



Filiera corta produttori fra Arno e Sieve

Produzione in cantina di lieviti *starter* autoctoni **VICASTART**

PROGETTO SOTTOMISURA 16,2 PSR 2014-2020 della Regione Toscana

«Messa a punto dell'impianto per la produzione di lieviti autoctoni in cantina»

Dr. Damiano Barbato e Dott.ssa Giulia Angeloni
Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali
Università degli Studi di Firenze

Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



Azione 5.2 Messa a punto dell'impianto per la produzione di lieviti autoctoni in cantina

Aspetti tecnologici

Trattamento dell'acqua



Ottenimento dei lieviti in crema



Apporto di nutrienti

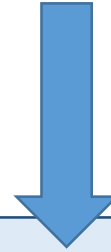


Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



Trattamento di sanitizzazione dell'acqua in ingresso dell'impianto

Rischio di contaminazione microbiologica della coltura di lieviti.



- 28°C
- Zuccheri
- O₂
- Nutrienti organici e inorganici

Metodi sterilizzazione dell'acqua considerati:

-Ebollizione

-UHT

-Autoclave

-Azoto liquido

-Ozono

-Osmosi inversa

-Microfiltrazione

-Raggi UV

-HPP

-Ultrasuoni

-Irraggiamento

-Clorazione





Sanitizzazione con raggi UV

- **Dimensioni**
50X12X4 cm, 2,5kg ✓
- **Rapidità**
Flusso di 350 L/h ✓
- **Costo**
350 €/ca. ✓
- **Efficacia** ✓



Campione	Portata sterilizzatore (lt/h)	Carica microbica totale (UFC/ml)	Coliformi totali (VRBA+MUG)
Acqua acquedotto A	250	< 10	< 2
Acqua acquedotto A1	350	< 10	< 2
Acqua acquedotto B	250	< 10	< 2
Acqua acquedotto B1	350	< 10	< 2
Acqua acquedotto C	350	< 10	< 2
Acqua acquedotto D	350	< 10	< 2



Apporto di nutrienti

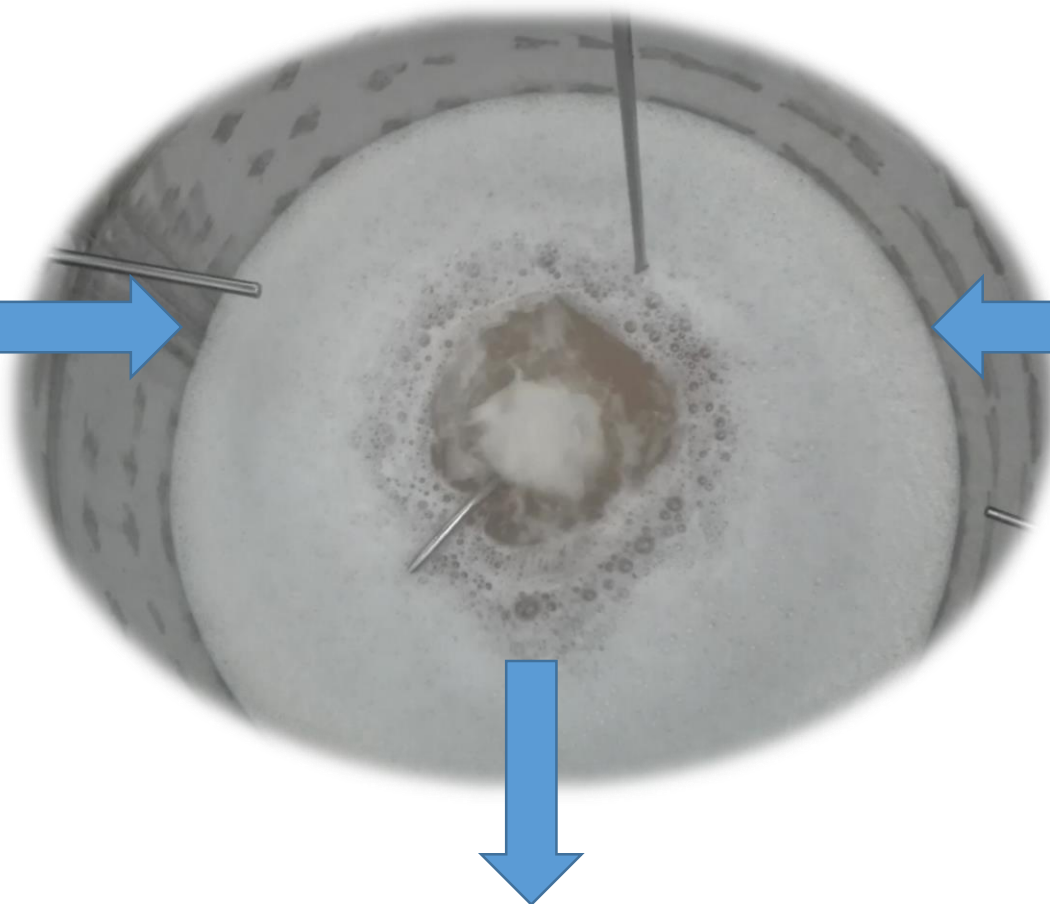
Nutravit Start
Lallemand:

- N ammoniacale
- N aminoacidico
- Vitamine

Aggiunta unica al
momento dell'inizio
del ciclo

MCR solido:
Zucchero d'uva
cristallino di origine
naturale.

Dosaggio continuo
di 1 g/L ad ora per
favorire la
respirazione
cellulare



- **Necessità di automazione dell'impianto su scala industriale.**
- **Necessità di apporto di nutrienti con tempistiche diverse per la crescita ottimale dei lieviti, in accordo col protocollo di produzione della biomassa del Dr. Giacomo Buscioni e Dott.ssa Silvia Mangani.**



Apporto di nutrienti

Impianto di dosaggio volumetrico:

- il dosaggio del mosto concentrato rettificato in polvere avviene in modalità volumetrica.
- La portata del prodotto si ottiene con la semplice rotazione della coclea di dosaggio ad una velocità regolata da inverter e prestabilita.
- La polvere si inserisce negli spazi vuoti della coclea e procede verso lo scarico nella quantità richiesta.
- La fornitura si accompagna con un quadro elettrico di comando completo di inverter per variazione della velocità di dosaggio.

Vantaggi del dosatore di polvere:

- Automazione del ciclo.
- Possibilità di regolazione degli scarichi di MCR/h.
- Mantenimento della concentrazione desiderata in seguito a variazione di volume di coltura in agitazione.
- Rischio ridotto di inquinamento della coltura.
- Condizioni ideali di conservazione considerata l'elevata umidità presente nel serbatoio.





Ottenimento dei lieviti in crema

- Macchina che consenta di separare il lievito dal fermentatore
- Ottenimento di una crema di lievito con un contenuto di acqua del 5-10 % per migliorare la shelf life del prodotto.
- Ottenimento di cellule vive, vitali e sane
- Tempi di separazione compatibili con i cicli di fermentazione
- Costi sostenibili.



- Macchina adeguata alla capienza del fermentatore
- Ottenimento di una crema di lievito con un contenuto di acqua del 5 % per migliorare la shelf life del prodotto.
- Ottenimento di cellule vive, vitali e sane
- Tempi di separazione compatibili con i cicli di fermentazione
- Costi sostenibili.

Metodo di separazione				Costo	Facilità di pulizia
Centrifugazione	(portata 120 L/h)			✓	X
Centrifugazione	Centrifuga verticale a dischi Alfa Laval (portata 360 L/h)	✓	✓	✓	X
Centrifugazione e filtrazione	Centrifuga Nuova Sara con sacchi filtranti	X	X	✓	✓
Centrifugazione	Centrifuga Nuova Sara	X	X	✓	✓
Filtrazione	Filtro <u>Dynamos</u> 0,1 mq	✓	X	X	X
Centrifugazione	<u>Decanter</u> Mori	X	X	X	X



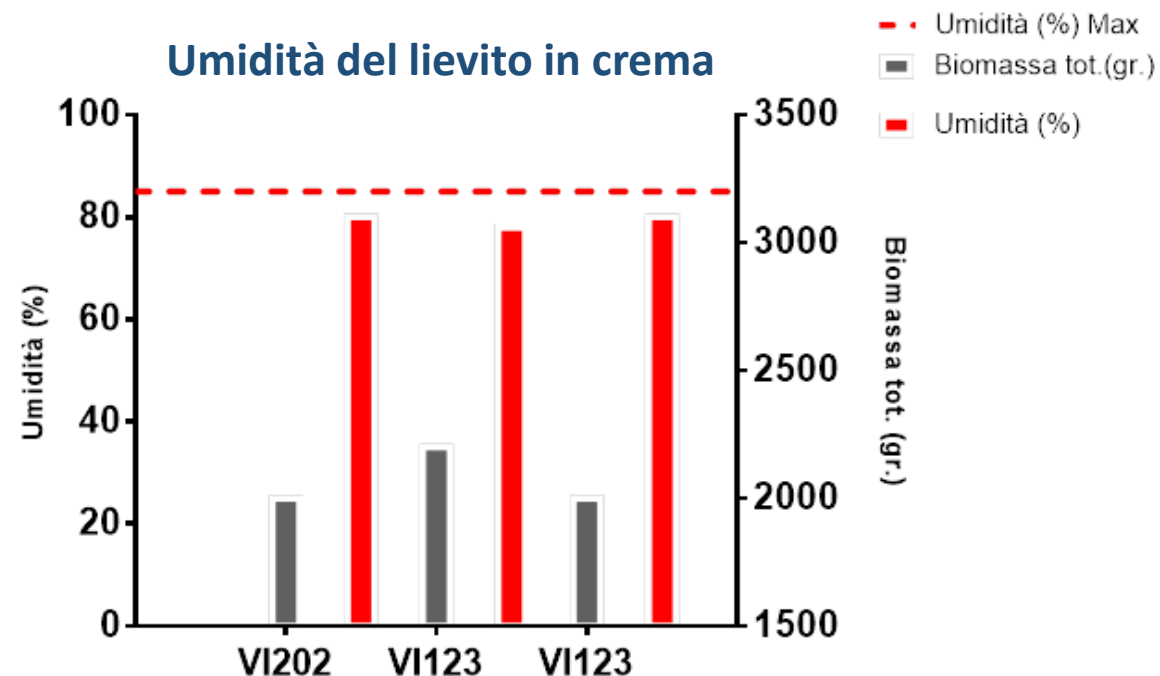
Separazione delle cellule di lievito

Regolazione della portata della pompa della coltura in ingresso alla centrifuga

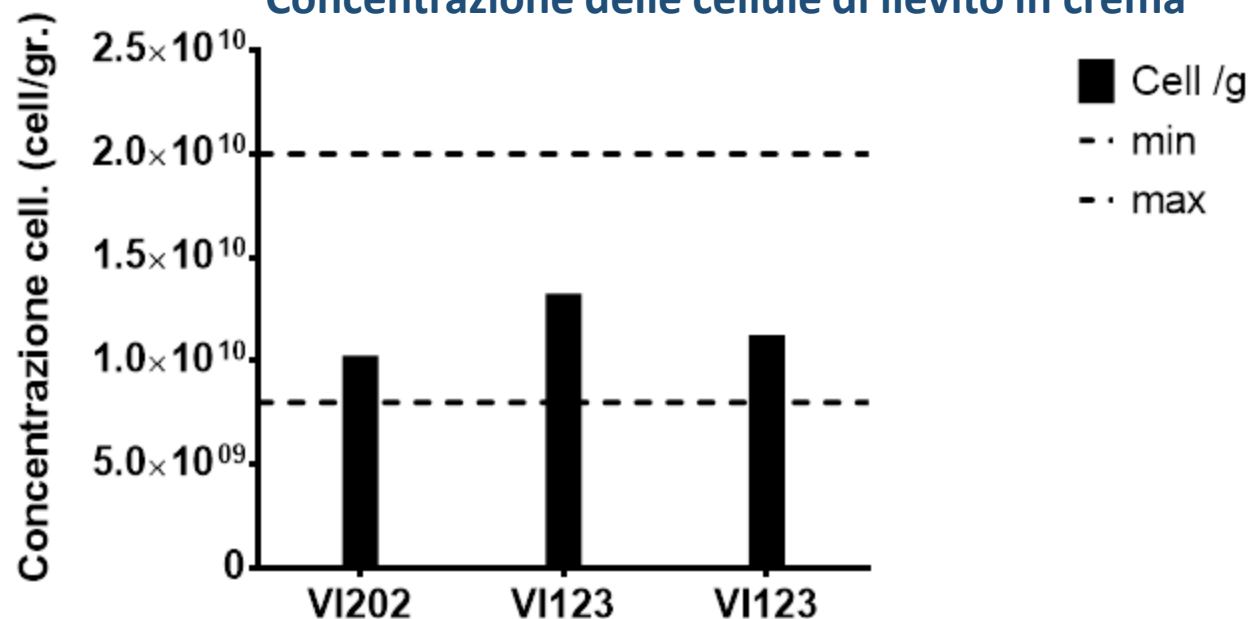
Portata pompa (L/h)	Tempo di centrifugazione tot. (min.)	Perdita cellule di lievito liquido in uscita (%)
250	108	< 2
300	90	< 2
360	75	< 2
400	68	18
450	60	34



Umidità del lievito in crema



Concentrazione delle cellule di lievito in crema





Preparazione dell'inoculo da utilizzare in cantina

L'ottenimento della biomassa necessaria per avviare la fermentazione alcolica in cantina è stata suddivisa in due fasi:

- **Azione 6.1** in cui le cellule vengono prodotte in condizioni di sterilità in laboratorio per ottenerne una piccola quantità necessaria ad avviare la produzione di biomassa vera e propria
- **Azione 6.2** che consente di ottenere la biomassa necessaria utilizzando l'apposito fermentatore messo a punto nell'Azione 5.2.



Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



FOOD
MACRO
TEAM



Azione 6.2 Fermentazioni per ottenere Biomassa (FoodMicroTeam)

è stata realizzata dal **Dr. Giacomo Buscioni** (FoodMicroTeam) in collaborazione con il **Dr. Damiano Barbato** (GESAAF). Le analisi microbiologiche, chimiche o chimico-fisiche sono state condotte dalla **Dr.ssa Silvia Mangani** (FoodMicroTeam).





Protocollo di produzione vendemmia 2017

FASE 1: Riempimento

- Riempimento automatizzato serbatoio con 90 litri di acqua della linea dell'acquedotto sterilizzata tramite lampada UV posizionata sulla linea in ingresso del serbatoio;
- Aggiunta manuale di composti azotati (Nutravit Lallemand 1,5 gr/l);
- Regolazione pH (5) con acido ortofosforico 1:4;
- Aggiunta manuale di 10 litri di coltura di lievito (protocollo cellule inoculo).

Totale litri coltura: 100. Durata: 20 minuti.

FASE 2: Start ciclo 1

- Dosaggio MCR automatico (1g/litro per ora)
- Agitazione mediante insufflazione di aria sterilizzata attraverso filtro 0,2 micron.
- Controllo Temperatura (se necessario scaldare o raffreddare in modo di mantenere una temperatura costante di circa 28°C)
- Monitoraggio attraverso specifiche sonde all'interno del serbatoio di pH, Temperatura (°C), Ossigeno disciolto (ppm/l).

Totale litri coltura: 100. Durata ciclo: 240 minuti.

FASE 3 Riempimento 2

- Riempimento automatizzato serbatoio con 350 litri di acqua della linea dell'acquedotto sterilizzata tramite lampada UV posizionata sulla linea in ingresso del serbatoio;

CHIAMATA OPERATORE:

- Aggiunta manuale di composti azotati (Nutravit Lallemand 1,5 gr/l);
- Regolazione pH (5) con acido ortofosforico 1:4;

Totale litri coltura: 450. Durata: 60 minuti.

FASE 4: Start ciclo 2

- Dosaggio MCR automatico (1g/litro per ora)
- Agitazione mediante insufflazione di aria sterilizzata attraverso filtro 0,2 micron.
- Controllo Temperatura (se necessario scaldare o raffreddare in modo di mantenere una temperatura costante di circa 28°C)
- Monitoraggio attraverso specifiche sonde all'interno del serbatoio di pH, Temperatura (°C), Ossigeno disciolto (ppm/l).

Totale litri coltura: 450. Durata ciclo: 900 minuti.

FASE 5: Raccolta

Separazione della biomassa dal brodo di coltura. Il passaggio alla centrifuga è garantito da una pompa dotata di inverter che immette attraverso una linea di tubazione il brodo di coltura all'interno della centrifuga ad una velocità costante di 6 l/min. A fine ciclo (circa 450 litri di coltura) la crema di lievito ottenuta viene estratta manualmente dal tamburo interno alla centrifuga e conservata in vasetti a 4°C.

Operazioni successive: determinazione del numero di cellule per grammo di pasta di lievito, verifica della vitalità, controllo microbiologico per la presenza di batteri totali e coliformi, determinazione dell'umidità.

Conservazione a + 4 °C.

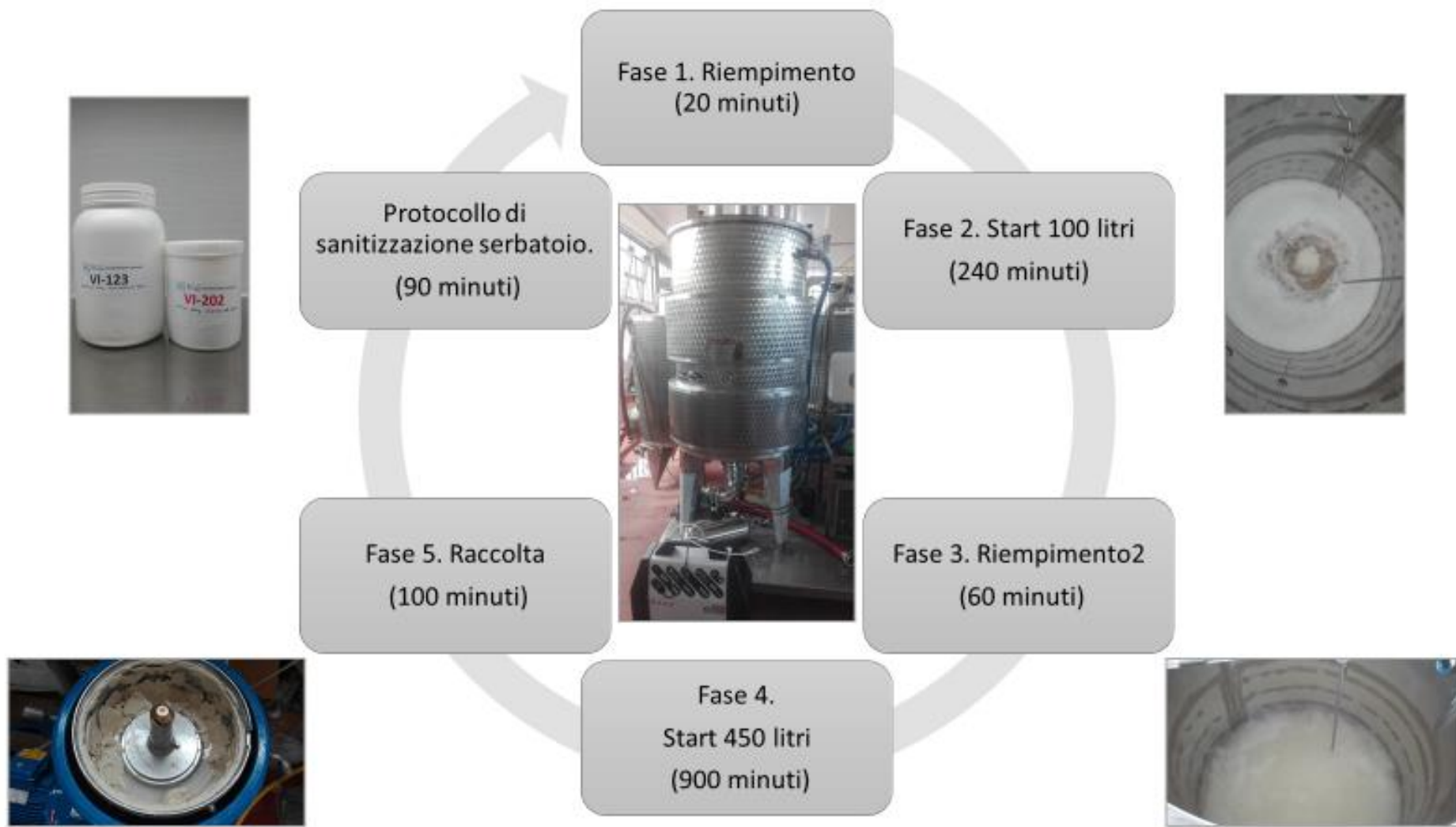
Durata operazione: 100 minuti.

FASE 6: Protocollo sanitizzazione impianto

- 1) **START ciclo** → risciacquo automatizzato tramite acqua calda sterilizzata attraverso irraggiamento UV (3min.) effettuato dall'impianto di cui è dotato il fermentatore.
- 2) **END ciclo** → a termine del ciclo di produzione trattamento del fermentatore con acqua sterilizzata fredda attraverso irraggiamento UV, per risciacquo della linea con utilizzo per risciacquo della linea di scarico del serbatoio, tubazione pompa e centrifuga (5 minuti/ con circa 40 lt di acqua). Sanitizzazione: chiusura della linea di uscita manuale del serbatoio, inizio del riempimento del serbatoio per sanitizzazione con circa 450 lt di acqua. Aggiunta di acido peracetico per una concentrazione del 2 %. Tempo di sanitizzazione: 20 minuti. Svuotamento del serbatoio. Risciacquo ripetuto per tre volte con acqua calda sterilizzata attraverso irraggiamento UV (3min.).
- 3) **CENTRIFUGA** → (manuale) risciacquo delle componenti del separatore, immersione dei dischi del separatore in una soluzione contenente il 2 % di acido peracetico.

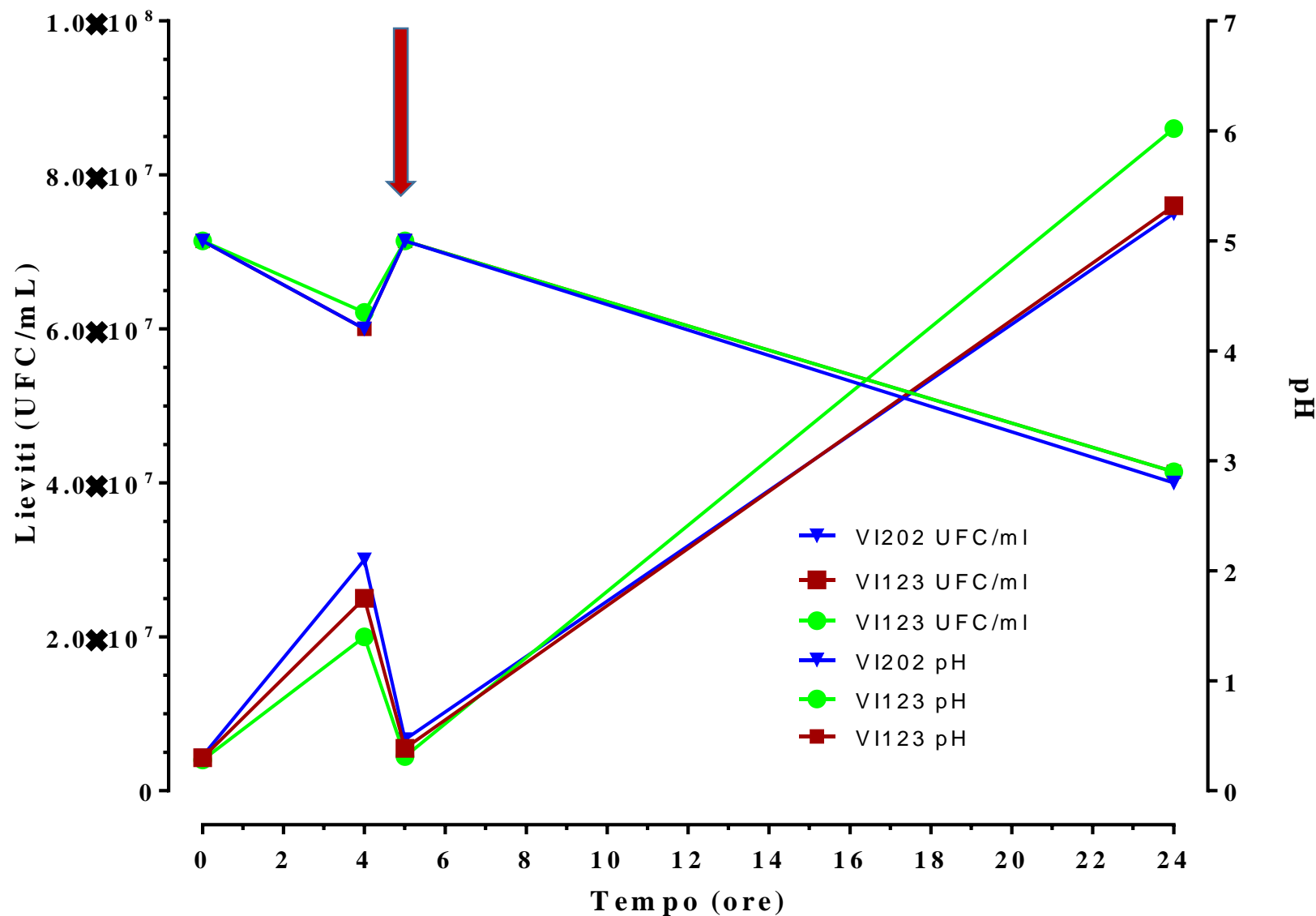


Schema riassuntivo del protocollo di produzione di lieviti autoctoni nella vendemmia 2017





Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



Curva di crescita di *Saccharomyces cerevisiae* VI202 e VI123 (due produzioni) e andamento del pH durante la produzione di crema di lievito effettuata in cantina a settembre 2017.



Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



Caratteristiche fisiche e microbiologiche della pasta di lievito vendemmia 2017, controllo microbiologico effettuato a 40 giorni dalla produzione in conservazione a +4°C.

Ceppo S.c.	VI202	VI123	VI123
Produzione (data)	5/9/2017	6/9/2017	7/9/2017
Durata prova (h)	24	24	24
Concentrazione finale lieviti nel brodo di coltura (cell/mL)	$7,5 \times 10^7$	$8,6 \times 10^7$	$7,9 \times 10^7$
Pasta di lievito ottenuta (g/ciclo)	2000	2200	2000
Concentrazione pasta di lievito (cell/g)	$1,0 \times 10^{10}$	$1,3 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$
Umidità pasta di lievito (%)	80	78	80
Carica batterica totale (cell/g)	$1,5 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$
Coliformi totali (cell/g)	<10	<10	<10
Controllo shelf life (40 giorni +4°C)			
Mortalità cellule pasta di lievito (%)	5	5	5
Carica batterica totale (cell/g)	$2,5 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$
Coliformi totali (cell/g)	<10	<10	<10





Pontassieve (FI), 16 marzo 2018



Grazie per l'attenzione

