

# STUDI SASSARESI

Sezione III

1977

Volume XXV

ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ  
DI SASSARI

DIRETTORE: O. SERVAZZI

COMITATO DI REDAZIONE: M. DATTOLO - F. FATICHENTI - L. IDDA - F. MARRAS  
A. MILELLA - P. PICCAROLO - A. PIETRACAPRINA - R. PROTA - G. RIVOIRA  
R. SATTA - C. TESTINI - G. TORRE - A. VODRET



ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI

GALLIZZI - SASSARI - 1978

St. Sass. III Agr.

## I lieviti in enologia \*

FABRIZIO FATICHENTI

### *Cenni storici*

Il primo vino venne ottenuto quasi certamente in maniera casuale diverse migliaia di anni avanti Cristo nella « Fertile Mezzaluna », l'attuale Iraq.

Le tecnologie di produzione del vino e della birra ottenuti con fermentazione naturale andarono migliorando nel corso dei secoli e ne danno testimonianza i numerosi reperti archeologici della Mesopotamia e dell'Egitto, ma fu necessario arrivare all'anno 1680 dell'Evo Moderno per poter avere documentazione scritta e disegni degli agenti di tali fermentazioni e cioè dei lieviti.

In quell'anno infatti l'olandese Antonie van Leeuwenhoek, merciaio di stoffe di professione e scienziato dilettante, spedì i risultati delle osservazioni fatte con il primitivo microscopio di sua invenzione alla Royal Society di Londra, che li rese pubblici.

Dovette passare però ancora del tempo, prima che si cominciasse ad intravedere il vero ruolo dei lieviti nelle fermentazioni poichè essi, secondo le teorie scientifiche di allora, venivano considerati alla stregua di catalizzatori chimici del processo, complessi ma non vitali. Si arrivò così, attraverso dispute fra nomi illustri — vengono subito alla mente FABRONI, CHAPTAL, CAGNARD-LA TOUR, SCHWANN, KUTZING, LIEBIG, WÖLER, BERZELIUS — a Louis Pasteur ed ai suoi « Etudes sur le Vin » del 1866 ed « Etudes sur la Bière » del 1876. In queste due opere fondamentali Pasteur scrisse che erano le cellule viventi dei lieviti a causare la fermentazione dei mosti, trasformando lo zucchero in etanolo ed anidride carbonica, allorché erano obbligate a vivere in assenza di aria. Egli dette anche la prima

---

\* Relazione presentata alla « Giornata di studi su alcuni problemi di enologia pratica » svoltasi a Sassari, nell'Aula Magna della Facoltà di Agraria il 21 Maggio 1976.

dimostrazione scientifica che i lieviti filmogeni dei vini gialli dello Jura francese erano responsabili del caratteristico bouquet di quei vini e non andavano quindi considerati, come altri lieviti, degli agenti di malattie.

A parere di alcuni Autori queste opere rappresenterebbero l'inizio degli studi moderni sui lieviti e sulle fermentazioni; secondo altri tale onore toccherebbe invece ad HEMIL CHRISTIAN HANSEN. La questione è forse irrisolvibile, ma, probabilmente, abbastanza secondaria; certo si è che questi due giganti della Scienza gettarono le basi della microbiologia delle fermentazioni e le dettero un impulso inarrestabile.

H. C. Hansen fu il primo direttore di quel prestigioso Istituto che è il Carlsberg Laboratorium di Copenaghen, dove tanta parte della storia e della genetica dei lieviti si è fatta, Laboratorio fondato giusto un secolo fa da un autentico mecenate della storia contemporanea, Carl Jacobsen.

Hansen cominciò a differenziare e a classificare i lieviti, ed introdusse la fermentazione in purezza nella birreria. Egli fece anche l'interessante osservazione che i lieviti erano invariabilmente presenti nei terreni coltivati a vigneto.

Secondo PEYNAUD (Castelli, 1960) i lavori di Pasteur e di Hansen concludono il « primo periodo » degli studi di microbiologia enologica, durante il quale, tra l'altro, si codificano le modalità di indagine sui lieviti che consentono l'identificazione delle diverse specie.

Il « secondo periodo », sempre secondo Peynaud, riguarda la applicazione dei lieviti puri in enologia. Esso si apre con i lavori di MÜLLER-THURGAU, BERSCH e di tanti altri ed è caratterizzato da un complesso di prove sulle fermentazioni in purezza, che forniscono risultati spesso contrastanti, e dalla scoperta che la anidride solforosa è capace di frenare lo sviluppo di microrganismi indesiderati e di provocare una selezione utile in seno agli stessi lieviti.

Nel medesimo tempo inoltre si impara, specie in Germania, a correggere i mosti aggiungendo zucchero, riducendo l'acidità totale, aumentando il pH.

Il « terzo periodo » è rappresentato dagli studi sulla ecologia e la distribuzione dei lieviti in natura. Peynaud lo fa iniziare nel 1933 con il classico lavoro di DE ROSSI sui mosti dell'Umbria.

In effetti ricerche simili erano state fatte prima di tale data, ma quella di De Rossi rappresenta il punto di partenza perchè introduce una metodica di studio che sarà poi universalmente seguita, rendendo così possibile il confronto dei risultati.

Ricordo solo fuggacemente le località studiate da Castelli e dalla Sua Scuola fra il 1936 ed il 1968: Toscana, Lazio, Marche, Abruzzo, Veneto, Trentino-Alto Adige, Puglia, Sicilia, Calabria, Rufina (Toscana), Veronese, Basso Piave, Modenese, Israele, Bordolese (Francia), Mancha e Rioja (Spagna), Slovenia, Grecia settentrionale. In queste ricerche sono stati esaminati quasi 700 mosti ed ottenute circa 7000 colture di lieviti.

Da parte nostra, che pure facciamo parte della Scuola di Castelli, c'è stato un interesse diretto ai mosti della Sardegna, concretizzato in una vasta indagine durata otto anni, che ci ha consentito di isolare ed identificare circa 4000 colture pure. Sono stati esaminati in totale 163 mosti provenienti in pratica da tutte le aree vinicole più importanti dell'Isola e cioè da Alghero, Ardauli, Bosa, Capoterra, Castiadas, Dolianova, Elmas, Jerzu, Monti, Oliena, Oristano, Santadi, Sant'Antioco, Sinnai, Sorso, Tertenia, ed Ussana.

I lieviti isolati sono stati classificati in 15 specie asporigene e 20 ascosporigne, fra le quali si possono ricordare, perchè più diffuse, *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces fructuum*, *Saccharomyces chevalieri* e *Saccharomyces bayanus*. (FATICENTI e FARRIS, 1974).

Fra i lavori eseguiti all'estero si possono ricordare quelli di SUCEVIC-SAFAR (1955) in Jugoslavia, di INIGO-LEAL e Coll. (1963-1964) in Spagna, di MINARIK (1966) in Cecoslovacchia, di KRIMBAS e DAVIDES (1952) e GEORGANTAS (1971) in Spagna, di DOMERCQ (1956 a, b) in Francia, ma se si volesse fare un cenno sia pure sommario dei tanti ricercatori che si sono occupati dell'argomento, probabilmente non si finirebbe più. Il « terzo periodo », inoltre, non è ancora concluso ed è probabile che nuovi dati si aggiungano negli anni a venire. Forse è però già iniziato un « quarto periodo », quello della selezione dei lieviti per la vinificazione e la loro utilizzazione per le fermentazioni in purezza, che vengono studiate ed applicate oggi sulla scorta di una nuova massa di dati che non possedevano quei ricercatori del passato e che per questo, verosimilmente, ottennero risultati poco incoraggianti.

### *La fermentazione in purezza*

Parlare di fermentazione in purezza del mosto d'uva è in verità un po' improprio, poichè il mosto non è sterile nè può essere sterilizzato prima dell'aggiunta del lievito di avvio o, come più comunemente si chiama, dello starter.

E' però vero che l'uso concomitante dell'anidride solforosa e di una grande quantità di lievito fa sì che in pratica la microflora naturale del mosto viene soppraffatta subito e la fermentazione condotta dal solo lievito aggiunto. In questo modo il processo viene guidato, assai difficilmente i vini si ammalano ed il prodotto finale assume caratteristiche qualitative e merceologiche più costanti rispetto al vino che si origina dalla fermentazione naturale. Si è molto discusso in passato e si discute ancora sulla opportunità di usare colture pure di una sola o di più specie di lievito assieme ma i risultati per ora ci dicono che l'impiego di colture miste non sorte, in genere, risultati migliori di quelli ottenibili con una sola coltura pura. Buoni risultati hanno dato le fermentazioni scalari, ove due lieviti diversi vengono inoculati in tempi successivi, (per es. *Kluyveromyces veronae* - *Saccharomyces ellipsoideus* o *Saccharomyces rosei* - *Saccharomyces ellipsoideus*), ma personalmente ritengo che questa tecnologia sia superata poichè oggi disponiamo di stipti di *Sacch. ellipsoideus* nei quali si assommano le buone caratteristiche di quegli stipti che venivano usati scalarmente.

La fermentazione in purezza è una pratica quanto mai utile e rispondente, a patto che si utilizzino buone colture veramente selezionate di lieviti indigeni e che gli starters siano preparati ed usati con le appropriate modalità. RIBÉREAU GAYON ed i suoi collaboratori (1976), proprio in questi giorni, si mostrano ancora abbastanza contrari a questa pratica, che ritengono non apporti alcuna utilità per tre ragioni fondamentali: il lievito è generalmente non selezionato, ma semplicemente indigeno; è difficile inibire la microflora naturale dei mosti; non è stata mai dimostrata indiscutibilmente l'influenza del lievito sulla qualità del vino. Io non sono affatto d'accordo su ciò, in quanto lieviti veramente selezionati esistono e ne parleremo più avanti: che poi questa selezione possa e debba essere ulteriormente affinata è un'altra cosa. Inoltre se la pratica del « levurage » è fatta correttamente l'inibizione della flora spontanea è sempre possibile ed infine il lievito condiziona fortemente — vi sono molte dimostrazioni scientifiche e pratiche — la qualità finale del vino. Dirò di più: la fermentazione in purezza dei mosti diventa pratica *indispensabile* quando si deve vinificare uva ammuffita o comunque guasta e di conseguenza si devono usare forti dosi di anidride solforosa; quando la fermentazione di norma decorre lentamente o si arresta; quando si fermenta in ambienti molto caldi o molto freddi; quando sono prevedibili forti sbalzi di temperatura.

In tutti gli altri casi la pratica è comunque *utile*, poichè la fermentazione dei mosti è più pronta, più rapida e più completa; il rapporto alcool/

zucchero è più elevato; gli acidi volatili sono prodotti in minore quantità; il vino chiarifica meglio e più in fretta.

In aggiunta a tutto questo si ricordi che la fermentazione controllata assume un decorso regolare che non sempre, e per le ragioni più diverse, si ha nelle fermentazioni spontanee; il prodotto finale, inoltre, acquista caratteri di finezza e di costanza qualitativa non diversamente ottenibili, che sono i presupposti fondamentali per una moderna industria enologica.

Si afferma anche da più parti che è necessario confinare la fermentazione con lieviti selezionati nell'ambito dei vini comuni da pasto, perchè essa sarebbe addirittura di nocumento ai grandi vini od ai vini cosiddetti « speciali ». In realtà queste affermazioni non sono suffragate da una vasta sperimentazione, mentre esistono prove tangibili che le fermentazioni controllate si possono fare con tutta tranquillità anche per i vini pregiati. Ceppi di lieviti dell'Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università di Perugia sono stati utilizzati, sotto il controllo del prof. Castelli, su larga scala per l'ottenimento di vini da bottiglia e pregiati ed i risultati ottenuti hanno ampiamente dimostrato che, anche in questi casi, i vantaggi sono reali e concreti.

Non mi soffermo tuttavia su questa sperimentazione, poichè più avanti avrò modo di ritornare sull'argomento parlando proprio di due prestigiosi vini sardi, la Vernaccia di Oristano e la Malvasia di Bosa.

E' stato detto che il lievito deve essere ben selezionato. Questa parola può significare molte cose; per esemplificare limitiamoci a considerare quanto abbiamo fatto e siamo in animo di fare con i lieviti che abbiamo isolato dai mosti sardi.

Terminata la fase preliminare di isolamento, è stato fatto un primo screening per tutti gli stipiti isolati basato sulla quantità di acool e di acidità volatile da essi prodotta.

Successivamente, lavorando su un numero assai più ristretto di stipiti appartenenti alla specie *Sacch. ellipsoideus*, abbiamo analizzato più in dettaglio fermentati, ottenuti sia in laboratorio che in Cantina, nei quali sono stati dosati zuccheri residui, alcool, rendimento del lievito, acidità totale, volatile e fissa, 2,3 butandiolo, glicerina, acetaldeide ed alcoli superiori. (FATICENTI, FARRIS e MADAU, 1973).

Fra tutti gli stipiti esaminati alcuni si sono rivelati eccellenti per la somma degli ottimi caratteri fermentativi che possiedono, sì che vengono già utilizzati nelle fermentazioni controllate su scala industriale.

Naturalmente quelli presi in considerazione sono soltanto alcuni dei caratteri interessanti dal punto di vista enologico. Infatti il lavoro di se-

lezione continua per altri stipiti, per altre caratteristiche ed è anche in atto un lungo e paziente lavoro di genetica volto ad ottenere lieviti ibridi che riuniscano in sè i caratteri più interessanti dal punto di vista biochimico e tecnologico.

Una volta che questi lieviti sono disponibili, si tratta di impiegarli correttamente. Certo le istruzioni fornite a corredo di preparazioni commerciali sono tutt'altro che chiare ed esaurienti; vale allora la pena di rifarsi a quanto scriveva qualche anno fa CASTELLI (1969) in un prezioso volume che non dovrebbe mancare in nessuna biblioteca tecnica: « Allo scopo, qualche giorno prima della vendemmia, si prenderanno 3-4 Kg di uva sana e ben matura e se ne otterrà il mosto che verrà sterilizzato portandolo per un paio di minuti all'ebollizione. Sui due litri o poco più di mosto sterilizzato, una volta raffreddato intorno ai 30°, si porrà il materiale di semina cioè a dire la coltura liquida o la polvere dell'allestimento liofilizzato. Se si dispone di una coltura in agar si cercherà, mediante una bacchettina pulita, di asportare la patina microbica facendola arrivare nel mosto.

Il mosto così seminato verrà mantenuto in ambiente a temperatura fra 25-30° ed in tale maniera dopo 24 ore si avrà l'inizio della fermentazione. Quando l'inoculo si esegue mediante un allestimento liofilizzato la fermentazione ritarda e generalmente si manifesta entro le 48-60 ore. Ottenuti così due litri di coltura pura essi verranno immessi su 50 litri di mosto appena ottenuti dalla pigiatura di uva sana e ben matura e dopo 24 ore anch'essi saranno in attiva fermentazione. I 50 litri così ottenuti possono servire per la vinificazione di una ventina di quintali di mosto o di uve pigiate, ma dovendosi vinificare quantità notevoli sarà necessario operare una serie di rinfreschi. I 50 litri di mosto in attiva fermentazione possono venire aggiunti a 20 quintali di mosto appena ottenuti dalla pigiatura delle uve e detti 20 quintali sono sufficienti per 1.000 quintali. Dovendosi vinificare maggiori quantitativi non si fa altro che prelevare una quota parte del mosto-lievito e sostituirlo con altrettanto mosto fresco appena ottenuto dalla pigiatura.

Conviene ricordare che è buona regola ripetere la preparazione del mosto-lievito, seguendo il procedimento ricordato, ogni 10 giorni. Il mosto utilizzato per la preparazione del lievito di fermentazione non deve ricevere SO<sub>2</sub> o solfitanti. Quando i mosti o le uve pigiate hanno ricevuto SO<sub>2</sub> o solfitanti, l'aggiunta del mosto-lievito deve verificarsi a qualche ora di distanza. Generalmente si attendono 10-12 ore, dalla sera alla mattina, aumentando il tempo allorchè le quantità di SO<sub>2</sub> sono state notevoli ».

*I lieviti flor*

Nel sud della Spagna, nei dintorni di Jerez de la Frontera lungo il Guadalquivir tra Siviglia e Cadice, si produce da molto tempo una grande quantità di vini bianchi che vengono esportati in tutto il mondo; si tratta di vini secchi e aromatici noti con il nome di « Jerez », « Xerez », « Scheris » o, più comunemente, « Sherry ». Vini simili sono prodotti anche nello Jura in Francia, in Argentina, nel Sud Africa, in Canada ed in alcune località della California e della Russia.

In Italia vini che ricordano molto da vicino questi prodotti sono la Vernaccia di Oristano e la Malvasia di Bosa.

Il processo produttivo degli Sherry di questo tipo comporta una fermentazione piuttosto normale (anche se si tratta di uve particolari a forte concentrazione zuccherina) e di un successivo invecchiamento in botti scolme sotto un velo costituito da lieviti il cui metabolismo determina fortemente il risultato finale. Sulla natura di questi lieviti è stato scritto moltissimo, ma ci si può limitare a dire che si tratta di lieviti del genere *Saccharomyces*, classificabili in pochissime specie strettamente imparentate fra loro.

Nel 54% dei veli della Vernaccia di Oristano abbiamo trovato *Saccharomyces prostoserdovii*, un lievito descritto per la prima volta da Kudriavzev, che l'aveva isolato da vini florizzati dell'Armenia; nel 30% dei veli è stato riscontrato *Saccharomyces bailii* ed nel 23% *Saccharomyces bayanus*. (FATICENTI, MELIS e CAPRIOTTI, 1972) (FATICENTI e FARRIS, 1973).

Nelle nostre indagini non abbiamo potuto confermare la presenza di *Saccharomyces rouxii* che era stato segnalato qualche anno fa da SANNA (1961) e da VITAGLIANO (1962).

Nella Malvasia abbiamo trovato invece soltanto *Saccharomyces bayanus* e *Saccharomyces bailii* (FATICENTI, FARRIS e DEIANA, 1974).

Queste specie vengono comunemente indicate come « lieviti flor », termine spagnolo che vuol dire fiore, donde il nome di « florizzazione » all'intero processo di formazione del velo ed alle modificazioni che si verificano nel vino. Quasi tutti i lieviti flor sono capaci di produrre notevoli quantità di alcool e perciò di fermentare regolarmente il mosto d'uva. Se il vino che in tal modo si origina viene tenuto a contatto con l'aria, gli stessi lieviti passano in fase ossidativa modificandolo profondamente. Il tenore alcoolico in un primo tempo si abbassa, come pure diminuisce l'acidità volatile, mentre al contrario si produce una grande quantità di aldeide



acetica che viene rielaborata dal lievito. I numerosi composti volatili che si formano danno come risultato finale quell'aroma particolarmente intenso e gradevole che costituisce il « bouquet » tipico di uno Sherry.

I lieviti flor sono più diffusi di quanto si crede ed è facile trovarli anche in vini rossi giovani; valga ad esempio per noi quanto abbiamo riscontrato nel Cannonau di Oliena (FATICENTI, 1971). E' allora facile comprendere che i lieviti flor possono essere adoperati, con le opportune cautele, sia per la disacidificazione biologica dei vini spunti che per l'invecchiamento precoce dei vini rossi. E' però evidente che l'applicazione più interessante di colture selezionate di lieviti flor riguarda la produzione degli Sherry.

A questo riguardo noi abbiamo effettuato un lavoro di selezione fra alcuni stipiti di *Saccharomyces bayanus* e *Saccharomyces prostoserdovii* isolati da flor di Vernaccia di Oristano e di Cannonau di Oliena per individuare i ceppi più adatti ad essere impiegati nei processi di fermentazione e di invecchiamento controllati della Vernaccia di Oristano e della Malvasia di Bosa (FATICENTI, FARRIS e MADAU, 1975). A tal fine è stata seguita l'evoluzione dei composti più importanti come l'alcool, l'acidità fissa, l'acidità volatile, gli acidi tartarico, malico e lattico, la glicerina, l'aldeide acetica, il diacetile, l'acetoina ed altri i quali, se non sono i soli a determinare la qualità di tali vini, ne sono certo i presupposti fondamentali.

I risultati delle esperienze condotte sia in laboratorio che in cantina consentono di poter affermare che la Vernaccia può essere prodotta con lieviti selezionati operando sia nel mosto che nel vino. La qualità del prodotto migliora, mentre vengono eliminati molti inconvenienti e diminuiscono notevolmente i rischi. Tutto il processo può essere affidato ad un solo stipite di *Saccharomyces prostoserdovii*, o, in via subordinata, di *Saccharomyces bayanus*. Questo infatti può tranquillamente sostituire il *Saccharomyces ellipsoideus* e gli altri comuni lieviti di fermentazione, per vinificare i mosti; esso poi, esaurita la fase tumultuosa, passa direttamente in quella ossidativa rendendo così superflui gli inoculi primaverili alle botti con evidente risparmio di tempo e manodopera. In tal modo il prodotto invecchia con maggior sicurezza, uniformità ed in un tempo decisamente ridotto rispetto al vino lasciato maturare naturalmente.

\* \* \*

Per concludere il nostro rapido volo sui lieviti in Enologia dovremmo ora dire brevemente dei fattori che influenzano la fermentazione alcolica, dei problemi connessi con la produzione di vini speciali, del metabolismo

degli acidi organici, dei lieviti nella patologia vinaria, per non accennare che ai principali punti di questo vasto argomento, ma mi accorgo che ormai non posso più a lungo abusare della vostra benevolenza e sono certo che mi perdonerete se fermo qui il mio discorso. Di qualcosa ancora si potrà parlare in sede di discussione.

Non so se ho esposto con chiarezza tutto quello che vi ho detto; mi auguro comunque di essere riuscito a sottolineare il ruolo determinante della microbiologia nella Enologia di oggi e di domani.

#### BIBLIOGRAFIA

- CASTELLI T. (1960) — « Lieviti e fermentazioni in Enologia », Luigi Scialpi Ed., Roma.
- CASTELLI T. (1969) — « Il vino al microscopio », Luigi Scialpi Ed., Roma.
- DOMERCO S. (1956a) — *Annls Technol. agric.*, 6, 5-58, 139-183.
- DOMERCO S. (1956b) — *Doctorate Thesis*: University of Bordeaux.
- FATICENTI F. (1971) — Studi Saresi, *Ann. Fac. Agr. Univ. Sassari*, 19, 143-167.
- FATICENTI F., FARRIS G. A. (1973) — *Vini d'Italia*, 15, (83), 136-138.
- FATICENTI F., FARRIS G. A. (1974) — *Riv. Vitic Enol.*, 27, 327-334.
- FATICENTI F., FARRIS G. A., DEIANA P. (1974) — *Vini d'Italia*, 16, (90), 197-199.
- FATICENTI F., FARRIS G. A., MADAU G. (1973) — *Vini d'Italia*, 15, (87), 545-551.
- FATICENTI F., MELIS P., CAPRIOTTI A. (1972) — *Vini d'Italia*, 14, (80), 391-393.
- GEORGANTAS S. (1971) — *L'agricoltura Italiana*, 71, (26 n.s.), 428-440.
- INIGO LEAL B., VASQUEZ MARTINEZ D. y ARROYO VARELA V. (1963) — *Rev. de Ciencia Aplicada*, 93, 296-305.
- INIGO LEAL B. y VASQUEZ MARTINEZ D. (1964) — *Rev. de Agroquímica y Tecnología Alimentos*, 4, (2), 246-254.
- KRIMBAS K. D. e DAVIDES V. T. (1952) — *Bull. Of. Inter. Vigne et Vin*, 25.
- MINARIK E. (1966) — *Biol. Práce*, 12, (4), 1-107.
- RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBEREAU-GAYON P. e SUDRAUD P. (1976) — « *Traité d'oenologie - sciences et techniques du vin* », tome 3.
- SANNA E. (1961) — Indagini microbiologiche sulla Vernaccia sarda. Tesi di laurea, *Fac. Sc. Biologiche*, Perugia.
- SUCEVIC-SAFAR O. (1955) — *Biljne Proizvodnje*, Zagaber, 4.
- VITAGLIANO M. (1962) — *Vini d'Italia*, 4, (17), 89-100.