

LIEVITI SELEZIONATI ECO-TIPICI: TASSELLO FINALE PER COMPORRE IL MOSAICO DELLA TIPICITÀ

Enrico Vaudano, Laura Pulcini, Antonella Costantini, Emilia Garcia-Moruno

Per millenni l'uomo è stato affascinato dalla misteriosa trasformazione dell'uva in vino ed ha cercato di attribuirne le cause alla magia o all'intervento divino. Bisogna arrivare alla fine del XIX secolo, grazie a Luis Pasteur, il padre della microbiologia moderna, per avere la conferma sperimentale dell'origine microbiologica di questa trasformazione.

Fra questi microrganismi, il lievito *Saccharomyces cerevisiae* è il principale responsabile della fermentazione alcolica: il lievito agisce sulla conversione dello zucchero, presente nell'uva, in alcool etilico e anidride carbonica, portando a un completo esaurimento degli zuccheri.

Nell'ambito della specie *S. cerevisiae* esiste una notevole variabilità genetica che si riflette in un'altrettanto grande variabilità metabolica. Esistono cioè diversi ceppi di *S. cerevisiae* (che potremmo grossolanamente assimilare alle razze o alle varietà presenti in ambito zootecnico o cerealicolo), la cui influenza sulla qualità del vino è tale da condurre, partendo dalla stessa uva di origine, ma utilizzando ceppi diversi, a vini con **caratteristiche sensoriali** molto diversificate. Ad esempio, l'influenza del lievito appare particolarmente importante nel caso delle vinificazioni di uve a bacca bianca, dove buona parte degli aromi fruttati e floreali che si percepiscono derivano direttamente o indirettamente dal metabolismo del ceppo di lievito che ha condotto la fermentazione.

La ricerca si è da tempo rivolta alla selezione di ceppi di lievito con determinate caratteristiche enologiche, tanto che oggi questi **ceppi selezionati** (selezionati in natura, e non manipolati geneticamente) sono ampiamente utilizzati nelle moderne vinificazioni. In questo campo, negli ultimi anni, si è aperto un dibattito acceso tra diversi produttori di vino con differenti stili di vinificazione.

Da una parte i sostenitori della fermentazione guidata ottenuta mediante l'inoculo dei lieviti selezionati prodotti industrialmente. Questa pratica permette di razionalizzare la fermenta-

zione evitando arresti fermentativi e fermentazioni stentate che influiscono sempre in modo negativo sulla qualità del vino. La **fermentazione guidata** pone però dei rischi di standardizzazione sensoriali, soprattutto in vini ad aroma neutro, non aventi cioè un forte carattere aromatico derivato dal vitigno di origine. Inoltre questi lieviti non sono espressione del territorio, cioè vengono selezionati in zone viticole magari prestigiose, ma geograficamente differenti e lontanissime dal luogo in cui vengono successivamente utilizzate. Un lievito selezionato nella Napa Valley o in Sud Africa può essere utilizzato per la produzione di una AOC francese o una DOC italiana. Per fare un paragone "caseario" è un po' come ottenere un

formaggio Castelmagno con latte ottenuto da una vacca da latte olandese invece che con una razza tipica delle valli piemontesi. Dall'altra parte i sostenitori delle fermentazioni spontanee, portate avanti dalla microflora presente naturalmente sull'uva, affermano che i vini ottenuti con tale pratica sono una reale **espressione del territorio** dal punto di vista microbiologico e sicuramente meno standardizzati, dimenticando che queste fermentazioni sono completamente affidate al caso e in certe annate sono particolarmente rischiose.

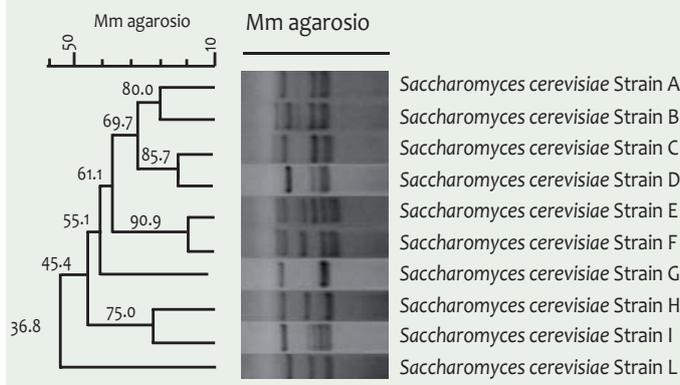
I lieviti ecotipici

Negli ultimi anni è stata proposta da tecnici e ricercatori una terza via: l'utilizzo di lieviti selezionati ecotipici, che consiste nella selezione e utilizzo, come starter, di uno o più ceppi di lievito presenti naturalmente in una determi-

nata zona, addirittura a livello di singola azienda. Si arriva così ad ottenere un vino espressione totale del territorio di appartenenza, sia dal punto di vista viticolo che microbiologico, unico e difficilmente imitabile, utilizzando un lievito isolato sul territorio, preventivamente testato nelle sue caratteristiche enologiche e quindi affidabile dal punto di vista qualitativo.

In questo lavoro di selezione i progressi scientifici sono stati notevoli. Oggi per identificare e distinguere diversi ceppi appartenenti alla specie *S. cerevisiae*, applichiamo nel laboratorio del CREA-Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia di Asti le stesse **tecniche basate sul DNA** che usa la polizia scientifica per l'identificazione, tra diversi individui

(A) - Impronta genetica effettuata tramite analisi dei microsattelliti di diversi ceppi ecotipici di *S. cerevisiae*.



appartenenti alla nostra specie *Homo sapiens*, del responsabile di un crimine.

Anche qui l'analisi genetica permette di distinguere in modo inequivocabile il ceppo di lievito attraverso una sorta di impronta digitale genetica che si è sostituita alle metodologie classiche molto laboriose e poco discriminanti. Queste tecniche sono state utilizzate, ad esempio, nella riclassificazione delle specie presenti nella collezione di microrganismi del Centro che ha raccolto, in 40 anni di attività, oltre 1600 ceppi di lievito e centinaia di ceppi batterici attraverso l'isolamento da uve, mosti, vini e negli ambienti di cantina e che rappresenta una delle maggiori collezioni di questo tipo in Italia.

Il processo di selezione

La selezione di un **lievito eco-tipico** deve essere affrontata attraverso un progetto condiviso con il cliente, che sia esso una singola azienda o associazione di produttori. Il lavoro prevede diverse fasi e si conclude al fine di ottenere un risultato sicuro ed affidabile, in non meno di tre campagne vendemmiali.

La prima fase, quella di **campionamento**, prevede la raccolta di uve alla maturità, in sacchetti sterili, prelevando anche grappoli interi in un numero di aliquote che copra statisticamente l'intero vigneto da campionare. La presenza di grappoli danneggiati è gradita in quanto l'accesso al mosto zuccherino incrementa la carica e la biodiversità dei lieviti fermentativi, mentre acini perfettamente sani rappresentano un substrato non ideale per gli stessi, che sono sempre presenti, ma in misura notevolmente inferiore. L'uva pigiata direttamente nei sacchetti è posta a fermentare in **contenitori sterili**. In questa fase l'aumento di grado alcolico del mosto opera una vera selezione, non consentendo la sopravvivenza di specie non-*Saccharomyces* e di ceppi di *Saccharomyces* debolmente fermentativi.

Un campionamento del mosto nelle fasi finali della fermentazione evidenzierà quindi la presenza di soli *Saccharomyces cerevisiae* e più raramente di *S. bayanus*, appartenenti a diversi ceppi, i più performanti e più resistenti all'etanolo e quindi più competitivi. Questi sono individuati attraverso i saggi molecolari ed in particolare con l'analisi dei microsatelliti che permette di distinguere i diversi ceppi all'interno della specie *S. cerevisiae* (A). **Isolati e conservati** in coltura pura in tubi a becco di clarino (B), i diversi ceppi subiscono due successive fasi di selezione. In un primo momento essi vengono esaminati nelle loro **caratteristiche enologiche** di base: produzione di acidità volatile, vigore e potere



(B) - Ceppi di *S. cerevisiae* isolati in coltura pura in tubi a becco di clarino.

fermentativo (C), produzione di composti indesiderati come acido solfidrico, al fine di eliminare i ceppi non adatti alla vinificazione.

La fase successiva prevede una serie di test che hanno lo scopo di arrivare alla scelta di un ceppo secondo le caratteristiche volute dal cliente. Questi saggi fermentativi in scala di laboratorio o pilota varieranno a seconda dell'uva da fermentare e dalle esigenze desiderate e si concludono sempre con l'analisi sensoriale del prodotto ottenuto.

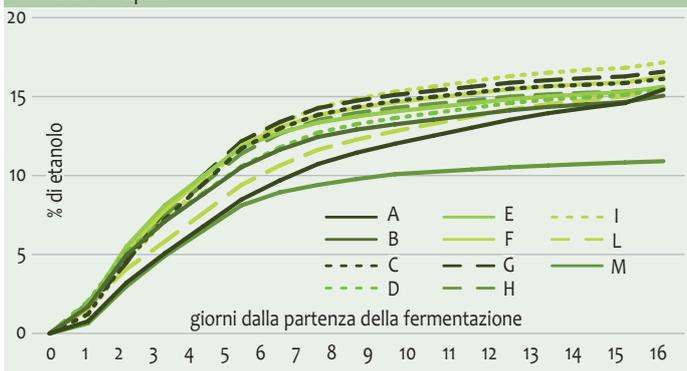
L'ultima fase prevede una **prova di tipo industriale** in scala di cantina per verificare il comportamento del lievito "sul campo", con conseguente valutazione chimico-sensoriale, prima dell'utilizzo vero e proprio nel normale processo produttivo. I ceppi migliori vengono conservati in coltura pura per lungo periodo in glicerolo a -80 °C (D) pronti per la propagazione.

La propagazione

Nel passato la propagazione del ceppo selezionato in quantità adatte ad un inoculo industriale ha rappresentato un problema superabile solamente con laboriosi processi di pre-moltiplicazione in laboratorio e preparazione del *ped de cuve* in cantina che richiedono tempo e non sono esenti da rischi di inquinamento. D'altra parte la produzione di un ceppo in forma essiccata si scontra con la scarsa attitudine alla disidratazione della maggior parte dei ceppi di *S. cerevisiae* e con un costo del processo giustificabile solo se si devono produrre grandi quantità da distribuire globalmente garantendo un ritorno economico dell'investimento.

Il nascere di numerose aziende biotecnologiche in grado di moltiplicare il lievito in forma liquida, il cosiddetto "lievito in crema", ha permesso di risolvere questo "collo di bottiglia" che impediva fino a poco tempo fa l'utilizzo dei lieviti ecotipici. Nate sotto la spinta

(C) - Prove di valutazione del vigore e del potere fermentativo di diversi ceppi di *S. cerevisiae* ecotipici.



delle esigenze del settore brassicolo, in particolare in seguito alla straordinaria diffusione dei microbirrifici, dove si usano da sempre i lieviti in forma liquida, queste aziende sono in grado di produrre anche piccole quantità adatte al fabbisogno di una singola azienda.



(D) - Conservazione per lungo periodo a -80°C.

In conclusione i ceppi di lievito selezionato ecotipici possono rappresentare un valore aggiunto per un'enologia altamente evoluta come quella italiana che dovrebbe avere, come strategia di lungo termine, il legame sempre più stretto tra i propri prodotti ed il loro territorio di origine. I produttori possono trarre vantaggio sia in termini di qualità che di personalizzazione del vino soprattutto per quelle aziende che avendo raggiunto uno standard qualitativo elevato hanno la necessità di distinguersi ulteriormente.

Anche l'impatto dal punto di vista del **marketing** è da sottolineare, testimoniando al consumatore la volontà di proporre prodotti frutto di un progetto di vinificazione improntato su un'idea di "tipicità integrale", che comprende cioè, oltre al binomio vitigno-terreno, anche l'aspetto microbiologico legato al lievito utilizzato.

Enrico Vaudano, Laura Pulcini,
Antonella Costantini, Emalia Garcia-Moruno
CREA-Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia, Asti
enicotommaso.vaudano@crea.gov.it