

## RELAZIONE TRA COMPOSIZIONE E PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI DI DERIVATI DI LIEVITO COMMERCIALI

**Piergiorgio Comuzzo, Rosanna Toniolo, Franco Battistutta**

Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali (Di4A)  
Gruppo di Ricerca in Viticoltura ed Enologia

piergio.comuzzo@uniud.it

### Introduzione

Le prime evidenze riguardo le proprietà antiossidanti dei derivati di lievito risalgono agli anni 2010, quando si osservava la capacità di tali prodotti di preservare la componente aromatica dei vini durante la conservazione (Andújar-Ortiz et al., 2010).

Inizialmente, tale capacità veniva ricondotta alla presenza di glutazione (GSH) nei preparati oggetto di studio, tanto che diversi lavori descrivevano i derivati analizzati come GSH-enriched, "arricchiti in glutazione" (Andújar-Ortiz et al., 2010; Kritzinger et al., 2013).

Successivamente, altri studi hanno evidenziato il ruolo di altre componenti nella definizione delle proprietà antiossidanti dei derivati di lievito. Fra queste, alcuni peptidi contenenti metionina, triptofano e tirosina (Rodríguez-Bencomo et al., 2014) e molecole tioliche diverse dal GSH, quali cisteina e proteine caratterizzate da gruppi -SH (Tirelli et al., 2010).

Molecole contraddistinte da gruppi tiolici, sono state evidenziate anche come alcune delle componenti antiossidanti più significative della feccia (Gaillard-Chacon et al., 2010). Una parte di queste risulterebbe legata alla frazione parietale dei residui cellulari di lievito, che potrebbero pertanto avere un ruolo importante nella definizione delle proprietà riducenti della feccia medesima e dei derivati stessi.

### Capacità antiossidante dei derivati di lievito

Dove risiede dunque la capacità antiossidante dei derivati di lievito? Contrariamente alla feccia fresca, i derivati presentano una capacità limitata di consumare ossigeno (Figura 1). Nonostante ciò, l'aggiunta di derivati si è dimostrata più efficace dell'aggiunta di feccia sulla protezione del colore dei vini bianchi, soprattutto per periodi di conservazione medio-lunghi (Comuzzo et al., 2015).

I derivati, tuttavia, non si comportano tutti allo stesso modo; in Figura 2, si possono osservare gli effetti dell'aggiunta di due derivati di lievito prodotti in laboratorio con modalità diverse (D1 e D2), sull'evoluzione del colore di un vino Chardonnay, in rapporto ad un controllo solfitato (Vino + SO<sub>2</sub>). Si osserva che a quattro mesi dal trattamento il derivato D1 ha consentito il mantenimento di un colore che non si discosta significativamente da quello del campione solfitato, mentre il derivato D2 ha determinato un netto imbrunimento. Se andiamo a confrontare la tecnica di produzione di tali due derivati, osserviamo che il D2 è un prodotto ottenuto mediante termolisi (120 °C per 2 ore), mentre il D1 è un lisato meccanico, per il quale la temperatura massima raggiunta in produzione era di 74 °C, mantenuta per pochi minuti. Le modalità di ottenimento dei derivati ne possono quindi condizionare la capacità antiossidante.

### Componenti antiossidanti dei derivati di lievito

Sulla base di quanto detto, abbiamo pertanto voluto prendere in considerazione quali siano le frazioni maggiormente attive nel definire la capacità dei derivati di proteggere i vini dall'ossidazione. Più in dettaglio, ci siamo chiesti quali siano i legami fra la composizione delle polveri e gli effetti visibili sui vini. Per fare questo, siamo partiti dalle evidenze riscontrate in letteratura, ovvero da quanto sopra riportato riguardo la frazione insolubile di questi prodotti e la presenza di molecole caratterizzate da gruppi tiolici.

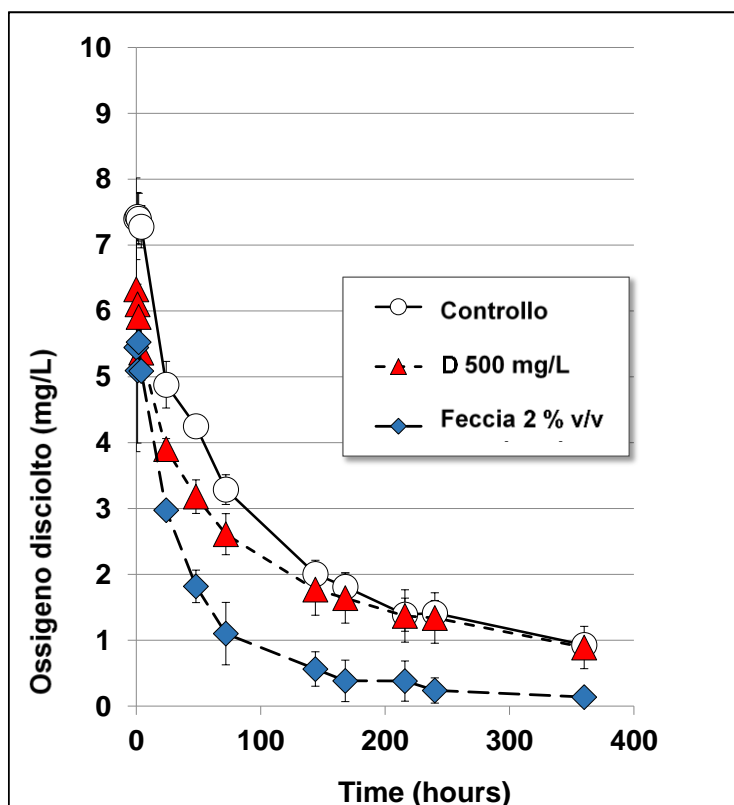


Figura 1. Effetto dell'aggiunta di feccia fresca e di un derivato di lievito (D) sulla capacità di consumo di ossigeno di un vino bianco in bottiglia (elaborato da Ferretti, 2014)

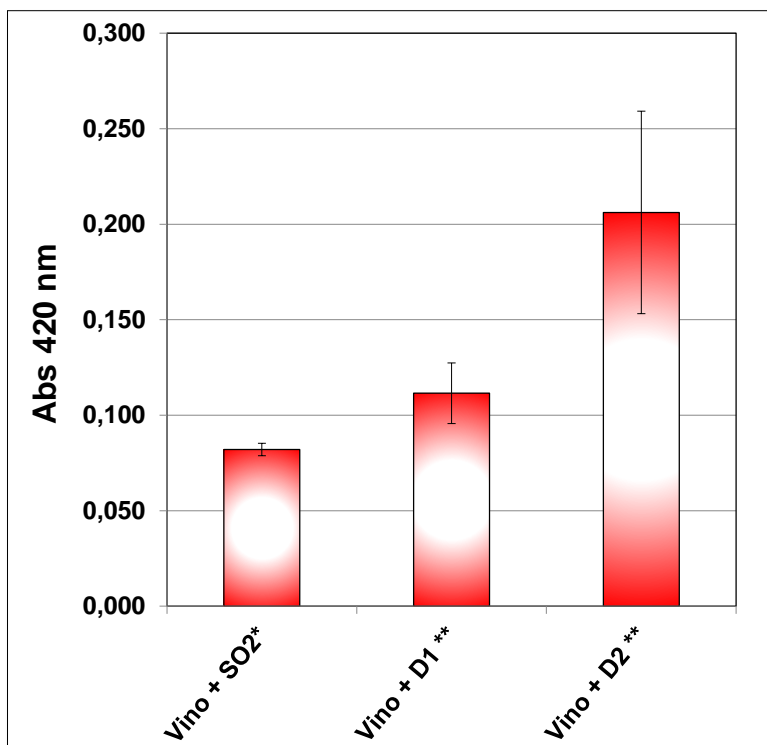


Figura 2. Effetto dell'aggiunta di due derivati di lievito ottenuti con tecnologie diverse sulla protezione del colore di un vino bianco in bottiglia. Tempo di conservazione 4 mesi; \* aggiunta di SO<sub>2</sub>: 50 mg/L; \*\* aggiunta di derivati: 400 mg/L (elaborato da Ferretti, 2014)

L'importanza della componente insolubile risulta evidente osservando la Tabella 1, dove viene riportata la capacità anti-radicalica (nei confronti del DPPH•) di alcuni derivati del commercio. Si nota come l'attività di *scavenging* dei radicali liberi sia prevalentemente localizzata sulla parte insolubile, in maniera pressoché indifferenziata fra i cinque prodotti analizzati. La frazione solubile dei derivati, invece, presenta un'attività *radical scavenging* inferiore, con chiare differenze fra un prodotto e l'altro, risultando più elevata nel derivato D5, e più bassa nel D2.

Tabella 1. Attività antiradicalica rilevata separatamente nel residuo insolubile e nella frazione solubile di cinque derivati di lievito commerciali (metodo spettrofotometrico, reazione con DPPH• – Brand-Williams et al., 1995; Gaillard-Chacon et al., 2010); l'attività antiradicalica aumenta all'aumentare del valore assoluto di  $\Delta$  Abs 515 nm % (Molaro, 2017)

Frazione	Campione	$\Delta$ Abs 515 nm %		
		MEDIA	$\pm$	DS
Insolubile	D1	-34,0	$\pm$ 1,7	
	D2	-28,0	$\pm$ 4,2	
	D3	-32,5	$\pm$ 3,1	
	D4	-31,7	$\pm$ 4,5	
	D5	-30,2	$\pm$ 4,0	
Solubile	D1	-12,1	$\pm$ 1,3	
	D2	-4,6	$\pm$ 0,2	
	D3	-9,3	$\pm$ 1,0	
	D4	-11,3	$\pm$ 0,3	
	D5	-16,2	$\pm$ 1,2	

Tabella 2. Gruppi tiolici determinati nella frazione solubile di cinque derivati di lievito commerciali (metodo spettrofotometrico, derivatizzazione con 4,4'-ditiodipiridina – Gaillard-Chacon et al., 2010) – (Molaro, 2017)

Campione	Gruppi tiolici totali ( $\mu$ mol GSH / g)		
	MEDIA	$\pm$	DS
D1	39,3	$\pm$ 8,3	
D2	1,4	$\pm$ 1,8	
D3	13,2	$\pm$ 4,0	
D4	13,2	$\pm$ 3,5	
D5	101,5	$\pm$ 35,9	

Ci siamo dunque chiesti quali fossero le differenze compositive che potevano determinare tali variazioni e per cercare di stabilirlo siamo partiti dalla componente tiolica. La Tabella 2 riporta la concentrazione in molecole tioliche (espresse in  $\mu$ mol/g di GSH) presenti nella frazione solubile dei derivati di Tabella 1. Si osserva come gli andamenti riscontrati siano analoghi a quelli riportati per l'attività anti-radicalica; le due componenti sono risultate infatti statisticamente correlate fra di loro ( $r = 0.76$ ).

Ciò non significa necessariamente che il glutatone e gli altri composti tiolici che caratterizzano i derivati siano i diretti responsabili dell'attività anti-radicalica, ma, vista la facilità con cui le molecole tioliche vengono ossidate, ci consente un'altra volta di individuare un legame fra la capacità antiossidante dei derivati e la tecnologia di produzione: approcci produttivi mirati a massimizzare la componente tiolica, potrebbero portare a massimizzare anche l'azione anti-radicalica di tali prodotti.

### Importanza della componente tiolica

Qual è dunque il ruolo della componente tiolica nel caratterizzare le proprietà antiossidanti dei derivati?

Nella nostra esperienza, la voltammetria ciclica ha consentito di comprendere meglio la reattività di questi preparati enologici complessi. Se si analizzano mediante tale tecnica elettroanalitica gli effetti dell'aggiunta dei derivati di Tabella 1 ad una soluzione modello contenente (+)-catechina, si possono osservare due distinti comportamenti (Figura 3): alcuni prodotti (es. D5) sono in grado di aumentare il picco anodico della catechina, in analogia (anche se in misura minore) con quanto fa l'anidride solforosa (Figura 3a). Ciò significa che nella composizione del derivato stesso vi è una componente in grado di reagire con i chinoni, rigenerando la specie fenolica. Altri derivati, invece (es. D2) non modificano il tracciato anodico della catechina (Figura 3b), o addirittura ne determinano un leggero abbassamento, probabilmente in virtù della capacità della frazione insolubile di adsorbire le sostanze fenoliche. Ora, tali due comportamenti sono apparsi legati alla componente tiolica presente; il primo prevale nei derivati ricchi di composti con gruppi  $-SH$  (D5); il secondo, è stato evidenziato nei prodotti in cui la componente tiolica è poco rappresentata (D2).

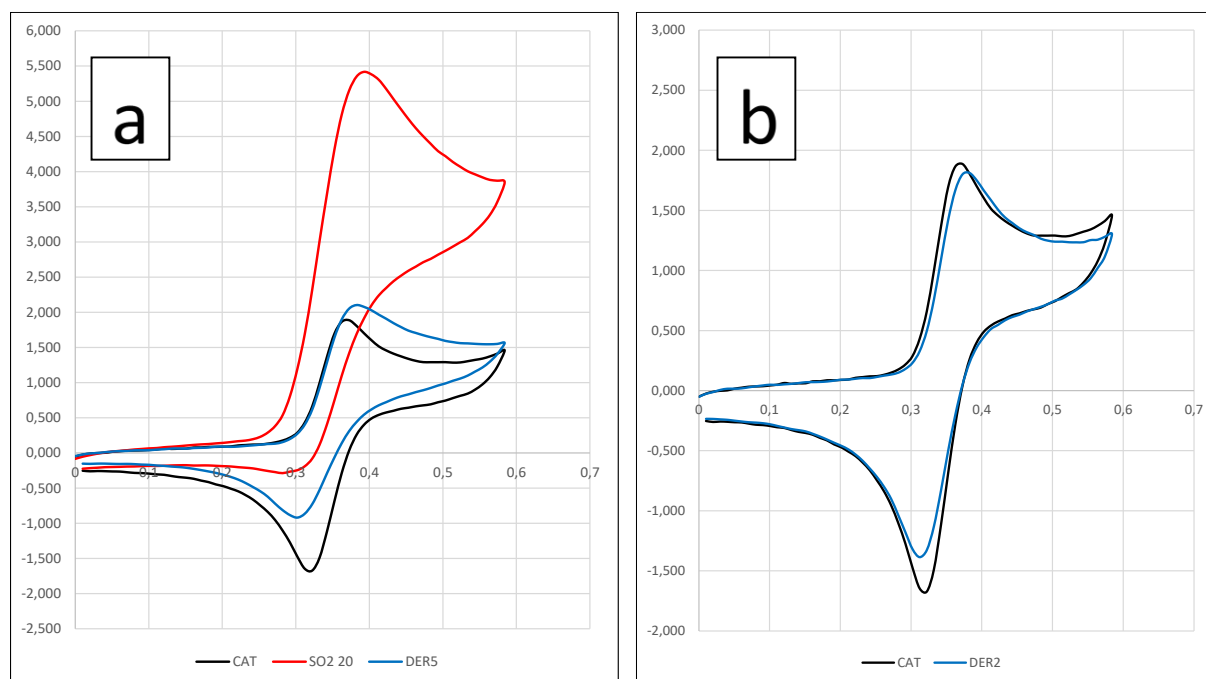


Figura 3. Effetto dell'aggiunta di anidride solforosa (20 mg/L, curva rossa) e di due derivati di lievito commerciali (1 g/L, curve azzurre) sul tracciato voltammetrico di una soluzione modello di (+)-catechina (50 mg/L, curve nere). a) derivato D5 di Tabella 1; derivato D2 di Tabella 1 (Molaro, 2017)

La cosa interessante è che i campioni di Figura 3 sono stati conservati in bottiglie aperte, in modo da determinare un certo stress ossidativo; in tali condizioni, mentre la curva anodica dei campioni solfitati è apparsa diminuire nell'arco delle settimane successive al trattamento

(plausibilmente a causa della perdita di SO<sub>2</sub> libera) (Molaro, 2017), il picco anodico dei campioni aggiunti di derivato si mantiene costante nel tempo.

Abbiamo osservato, che alcuni prodotti, risospesi in vino modello, non rilasciano le componenti tioliche immediatamente; tuttavia, dopo risospensione e separazione della componente insolubile, seguita da ripetuti lavaggi della stessa, abbiamo individuato la presenza di GSH nella soluzione di lavaggio. Questo lascia pensare alla capacità di questi derivati di rilasciare glutazione o altre molecole riducenti nel tempo in maniera graduale e potrebbe spiegare gli effetti di protezione che tali prodotti sono in grado di dare per periodi di conservazione medio-lunghi.

## Bibliografia

Andujar-Ortiz, I., Rodríguez-Bencomo, J.J., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Alvarez, P.J., Pozo-Bayon, M.A. (2010). Role of glutathione enriched inactive yeast preparations on the aroma of wines. In *Proceedings of 33<sup>rd</sup> World Congress of Vine and Wine - 8<sup>th</sup> General Assembly of the OIV* (pp. 154-161). Tbilisi, Georgia.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, **28**, 25-30.

Comuzzo, P., Battistutta, F., Vendrame, M., Páez, M.S., Luisi, G., Zironi, R. (2015). Antioxidant properties of different products and additives in white wine. *Food Chem.*, **168**, 107–114.

Ferretti, D. (2014). *Studio della capacità antiossidante di autolisati di lievito prodotti con tecniche diverse*. Elaborato per il Conseguimento della Laurea Magistrale, Università di Udine.

Gallardo-Chacón, J.J., Vichi, S., Urpí, P., López-Tamames, E., & Buxaderas, S. (2010). Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine *sur lie* aging. *Int. J. Food Microbiol.*, **143**, 48-53.

Kritzinger, E.C., Stander, M.A., Du Toit, W.J. (2013). Assessment of glutathione levels in model solution and grape ferments supplemented with glutathione-enriched inactive dry yeast preparations using a novel UPLC-MS/MS method. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, **30**, 80-92.

Molaro, M. (2017). *Derivati di lievito ad uso enologico: aspetti compositivi e attività antiossidante*. Tesi di Laurea, Università di Udine.

Rodríguez-Bencomo, J.J., Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M.V., Simò, C., Gonzales, J., Chana, A., Davalos, J., Pozo-Bayon, M.A. (2014). Impact of glutathione-enriched inactive dry yeast preparations on the stability of terpenes during model wine aging. *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 1373-1383.