



BENANTI: SELEZIONE DI LIEVITI AD USO ENOLOGICO NEL TERRITORIO DELLA DOC ETNA

Nell'industria enologica moderna l'impiego di colture microbiche starter, principalmente lieviti selezionati allestiti in forma secca attiva, è ormai considerato una pratica consolidata che se, da un lato, garantisce una fermentazione sicura rispettando i programmi produttivi aziendali, dall'altro contribuisce ad un certo "appiattimento" del prodotto finale, limitando, pur con materie prime eccellenti, l'espressione della tipicità territoriale del vino.

Il vino, infatti, esprime il territorio in cui è prodotto ed i suoi caratteri sono sempre il frutto di una sinergia tra l'influenza della natura e quella dell'uomo. La massima espressione della tipicità si riscontra in quei vini in cui sono evidenti l'impronta del vitigno impiegato e le influenze dei fattori legati al territorio di origine (es. terreno, clima, ecc...). In termini compositivi, i caratteri di tipicità sono spiegati dalla componente aromatica e da quella polifenolica, a loro volta modulate dall'andamento climatico dell'annata, dal processo di vinificazione e dal tipo di affinamento.

Nello specifico delle produzioni enologiche il collegamento con il territorio può essere dettato da diversi fattori che comprendono il suolo, il vitigno, l'ambiente e le tecnologie di trasformazione; queste ultime si esprimono attraverso l'intervento di una microflora autoctona. I lieviti sono i principali protagonisti dell'evoluzione del mosto in vino; il loro utilizzo non ha per effetto soltanto una trasformazione degli zuccheri in alcol, ma la formazione di una serie di prodotti secondari che donano al vino la complessità olfattiva apprezzabile nel corso della degustazione.

Il presente lavoro nasce dall'esigenza di valorizzare la realtà enologica della zona DOC Etna che ha una produzione vinicola vocata e capace di esaltare le potenzialità dei suoi prodotti ricercando nel forte legame tra vitigno, territorio e clima, il prestigio dei propri vini. La sperimentazione che qui viene illustrata è stata condotta dall'azienda vinicola Benanti



BENANTI

in collaborazione con l'Istituto Regionale della Vite e del Vino ed ha avuto lo scopo di isolare, studiare e caratterizzare ceppi di lieviti, frutto di una selezione naturale e di un progressivo adattamento al clima ed alle condizioni del mezzo che hanno creato delle nicchie ecologiche peculiari.

E' soltanto attraverso l'unicità del luogo d'origine e di produzione che certe connotazioni possono e devono essere mantenute per non incorrere in quella standardizzazione di prodotto, in quella internazionalizzazione che non lascerebbe spazio a nessun riconoscimento di tipicità (e di unicità).

Selezione dei ceppi

Identificazione degli isolati

Nel corso della vendemmia 2005 sono stati prelevati campioni di mosto a fine fermentazione alcolica direttamente dalle vasche di fermentazione presenti all'interno di vecchi palmenti di piccole realtà contadine dislocati nel territorio dei versanti Nord ed Est dell'Etna, in cui non sono mai stati introdotti preparati commerciali (fig 1).

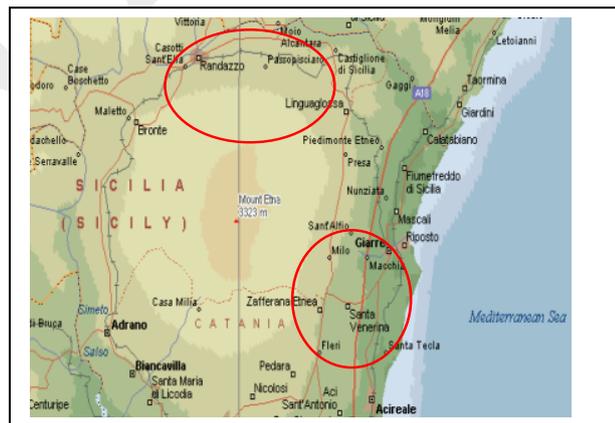


Fig. 1 areale di origine e antico palmento

Mediante tecniche classiche di isolamento su substrati selettivi (Cavazza e Poznanski 1998; Kurtzam & Fell, 1998) è stata creata una collezione iniziale di 400 individui (fig. 2).



BENANTI

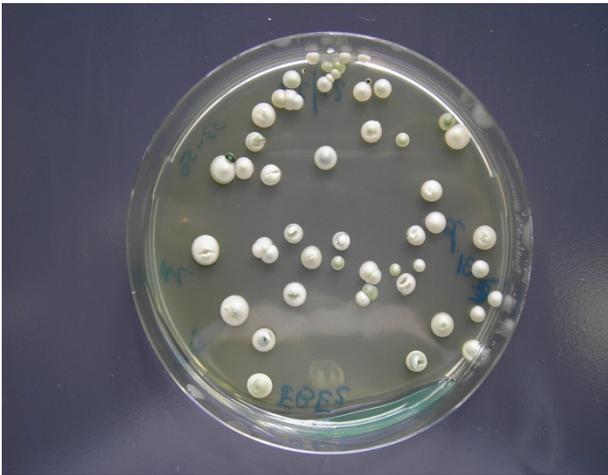


Fig. 2 colonie di lievito isolate dai mosti a fine fermentazione alcolica su WL

Sui ceppi isolati sono stati condotti i test classici d'identificazione mediante crescita su terreni specifici (WL e YEPD). L'appartenenza al genere *Saccharomyces* è stata confermata dall'incapacità di crescere, dopo 5 giorni a 28°C, su terreno Agar-Lisina, Oxoid (fig. 3).

Successivamente è stata determinata la specie di appartenenza coltivando i campioni su terreno Vitamin Free Yeast Base (Fig 4).

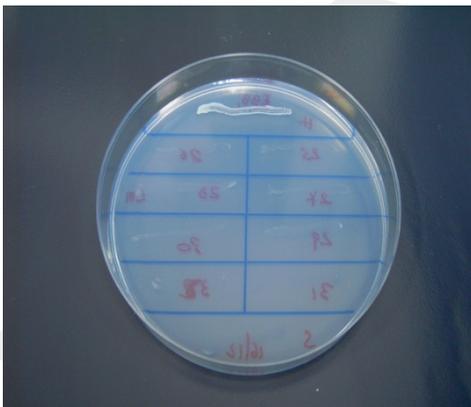


Fig 3 piastra con terreno Agar-Lisina

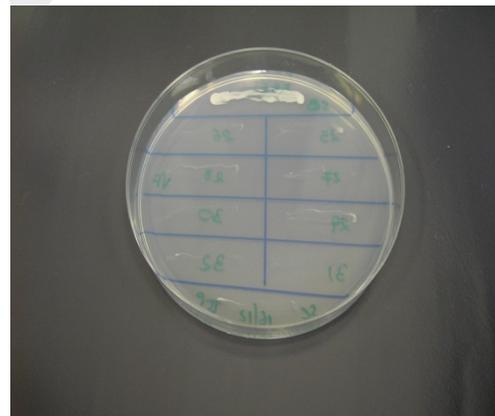


Fig 4 piastra con terreno Vitamin Free

Tutti i campioni di *Saccharomyces* individuati sono stati sottoposti ad analisi del polimorfismo del DNA mitocondriale (RFLP), Fig 5, ottenendo alla fine una collezione di 160 differenti ceppi (Tab. 1)



BENANTI

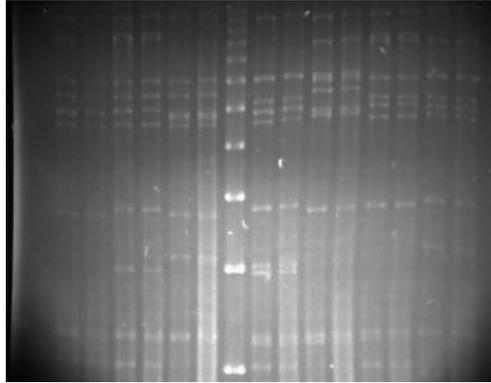


Fig. 5 gel di agarosio per la separazione del DNA mitocondriale

palmento	LOCALITA' D'ORIGINE	N° Ceppi <i>S. cerevisiae</i> isolati
B	MONTELAGUARDIA	31
C	ROVITTELLO	45
E	MILO	53
F	SANTA VENERINA	31

Tab 1 Collezione *S. cerevisiae* per palmento

Caratterizzazione fisiologica e tecnologica dei lieviti isolati.

I ceppi ottenuti dalla prima parte del lavoro sono stati sottoposti a una seconda fase di studio riguardante la determinazione delle caratteristiche tecnologiche mediante la definizione di una serie di parametri, quali:

- elevata capacità fermentativa e basso tenore di zuccheri residui
- tolleranza ed alta produzione di etanolo
- resistenza alla SO₂ e bassa produzione della stessa
- bassa produzione di H₂S
- bassa produzione di acidità volatile
- scarsa formazione di schiuma
- sviluppo a basse o elevate temperature

Sebbene tali parametri rispondano ai requisiti fondamentali per l'ottenimento di un lievito enologico, la recente richiesta di innovazione del settore enologico e di diversificazione dei vini ha stimolato un approfondimento della caratterizzazione dei lieviti, mettendo in luce potenzialità inaspettate che, se ben finalizzate, possono essere utili ad un rinnovamento dei processi di fermentazione ed all'ottenimento di vini con caratteristiche di naturalità e



BENANTI

salubrità inattese. Ad esempio, sono stati approfonditi i seguenti caratteri:
buona produzione di glicerina

- bassa produzione di acetaldeide
- presenza di specifici enzimi quali β -glucosidasi

A conclusione di questa fase sono stati individuati 13 ceppi potenzialmente utilizzabili con caratteristiche tecnologiche pari o superiori a quelli commerciali utilizzati in azienda. Tutti i ceppi, nel corso della vendemmia 2007, sono stati sottoposti a microvinificazioni sperimentali di 100 litri utilizzando mosto ottenuto da uve di Nerello Mascalese e Carricante.

Vinificazione in bianco

Il mosto ottenuto da una pressatura soffice è stato raffreddato a 5°C. Dopo 24 ore si è proceduto alla sfeccatura. Il mosto illimpidito, una volta omogeneizzato e riscaldato a 18°C, è stato suddiviso in serbatoi in acciaio della capacità di circa 100 litri. Si è proceduto all'innesto sia dei lieviti sperimentali che dei lieviti commerciali nella misura del 5%.

La fermentazione è avvenuta a temperatura controllata di 18°C con una banda di oscillazione di due gradi. I lieviti commerciali utilizzati per le verifiche sono quelli che abitualmente venivano adoperati presso la cantina dell'azienda Benanti per le loro buone caratteristiche tecnologiche e qualitative. I controlli microbiologici effettuati sui campioni prelevati dai mosti inoculati con i lieviti, sia a metà che a fine fermentazione, hanno sempre evidenziato che il processo è stato condotto interamente dai ceppi inoculati senza inquinamenti.

Terminata la fermentazione alcolica e malolattica, i vini sono stati travasati con l'eliminazione della feccia, solfitati, filtrati e infine imbottigliati. Successivamente, si sono eseguite sia le analisi di laboratorio che le analisi sensoriali, a distanza di tre mesi, sei mesi e un anno.



Vinificazione in rosso

Le uve della varietà Nerello Mascalese sono state raccolte a mano e trasportate in cantina in cassette da 18 kg. In seguito le uve sono state sottoposte a una diraspa-pigiatura per eliminare i raspi e la massa ottenuta è stata suddivisa in contenitori di circa 100 litri.

L'inoculo è avvenuto mediante innesto dei lieviti selezionati e di quelli commerciali nella misura del 5%. La macerazione delle bucce è stata realizzata a 28°C per 11 giorni, con tre follature al giorno e controllando quotidianamente l'andamento della fermentazione con mostimetro babo. I controlli microbiologici effettuati sui campioni prelevati dai mosti inoculati con i lieviti, sia a metà che a fine fermentazione, hanno sempre evidenziato che il processo è stato condotto interamente dai ceppi inoculati senza inquinamenti.

Al termine della macerazione le masse fermentanti sono state svinate e le vinacce pressate. Il mosto è stato travasato in contenitori d'acciaio dove è stata portata a termine la fermentazione alcolica e malolattica. Il prodotto finale è stato sottoposto ad analisi di laboratorio, solfitato filtrato e imbottigliato. A distanza di tre mesi, sei mesi e un anno sono state eseguite sia le analisi di laboratorio che le analisi sensoriali.

La cinetica di fermentazione nel mosto inoculato con i ceppi selezionati è stata inizialmente rapida per poi rallentare verso fine fermentazione; nel mosto inoculato con il ceppo commerciale è stata rapida e regolare; per entrambi, assente è stata la produzione di schiuma.

Le valutazioni effettuate a fine fermentazione hanno messo in evidenza caratteristiche olfattive molto positive. Le analisi dei vini ottenuti hanno evidenziato buone caratteristiche dei lieviti utilizzati con bassa produzione di acetaldeide. Le successive analisi sensoriali hanno evidenziato le buone caratteristiche dei lieviti impiegati. La valutazione dei caratteri organolettici ha consentito di focalizzare l'attenzione su 4 dei 13 ceppi selezionati che hanno dimostrato di esaltare maggiormente l'intensità, la gradevolezza, la persistenza e soprattutto per la finezza del prodotto finale rispetto ai ceppi commerciali.



BENANTI

Brevetti

Nel corso delle vendemmia 2008 i 4 ceppi scelti sono stati utilizzati per inoculare masse sperimentali di 25 HL. Le pratiche enologiche utilizzate sono state le medesime di quelle utilizzate per la vendemmia 2007, la cinetica di fermentazione è stata per tutti rapida e regolare senza produzione di schiuma. Le analisi chimiche e sensoriali hanno confermato il giudizio positivo delle microvinificazioni. In particolare il Carricante ottenuto con i lieviti selezionati ha dato maggior evidenza ad un colore giallo paglierino, brillante, elegante e con un buon corredo olfattivo. Presente una nota floreale di ginestra, di pesca gialla, di salvia, timo e pietra focaia. Al palato sapore sapido, caldo, importante e perfettamente bilanciato da una traccia di acidità luminosa e persistente. (fig 6)



BENANTI

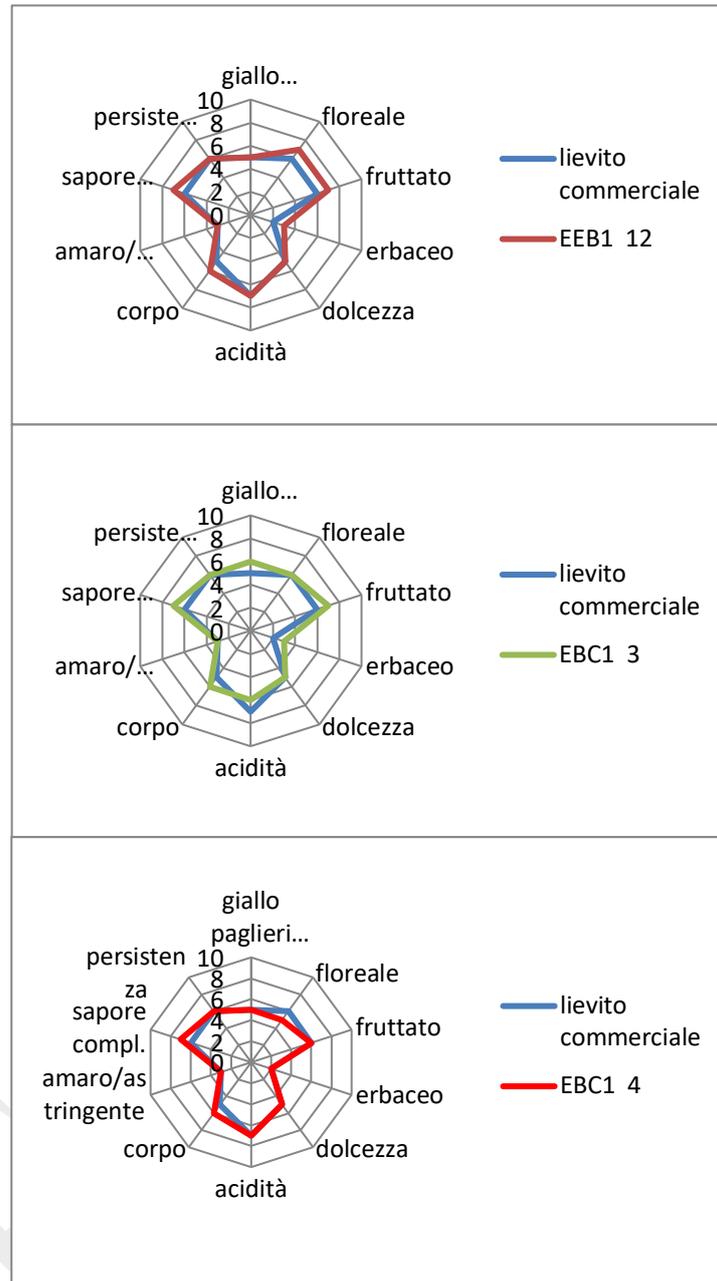


Fig. 6 Profilo aromatico vinificazione 25 HI Carricante 2008

Anche nei rossi i risultati sono stati riconfermati, in particolare il Nerello Mascalese ha evidenziato un colore rosso rubino, elegante all'olfatto, intenso ed etereo con sfumature di frutta rossa, sottobosco, speziato al palato e ben strutturato, di notevole persistenza con un tannino maturo ed elegante (fig 7).



BENANTI

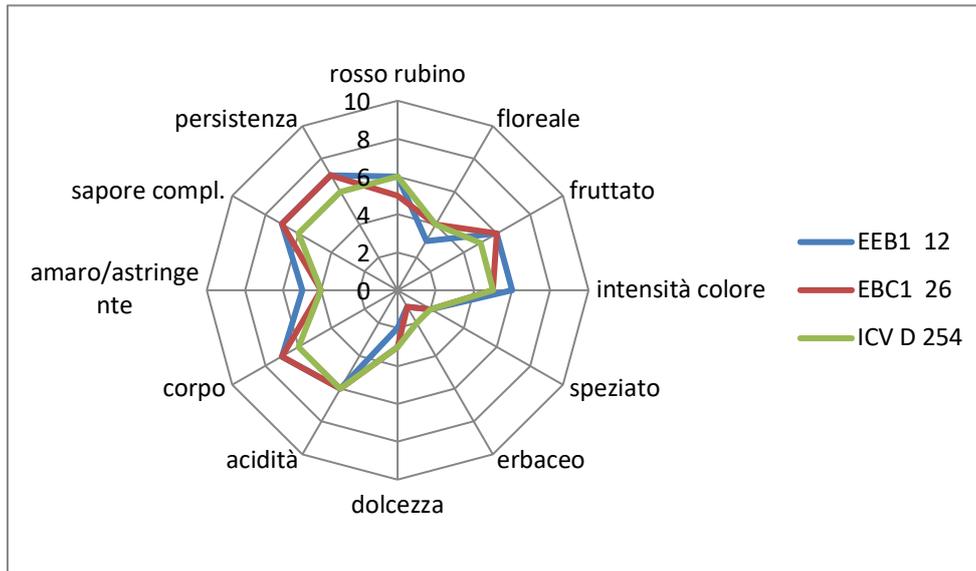


Fig. 7 Profilo aromatico vinificazioni 2008 Nerello Mascalese da 25 HL

Nel nerello Cappuccio il colore rosso rubino carico presentava sfumature di viola, all'olfatto spiccava la frutta rossa matura, ben chiare le note dolci, poco strutturato al palato, buona persistenza al gusto e poco tannico (fig 8)

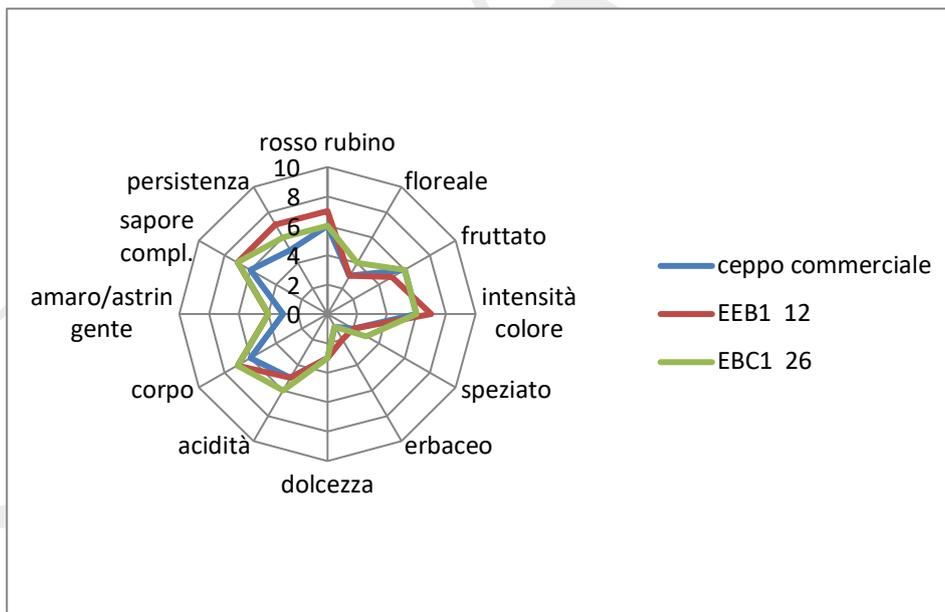


Fig 8 Profilo aromatico vinificazioni 2008 Nerello Cappuccio da 25 HL



BENANTI

Per i ceppi che hanno dato i migliori risultati è stato chiesto e ottenuto il brevetto.

Ceppo	EBB₁ 12	EBC₁ 3	EBC₁ 4	EBC₁ 26
CARATTERISTICHE DI RAZZA				
Fermentazione del saccarosio	+	+	+	+
Fermentazione del maltosio	+	+	+	+
Assimilazione del galattosio	+		+	-
Assimilazione del trealosio	-	-	+	-
Assimilazione del raffiniosio	+	+	+	-
Assimilazione dell'amido	-	-	-	-
CARATTERISTICHE DI SPECIE				
Colore	Crema verde	Crema verde	Crema verde	Crema verde
Elevatura	Umbonata	Umbonata	Umbonata	Umbonata
Superficie	Liscia opaca	Liscia opaca	Liscia opaca	Liscia opaca
Consistenza	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa
Sviluppo	Polverulento	Polverulento	Flocculento	Polverulento
Sviluppo su lisina	Assente	Assente	Assente	Assente
Sviluppo su vitamin free	Assente	Assente	Assente	Assente
Fermentazione del glucosio	+	+	+	+
Assimilazione del cellobiosio	-	-	-	-
Assimilazione del citrato	-	-	-	-
Assimilazione del nitrato	-	-	-	-
Crescita a 30 °C	+	+	+	+
Crescita in cicloheximide 0.01%	-	-	-	-
CARATTERISTICHE ENOLOGICHE				
Fattore killer	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Rendimento alcolico	16-18 % V/V	16-18 % V/V	13-15 % V/V	16-18 % V/V
Produzione acidità volatile	Bassa	Bassa	Bassa	Bassa
Velocità di fermentazione	Rapida e regolare	Rapida e regolare	Rapida e regolare	Rapida e regolare
Resistenza alla solforosa	Buona	Alta	elevata	Alta
Range di temperatura	12-38 °C	14-35 °C	13-32 °C	14-35 °C



BENANTI

Capacità di sedimentazione	Alta	Elevata	Alta	Alta
Potere schiumogeno	Basso	Basso	Basso	Basso
Produzione acido tartarico	Bassa	Bassa	Bassa	Bassa
Produzione SO ₂	Bassa	Bassa	Bassa	Bassa

Tab 2 Caratteri lieviti brevettati

Conclusioni

Diversi lavori hanno dimostrato che l'uso dei lieviti commerciali nel vino riduce la produzione di alcuni componenti metabolici, come gli alcoli superiori, l'isoamilacetato e l'etilacetato, che si ritrovano, invece, in adeguata quantità nei vini fermentati spontaneamente dal microbiota. Il concetto di "perfezione" fermentativa è mutato nel tempo ed è maturato notevolmente un concetto di equilibrio tra razionalità del processo e necessità di massima espressione dei fattori naturali del processo di fermentazione.

Il lievito influisce sulla tipicità del vino sia attraverso il suo metabolismo, sia attraverso la cessione di componenti cellulari derivati dalla lisi, che ne modificano la struttura. Per quanto riguarda i composti volatili, è il diverso utilizzo dei composti del carbonio, dell'azoto e dello zolfo da parte dei diversi ceppi di lievito a generare le differenze. Quindi la scelta del lievito starter in funzione di particolari caratteristiche metaboliche può diventare strategica.

L'inoculo dei mosti con i lieviti selezionati è una delle pratiche consolidate per "controllare" le caratteristiche compositive dei vini, eliminando il fattore casualità delle fermentazioni spontanee. Ai lieviti attualmente in commercio si riconosce la capacità di condurre al meglio il processo fermentativo, ma non quella di valorizzare completamente le caratteristiche varietali in quanto, spesso, tali ceppi sono isolati da ecosistemi differenti da quello in cui devono operare.

Come è noto la disponibilità, la concentrazione, i rapporti tra i diversi composti presenti nei mosti, legati alle caratteristiche del macro e del micro-ambiente, assumono grande importanza nel processo fermentativo: possono svolgere una funzione stimolante/inibente sui lieviti e/o possono essere metabolizzati con formazione di particolari prodotti. I lieviti



BENANTI

autoctoni si sono adattati ad operare in un mosto le cui caratteristiche sono determinate dalla varietà delle uve e dal terroir e, pertanto, sono in grado di esaltare le peculiarità di un vino di nicchia.

BENANTI