

Lisa Granchi

GESAAF - Università di Firenze
Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino



Lieviti indigeni per lo spumante

La diffusa pratica di inoculare il mosto d'uva con lieviti starter commerciali, pur assicurando la buona conduzione del processo fermentativo, può ridurre la naturale biodiversità dei lieviti e la tipicità di un vino. Pertanto, al fine di valorizzare un prodotto tipico, negli ultimi anni è stato proposto l'impiego di ceppi selezionati di *Saccharomyces cerevisiae* indigeni. Tali ceppi, oltre ad essere dotati di proprietà tecnologiche e capacità metaboliche idonee al tipo di vino desiderato, devono possedere la caratteristica di dominare i processi fermentativi condotti in una specifica cantina nell'arco di una vendemmia ed essere ricorrenti per più annate. In definitiva, i ceppi indigeni selezionati sono quei ceppi che, in seguito ad una sorta di pressione selettiva, si sono adattati meglio di altri ad operare in una cantina che rappresenta la loro nicchia ecologica.

Allo scopo di selezionare ceppi di *S. cerevisiae* indigeni per la produzione di vino spumante, presso l'Azienda Villa Franciacorta a Monticelli Brusati (Brescia), dove viene prodotto spumante secondo il metodo classico della rifermentazione in bottiglia, è stato avviato un progetto pluriennale comprendente varie fasi operative.

La prima fase è stata quella dell'isolamento di lieviti appartenenti alla specie *S. cerevisiae* da vinificazioni spontanee condotte nella cantina aziendale nel corso di diverse annate. Mediante semina in piastra di campioni di mosto/vino, prelevati da fermentazioni spontanee condotte presso la cantina aziendale nel corso di tre anni consecutivi, sono stati isolati ed identificati con tecniche molecolari (RFLP-rITS e sequenziamento della regione D1/D2) 766 lieviti appartenenti alla specie *S. cerevisiae*.

La seconda fase è stata la caratterizzazione genotipica, mediante diverse tecniche molecolari, dei ceppi isolati e dei ceppi di lievito commerciali impiegati usualmente in Azienda. La caratterizzazione intraspecifica degli isolati di *S. cerevisiae*, attraverso metodiche di *fingerprinting* del DNA ha condotto alla individuazione di 10 diversi profili molecolari, ovvero a 10 ceppi di *S. cerevisiae*, nettamente distinti dai lieviti starter commerciali impiegati in Azienda.

Tali ceppi indigeni hanno mostrato una diversa abbondanza relativa rispetto alla popolazione totale dei *S. cerevisiae* isolati nel corso delle tre vendemmie consecutive per cui, considerando il valore mediamente riscontrato, i ceppi FC R3, FC R6 e FC R7 sono risultati quelli predominanti a

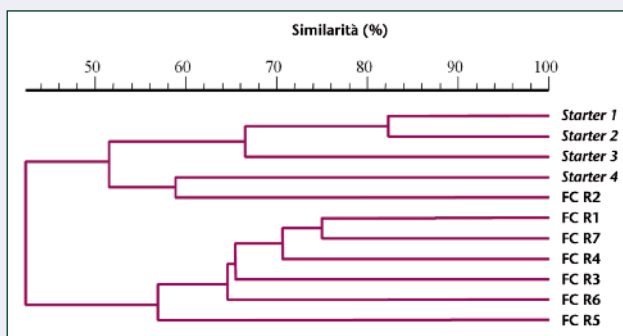


Figura 1 - Dendrogramma ottenuto dall'analisi dei cluster dei profili molecolari ottenuti con la tecnica mtDNA-RFLP. Le sigle da FC R1 a FC R7 indicano i ceppi di *S. cerevisiae* indigeni.

livello di cantina (Figura 2).

La terza fase è stata la caratterizzazione fenotipica finalizzata alla selezione dei ceppi di *S. cerevisiae* indigeni idonei sia per la produzione di vino-base (prima fermentazione) che per la rifermentazione in bottiglia (seconda fermentazione). La caratterizzazione fenotipica, condotta prendendo in considerazione i 10 ceppi indigeni di *S. cerevisiae*, ha previsto la determinazione, mediante prove di fermentazione su scala di laboratorio e saggi in piastra, delle principali proprietà tecnologiche e di qualità per la produzione di vino spumante quali: vigore fermentativo e potere alcoligeno alla temperatura di 19 °C e 12 °C (valori tipici rispettivamente della prima e della seconda fermentazione per l'Azienda considerata), resistenza alla anidride solforosa e

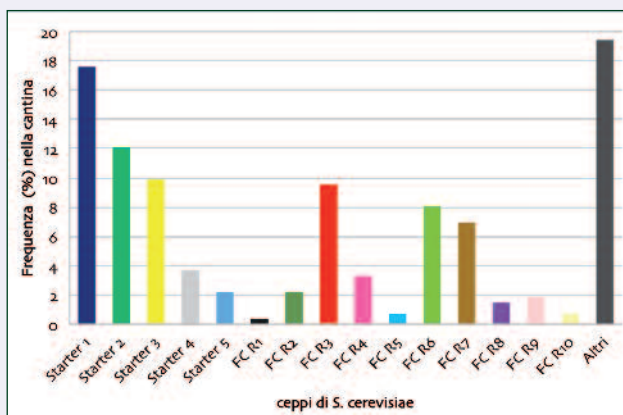


Figura 2 - Frequenza percentuale media dei ceppi di *S. cerevisiae* riscontrati nei campioni di mosto-vino durante le tre vendemmie prese in esame.

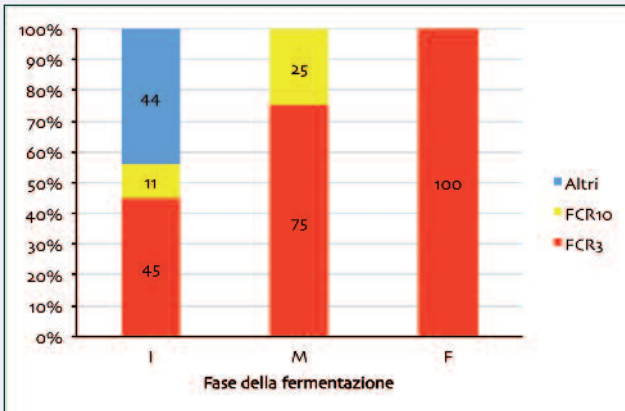


Figura 3 - Frequenza dei due ceppi di *S. cerevisiae* FC R3 e FC R6 inoculati in due vasche durante le diverse fasi della fermentazione alcolica (I = inizio, M = meia, F = fine).

produzione di idrogeno solforato, capacità autolitica ed una idonea produzione dei principali composti metabolici di interesse enologico come etanolo, glicerina, acido acetico, acetoino, diacetile, 2,3 butandiolo, alcoli superiori ed esteri. In base ai risultati conseguiti dopo analisi statistica (ANOVA e analisi delle componenti principali) dei dati ottenuti dalle diverse prove, i ceppi indigeni di *S. cerevisiae* FC R3 e FC R6 sono risultati quelli più idonei per la produzione di vino spumante nell'Azienda considerata.

La quarta fase ha riguardato l'impiego dei ceppi selezionati per la produzione di vino spumante nella cantina aziendale. I due ceppi di *S. cerevisiae* indigeni selezionati sono stati impiegati in cantina per indurre la fermentazione in due vasche della capacità di 60 hL per la produzione di vino-base.

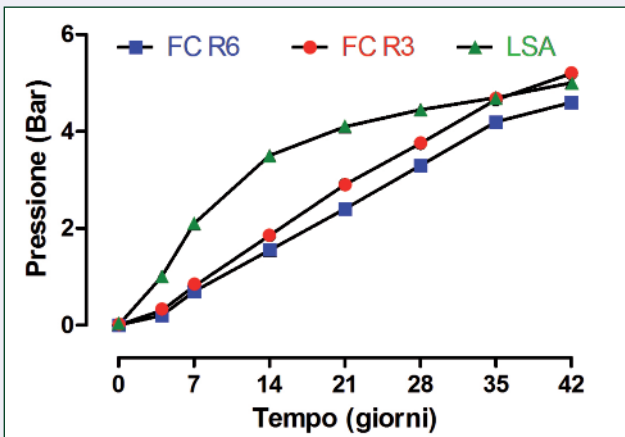


Figura 4 - Produzione di anidride carbonica durante la rifermentazione in bottiglia condotta da due ceppi di *S. cerevisiae* indigeni (FC R3 e FC R6) e da un ceppo di lievito commerciale (LSA).

Dopo l'inoculo e durante il processo fermentativo, la predominanza dei due ceppi inoculati è stata valutata mediante tecniche molecolari (Figura 3)

Nella prima fase della fermentazione, nella vasca inoculata

con il ceppo FC R3, la popolazione di *S. cerevisiae* è risultata costituita per il 45% dal ceppo inoculato e per il 55% da ceppi indigeni diversi. Tuttavia, il processo fermentativo è stato condotto in maniera predominante dal ceppo FC R3. Viceversa, il ceppo FC R6 è stato l'unico presente nel corso dell'intera fermentazione alcolica.

Il vino base ottenuto con i due ceppi indigeni, sottoposto ad analisi sensoriale secondo le procedure aziendali, ha presentato ottime proprietà organolettiche.

Una volta ottenuto il vino base, i due ceppi di lievito indigeni sono stati impiegati per la rifermentazione in bottiglia utilizzando come confronto un ceppo di lievito commerciale usualmente adoperato nell'Azienda Villa Franciacorta. Dopo 42 giorni in catasta alla temperatura di circa 12 °C, l'attività fermentativa dei ceppi di lievito inoculati, monitorata in alcune bottiglie-campione, ha mostrato valori paragonabili all'attività del ceppo commerciale, nonostante la cinetica di produzione dell'anidride carbonica fosse più lenta (Figura 4).

Questo progetto ha portato alla selezione di due ceppi, FC R3 e FC R6, che sono risultati idonei per la produzione di vino base e per la rifermentazione in bottiglia (almeno relativamente alla capacità di rifermentare zuccheri). Per la valutazione completa, si effettueranno l'analisi chimica e sensoriale al termine del periodo di affinamento.



Figura 5 - L'Azienda Villa Franciacorta a Monticelli Brusati (Brescia).

La nuova rubrica di Microbiologia Enologica

Questa Rubrica di Microbiologia tratterà in ogni numero argomenti specifici presentati dai diversi gruppi di ricerca del Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino (GMV).

Il GMV, coordinato dalla Prof. Patrizia Romano, è nato nel giugno 2014 con lo scopo di implementare i contatti tra i gruppi che lavorano in tematiche di microbiologia enologica e di unire le forze per consolidare le conoscenze, rendendole più utili per il mondo produttivo. Attualmente il GMV è costituito da 21 centri di ricerca, che collaborano sul piano sperimentale e sul trasferimento scientifico. In ambito EXPO, il GMV è stato selezionato per l'evento "La sfida della diversità microbica tra tradizione e innovazione", in cui sono state presentate in modo divulgativo alcune innovazioni e specificità.