

Giovanna Suzzi

Facoltà di BioScienze e Tecnologie Agro-alimentari
e Ambientali - Università di Teramo
Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino



Influenza dell'ammonio sui lieviti *Saccharomyces cerevisiae*

Gli alfa aminoacidi, gli ioni ammonio e piccoli peptidi sono i composti azotati principali dei mosti.

Questi composti, esclusa la prolina che non può essere assimilata in condizioni di anaerobiosi, costituiscono l'azoto prontamente assimilabile (APA).

Il contenuto di APA nei mosti varia notevolmente da circa 50 a 500 mg/L, con valori medi che si aggirano attorno a 200 mg/L, mentre con valori che superano i 400 mg/L si possono ottenere le più alte quantità di biomassa di lievito e velocità di fermentazione.

Arresti di fermentazione o rallentamenti si possono osservare con APA inferiori a 150 mg/L. Così un mosto che contiene meno di 150 mg/L di APA dovrebbe essere addizionato con almeno 150-200 mg/L di azoto. Generalmente per incrementare il contenuto di azoto dei mosti si utilizza il fosfato diammonico (DAP) che contiene il 21% di azoto.

La disponibilità di azoto da parte del lievito può influenzare significativamente la produzione di molti metaboliti aromatici, in quanto esso è coinvolto in diverse vie metaboliche che comprendono il metabolismo dello zucchero e dello zolfo. Infatti molti metaboliti primari del metabolismo degli zuccheri sono modulati dal contenuto in APA, per esempio gli alcoli superiori, che sono correlati direttamente al metabolismo degli aminoacidi nella cellula. La produzione di alcoli superiori, così come altri composti del metabolismo di *Saccharomyces cerevisiae*, contribuisce alla complessità del *bouquet* del vino fino a concentrazioni di 300 mg/L ed è chiaramente modulata dalla concentrazione di ioni ammonio.

In generale si può affermare che l'aggiunta di DAP ai mosti prima della fermentazione alcolica influenza i composti volatili prodotti dai lieviti in maniera diversificata, dato che ogni composto volatile segue una propria via metabolica che risponde in maniera diversa all'aggiunta di azoto.

In uno studio svolto recentemente dal nostro gruppo di ricerca si è voluto determinare come l'aggiunta di DAP influenzi la cinetica fermentativa, la produzione di etanolo e glicerolo di tre diversi ceppi di *S. cerevisiae* (RT73, SRS1, MS72), appartenenti alla collezione della Facoltà di BioScienze (Università di Teramo), isolati nell'area di

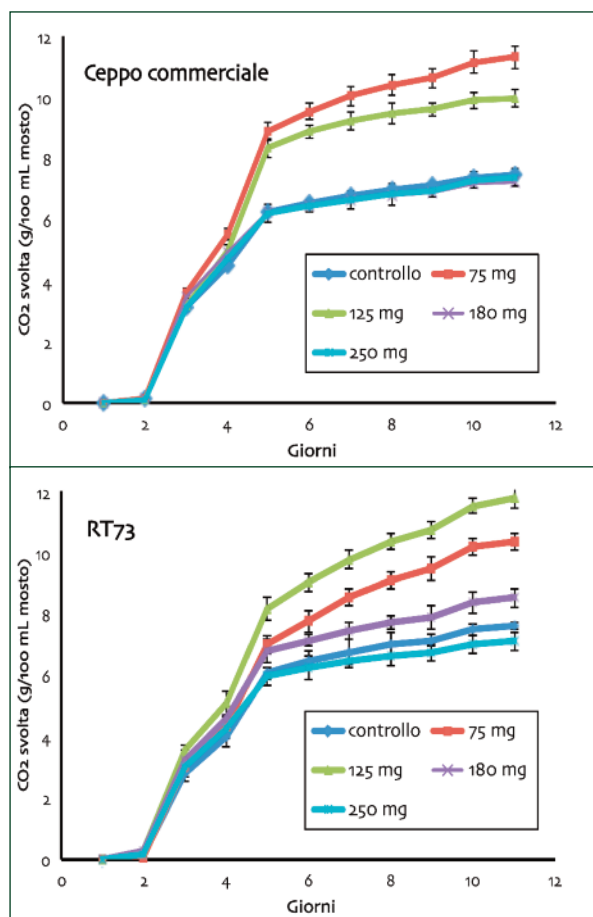


Figura 1 - Effetti di diverse concentrazioni di APA sulla cinetica fermentativa di ceppi *Saccharomyces cerevisiae*.

produzione del Montepulciano d'Abruzzo e di un ceppo commerciale.

Per questa prova sono state utilizzate uve della cultivar Pecorino e il mosto ottenuto è stato chiarificato con un filtro a pannello sottovuoto, senza alcuna aggiunta di solfiti e pastorizzato a 70 °C per 15 minuti. Le caratteristiche chimico-fisiche del mosto sono state determinate mediante WineScan™ Flex (FOSS): pH 3,2, zuccheri riducenti 153 g/L, acidità totale 4,9 g/L (come acido tartarico), APA 125 g/L.

Sono state allestite microvinificazioni in fialoni da 120 mL contenenti 95 mL di mosto pastorizzato e inoculati con 5 mL di preculture di 48h nello stesso mosto dei ceppi da saggiare. La concentrazione iniziale di APA è stata modificata mediante l'aggiunta di differenti concentrazioni di ammonio: 75, 125, 180 e 250 mg/L, pari a un valore complessivo di 200, 250, 305 e 375 mg/L di APA. Le fermentazioni sono state effettuate in confronto al controllo senza APA aggiunto a 25 °C per 15 giorni e monitorate giornalmente come calo in peso.

La Figura 1 mostra come l'aggiunta di azoto influenzi la cinetica di fermentazione dei ceppi *S. cerevisiae*. In generale si può affermare che l'aggiunta di DAP ha avuto effetto su tutti i ceppi esaminati rispetto al controllo in funzione della quantità aggiunta. Almeno due diversi effetti sono stati osservati. In particolare, il ceppo commerciale presenta una maggiore velocità di fermentazione sia con l'aggiunta di 75 mg/L che con quella di 125 mg/L, tuttavia a livelli più elevati sembra che l'aggiunta non abbia avuto effetto e il trend fermentativo è risultato essere molto simile al controllo.

I ceppi SRS1, MS72 e RT73 hanno mostrato la *performance* fermentativa migliore con 125 mg/L, e a diminuire con 75 e 180 mg/L. In generale, si può osservare che l'azoto non influenza molto la cinetica di sviluppo iniziale e le differenze maggiori si osservano tra 4 e 7 giorni e nella fase stazionaria dello sviluppo.

I ceppi saggiati hanno un andamento simile con un fabbisogno di azoto superiore rispetto al ceppo commerciale (125 mg/L rispetto a 75 mg/L). Si può ipotizzare che questi ceppi provenienti dalla stessa area pur essendo geneticamente diversi possono avere analoghe richieste nutrizionali che si sono instaurate nel tempo nel territorio di produzione Montepulciano d'Abruzzo.

Il contenuto finale di etanolo è risultato simile nelle

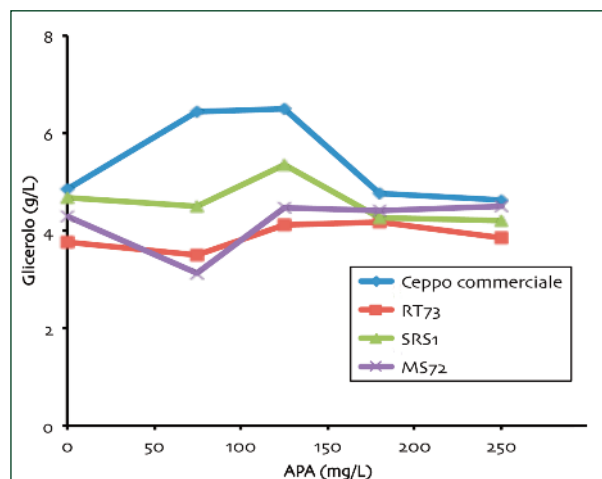


Figura 2 - Correlazione tra il contenuto di glicerolo e le diverse concentrazioni di APA (mg/L).

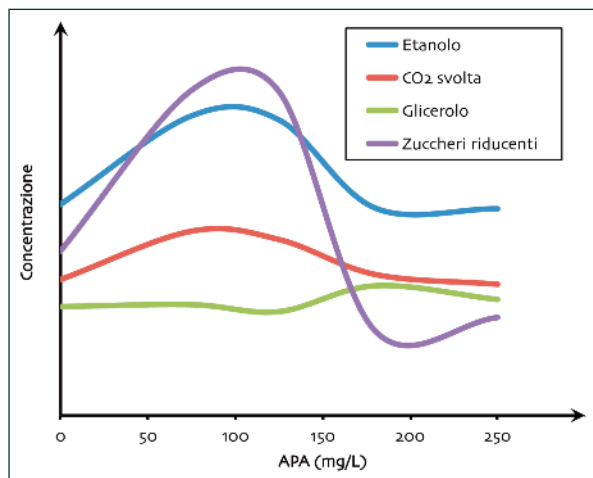


Figura 3 - Influenza di diverse aggiunte di APA sulla produzione di glicerolo, etanolo e CO₂ svolta da *Saccharomyces cerevisiae* SRS1.

diverse concentrazioni, cioè circa 12% (v/v) nei vini addizionati con 75 e 125 mg/L di APA e 8% (v/v) nel controllo e nelle restanti tesi, riflettendo la cinetica fermentativa. Ricerche svolte da altri autori, al contrario, hanno evidenziato che l'aggiunta di DAP incrementa lo sviluppo del lievito e la velocità di fermentazione, mentre non ha praticamente effetto sulla quantità di etanolo finale.

La Figura 2 mostra l'andamento del contenuto di glicerolo alle diverse concentrazioni di azoto dei vini prodotti dai ceppi *S. cerevisiae*. Questo composto nel vino è presente in concentrazioni comprese tra 2-11 g/L a seconda del ceppo di lievito, della composizione del mosto e delle condizioni di fermentazione. È noto che la produzione di glicerolo dipende molto dal ceppo usato. Infatti il ceppo commerciale ha mostrato una maggiore produzione di glicerolo a 125 mg/L di APA, seguito da SRS1 e da MS72, mentre il ceppo RT73 ha prodotto i valori più bassi. La generale bassa produzione di glicerolo può essere messa in relazione al contenuto di zuccheri riducenti non elevato.

La Figura 3 mostra l'influenza di diverse concentrazioni di APA sulla produzione di etanolo e glicerolo, sulla cinetica fermentativa e sul contenuto finale di zuccheri riducenti da parte del ceppo SRS1.

In conclusione si può affermare che un'appropriatezza concentrazione di APA nel mosto, eventualmente ottenuta tramite l'aggiunta di DAP, è importante per assicurare lo sviluppo dei lieviti e un'adeguata cinetica fermentativa, nonché per modulare la produzione dei diversi composti volatili a valenza aromatica.

Poiché la richiesta di azoto in *S. cerevisiae* è una caratteristica di ceppo, la selezione di starter per enologia dovrebbe tener conto di tale fattore, in modo da evitare un'eccessiva e inutile aggiunta di azoto ai mosti, che potrebbe portare ad una diminuzione della cinetica fermentativa e ad una riduzione di composti volatili.