IVES Technical Reviews
vigna & vino

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2025.9402

L'impiego di *Torulaspora delbrueckii* nei vini da macerazione carbonica modula le proprietà organolettiche e favorisce la fermentazione malolattica

Candela Ruiz-de-Villa[1], Jordi Gombau[2], Montse Poblet[1], Albert Bordons[3], Joan Miquel Canals[2], Fernando Zamora[2], Cristina Reguant[3], Nicolas Rozès[1*]

[1] Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[2] Grup de Tecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, c/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[3] Grup de Biotecnologia Enològica, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

Negli ultimi anni si é registrato un crescente interesse per lo studio dei lieviti non-*Saccharomyces*, grazie sia ai vantaggi che essi apportano alla vinificazione, sia al loro impatto sulle proprietà organolettiche del vino. In particolare, é stato riscontrato che l'uso della specie *Torulaspora delbrueckii* in co-inoculo con *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) durante la fermentazione alcolica (FA) ha un effetto positivo sulle performance della fermentazione malolattica (FML)[1]. Questo effetto è stato finora poco approfondito nel contesto di vinificazioni particolari, come la macerazione carbonica (MC), una tecnica che prevede lo sviluppo della fermentazione malolattica (FML) all'interno degli acini interi, non pigiati, in condizioni anaerobiche producendo così vini molto aromatici[2]. L'obiettivo di questo articolo è di studiare le conseguenze enologiche dell'inoculo di *T. delbrueckii* nella prima fase della vinificazione durante la MC, al fine di migliorare il processo fermentativo e le caratteristiche organolettiche di questi vini.

Materiali e metodi

Le fermentazioni sono state condotte su piccoli volumi in contenitori di plastica da 15 L utilizzando la varietà Garnacha rossa della cantina *Mas dels Frares* (Università Rovira i Virgili, DO Tarragona). Per effettuare la macerazione carbonica (MC), l'uva è stata diraspata a mano e gli acini interi non schiacciati sono stati inseriti nei contenitori, introducendo CO_2 per ottenere un ambiente anaerobico (Figura 1). Le condizioni erano le seguenti: due condizioni sequenziali in cui sono stati inoculati due ceppi di *T. delbrueckii* con Viniflora Prelude (Chr. Hansen Holding AS, Hoersholm, Danimarca) e Viniferm NS Td (Agrovin, Alcázar de San Juan, Spagna), e il controllo senza inoculo. Dopo 5 giorni di MC a 20°C, le uve sono state pressate e le frazioni di mosto mischiate. Il mosto fermentato in ciascuna condizione è stato travasato e successivamente inoculato con *Saccharomyces cerevisiae* CLOS (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canada) per completare la fermentazione alcolica. Al termine della FA, sono state avviate tre fermentazioni malolattiche (FML), utilizzando due differenti ceppi di *Oenococcus oeni*, Lalvin VP41 (Lallemand Inc.) e Viniflora CH11 (Chr. Hansen Holding AS), e una modalità spontanea (Sp), basata sulla flora indigena di batteri lattici (LAB) (Figura 1). Tutte le fermentazioni, sia alcoliche sia malolattiche, sono state condotte in triplicato biologico. L'analisi statistica dei dati è stata effettuata mediante ANOVA e test di Tukey, utilizzando il software XLSTAT (versione 2022.5.1). Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

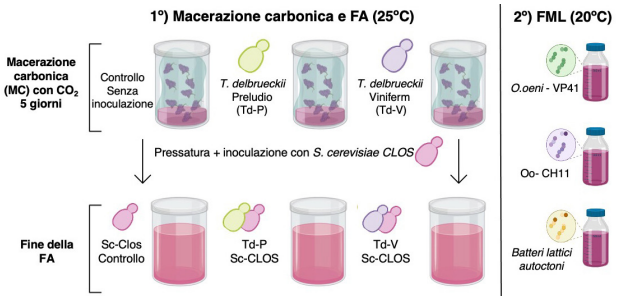


FIGURA 1. Disegno sperimentale.

Risultati

Effetto di *T. delbrueckii* sul colore del vino

Sono emersi risultati interessanti in merito al colore e alla composizione fenolica dei vini ottenuti dall'inoculo di *T. delbrueckii* all'inizio della macerazione carbonica. In particolare, la presenza di *T. delbrueckii* ha determinato un aumento significativo della concentrazione di antociani nei vini finali, con un effetto particolarmente marcato nel caso del ceppo TdV (Figura 2A). Questa maggiore concentrazione può essere dovuta a diverse cause, come la maggiore ossidazione degli antociani nei vini di controllo, che hanno richiesto più tempo per iniziare la FA. D'altra parte, questo effetto potrebbe anche essere associato a un'elevata attività pectolitica, che è stata osservata in alcuni lieviti non-*Saccharomyces*; tuttavia, questa attività non è ancora stata dimostrata per *T. delbrueckii*. Differenze significative sono state osservate anche nei livelli di piranoantocianine, in particolare di Vitisina A e Vitisina B (Figura 2B). Questi pigmenti rivestono un ruolo fondamentale nel migliorare la stabilità del colore del vino, poiché presentano una maggiore resistenza alla decolorazione indotta dall'anidride solforosa[3] e sono meno sensibili alle variazioni di pH rispetto agli antociani liberi. I campioni controllo alla fine della MC erano significativamente diversi da quelli inoculati con *T. delbrueckii*, poiché all'analisi non sono state rilevate piranoantocianine. Al contrario, sia i campioni TdP che quelli TdV hanno mostrato la presenza di questi pigmenti dopo la MC. Tuttavia, dopo la FA, le piranoantocianine sono state rilevate in tutti i vini, con concentrazioni più elevate nei vini con *T. delbrueckii* rispetto al Controllo. Durante la fase di MC, non sono state riscontrate differenze significative nell'intensità del colore (IC) tra le diverse condizioni. Tuttavia, dopo la FA, i vini controllo hanno mostrato una riduzione significativa dell'IC ed è stato possibile differenziare visivamente i vini di controllo da quelli inoculati con *T. delbrueckii* (Figura 2C).

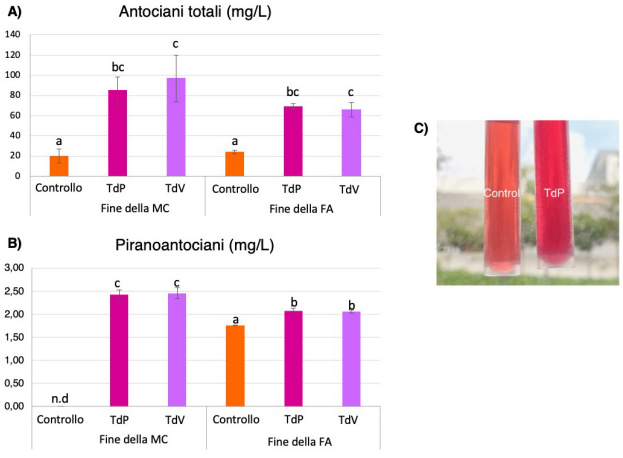


FIGURA 2. Composti fenolici analizzati. A) Antociani liberi analizzati mediante HPLC; B) Piranoantociani (Vitisine A e B). C) Differenziazione dei vini a occhio nudo: Controllo (sinistra) e vino inoculato con *T. delbrueckii* Prelude (destra). La fine della MC corrisponde al prelievo dopo la macerazione carbonica, prima dell'inoculo di *S. cerevisiae*, e la fine della FA corrisponde al prelievo dopo la fermentazione alcolica (FA). Controllo corrisponde alla fermentazione di controllo; TdP e TdV corrispondono alle fermentazioni con *T. delbrueckii* Prelude o *T. delbrueckii* Viniferm, rispettivamente. Le lettere diverse corrispondono a differenze significative tra i gruppi ($p < 0,05$). Tutti i dati sono espressi come media aritmetica di tre repliche biologiche ± deviazione standard ($n = 3$).

Effetto di *T. delbrueckii* sull'aroma e sulle proprietà organolettiche dei vini

L'inoculo dei due ceppi di *T. delbrueckii* ha avuto un impatto significativo sul profilo volatile e sulle caratteristiche organolettiche complessive dei vini. Le differenze più marcate sono emerse al termine della fermentazione alcolica condotta con *T. delbrueckii*, evidenziando un aumento delle principali famiglie di composti aromatici, quali esteri etilici, alcoli superiori, acidi grassi a catena corta (SCFA) e acetati di alcol superiori.

La traduzione di questo articolo in italiano vi stata offerta da WineHunter Hub. https://www.winehunterhub.com/

I composti che hanno mostrato i maggiori incrementi in concentrazione includono l'1-propanolo, il 2-metilpropanolo, l'acetato di isoamile, l'acetato di 2-feniletanolo, il decanoato di etile, il dodecanoato di etile e l'isopropanolo. Queste molecole sono associate a descrittori aromatici quali alcol, vino, banana, rosa, uva e foglia, contribuendo in modo significativo al profilo sensoriale complesso dei vini. Il ceppo TdP ha mostrato un aumento significativamente maggiore delle concentrazioni di 2-feniletanolo, 2-metilpropanolo e isoamilacetato rispetto al ceppo TdV. L'acetato di isoamile è un composto caratteristico dei vini da MC[2] il cui descrittore è la banana. Questo composto ha raggiunto concentrazioni di 0,62 mg/L (Controllo), 0,63 mg/L (TdP) e 0,47 mg/L (TdV) dopo la MC senza differenze significative. Tuttavia, i vini TdP e TdV hanno mostrato un aumento significativo della concentrazione di isoamilacetato dopo la FA, raggiungendo concentrazioni di 3,37 mg/L e 1,32 mg/L, rispettivamente, rispetto al vino di controllo con 0,58 mg/L (Figura 3A).
Infine, per comprendere l'impatto dell'inoculazione di T. delbrueckii durante la MC, è stata eseguita un'analisi sensoriale dopo la FA. Un test triangolare è stato condotto con la partecipazione di 15 giudici addestrati, utilizzando calici neri al fine di minimizzare l'influenza visiva. I risultati hanno evidenziato differenze significative tra il vino di controllo e quello ottenuto con il ceppo TdP, così come tra il controllo e il vino con TdV; non sono invece emerse differenze percepibili tra TdP e TdV. Successivamente, è stata realizzata una valutazione descrittiva dei vini al termine della fermentazione alcolica. Il vino ottenuto con TdV ha mostrato aromi intensi di frutti rossi, erba e banana, oltre a punteggi più elevati in termini di percezione globale. Anche il vino trattato con TdP ha evidenziato un miglioramento dell'aroma di banana e della percezione generale rispetto al controllo. In modo sorprendente, l'aroma di banana è risultato essere l'unico descrittore responsabile di una differenza significativa tra i vini inoculati con *T. delbrueckii* e quello controllo (Figura 3B), suggerendo che i consumatori abbiano associato questa nota aromatica alla presenza di *T. delbrueckii* durante la MC.

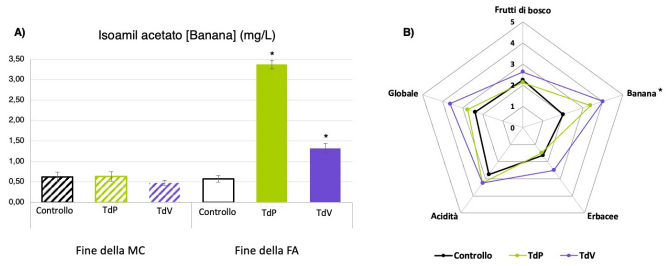


FIGURA 3. Concentrazione di isoamilacetato (mg/L) (A). Diagramma dell'analisi sensoriale dei vini dopo la FA (B). Gli asterischi (*) indicano gli attributi che hanno mostrato differenze significative (P < 0,05). Controllo corrisponde alla condizione Controllo fermentata solo con Sc; TdP e TdV corrispondono alle fermentazioni con *T. delbrueckii* Prelude e Viniferm, rispettivamente. Tutti i dati sono espressi come media aritmetica di tre repliche biologiche ± deviazione standard (n = 3).

Effetto di *T. delbrueckii* sulle performance della fermentazione malolattica

Una volta completata la FA, sono state applicate tre strategie di FML: inoculazione con i ceppi *O. oeni* OoVP41 e OoCH11 e fermentazione spontanea. L'inoculo con colture starter di *O. oeni* è stato effettuato per valutarne il potenziale sotto la pressione competitiva di BL endogeni.
La Figura 4 mostra la cinetica della FML dei vini delle tre condizioni et le rispettive strategie di FML. L'inoculo con OoVP41 ha determinato una durata della FML più breve rispetto all'inoculo con OoCH11 e alla FML spontanea. I vini TdP e TdV inoculati con OoVP41 hanno completato la FML due giorni prima (cioè in 8 giorni) rispetto ai vini di controllo con lo stesso ceppo (in 10 giorni). Ulteriori studi precedenti in condizioni di laboratorio[4] hanno caratterizzato il ceppo OoVP41 come un ceppo fermentativo altamente efficiente, corroborando questo risultato in tali condizioni competitive. L'influenza di *T. delbrueckii* sulla FML è stata osservata anche utilizzando il ceppo OoCH11. Sono state osservate differenze significativamente maggiori nella FML spontanea. I vini di controllo hanno impiegato 7 giorni per avviare la FML, mentre il vino TdP ha impiegato 4 giorni e il vino TdV solo 3 giorni. Anche per quanto riguarda il tempo totale della FML, le modalità TdP e la TdV sono risultate più brevi: la TdP è durata 15 giorni e la TdV 16 giorni, un tempo notevolmente inferiore a quello del controllo, che ha richiesto 20 giorni (Figura 4). L'effetto di *T. delbrueckii* sulla FML è associato a diversi fattori che contribuiscono a migliorare l'efficienza di O. oeni[1]. Nel presente studio, nonostante non siano state riscontrate differenze nei livelli di etanolo o di pH, la migliore performance della FML può essere attribuita a una riduzione degli MCFA (acidi grassi a media catena), noti per essere tossici per O. oeni[5], o a un aumento di ammonio e mannoproteine. Oltre agli aspetti nutrizionali, l'aumento delle mannoproteine potrebbe essere correlato alla riduzione degli MCFA, poiché possono assorbire questi lipidi, disintossicando l'ambiente per i batteri[6].

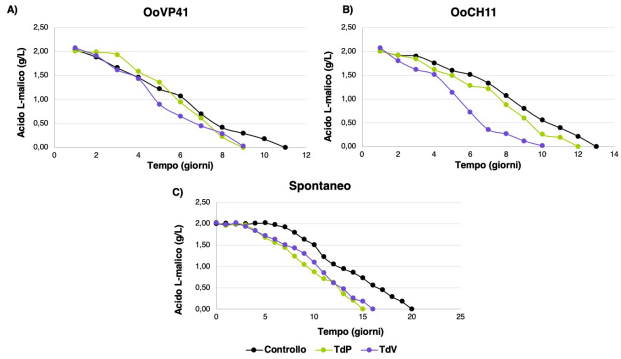


FIGURA 4. Consumo di acido L-malico da parte di due ceppi di *Oenococcus oeni* durante la fermentazione malolattica: (A) corrisponde alla FML OoVP41, (B) corrisponde alla FML OoCH11 e (C) corrisponde alla FML spontanea. Controllo corrisponde alla condizione Controllo fermentata solo con Sc; TdP e TdV corrispondono alle fermentazioni con *T. delbrueckii* Prelude e Viniferm, rispettivamente. Tutti i dati sono espressi come media aritmetica di tre repliche biologiche ± deviazione standard (n = 3).

Conclusioni

Sebbene i parametri fisico-chimici generali siano stati mantenuti costanti nel presente studio, la presenza di *T. delbrueckii* ha influenzato significativamente le caratteristiche cromatiche e aromatiche dei vini. In particolare, è stato osservato un aumento del contenuto di antociani e dei livelli di isoamilacetato, soprattutto nei vini ottenuti con il ceppo TdP. Inoltre, *T. delbrueckii* ha determinato un incremento significativo di altri composti volatili associati ad aromi floreali e fruttati. La valutazione sensoriale ha evidenziato una tendenza all'intensificazione degli aromi di frutti rossi, banana ed erba fresca nei vini fermentati con TdV, e una maggiore percezione dell'aroma di banana e della qualità sensoriale complessiva nei vini TdP. Tra i descrittori aromatici analizzati, l'aroma di banana è risultato l'unico a mostrare una differenza statisticamente significativa nell'analisi sensoriale. Per quanto riguarda la fermentazione malolattica (FML), la presenza di *T. delbrueckii* ha migliorato le performance fermentative, in particolare nei casi di FML spontanea, che si è avviata più precocemente e si è completata in un tempo ridotto. L'inoculo con *O. oeni* VP41 ha inoltre determinato una significativa riduzione della durata della FML di circa due giorni. Questi risultati evidenziano i potenziali benefici dell'impiego di ceppi di *T. delbrueckii* nel favorire l'efficienza della FML e nel migliorare il profilo sensoriale dei vini ottenuti tramite macerazione carbonica. L'approccio qui utilizzato potrebbe essere particolarmente utile nelle regioni vinicole a latitudine settentrionale, caratterizzate da climi più freddi e livelli di acidità più elevati. La FML potrebbe diventare necessaria in queste regioni per ottenere le caratteristiche desiderate dei loro vini. Inoltre, l'inoculo con *T. delbrueckii* contribuirebbe ad arricchire il profilo sensoriale di questi vini, garantendo un'elevata qualità e caratteristiche distintive. ■

Finanziamenti: *Questo lavoro è stato sostenuto dalla sovvenzione PGC2018-503 101852-B-I00 assegnata dall'Agenzia spagnola per la ricerca. CRV è grato per la borsa di studio predoctoral del governo catalano (2020FI).*

Fonte: *articolo scientifico "Torulaspora delbrueckii Improves Organoleptic Properties and Promotes Malolactic Fermentation in Carbonic Maceration Wines" (Fermentation, 2023).*

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C (2023). The Use of *Torulaspora delbrueckii* to Improve Malolactic Fermentation. *Microb Biotechnol*, https://doi.org/10.1111/1751-7915.14302

2 Tesniere, C.; Flanzy, & C. Carbonic (2011). Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press Inc., Vol. 63, pp. 1–15.

3 Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, R., & Moljtounet, M. A (1997). New Class of Wine Pigments Generated by Reaction between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401–1407.

4 Ruiz-de-Villa, C., Poblet, M., Bordons, A., Reguant, C., & Rozès. N. (2023). Comparative Study of Inoculation Strategies of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on the Performance of Alcoholic and Malolactic Fermentations. in an Optimized Synthetic Grape Must. *Int J Food Microbiol*, 404, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110367

5 Capucho, I. and San Romão, M.V (1994). Effect of Ethanol and Fatty Acids on Malolactic Activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 42, 391–395.

6 Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., & Ribéreau-Gayon, P. (1984). *Inhibition of Alcoholic Fermentation of Grape Must by Fatty Acids Produced by Yeasts and Their Elimination by Yeast Ghosts*, Vol. 47.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.