

MICROORGANISMI BREVETTATI PRESSO IL CENTRO DI RICERCA PER L'ENOLOGIA

A. Costantini, M. C. Cravero, F. Bonello, F. Doria, E. Garcia-Moruno

Presso il Centro di Ricerca per l'Enologia (CRA-ENO) sono stati condotti e si conducono diversi progetti relativi a tematiche di attualità. Alcuni studi riguardano argomenti di sicurezza alimentare, come quelli rivolti ai contaminanti micotici delle uve e dei vini e alle origini della presenza di **ammine biogene** nei vini. Altri contributi riguardano gli studi relativi al **Brettanomyces**, lievito responsabile della produzione di etilfenoli e alle strategie innovative per controllare il suo sviluppo e migliorare la qualità dei prodotti. Grande interesse, inoltre, riveste la ricerca sui **lieviti** e **batteri autoctoni**, per conoscerne meglio le potenzialità di espressione nel vino, valorizzare i territori di origine dei vari prodotti, promuovere la biodiversità. Inoltre, presso il centro, si conserva una collezione di lieviti e batteri d'interesse enologico. Altri studi sono poi rivolti alla tecnologia e chimica enologica e all'**analisi sensoriale**.

I risultati di due studi condotti presso il centro hanno portato al deposito di altrettanti brevetti, che vengono di seguito descritti.

Malolattica e *P. damnosus*

Si tratta di una procedura per la realizzazione della fermentazione malolattica con ceppi di *Pediococcus damnosus* (A) e colture che ne contengono.

Il CRA-ENO, in collaborazione con il Consejo Superior de Investigacio-



(B) - Laboratorio di analisi sensoriale del CRA-ENO

nes Científicas (CSIC, Madrid, Spagna) ha brevettato due starter batterici: N. brevetto P201230589 N. PCT: PCT/ES2013/070246.

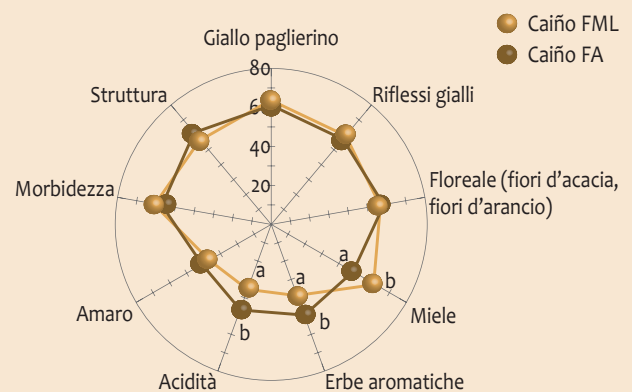
Questo brevetto riguarda due ceppi autoctoni di *Pediococcus damnosus*, isolati da vino "Caiño branco" (Galizia, Spagna) per la realizzazione della fermentazione malolattica in vini ottenuti dalle varietà **Albariño** e **Caiño branco** e, più in generale, di vini caratterizzati da un pH alto. Albariño e Caiño sono vini ottenuti da uve coltivate in Galizia, nel nord della Spagna, utilizzate per la produzione di vini bianchi a denominazione di origine, in cui il profilo aromatico è una componente importante della qualità del prodotto.

In questo studio sono stati isolati ceppi batterici da vino Caiño branco alla fine della fermentazione alcolica (FA) che sono stati poi caratterizzati con tecniche di biologia molecolare. Si è osservato che questi batteri erano dei *Pediococcus damnosus* in grado di predominare sullo starter commerciale di *Oenococcus oeni* che era stato inoculato nei vini a fine FA, e di portare a termine la Fermentazione malolattica.

Questi ceppi sono stati poi inoculati in vino Albariño dove hanno ugualmente portato poi a termine la FML. I vini in studio sono stati assaggiati prima e dopo FML da parte di un panel di assaggiatori esperti, nel laboratorio di analisi sensoriale del centro (B). Si è osservato che questi batteri hanno contribuito a migliorare le caratteristiche organolettiche dei vini (Juega *et al.*, 2014).

I vini dopo FA (fermentazione alcolica) si presentavano caratterizzati da profumi freschi, floreali (fiori di acacia e fiori d'arancio) e fruttati (frutti tropicali, agrumi, banana, pesca, pera), con sentori di miele ed erbe aromatiche. Dopo la FML condotta con i ceppi di *Pediococcus damnosus* il vino ha mantenuto i profumi floreali, ha

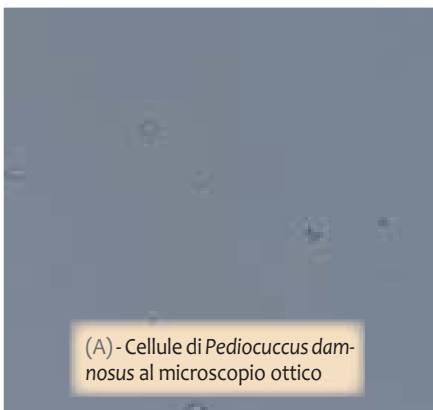
(C) - Profilo sensoriale dei vini Caiño a fine FA e a fine FML. (lettere diverse indicano differenze significative - ANOVA e test di Tuckey, p=95%)



perso i profumi fruttati, inoltre sono diminuiti in maniera statisticamente significativa anche i sentori di erbe aromatiche e l'acidità, mentre sono aumentate le note di miele. In (C) si riportano i profili sensoriali, con i descrittori comuni ai vini a fine FA e a fine FML.

Caratteristiche innovative

I *Pediococcus*, anche se presenti nel vino, non vengono utilizzati come starter per la fermentazione malolattica, perché alcuni ceppi appartenenti a questo genere hanno caratteristi-



(A) - Cellule di *Pediococcus damnosus* al microscopio ottico

che negative per il vino, in particolare la produzione di **esopolisaccaridi** o di **ammine biogene**, e sono considerati generalmente dei contaminanti. I ceppi isolati in questo studio non hanno però queste proprietà negative e presentano una serie di vantaggi rispetto ai ceppi di *O. oeni* comunemente utilizzati come starter malolattici. Questi ceppi di *Pediococcus* sono particolarmente adatti nel caso di vini, come Caiño e Albariño, che sono caratterizzati da **pH** più alti; in queste condizioni *O. oeni* può produrre alte quantità di acido acetico, con il conseguente deprezzamento del vino. In più, i ceppi di *Pediococcus* crescono molto più rapidamente di quelli di *O. oeni*, facilitando l'ottenimento di biomassa per l'inoculo. I ceppi isolati non sono produttori di acido acetico e conferiscono al vino caratteristiche organolettiche positive, in particolare aromi come la **vaniglia** e il **miele** (quest'ultimo già presente prima della FML, ma con un'intensità minore).

Un successivo passo della ricerca sarebbe la sperimentazione di questi ceppi in altri vini e diverse condizioni di pH.

Degradazione di Ocratossina A

L'Ocratossina (OTA) è una micotossina prodotta da funghi che contaminano un gran numero di alimenti (quasi tutti i cereali, caffè, cacao, uva, spezie), di conseguenza l'OTA si ritrova anche in alimenti derivati come carne di maiale e prosciutto, e bevande come birra e vino. Questa micotossina ha effetti negativi sulla salute: è nefrotossica e potenzialmente cancerogena e si ritiene responsabile della malattia endemica dei Balcani. Oltre ai problemi di sicurezza alimentare, la presenza di OTA può

causare problemi economici, in quanto impedisce la commercializzazione di un alimento se supera i limiti di OTA stabiliti dalla legge. I metodi chimico-fisici per ridurre il contenuto di micotossine negli alimenti possono eliminare sostanze nutritive o sostanze importanti dal punto di vista organolettico. Per questo motivo si considera molto interessante, nel settore alimentare, la **biodegradazione** o **biotrasformazione** in prodotti meno tossici attraverso l'uso di enzimi o microrganismi. Attualmente ci sono pochissimi microrganismi, descritti in letteratura, che sono in grado di degradare parzialmente l'OTA e si tratta di organismi molto lontani dal settore alimentare e biotecnologico.

L'oggetto dell'invenzione riguarda ceppi di *Brevibacterium* (D) che degradano completamente l'OTA in **ocratossina alpha** (un metabolita descritto come non tossico dell'OTA) e **L-fenilalanina** e che quindi possiedono l'enzima responsabile di questa degradazione (Rodriguez et al., 2011).

Uno dei possibili vantaggi, sia nell'utilizzo diretto di *Brevibacterium* sia nel suo sfruttamento come fonte della proteina che può degradare l'OTA (E), è che questi batteri già si utilizzano a livello industriale per altri scopi biotecnologici. Inoltre, i batteri delle specie *Brevibacterium linens* e *B. casei* sono già utilizzati nella catena alimentare come colture starter per alcuni tipi di formaggio e potrebbero quindi essere utilizzati



(D) - Colonie di *Brevibacterium* su substrato di coltura

direttamente sugli alimenti potenzialmente contaminati, come i mangimi degli animali, che possono essere la causa della presenza di OTA nei prodotti di origine animale.

Interessate all'invenzione potrebbero essere sia le imprese che producono *Brevibacterium spp.* come starter per formaggi, sia per altre applicazioni biotecnologiche (esistono un brevetto europeo e 5 brevetti giapponesi per varie applicazioni di questo organismo). Il campo di applicazione potrebbe riguardare in particolare i cereali, sia in campo che in silos, ed il trattamento di mangimi per animali.

Questo brevetto europeo WO 2012/025657 A1 è ora in corso di brevetazione negli USA.

Conclusioni

Nell'ottica di favorire da un lato la protezione della salute dei consumatori e dall'altro le aziende in campo enologico, è necessario portare avanti delle tecnologie innovative in grado di rispondere alle attuali esigenze pratiche. Queste tecnologie partono dalla ricerca in laboratorio, ma hanno come obiettivo quello di aiutare le imprese a risolvere alcune problematiche e/o a migliorare la qualità dei prodotti.

Bibliografia disponibile sul sito viten.net

A. Costantini, M. C. Cravero, F. Bonello, F. Doria, E. Garcia-Moruno

Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro ricerca per l'enologia (CRA-ENO)
Via P. Micca 35, 14100, Asti
emilia.garciamoruno@entecra.it

(E) - Relazione diretta tra la degradazione di Ocratossina A (OTA) e conseguente incremento di Ocratossina α (OT α), metabolita non tossico per la salute umana

