

Magliano in Toscana  
27 Marzo 2024

Relatore:  
Dott.ssa Eleonora Mari  
Tecnologo Alimentare  
DAGRI  
Università degli Studi di Firenze

## Produzione di un vino rosso senza solfiti aggiunti:

# Selezione di un lievito basso-produttore di anidride solforosa e influenza del sistema AIRMIXING M.I.™ sul microbiota in fermentazione

## PROGETTO NOSO2



Regione Toscana

FOOD  
M<sub>2</sub>CRO  
TEAM



Regione Toscana

## Progetto «NOSO2»

**Utilizzo di un sistema innovativo per produrre vini senza l'aggiunta di solfiti**



- 1. Selezione di un lievito starter basso produttore di SO<sub>2</sub>**
- 2. Controllo microbiologico delle fermentazioni e del vino in affinamento**

## Selezione di un lievito starter basso produttore di SO<sub>2</sub>

### Ceppi commerciali testati

ICV Opale

Anchor Vin13

Zymaflore X16

Zymaflore FX10

CRU 31

EC1118

EnartisFerm SC

Zymaflore RB4

VIW® Fruity

VIW® Cleaver



per tutti i  
ceppi testati

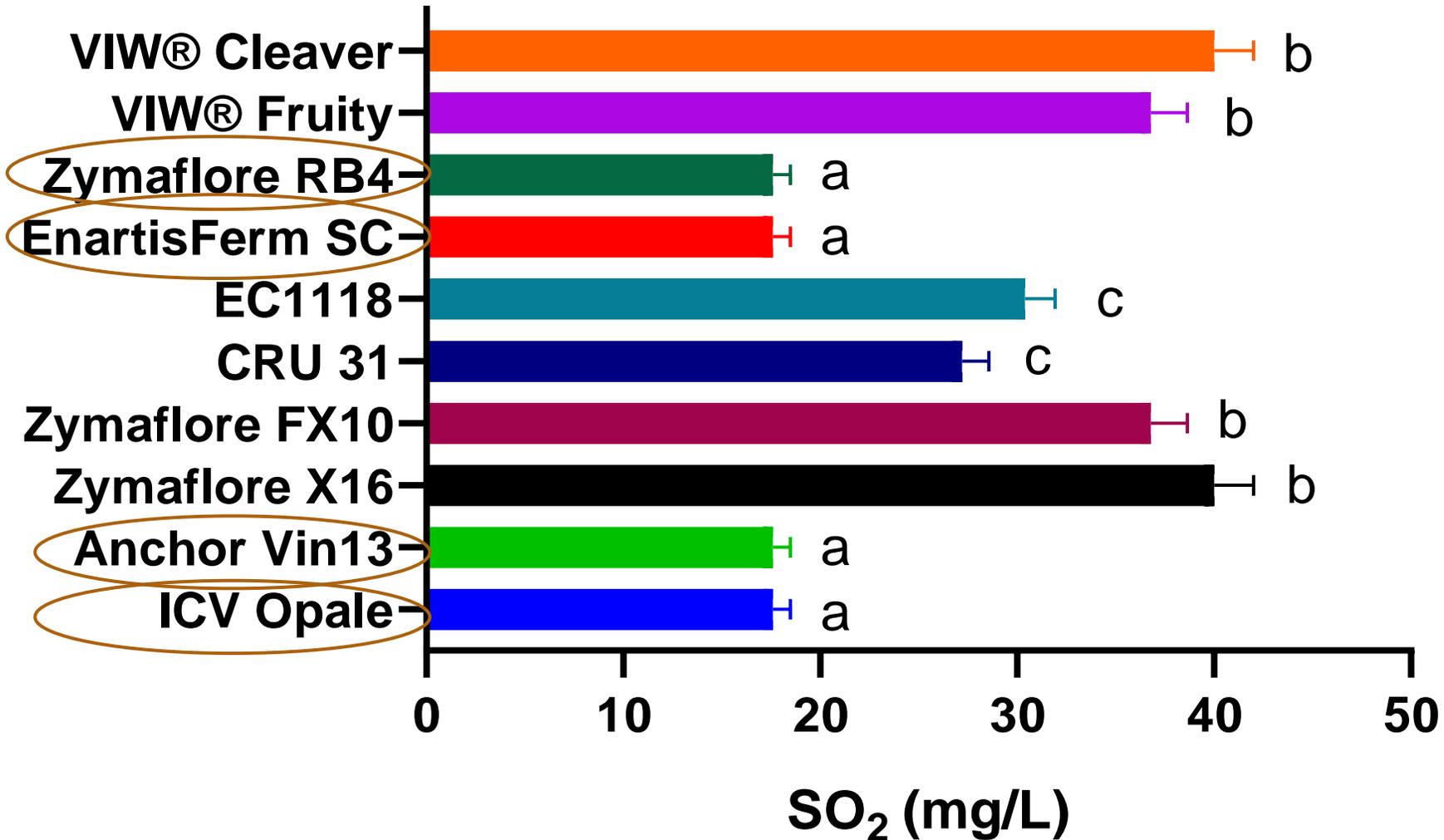
Fermentazioni di laboratorio condotte con 10 ceppi commerciali di *S. cerevisiae* in mosto sintetico

T°: 25°C

10 giorni

→ Il consumo di zucchero è stato completato  
→ bassa produzione di acido acetico (<0,3 g/L)

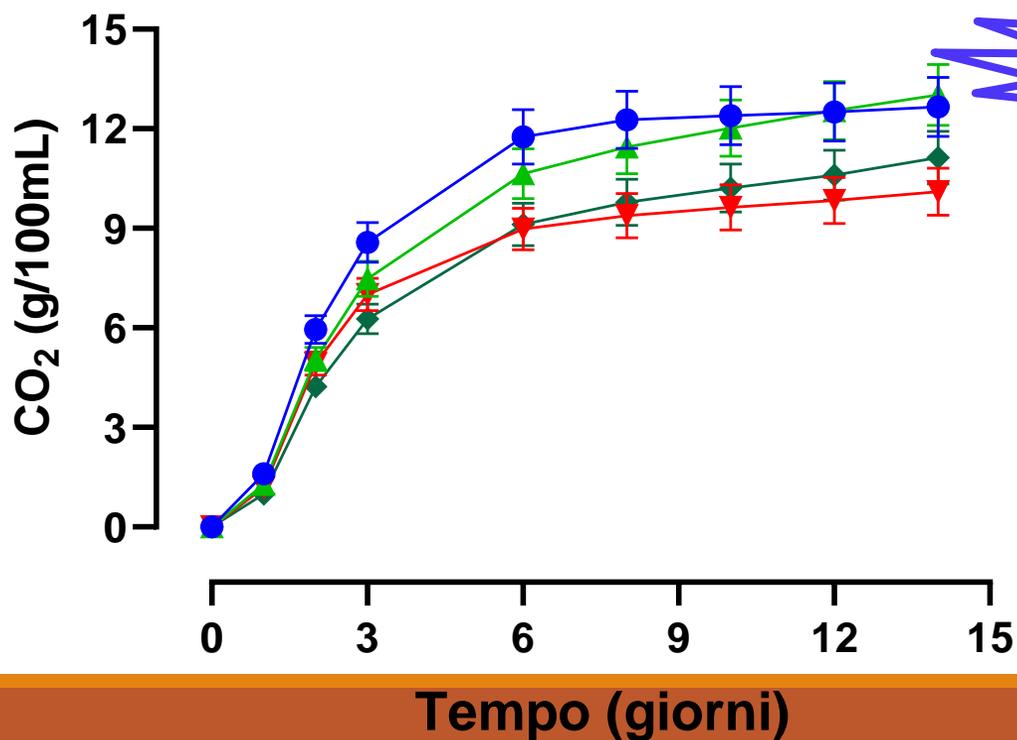
## Selezione di un lievito starter basso produttore di SO<sub>2</sub>



Lettere diverse indicano differenze significative fra i campioni (ANOVA, Tukey test  $p < 0.01$ )

# Selezione di un lievito starter basso produttore di SO<sub>2</sub>

	ICV Opale		EnartisFerm SC		Zymaflore RB4		Anchor Vin13	
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS
Glucosio (g/L)	0.35a	0.01	5.72b	0.14	2.41c	0.21	0.39a	0.04
Fruttosio (g/L)	1.55a	0.08	45.32b	0.21	31.80c	0.14	3.87d	0.19
Etanolo (%v/v)	15.56a	0.02	12.46c	0.04	13.47b	0.14	15.40a	0.20
Glicerolo (g/L)	7.48a	0.07	7.88b	0.01	7.13c	0.03	6.83c	0.13
Acido lattico (g/L)	0.17	0.05	0.20	0.03	0.14	0.04	0.12	0.01
Acido acetico (g/L)	0.75a	0.03	0.35d	0.01	0.63bc	0.03	0.60c	0.04
SO <sub>2</sub> totale (mg/L)	22.80a	0.90	32.40b	1.30	32.40b	1.30	35.60b	1.42
Velocità di fermentazione (h <sup>-1</sup> )	3.82a	0.27	2.66ac	0.19	3.27b	0.23	2.29bc	0.16



- ICV Opale
- ▲ Anchor Vin 13
- ▼ EnartisFerm SC
- ◆ Zymaflore RB 4

(ANOVA, Tukey test, p<0.05)

# Allestimento fermentazioni in cantina

Fermentazioni condotte in cantina con il ceppo *S. cerevisiae* basso produttore di SO<sub>2</sub> in 2 vasche da 50 hL con termoregolazione:

- **Con Air-Mixing + Macro-ossigenazione** (dal 2° al 6° giorno)
- **Con sistema tradizionale** (con rimontaggi tradizionali 20' - 3 nei primi giorni )

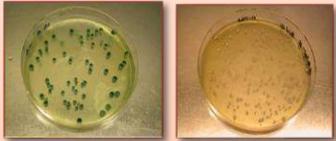


# Monitoraggio delle fermentazioni

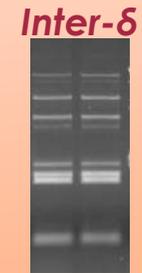
## 1. Sistema Parsec registrazione di:

- **Temperatura** con 2 sonde (1 in alto e 1 in basso) del serbatoio
- **Grado Babo**

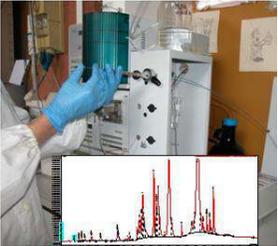
## 2. Analisi microbiologiche:



- Conte in piastra di **lieviti**, **batteri lattici** e **batteri acetici**
- **Identificazione di *Saccharomyces cerevisiae*** con rITS-PCR
- Verifica della **dominanza del ceppo starter** inoculato

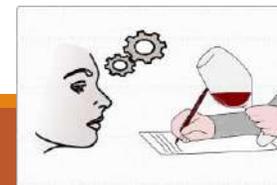


## 3. Analisi chimiche:



- HPLC (**glucosio**, **fruttosio**, **etanolo**, **glicerolo**, **acido acetico**, **composti fenolici**, **glutazione**, **aminoacidi**, **ammine biogene**)
- metodo enzimatico: **acido malico**, **acido lattico**
- **Indice di polifenoli totali** e **Intensità colorante** (spettrofotometro)
- **SO<sub>2</sub>** metodo ufficiale OIV

## 4. Analisi sensoriale: degustazione vini dopo 3 mesi di affinamento



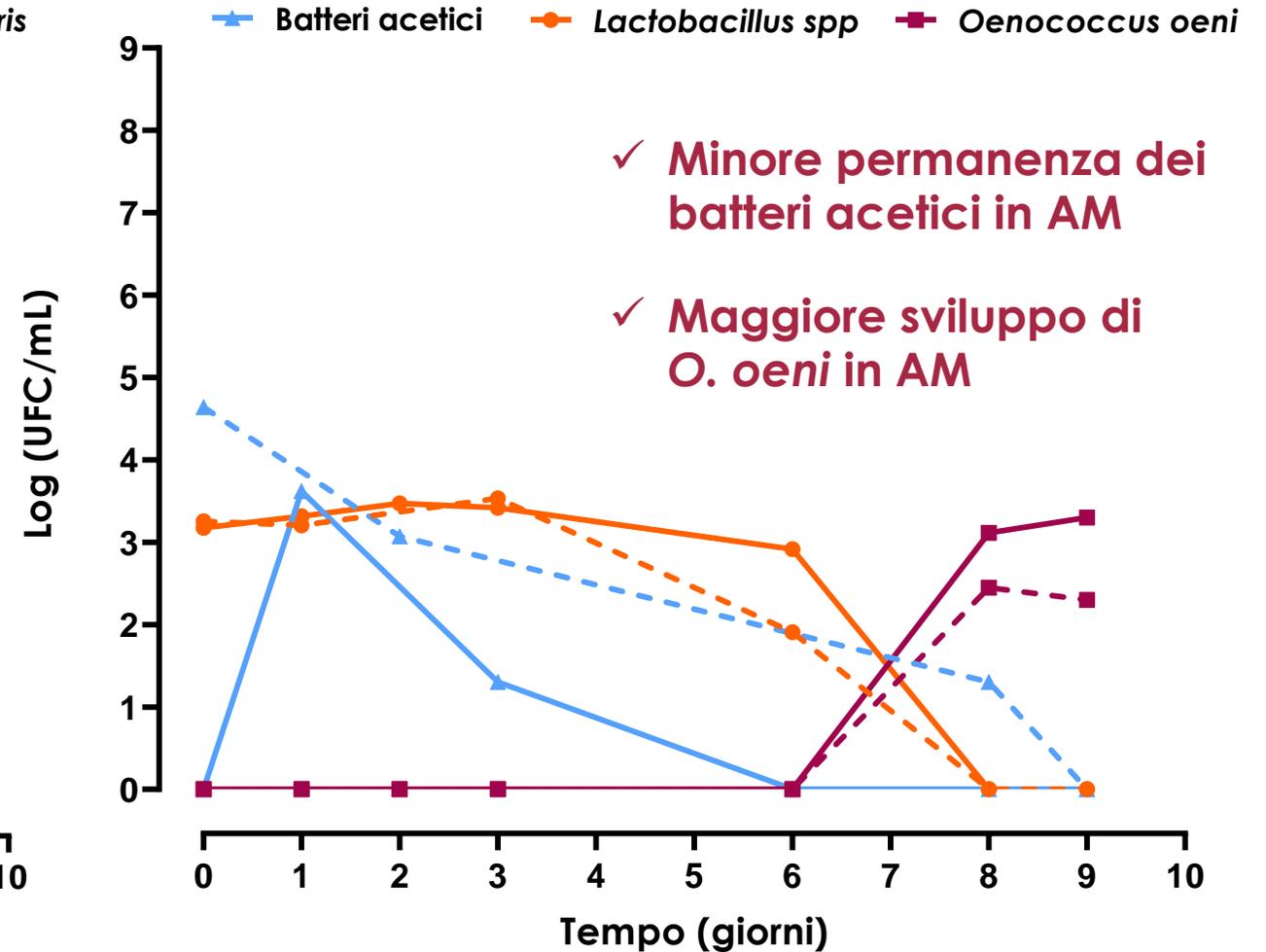
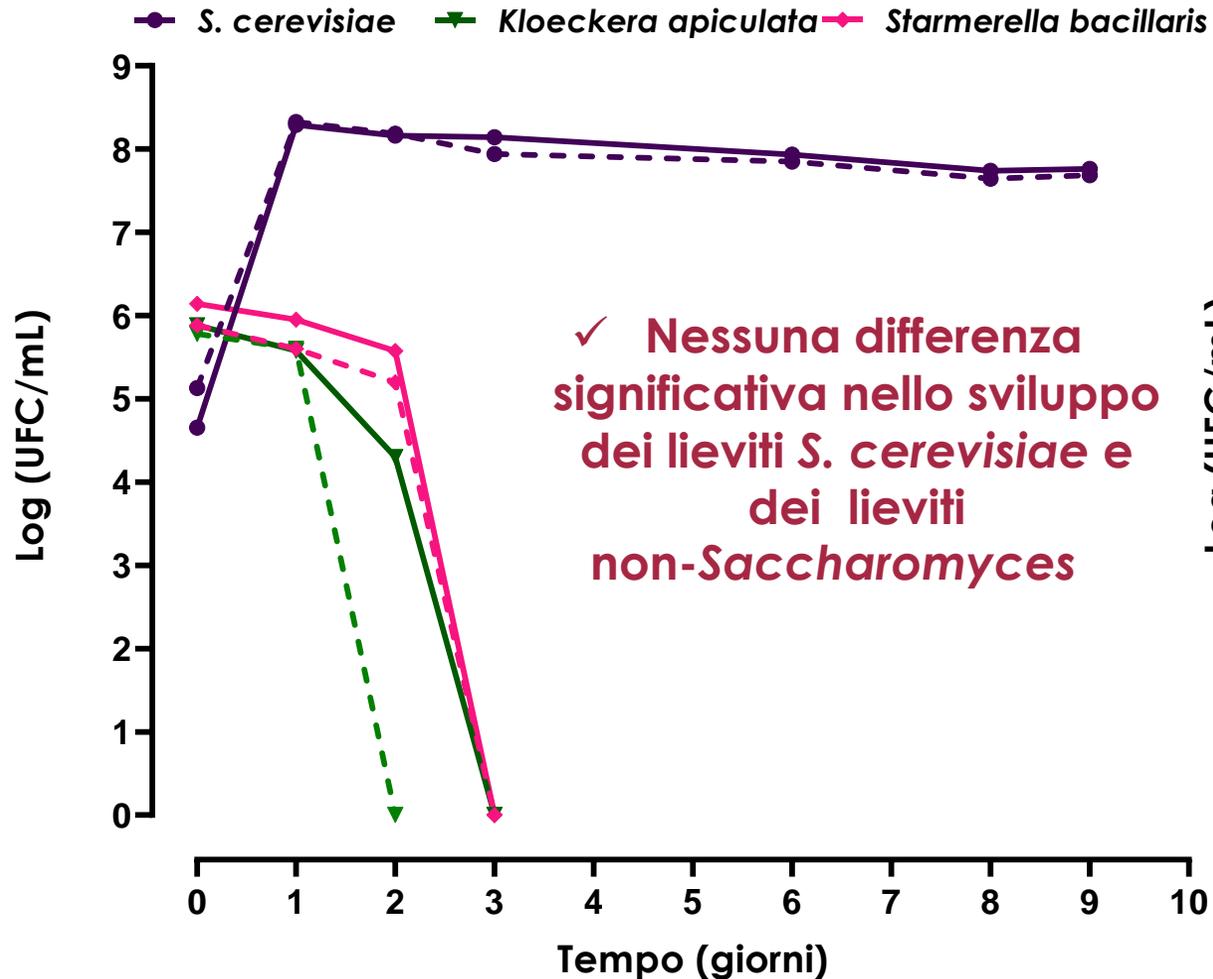
# Risultati analisi microbiologiche

## PROGETTO NOSO2

### Fermentazione in cantina

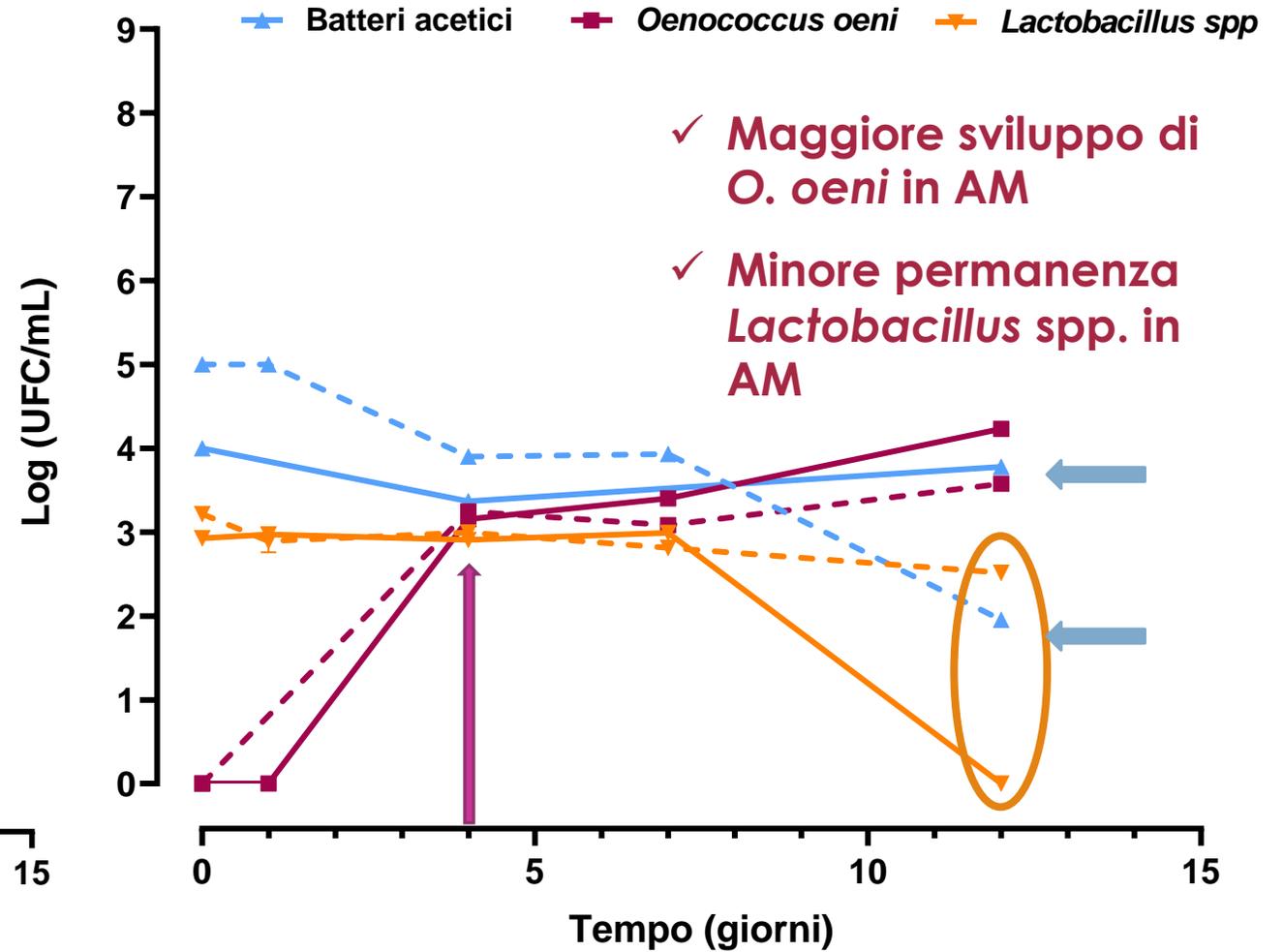
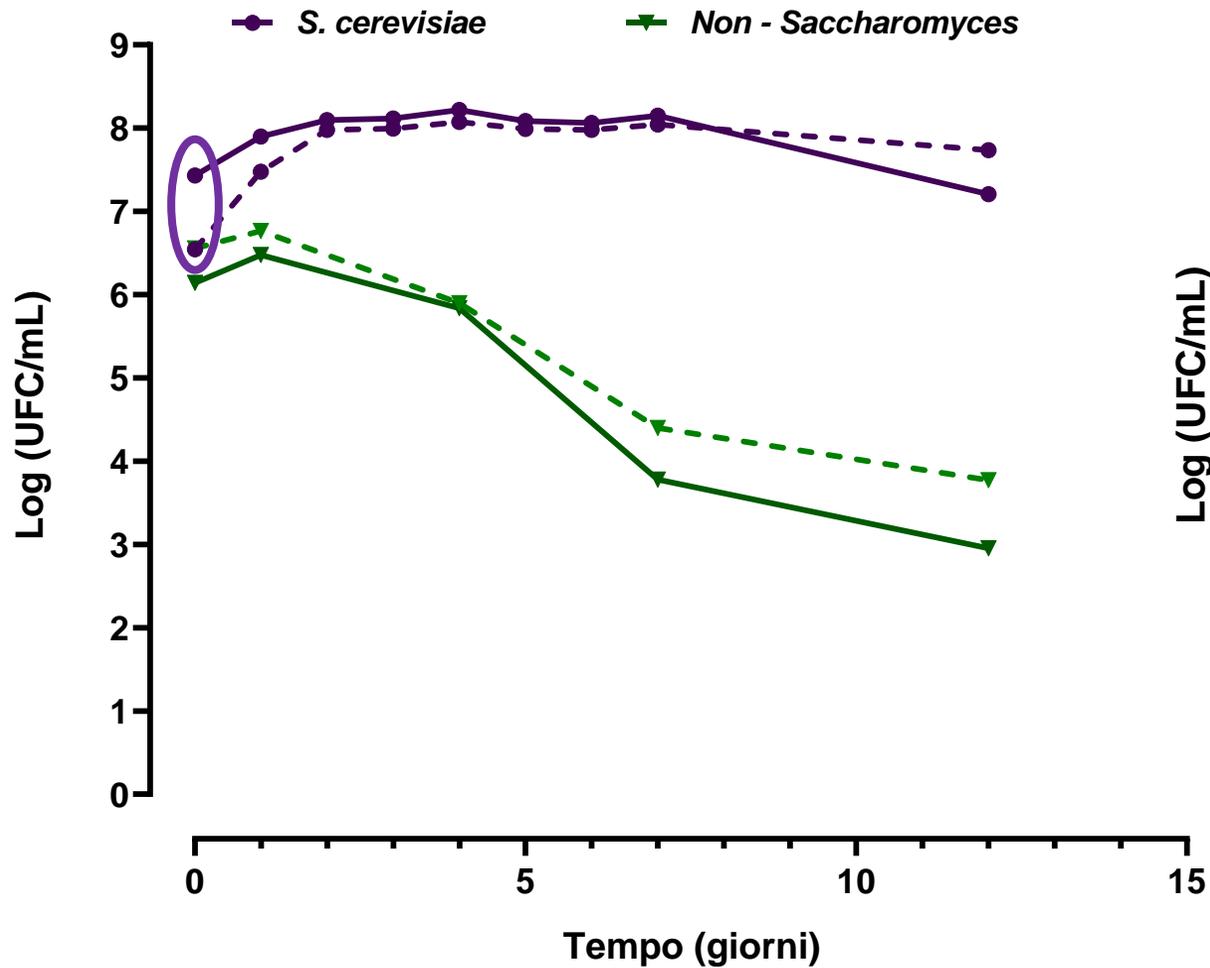


# Fermentazione in cantina – vendemmia 2022



Air-Mixing ( linea continua) - Sistema tradizionale (linea tratteggiata)

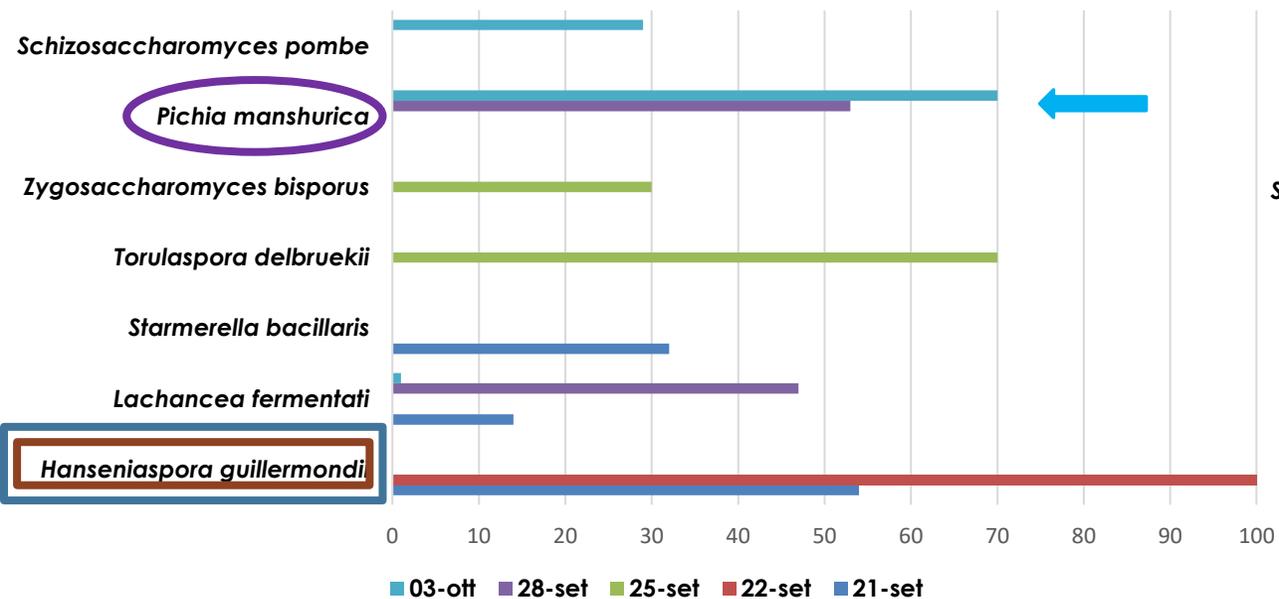
# Fermentazione in cantina – vendemmia 2023



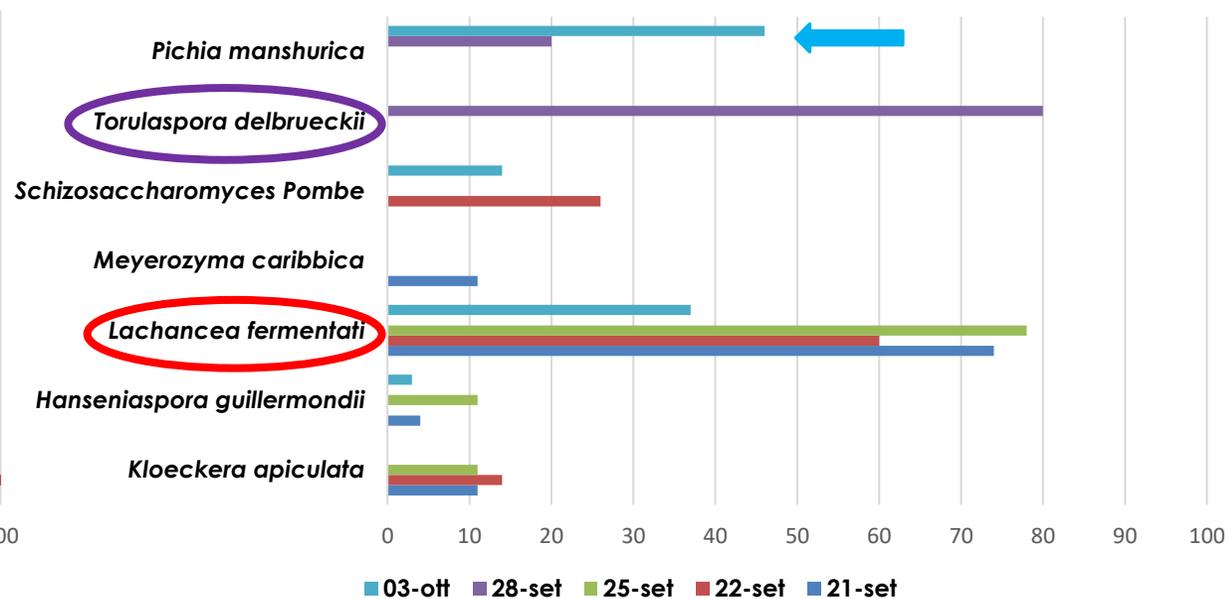
Air-Mixing ( linea continua) - Sistema tradizionale (linea tratteggiata)

# Fermentazione in cantina – vendemmia 2023

% d'isolamento non-Saccharomyces AM

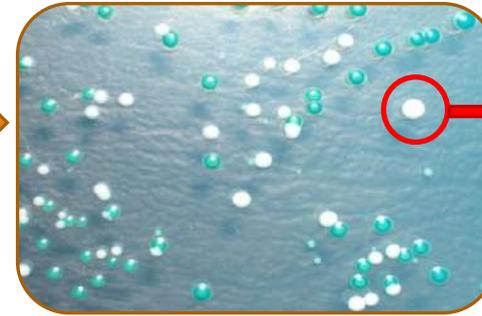
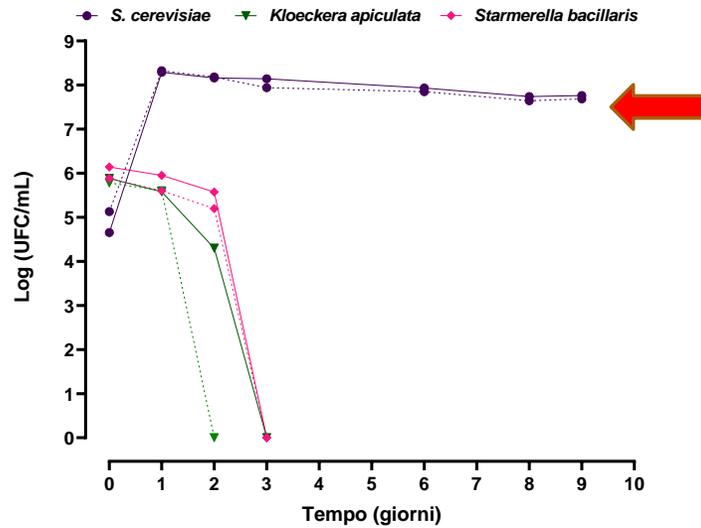


% d'isolamento non - Saccharomyces metodo tradizionale

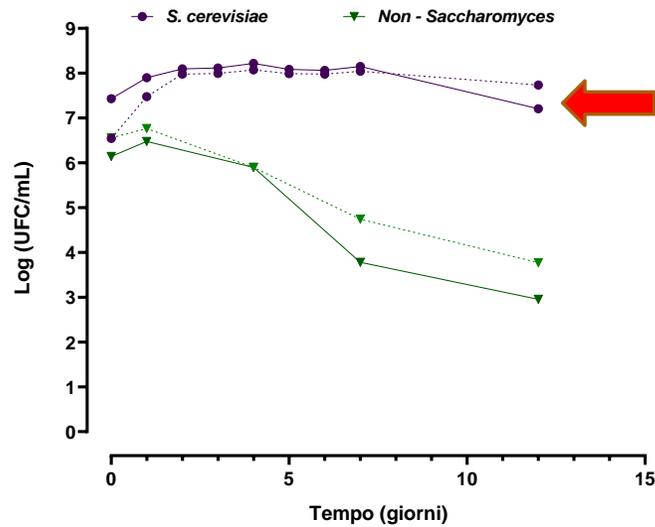


# Verifica della dominanza del ceppo starter

## Isolamento e purificazione colonie di *Saccharomyces cerevisiae*



Strisci in piastra per ottenere colonie pure



# Verifica della dominanza del ceppo starter

## FASI :

- Identificazione alla specie
- Caratterizzazione al ceppo



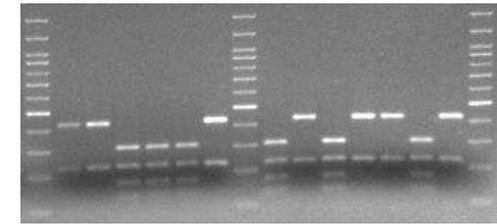
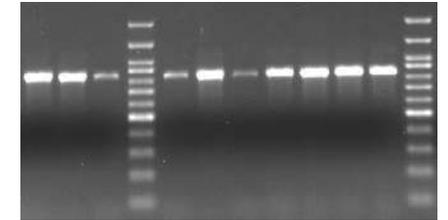
Estrazione DNA



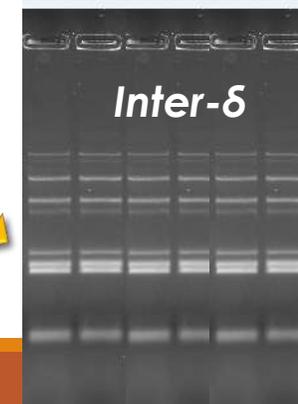
Amplificazione della regione ITS (Internal Transcribed Spacer) del rDNA



Digestione dell'amplicone ottenuto con enzimi di restrizione



Amplificazione delle regioni inter $\delta$  del DNA



Confermata dominanza del ceppo ICV Opale inoculato



**Profili genetici diversi = CEPPI DIVERSI**

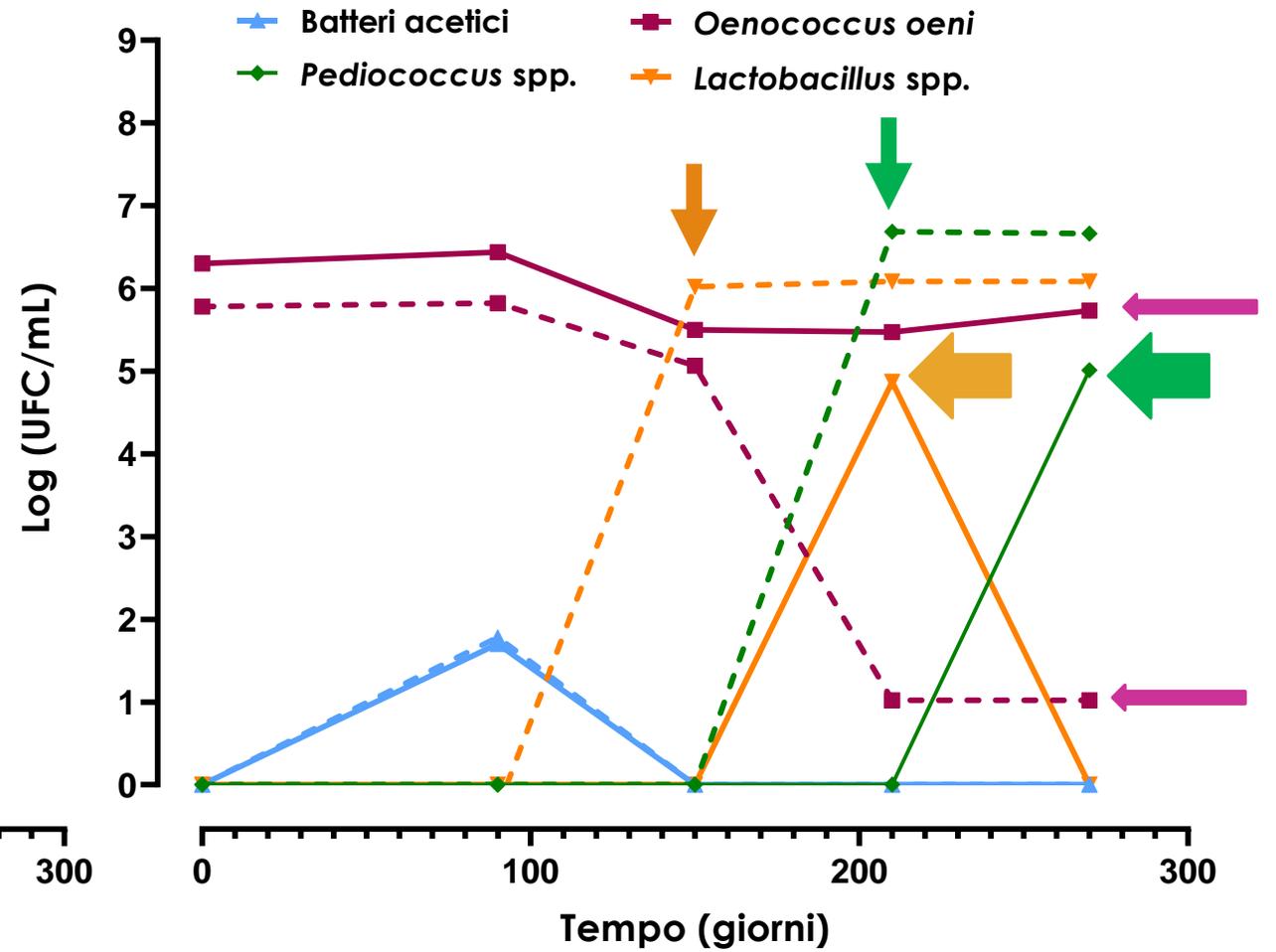
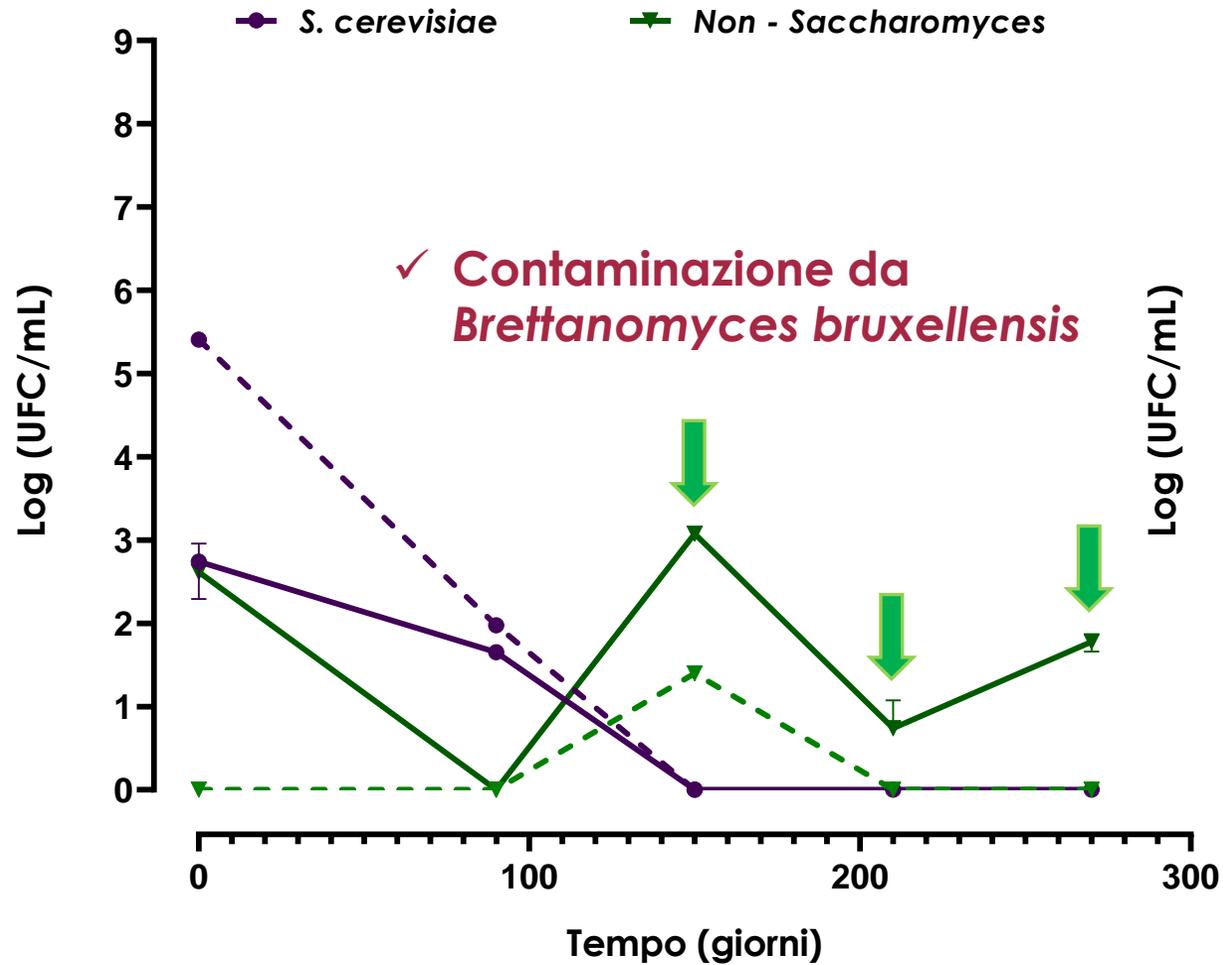
# Risultati analisi microbiologiche

## PROGETTO NOSO2

### Vino in affinamento

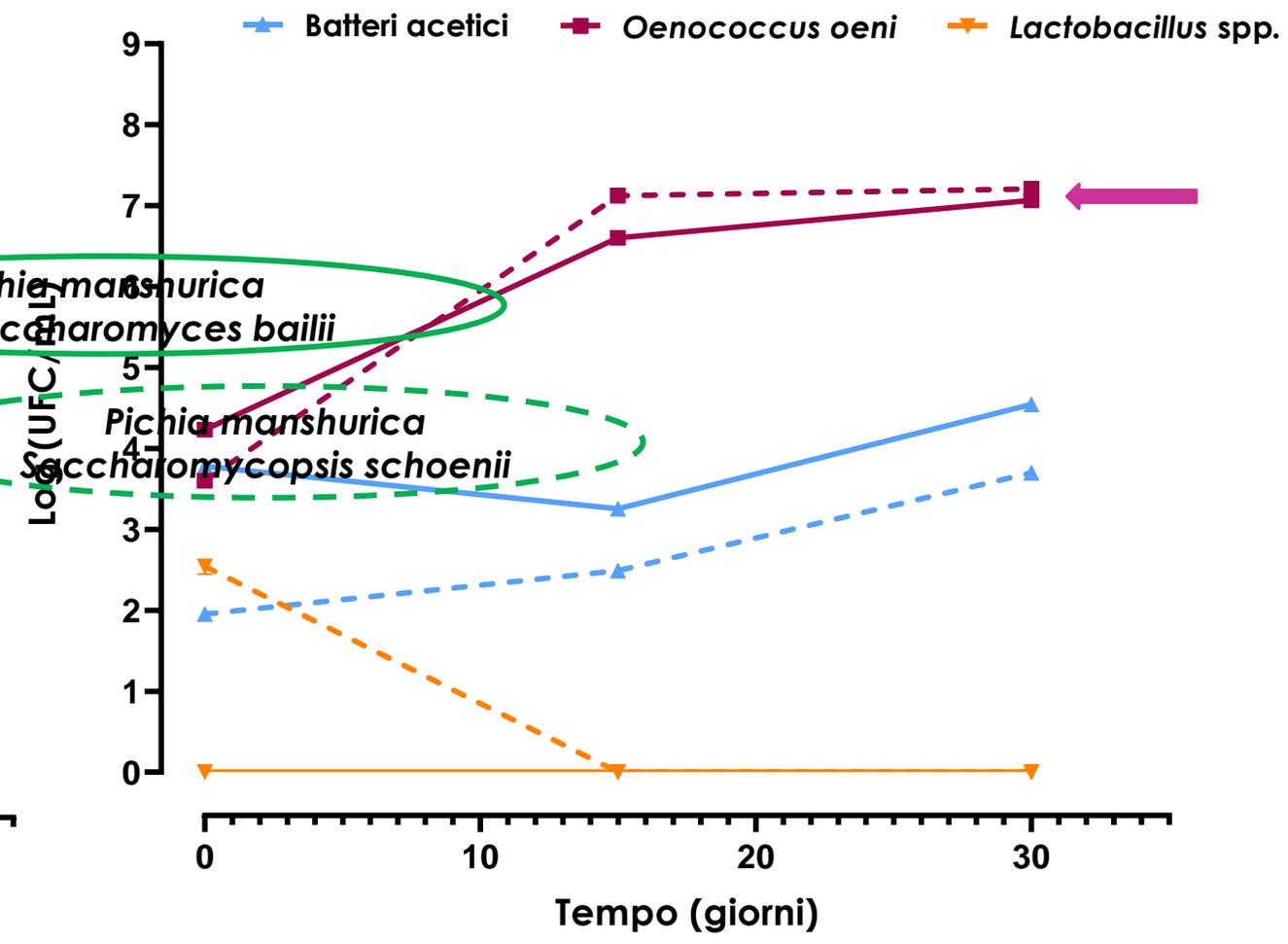
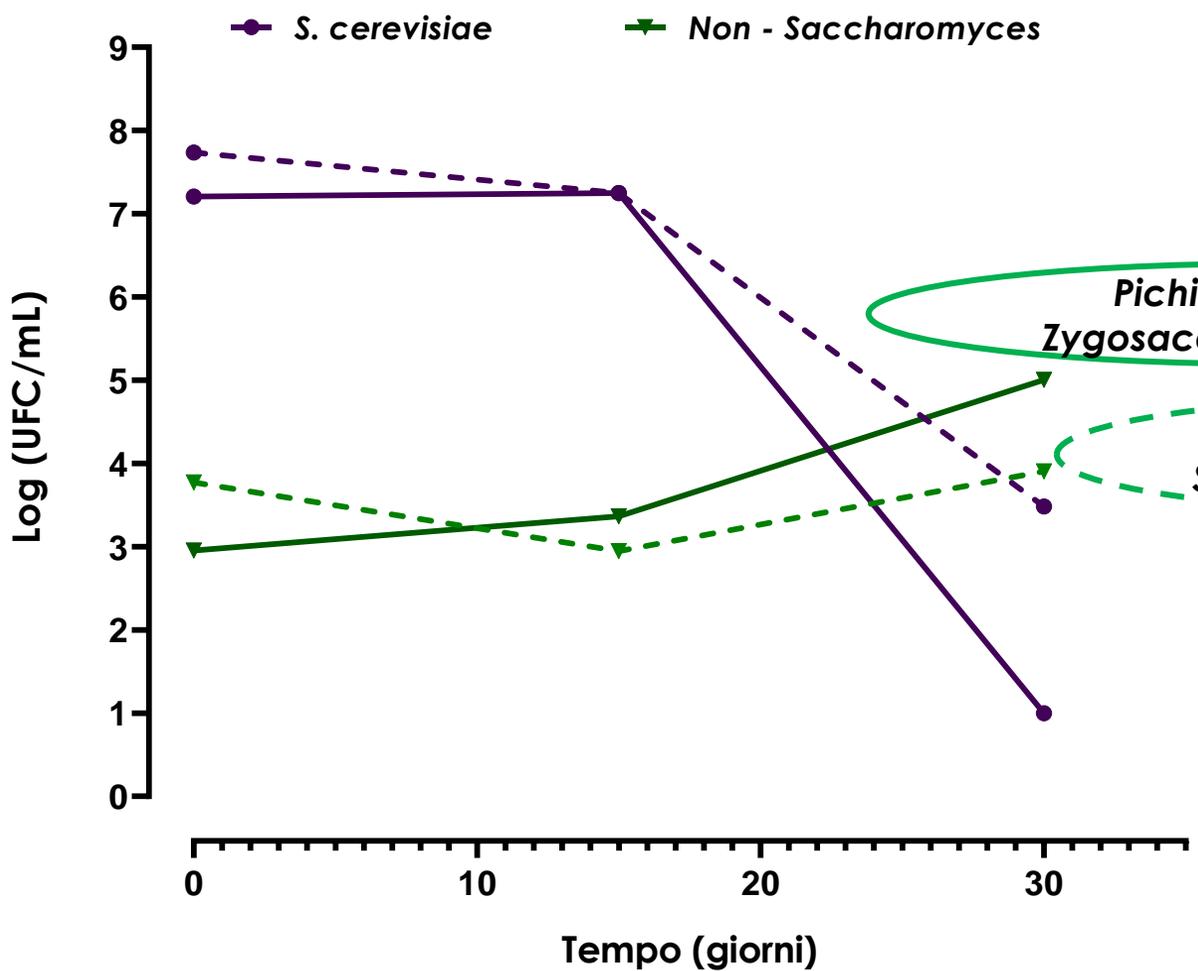


# Vino in affinamento – vendemmia 2022



Air-Mixing ( linea continua) - Sistema tradizionale (linea tratteggiata)

# Vino in affinamento – vendemmia 2023



*Pichia manshurica*  
*Zygosaccharomyces bailii*

*Pichia manshurica*  
*Saccharomycopsis schoenii*

Air-Mixing ( linea continua) - Sistema tradizionale (linea tratteggiata)

