

Lieviti & riduzione dell' Ocratossina A durante la fermentazione vinaria

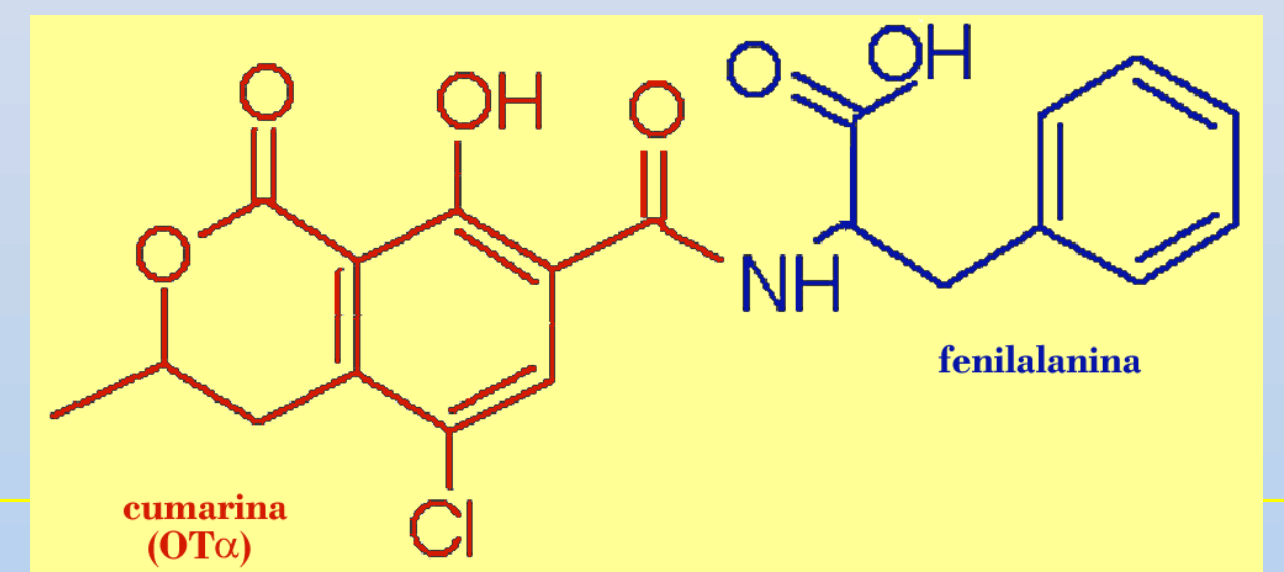


Pietro Vignozzi¹, Livio Lencioni², Stefania Tegli¹, Paola Domizio², Maria Cruz Pozo¹

La

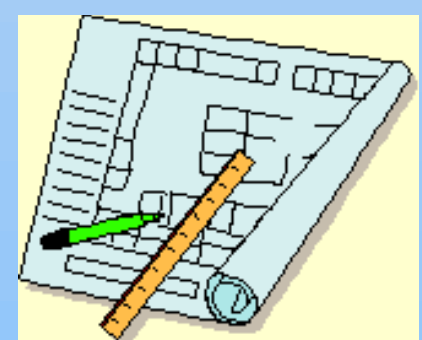
¹Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sez. Patologia Vegetale - Laboratorio di Patologia Vegetale Molecolare, Università degli studi di Firenze, Via della Lastruccia 10, 50019 Sesto Fiorentino, Firenze.

²Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sezione Tecnologie Alimentari, Università degli studi di Firenze, Via Donizetti 6, 50144 Firenze.



SCOPO

verificare il possibile meccanismo di riduzione dell' OTA durante la fermentazione ad opera dei lieviti vinari



MATERIALI & METODI

Per le prove sono stati utilizzati oltre a un ceppo commerciale anche due mutanti di *Saccharomyces*, alterati nella capacità relativa alla compartimentazione vacuolare della CPY, e quindi alto secretori di questo enzima. Tale scelta si è basata sull'ipotesi che questa proteasi fosse capace di idrolizzare l'OTA, analogamente a quanto noto per la CPA. Per le prove sono stati inoltre utilizzati anche due ceppi di *Saccharomyces*, isolati durante la fermentazione di mosto da uve passite per la produzione di vinsanto e risultati avere un buon potere di abbattimento nei confronti dell'OTA.

Nelle prove di fermentazione, condotte in triplo con i 5 diversi ceppi di lievito, per eliminare le interazioni fra gli enzimi cellulari dei lieviti ed i fenoli molto abbondanti nei mosti, è stato utilizzato come substrato un terreno massimo in due condizioni di pH (pH 3,2 e pH 6,2) artificialmente contaminato con 2 ug/ml di OTA.

L'assenza della frazione fenolica dei vini ha consentito, inoltre, l'analisi HPLC dei fermentati per iniezione diretta, eliminando così errori ed interferenze derivanti dalla preparazione dei campioni. L'eluizione è stata effettuata in isocratica (acetoneitrile/H₂O acido acetico 99/99/2) su colonna C18 con rilevazione per fluorescenza dell'eluato (5).

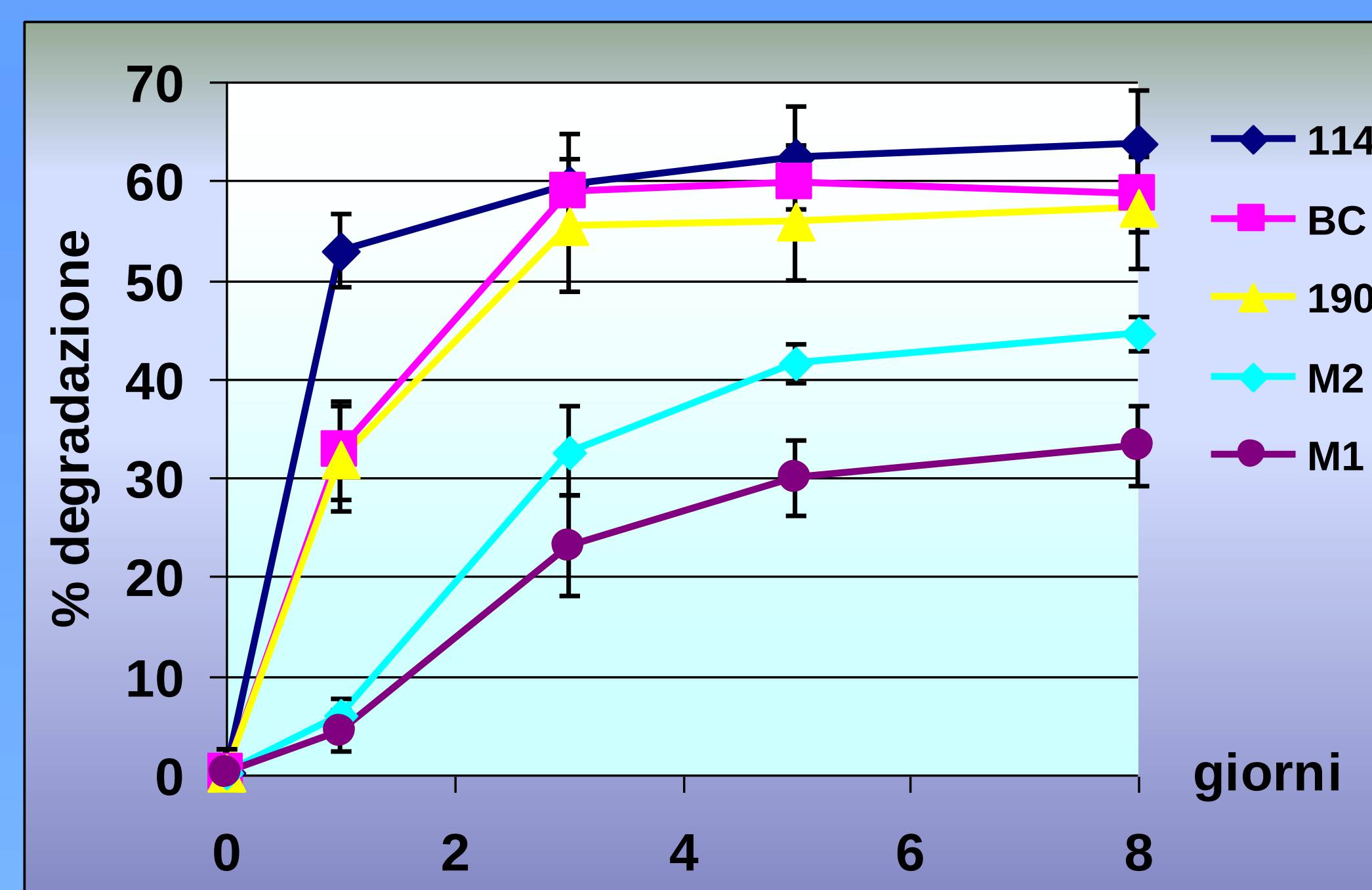


Figura 2

RISULTATI

- La riduzione di OTA non sembra essere dovuta alla attività della CPY in quanto, (Fig. 1) nei fermentati analizzati per iniezione diretta non sono state rilevate neanche tracce di OT- α , la cumarina che con la fenilalanina è il principale prodotto di idrolisi del legame peptidico fra fenilalanina ed isocumarina
- Nelle prove condotte a pH 3,2 (Fig. 2), a fine fermentazione le minori riduzioni di OTA (-35 -45% dell'OTA iniziale) si sono riscontrate proprio nelle fermentazioni condotte dai due ceppi di lievito M1 ed M2, alterati nella capacità relativa alla compartimentazione vacuolare della CPY, e quindi alto secretori di questo enzima.

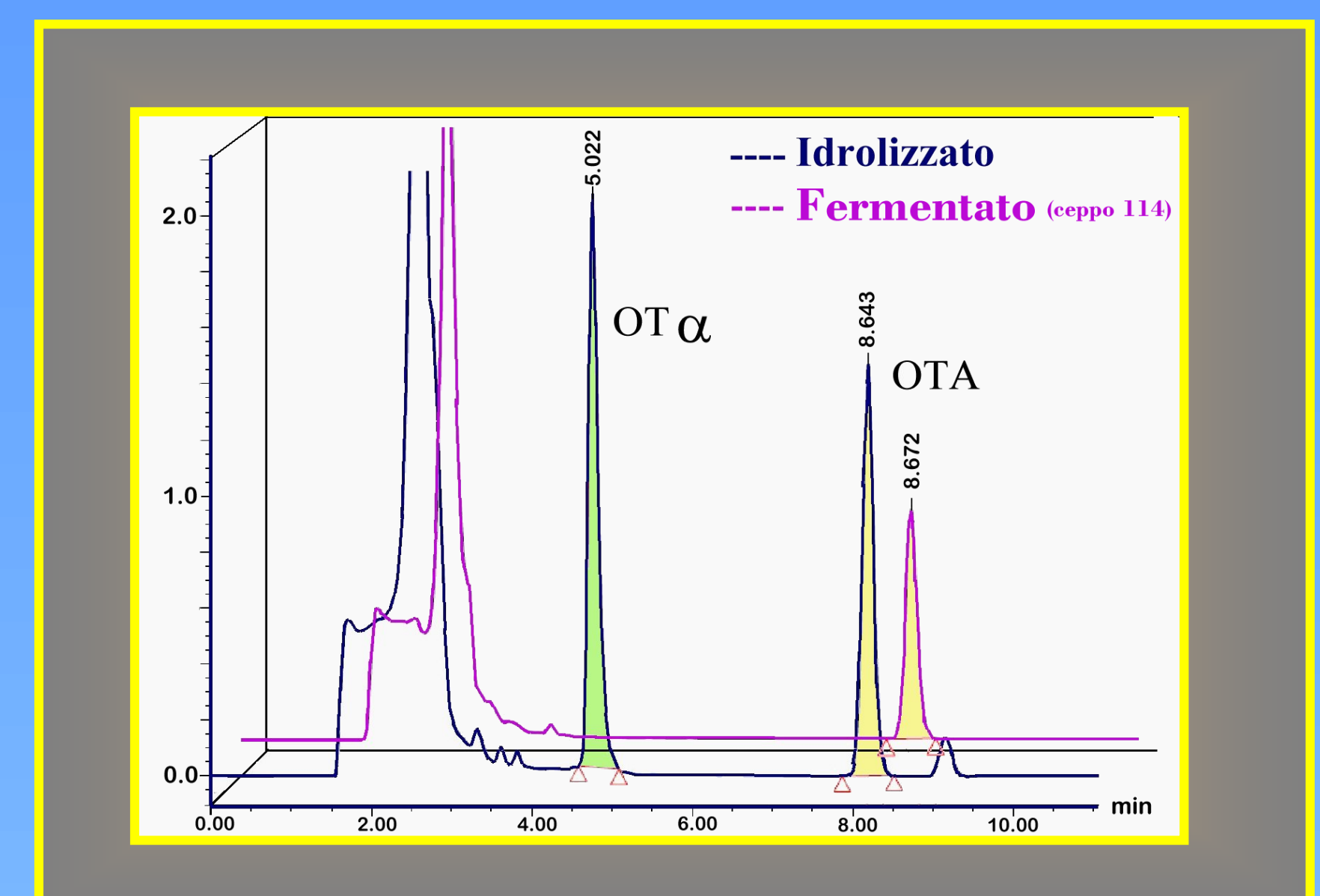


Figura 1

- Al contrario, le fermentazioni condotte con il ceppo commerciale BC e con i ceppi di *Saccharomyces* isolati da Vinsanto hanno portato ad una riduzione del contenuto iniziale di OTA già dopo un brevissimo "tempo di contatto" (1 giorno)
- Inoltre, in questi ultimi tre fermentati, non si è riscontrata nessuna ulteriore riduzione dopo il 2°-3° giorno di fermentazione mentre, nelle fermentazioni con i ceppi alto secretori di CPY si ha una progressiva riduzione con un andamento ad asintoto fino a fine fermentazione.
- Nelle prove di fermentazione condotte in parallelo ma a pH 6,2 (Fig. 3), a fine fermentazione si è riscontrato una generale minor riduzione del contenuto di OTA anche nelle fermentazioni condotte con i mutanti M1 ed M2, nonostante che a questo pH l'attività della CPY sia notevolmente più elevata rispetto a pH 3,2

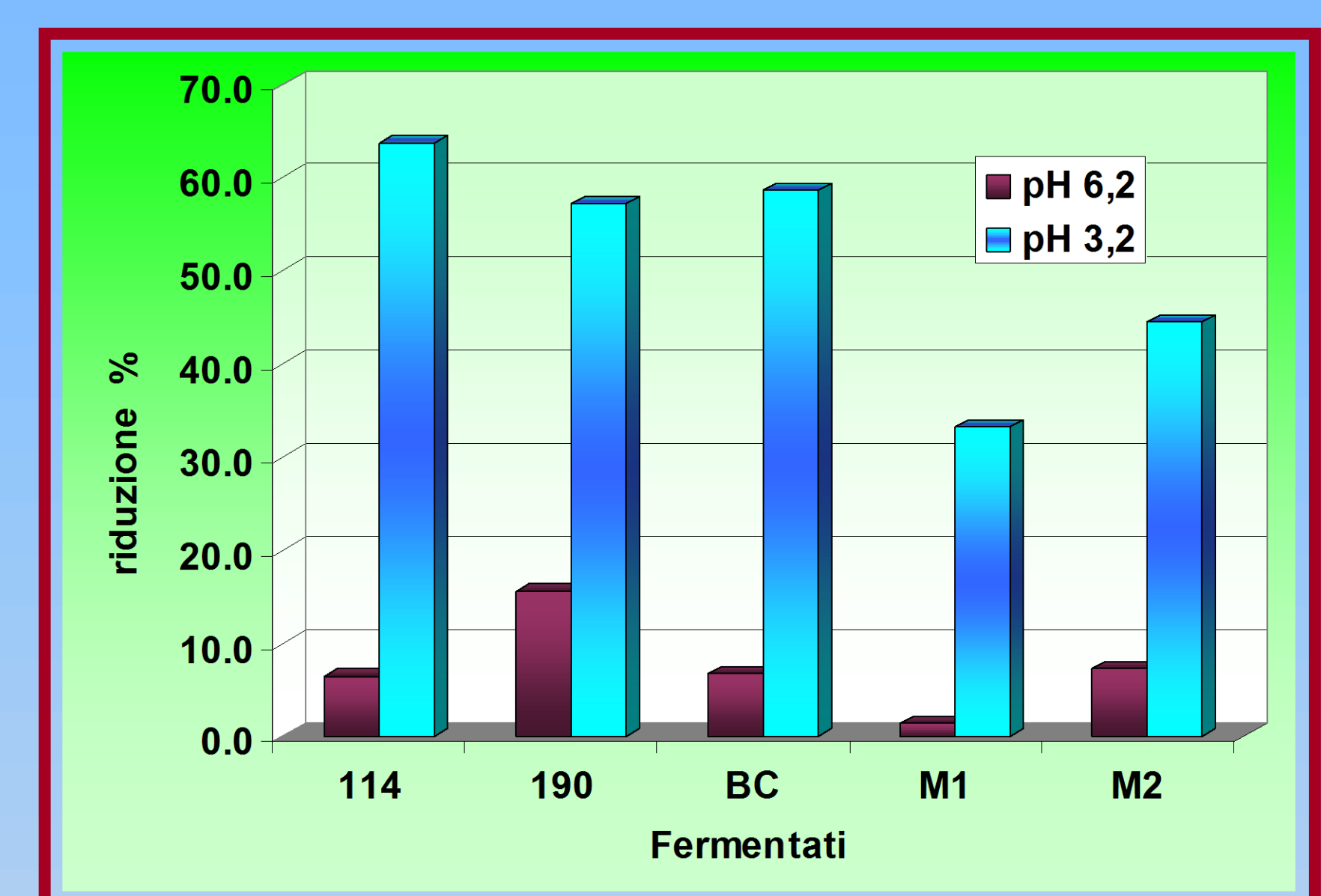


Figura 3

Riferimenti Bibliografici

- Bejaoui H., Mathieu F., Taillandier P., Lebrihi A. (2004). Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 1038-1044
- Blateyron I., Bontemps E., Granès D., Rosseau J. (2006). Recenti acquisizioni sull'OTA. *Infowine.com: Rivista internet di viticoltura ed enologia* n° 71/2006 (tratta da flash InfoVendanges - Edition Spéciale Entreprises, ICV Montpellier, maggio 2006)
- Farris G. A., Cabras P., Orno D., Sudrono M. (2004) Effetto dei lieviti sull'ocratossina A durante il processo fermentativo
- Stennicke H. R., Mortensen U. H., Breddam K. (1996) Studies on the Hydrolytic Properties of (Serine) Carboxypeptidase Y. *Biochemistry* 35, 7131-7141
- Visconti A., Pascale M., Centonze G. (2001). Determination of ochratoxin A in wine and beer by immunoaffinity column cleanup and liquid chromatographic analysis with fluorometric detection: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 84(6), 1818-1827

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti sembrerebbero confermare che la riduzione di OTA nella fase fermentativa vinaria avviene essenzialmente per via non enzimatica e comunque che non comportano l'idrolisi della molecola.

La riduzione della micotossina potrebbe dunque più verosimilmente essere dipendente da meccanismi legati all'adsorbimento sulla parete dei lieviti e del materiale in sospensione mediante interazioni deboli fortemente dipendenti dal pH del mezzo.