

Francesco Grieco

CNR - Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari

Sede di Lecce

Gruppo Italiano di Microbiologia del Vino



## Selezione enologica ed utilizzo di lieviti autoctoni per la produzione industriale di vini tipici pugliesi

Seconda area vitivinicola italiana, la Puglia è la regione con la maggior produzione di vini rossi e rosati.

L'industria enologica pugliese sta vivendo un momento di grande trasformazione qualitativa e nelle zone con particolare vocazione vinicola cresce l'esigenza di acquisire un sempre maggiore livello conoscitivo dei parametri che caratterizzano la qualità dei vini tipici.

Una sentita esigenza dei produttori è quella di poter pilotare e controllare l'attività produttiva al fine di ottenere vini con caratteristiche peculiari e costanti nel rispetto della tipicità garantita dalle Denominazioni d'Origine.

La fermentazione dei mosti è un processo complesso in cui partecipano diversi microrganismi (lieviti e batteri), naturalmente presenti sull'uva o aggiunti al mosto (ceppi starter selezionati).

Come per altri processi fermentativi naturali che presiedono alla produzione di alimenti, una stabilizzazione ed un controllo della produzione di vino passano attra-

verso l'impiego di starter, costituiti da colture pure di lieviti selezionati.

Questa attività di ricerca è partita dal presupposto che in aree viticole omogenee, nel corso del tempo, si siano affermati alcuni ceppi di lievito che sono dotati di caratteristiche di efficienza tecnologica ed in grado di preservare le caratteristiche peculiari del vino prodotto, conferendo allo stesso un forte legame con il territorio di produzione.

L'obiettivo fondamentale era quello di ottenere nuove colture starter mediante la selezione, caratterizzazione e classificazione di ceppi di lieviti autoctoni per i principali areali di produzione della Puglia, per i vini "Negroamaro" e "Primitivo".

Quattro fermentazioni naturali sono state portate a termine a partire da mosto proveniente da uve Negroamaro campionate negli areali di Guagnano e Ugento, in provincia di Lecce, e da uve Primitivo campionate in agro di Cassano delle Murge.

I lieviti presenti sulle bacche, durante la fermentazione e nella feccia residua sono stati identificati mediante una combinazione di metodiche molecolari basate sull'utilizzo della reazione polimerasica a catena (PCR) che ha permesso di identificare marcatori molecolari specie- e ceppo-specifici (Figura 1).

*Metschnikowia pulcherrima* e *Hanseniaspora uvarum* sono state le specie di lieviti predominanti sulla superficie degli acini d'uve Negroamaro.

Le uve di Primitivo hanno mostrato una popolazione saprofitica costituita principalmente da spe-



Figura 1 - Specie di lieviti identificate sulla superficie degli acini e durante le fasi della fermentazione alcolica.

cie di lieviti predominanti quali *Candida stellata*, *M. pulcherrima* e *C. zemplinina*.

L'analisi delle successive fasi di media e fine fermentazione ha mostrato in tutti i campioni, una sequenziale sostituzione delle specie non-*Saccharomyces* con popolazioni di lieviti appartenenti alla specie *Saccharomyces cerevisiae*.

La dinamica delle popolazioni di *S. cerevisiae* caratterizzate nelle fermentazioni naturali oggetto di studio ha rivelato interessanti aspetti dal punto di vista ecologico, mostrando un'elevata variabilità intraspecifica. L'analisi statistica dei dati ottenuti dagli isolati di *S. cerevisiae* provenienti dalle fermentazioni con uve Primitivo e Negroamaro non ha evidenziato la presenza di ceppi di *S. cerevisiae* predominanti.

La differente dinamica delle popolazioni di *S. cerevisiae* può essere attribuita alla variabilità di quella serie di parametri che influenzano la diversità della microflora dell'uva, come le diverse accessioni di un vitigno, la localizzazione geografica dell'areale di produzione, le condizioni climatiche e le pratiche colturali. I cloni identificati in questo lavoro sono stati sottoposti a saggi biochimici e tecnologici ai fini di una caratterizzazione enologica.

La caratterizzazione molecolare e tecnologica di lieviti *S. cerevisiae* isolati durante l'ultima fase del processo di fermentazione naturale di uve Negroamaro e Primitivo è stata necessaria per selezionare lieviti autoctoni in grado di esaltare la tipicità e la qualità dei grandi vini rossi ottenuti da questi vitigni.

Un nuovo protocollo per la selezione di colture starter appartenenti alla specie *S. cerevisiae* è stato ottimizzato (Figura 2) e consiste nelle seguenti fasi:

- i) selezione degli isolati non produttori di  $H_2S$ ;
- ii) identificazione degli isolati di lievito a livello di specie;
- iii) identificazione dei ceppi di *S. cerevisiae* a livello di ceppo;
- iv) studio delle performance fermentative ed enologiche dei differenti ceppi in scala di laboratorio;
- v) analisi statistica dei dati chimico-fisici ottenuti ed individuazione dei ceppi candidati starter;
- vi) validazione delle proprietà enologiche dei candidati star mediante vinificazioni su scala pilota;
- vii) produzione di biomassa iniziale e suo uso come

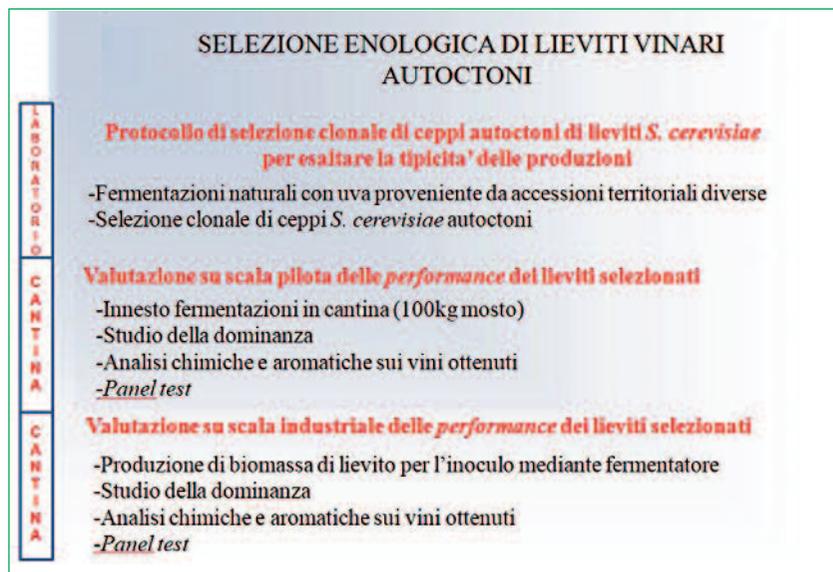


Figura 2 - Procedura di selezione enologica di ceppi di *S. cerevisiae* isolati dalle fasi finali delle fermentazioni naturali.

inoculo per fermentazioni di mosto su scala industriale.

Questi studi ci hanno permesso di scegliere tre ceppi: 103NC e 32NU Negroamaro e il ceppo PR12A, dotati di eccellenti proprietà tecnologiche, chimiche e aromatiche, selezionati rispettivamente da uve Negroamaro e Primitivo.



Figura 3 - Impianto pilota di fermentazione per la produzione delle biomasse delle colture starter.

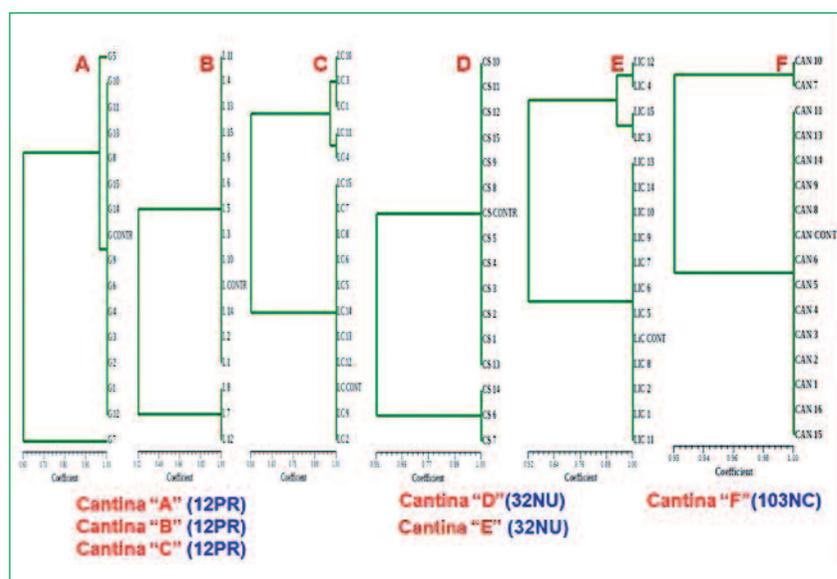


Figura 4 - Analisi di dominanza effettuata sulla popolazione di lieviti presente nelle fecce residuali delle sei vinificazioni su scala industriale ottenuta dal confronto dei profili d'amplificazione genica relativi alle regioni genomiche inter- $\delta$  di 15 colonie selezionate a random. Controllo: DNA estratto dal ceppo utilizzato.

Le biomasse dei tre starter sono state prodotte mediante l'utilizzo di un impianto di fermentazione costituito da un fermentatore dal volume di 30 litri (Figura 3) e sono state quindi utilizzate per l'inoculo di fermentazioni su larga scala presso sei Aziende vitivinicole della provincia di Lecce e Bari.

Tutti e tre gli stipiti selezionati anche nelle fermentazioni su scala industriale hanno prodotto basse concentrazioni di acido acetico, confermando (quanto già riscontrato nelle precedenti prove su scala pilota. Anche in queste fermentazioni i ceppi considerati hanno dominato sugli altri ceppi selvatici presenti (Figura 4) ed hanno portato a termine il processo di fermentazione metabolizzando efficientemente gli zuccheri.

I vini prodotti su scala industriale inoltre hanno quantità rilevanti di glicerolo ed hanno dimostrato un elevato potere alcoligeno (Figura 5).

Gli stessi vini hanno mostrato profili aromatici interessanti, dimostrando che tutti i ceppi partecipano in positivo alla complessità aromatica del vino. Infatti sono state rilevate note fruttate (dovute alla presenza sia

di esteri e sia di alcoli superiori presenti con valori inferiori a 200), note floreali dovute alla presenza di terpeni (presenti nell'uva ed estratti durante la fermentazione alcolica).

In conclusione, la comprensione dell'ecologia dei lieviti vinari associati a distinte aree di produzione vinicola è fondamentale per comprendere a pieno il processo di vinificazione e per produrre vini legati al territorio e dotati di caratteri peculiari.

Gli studi descritti comprovano che in una regione a vocazione vinicola come la Puglia, l'utilizzo di ceppi autoctoni selezionati per diffusione dell'uso di ceppi indigeni porterebbe un

notevole contributo al miglioramento qualitativo dei vini tipici prodotti.

La procedura di selezione proposta potrebbe essere molto efficace per la preparazione di colture starter di "lievito-aziendale", che potrebbero essere prodotte su richiesta in impianti a basso costo, poco prima della stagione delle vendemmie e distribuite alle cantine come concentrato liquido fresco.

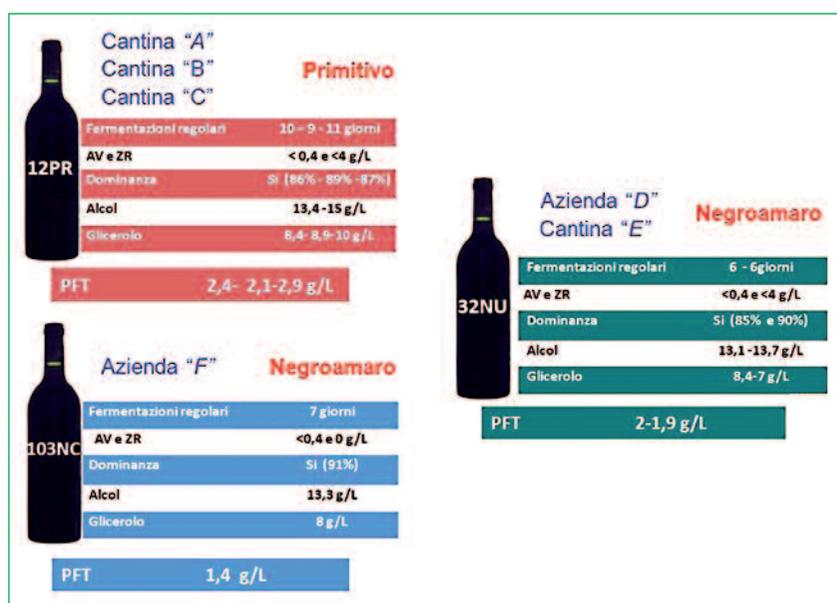


Figura 5 - Principali parametri chimici ed enologici dei sei vini prodotti su scala industriale.