



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
DIPARTIMENTO DI SCIENZE PER GLI
ALIMENTI, LA NUTRIZIONE E L'AMBIENTE



**Centro Interdipartimentale di ricerca
per l'Innovazione in Viticoltura ed Enologia**

Riccagioia, 14 gennaio 2014

Prof. Roberto Foschino

Il Progetto Georgia

**Impiego di ceppi non-*Saccharomyces*
per migliorare il profilo sensoriale dei vini**



IVANE JAVAKHISHVILI
TBILISI STATE UNIVERSITY



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Interdepartmental Research Centre
for Innovation in Viticulture and Oenology

Background

WEB OF KNOWLEDGESM | DISCOVERY STARTS HERE

[Go to mobile site](#) | [Sign In](#) | [Marked List \(0\)](#) | [My EndNote Web](#) | [My ResearcherID](#) | [My Citation Alerts](#) | [My Sa](#)

All Databases

Select a Database

Web of Science

Additional Resources

Search Search History

CIL

All Databases

Search

non-Saccharomyces

in Topic

Example: oil spill* mediterranean

AND

wine

in Topic

Example: oil spill* mediterranean

AND

in Year Published

Example: 2001 or 1997-1999

[Add Another Field >>](#)

[Search](#)

[Clear](#)

Searches must be in English

Get End
Store you
text in se
EndNote:

Training

- Dow
Reco

What's

- Data
cite n
- More



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Interdepartmental Research Centre
for Innovation in Viticulture and Oenology

Background

Yeast

Yeast 2000; **16**: 675–729.

Review

Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking

Isak S. Pretorius*

Institute for Wine Biotechnology, University of Stellenbosch, Stellenbosch, ZA-7600, South Africa

*Correspondence to:

I. S. Pretorius, Institute for Wine Biotechnology, University of Stellenbosch, Victoria Street, ZA-7600 Stellenbosch, South Africa.
E-mail: isp@maties.sun.ac.za

Abstract

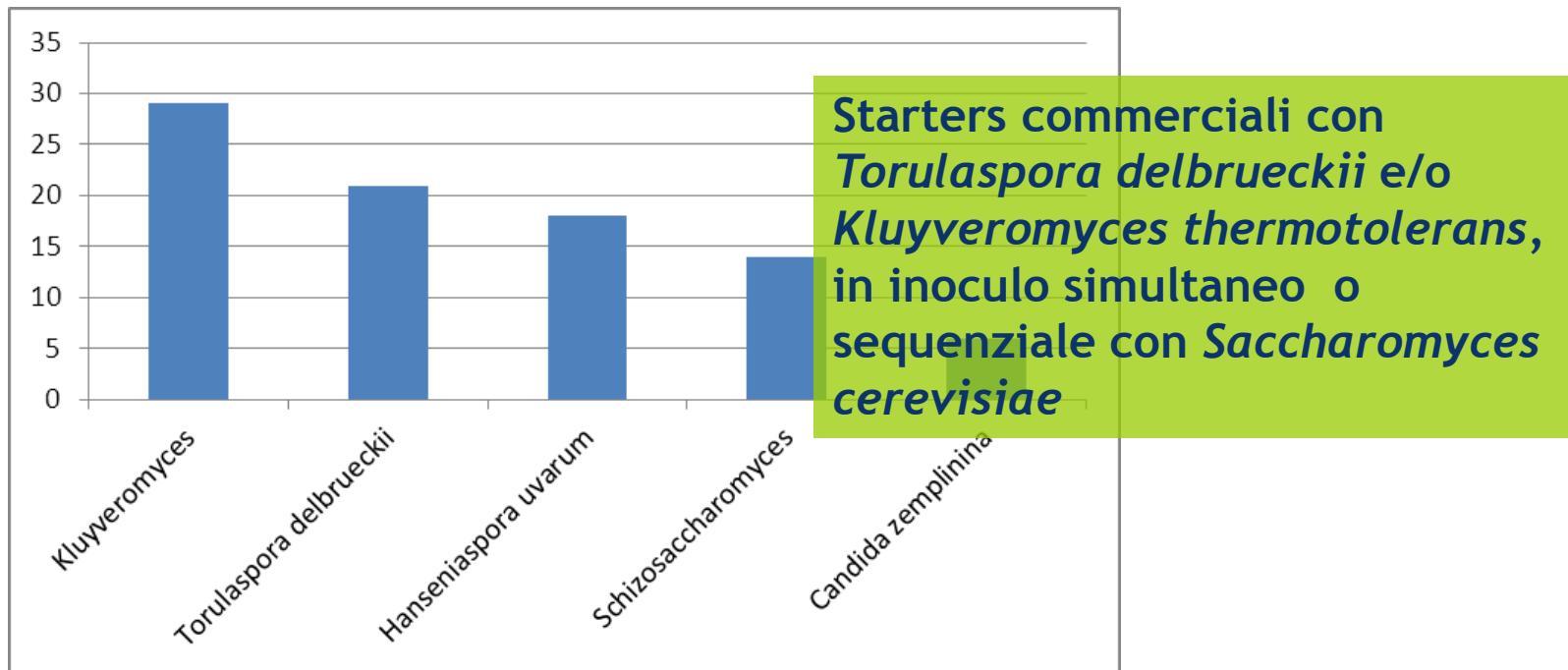
Yeasts are predominant in the ancient and complex process of winemaking. In spontaneous fermentations, there is a progressive growth pattern of indigenous yeasts, with the final stages invariably being dominated by the alcohol-tolerant strains of *Saccharomyces cerevisiae*. This species is universally known as the ‘wine yeast’ and is widely preferred for initiating wine fermentations. The primary role of wine yeast is to catalyze the rapid, complete and efficient conversion of grape sugars to ethanol, carbon dioxide and other minor, but important, metabolites without the development of off-flavours. However, due to the demanding nature of modern winemaking practices and sophisticated wine markets,



Background

Specie di lieviti non-*Saccharomyces* con impatto sulla qualità sensoriale del vino

numero di pubblicazioni



Obiettivi

- Cercare nuovi ceppi in ambienti antichi di coltivazione della vite e di produzione del vino
- Caratterizzare fenotipicamente e geneticamente
- Selezionare per caratteri enologici
- Saggiare le prestazioni in prove di microvinificazione
- Studiare i profili aromatici ottenuti mediante analisi chimica e valutazioni sensoriali



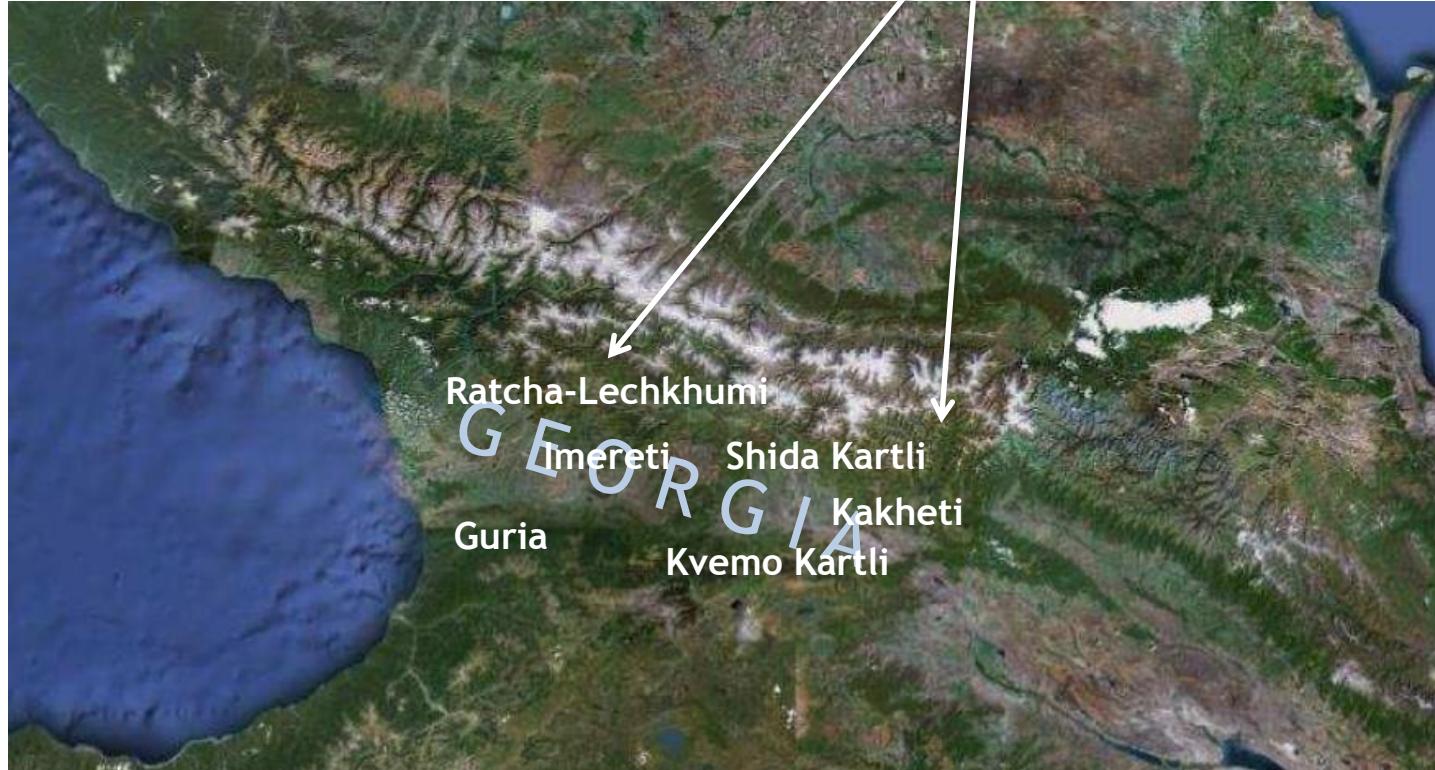
Piano sperimentale

- Campionamento di uva, mosto e vino in Georgia
- Isolamento ed identificazione degli isolati
- Selezione dei ceppi su caratteri tecnologici e di qualità
- Prove di microvinificazione
- Analisi chimiche e valutazione sensoriale



Campionamento

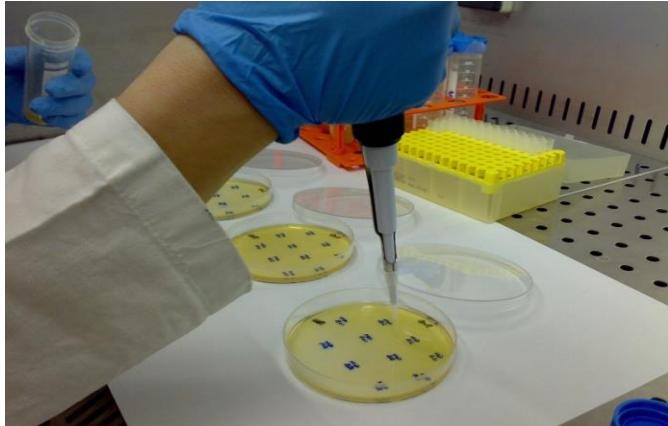
- Collezione di 78 campioni in differenti aree Georgiane da diverse varietà di *Vitis vinifera* autoctone



Campionamento



Isolamento ed identificazione dei lieviti

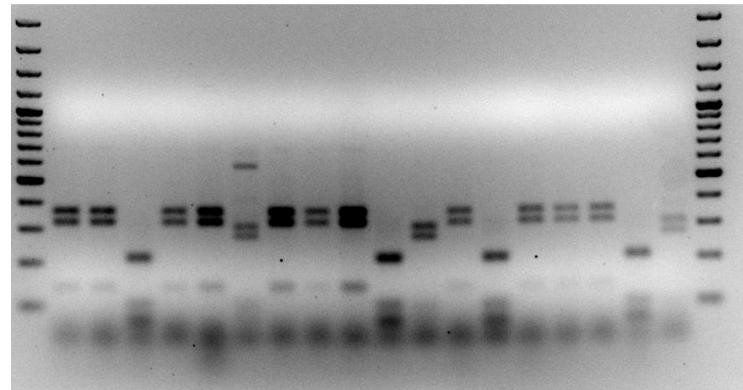


Tecnica colturale per piastramento
Preparazione delle colture pure
Osservazione microscopica
180 isolati

Restriction Fragment Length
Polymorphism (RFLP) of ITS rDNA
(Esteve-Zarzoso et al., 1999)

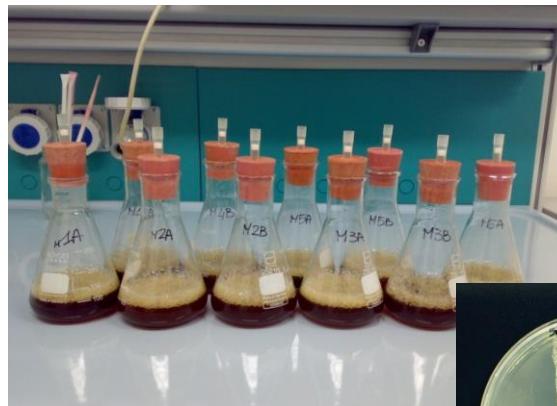
Sequence analysis of D1/D2 domain
of 26S rDNA

Trovate 14 differenti specie



Selezione dei ceppi per caratteri enologici

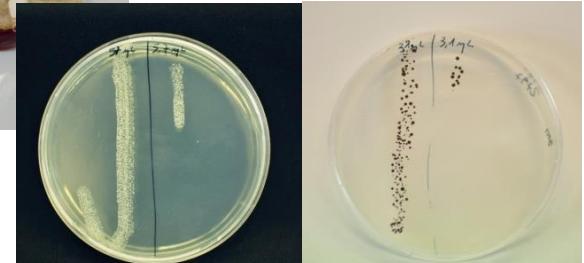
Curve di fermentazione



Test di resistenza alla SO₂

Produzione di H₂S

Produzione di acido acetico



Produzione di glicerolo



Selezione dei ceppi per caratteri enologici

Torulaspora delbrueckii UMY196

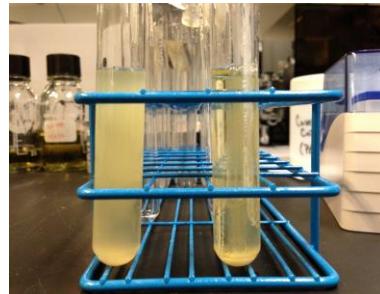


Kluyveromyces marxianus UMY207



Prove di micro-vinificatione

➤ Preparazione delle cellule di lievito per l'inoculo



25° C per 48 h

25° C per 48 h, 120 rpm,
5% inoculum



4°C, 30min a 6000 g

Inoculo di cellule
fresche e concentrate



Prove di micro-vinificazione

➤ Inoculo dei mosti (CV Riesling Italico e Croatina)



Recupero dei mosti da cantina in Oltrepò



Addizione di metabisolfito di potassio (100 mg/L) e di diammonio solfato (150 mg/L)



Inoculo delle cellule di lievito ($> 5 \cdot 10^6$ CFU/ml) in tank da 70 L a 18°C

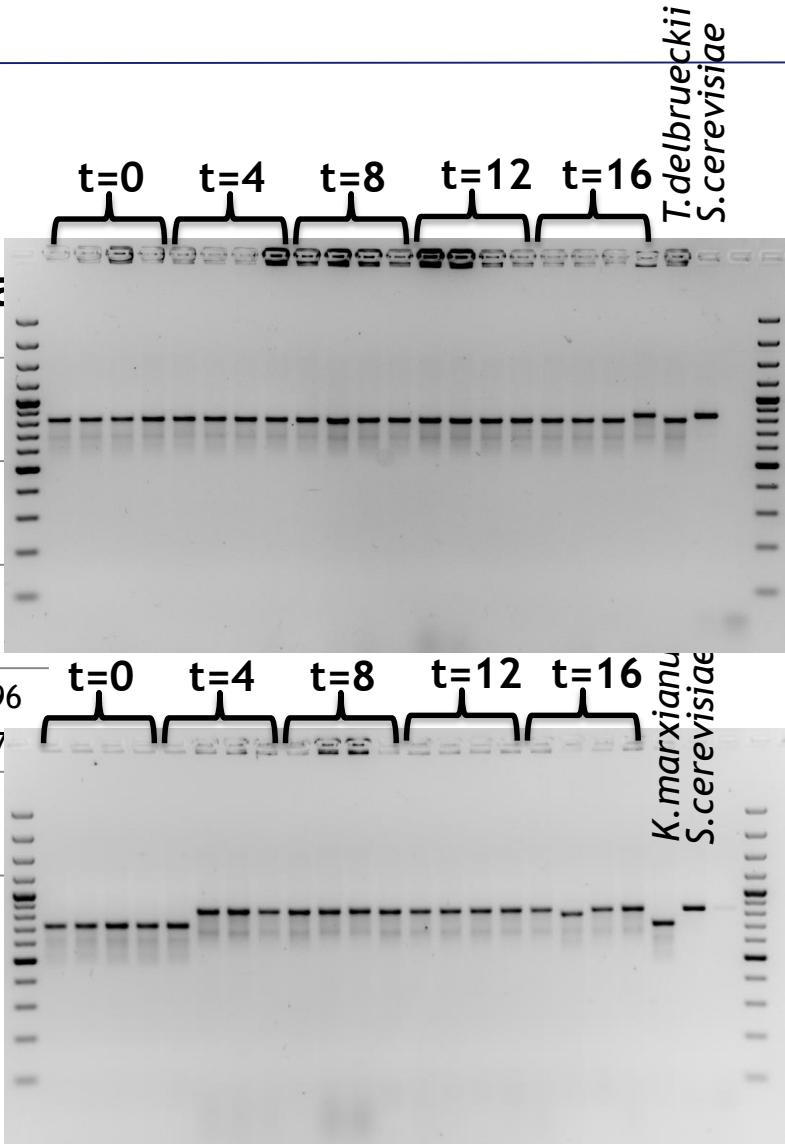
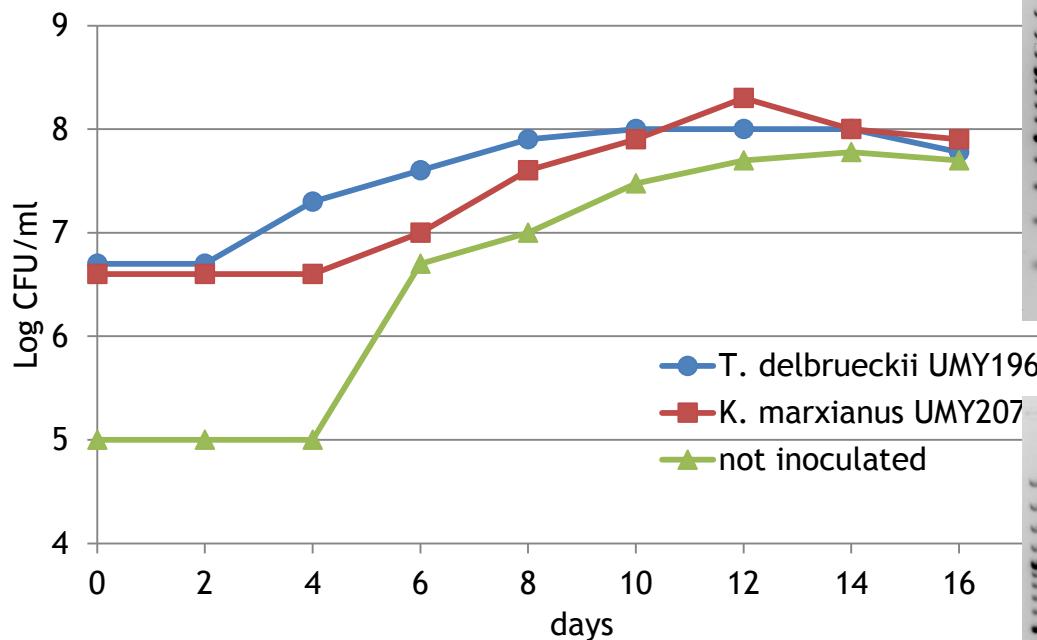


La fermentazione è partita dopo 48-72 h



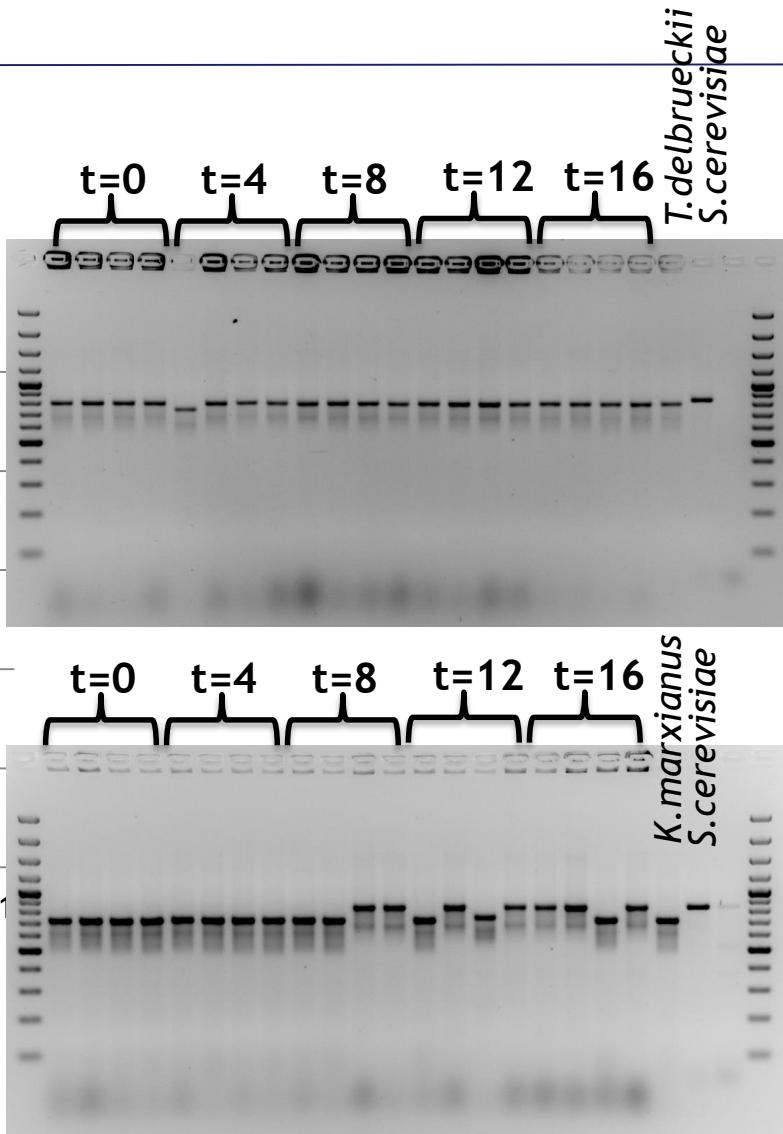
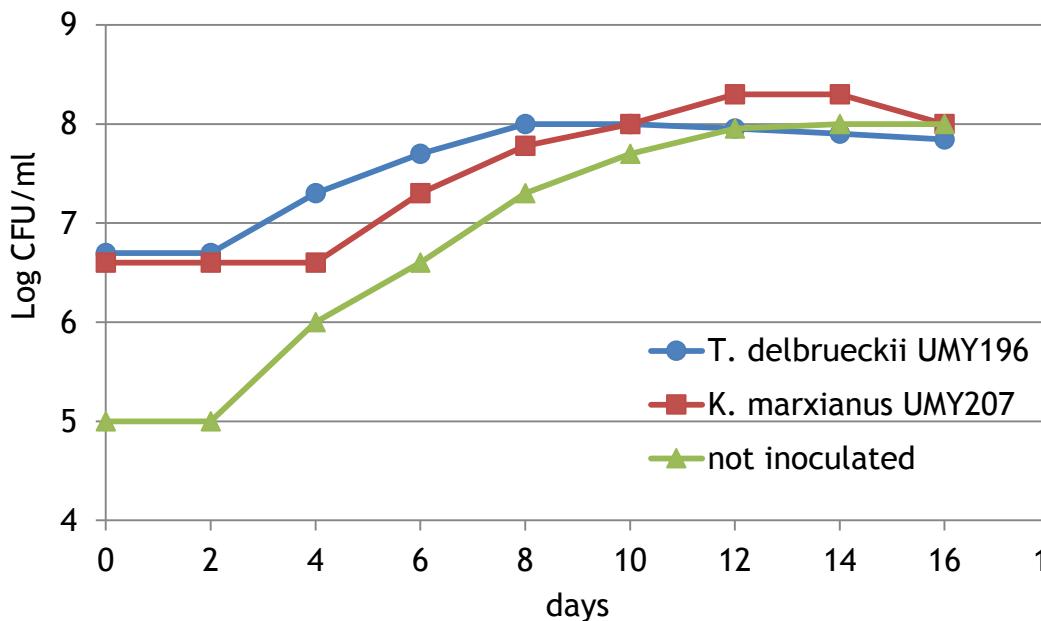
Monitoraggio delle popolazioni dei lieviti

Curve di crescita in mosto Riesling It.



Monitoraggio delle popolazioni dei lieviti

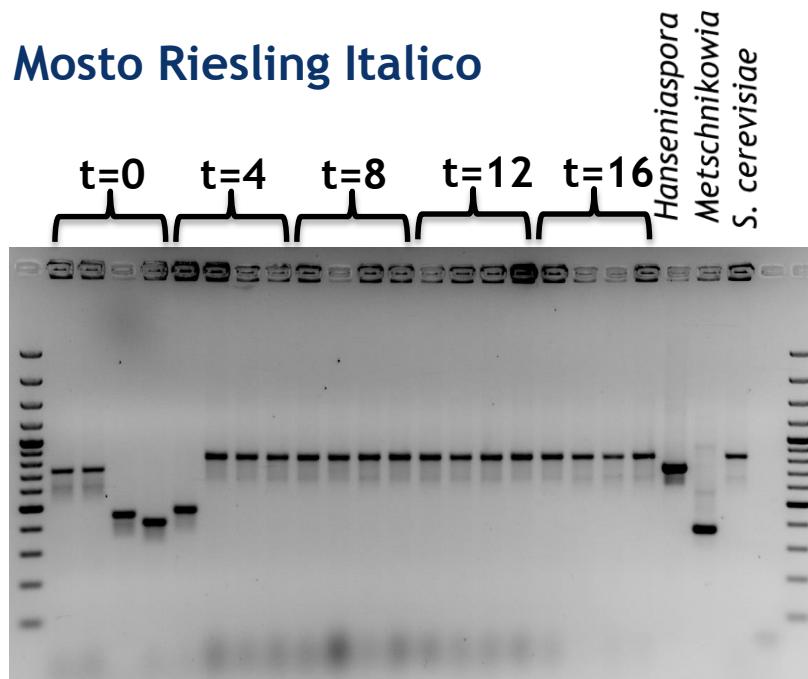
Curve di crescita in mosto Croatina



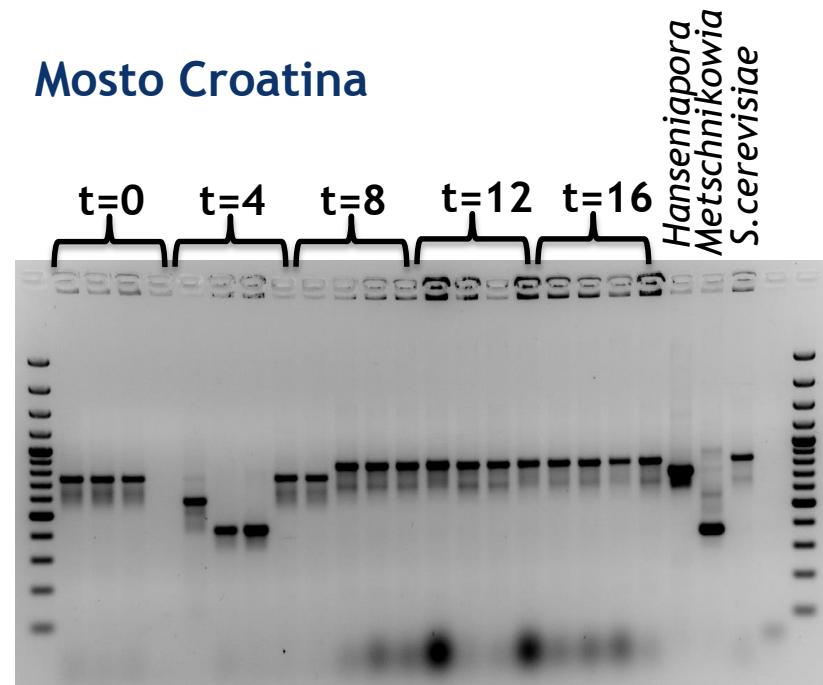
Monitoraggio delle popolazioni dei lieviti

Nei campioni non inoculati si osservarono fermentazioni spontanee dove ceppi di *S. cerevisiae* erano dominanti

Mosto Riesling Italico



Mosto Croatina



Analisi chimiche

- Risultati delle analisi chimiche in campioni di Riesling Italico a fine fermentazione
(media di due repliche)



	Ethanol % (V/V)	Sugars (g/L)	pH	Total acidity (g/L)	Volatile acidity (g/L)	Free SO ₂ (mg/L)
<i>T. delbrueckii</i> UMY196	12,1	5,1	3,04	6,6	0,40	6
<i>K. marxianus</i> UMY207	11,6	7,7	3,14	6,3	0,25	10
not inoculated	12,3	4,1	3,11	6,2	0,47	8



Analisi chimiche

- Risultati delle analisi chimiche in campioni di
Croatina samples a fine fermentazione
(media di due repliche)



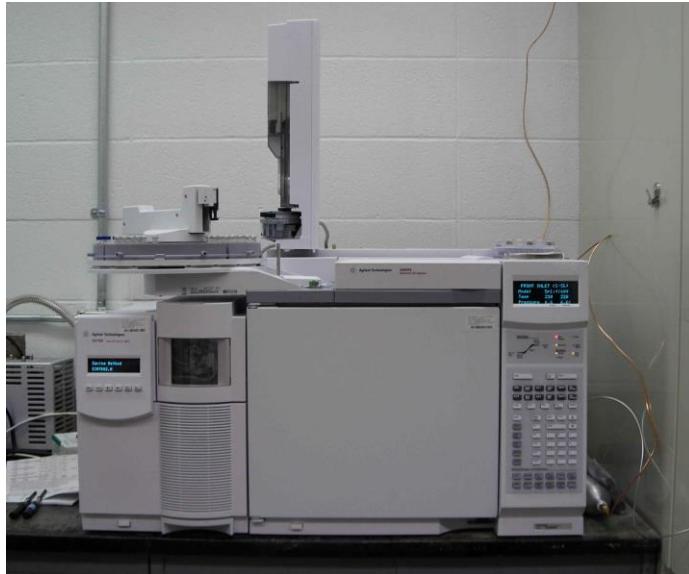
	Ethanol % (V/V)	Sugars (g/L)	pH	Total acidity (g/L)	Volatile acidity (g/L)	Free SO ₂ (mg/L)
<i>T. delbrueckii</i>						
UMY196	13,3	5,5	3,24	8,1	0,70	16
<i>K. marxianus</i>						
UMY207	13,4	8,7	3,23	8,3	0,35	18
not inoculated	13,5	4,1	3,12	8,2	0,32	13



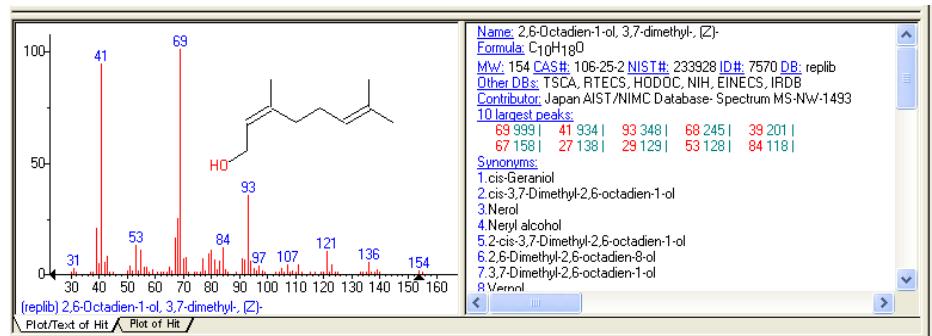
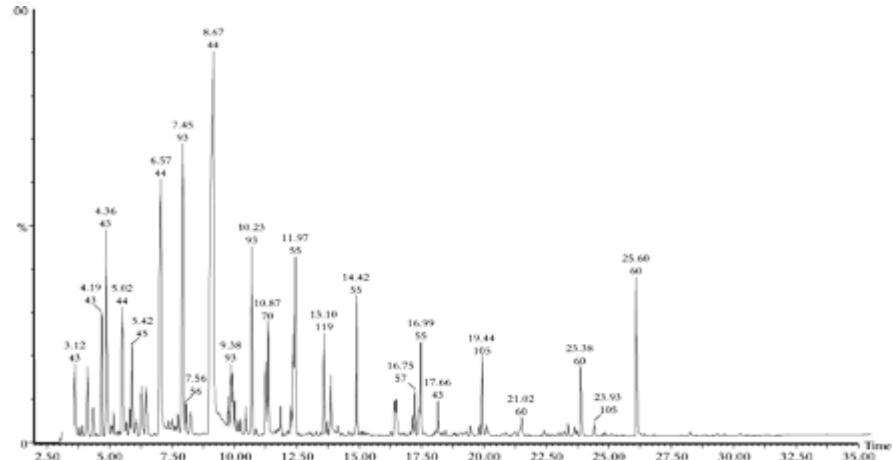
Analisi chimiche

➤ GC-MS analysis with SPME (Solid Phase Micro-Extraction) fiber

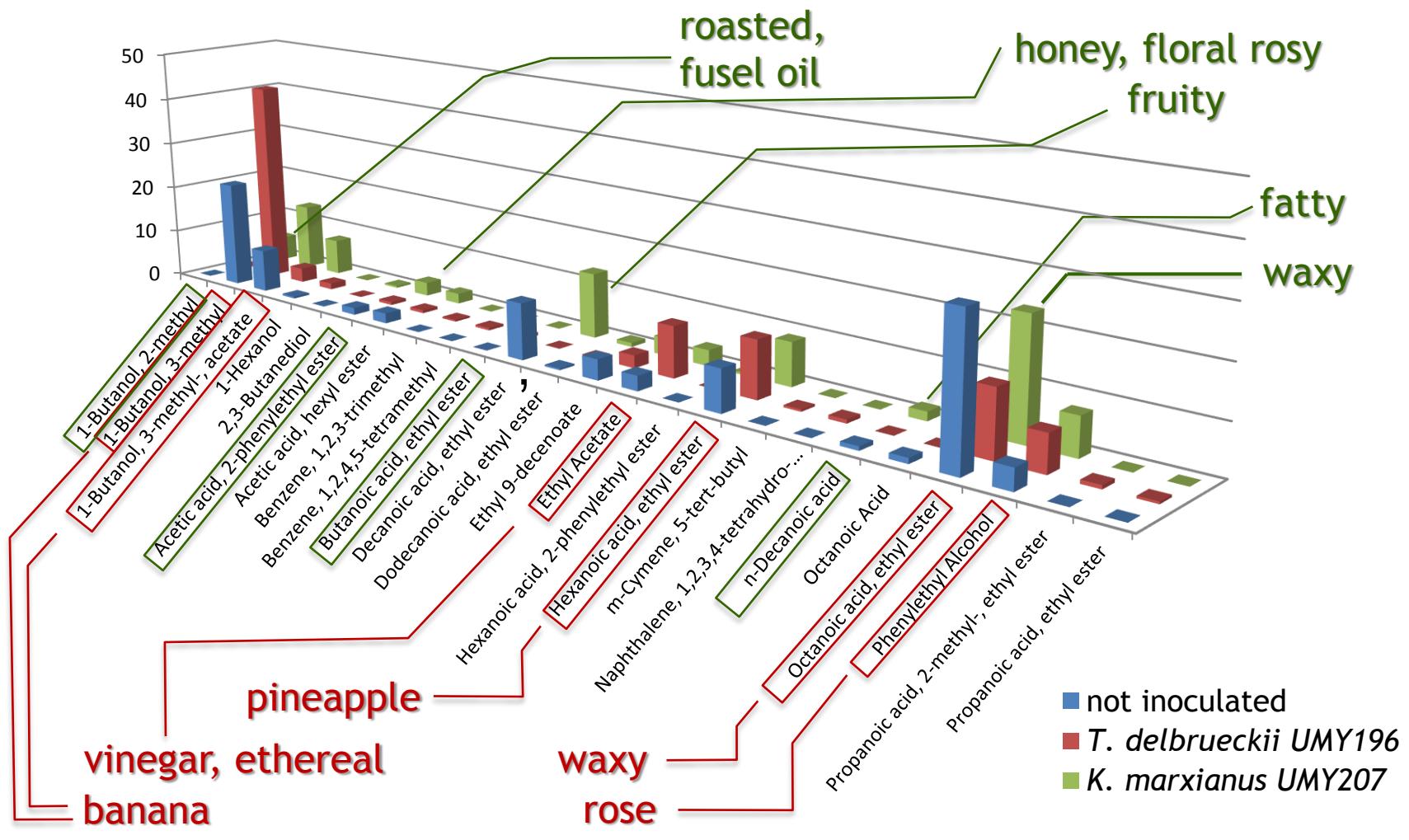
(De la Calle Garcia et al., 1997; Comuzzo et al., 2006)



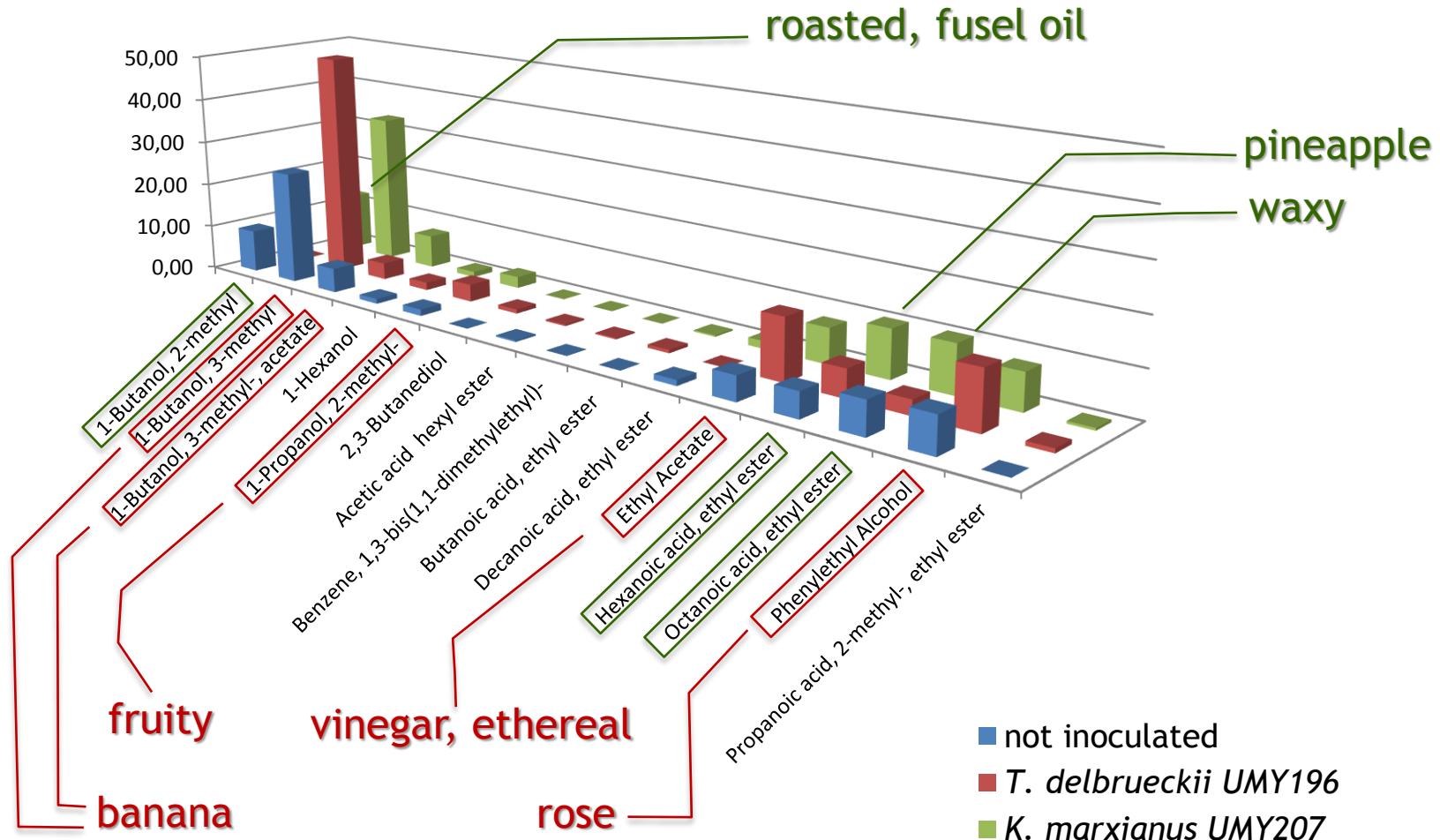
Head space of sealed
samples (30°C for 30 min)



Risultati GC-MS in campioni di Riesling Italico



Risultati GC-MS in campioni di Croatina



Valutazione sensoriale



Dieci esperti valutarono:
- percezione dei descrittori
- intensità olfattiva
- piacevolezza

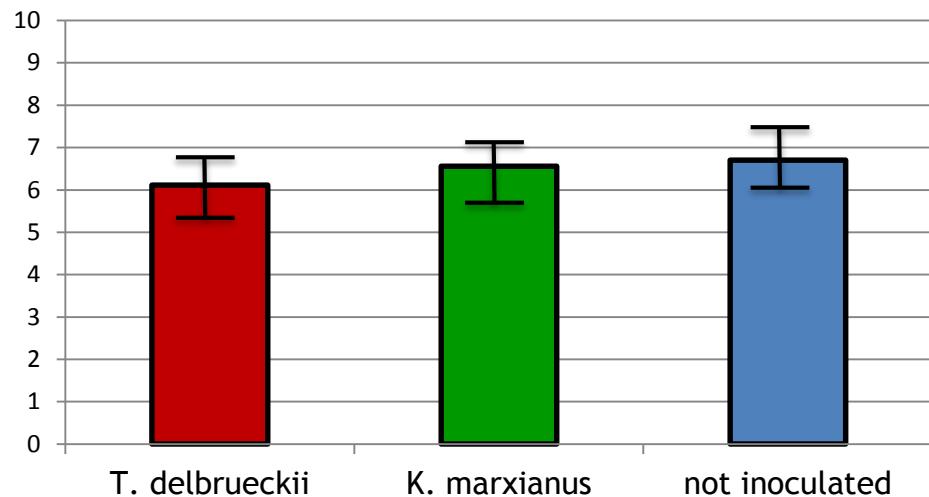
Punteggi
(unstructured hedonistic scales)

Nome Degustatore	Data
Codice vino.....	
Intensità Olfattiva 	
Gradevolezza 	
DESCRITTORI	
Fruttato acerbo (mela, mela acerba, ananas immatura)
Fruttato maturo (albicocca, pesca, melone, banana, ananas)
Frutta rossa (lampone, ciliegia, fragola, mora, mirtillo, ribes nero)
Agrumato (limone, arancio, cedro, pompelmo)
Floreale (rosa, viola, garofano)
Vegetale secco (tabacco, fieno, the)
Vegetale fresco-balsamico (erba, rucola, menta, basilico, eucalipto)
Vegetale cotto (oliva inscatolata, carciofo, fagiolino)
Frutta Secca (nocciola, mandorla, prugna secca, castagna)
Caramello (cacao, cioccolato, caffè, vaniglia, crosta di pane, lievito)
Speziato (timo, origano, maggiorana, liquirizia, cannella, chiodo di garofano, pepe)
Fenolico (sella, cuoio, catrame, inchiostro)
Ossidato (mela grattugiata, pera ammaccata)



Valutazione sensoriale

Punteggi di intensità olfattiva in campioni di Riesling Italico



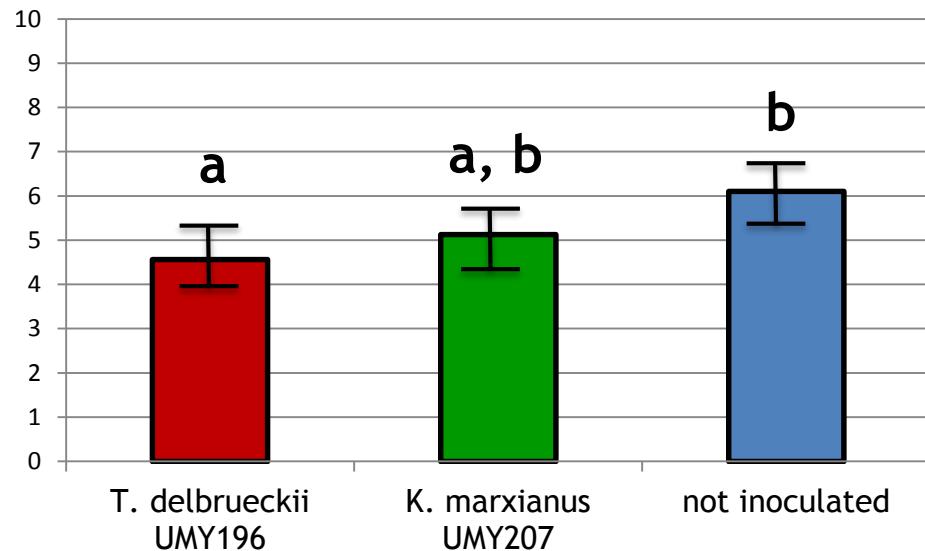
apple, banana,
herbs, jasmine,
pineapple,
tropical fruits

avocado, apple, banana,
butter, fatty, jasmine, pear,
pharmaceutical, rose



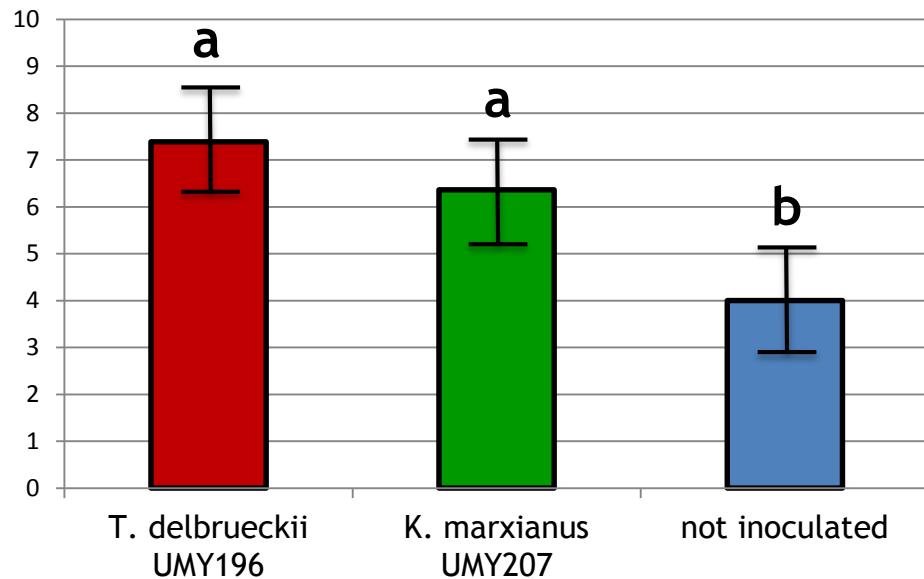
Valutazione sensoriale

Punteggi di piacevolezza in campioni di Riesling Italico



Valutazione sensoriale

Punteggi di intensità olfattoria in campioni di Croatina



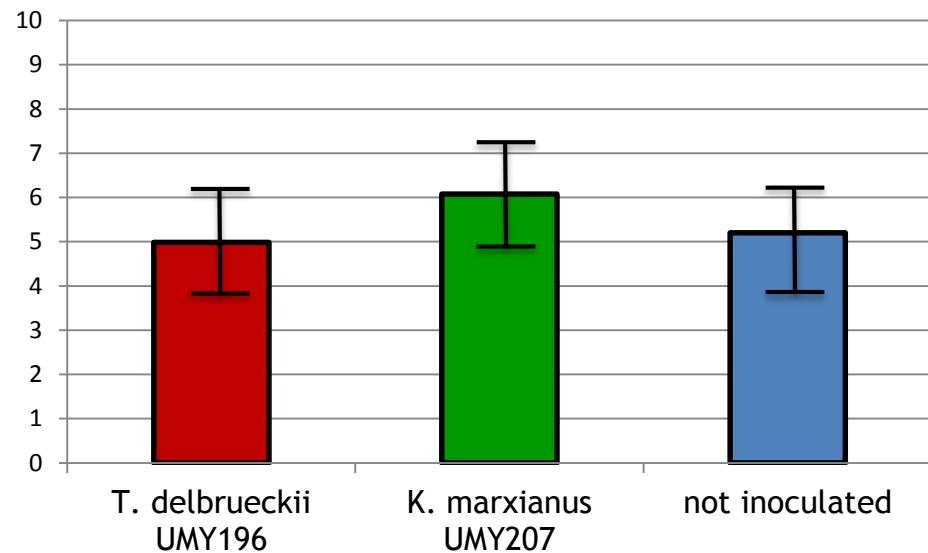
apple, berries,
floral, pineapple,
rose

apple, banana, fatty,
pharmaceutical,
spices



Valutazione sensoriale

Punteggi di piacevolezza in campioni di Croatina



Conclusioni

- Alto grado di biodiversità in popolazioni di lieviti Georgiani
- *Torulaspora delbrueckii* UMY196 era in grado di dominare la fermentazione , invece *Kluyveromyces marxianus* UMY207 era sopraffatto dai lieviti selvaggi dopo alcuni giorni
- Con entrambi i ceppi c'erano zuccheri residui (5,1 -8,7 g/L) a fine fermentazione
- *Torulaspora delbrueckii* UMY196 sviluppava più acidità volatile (0,40-0,70 g/L) di *Kluyveromyces marxianus* UMY207 (0,25-0,35 g/L)



Conclusioni

- Le analisi GC-MS degli spazi di testa evidenziavano l'abilità di entrambi i ceppi di produrre composti volatili interessanti (esteri ed alcoli) per gli enologi:
 - in particolare *Torulaspora delbrueckii* UMY196 generava note di frutti tropicali e fiori
 - Kluyveromyces marxianus* UMY207 generava aromi floreali, speziati, cremosi
- Per entrambi i ceppi i punteggi di intensità olfattoria erano più alti che quelli della piacevolezza



Ringraziamenti

Sabrina Capponi
Osvaldo Failla
David Maghradze
Mara Rossoni

Grazie per l'attenzione!

roberto.foschino@unimi.it

