

# Bioprotezione

## dalle contaminazioni microbiche nei mosti rossi con una specifica *Metschnikowia pulcherrima*

La crescente spinta del mercato per vini più salubri e con un basso livello di solfiti accompagnata da un costante aumento del pH, che rende le aggiunte di solforosa sempre meno efficaci, ha indotto il mondo della ricerca, pubblica e privata, a focalizzarsi nella ricerca di soluzioni biologiche naturali alternative all'utilizzo di solfiti, tra queste i lieviti non-*Saccharomyces* presentano interessanti capacità bioprotettive nei confronti delle specie contaminanti. L'Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV) in collaborazione con Lallemmand ha selezionato in Borgogna un ceppo specifico di *Metschnikowia pulcherrima* (nome commerciale LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™) per la bioprotezione dalle contaminazioni microbiche nei mosti rossi.

### La potente azione antimicrobica nei mosti rossi: moltiplicazione e colonizzazione

L'azione di bioprotezione di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ è legata alla sua elevatissima capacità di moltiplicazione e colonizzazione del mezzo in grado di impedire la proliferazione dei microrganismi contaminanti. Questa capacità è mantenuta anche a basse temperature come riscontrato in una sperimentazione condotta su Pinot nero dall'IFV di Beaune du-

Figura 1 - Conta microbica dei lieviti su mosto di Pinot nero - IFV, Beaune, Francia, 2020. Comparazione tra mosto aggiunto di 10 g/hL di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ prima della macerazione prefermentativa a freddo (5 giorni a 10°C) e un mosto controllo aggiunto di 2,5 g/q uva di SO<sub>2</sub>

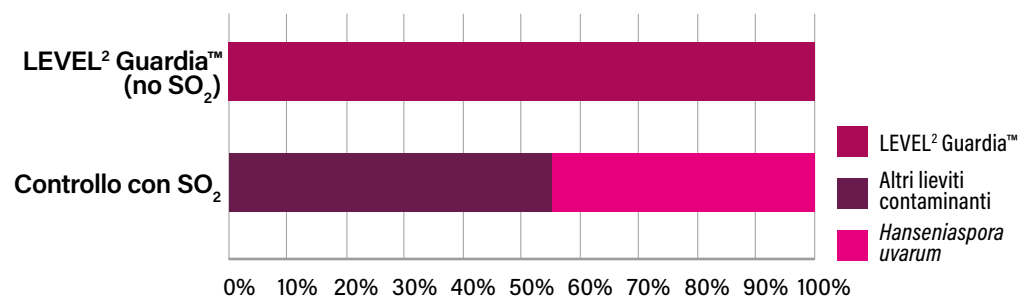


Figura 2 - Conta microbica dei lieviti su mosto Grenache - INCAVI, Spagna, 2020. Comparazione tra mosto aggiunto di 10 g/hL di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ prima della macerazione prefermentativa a freddo (5 giorni a 10°C) e un mosto controllo senza bioprotezione. Nessuna aggiunta di solfiti in entrambe le tesi

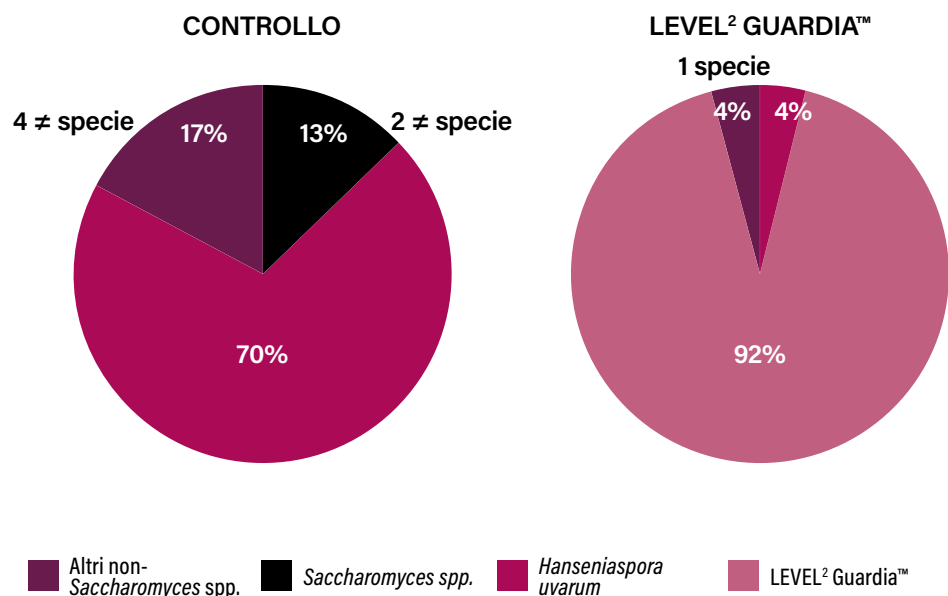
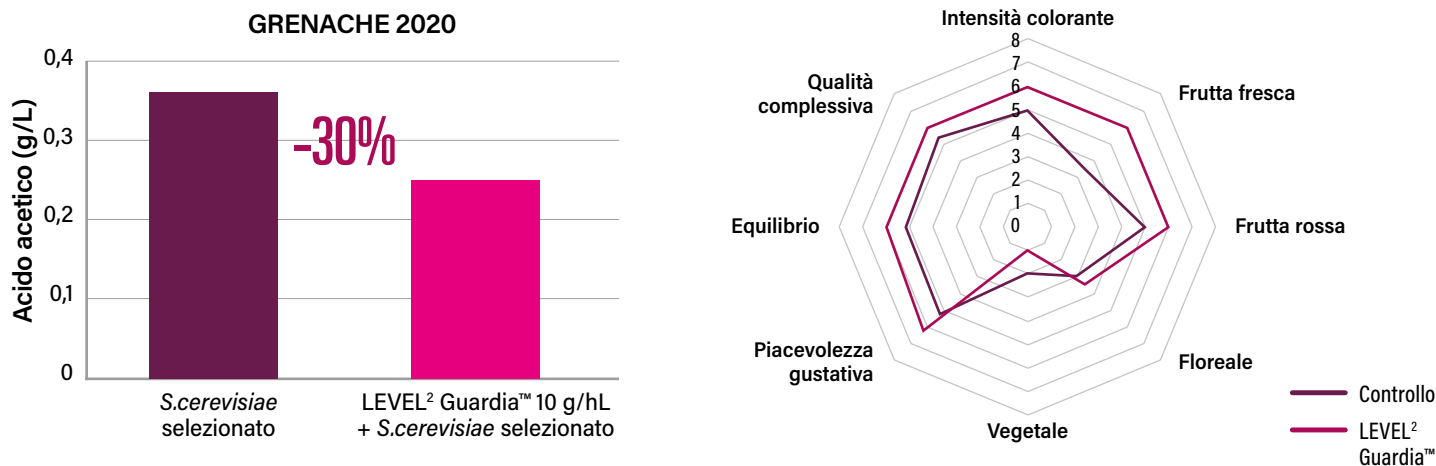


Figura 3 - Misura dell'acidità volatile e valutazione organolettica eseguita da panel professionale alla fine della fermentazione alcolica su vino Grenache - INCAVI, Spagna, 2020. Comparazione tra vino aggiunto di 10 g/hL di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ e controllo senza bioprotezione. Nessuna aggiunta di solfiti in entrambe le tesi



rante una macerazione prefermentativa a freddo -MPF (5 giorni a 10°C). I dati della prova mostrano come LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ sia in grado di colonizzare il mezzo azzerando nei 5 giorni di MPF a freddo la popolazione sia di *Hanseniaspora uvarum*/*Kloeckera apiculata* che degli altri contaminanti rispetto ad un mosto controllo con aggiunta di solforosa (2,5 g/q di SO<sub>2</sub>) (Figura 1).

In un'altra sperimentazione condotta su Grenache 2020 (INCAVI, Spagna) con macerazione prefermentativa a freddo (5 giorni a 10°C) è stata nuovamente comparata la capacità antimicrobica e di colonizzazione di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ (utilizzata a 10 g/hL) rispetto ad un mosto controllo senza alcuna aggiunta. I risultati dimostrano come la bioprotezione esercitata da questa *M. pulcherrima* permetta un'importante riduzione della popolazione contaminante (*Hanseniaspora uvarum* e altri non-*Saccharomyces*) (Figura 2). Entrambe le vasche sono state successivamente inoculate con lo stesso *S. cerevisiae* e hanno seguito lo stesso protocollo di lavorazione. Come mostrato in Figura 3 l'acidità volatile misurata alla fine della fermentazione alcolica è risultata essere inferiore nel vino bioprotetto

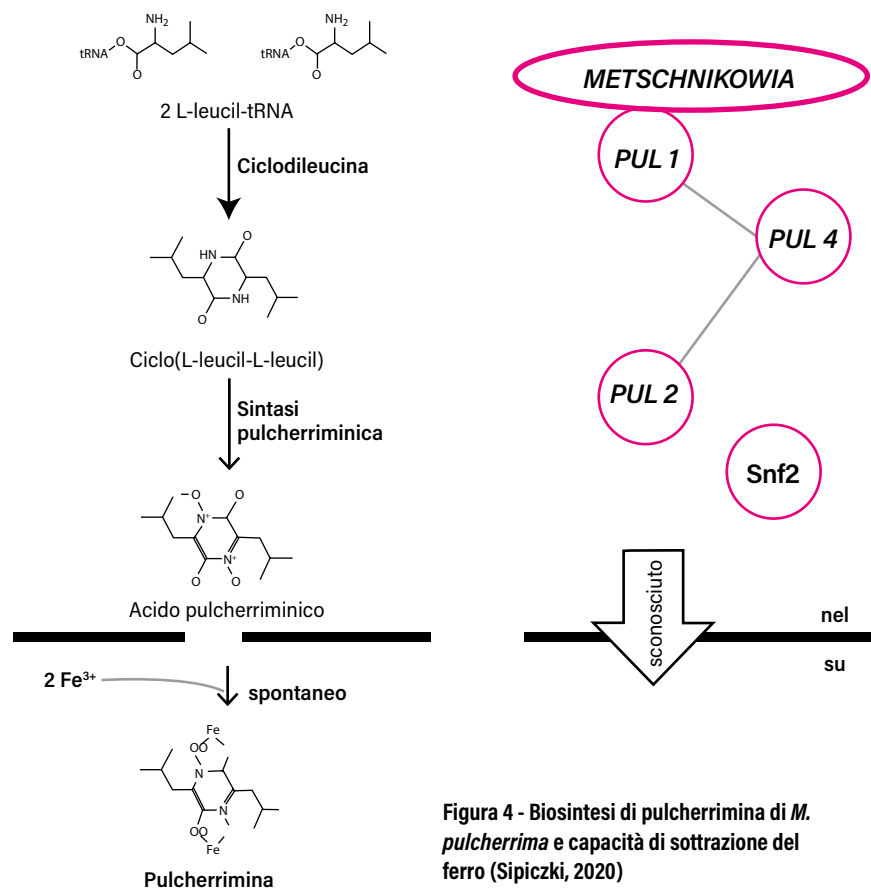


Figura 4 - Biosintesi di pulcherrimina di *M. pulcherrima* e capacità di sottrazione del ferro (Sipiczki, 2020)

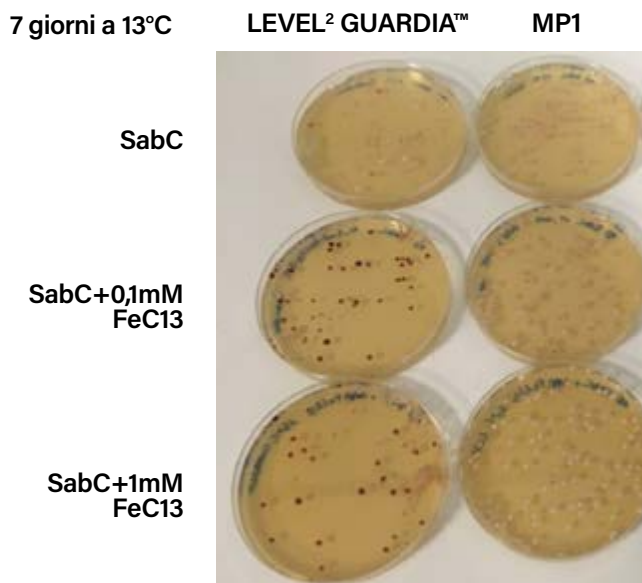
con LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ che ha anche mostrato un profilo organolettico più ampio. Il vino si è caratterizzato per avere maggiori sentori fruttati ed un maggior equilibrio in bocca oltre ad essere valutato di livello qualitativo superiore.

### Il meccanismo alla base dell'azione antimicrobica

La specie *Metschnikowia pulcherrima* presenta un'elevata variabilità intra specie e per questo motivo è fondamentale, in fase di selezione, analizzare al meglio gli aspetti spe-

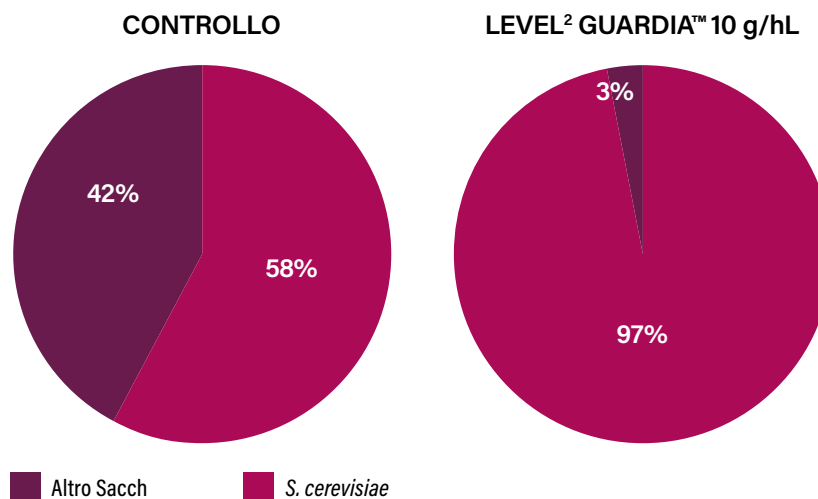
cifici del ceppo in funzione dell'applicazione che si sta considerando. LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ presenta un meccanismo d'azione unico dato dalla sua elevata capacità di produzione di acido pulcherriminico. Quest'acido, senza alcun impatto sensoriale, viene prodotto naturalmente in quantità variabile a seconda della specie e del ceppo di lievito; in particolare *M. pulcherrima* possiede geni specifici (PUL1, PUL2, PUL4, Snf2) che ne permettono la sintesi. L'acido pulcherriminico prodotto dal lievito e rilasciato nel mosto reagisce con il ferro libero presente nel mezzo con conseguente chelazione del ferro e produzione di pulcherrimina (Figura 4). Poiché il ferro libero è un elemento fondamentale per la crescita di specie contaminanti (come *Hanseniaspora uvarum*) il suo esaurimento nel mezzo, ottenuto per via del legame chelante con l'acido pulcherriminico, determina una riduzione consistente della proliferazione di

**Figura 5 - Crescita di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ su un terreno specifico SabC con diverse concentrazioni e senza ferro per 7 giorni a 13° C in confronto ad un altro ceppo di *M.pulcherrima* (prova condotta nel Laboratorio R&D Lallemand, Francia)**



Amandine Deroite 2021, Blagnac Lab Lallemand Oeno

**Figura 6 - Conta microbica a metà della fermentazione alcolica in un Grenache - INCAVI, Spagna, 2020). Comparazione tra vino aggiunto di 10 g/hL di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ e controllo senza bioprotezione. Nessuna aggiunta di solfiti in entrambe le tesi**



microrganismi indesiderati rendendo l'ambiente inadatto alla loro crescita. Questa proprietà unica è confermata dalla crescita su specifici terreni di coltura di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ contenenti ferro libero. La pulcherrimina su questi substrati assume una colorazione rosa tanto più intensa quanta più pulcherrimina è prodotta (Figura 5). Il confronto di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ con un'altra *M. pulcherrima* conferma le differenze all'interno della specie nella sottrazione del ferro.

## I benefici durante la fermentazione alcolica

L'elevata capacità di chelare il ferro libero nel mosto risulta quindi una proprietà essenziale in condizioni prefermentative per evitare la proliferazione di lieviti contaminanti; l'esaurimento del ferro nel mosto non influenza le performance di *S.cerevisiae* che, grazie ai geni PUL3 e PUL4 identificati nel proprio genoma (Krause et al, 2018), presenta la capacità di scindere nuovamente il legame tra l'acido pulcherriminico e il ferro, utilizzando quest'ultimo per le proprie funzioni metaboliche. Durante numerose prove la colonizzazione di *S.cerevisiae* si è dimostrata essere ancora più efficiente a seguito dell'inoculo di LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ in

fase prefermentativa; ad esempio in Figura 6 viene mostrata una prova effettuata in Spagna dall'INCAVI in cui è stata condotta una conta microbica a metà della fermentazione alcolica su una Grenache 2020 inoculato in fase prefermentativa con LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ in comparazione ad un vino senza aggiunte; la dominanza di *S.cerevisiae* si è dimostrata migliore nel vino aggiunto in precedenza con LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™. LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ è uno strumento ideale per la bioprotezione nei primi step della vinificazione in rosso, dalla raccolta delle uve all'inoculo del *S.cerevisiae*, soprattutto durante le macerazioni prefermentative a freddo, consentendo di limitare l'apporto di SO<sub>2</sub>; questa soluzione naturale consente di preservare il profilo aromatico del vino evitando la comparsa di deviazioni organolettiche indesiderate capaci di compromettere la qualità globale.

