

# Definire la *texture* dei vini rossi con specifici lieviti inattivi

Uno studio approfondito sull'influenza di un processo produttivo innovativo per l'ottenimento di frazioni di lievito specifiche e le loro interazioni con i polifenoli nei vini rossi

Julie Mekoue Nguela<sup>1,2</sup>; Marion Bastien<sup>1</sup>; Nathalie Sieczkowski<sup>1</sup>; Aude Vernhet<sup>2</sup>

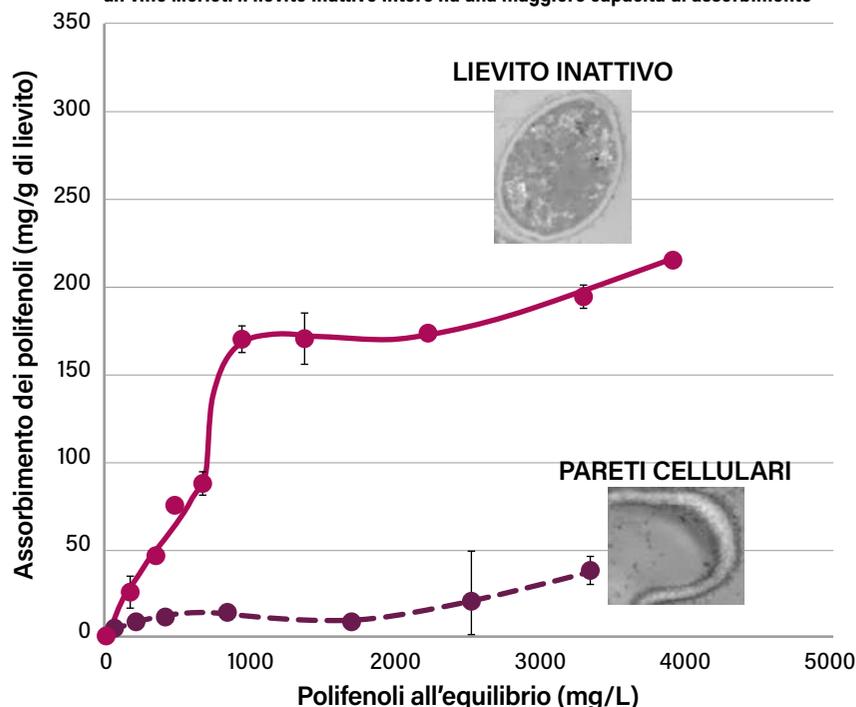
<sup>1</sup> Lallemand SAS

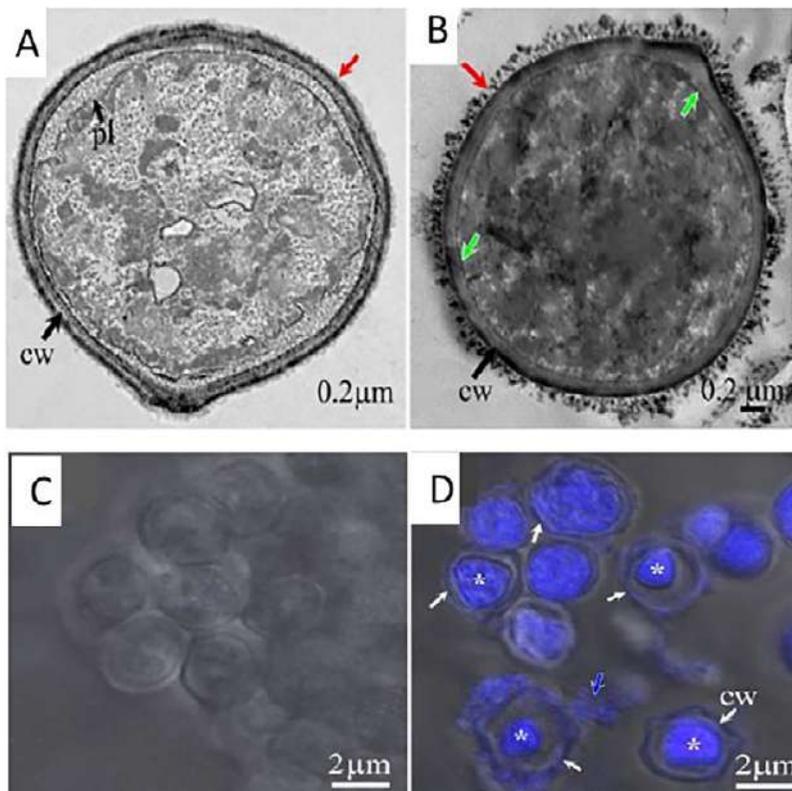
<sup>2</sup> UMR 1083 Sciences pour l'OEnologie, INRAE, l'Institut Agro/Montpellier SupAgro - Université de Montpellier

La "texture" di un vino, "consistenza" in italiano, racchiude in un'unica parola i concetti di corpo, pienezza e struttura, e viene comunemente utilizzata per identificare la percezione tattile del vino a contatto con il palato. Queste sensazioni sono il risultato di complesse interazioni che si creano tra le proteine salivari, il tessuto epiteliale della bocca e la componente polifenolica. Tradizionalmente queste componenti sono gestite mediante l'affinamento

sulle fecce fini, pratica che si basa sull'impatto dell'autolisi dei lieviti sulle proprietà tattili del vino e che consente di ridurre l'astringenza e l'amaro, aumentare il volume e la persistenza aromatica conferendo maggiore complessità al profilo organolettico (Rodriguez et al., 2005). L'affinamento sulle fecce fini presenta però alcuni rischi microbiologici e organolettici, per questo negli ultimi vent'anni il mondo della ricerca si è sempre più indirizzato verso lo sviluppo di lieviti inattivi specifici per gestire l'affinamento sulle fecce in modo da ottimizzarne i vantaggi ed evitare i rischi appena menzionati. Dopo aver condotto studi approfonditi sui meccanismi alla base delle interazioni tra le diverse componenti dei derivati di lievito e i polifenoli, Lallemand è arrivata a sviluppare un nuovo processo di inattivazione che ha consentito la formulazione di due nuovi specifici lieviti inattivi pensati per modulare al meglio la matrice polifenolica dei vini rossi.

Figura 1 - Misura della capacità di assorbimento del lievito inattivo intero e delle sole pareti cellulari nei confronti della frazione polifenolica estratta e purificata da un vino Merlot. Il lievito inattivo intero ha una maggiore capacità di assorbimento





**Figura 2 - Immagini al microscopio a trasmissione elettronica di una cellula di lievito inattivo in assenza di polifenoli (A) e in presenza di polifenoli (B). Immagini al microscopio confocale di cellule di lievito inattivo in assenza di polifenoli (C) e in presenza di polifenoli (D)**

Montpellier (UMR Sciences Pour l'Oenologie) ha messo a confronto l'effetto dell'intera biomassa di un lievito *S. cerevisiae* inattivato con quello delle sole pareti cellulari purificate, ottenute mediante rottura meccanica. L'esperimento è stato condotto in una soluzione di vino modello, in presenza di  $10^8$  cellule/mL di lievito, con una concentrazione iniziale di polifenoli estratti da un vino Merlot variabile tra 0,01 e 5 g/L. Dopo 24 ore di contatto i risultati hanno messo in luce una elevatissima capacità di assorbimento di polifenoli, principalmente oligomeri e polimeri di tannini, ad opera del lievito inattivo intero rispetto a quanto rilevato per le sole pareti cellulari (Figura 1) (Mekoue Nguela et al., 2015 A).

L'osservazione al microscopio elettronico (Figura 2A e B) e confocale (Figura 2C e D) ha evidenziato come

i tannini interagissero prevalentemente con le mannoproteine della parete cellulare (Figura 2B), mentre la maggior parte dei polifenoli è risultata in grado di passare attraverso la parete e la membrana citoplasmatica delle cellule morte per andare ad interagire con la componente intracellulare (Figura 2D) (Mekoue Nguela et al., 2015 B). Questi risultati hanno fornito nuove informazioni sulle interazioni che si verificano tra lievito e tannini durante l'affinamento dimostrando che l'interazione non si limita alla parete cellulare ma che prevalentemente avviene con le componenti più interne della cellula di lievito. Per comprendere al meglio come i polifenoli reagiscano con le mannoproteine di membrana e il citoplasma queste frazioni sono state estratte dalla cellula di lievito e studiate separatamente in una solu-

zione modello con tannini d'uva dal grado di polimerizzazione medio (DPM) 27 (TP27). La frazione citoplasmatica è stata ottenuta mediante distruzione meccanica della cellula e successiva centrifugazione con recupero del surnatante; la componente mannoproteica, invece, è stata ottenuta mediante idrolisi enzimatica ( $\beta$ -1,3-glucanasi) della biomassa di lievito e successiva depurazione della componente con massa molecolare superiore a 10kDa (Mekoue Nguela et al., 2016).

Sono state quindi preparate due soluzioni a 25°C, una con la frazione citoplasmatica ed una con le mannoproteine, entrambe alla concentrazione di 0,4 g/L a cui sono stati aggiunti i polifenoli estratti dall'uva (0,4 g/L). L'interazione tra le molecole è stata valutata mediante il monitoraggio della dispersione dinamica della luce (DLS) che consente

di calcolare il diametro idrodinamico ( $D_H$ ) degli aggregati sospesi e seguirne la cinetica. Nella Figura 3 (A, B) il  $D_H$  è stato misurato in due diversi momenti, dopo 15 minuti e dopo 24 ore di interazione tra tannini e frazioni di lievito. Si è osservato che l'aggiunta dell'estratto citoplasmatico porta alla formazione di aggregati la cui dimensione aumenta molto rapidamente, portando alla flocculazione e successiva sedimentazione dopo 24 ore (fenomeno indicato con la freccia nella figura 3A); la frazione mannoproteica interagisce con i tannini altrettanto

velocemente ma formando dei colloidali la cui dimensione rimane più piccola e stabile nel tempo, senza determinare alcuna sedimentazione (Figura 3B) (Mekoue Nguela et al., 2016). Questo lavoro ha consentito di identificare le diverse componenti attive della cellula di lievito e comprendere al meglio le interazioni specifiche delle mannoproteine di parete e dei costituenti della membrana citoplasmatica sulla matrice polifenolica. Quest'ultimo aspetto suggerisce come la rottura meccanica della cellula di lievito e il rilascio delle diverse componenti nel mezzo, aumentando la superficie di contatto a disposizione dei composti fenolici, acceleri le interazioni che vanno dall'assorbimento sulla parete cellulare all'aggregazione e sedimentazione con i composti del citoplasma oltre che alla stabilizzazione di una parte dei composti fenolici polimerizzati con le mannoproteine.

### Sviluppo di un nuovo processo di inattivazione dei lieviti

Dopo aver compreso i meccanismi alla base delle interazioni tra le diverse componenti dei derivati di lievito ed i polifenoli, Lallemand si è concentrata nello sviluppare un nuovo processo di inattivazione che consentisse il rilascio in soluzione di frammenti di parete cellulare, componente intracellulare e mannoproteine, limitando il più possibile la loro idrolisi poiché l'integrità e la dimensione di queste macromolecole è di fondamentale importanza per garantire la loro efficienza nelle interazioni con i composti fenolici. Diversi processi di distruzione meccanica sono stati utilizzati su uno specifico lievito *Saccharomyces cerevisiae* selezionato per la sua ottima struttura e adattabilità alla pressione meccanica, oltre che per l'ab-

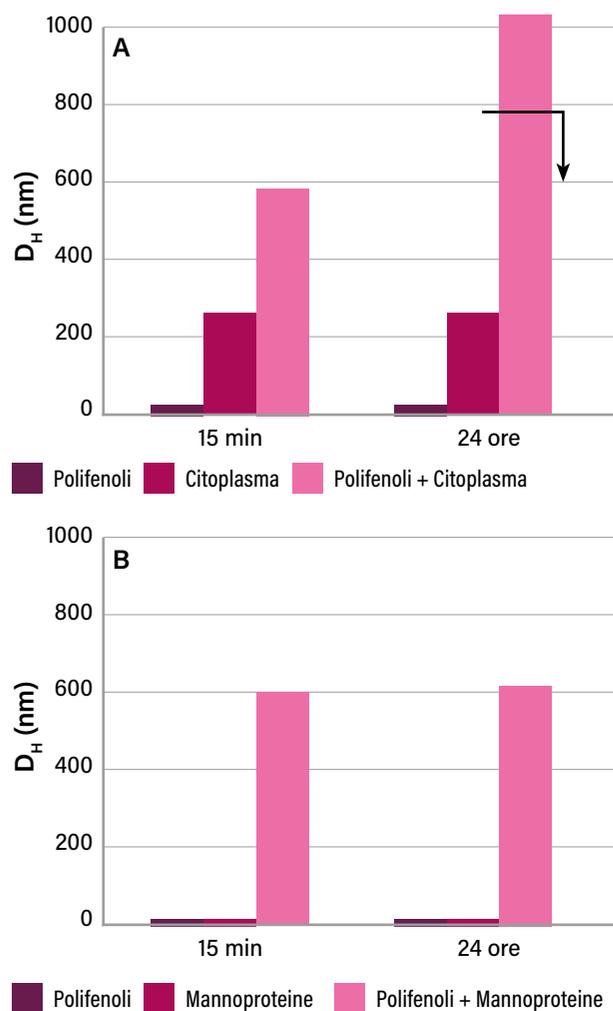
bondante contenuto di macromolecole (Figura 4A).

I risultati hanno consentito di raccogliere importanti informazioni che hanno portato alla messa a punto di un processo di inattivazione mediante Omogenizzazione ad alta pressione (HPH - *High Pressure Homogenization*) che, modulato opportunamente, permette di ottenere le componenti di lievito più interessanti per l'interazione con i polifenoli. HPH è un processo meccanico condotto a bassa temperatura (4°C) basato sull'applicazione di una pressione elevata (da 1000 a 2000 bar) alla crema di lievito che permette la rottura della cellula preservandone le macromolecole.

La microscopia elettronica a trasmissione ha confermato come il processo HPH applicato al lievito individuato permetta di ottenere un lievito inattivo, nome commerciale PURE-LEES DELICACY™, dove parete cellulare, citoplasma e mannoproteine di parete rese solubili dal processo produttivo hanno mantenuto la loro struttura (Figura 4B) e per questo sono in grado di assicurare una molteplice azione nei confronti della matrice polifenolica dei vini rossi. Questo nuovo lievito inattivo possiede una moderata capacità di rimozione (dal 2 al 5%), mediante assorbimento, dei polifenoli ad alto peso molecolare e, grazie alla presenza di mannoproteine solubili, è in grado di rivestire i tannini ed i pigmenti ad alto peso molecolare conferendo maggiore delicatezza e rotondità al vino rosso.

Vi sono però alcuni vini che presentano un carattere tannico eccessivo che spesso si traduce in note verdi, astringenti ed amare, con un impatto negativo sulla qualità del vino. La necessità di rimuovere la porzione di composti fenolici di bassa qualità ha portato quindi all'elaborazione di un secondo lie-

**Figura 3 - Diametro idrodinamico ( $D_H$ ) dei composti colloidali presenti in soluzione dopo l'interazione tra i tannini (TP27) e la componente citoplasmatica (estratta dall'interno della cellula di lievito) (A) e mannoproteica (estratta dalla parete cellulare) (B)**



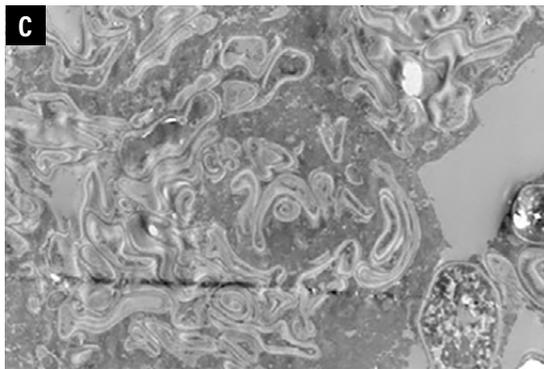
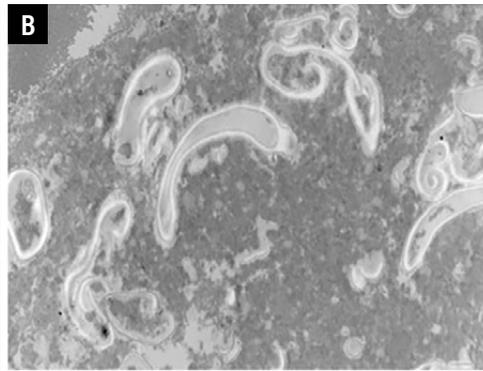
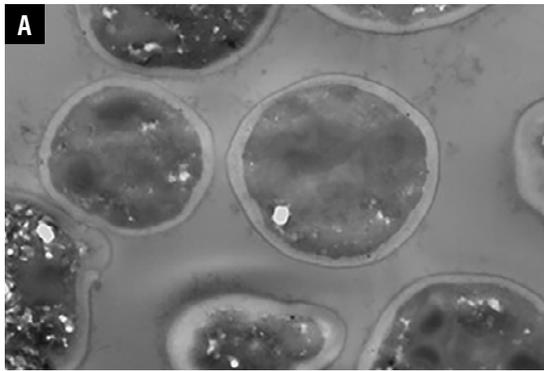


Figura 4 - Immagine ottenuta con microscopio a trasmissione elettronica della crema dello specifico lievito selezionato (A), della frazione ottenuta dopo applicazione del processo HPH (PURE-LEES DELICACY™) (B) e della frazione ottenuta mediante concentrazione della parte insolubile (PURE-LEES ELEGANCY™) (C)

vito inattivo, nome commerciale PURE-LEES ELEGANCY™, dall'elevata azione assorbente. Questo è ottenuto dalla centrifugazione di PURE-LEES DELICACY™ in modo da concentrare solo le frazioni insolubili del lievito inattivo, prevalentemente pareti cellulari e composti

citoplasmatici insolubili (Figura 4C) che permettono di rimuovere per assorbimento i tannini di scarsa qualità conferendo maggiore eleganza.

### L'impatto sulla *texture* del vino: sperimentazioni

Le prime sperimentazioni per va-

## Il vino è una questione di sfumature



Lieviti inattivi specifici

PURE-LEES **DELICACY™** & PURE-LEES **ELEGANCY™**

Soluzioni ideali per definire la *texture* del tuo vino rosso

Figura 5 - Analisi sensoriale di un vino Nebbiolo con e senza aggiunta di lievito inattivo di riferimento X e PURE-LEES ELEGANCY™ condotta da un panel di 11 giudici esperti dopo 2 mesi di contatto

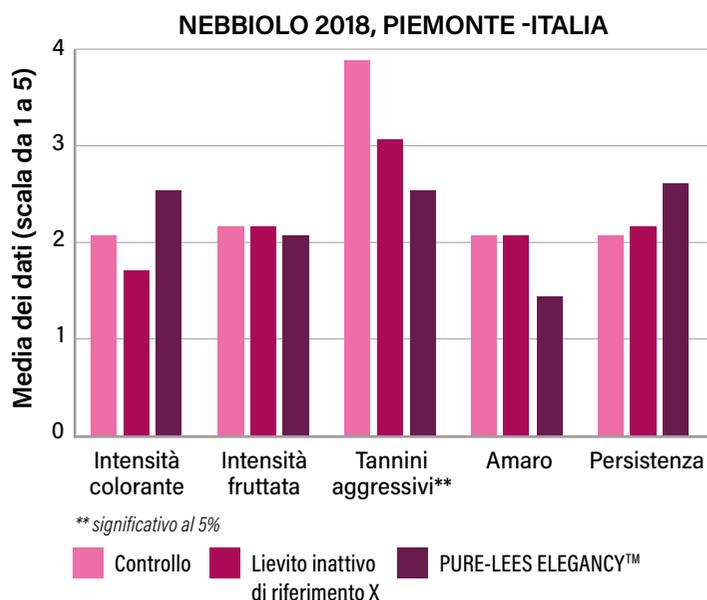
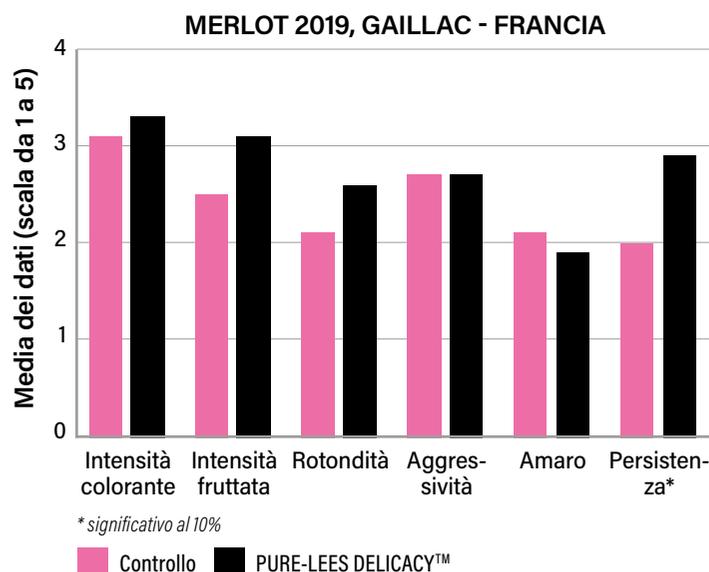


Figura 6 - Analisi sensoriale di un vino Merlot con e senza aggiunta di PURE-LEES DELICACY™ condotta da un panel di 11 giudici esperti dopo 48 ore di contatto



lidare l'effetto di questi due nuovi lieviti inattivi specifici sono state condotte nel 2018 dall'IFV Pôle Sud-Ovest su quattro vini che differivano per il loro contenuto di polifenoli totali e pH: Pinot nero, Cabernet franc, Merlot e Grenache. Dopo la svinatura, il vino controllo senza alcuna aggiunta è stato confrontato con tre vini aggiunti rispettivamente di 40 g/hL di un lievito inattivo di riferimento X e dei due nuovi lieviti inattivi. Dopo due mesi di contatto con regolare risospensione delle fecce è stata poi effettuata un'analisi sensoriale che ha confermato le caratteristiche peculiari dei due preparati: i vini con aggiunta dei due nuovi lieviti inattivi sono infatti risultati organoletticamente migliori, con riduzione della secchezza, astringenza e note vegetali, con un incremento significativo sulla rotondità e persistenza al palato.

Un'altra prova è stata effettuata nel 2018 su un vino Nebbiolo piemontese d'annata (Figura 5) caratteriz-

zato da un profilo tannico aggressivo e astringente; il vino controllo è stato messo a confronto con l'aggiunta di 30 g/hL di lievito inattivo di riferimento X e lievito inattivo PURE-LEES ELEGANCY™, lasciati a contatto per due mesi con regolare risospensione delle fecce. L'impatto del nuovo lievito si è tradotto in una persistenza maggiore al palato, con un tannino significativamente meno aggressivo e amaro nonostante l'Indice di Polifenoli Totali (IPT) risulti analiticamente comparabile (dato non mostrato). È stato infine riscontrato un effetto positivo visibile anche sull'intensità colorante.

Su un Merlot del 2019 (Gaillac, Francia) pronto per essere immesso nel mercato (Figura 6) si è voluto valutare l'effetto con un tempo di contatto più breve: è stata fatta un'aggiunta di PURE-LEES DELICACY™ alla dose di 40 g/hL direttamente in bottiglia; dopo 48 ore di contatto i vini (controllo e trattato) sono stati entrambi travasati e degustati. Il vino con aggiunta del lievito inattivo

è stato giudicato significativamente più lungo al palato, più morbido e con un'intensità fruttata superiore rispetto al vino controllo.

## Conclusioni

Una più profonda conoscenza dei meccanismi coinvolti nelle interazioni tra i derivati di lievito e i composti polifenolici presenti nel vino ha permesso di comprendere come le diverse componenti del lievito inattivo abbiano effetti diversi nel definire la *texture* dei vini rossi. Basandosi su queste nuove conoscenze Lallemand ha messo a punto un nuovo processo produttivo che ha portato alla formulazione di due nuovi lieviti inattivi specifici, PURE-LEES DELICACY™ e PURE-LEES ELEGANCY™, che consentono di gestire la matrice polifenolica in maniera più mirata e precisa in funzione dell'obiettivo di cantina ricercato.

*I riferimenti bibliografici sono disponibili su richiesta alla redazione.*