti naturalmente deficitari di fattori di sopravvivenza, con gradi alcolici potenziali particolarmente elevati, ed a condizioni fermentative impegnative a causa di particolari scelte tecnologiche: vinificazione in totale protezione dall'ossigeno, fermentazione a basse temperature, ecc.

LA PRATICA

Sono stati presi due mosti (A – B), A proveniente da una parcella assai vigorosa, naturalmente ricco in azoto (APA>200 mg/l); B proveniente da una parcella debole naturalmente povero in azoto (APA<50 mg/l). Con questi mosti sono state allestite le seguenti prove:



A1 = mosto A tal quale

B1 = mosto B tal quale

B2 = mosto B aggiustamento APA con aggiunta di sali ammoniacali

C = mosto B più fecce di A e aggiustamento APA con aggiunta di sali ammoniacali

Tutti i quattro mosti sono stati avviati alla fermentazione nelle stesse condizioni, se ne è seguito l'andamento e se ne sono registrati i seguenti dati finali:

CAMPIONE	GG FERMENTAZIONE	ZUCCHERI RESIDUI G/L
A1	14	0,6
B1	arresto	105
B2	arresto	6,0
C	14	1,3

I dati sono di facile commento, il mosto naturalmente ben dotato non ha problemi di fermentazione, il mosto carente evidenzia grossi problemi, che possono essere in parte ovviati con l'aggiunta di azoto, ma ciò non è sufficiente. Per contro l'aggiunta di fecce provenienti da mosto ricco riescono a risolvere il problema. Questa può essere considerata una semplice dimostrazione di come il macroalimento Azoto sia certamente indispensabile sui mosti carenti ma non sufficiente; la carenza di nutrienti, soprattutto nei casi più gravi non è legata ad un solo elemento ma è qualcosa di più complesso.

Si é lavorato essenzialmente a due livelli:

- ✓ selezione degli elementi necessari e dei prodotti che li possono fornire;
- ✓ individuazione del momento ottimale di apporto.

Il primo punto ha indotto i ricercatori a focalizzare l'attenzione su prodotti originati da lieviti, scorze di lievito, naturalmente ricchi in amminoacidi, acidi grassi, steroli, vitamine e oligoelementi (Mg, Mn, Zn, Cu, K, ...).

Il secondo punto, dopo numerose prove e controlli eseguiti su vinificazioni condotte nei due emisferi, ha fatto individuare il momento della reidratazione dei lieviti come ottimale per intervenire.

4. SUPERSTART®.

In casa LAFFORT é dunque nato un nuovo attivatore di fermentazione che é stato chiamato SUPERSTART®.

L'incorporazione in fase di reidratazione di questo attivatore sembra essere più efficace in quanto non si hanno fenomeni di competizione con altri microrganismi, e fenomeni di dispersione o blocco di elementi da parte di altri substrati del mosto; l'aggiunta precoce permette uno sviluppo ottimale delle prime generazioni di lieviti e semplifica l'impiego degli altri attivatori.

I risultati che si ottengono possono essere così riassunti e generalizzati:

- ✓ una popolazione più numerosa di lieviti che mantiene un maggior numero di cellule vive a fine fermentazione;
- ✓ fermentazioni più brevi, non tanto per aumento della velocità massima, ma per chiusure più nette e pulite;
- ✓ minor produzione di acidità volatile.

Il protocollo di utilizzo del SUPERSTART® é molto semplice:

Ad esempio supponendo di dover inoculare una vasca da 100 hl con una dose di lievito di 20 g/hl si dovranno preparare 20 litri d'acqua alla solita temperatura di 35° - 38° C. Nei 20 litri d'acqua dovranno essere introdotti 3 Kg di SUPERSTART® avendo la precauzione di agitare leggermente la sospensione. Quando l'attivante é ben omogeneizzato si dovranno aggiungere i 2 Kg di lievito agitando leggermente come d'abitudine, si dovranno attendere i canonici 20 minuti, trascorsi i quali si potrà rimescolare ancora leggermente la sospensione e procedere all'introduzione dell'inoculo in vasca di fermentazione o al raddoppio dell'inoculo con mosto da fermentare per favorire l'acclimatamento progressivo del lievito se la temperatura del mosto in vasca é molto bassa.

