



Risultato del lavoro di selezione di un nuovo ceppo di lievito

Iolanda Rosi¹ e Mario Polsinelli²

¹Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sezione di Tecnologie Alimentari, Via Donizetti, 6 – 50144 Firenze,

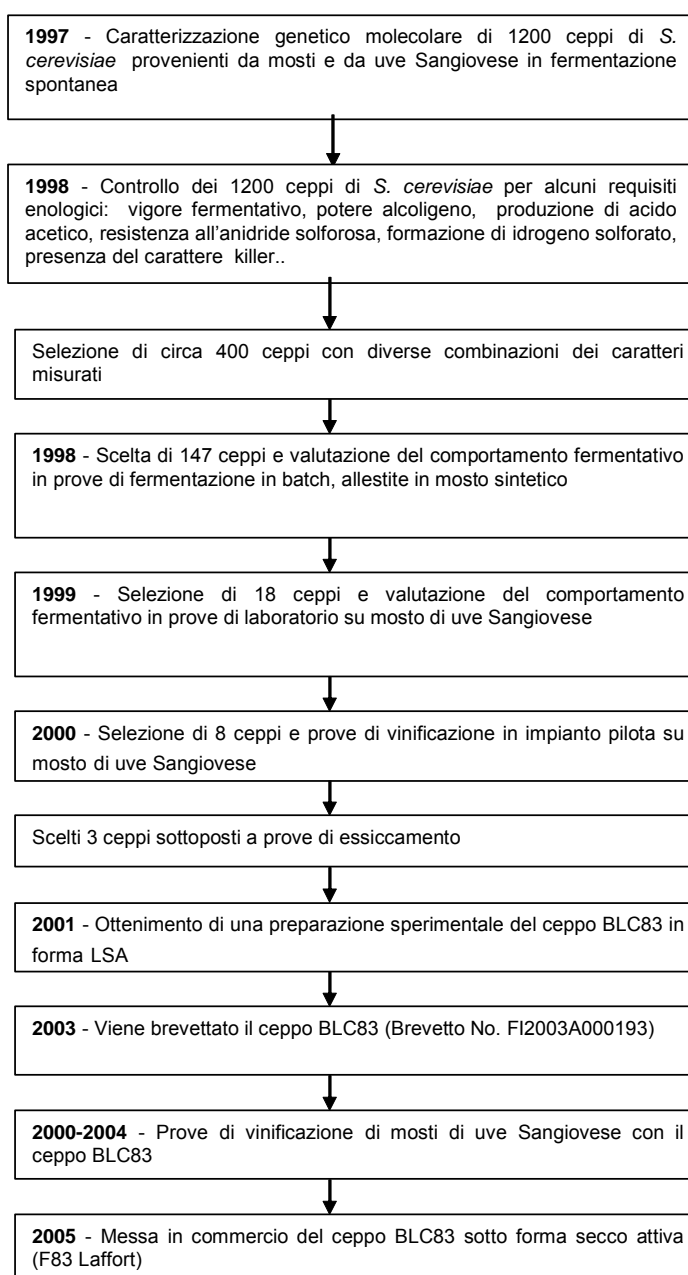
²Dipartimento di Biologia Animale e Genetica “Leo Pardi”, Via Romana, 17/19, 50125 Firenze

L'accumularsi negli ultimi anni di molti dati che indicano che le proprietà dei lieviti, impiegati nel processo di vinificazione, giocano un ruolo importante nel determinare la qualità del vino, ha richiamato l'interesse verso la ricerca mirata alla selezione di ceppi che possano, in qualche modo, contribuire a meglio definire l'identità di un prodotto derivante da una particolare area.

Per selezionare nuovi ceppi di lieviti possono essere seguiti due approcci: si può intervenire su ceppi già disponibili, utilizzando i metodi della genetica tradizionale (mutazione, incrocio) o i metodi dell'ingegneria genetica (questi ultimi solo a livello di ricerca di laboratorio), oppure si può ricorrere alla selezione di ceppi di lievito da popolazioni naturali, attraverso lo studio della loro biodiversità. E' noto da alcuni anni che in queste popolazioni è presente una notevole variabilità, che può essere sfruttata per la selezione di nuovi ceppi con caratteristiche di interesse enologico. Seguendo questo approccio è stato affrontato uno studio avente come obiettivo la selezione di ceppi di lievito presenti in aree del Chianti di particolare interesse viticolo-enologico, ai fini del miglioramento della qualità del vino. Tale progetto della durata di 5 anni (1997-2001) ha visto come soggetti coinvolti la provincia di Firenze, i comuni di San Casciano Val di Pesa, Greve in Chianti, Tavarnelle Val di Pesa, Barberino Val d'Elsa, l'Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione nel Settore Agricolo-Forestale (ARSIA), 17 aziende vinicole dell'area del Chianti e l'Università di Firenze. La ricerca è stata svolta presso i Dipartimenti di Biotecnologie Agrarie (responsabile scientifico prof. Iolanda Rosi) e di Biologia Animale e Genetica (responsabile scientifico prof. Mario Polsinelli).

L'articolazione dello studio, che ha portato alla selezione del ceppo BLC83, appartenente alla specie *Saccharomyces cerevisiae* può essere riassunta nella Figura 1.

Figura 1. Fasi dello studio di selezione



Caratterizzazione fisiologica, molecolare ed enologica del ceppo

A) Caratteristiche fisiologiche del ceppo BLC 83

Sporifica su agar acetato, con aschi persistenti, contenenti da una a quattro spore di forma rotonda. La percentuale di cellule sporificanti è approssimativamente del 60%.

Fermenta ed assimila i seguenti zuccheri:

Galattosio, Saccarosio, Maltosio, Raffinosio

Non fermenta, né assimila il melibiosio

Non cresce su L-lisina come unica fonte di azoto

Produce il fattore killer

Non cresce in presenza di 50 mg/l di

cicloesimide (Sigma)

Cresce in presenza di 75 mg/l di rame

B) Caratteristiche molecolari

Le caratteristiche molecolari del ceppo sono state studiate mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE), analisi del DNA polimorfico amplificato casualmente (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) mediante reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR), analisi di frammenti di DNA amplificati per PCR effettuata con una coppia di primer specifici, che hanno come bersaglio una regione polimorfica di *S. cerevisiae*.

L'insieme dei dati ricavati dalla caratterizzazione fisiologico-molecolare si è rivelato distintivo di un nuovo ceppo di *S. cerevisiae* (Rosi I., Polsinelli M. 2003. Ceppo di lievito da vino autoctono *Saccharomyces cerevisiae* BLC 83. Brevetto No. FI2003A000193).

C) Caratteristiche enologiche

Fenotipo killer	positivo
Tempo di latenza	breve
Cinetica fermentativa	rapida e regolare
Rendimento zucchero/etanolo	16,8-17,8 g/l per 1%vol
Potere alcoligeno	14%
Produzione di ac. volatile (g/l ac. acetico)	0,3-0,4 (bassa)
Produzione di acetaldeide (mg/l)	21-34 (bassa)
Produzione di glicerolo (g/l)	7-9 (buona)
Produzione di polisaccaridi parietali (mg/l)	84-200 (buona)
Azione sulla fermentazione malolattica	non inibente
Caratteristiche sensoriali dei vini	esalta l'aroma varietale e di fermentazione

Risultati di prove di vinificazione

Di seguito vengono riportati i risultati di tre anni di vinificazioni di uve Sangiovese condotte con il ceppo BLC83.

Il ceppo BLC 83 è stato impiegato, in vendemmie successive, in prove di vinificazione presso la cantina sperimentale del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, utilizzando uve Sangiovese, provenienti dall'Azienda Agraria di Montepaldi della Facoltà di Agraria seguendo lo schema tecnologico di seguito illustrato. Per confronto è stato inserito un ceppo selezionato di *Saccharomyces cerevisiae* del commercio, normalmente utilizzato nella vinificazione di vini rossi.

La caratterizzazione dei mosti di partenza è riportata in Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche del mosto di uve Sangiovese delle diverse vendemmie

Parametri misurati	VENDEMMIA		
	2000	2003	2004
Zuccheri (g/l)	235	250	250
Acidità totale (g/l acido tartarico)	5,5	5,5	7,5
pH	3,3	3,5	3,1
Acido L-malico (g/l)	1,8	1,2	1,4
APA (mg/l)	100	108	86
SO ₂ totale (mg/l)	50	50	50

A fine fermentazione alcolica per ogni anno di vinificazione, è stato possibile misurare le caratteristiche fermentative del ceppo BLC83 in riferimento al ceppo commerciale e i risultati sono riportati in Tabella 2.

Tabella 2. Caratteristiche fermentative del ceppo BLC83 e del ceppo commerciale di riferimento

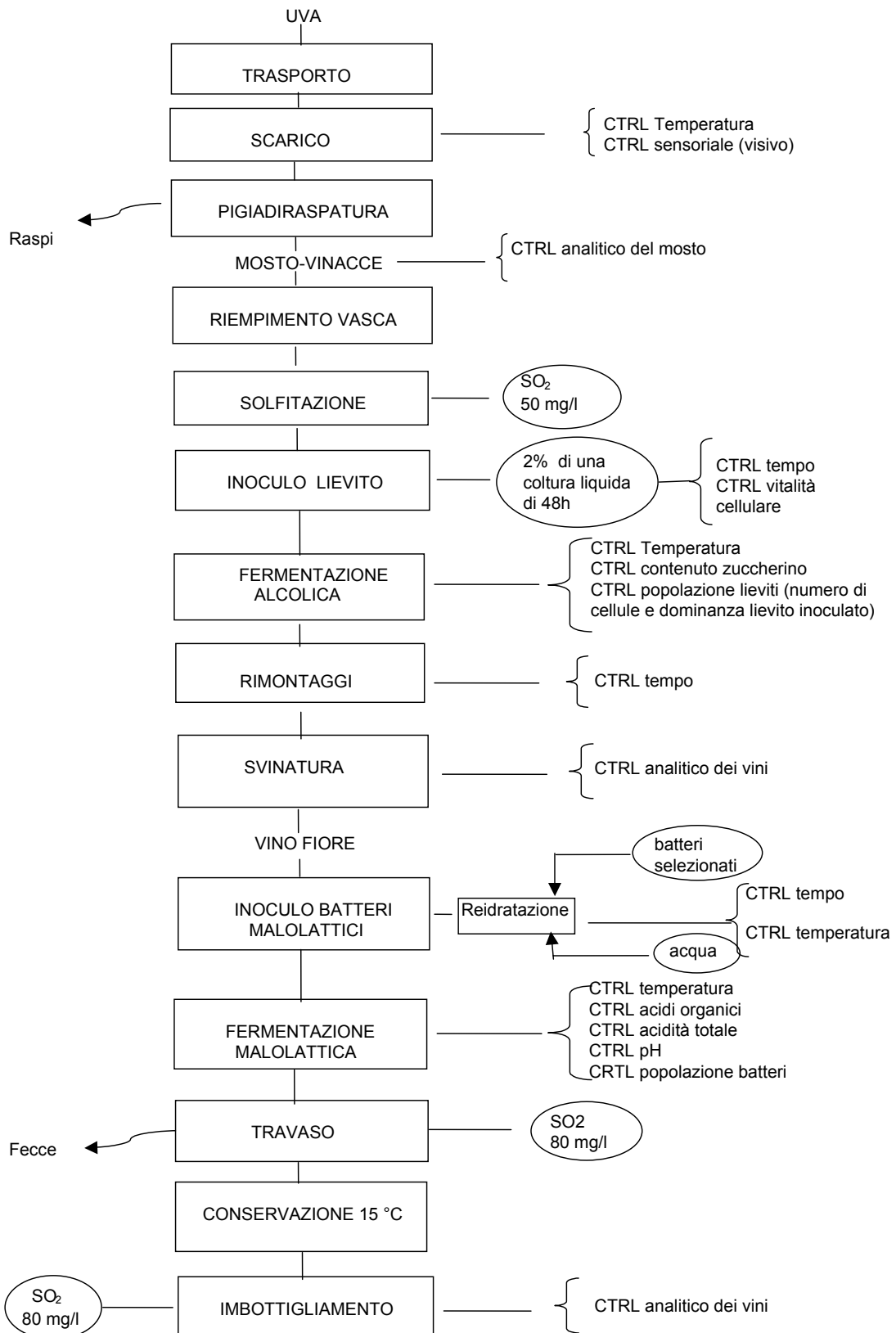
Parametri misurati	CEPPO					
	BLC83			Commerciale		
	2000	2003	2004	2000	2003	2004
Vigore fermentativo (% zucc. fermentati dopo 2 gg)	9,1	9,5	9,6	8,9	9	8,9
Durata FA (giorni) a 28°C	10	7	8	10	11	11
Rendimento alcolico (g di zucc. per 1 %vol)	16,8	17,8	17,8	16,8	16,8	17,3
Dominanza inizio, metà e fine FA	si	si	si	si	si	si

Il ceppo BLC83 inizia prontamente la fermentazione (elevato vigore fermentativo) e la conclude rapidamente, inoltre è in grado di dominare l'ambiente come messo in evidenza dalla caratterizzazione genetica e molecolare dei ceppi isolati all'inizio, a metà e a fine fermentazione alcolica. Rispetto al ceppo commerciale di riferimento presenta un rendimento alcolico più basso.

Le caratteristiche analitiche dei vini a fine fermentazione alcolica sono riportate nella Tabella 3.

Dall'osservazione dei dati si evince che il ceppo BLC83 ha un comportamento piuttosto costante nel corso delle diverse vinificazioni di uve Sangiovese provenienti da una stessa zona.

SCHEMA DI VINIFICAZIONE DI UVE SANGIOVESE E CONTROLLI DI PROCESSO



In particolare, il contenuto di glicerolo è stato sempre elevato, mentre il contenuto di alcol

superiori, acetaldeide ed etil acetato è risultato entro livelli considerati ottimali per la qualità di un vino rosso. L'acidità volatile, l'alcol prodotto, il contenuto zuccherino residuo mostrano l'elevata attitudine dei ceppi a condurre fermentazioni regolari anche in presenza di

concentrazioni zuccherine elevate. Per quanto riguarda il consumo di azoto prontamente assimilabile, questo ceppo di lievito ha mostrato di essere poco esigente nei riguardi di questo nutriente, lasciando nel vino un quantitativo di azoto α -aminico sempre superiore rispetto al ceppo di riferimento. Forse per questo motivo la fermentazione malolattica, realizzata attraverso l'inoculo di una coltura selezionata di *Oenococcus oeni* è avvenuta in maniera veloce e completa in tutti i vini ottenuti con il ceppo BLC83. Al contrario, nei vini ottenuti con il ceppo commerciale, la fermentazione malolattica è avvenuta soltanto nei vini della vendemmia 2001.

I vini della vendemmia 2000 dopo tre mesi dall'imbottigliamento sono stati degustati da una giuria di professionisti (Commissione di assaggio del Chianti Classico) che hanno attribuito un punteggio di qualità globale del vino (colore, caratteristiche olfattive e gustative) utilizzando una scala di valutazione da 1 a 100. Il vino ottenuto con il ceppo BLC83 ha ottenuto un punteggio più elevato per l'intensità dell'odore, per l'armonicità e persistenza del gusto ed è risultato più strutturato rispetto al vino ottenuto con il ceppo commerciale di riferimento.

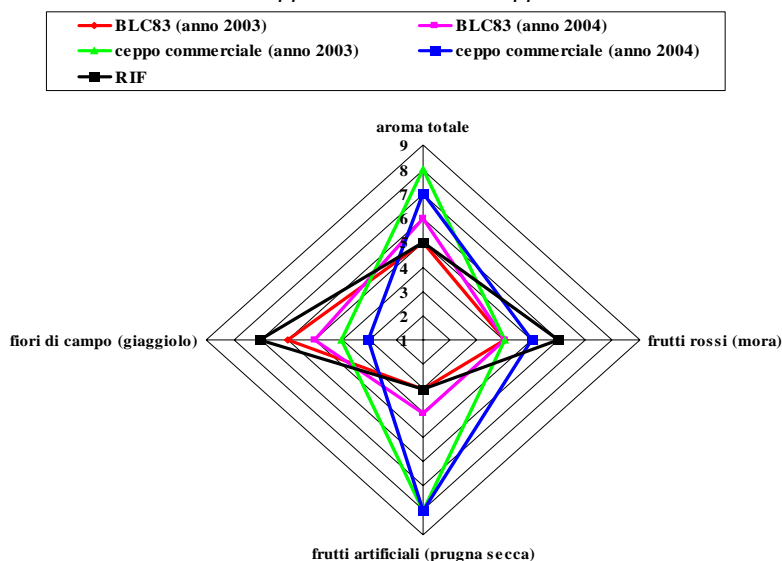
I vini delle vendemmie 2003-2004 sono stati sottoposti ad analisi sensoriale descrittiva condotta da un panel addestrato di giudici del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie che ha valutato i vini facendo uso di un profilo sensoriale di riferimento costruito nel corso degli anni per il vino Sangiovese prodotto nella zona del Chianti. I caratteri peculiari del vino sono stati definiti come odore di fiori di campo (giaggiolo), di frutti lavorati (prugna secca) e di frutti rossi (mora).

Il profilo ottenuto per questi caratteri è riportato nella figura 1, qui a fianco.

Tabella 3. Caratteristiche analitiche dei vini a fine fermentazione alcolica

Parametri misurati	CEPPO					
	BLC83			Commerciale		
	anno 2000	anno 2003	anno 2004	anno 2000	anno 2003	anno 2004
Zucchero residuo (g/l)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Etanolo	13,9	14,0	13,8	13,9	15,2	14,4
Ac. vol. (g/l ac. acetico)	0,31	0,40	0,50	0,31	0,57	0,53
Ac. totale (g/l ac. tart.)	6,45	6,90	7,75	7,05	7,15	8,00
pH	3,47	3,50	3,14	3,46	3,50	3,20
APA mg/l	70	96	60	50	55	39
Acido L-malico (g/l)	1,54	1,20	1,40	1,50	1,24	1,36
Glicerolo (g/l)	7,8	8,9	8,6	7,6	8,5	8,4
Acetaldeide (mg/l)	21	30	32	34	30	28
Etilacetato (mg/l)	58	43	46	64	58	50
Propanolo (mg/l)	26	32	30	29	35	35
Isobutanolo (mg/l)	52	64	69	78	80	82
2-Metil-1-butanolo (mg/l)	66	74	72	66	62	70
3-Metil-1-butanolo (mg/l)	269	282	279	270	299	300
I.C. (DO 420+520+620)	0,99	0,90	0,97	0,93	0,90	0,92
Tonalità (DO 420/520)	0,68	0,56	0,59	0,73	0,62	0,65

Figura 1. Profilo sensoriale di riferimento del vino Sangiovese e dei vini ottenuti con il ceppo BLC83 e con il ceppo commerciale



In conclusione, dai risultati esposti emerge che il ceppo di lievito scaturito da questo studio di selezione, accanto alla presenza di buone caratteristiche fermentative presenta anche la capacità di esaltare la qualità e mantenere la tipicità di uve Sangiovese della zona del Chianti. Infine, il ceppo **BLC83 – F83** ha mostrato di sopportare il trattamento tecnologico di essiccamento, mantenendo un'elevata vitalità cellulare e attività fermentativa. Questa caratteristica, non ampiamente diffusa tra i lieviti con buoni caratteri enologici, riveste notevole importanza, data la facilità d'uso in cantina di lieviti selezionati sotto la forma secco-attiva.