



# Filiera corta produttori fra Arno e Sieve

## Produzione in cantina di lieviti *starter* autoctoni **VICASTART**

PROGETTO SOTTOMISURA 16.2 PSR 2014-2020 della Regione Toscana

**<< Isolamento e caratterizzazione dei lieviti autoctoni della cantina VICAS >>**

Dr.ssa Eleonora Mari  
Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali  
Università degli Studi di Firenze

Villa Montepaldi, San Casciano Val Di Pesa (FI), 5 luglio 2018



# Isolamento e caratterizzazione dei lieviti autoctoni della cantina VICAS

Allestimento presso  
VICAS di vinificazioni  
spontanee per  
l'isolamento di lieviti  
*Saccharomyces  
cerevisiae*

**ANALISI MICROBIOLOGICHE** → Isolamento e purificazione colonie di *S. cerevisiae*

Individuazione dei ceppi  
di *S. cerevisiae*  
geneticamente diversi  
dagli starter usati  
normalmente dalla  
cantina

## ANALISI MOLECOLARI

- Identificazione a livello di specie delle colonie isolate
- Caratterizzazione intraspecifica degli isolati di *S. cerevisiae*

Scelta dei ceppi con le  
capacità tecnologiche e  
qualitative desiderate

## FERMENTAZIONI IN BEUTA

- Vigore fermentativo
- Produzione SO<sub>2</sub>
- Prodotti di fermentazione

## SAGGI IN PIASTRA

- Fattore killer
- Produzione acido solfidrico



# Allestimento presso VICAS di vinificazioni spontanee per l'isolamento di lieviti *Saccharomyces cerevisiae*

8 fermentazioni spontanee allestite in due momenti diversi

Inizio periodo vendemmia  
12 Settembre 2016



Varietà Merlot

4 serbatoi:  
2 da 10 HL  
2 da 25 HL

In vendemmia  
27 Settembre 2016



2 con varietà Canaiolo  
2 con varietà Sangiovese



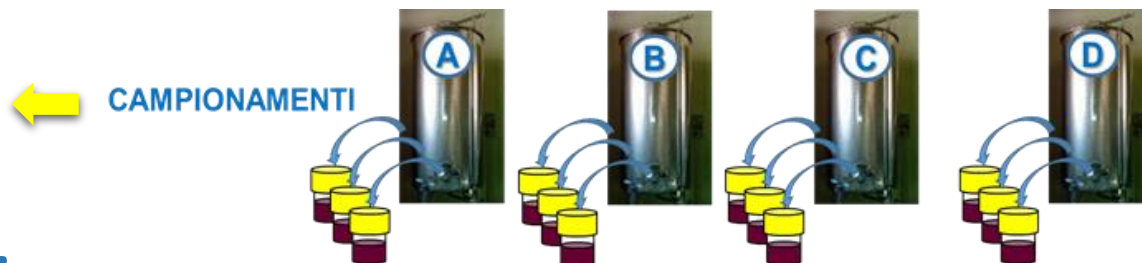


# Analisi microbiologiche dei mosti in fermentazione

Analisi microbiologiche → isolamento e purificazione colonie di *Saccharomyces cerevisiae*



- Semina in piastra dei campioni di mosto/vino



LIEVITI

BATTERI LATTICI

BATTERI ACETICI



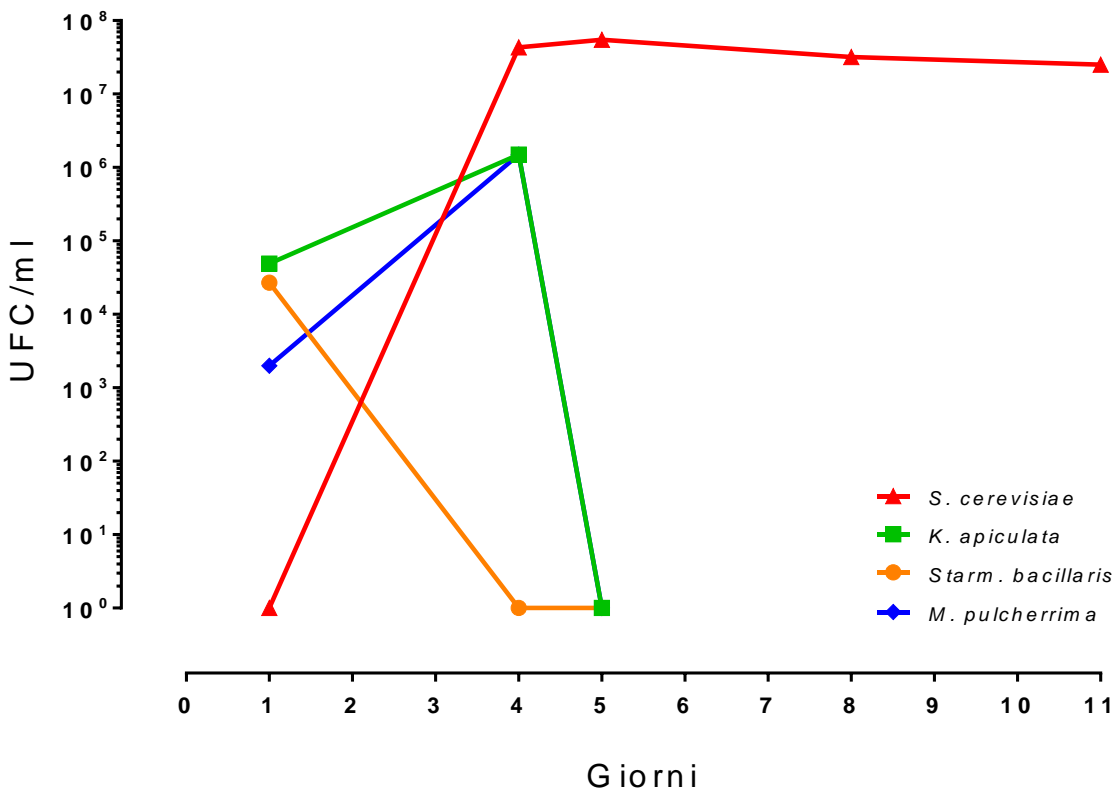
# Analisi microbiologiche dei mosti in fermentazione

## Andamento della popolazioni di lieviti (UFC/mL) presenti nel corso della fermentazione alcolica

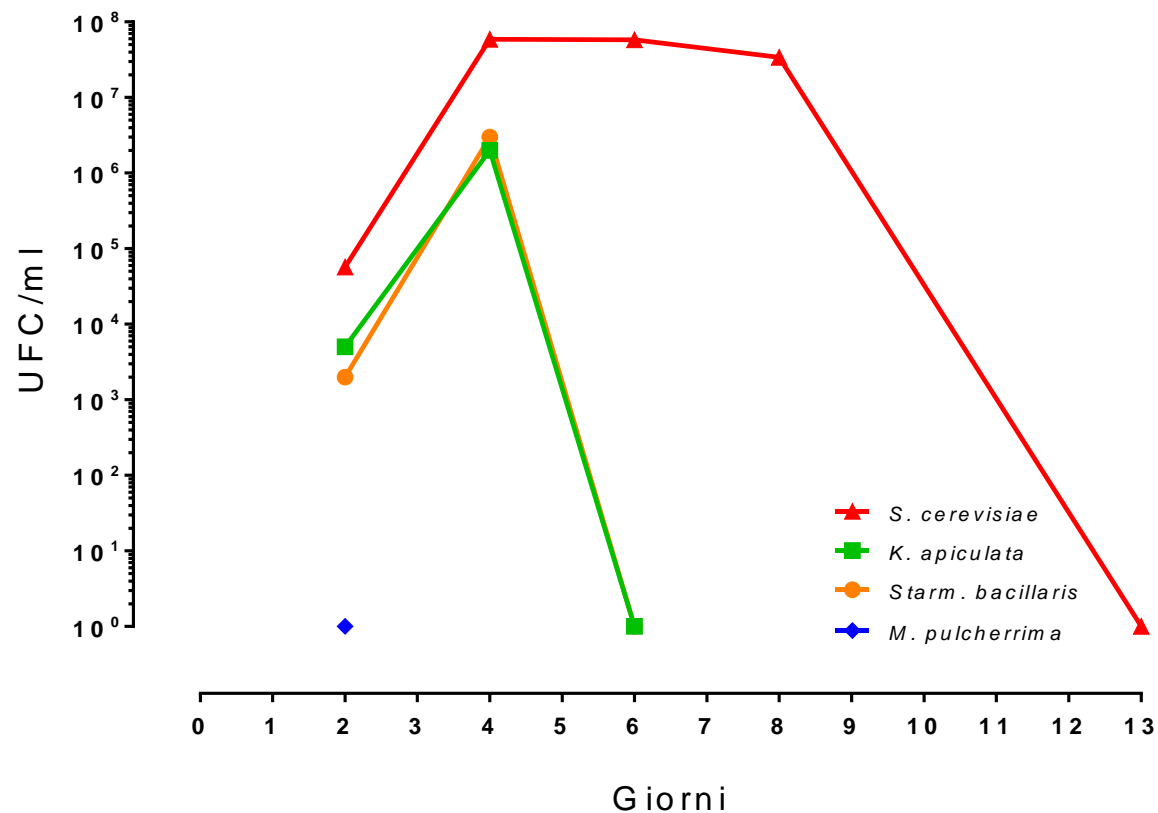
Batteri lattici  
Batteri acetici



Non rilevati o rilevati in concentrazioni trascurabili ( $\leq 10^2$ )



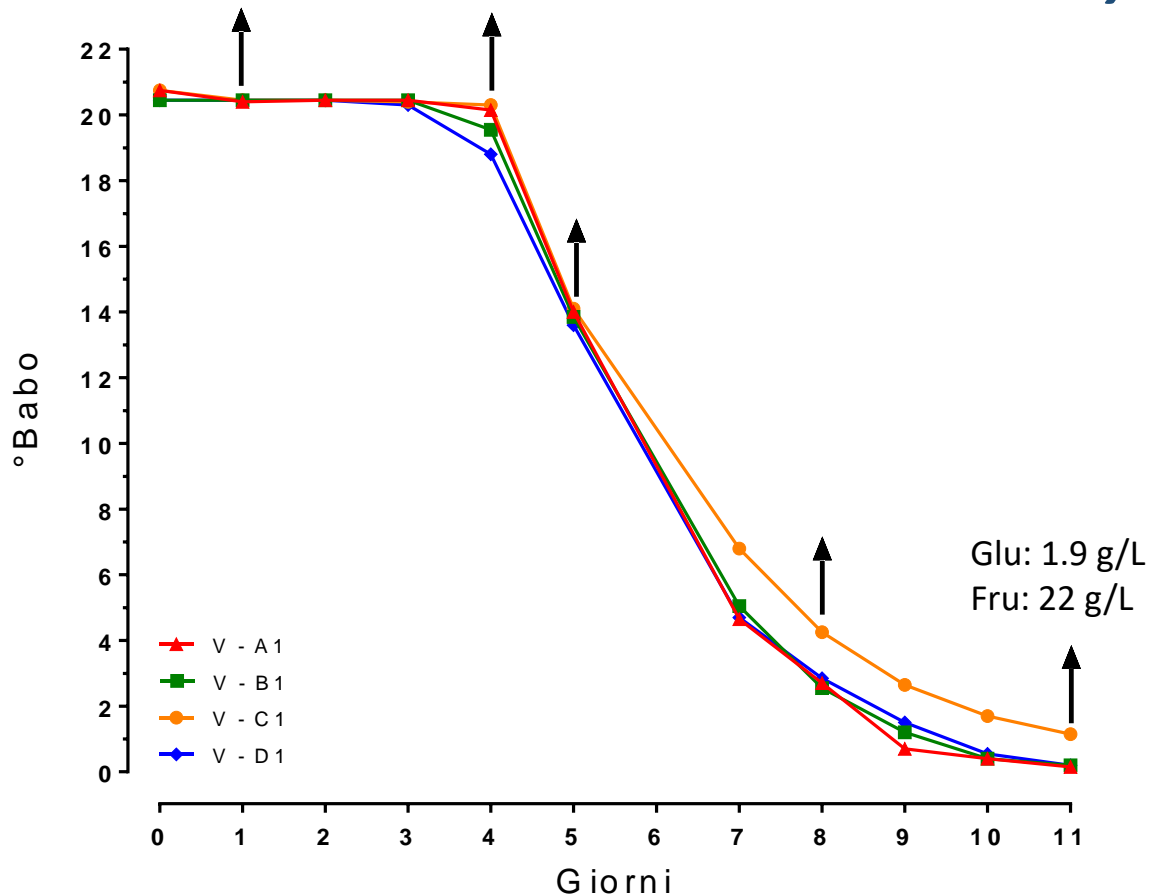
Fermentazione spontanea B1



Fermentazione spontanea C2

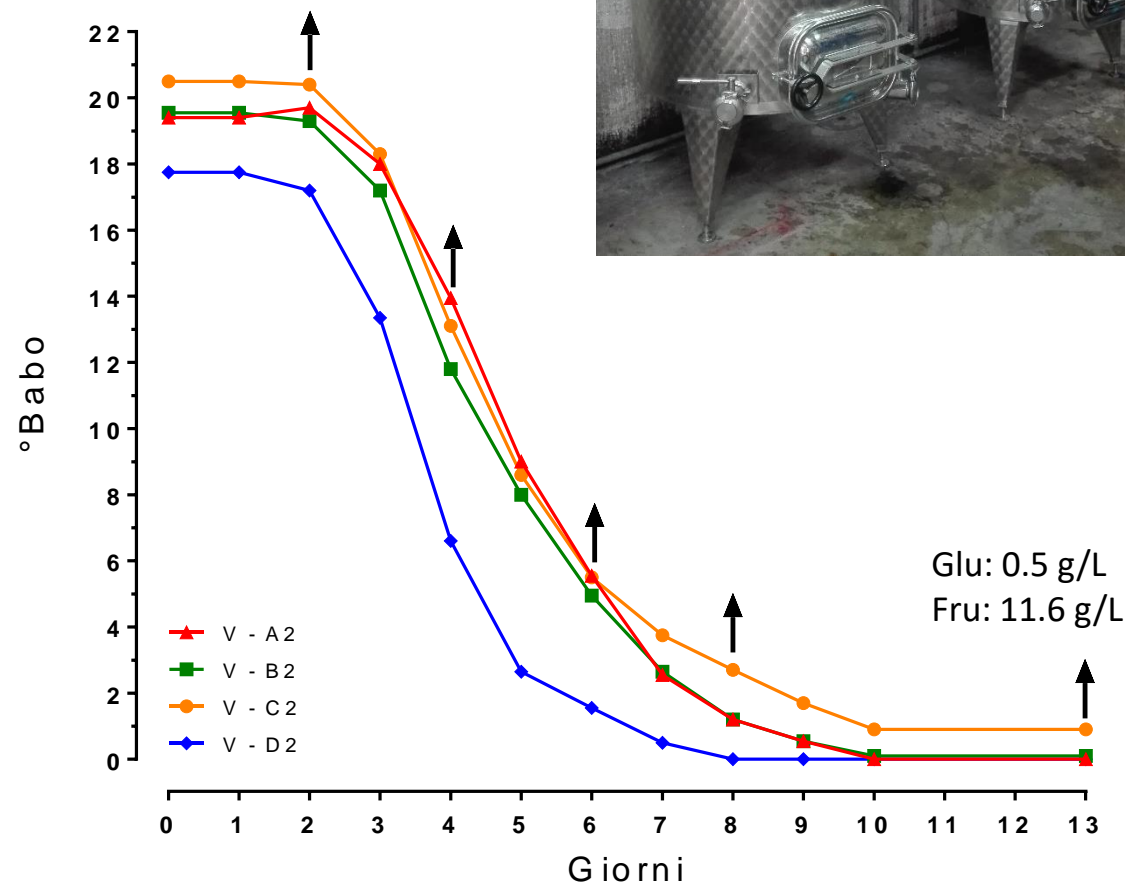


## Allestimento presso VICAS di vinificazioni spontanee per l'isolamento di lieviti *Saccharomyces cerevisiae*



Fermentazioni spontanee allestite il 12 Settembre 2016

Le frecce indicano i punti di prelievo dei campioni di mosto/vino per la ricerca dei lieviti *S. cerevisiae* autoctoni



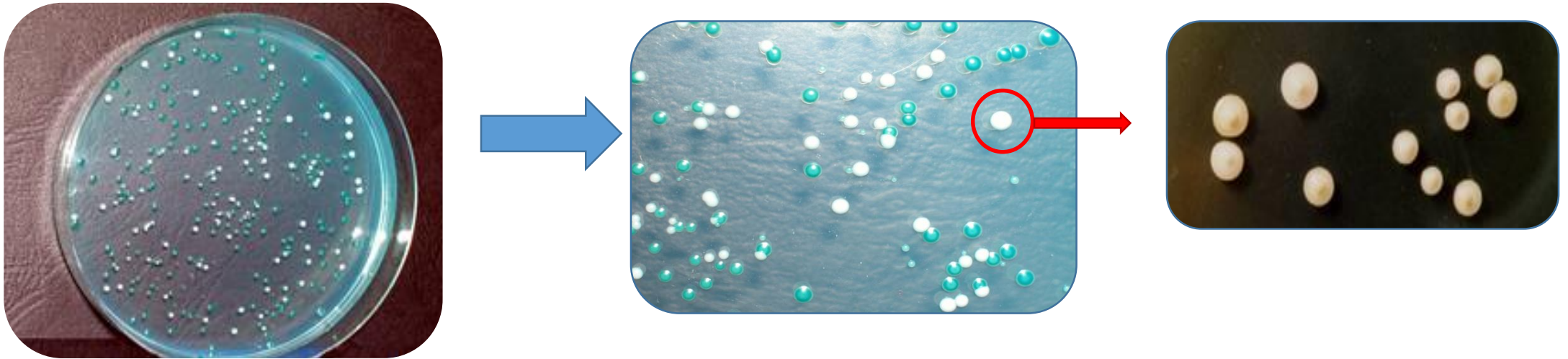
Fermentazioni spontanee allestite il 27 Settembre 2016



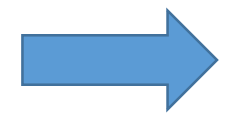


# Analisi microbiologiche dei mosti in fermentazione

## Isolamento e purificazione colonie di *Saccharomyces cerevisiae*



Strisci in piastra per ottenere colonie pure



**600 ISOLATI !!**



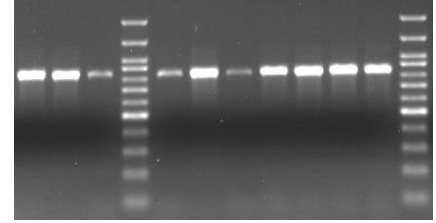
# Individuazione di ceppi appartenenti alla specie *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente diversi dagli starter usati normalmente dalla cantina

## FASI :

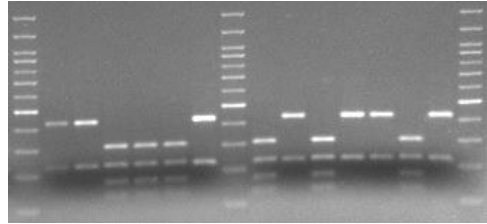
• Identificazione alla specie

Estrazione DNA

Amplificazione della regione ITS (Internal Transcribed Spacer) del rDNA



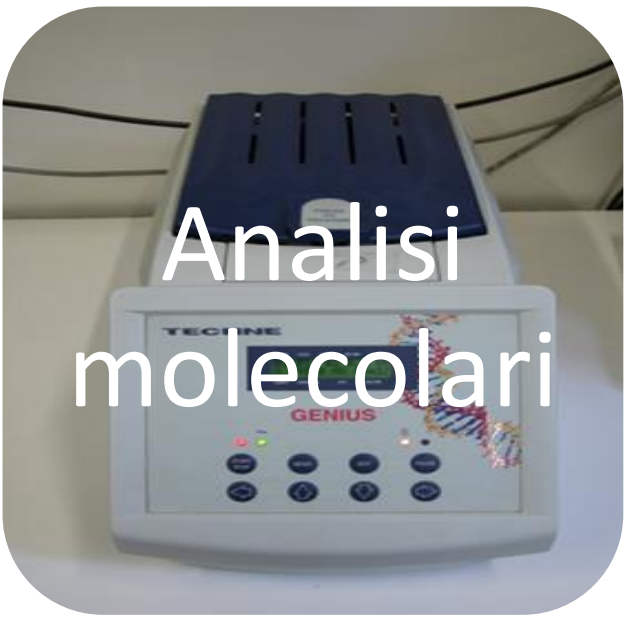
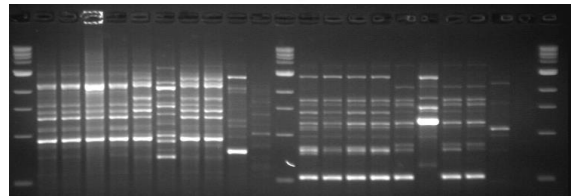
Digestione dell'amplicone ottenuto con enzimi di restrizione



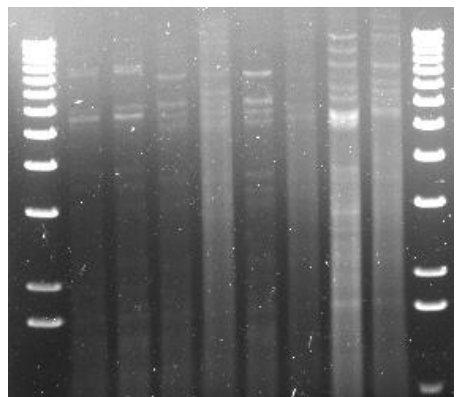
• Caratterizzazione al ceppo

Amplificazione delle regioni inter $\delta$  del DNA

Analisi dei profili di restrizione del DNA mitocondriale



Analisi  
molecolari



**Profili genetici diversi = CEPPI DIVERSI**



# Individuazione di ceppi appartenenti alla specie *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente diversi dagli starter usati normalmente dalla cantina

## 12 CEPPI STARTER UTILIZZATI IN CANTINA

LALVIN

Icv okay  
BM 45  
BM 4X4

ENARTIS

Red fruit  
Top essence  
Ferm AMR 01  
Q citrus  
Es 181

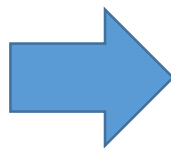
LAFFORT

Zymaflore x 16  
F 33

AEB fermol chardonnay

UVAFERM bdx

600 ISOLATI  
ANALIZZATI



Trovati 22 ceppi di  
*S. cerevisiae* indigeni della  
cantina VICAS!!!

Villa Montepaldi, San Casciano Val Di  
Pesa (FI), 5 luglio 2018

# Scelta di ceppi con le capacità tecnologiche e qualitative desiderate.

REGIONE  
TOSCANA

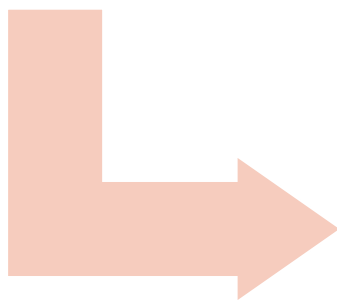


Villa Montepaldi, San Casciano Val Di  
Pesa (FI), 5 luglio 2018

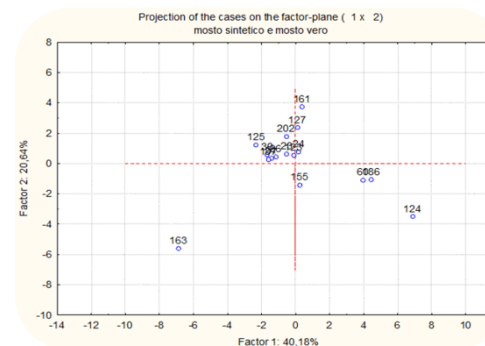


Micro-  
vinificazioni  
di laboratorio

- Valutazione delle capacità fenotipiche e tecnologiche in micro-vinificazioni su mosto sintetico e d'uva



- Saggi in piastra per produzione acido solfidrico e fattore Killer



- Elaborazione statistica dei dati per scegliere 6 ceppi migliori

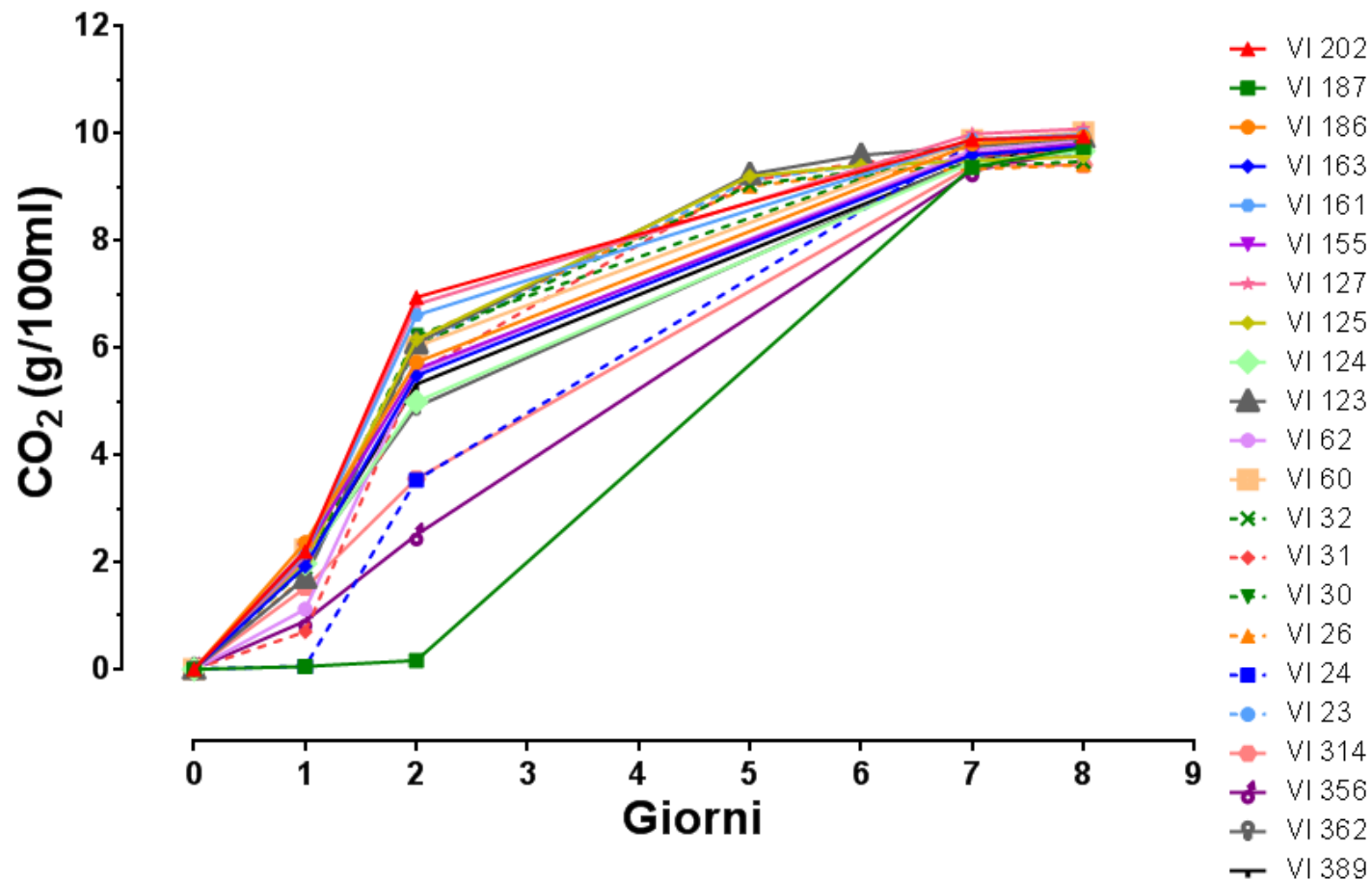
## Composizione mosto

	Mosto
<b>Analisi chimico-fisiche</b>	
pH	3,37
Acidità totale (g/l)	4,43
Acido malico enzimatico (g/l)	1,50
SO <sub>2</sub> libera (mg/l)	0
SO <sub>2</sub> combinata (mg/l)	22
Zuccheri (g/l) di cui:	230
Glucosio (g/l)	121
Fruttosio (g/l)	109
Azoto ammoniacale (mg/l)	56
Azoto aminoacidico (mg/l)	117
<b>Analisi microbiologiche (conta su piastra)</b>	
<b>Lieviti (UFC/ml):</b>	
<i>Kloeckera apiculata</i>	1,1x10 <sup>4</sup>
<i>Starmerella bacillaris</i>	3,5x10 <sup>3</sup>
Altri lieviti	5,2x10 <sup>2</sup>
Batteri lattici (UFC/ml)	2,0x10 <sup>3</sup>
Batteri acetici (UFC/ml)	1,7x10 <sup>2</sup>

- Capacità fermentativa
- Vigore fermentativo
- Produzione SO<sub>2</sub>
- Prodotti di fermentazione:  
Etanolo, glicerina, acidi organici



## Andamento delle fermentazioni dei 22 ceppi indigeni in mosto d'uva





# Scelta di ceppi con le capacità tecnologiche e qualitative desiderate

## Analisi chimiche (eseguite in doppio esprime come media) a fine fermentazione del Mosto d'uva

Ceppo	Glucosio g/L	Fruttosio g/L	Acido lattico g/L	Glicerina g/L	Acido acetico g/L	Etanolo %	SO <sub>2</sub> mg/L
23	0,2	0,5	0,13	6,6	0,34	12,4	51
24	0,2	0,9	0,13	5,2	0,42	12,4	26
26	0,2	0,5	0,15	7,1	0,37	12,4	64
30	0,2	0,3	0,13	6,8	0,53	12,5	99
31	0,2	0,3	0,14	7,2	0,52	12,5	38
32	0,2	4,7	0,18	7,1	0,76	12,2	64
60	0,3	3,9	0,17	6,0	0,40	12,4	38
62	0,2	3,7	0,11	6,7	0,46	12,2	26
123	0,2	1,5	0,12	6,5	0,43	12,5	51
124	0,3	3,8	0,12	5,6	0,47	12,3	45
125	0,2	0,3	0,15	6,7	0,42	12,6	77
127	0,3	0,7	0,17	5,2	0,40	12,5	26
155	0,3	6,6	0,12	5,9	0,47	12,3	51
161	0,2	0,8	0,20	6,7	0,28	12,5	26
163	0,2	2,2	0,08	10,1	1,14	12,1	134
186	0,2	1,7	0,13	5,8	0,34	12,5	26
187	0,2	0,8	0,09	5,8	0,43	12,5	45
202	0,2	0,8	0,17	6,0	0,30	12,4	26
314	0,2	1,5	0,12	5,5	0,45	12,1	35
356	0,3	2,9	0,15	6,5	0,43	12,2	53
362	0,2	2,3	0,16	5,7	0,53	12,5	44
389	0,2	1,6	0,13	6,2	0,48	12,4	69

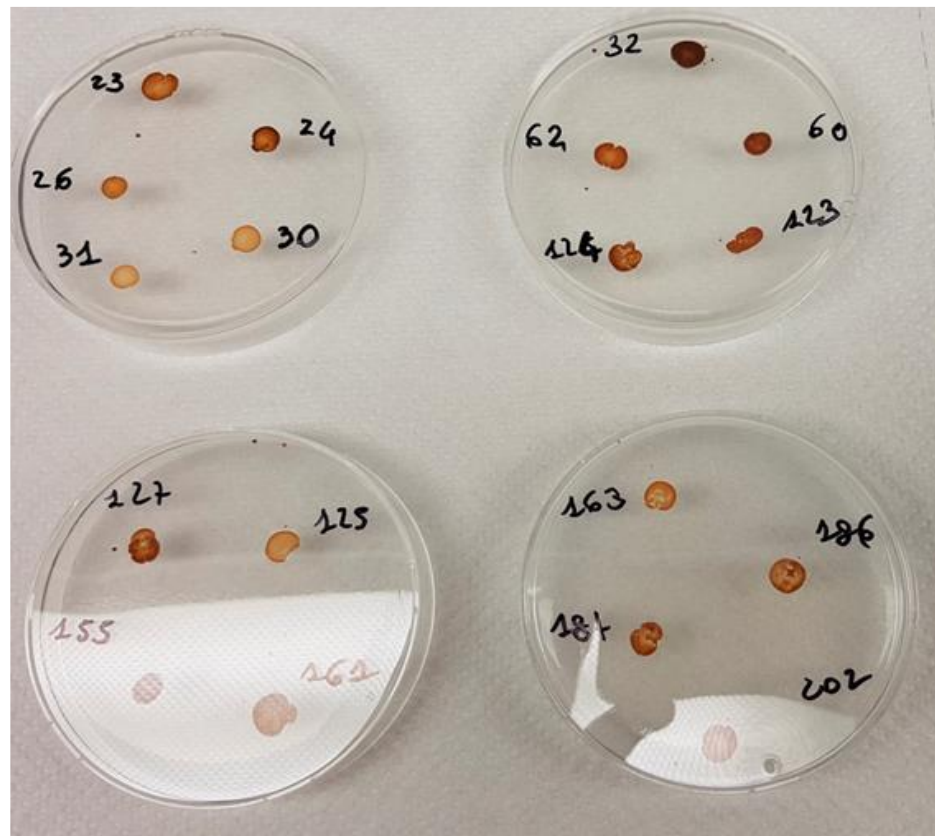




# Scelta di ceppi con le capacità tecnologiche e qualitative desiderate.

Villa Montepaldi, San Casciano Val Di Pesa (FI), 5 luglio 2018

Saggio qualitativo in piastra per valutare la capacità dei ceppi a produrre acido solfidrico (H<sub>2</sub>S)



	H <sub>2</sub> S
VI 23	++
VI 24	++
VI 26	++
VI 30	+
VI 31	+
VI 32	<del>+++</del>
VI 60	<del>++</del>
VI 62	++
VI 123	++
VI 124	++
VI 125	+
VI 127	++
VI 155	++
VI 161	++
VI 163	++
VI 186	++
VI 187	++
VI 202	++
VI 314	++
VI 356	+
VI 362	++
VI 389	++



## Scelta di ceppi con le capacità tecnologiche e qualitative desiderate.

Ceppo <i>S. cerevisiae</i>	Capacità fermentativa Zuccheri totali residui	Produzione Acido acetico	Produzione SO <sub>2</sub>	Vigore fermentativo	Produzione H <sub>2</sub> S	Origine varietale del ceppo di lievito
VI 23	●	●	●	●	●	Merlot
VI 24	●	●	●	●	●	
VI 26	●	●	●	●	●	Merlot
VI 30	●	●				
VI 31	●	●				
VI 32	●	●				
VI 60	●					
VI 62	●					
VI 123	●	●	●	●	●	Sangiovese
VI 124	●					
VI 125	●	●	●			
VI 127	●	●	●	●	●	Sangiovese
VI 155	●					
VI 161	●	●	●	●	●	Sangiovese
VI 163	●	●				
VI 186	●	●	●	●	●	Canaiolo
VI 187	●	●	●	●	●	
VI 202	●	●	●	●	●	Sangiovese
VI 314	●	●	●	●	●	
VI 356	●					
VI 362	●					
VI 389	●	●	●			

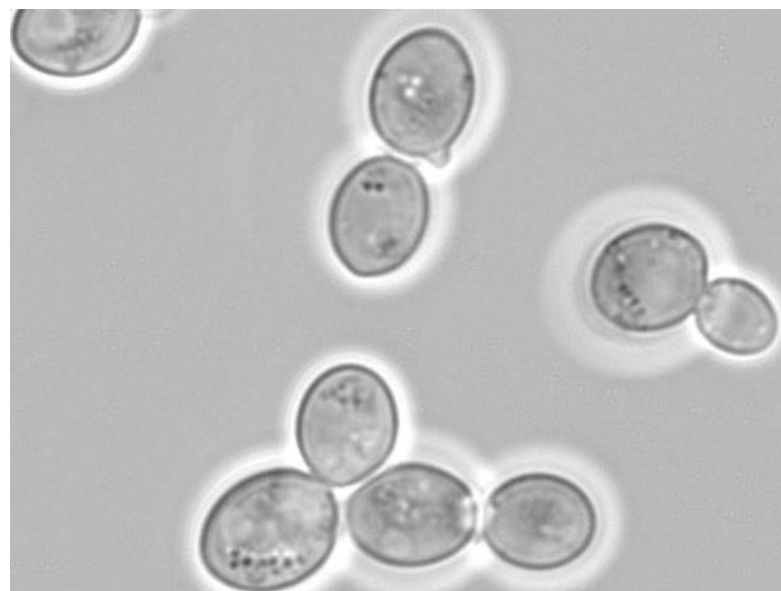
### Legenda

- Zuccheri totali residui a fine fermentazione ● zuccheri residui < 2 g/l,
- Acido acetico a fine fermentazione ● non produttore < 0,5 g/l
- Anidride solforosa a fine fermentazione ● non produttore < 50 mg/l,
- Vigore fermentativo CO<sub>2</sub> prodotto a 48 h dall'inoculo ● buon vigore fermentativo > 6 g/100 ml,
- Acido solfidrico ● non produttore, ● basso produttore, ● alto produttore

Scelta di ceppi con le capacità tecnologiche e qualitative desiderate.

Sono stati selezionati 6 ceppi di  
*S. cerevisiae* autoctoni di cantina

**VI23, VI123, VI127, VI161, VI186, VI202**



REGIONE  
TOSCANA



Villa Montepaldi, San Casciano Val Di  
Pesa (FI), 5 luglio 2018



GESAAF

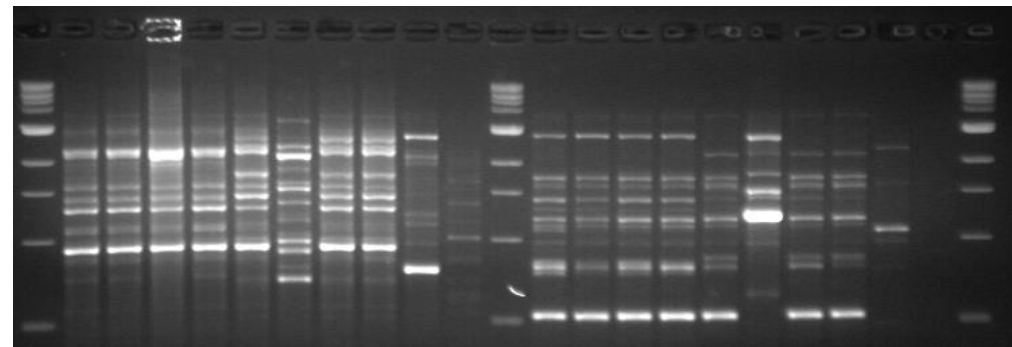
Dipartimento di  
Gestione dei Sistemi Agrari,  
Alimentari e Forestali

FOOD  
MACRO  
TEAM

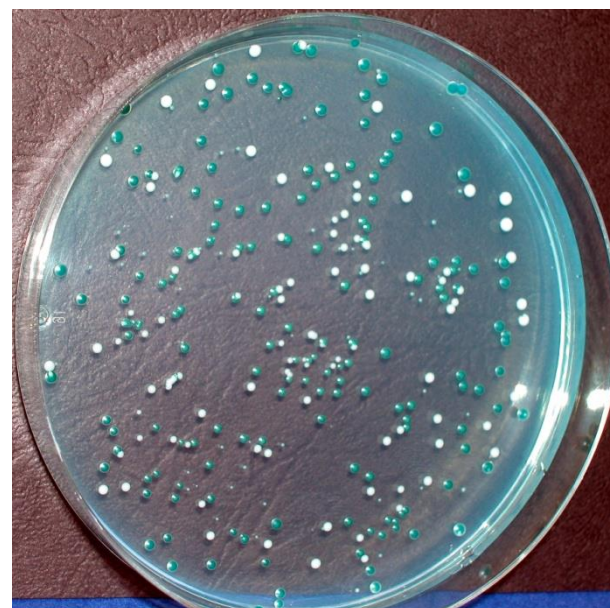
REGIONE  
TOSCANA



Villa Montepaldi, San Casciano Val Di  
Pesa (FI), 5 luglio 2018



# GRAZIE PER L'ATTENZIONE



FOOD  
MACRO  
TEAM