



**Comunicazione digital  
NUOVO LOOK PER IL WEBSITE DI MONTEVERRO**

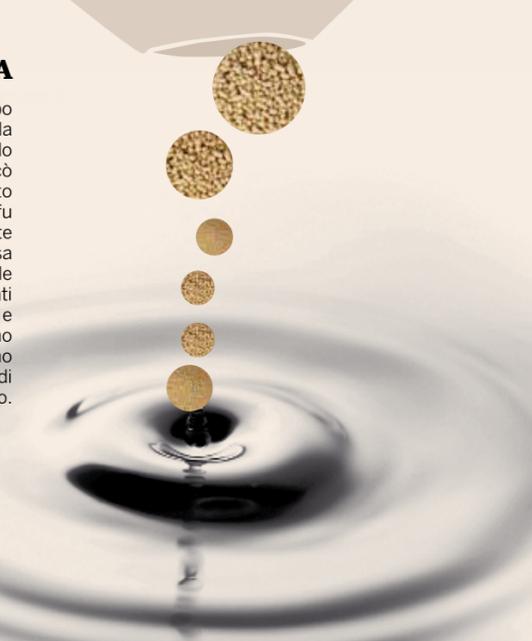
Dopo il logo, per Monteverro è la volta del restyling del sito. Gli elementi fondamentali intorno a cui sono stati costruiti contenuti e fruibilità, sono propri del Dna della cantina: l'essenza toscana, il forte legame con il territorio e il nuovo marchio. Il sito si propone come un "viaggio" alla scoperta della filosofia e dei segreti di produzione dei vini della cantina. "L'obiettivo del restyling - spiega Julia Weber, proprietaria della cantina insieme al marito Georg - è far immergere i consumatori nel nostro mondo, trasmettere i nostri valori e la nostra passione. Per questo abbiamo pensato a un linguaggio basato più sulle immagini che sui testi. Le foto - scattate in esclusiva da Leif Carlsson - emozionano e rispecchiano l'identità della nostra tenuta, di quel terroir, punto di partenza fondamentale dei nostri vini".

**PROGETTO EXPRESS-IDRA**

# Per un corretto utilizzo del lievito secco in vinificazione

**UN PO' DI STORIA**

Le prime colture di lieviti selezionati furono introdotte pochi anni dopo le fondamentali conferme di Pasteur sull'origine microbiologica della fermentazione. Christian Hansen, seguendo le intuizioni di Pasteur riguardo l'influenza dei diversi "stipiti" di lievito sulla qualità del vino ottenuto, applicò con successo l'inoculo di lieviti selezionati all'industria birraria, facilitato dalle condizioni di inoculo in mosto di malto sterilizzato. La stessa pratica fu applicata da Muller-Thurgau sul finire del XIX secolo nel vino e inizialmente proposta, ingenuamente, come capace di risolvere problemi legati alla bassa qualità delle uve di partenza, addirittura in grado di far assumere al vino le caratteristiche delle uve pregiate, di solito francesi, da cui i lieviti erano stati isolati. Le delusioni che ne seguirono e una certa difficoltà nella distribuzione e conservazione delle colture, vendute sotto forma di mosto-lievito, ne impedirono una reale diffusione. I primi lieviti selezionati in forma secca attiva (LSA) furono proposti sul mercato negli anni 60 e rappresentarono una svolta in termini di conservazione e semplicità di utilizzo.



La reidratazione del LSA è il vero momento chiave in cui le scelte dell'operatore risultano determinanti per il successo o meno dell'inoculo. Il progetto Express-Idra ha cercato di rispondere ad alcune domande per migliorare la gestione di questo processo, intervenendo sulla composizione del mezzo, sul tempo di reidratazione, sulla temperatura e su altri fattori nutrizionali

di ENRICO VAUDANO, ANTONELLA COSTANTINI, LAURA PULCINI, EMILIA GARCIA MORUNO  
CREA- Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia, Asti

L'uso di lieviti selezionati nella forma di LSA (forma secca attiva) è, oggi, una pratica consolidata in enologia grazie anche alla presenza sul mercato di centinaia di ceppi con diverse caratteristiche e per differenti utilizzi. Vari fattori determinano la qualità e la buona riuscita di un inoculo effettuato con LSA commerciali e non tutti sono sotto il controllo dell'operatore in cantina.

Figurano, tra questi, la qualità intrinseca dello starter determinata dalle buone pratiche durante la produzione del lievito secco. Queste caratteristiche qualitative, descritte nel Codex Enologico Internazionale ([www.oiv.int/it/norme-e-documenti-tecnici/prodotti-enologici/codex-enologico-internazionale](http://www.oiv.int/it/norme-e-documenti-tecnici/prodotti-enologici/codex-enologico-internazionale)) comprendono la carica in cellule vitali che non deve essere inferiore a 10 miliardi di cellule per grammo (anche se i migliori LSA possono arrivare a oltre 50 miliardi/g) e, come fattore negativo, la presenza di inquinanti di origine batterica. Naturalmente devono essere rigorosamente assenti batteri patogeni; anche i batteri lattici, innocui, teoricamente dovrebbero essere assenti, condizione difficile da ottenere a causa delle caratteristiche dei processi produttivi. È comunque accettabile una loro presenza non al di sopra di 10<sup>5</sup> cellule per grammo. È da sottolineare che queste caratteristiche non vengono sempre segnalate sulle schede tecniche dei prodotti e dovrebbero essere richieste da chi acquista il LSA. Tra i fattori sotto controllo dell'enologo, l'aspetto non trascurabile è la conservazione del prodotto fino all'utilizzo che deve avvenire in luogo fresco (meglio se in frigorifero) soprattutto in caso di confezioni non utilizzate nella vendemmia e che si vogliono conservare per l'annata successiva.



**La reidratazione del LSA; momento fondamentale per la buona riuscita dell'inoculo**

La reidratazione del LSA è il vero momento chiave in cui le scelte dell'operatore risulteranno determinanti per il successo o meno dell'inoculo.

Di solito in cantina il LSA viene reidratato prima dell'inoculo sospendendolo in mezzi acquosi contenenti o meno zuccheri, a una temperatura e per un tempo variabile; la risposta dei ceppi a questa fase di risveglio concorre a determinarne la loro vitalità al momento dell'inoculo nel mosto e può influenzare le capacità fermentative e quelle competitive all'esordio della fermentazione e comunque avere un impatto sull'intera cinetica fermentativa. Nonostante l'importanza di questa fase, fino ad oggi sono pochi i lavori volti a spiegare ciò che avviene durante la reidratazione sia dal punto di vista metabolico che a livello molecolare.

Vari fattori sembrano influenzare la vitalità di *Saccharomyces cerevisiae* durante la reidratazione. Insieme alle modalità di produzione, in particolare durante la fase di essiccazione, sono parametri importanti la durata del periodo di reidratazione, la temperatura, il pH del mezzo, la presenza di sostanze nutritive e minerali e la disponibilità di ergosterolo. Questi fattori presumibil-

mente influenzano la struttura stessa delle membrane alterandone la permeabilità e causando quindi cambiamenti nel flusso di molecole e ioni, determinando, infine, la maggiore o minore vitalità del reidratato e le successive performances in fermentazione.

**IL PROGETTO EXPRESS-IDRA**

Il progetto Express-Idra (Studio dell'espressione dei geni indicatori della riattivazione del metabolismo, durante il processo di reidratazione del lievito *Saccharomyces cerevisiae*) finanziato dal MIPAF (DM 19177-7303-08) ha cercato di rispondere ad alcune domande riguardanti la reidratazione attraverso due macro-obiettivi.

**a) Ottimizzazione delle condizioni di reidratazione**

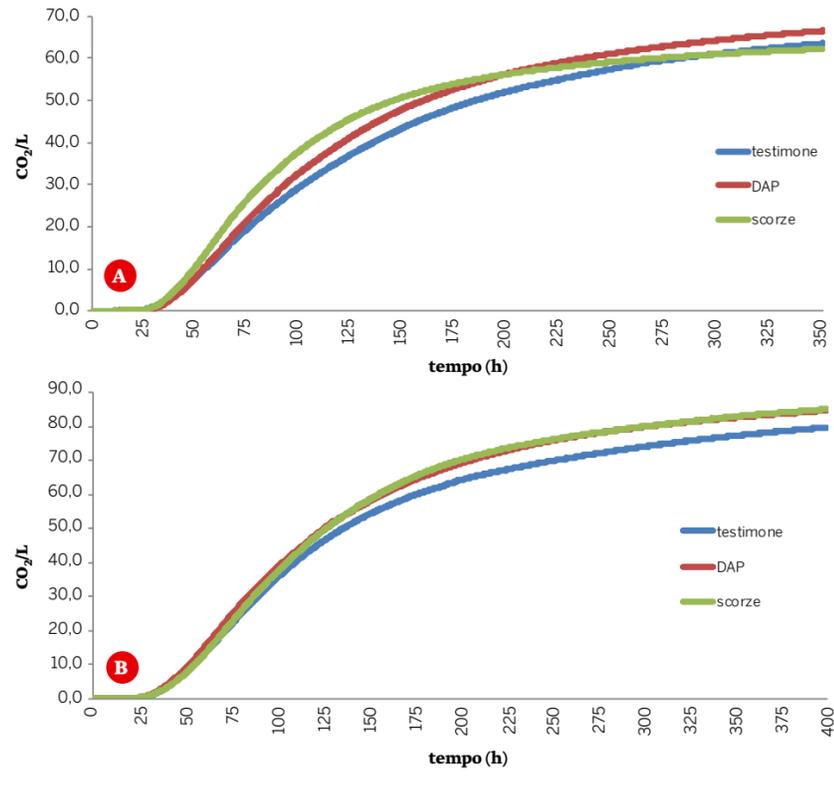
Lo scopo primario, prettamente pratico, del progetto, è stato quello di determinare le condizioni ottimali di reidratazione, prima in termini di tempo, temperatura e presenza o meno di zuccheri, e saggiando, successivamente, alcuni additivi permessi dalla legislazione. Le sperimentazioni eseguite con l'ausilio di un software di disegno sperimentale, hanno permesso sostanzialmente di confermare le indicazioni delle case produttrici riguardo temperatura ottimale, individuata 35-40 °C e tempi di reidratazio-

ne che raggiunge un optimum a 30 minuti, evidenziando come fondamentale la presenza di zuccheri.

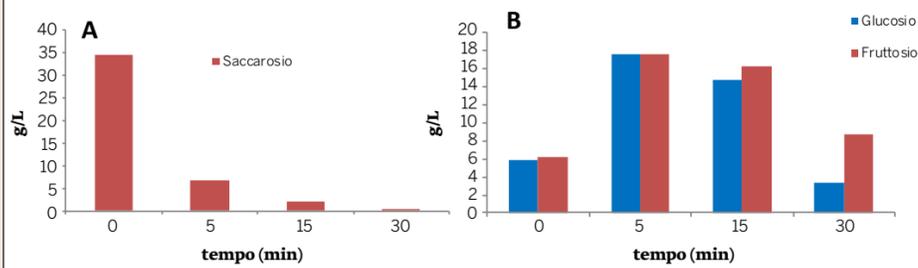
Partendo da queste condizioni di base, i test condotti con i diversi additivi hanno rilevato un effetto positivo sulle performance fermentative delle scorze di lievito, e di una moderata quantità di azoto sotto forma prontamente assimilabile quale l'ammonio fosfato (DAP).

La prova finale effettuata con mosto di Chardonnay utilizzando due diversi ceppi di LSA ha dimostrato che, a parità di condizioni ottimali di temperatura tempi e concentrazione di zucchero, un mezzo di reidratazione arricchito con DAP determina performances superiori in fermentazione (Fig. 1). L'aggiunta di scorze di lievito nel mezzo di reidratazione ha dato risultati più controversi, poiché con uno dei due lieviti testati (ceppo A in Fig.1), dopo un inizio promettente non sembra avere dato vantaggi rispetto al testimone. In ambedue i ceppi, l'aggiunta di DAP ha dato buoni risultati; bisogna sottolineare che la quantità da utilizzare in reidratazione è relativamente bassa (0.1 g/L) e non si sostituisce alla normale nutrizione durante la successiva fermentazione che deve essere sempre effettuata secondo le migliori pratiche di cantina.

**FIGURA 1.**  
Cinetica fermentativa monitorata attraverso l'emissione di CO<sub>2</sub> del ceppo di lievito A e B preventivamente reidratato in acqua +5% saccarosio (testimone); acqua + 5% saccarosio + 50 g/L di scorze di lievito (scorze); acqua + 5% saccarosio + 0.1 g/L di DAP (DAP).



**FIGURA 2.**  
Idrolisi del saccarosio (A) e successivo assorbimento di glucosio e fruttosio (B) da parte del LSA in un mezzo di reidratazione contenente 5% di saccarosio.



**BIBLIOGRAFIA**

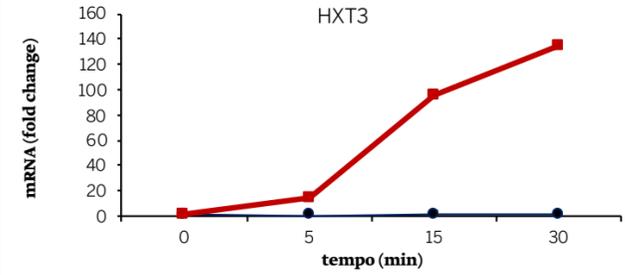
Bocca, E.; Cavazza, A.; Ferrarini, R. (2008). Il processo di reidratazione come primo strumento per la valorizzazione del lievito. Atti del 31° Congresso mondiale OIV, p. 314.

Vaudano, E., Costantini, A., Cersosimo, M., Del Prete, V., Garcia-Moruno, E., 2009. Application of real-time RT-PCR to study gene expression in active dry yeast (ADY) during

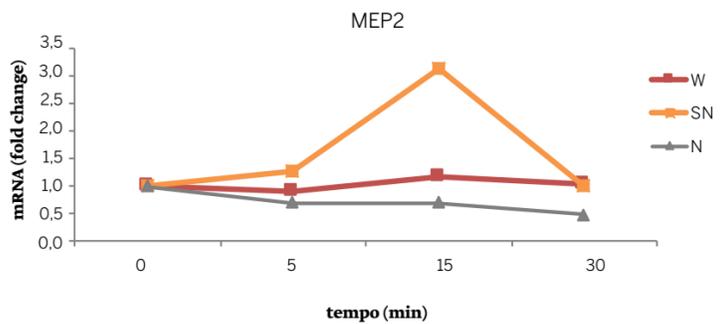
the rehydration phase. Int. J. Food Microbiol. 129, 30–36.

Vaudano, E., Noti, O., Costantini, A., Garcia-Moruno, E., 2014. Effect of additives on the rehydration of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains in active dry form: influence on viability and performance in the early fermentation phase. J. Inst. Brew., DOI 10.1002/jib.114

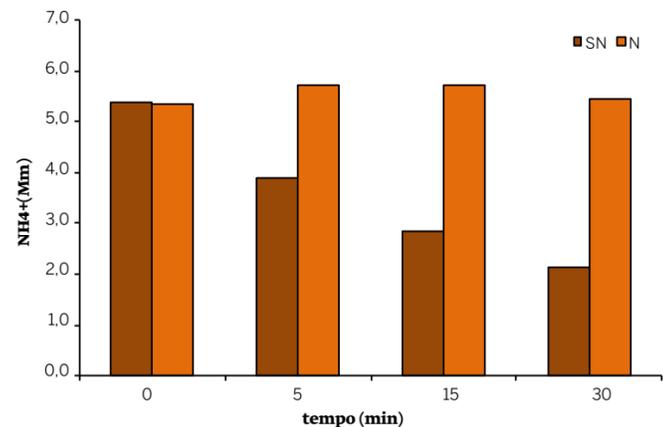
**FIGURA 3.**  
Espressione del gene codificante la proteina trasportatrice degli esosi HXT3 durante la reidratazione in acqua (W) e in soluzione 5% saccarosio (S).



**FIGURA 4.**  
Espressione dei geni per i trasportatori dell'ammonio in tre differenti mezzi di reidratazione: Acqua (W); soluzione 6 mM di ione ammonio fornito come DAP (N); soluzione 5% saccarosio + 6 mM di ione ammonio (SN).



**FIGURA 5.**  
Assorbimento dell'ammonio da parte del LSA nel mezzo di reidratazione SN contenente zuccheri e ammonio e nel mezzo N contenente ammonio.



**I meccanismi molecolari**

L'altra linea di ricerca del progetto Express-Idra ha avuto come obiettivo l'osservazione a livello di trascrizione di RNA, cioè di espressione genica, delle modulazioni geniche durante la fase di reidratazione, verificando in particolare l'attivazione dei geni responsabili del trasporto interno di nutrienti semplici, in particolare, zuccheri e fonti azotate quali l'ammonio. Lo studio ha dimostrato che durante la reidratazione, oltre alla repentina attivazione della trascrizione, il lievito è in grado di modulare l'espressione genica, essendo in grado di reagire alla diversa composizione del mezzo, giustificando quindi la necessità di ottimizzazione del mezzo di reidratazione. A livello trascrizionale sono stati ottenuti risultati interessanti in termini di acquisizione di conoscenze del lievito in stato di anidrobiosi, e in particolare sono state dimostrate delle correlazioni tra le osservazioni macroscopiche riguardanti l'assimilazione di nutrienti e l'effettiva trascrizione dei geni codificanti i rispettivi trasportatori. Per quanto riguarda l'assimilazione degli zuccheri, eventualmente presenti nel mezzo di reidratazione, la Fig. 2 dimostra sia la capacità del lievito in riattivazione di scindere il disac-

caride saccarosio in glucosio e fruttosio, sia la capacità di assimilazione dei due monosaccaridi con la classica cinetica di assimilazione che vede una preferenza per l'introduzione del glucosio rispetto al fruttosio. Questa assimilazione avviene attraverso i trasportatori di esosidi appartenenti alla famiglia HXT (Exose Trasporter) che infatti sono indotti appena la cellula viene introdotta nel mezzo di reidratazione a condizione che sia presente zucchero. La Fig. 3 mostra un esempio di espressione del gene HXT3. Risultati particolarmente interessanti riguardano i meccanismi di assimilazione dello ione ammonio, fonte azotata prontamente assimilabile dal lievito. I dati metabolici mostrano una totale coerenza con quelli ottenuti dagli studi di espressione genica e in particolare con la trascrizione dei trasportatori MEP (Methylammonium/ammonium permease) responsabili dell'assimilazione dello ione ammonio. Nei nostri esperimenti l'espressione di questi geni e la loro modulazione vengono attivate solamente quando nel mezzo di reidratazione sono presenti zuccheri (Fig. 4 esempio di espressione del gene MEP2) ed è visibile l'assorbimento dello ione ammonio solo se questa condizione è soddisfatta (Fig. 5). Questa osservazione non si

limita però ai soli trasportatori di ammonio e di zuccheri ma anche ad altri geni responsabili, ad esempio, della risposta osmotica della cellula (dati non mostrati). In assenza di zuccheri la cellula è in una forma "congelata" e non reagisce alla presenza di nutrienti a base azotata N né al cambiamento osmotico derivante dalla presenza dell'acqua nel mezzo di reidratazione. In sintesi, reidratare in sola acqua senza aggiunta di zuccheri fermentescibili equivale a non reidratare.

**Conclusioni**

Oggi la reidratazione dei lieviti è un passaggio relativamente trascurato nella gestione delle fermentazioni. L'acquisizione di informazioni a livello molecolare sul processo si traduce nel miglioramento della gestione di questo momento in cantina, intervenendo sulla composizione del mezzo, sul tempo di reidratazione, sulla temperatura e su altri fattori nutrizionali. Un corretto utilizzo del lievito secco attivo può dare un vantaggio competitivo al ceppo inoculato, abbreviando il periodo di latenza, permettendo il rapido inizio della fermentazione e rappresentando una buona prevenzione contro gli arresti fermentativi e le alterazioni organolettiche derivanti da inquinamenti microbici.

**CORRETTE ISTRUZIONI D'USO**

Sulla base dei risultati del Progetto Express - Idra, a prescindere dagli interessanti aspetti scientifici, è possibile trarre una sintesi sulle corrette operazioni di utilizzo del lievito secco in cantina.

- Corretta conservazione dei preparati in ambiente fresco, meglio se in frigorifero
- Reidratazione in proporzione 1:10 in un mezzo acquoso addizionato di 5% di zuccheri (eventualmente utilizzando un mosto non solfitato diluito in modo da portare a 50 g/l di zuccheri (5-6° Brix) e con 0.1 g/L di di-ammonio fosfato. Spargere il LSA sopra il liquido e agitare dolcemente fino a dispersione completa
- Temperatura del mezzo di reidratazione: circa 40°C
- Durata della reidratazione: 30 minuti
- Al termine, addizione di un volume di mosto da inoculare e agitazione del reidratato. Questo passaggio ha lo scopo di abbassare la temperatura e "abituare" le cellule ad una concentrazione zuccherina crescente. Attendere 15 minuti
- Inoculo con una differenza di temperatura tra reidratato e mosto da inoculare non superiore a 10-12°C (attenzione all'inoculo in mosti bianchi preventivamente raffreddati, portare la temperatura del mosto almeno a 13-14 °C prima di inoculare il reidratato portato a 25-26°C)
- Iniziare la nutrizione azotata aspettando almeno 24 ore dopo l'inoculo

