RISOLUZIONE OIV-OENO 739-2025

LINEE GUIDA PER LA VALUTAZIONE DELLE PROPRIETÀ FERMENTATIVE DEI CEPPI DI Saccharomyces cerevisiae

ATTENZIONE: La presente risoluzione verrà inserita in appendice alla risoluzione seguente:
• OIV-OENO 370-2012 LINEE GUIDA PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI LIEVITI VINARI DEL GENERE SACCHAROMYCES ISOLATI DA AMBIENTI VITIVINICOLI

L'ASSEMBLEA GENERALE,

VISTO l'articolo 2, paragrafo iv, dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

CONSIDERATI i lavori del Gruppo di esperti "Microbiologia",

DECIDE, su proposta della Commissione "Enologia", di aggiungere il paragrafo seguente alla premessa della risoluzione OIV-OENO 370-2012:

Per garantire una fermentazione alcolica di qualità nonché la produzione di vini con le proprietà sensoriali attese è necessario condurre una valutazione delle proprietà fermentative dei ceppi di *S. cerevisiae* (v. appendice 2). Condizioni sperimentali non idonee possono portare a risultati incoerenti che non riflettono la realtà di queste proprietà fermentative.

DECIDE di aggiungere il documento "Protocollo standardizzato per la valutazione delle proprietà fermentative dei ceppi di *S. cerevisiae*" come appendice alla risoluzione OIV-OENO 370-2012:

Appendice 2

LINEE GUIDA PER LA VALUTAZIONE DELLE PROPRIETÀ FERMENTATIVE DEI CEPPI DI *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUZIONE

L'utilizzo di ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* con caratteri selezionati riveste un ruolo di fondamentale importanza per modulare le caratteristiche finali del vino. Il

Esemplare certificato conforme Chișinău, 20 giugno 2025
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
John BARKER

© OIV 2025

primo passo verso l'ottenimento di starter vinari di *S. cerevisiae* è eseguire una selezione clonale basata sulla caratterizzazione enologica dei ceppi vinari di *S. cerevisiae*. Tale caratterizzazione si esegue mediante la valutazione di diversi caratteri fenotipici sulla base di processi fermentativi condotti su scala di laboratorio utilizzando terreni sintetici o mosti d'uva. Sebbene i mosti d'uva naturali possano essere considerati più adatti a ottenere una caratterizzazione affidabile dei lieviti vinari, le differenze nella loro composizione chimica influenzano le proprietà enologiche dei lieviti, rendendo difficile il confronto tra i vari ceppi di *S. cerevisiae* analizzati in laboratori diversi o nello stesso laboratorio in momenti diversi. Inoltre, i risultati di tale caratterizzazione possono essere notevolmente influenzati dalle condizioni sperimentali utilizzate per condurre le prove di fermentazione.

AMBITO DI APPLICAZIONE

La tabella 1 della presente appendice riporta un protocollo standardizzato e validato per la valutazione delle proprietà fermentative e metaboliche di ceppi vinari di *S. cerevisiae* in un terreno sintetico, che consente un confronto diretto e imparziale dei dati sperimentali ottenuti durante la caratterizzazione dei lieviti vinari effettuata da diversi laboratori.

Tabella 1. Protocollo per la standardizzazione delle prove di fermentazione su mosto sintetico

Fase	Procedimento
Ceppi di lievito da utilizzare	Ove applicabile, utilizzare lieviti secchi attivi (LSA) appartenenti allo stesso lotto, previa reidratazione. Se sono disponibili altre fonti, preparare l'inoculo liquido come segue: inoculare 100 µL della coltura madre in 5 mL di terreno fresco e incubando per 12 ore. Ripetere l'operazione tre volte per la standardizzazione dell'inoculo.
Preparazione del mosto sintetico	La composizione del mosto sintetico è reperibile nella tabella 1 della risoluzione OIV-OENO 370-2012.
Distribuzione del mosto sintetico	Utilizzare delle beute da 500 mL contenenti 350 mL di mosto sintetico e dotate di valvola di Müller. Le prove vengono eseguite in triplo (tre esperimenti indipendenti).

Esemplare certificato conforme Chișinău, 20 giugno 2025
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
John BARKER

© OIV 2025

Reidratazione dei lieviti	Secondo la risoluzione OIV/OENO 329/2009, la reidratazione di ciascun ceppo di LSA viene condotta come segue: • Pesare 1 g di LSA in condizioni asettiche, • Reidratare in 100 mL di acqua a temperatura tra i 36 e i 40 °C, in condizioni sterili, • Omogeneizzare lentamente per 5 min, con un'asta o un agitatore magnetico, • Lasciare riposare per 20 min sempre a una temperatura tra i 36 e i 40 °C, • Omogeneizzare ancora per 5 min a temperatura ambiente, • Prelevare 10 mL in condizioni sterili e procedere alla conta delle cellule vive del lievito utilizzando la camera di conta Thoma e soluzione di blu di metilene allo 0,1% (p/v).
Inoculo del ceppo di lievito	Inoculare il lievito reidratato, o la coltura liquida pre-coltivata, nel mosto sintetico per ottenere 2×10^6 cellule vitali/mL.
Condizioni della prova di fermentazione	Incubare le beute chiuse con valvole di Müller (contenenti acido solforico) a 25 °C o a 17 °C nel caso di vini rossi, bianchi e rosati, rispettivamente, in condizioni statiche per 15 giorni.
Monitoraggio della fermentazione	Controllare ogni giorno la perdita in peso dopo aver agitato manualmente ogni beuta per 1 min.
Predisposizione dei campioni per le analisi	Al termine della fermentazione, centrifugare a 3.000 × *g* 5 min a temperatura ambiente e separare le cellule dal surnatante.
Analisi chimiche	1. Le analisi chimiche dei vini risultanti devono essere eseguite alla fine della fermentazione alcolica (zuccheri residui <2 g/L). 2. Analisi chimiche da eseguire: contenuto di etanolo, glucosio, fruttosio, glicerolo e acido acetico; concentrazione di acetaldeide, 1-propanolo, 2-metil-1-butanolo, acetato di etile, 2-metil-1-propanolo e 3-metil-1-butanolo. 3. La resa dei prodotti della fermentazione (etanolo, glicerolo e acido acetico) deve essere standardizzata calcolando le quantità di prodotti della fermentazione per unità di zucchero consumata. 4. L'analisi deve essere eseguita secondo i metodi ufficiali dell'OIV presso un laboratorio certificato.

Esemplare certificato conforme Chișinău, 20 giugno 2025
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
John BARKER

© OIV 2025

PRINCIPIO DEL PROTOCOLLO

Il protocollo indica le diverse fasi e, per ciascuna fase, le procedure dettagliate da eseguire per definire le condizioni standard da applicare per la caratterizzazione delle proprietà enologiche dei ceppi di *S. cerevisiae*. Questo protocollo è stato validato eseguendo fermentazioni comparative su scala interlaboratorio, utilizzando sia terreni sintetici che mosti d'uva, nonché verificando che i risultati ottenuti siano ripetibili, riproducibili e statisticamente validi. Le condizioni per garantire la replicabilità sono date dall'uso di condizioni sperimentali standardizzate (calcolando le quantità di prodotti fermentativi per unità di zucchero consumata) nonché dal trattamento accurato dei dati, compresa la combinazione di test non parametrici e analisi di raggruppamento (*clustering*).

Riferimenti bibliografici

1. Romano, P., *et al.*, (2022) "Validation of a standard protocol to assess the fermentative and chemical properties of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains", *Frontiers in Microbiology,* 13: 830277. doi: 10.3389/fmicb.2022.830277

Esemplare certificato conforme Chișinău, 20 giugno 2025
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
John BARKER

© OIV 2025