



## Lieviti in grado di rimuovere l'Ocratossina A dai vini

L'Ocratossina A (OTA) è una micotossina prodotta da funghi dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* in numerosi alimenti, tra cui uva e bevande alcoliche, cacao, caffè. È presente soprattutto nei vini rossi e, in misura minore, nei vini bianchi e rosati. Uno studio condotto nel 2014 ha mostrato come il 60% dei vini europei (italiani, spagnoli, greci, ungheresi e croati) sia contaminato da questo composto, con concentrazioni variabili tra gli 0,007 e i 2,79 ng/mL. La legislazione attuale consente un contenuto massimo pari a 2 ng/mL.

La presenza dell'OTA nei vini rappresenta una sfida ed un rischio per la salute del consumatore, per i noti effetti fisiologici di questa micotossina (disfunzioni renali), ma soprattutto per le evidenze scientifiche che la collocano tra i possibili pro-oncogeni. Sono stati proposti diversi approcci chimico-fisici per la rimozione dell'OTA, ma la "bioremediation" (ovvero la decontaminazione operata dai microrganismi) rappresenta la strada più promettente ed innovativa.

Un altro concetto emergente nella microbiologia alimentare è quello degli starter funzionali, ovvero di colture starter che alle classiche funzioni di avviare, condurre e portare a termine la fermentazione, aggiungano una funzione in più, ovvero un effetto diretto o indiretto sulla salute dell'uomo al momento del consumo dell'alimento o sulle proprietà nutrizionali della matrice.

Al fine di selezione degli starter funzionali di *Saccharomyces cerevisiae* in grado di rimuovere l'OTA dal vino è stato avviato un programma di selezione di lieviti autoctoni dal vitigno Uva di Troia presso il laboratorio di Microbiologia Predittiva del Dipartimento SAFE dell'Università di Foggia. Da 30 isolati di *S. cerevisiae*, mediante ITS-PCR e analisi inter-delta sono stati individuati 11 biotipi differenti. Ciascun biotipo è stato studiato in relazione alle seguenti caratteristiche: i) concentrazione di etanolo e glicerolo e acidità volatile prodotti durante una micro-fermentazione; ii) rimozione di OTA. Nella prima fase le performance dei lieviti sono state confrontate con quelle di un ceppo di *S. cerevisiae* commercialmente disponibile (BM 45).

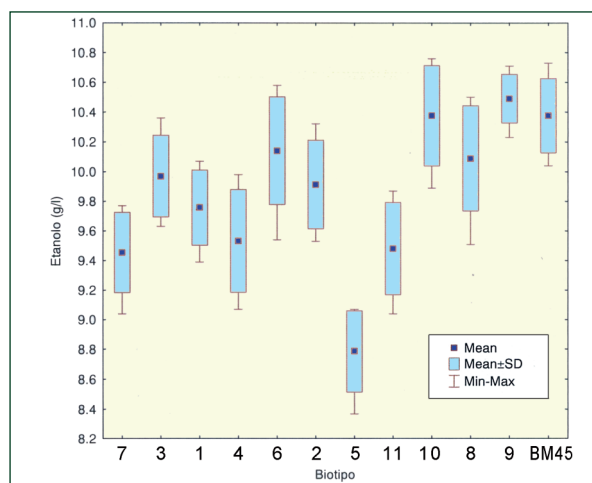


Figura 1 - Concentrazione di etanolo prodotta dagli 11 biotipi, confrontata con il ceppo BM 45.

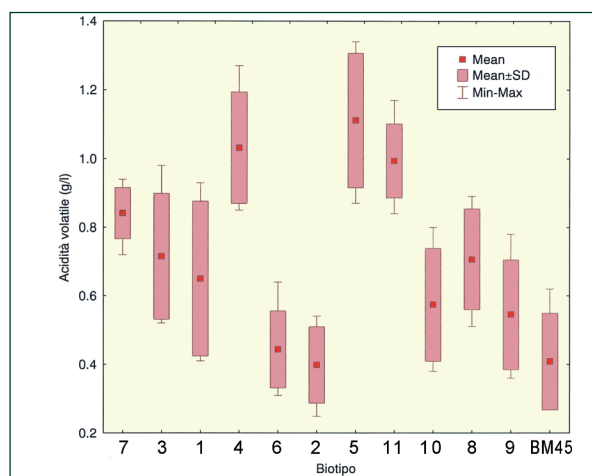


Figura 2 - Purezza fermentativa dei biotipi, in termini di acidità totale a fine saggio.

La concentrazione di etanolo prodotta su scala di laboratorio era compresa nell'intervallo 8,4-10,8 g/L, con alcune differenze tra i diversi biotipi. Il biotipo 5 ha prodotto la più bassa concentrazione di etanolo, con una media di 8,8 g/L; alcuni biotipi, al contrario, hanno presentato delle performance sovrapponibili a quelle dell'isolato commerciale (ad esempio i biotipi 6, 8, 9 e 10),

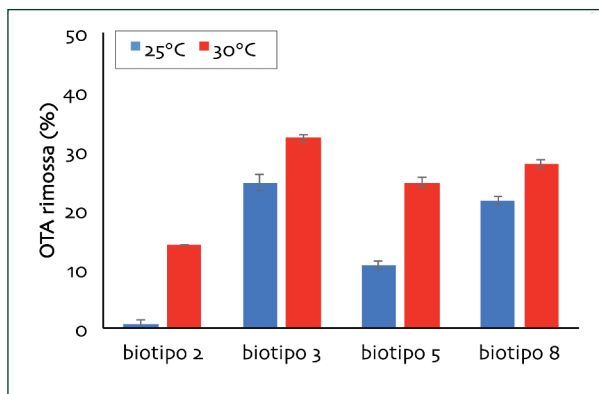


Figura 3 - Percentuale di OTA rimossa nel mezzo sintetico con una concentrazione zuccherina iniziale di 200 g/l (media  $\pm$  deviazione standard).

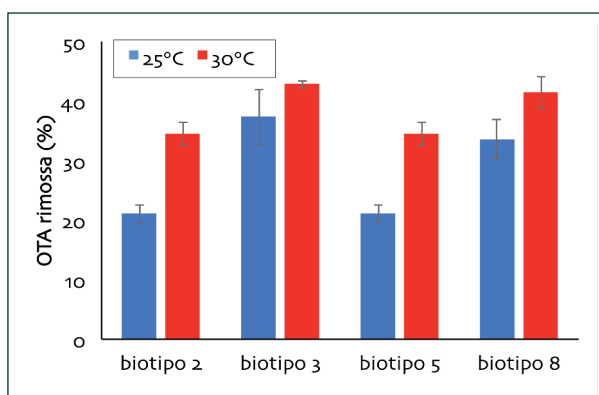


Figura 4 - Percentuale di OTA rimossa nel mezzo sintetico con una concentrazione zuccherina iniziale di 250 g/l (media  $\pm$  deviazione standard).

con una concentrazione media di alcol prodotto pari a 10,1-10,4 g/L (Figura 1).

Le performance dei lieviti sono state studiate anche in relazione ad altri due parametri, quali il glicerolo e l'acidità volatile, come indici della purezza fermentativa dei target microbici. Per il glicerolo si sono rilevati dei dati interessanti; tutti i ceppi studiati sono risultati in grado di produrre questo composto in concentrazioni variabili tra 6,6 (biotipo 5) e 8,5 g/L (biotipo 8), senza differenze importanti tra i diversi target.

Al contrario, i biotipi hanno mostrato dei trend differenti per l'acidità volatile, come riportato nella Figura 2. Il ceppo commerciale BM45 ha mostrato le migliori performance per questo parametro, con la più bassa acidità volatile (0,4 g/L); un trend del tutto sovrapponibile si riscontrava per i biotipi 2 e 6 (acidità media pari a 0,39-0,44 g/L). I biotipi 8, 9 e 10 mostravano dei valori di acidità volatile simili a quelli del ceppo di controllo. Al contrario i biotipi 4, 5 e 11 presentavano valori di acidità significativamente più elevati (1,0-1,1 g/L).

Nell'ultima fase della ricerca, la selezione dei ceppi è stata completata studiando il carattere adsorbimento

dell'OTA come funzione in più. Degli 11 biotipi studiati solo in 4 (biotipi 2, 3, 5 e 8) questo carattere era presente, con alcune differenze importanti dovute alla temperatura a cui era stato condotto il saggio (25 o 30 °C) e alla concentrazione zuccherina iniziale del mezzo (200 o 250 g/L). Con 200 g/l di zucchero (Figura 3), le migliori performance, in termini di rimozione della tossina, si riscontravano per il biotipo 3 (rimozione del 24,6% a 25 °C); l'incremento della temperatura da 25 a 30 °C ha migliorato le performance di tutti i biotipi.

Un aumento della concentrazione iniziale di zucchero (fino a 250 g/L) ha determinato per tutti i biotipi un aumento delle percentuali di rimozione dell'OTA fino a valori superiori al 40% per i biotipi 3 e 8 (Figura 4).

Questo progetto ci ha consentito di proporre un approccio classico per la selezione di ceppi di *S. cerevisiae* come possibili starter per il vitigno Nero di Troia, con l'obiettivo di arginare l'erosione della biodiversità causata dall'impiego massiccio di pochi starter commerciali. Ai parametri classici della selezione, inoltre, è stato aggiunto il carattere "rimozione dell'OTA" come criterio aggiuntivo per scegliere degli starter con "una funzione in più".

L'uso di parametri differenti (caratteri enologici classici e funzione in più) ha sottolineato ancora una volta come non esista il super-ceppo, che presenti al massimo livello tutte le caratteristiche positive.

Il biotipo 5, ad esempio, che pure ha mostrato il tratto "rimozione dell'OTA", ha prodotto la più elevata acidità e il suo impiego in fermentazioni classiche non è consigliabile; il biotipo 8, al contrario, in una sorta di analisi rischio-beneficio ha rappresentato un buon compromesso per lo sviluppo e la validazione su scala industriale di un ceppo starter in grado di agire positivamente anche sulla sicurezza del vino.



Figura 5 - Uve contaminate da muffe tossinogene.