## I lieviti sono artefici della naturalità del vino?

Giovanna Suzzi e Rosanna Tofalo

Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Teramo, Via C.R. Lerici 1, Mosciano S.Angelo (TE) gsuzzi@unite.it

Quando si parla di naturalità di un vino, si intende, nella maggior parte dei casi, un prodotto ottenuto da vitigni e da processi che rispettano l'ecologia ambientale, la tipicità connessa al territorio, la salubrità del consumatore e le elevate caratteristiche qualitative. Tutti questi parametri hanno la stessa importanza e pertanto l'uso di metodi interdisciplinari è imperativo per l'ottenimento realistico dell'obiettivo "vino naturale". Per quanto riguarda la trasformazione del mosto in vino, la presenza di lieviti "trasformatori" è influenzata dal microbiota dei vigneti, dei mosti e delle cantine ma anche da i parametri ambientali, chimico-fisici e tecnologici.

I lieviti nelle condizioni selettive della fermentazione dei mosti d'uva competono efficientemente con altri microorganismi naturalmente presenti, come muffe, batteri lattici ed acetici. Generalmente, si osserva una successione di diverse specie di lievito: nei primi giorni della fermentazione dominano i lieviti apiculati Hanseniaspora uvarum (Kloeckera apiculata) ed altri generi come Metschnikowia, Candida o Pichia. All'aumentare della concentrazione di etanolo, queste specie rapidamente sono sopravanzate da ceppi di Saccharomyces cerevisiae, il "lievito da vino", che domina sempre gli ultimi stadi del processo (Fleet e Heard, 1993). Attualmente, la maggior parte del vino è prodotto utilizzando lieviti secchi attivi selezionati per alcune caratteristiche enologiche convenzionali come la rapidità di fermentazione (Torija et al., 2003), la capacità di produrre molto etanolo (Bauer e Pretorius, 2000), la bassa produzione di acidità volatile (Giudici e Zambonelli, 1992), la produzione ottimale di composti volatili (Prior et al., 2000) ed altri (Tab.1). Queste ed altre caratteristiche enologiche hanno contribuito al miglioramento della qualità del vino ed hanno permesso ai vinificatori di aumentare il controllo dei processi fermentativi. Tuttavia, è opinione diffusa che sia preferibile impiegare ceppi selezionati locali ed autoctoni, in quanto questi lieviti sono acclimatati alle condizioni di micro-area della regione di produzione del vino e quindi, possono dominare meglio la fermentazione, assicurare le proprietà sensoriali tipiche ed il profilo caratteristico del vino di ciascuna area (Nikolaoua *et al.*, 2006).

Tabella 1. Alcune caratteristiche enologiche convenzionali

- Tolleranza ed alta produzione di etanolo
- Elevata capacità fermentativa e basso tenore di zuccheri residui
- Resistenza alla SO<sub>2</sub> e bassa produzione della stessa
- Bassa produzione di H<sub>2</sub>S
- Bassa produzione di acidità volatile
- Scarsa formazione di schiuma
- Sviluppo a basse od alte temperature
- Buona produzione di glicerolo
- Bassa produzione di acetaldeide

La richiesta del settore enologico di innovazione e di diversificazione dei vini prodotti ha stimolato un approfondimento della caratterizzazione dei lieviti enologici naturali, *Saccharomyces* e non-*Saccharomyces*, 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 salubrità inattese. Durante le ultime due decadi, sono stati svolti studi che hanno portato ad una aumentata conoscenza della genetica e della fisiologia dei lieviti da vino, che ha indotto i ricercatori a selezionare i lieviti anche per altre caratteristiche enologiche importanti non convenzionali (Tab.2).

Tabella 2. Alcuni caratteristiche enologiche non convenzionali

- Presenza di specifiche attività enzimatiche: enzimi pectinolitici (poligalatturonidasi), β-glucosidasi, proteasi, esterasi.
- Nessuna o scarsa produzione di amine biogene
- Capacità autolitiche
- Capacità di adsorbimento della parete cellulare
- > Capacità di trasformare composti aromatici neutri in attivi
- Produzione di mannoproteine

In questa ottica come può un lievito contribuire alla naturalità di un vino?

Lo può fare attraverso due aspetti fondamentali, quello metabolico e quello strutturale, ma soprattutto interagendo con altre specie e ceppi di lievito. Il metabolismo dei composti del carbonio, dell'azoto e dello zolfo da parte del lievito svolge un ruolo molto importante nella formazione del bouquet di un vino e della sua valenza aromatica. Nella produzione degli aromi dei vini "naturali" è molto importante il ruolo di alcuni enzimi (ad esempio glicosidasi e cisteina liasi), alla cui attività è strettamente legata la produzione di composti aromatici volatili e la loro liberazione. E' infatti uso comune aggiungere ai mosti durante la vinificazione enzimi esogeni sotto forma di preparazioni commerciali per risolvere problemi relativi alla chiarificazione e filtrazione dei mosti ma anche per incrementare l'aroma. Questi enzimi sono generalmente prodotti da batteri e funghi filamentosi. Pectinasi, proteasi e glicosidasi sono alcuni degli enzimi secreti dai lieviti di interesse nella vinificazione per i loro effetti tecnologici ed il contributo alla formazione dell'aroma. I terpeni, per esempio, possono essere presenti nell'uva in forma libera, ma soprattutto si trovano legati a molecole di zucchero sotto forma di complessi glucosidici inodori. L'enzima β-glucosidasi rompe il legame con le molecole di zucchero liberando molecole odorose, contribuendo così all'aroma finale del vino (Gunata et al., 1988). Gli enzimi pectinolitici scindendo le lunghe catene di pectina in segmenti più corti e più solubili, contribuiscono alla chiarificazione dei mosti e possono aumentare l'estrazione di sostanze durante la fase di contatto delle bucce con il mosto, influenzando il colore e l'aroma finale del vino. Più recentemente, è stato messo in evidenza il ruolo della parete cellulare nella vinificazione attraverso due fenomeni importanti dal punto di vista enologico: autolisi e bioadsorbimento. La parete del lievito è costituita da chitina (1-2%), β-1,3 glucano (25%) legato per il 25% alla chitina e per il 35% alle mannoproteine. Queste ultime nel vino si trovano sotto forma di polisaccaridi e proteine, che vengono liberate dalla parete del lievito per azione dell'enzima β-1,3 glucanasi. Quest'attività enzimatica è svolta dalle cellule di lievito metabolicamente attive durante la fermentazione alcolica. Inoltre, le mannoproteine possono essere scisse anche durante l'autolisi, che è un processo di degradazione enzimatica delle macromolecole intracellulari con liberazione di composti nel mezzo (Chrapentier e Feuillat, 1993). Le funzioni che le mannoproteine possono svolgere nel mosto/vino sono riportate in tabella 3 (Feulliat, 2003). Anche l'invecchiamento dei vini sulle fecce è parzialmente legato alla loro presenza. Il regolamento EEC No.337/79

definisce le fecce di vino come il residuo che si forma sul fondo dei recipienti contenenti il vino dopo la fermentazione, durante la conservazione o dopo trattamenti autorizzati, come il residuo ottenuto dalla filtrazione o centrifugazione di questo prodotto.

Tabella 3. Interesse enologico delle mannoproteine del lievito

- ✓ Favoriscono lo sviluppo dei batteri malolattici
- ✓ Contribuiscono alla stabilizzazione delle proteine e dei tartrati dei vini bianchi
- ✓ Interagiscono con i composti aromatici e fenolici dei vini rossi
- ✓ Riducono l'astringenza e l'amaro dei tannini
- ✓ Incrementano il corpo del vino
- ✓ Hanno un ruolo rilevante nella produzione di alcuni vini come lo sherry, lo spumante tradizionale e durante l'invecchiamento in botte

Tradizionalmente, solo alcuni vini bianchi e gli spumanti sono lasciati a contatto con le loro fecce, ma attualmente questa tecnica si è molto diffusa (Hernandez et al., 2006), poiché si è osservato un deciso miglioramento delle caratteristiche del prodotto. Ovviamente la composizione delle fecce è variabile, ma sono costituite soprattutto da microrganismi, in particolare lieviti, ed in proporzione più piccola da acido tartarico e materiale inorganico. Durante il periodo di contatto del vino con le fecce, si ha autolisi per auto-digestione della cellula come abbiamo descritto precedentemente e bioadsorbimento della cellula di lievito intera o del suo guscio. Alcuni studi hanno dimostrato che le fecce possono essere determinanti nell'evoluzione di composti tossici come micotossine, fenoli volatili, pesticidi ed altri. Per esempio, l'ocratossina (OTA) è una micotossina cancerogena prodotta da diversi funghi delle specie Aspergillus e Penicillium, la cui presenza nei vini è abbastanza comune (Siantar et al., 2003). E' stata recentemente dimostrata la possibilità di rimuovere naturalmente OTA dai vini impiegando le fecce: si è osservato una riduzione del 70% del contenuto di OTA dopo 7 giorni di contatto delle fecce con un vino (Garcìa-Moruno et al., 2005).

Un altro aspetto interessante è l'interazione dei pigmenti del vino con la parete del lievito (bioadsorbimento). Attualmente, la capacità del lievito di trattenere pigmenti nelle mannoproteine della parete è utilizzata per il bioadsorbimento di coloranti dall'ambiente (Forgacs *et al.*, 2004) e nella correzione del colore dei vini

bianchi (Bonilla *et al.*, 2001). Il lievito può, quindi, influenzare il colore del vino in funzione di quanto pigmento è in grado di rimuovere ma anche producendo antocianina-β-glucosidasi, acido piruvico, acetaldeide e mannoproteine (Caridi, 2007).

Di recente acquisizione è l'azione antigenotossica ed antimutagena di ceppi di *S. cerevisiae* inizialmente studiati come starter autoctoni per la fermentazione del Montepulciano d'Abruzzo (Corsetti *et al.*, 2009). A questo punto ci si dovrebbe chiedere se l'azione antiossidante di composti fenolici presenti nei mosti (resveratrolo ed altri) non sia il solo fattore che spieghi il cosiddetto "Paradosso francese". Ma è ancora tutto da approfondire, da studiare e, soprattutto, modulare nel settore enologico attraverso l'impiego multidisciplinare delle diverse competenze scientifiche.

## **Bibliografia**

Bauer F.F., Pretorius I.S. (2000). Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine a review. *South Afr J Enol Vitic* 21, 27-51.

Bonilla F., Mayen M., Merida J., Medina M. (2001). Yeast used as fining treatment to correct browning in white wines. *J Agr Food Chem* 49, 1928-1933.

Caridi A. (2007). New perspectives in safety and quality enhancement of wine through selection of yeasts based on the parietal adsorption activity. *Int J Food Microbiol* 120, 167-172.

Charpentier C., Feuillat M. (1993). Yeast autolysis. In: Wine Microbiology and Biotechnology. (Ed. Fleet G.H.), pp. 225-242. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.

Corsetti A., Caldini G., Tofalo R., Trotta F., Suzzi G., Cenci G. (2009). Antigenotoxic properties of autochthonous lactic acid bacteria and yeasts isolated from raw milk and traditional Italian ewe cheeses. International Scientific Conference on Nutraceuticals and Functional Foods. 9<sup>th</sup> -11<sup>th</sup> June 2009, Zilina, Slovakia. (p. 20).

Feulliat M. (2003). Yeast Macromolecules: origin, composition and enological interest. *Am J Enol Vitic* 54, 211-213.

Fleet G.H., Heard G.M. (1993). Yeast-growth during fermentation. In: Wine Microbiology and Biotechnology (Ed. Fleet, G.H.), pp. 27-54. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.

Forgacs E., Cserháti T., Oros G. (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environ Int* 30, 953-971.

García-Moruno E., Sanlorenzo C., Boccaccino B., Di Stefano R. (2005). Treatment with yeast to reduce the concentration of ochratoxin A in red wine. *Am J Enol Vitic* 56, 73-76.

Giudici P., Zambonelli C. (1992). Biometric and genetic study on acetic acid production for breeding of wine yeast. *Am J Enol Vitic* 43, 370-374.

Gunata Y.Z., Bitteur S., Brillouet J.M., Bayonove C.L., Cordonnier R. (1988). Sequential enzymatic hydrolysis of potentially aromatic glycosides from grapes. *Carbohyd Res* 184, 139-149.

Hernández T., Estrella I., Carlavilla D., Martín-Álvarez P. J., Moreno-Arribas M. V. (2006). Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Anal Chim Acta* 563, 116-125.

Nikolaoua E., Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Tzanetakis N. (2006). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains according to their oenological characteristics and vinification results. *Food Microbiol* 23, 205-211.

Prior B.A., Baccari C., Mortimer R.K. (2000). Selective breeding of *Saccharomyces cerevisiae* to increase glycerol levels in wine. *J Int des Sciences de la Vigne et du Vin* 33, 57-65.

Siantar D. P., Halverson C. A., Kirmiz C., Peterson G. F., Hill N. R., Dugar S. M. (2003). Ochratoxin A in wine: Survey by antibody- and polymeric-based SPE columns using HPLC/fluorescence detection. *Am J Enol Vitic* 54, 170-177.

Torija M.J., Beltran G., Novo M., Poblet M., Guillarmón J.M., Mas A., Rozès N. (2003). Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *Int J Food Microbiol* 85, 127-136.