

Nicola Francesca

Antonio Alfonzo

DISAAF - Università degli Studi di Palermo

Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino



# Non-conventional yeasts: nuove strategie microbiologiche per il potenziamento aromatico del Catarratto in Sicilia

Individuare protocolli innovativi di produzione che possano potenziare le caratteristiche organolettiche della varietà Catarratto è tra gli obiettivi del gruppo di ricerca di Microbiologia Agraria dell'Università degli Studi di Palermo, che da anni lavora sulla selezione di lieviti per la fermentazione alcolica in grado di imprimere ai vini caratteristiche aromatiche uniche ma



Figura 1 - Campionamento della manna.

riproducibili su scala aziendale.

Tra le ultime ricerche condotte, la selezione di ceppi sia di *Saccharomyces* spp., che di non-*Saccharomyces*, da fonti di isolamento alternative a quella del mondo vitivinicolo, ha aperto un nuovo scenario nel campo delle fermentazioni dei vini.

Ad oggi, manna, miele e insetti hanno rappresentato un'incredibile fonte di lieviti con interessanti caratteristiche tecnologiche in grado di portare a termine processi fermentativi anche su scala aziendale con vini ad elevata complessità aromatica. Grazie a queste matrici, la collezione del Dipartimento SAAF si è arricchita di nuovi starter, soprattutto non-*Saccharomyces* (es. *Lachancea* spp., *Candida* spp., *Hanseniaspora* spp., etc).

Molti di questi ceppi hanno mostrato una potenziale tendenza alla fruttosifilia e una capacità di fermentare mosti ad elevato contenuto zuccherino producendo una quantità significativa di glicerolo e bassa acidità volatile. L'analisi sensoriale ha mostrato anche la produzione di note spiccatamente floreali nei vini imbottigliati.

Oltre all'allestimento di una collezione di ceppi non-*Saccharomyces*, è stata condotta una selezione tecnologica su 92 ceppi appartenenti alla specie *S. cerevisiae*, isolati da diversi prodotti del miele, presenti in collezione presso la ceppoteca dei laboratori di Microbiologia Agraria del Dipartimento SAAF. Sono stati valutati per il loro potenziale fermentativo al fine di individuare quelli con le migliori performance tecnologiche in grado di svolgere la fermentazione alcolica.

È stato congiuntamente effettuato il test di resistenza alle diverse concentrazioni di etanolo dal 12% al 16% (v/v) e il test di resistenza di *S. cerevisiae* in presenza combinata di metabisolfito di potassio (MKBS) (da 150 a 250 mg/L) ed etanolo (16%), effettuato su *Modified Ethanol Sulphite Agar* (MESA).

Il ceppo GR1 di origine enologica, resistente ad elevati

livelli di metabisolfito di potassio ed etanolo è stato utilizzato come ceppo controllo.

La capacità di produrre  $H_2S$  è stata testata utilizzando un metodo qualitativo su *Bismuth Sulfite Glucose Glycerin Yeast Extract* (BiGGY) Agar (Oxoid). Il test è stato realizzato attraverso una stima visiva del grado di annerimento della colonia dopo 3 giorni di incubazione a 28 °C. Per la valutazione del colore è stata utilizzata una classificazione su scala a cinque livelli: 0 = bianco, 1 = beige, 2 = marrone chiaro, 3 = marrone, 4 = marrone scuro, 5 = nero.

I ceppi che hanno mostrato le migliori prestazioni tecnologiche (bassa produzione di  $H_2S$ , resistenza all'etanolo e metabisolfito, capacità di crescere a basse temperature) sono stati valutati per la loro capacità di fermentare un mosto-miele ottenuto mediante miscelazione di miele ed acqua distillata sterile nel rapporto di 1:1.

Dopo l'aggiunta di metabisolfito di potassio (100 mg/L), un'aliquota di 250 mL è stata versata in bottiglie di Roux, per ciascun ceppo sono state allestite 4 bottiglie Roux. Dopo l'inoculo di ciascun ceppo, 2 bottiglie di Roux sono state poste ad incubare alla temperatura di 10 °C e le rimanenti alla temperatura di 15 °C.

Per consentire la fuoriuscita di  $CO_2$ , ciascuna bottiglia di Roux è stata chiusa con tappo gorgogliatore (Green-system, Bari, Italia). Sono state realizzate due tesi controllo: (1) fermentazione spontanea del mosto miele; (2) inoculo di *S. cerevisiae* GR1. Il monitoraggio microbiologico delle popolazioni di lieviti è stato effettuato al momento dell'inoculo dei ceppi ed a 14, 28 e 42 giorni di fermentazione.

Sulla base dei risultati raccolti attraverso i test in vitro e la micro-fermentazione, sono stati selezionati 5 ceppi denominati SPF17, SPF21, SPF42, SPF52 e SPF159 che potenzialmente possono essere impiegati come colture starter per la fermentazione alcolica.

Le attività di ricerca del Gruppo di Microbiologia di Palermo negli ultimi due anni hanno previsto anche il setup su scala aziendale di processi fermentativi basati sulla combinazione di ceppi commerciali non-*Saccharomyces*, quali *Metschnikowia pulcherrima* (FLAVIA™, Lallemand), e ceppi di *S. cerevisiae* isolati da miele e da uve siciliane. L'obiettivo è stato soprattutto quello di identificare la migliore combinazione tra ceppo, nutrizione microbica e livello di antiossidanti al fine di potenziare la complessità aromatica di vini ottenuti da cultivar come il Catarratto.



Figura 2 - Prove di fermentazione in vitro.

Il Catarratto rappresenta la principale cultivar a bacca bianca in Sicilia. Identificare nuovi protocolli biotecnologici per aumentarne la piacevolezza olfattiva e gustativa rappresenta una sfida oltre che enologica anche commerciale.

L'applicazione in vinificazioni sperimentali su scala



Figura 3 - Vinificazione del Catarratto presso la cantina sperimentale dell'IRVOS.

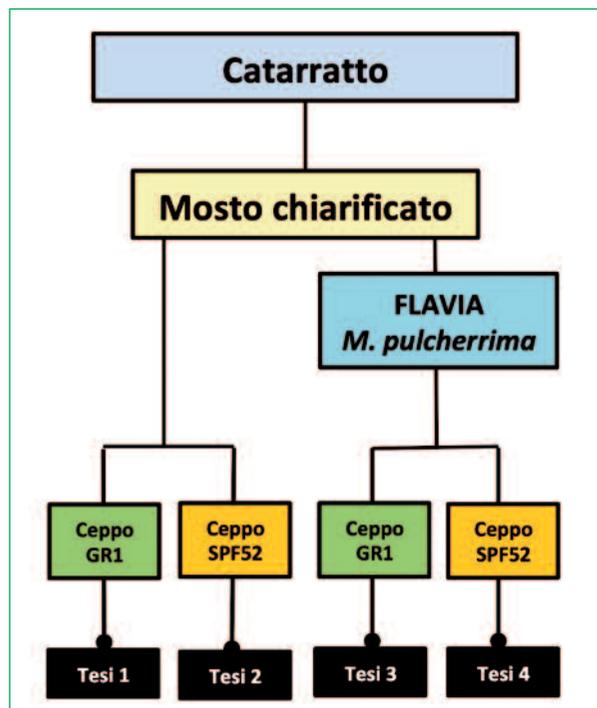


Figura 4 - Schema sperimentale.

pilota (Figura 3), di ceppi non-*Saccharomyces* (*Metschnikowia pulcherrima*) già presenti in commercio, con scarsa capacità fermentativa, ma con intensa attività enzimatica, ha permesso di verificare il loro comportamento e la loro validità.

Durante le ultime vendemmie sono state condotte presso l'Istituto Regionale Vini e Oli di Sicilia (IRVOS) vinificazioni sperimentali (Figura 4) con l'obiettivo di testare l'efficacia di FLAVIA, *Metschnikowia pulcherrima*, selezionato da Lallemand, in co-inoculo con 2 ceppi di *S. cerevisiae*, uno isolato da uve (GR1), l'altro isolato da prodotti derivati del miele (SPF52).

La ricerca è stata finanziata dall'azienda vitivinicola Di Bella (Palermo) e da Lallemand Oenology. Le uve sono state raccolte alla maturazione ottimale, quindi trasportate presso la cantina sperimentale Dalmaso a Marsala (Figura 5).

Successivamente si è proceduto con la diraspatura e la pigiatura delle uve e subito dopo con la pressatura soffice. Il mosto ottenuto è stato sottoposto a decantazione statica a 8 °C per 24-48 ore, il mosto chiarifi-

cato è stato suddiviso in 4 vasche e sono state avviate le seguenti prove sperimentali. Le tesi 3-4 sono state inoculate con FLAVIA e dopo 24 ore co-inoculate con *S. cerevisiae*, una con GR1, l'altra con SPF52. Le tesi 1-2 invece sono state utilizzate da controllo e sono state inoculate esclusivamente con i ceppi di *S. cerevisiae*.

La fermentazione è stata monitorata attraverso il rilievo giornaliero del grado Babo e della temperatura del mosto. Durante la fermentazione sono stati prelevati campioni per le analisi chimiche (strumentazione FOSS ed analizzatore enzimatico r-Biopharm), analisi microbiologiche (conte microbiche, caratterizzazione genotipica inter ed intra-specie).

I risultati ottenuti confermano che FLAVIA non ha svolto alcuna fermentazione alcolica, ma con le sue peculiari attività enzimatiche ha conferito al vino complessità aromatica con chiari sentori floreali ed erbe aromatiche. Il co-inoculo con il ceppo SPF52 (tesi-4) è risultata la tesi migliore, in quanto anche il ceppo SPF52 conferisce al vino sentori fruttati e floreali tipici del miele.

Il ceppo GR1 invece ha conferito al vino un profilo aromatico più tendente al tiolico con sentori di frutta tropicale e agrumi.

L'applicazione di FLAVIA in co-inoculo con i ceppi GR1 e SPF52 ha migliorato la complessità aromatica del Catarratto. Ulteriori prove saranno svolte su scala industriale al fine di confermare l'effetto di potenziamento aromatico del vino Catarratto. Inoltre saranno condotte prove di shelf-life dei composti organici volatili in diverse condizioni di conservazione.

L'obiettivo è fornire alle aziende nuove strategie per ottenere vini longevi ad elevata complessità organolettica.



Figura 5 - Cantina sperimentale IRVOS.