



LIEVITI IBRIDI E SACCHAROMYCES NON-CEREVISIAE

La pratica di inoculare il mosto d'uva con lieviti selezionati è largamente utilizzata in cantina, in quanto consente di controllare il processo fermentativo, aumentare la riproducibilità, impartire al vino caratteri sensoriali particolari e ridurre il rischio di alterazioni causate da microrganismi contaminanti. La selezione di lieviti starter per l'enologia è generalmente condotta a partire dal complesso microbiota indigeno delle fermentazioni spontanee del mosto ed è rivolta principalmente ai ceppi appartenenti alla specie *S. cerevisiae*. Questo lievito, anche se poco diffuso sulle uve e nel mosto all'inizio delle fermentazioni spontanee, diventa presto dominante per la sua elevata vigoria fermentativa e maggiore tolleranza all'etanolo che gli consentono di portare a termine la fermentazione con efficacia. La maggior parte dei ceppi industriali di lievito impiegati per guidare la fermentazione alcolica nel vino appartiene, pertanto, a questa specie.

Negli ultimi anni, tuttavia, la selezione dei lieviti enologici si è orientata anche verso specie di lieviti non-*Saccharomyces* con caratteristiche tecnologiche e qualitative diverse; questo con l'obiettivo di migliorare la complessità e l'intensità aromatica dei vini e riprodurre in modo controllato la successione delle popolazioni di lieviti tipica delle fermentazioni naturali. A causa del loro ridotto vigore

fermentativo questi lieviti devono, però, essere impiegati in fermentazioni miste o sequenziali con *S. cerevisiae*. Inoltre, altre specie del genere *Saccharomyces*, come *S. bayanus* e *S. paradoxus*, nonché ibridi interspecifici, quali *S. cerevisiae*×*S. bayanus*, *S. cerevisiae*×*S. kudriavzevii*, *S. cerevisiae*×*S. cariocanus*, hanno attirato l'attenzione del mondo enologico in quanto dotati di proprietà che possono soddisfare le esigenze di miglioramento qualitativo dei vini e risolvere le problematiche legate alle variazioni nella composizione delle uve dovute ai cambiamenti climatici.

Saccharomyces bayanus è un parente stretto di *S. cerevisiae* e si differenzia da questo per alcune importanti proprietà enologiche, quali la vigoria fermentativa a basse temperature, la minore richiesta di ammonio e la capacità di produrre composti aromatici che impartiscono un profilo sensoriale diverso. Questo lievito è meno frequente di *S. cerevisiae*, ma può dominare in fermentazioni condotte a bassa temperatura, come da noi riscontrato nel vino Amaronone della Valpolicella. È utilizzato nei mosti ad alta concentrazione zuccherina o in casi nei quali si realizza un arresto di fermentazione.

Saccharomyces paradoxus è una specie naturale distribuita in tutto il mondo che si può isolare da alberi decidui, frutta, insetti e, saltuariamente, dall'uva. In un lavoro recente abbiamo identificato ceppi di questa specie isolati da uve del Trentino a 600 mt di altitudine in annate differenti. Questo lievito può esibire proprietà enologiche interessanti (attività peptolitica e capacità demalicante), e pertanto il suo impiego in enologia merita approfondimenti.

I lieviti ibridi intraspecifici sono prodotti della fusione di cellule da specie diverse del genere *Saccharomyces*, combinano le proprietà metaboliche presenti nei due ceppi parentali e, pertanto, possono avere caratteristiche peculiari che li possono avvantaggiare negli ambienti naturali. Infatti, ceppi ibridi naturali tra *S. cerevisiae*, *S. bayanus* e *S. paradoxus* sono stati rilevati nell'intestino di vespe sociali e

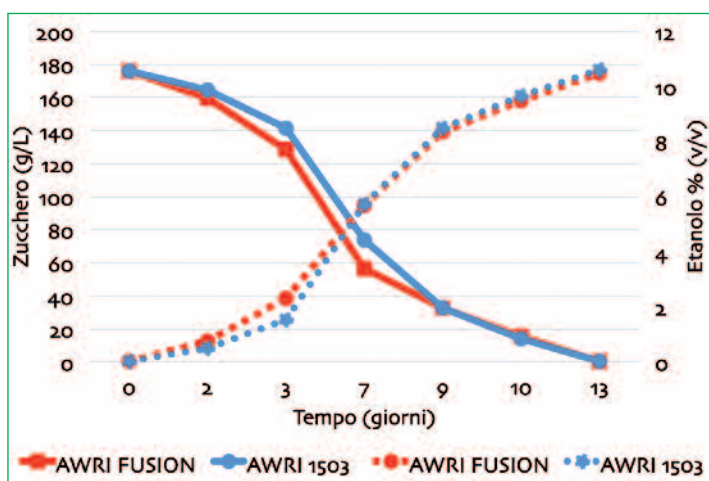


Figura 1 - Cinetica di fermentazione dei due lieviti ibridi inoculati in mosto di uva Garganega.

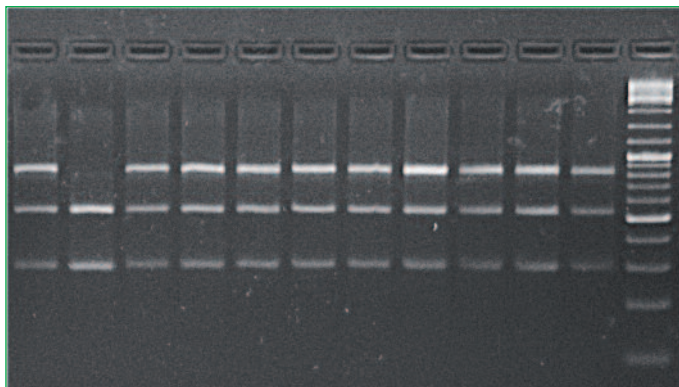


Figura 2 - Profilo PCR-RFLP ottenuto dalla restrizione con enzima *Apal* del DNA estratto da colonie di lievito sviluppate su terreno WL (da Fc1 a Fc10). Nel primo pozzetto il lievito ibrido AWRI Fusion.

in diverse bevande fermentate tra cui vino, sidro e birra. Inoltre, sono stati isolati da vino ibridi naturali di *S. cerevisiae* e *S. kudriavzevii*. Con opportune tecniche di ibridazione è possibile riprodurre in laboratorio i fenomeni di incrocio che avvengono spontaneamente in natura e sviluppare nuovi ceppi di lieviti ibridi non-OGM con caratteristiche spesso uniche.

Determinare con precisione il comportamento di questi lieviti ibridi in condizioni di vinificazione specifiche è essenziale per valutare l'impatto di un eventuale cambiamento nella produzione. In collaborazione con la Cantina di Soave (Verona), alla continua ricerca del miglioramento qualitativo, e Tebaldi s.r.l. (Colognola ai Colli, Verona) è stata condotta una prova di vinificazione utilizzando i lieviti commerciali Maurivin: AWRI 1503 (*S. cerevisiae* × *S. kudriavzevii*) e AWRI Fusion (*S. cerevisiae* × *S. cariocanus*). L'obiettivo è stato quello di confrontare le performances dei due ibridi per la produzione di vino-base spumante a partire da mosto di uva Garganega su scala industriale.

Dopo reidratazione, i due ibridi sono stati inoculati nel mosto d'uva contenuto in due cisterne della capacità di 1.500 hL per indurre la fermentazione. La cinetica di fermentazione è stata monitorata durante il processo di vinificazione ed è illustrata in Figura 1. Alcuni parametri chimici, rilevati a fine fermentazione, hanno mostrato che entrambi i lieviti utilizzati hanno completato la fermentazione alcolica esaurendo gli zuccheri del mosto e producendo circa il 10,7% vol di etanolo. Dall'analisi dei vini, quello prodotto con il ceppo AWRI 1503 conteneva un minor tenore di acido acetico, acetaldeide e SO₂ totale; il pH è risultato leggermente più alto.

Nel corso della sperimentazione è stata anche valutata la dominanza dei ceppi inoculati mediante una tecnica molecolare. Tramite l'analisi

PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), condotta sul DNA isolato da un numero rappresentativo di colonie cresciute sul terreno di coltura per lieviti, è stato possibile differenziare i lieviti ibridi.

Sono stati testati quattro enzimi di restrizione del DNA e solo l'endonucleasi *Apal* si è dimostrata efficace nel distinguere i ceppi. Nella cisterna con AWRI 1503 la popolazione di lieviti è risultata costituita per il 70% dal ceppo inoculato e per il 30% da ceppi diversi, mentre AWRI Fusion rappresentava il 90% dei lieviti.

È stato così dimostrato che gli ibridi impiegati hanno dominato la fermentazione nelle due cisterne. La Figura 2 mostra, a titolo di esempio, la corsa elettroforetica del prodotto di restrizione del

DNA di AWRI Fusion e di 10 colonie isolate a fine fermentazione dalla cisterna inoculata con questo ibrido. Solo la colonia Fc1 non presenta il profilo di AWRI Fusion caratterizzato da tre bande con diversa intensità.

Il vino base ottenuto con i due ceppi ibridi è stato sottoposto ad analisi sensoriale. I risultati sono illustrati in Figura 3. Il vino ottenuto con AWRI 1503 è stato quello maggiormente apprezzato per l'intensità aromatica e la qualità visiva e olfattiva.

In conclusione, i lieviti ibridi utilizzati in questa prova hanno mostrato di essere pienamente compatibili con processi di vinificazione industriale su larga scala, in quanto hanno garantito ottime *performances* fermentative ed elevati standard qualitativi. La scelta del ceppo può quindi basarsi sul contributo del lievito alle caratteristiche organolettiche che si vogliono ottenere.

Gli autori ringraziano Riccardo Bindelli per il supporto alla sperimentazione in cantina.

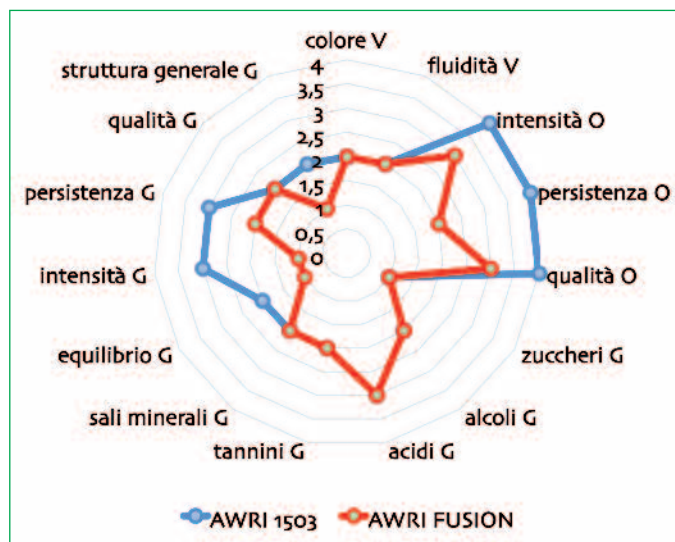


Figura 3 - Analisi sensoriale dei vini-base ottenuti con i lieviti ibridi commerciali AWRI Fusion e AWRI 1503. V: visivo; O: olfattivo; G: gustativo.