

# **Le pratiche enologiche come strumento per la valorizzazione della biodiversità nel vigneto**

**Antonella Bosso**

**CREA - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria**

**Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia**

**CREA-VE Sede di Asti**

**” Workshop “Sullo stato dell'arte della filiera della biodiversità vitivinicola” – CIHEAM – Bari, 10 maggio 2019**

- Le cultivar di uva da vino registrate in Italia sono quasi 550 per un totale di oltre 1900 cloni (1907) per 45 diversi portainnesti (DM 21 novembre 2018).
- Di queste, ben 74 concorrono alla produzione di vini DOCG.
- La biodiversità dei vitigni si manifesta nella diversa composizione chimico-fisica delle uve.
- Le molecole che discriminano tra di loro le uve di cultivar diverse sono principalmente rappresentate dai metaboliti secondari della vite.

Le molecole, metaboliti secondari della vite, sono classificabili in 2 gruppi che intervengono su caratteristiche sensoriali diverse:

- Composti fenolici (colore e gusto)
- Composti aromatici liberi, combinati o precursori d'aroma (odore e aroma)

I composti aromatici presenti nelle uve, in forma libera o in forma combinata, sono:

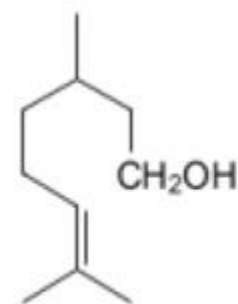
- Composti terpenici
- Derivati C13norisoprenoidici
- Metossipirazine
- Benzenoidi

Vi sono poi composti che derivano da precursori aromatici presenti nelle uve, si tratta di:

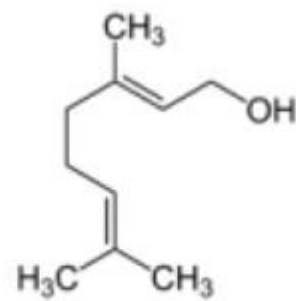
- Composti solforati varietali

I composti terpenici aromatici si trovano sotto forma di monoterpeni (2 unità di isoprene), composti da 10 atomi di C, e i sesquiterpeni (3 unità di isoprene), molecole a 15 atomi di C.

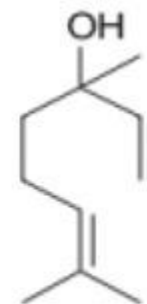
Sono interessanti perché particolarmente odorosi con sentori di fiori o di frutta. I monoterpeni si trovano sotto forma di idrocarburi semplici, aldeidi (linalale, geraniale), di alcoli, la forma più odorosa (linalolo, geraniolo, citronellolo), di acidi (acido linalico, acido geranico) e di esteri (acetato di linalile). Il contenuto in composti terpenici permette di distinguere le uve aromatiche, quali i Moscati, dalle uve non aromatiche o a sapore semplice.



citronellolo

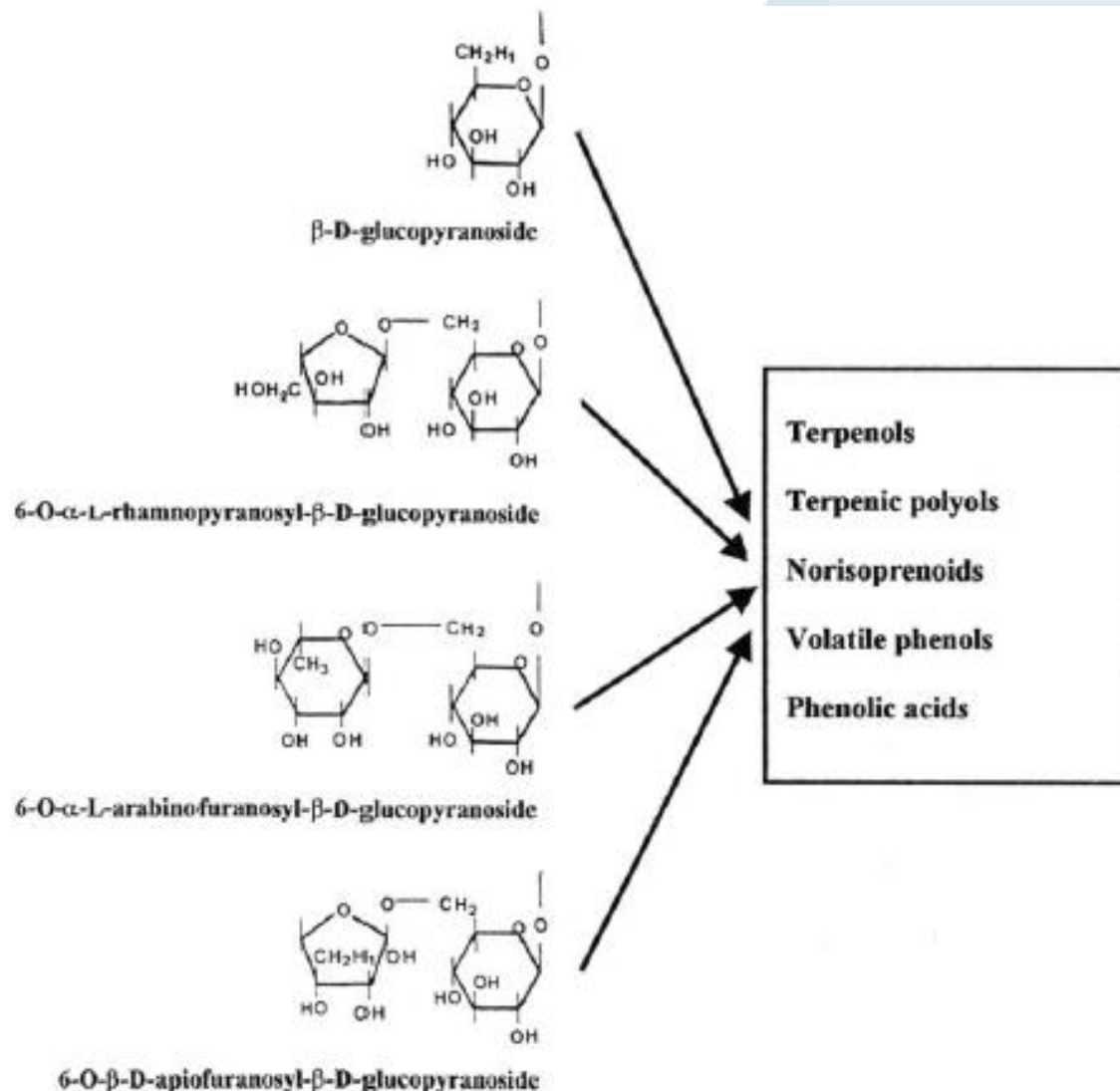


geraniolo



linalolo

Alcuni terpeni sono presenti nelle uve in forma combinata con gli zuccheri (glicosidi). In figura sono riportati i principali glicosidi identificati nelle uve Moscato. Gli agliconi sono spesso terpenoli, ma anche ossidi del linalolo, dioli e trioli terpenici. Si trovano anche altri precursori aromatici, quali alcoli lineari o ciclici, es. esanolo, feniletanolo, alcol benzilico, C-13norisoprenoidi, acidi fenolici e fenoli volatili, quali la vanillina.



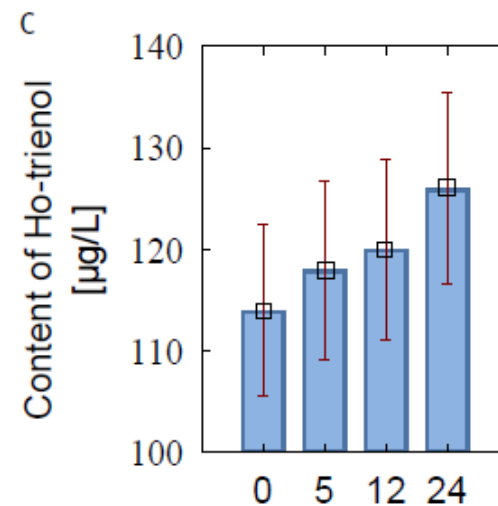
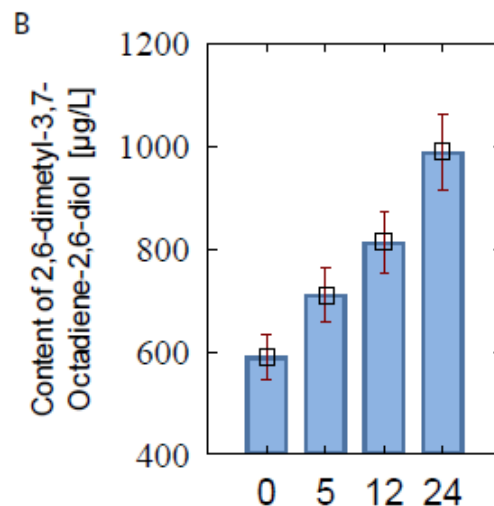
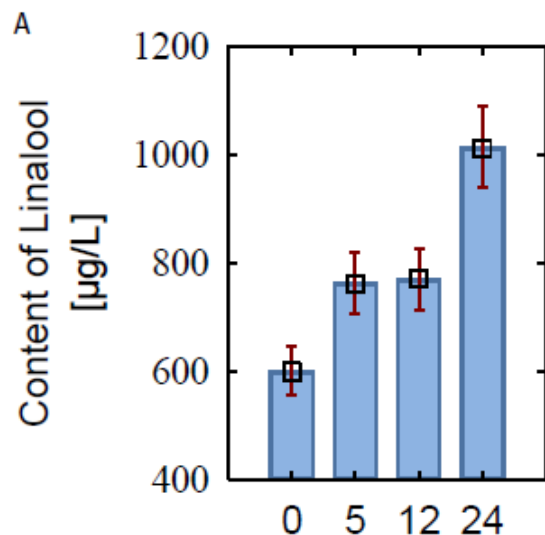
	Moscato di Frontignan (a) (monoterpeni)		Moscato d'Alessandria (a) (monoterpeni)	
	forma libera	forma legata	forma libera	forma legata
Polpa	444	457	212	577
Succo	485	1.691	291	2.126
Bucce	2.237	6.311	2.904	3.571

- I composti terpenici sono presenti nel succo, nella polpa e nelle bucce.
- La ripartizione dei terpeni nelle diverse parti dell'acino varia con la cultivar considerata.
- Il rapporto tra forme libere e combinate varia con la cultivar (tratto da Trattato di enologia- di Ribéreau-Gayon *et al.*, VI ediz. anno 2012).

Vitigno	Terpenoli liberi	Terpeni glicosidi
Moscato:		
Alessandria	1.513	4.040
Frontignan	1.640	1.398
Amburgo	594	1.047
Ottonel	1.679	2.873
Gewürztraminer	282	4.325
Riesling	73	262
Sauvignon	5	107
Sémillon	17	91
Syrah	13	65
Chardonnay	41	12
Cabernet sauvignon	0	13

La **macerazione prefermentativa** nella vinificazione in bianco può consentire di incrementare la concentrazione in terpeni dei mosti e, quindi, dei vini da essi ottenuti.

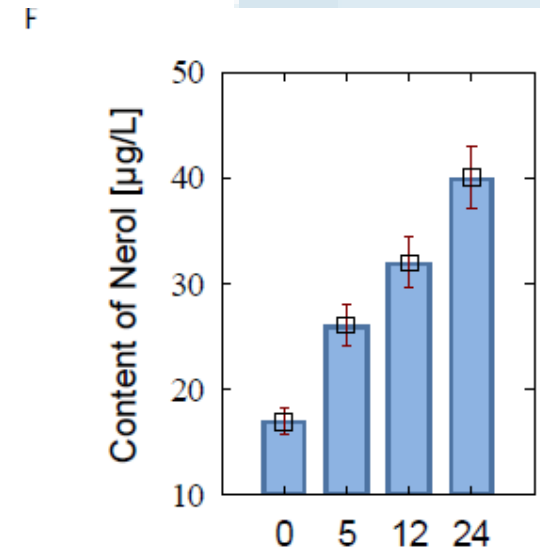
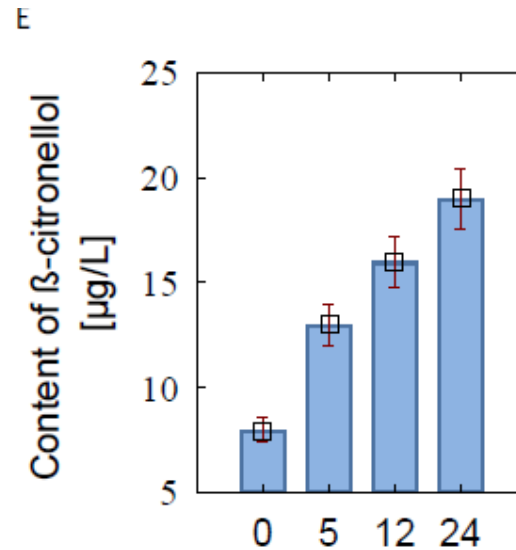
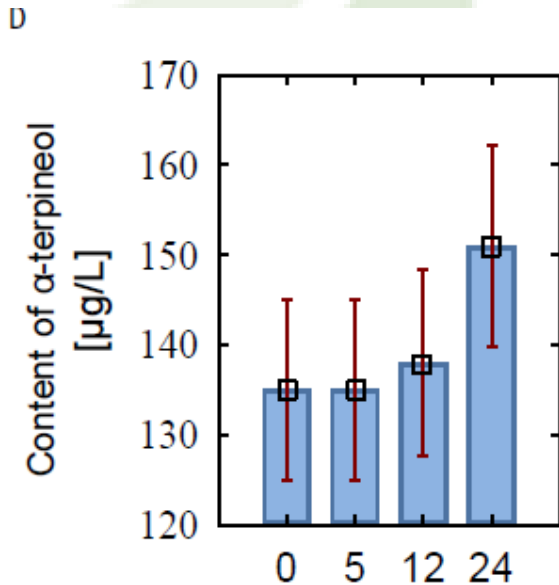
Prove di macerazione prefermentativa a 14°C per 0, 5, 12 e 24 h.  
Tratto da Baron *et al.*, 2017



Con l'aumentare della durata della macerazione aumentava il tenore in linalolo, 2,6-dimetil-3,7-octadiene-2,6-diolo ed in ho- trienolo (aumenti meno importanti).

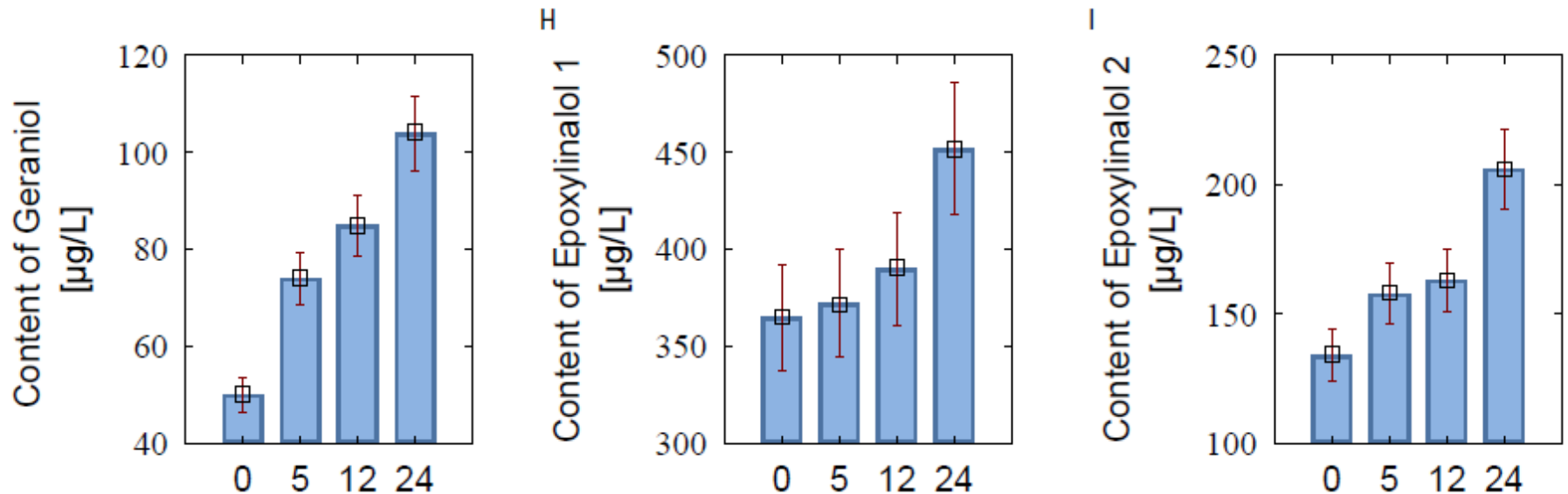


Prove di macerazione prefermentativa a 14°C per 0, 5, 12 e 24 h.  
Tratto da Baron *et al.*, 2017



Il tenore in  $\alpha$ -terpineolo, prodotto dall'ossidazione di linalolo, geraniolo e nerolo, aumentava solo con tempi più lunghi di macerazione. Il contenuto in nerolo raddoppiava, mentre, meno importanti erano gli incrementi di citronellolo.

Prove di macerazione prefermentativa a 14°C per 0, 5, 12 e 24 h.  
Tratto da Baron *et al.*, 2017



Il contenuto in geraniolo aumentava in modo marcato e progressivo al crescere della durata della macerazione prefermentativa.

Esperienze di macerazione *prefermentativa a 20°C e a freddo (criomacerazione) a 7°C* per 10, 20 e 30 h. Tratto da Radeka *et al.*, 2008. Uve di Malvasia istriana.

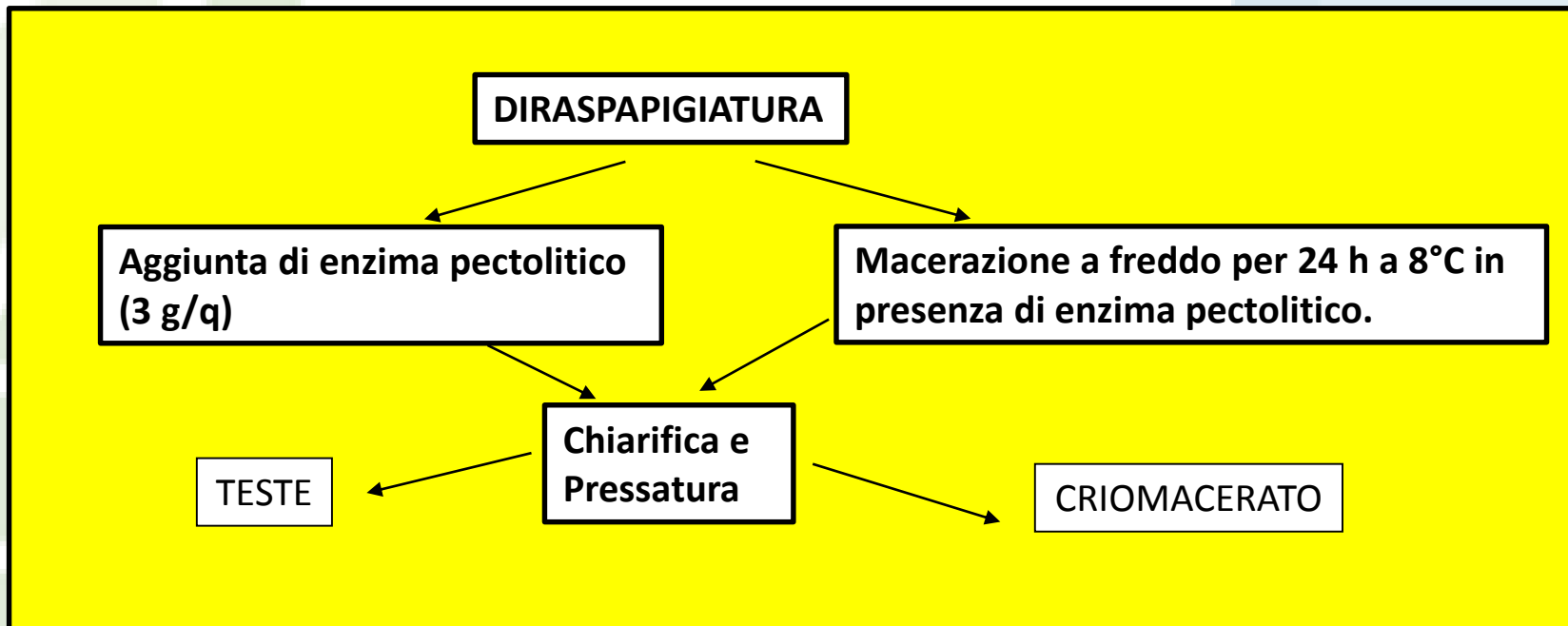
Compound	Year	Control	Maceration at 20 °C			Cryomaceration at 7 °C		
		$\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV	$\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV			$\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV		
			10 h	20 h	30 h	10 h	20 h	30 h
Linalool	2002	40.76 <sup>Bc</sup>	43.76 <sup>ABbc</sup>	46.08 <sup>ABab</sup>	42.60 <sup>ABbc</sup>	48.67 <sup>Aa</sup>	41.38 <sup>Bc</sup>	44.55 <sup>ABabc</sup>
		2.72	2.92	3.07	2.84	3.24	2.76	2.97
	2003	21.85 <sup>D</sup>	32.71 <sup>Cc</sup>	35.56 <sup>BCc</sup>	42.39 <sup>ABab</sup>	32.96 <sup>Cc</sup>	37.78 <sup>ABCb</sup>	45.00 <sup>A</sup>
		1.46	2.18	2.37	2.83	2.20	2.52	3.00
$\alpha$ -Terpineol	2002	24.37 <sup>Dc</sup>	28.0 <sup>Cc</sup>	28.97 <sup>BCc</sup>	31.75 <sup>Bb</sup>	27.23 <sup>CDc</sup>	29.44 <sup>BCb</sup>	36.58 <sup>Aa</sup>
		0.10	0.11	0.12	0.13	0.11	0.12	0.15
	2003	15.94 <sup>BCb</sup>	25.42 <sup>ABa</sup>	26.38 <sup>Aa</sup>	21.57 <sup>ABCab</sup>	14.96 <sup>Cb</sup>	15.76 <sup>BCb</sup>	20.15 <sup>ABCab</sup>
		0.06	0.10	0.10	0.08	0.06	0.06	0.08
Citronellol	2002	2.35 <sup>ABbc</sup>	3.40 <sup>Aa</sup>	2.67 <sup>ABab</sup>	2.59 <sup>ABb</sup>	1.73 <sup>Bc</sup>	1.75 <sup>Bc</sup>	2.46 <sup>ABbc</sup>
		0.13	0.19	0.15	0.14	0.10	0.10	0.14
	2003	6.17 <sup>ab</sup>	4.52 <sup>b</sup>	6.98 <sup>a</sup>	5.55 <sup>ab</sup>	4.42 <sup>b</sup>	5.18 <sup>ab</sup>	6.72 <sup>ab</sup>
		0.34	0.25	0.39	0.31	0.24	0.29	0.37
Nerol	2002	3.62 <sup>Bc</sup>	4.23 <sup>Bb</sup>	4.25 <sup>Bb</sup>	5.29 <sup>Aa</sup>	2.36 <sup>Cd</sup>	1.74 <sup>Ce</sup>	4.47 <sup>ABb</sup>
		0.009	0.01	0.01	0.01	0.006	0.004	0.01
	2003	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Geraniol	2002	15.81 <sup>Cc</sup>	21.62 <sup>BCb</sup>	30.75 <sup>Aa</sup>	21.42 <sup>BCb</sup>	20.72 <sup>BCb</sup>	25.33 <sup>ABb</sup>	24.15 <sup>ABb</sup>
		0.53	0.72	1.02	0.71	0.69	0.84	0.80
	2003	17.54 <sup>ABb</sup>	23.85 <sup>Aa</sup>	25.53 <sup>Aa</sup>	24.20 <sup>Aa</sup>	17.43 <sup>ABb</sup>	14.97 <sup>Bb</sup>	23.87 <sup>Aa</sup>
		0.58	0.79	0.85	0.81	0.58	0.50	0.80

Compound	Year	Control $\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV	Maceration at 20 °C $\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV			Cryomaceration at 7 °C $\gamma$ /( $\mu\text{g/L}$ ); OUV		
			10 h	20 h	30 h	10 h	20 h	30 h
Linalool	2002	9.36 <sup>Bd</sup>	9.51 <sup>Bcd</sup>	11.29 <sup>ABabc</sup>	10.51 <sup>ABbcd</sup>	12.62 <sup>Aa</sup>	12.17 <sup>Aab</sup>	12.18 <sup>Aab</sup>
	2003	6.78 <sup>Bc</sup>	9.23 <sup>ABbc</sup>	11.96 <sup>ABabc</sup>	10.27 <sup>ABabc</sup>	13.87 <sup>ABab</sup>	9.61 <sup>ABbc</sup>	15.43 <sup>Aa</sup>
$\alpha$ -Terpineol	2002	3.31 <sup>B</sup>	2.88 <sup>B</sup>	3.43 <sup>B</sup>	6.24 <sup>A</sup>	3.22 <sup>B</sup>	3.45 <sup>B</sup>	2.92 <sup>B</sup>
	2003	5.27 <sup>Aa</sup>	0.99 <sup>Bc</sup>	0.81 <sup>Bc</sup>	0.62 <sup>Bc</sup>	4.27 <sup>Ab</sup>	0.77 <sup>Bc</sup>	0.90 <sup>Bc</sup>
Citronellol	2002	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	2003	0.76 <sup>AB</sup>	1.48 <sup>A</sup>	0.95 <sup>AB</sup>	0.36 <sup>B</sup>	0.75 <sup>AB</sup>	0.77 <sup>AB</sup>	0.72 <sup>AB</sup>
Nerol	2002	11.65 <sup>ABCab</sup>	12.70 <sup>ABa</sup>	8.77 <sup>Cc</sup>	13.58 <sup>Aa</sup>	11.91 <sup>ABCab</sup>	9.77 <sup>BCbc</sup>	12.40 <sup>ABa</sup>
	2003	5.09 <sup>C</sup>	13.31 <sup>ABb</sup>	11.89 <sup>Bb</sup>	13.88 <sup>ABab</sup>	12.41 <sup>ABb</sup>	16.69 <sup>Aa</sup>	14.25 <sup>ABab</sup>
Geraniol	2002	48.30 <sup>ABbc</sup>	55.80 <sup>Aa</sup>	43.83 <sup>Bc</sup>	50.88 <sup>ABab</sup>	52.21 <sup>Aab</sup>	49.86 <sup>ABb</sup>	52.72 <sup>Aab</sup>
	2003	28.52 <sup>Cd</sup>	45.87 <sup>ABbc</sup>	43.55 <sup>Bc</sup>	53.35 <sup>ABab</sup>	50.36 <sup>ABabc</sup>	56.04 <sup>Aa</sup>	56.66 <sup>Aa</sup>

E' stato possibile incrementare in modo significativo la concentrazione in monoterpeni, in particolare **linalolo** e **geraniolo** (le molecole più abbondanti), con una **criomacerazione di 10 h senza osservare aumenti del contenuto polifenolico**.

I vini giudicati più gradevoli sono stati quelli ottenuti da criomacerazioni di breve durata.

Esperienza con uve Moscato bianco di Chambave (vendemmia 2005)



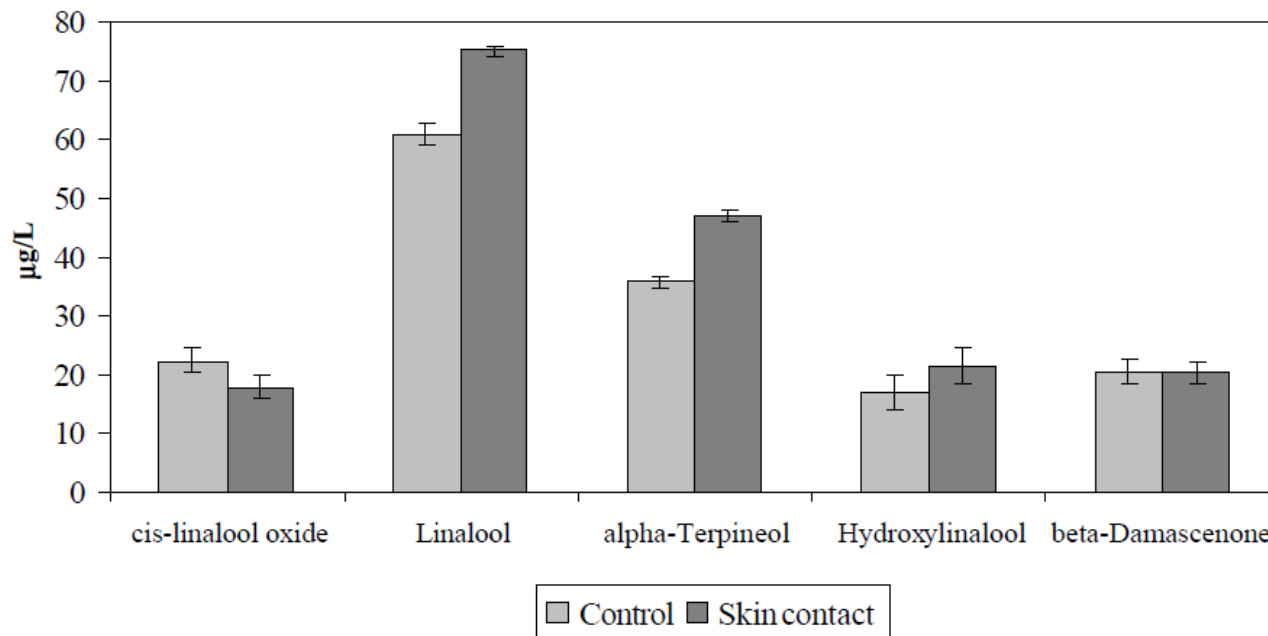
	Liberi		Glicosidi	
	Teste	Crio	Teste	Crio
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
Furan Linalol Ossido Isomero 1	<b>52</b>	<b>58</b>	<b>387</b>	<b>323</b>
Furan Linalol Ossido Isomero 2	<b>53</b>	<b>48</b>	<b>251</b>	<b>204</b>
Linalolo	<b>563</b>	<b>805</b>	<b>166</b>	<b>288</b>
Ho-trienolo	<b>194</b>	<b>213</b>	<b>42</b>	<b>75</b>
α-terpineolo	<b>267</b>	<b>336</b>	<b>78</b>	<b>79</b>
Etossidiolo 1	<b>68</b>	<b>78</b>	-	-
Piran Linalol Ossido Isomero 1	<b>178</b>	<b>216</b>	<b>275</b>	<b>232</b>
Piran Linalol Ossido Isomero 2	<b>55</b>	<b>66</b>	<b>169</b>	<b>185</b>
Nerolo	<b>53</b>	<b>104</b>	<b>566</b>	<b>470</b>
Geraniolo+ <i>Ac.esanoico</i>	<b>117</b>	<b>210</b>	<b>393</b>	<b>350</b>
Diolo 1	<b>957</b>	<b>1143</b>	<b>189</b>	<b>254</b>
Endiolo	<b>94</b>	<b>121</b>	<b>46</b>	<b>56</b>
Ac. Geranico	<b>160</b>	<b>414</b>	<b>814</b>	<b>681</b>

	Glicosidi	
	Teste	Crio
Linalolo	<b>166</b>	<b>288</b>
Diolo 1	<b>189</b>	<b>254</b>

	Liberi	
	Teste	Crio
Linalolo	<b>563</b>	<b>805</b>
$\alpha$ -terpineolo	<b>267</b>	<b>336</b>
Diolo 1	<b>957</b>	<b>1143</b>
Ac. Geranico	<b>160</b>	<b>414</b>

- La **criomacerazione** ha provocato:
- un aumento del contenuto in linalolo, diolo-1,  $\alpha$ -terpineolo, acido geranico, ossido piranico isomero 1, nerolo e geraniolo (forme libere);
- un aumento del contenuto delle forme glicosilate del linalolo e del diolo-1;
- variazioni trascurabili o diminuzioni degli ossidi furanici, del nerolo e del geraniolo glicosilati.

Macerazione prefermentativa a 8°C per 24 h impiegando uve non aromatiche della cv. Fiano (Moio et al., 2004)



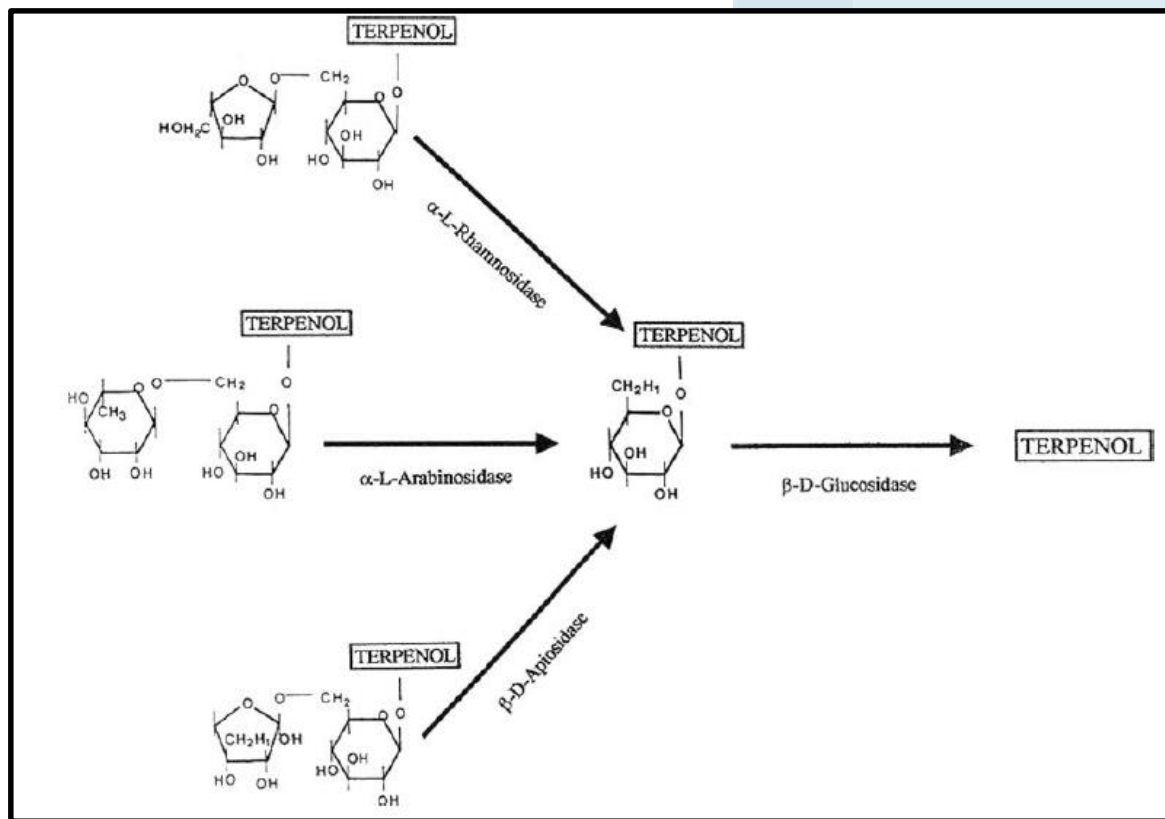
In figura sono riportati i contenuti dei composti volatili liberi dei vini Fiano. I vini ottenuti con macerazione prefermentativa presentavano una maggiore concentrazione in alcoli terpenici, mentre altri composti volatili i cui precursori non erano influenzati dalla macerazione prefermentativa erano in simili concentrazioni nei 2 vini.



Le forme combinate, inodori, sono di particolare interesse enologico perché rappresentano una riserva di aromi, e potenzialmente potrebbero garantire una maggiore conservabilità dell'aroma dei vini attraverso il graduale rilascio degli agliconi volatili odorosi nel corso del tempo.

Le forme combinate risultano essere stabili.

Molti lavori si sono occupati dello studio dei meccanismi (a uno e a 2 step) che portano alla liberazione degli agliconi odorosi per via enzimatica e gli enzimi responsabili dell'idrolisi.



- ***Gli enzimi dell'uva.*** Le uve possiedono un enzima con attività  $\beta$ -glucosidasica, ma basse attività  $\alpha$ -ramnosidasica,  $\alpha$ -arabinosidasica e  $\beta$ -xilosidasica; la presenza di  $\beta$ -apiosidasi nelle uve non è confermata. Inoltre, la  $\beta$ -glucosidasi dell'uva non risulta stabile e mostra una bassa attività ai pH dei mosti e dei vini (pH ottimale = 5,00).
- ***Gli enzimi prodotti da lieviti, funghi e batteri.*** Glicosidasi di interesse enologico sono state individuate in lieviti, batteri e funghi.
- Lieviti *Hansenula spp* (isolati da mosti in fermentazione) possiedono un'attività  $\beta$ -glucosidasica inducibile, ma questo enzima viene inibito dal glucosio. Altri lieviti, quali *Candida molischiana* and *C. wickerhamii* presentano attività nei confronti di diversi  $\beta$ -glucosidi e sono poco influenzati dal tipo di agliconi. Attività glicosilasica è stata verificata in molti *non-Saccharomyces*.
- L'attività  $\beta$ -glucosidasica di *Saccharomyces spp.* è contraddittoria. Secondo alcuni hanno una bassa attività, altri, invece hanno trovato ceppi con un'alta attività. Vi sono lavori che riportano attività  $\beta$ -glucosidasica di *Oenococcus oeni*.

- Alcuni enzimi esogeni, principalmente di origine fungina, sono stati sviluppati per liberare terpeni nei vini. Si tratta delle così dette **glicosidasi esogene**. Sono stati trovati preparati efficaci che possiedono le attività  $\beta$ -D-glucopiranosidasi,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidasi,  $\alpha$ -L-ramnopiranosidasi e  $\beta$ -D-apiofuranosidasi.
- I limiti nell'applicazione di molti enzimi sono i **pH ottimali elevati** (pH tra 5.0 e 6.0) e la **sensibilità al glucosio** che ne impedisce l'impiego nei mosti.
- Esiste un'elevata variabilità delle prestazioni tra i diversi ceppi di *Aspergillus niger*.
- In vini dolci di Muscat de Frontignan l'idrolisi non è stata completa a causa della presenza di zuccheri residui che inibiscono la  $\beta$ -glucosidasi.
- **L'unica possibilità è l'impiego su vini secchi.**

- Recentemente sono stati condotti alcuni studi (Ferner *et al.*, 2018) per verificare la possibilità di impiego di enzimi prodotti da *Aspergillus niger* immobilizzati in biglie magnetiche per favorire la liberazione di terpeni in vini secchi.
- L'esperienza è stata effettuata su un vino Moscato aggiunto di 5 g/hL di enzima da *A. niger* (15 g/hL di sfere con l'enzima immobilizzato) e mantenuto a contatto con il vino per 22 giorni a 25°C.

Aromatic compounds	Control wine without glycosidases ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Wine treated with free glycosidases ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Significance ( <i>p</i> value)	Wine treated with immobilised glycosidases ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Significance ( <i>p</i> value)
cis-Linalooloxide	55.8 ± 1.7	56.4 ± 1.3	n.s.	59.7 ± 6.6	n.s.
trans-Linalooloxide	26.0 ± 1.3	27.5 ± 2.1	n.s.	26.4 ± 1.3	n.s.
Linalool	97.4 ± 2.2	111.6 ± 5.7	< 0.01	110.7 ± 6.0	< 0.05
α-Terpineol	83.9 ± 3.8	93.9 ± 2.3	< 0.01	102.2 ± 15.9	n.s.
β-Citronellol	17.3 ± 0.6	20.8 ± 0.8	< 0.001	21.5 ± 4.5	n.s.
Nerol	14.7 ± 0.3	50.8 ± 2.4	< 0.001	42.8 ± 8.8	< 0.01
Geraniol	41.5 ± 1.3	198.7 ± 10.6	< 0.001	149.7 ± 32.3	< 0.01
Total terpenes	336.6 ± 11.1	559.9 ± 23.2	< 0.001	512.9 ± 75.4	< 0.01

n.s.: not significant; Mean ± standard deviation (S.D.);

L'incremento della frazione volatile libera è apprezzabile sensorialmente.

Il vantaggio dell'impiego di lieviti immobilizzati sta nella possibilità di **recuperare e riutilizzare gli enzimi** e di **asportare completamente gli enzimi dopo il trattamento evitando il ricorso a trattamenti di chiarifica** (impiego della bentonite).

	Control wine without glycosidases	Wine treated with immobilised glycosidases
Odour		
Odour intense	40.3	64.6
Apple	39.0	56.4 <sup>B</sup>
Passion fruit	37.4	59.1 <sup>B</sup>
Lemon	28.7	53.5 <sup>A</sup>
Floral	38.9	68.3 <sup>A</sup>
Fruity	40.6	58.9
Flavour		
Flavour intense	65.1	64.5
Apple	54.3	62.1
Passion fruit	45.4	59.2
Lemon	51.4	51.5
Floral	44.4	69.9 <sup>A</sup>
Fruity	52.9	56.3
Aftertaste	46.4	35.2

Least Significance Difference (LSD):  
A < 99.9 %, B < 99 %).

I trattamenti di chiarifica di mosti da uve Falanghina hanno determinato la riduzione del contenuto in composti glicosidici dei mosti (Moio *et al.*, 2004) con una probabile influenza sulla *shelf-life* dei vini.

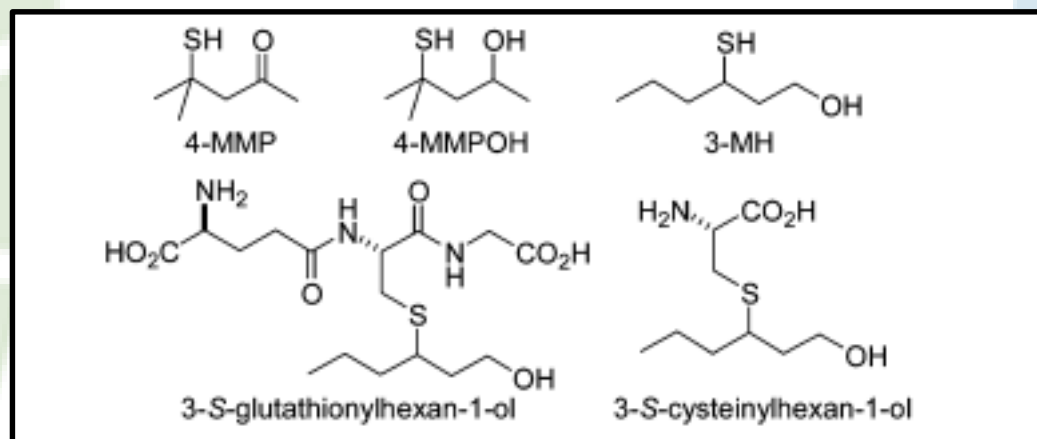
I vini derivanti da mosti con minori concentrazioni di glicosidi presentavano un minore contenuto in terpeni liberi. Non si sono osservate interazioni tra il ceppo di lievito e la concentrazione dei terpeni liberi nei vini che risultava legata principalmente alla concentrazione iniziale delle forme combinate.

Strain BA 11<sup>a,b</sup>

	SS	E	EF	EC	ECF
<b>Free compounds (µg/L)</b>					
Linalool	21 a	*18 b	16 b	12 c	11 c
α-Terpineol <sup>c</sup>	8	5	5	6	6
Geraniol <sup>c</sup>	8	5	5	6	6
Benzyl alcohol	56 a	43 b	39 b	*30 c	*33 c
<b>Bound compounds (µg/L)</b>					
Linalool	*20 a (40)	22 a (28)	23 a (30)	17 b (35)	*15 b (39)
α-Terpineol <sup>c</sup>	5 (16)	5 (16)	4 (18)	4 (23)	4 (22)
Nerol <sup>c</sup>	11 (7)	10 (5)	8 (7)	9 (10)	9 (4)
Geraniol	85 a (86)	*80 b (86)	*80 b (87)	*46 c (90)	*44 c (91)
Benzyl alcohol	*48 a (95)	*45.2 a (95)	37 b (96)	*38 b (94)	*40 b (94)
2-Phenylethanol	*103 a (82)	77 c (83)	85 b (81)	*45 d (84)	*44 d (85)
Eugenol	*22 a (19)	*19 a (4)	*19 b (19)	12 c (35)	10 c (39)

SS: sedimentazione spontanea; E: enzima pectolitico; EF: enzima e filtrazione; EC: enzima e prodotti di chiarifica; ECF: enzima, prodotti di chiarifica e filtrazione.

Nei vini Sauvignon Blanc sono presenti composti altamente odorosi: 4-mercapto-4-metilpentan-2-one (4-MMP), 4-mercapto-4-metilpentan-2-olo (4-MMPOH), 3-mercaptoesan-1-olo (3MH) e 3-mercaptoesilacetato (3-MHA) che concorrono alla formazione del caratteristico aroma varietale di ginestra, pompelmo e frutto della passione.



Questi tioli volatili sono quasi completamente assenti nei mosti e vengono liberati nel vino a partire dai loro precursori cisteinil-coniugati: S-4-(4-metilpentan-2-one)-L-cisteina (4-MMP-S-cys), S-4-(4-metilpentan-2-olo)-L-cisteina (4MMPOH-S-cys), e S-3-(esan-1-olo)-L-cisteina (3MH-S-cys) e glutationil-coniugati nel corso della fermentazione alcolica ad opera dei lieviti..

- A maturazione (Peyrot de Gachons *et al.*, 2002) 4-MMP-S-cys e 4-MMPOH-S-cys si trovano per la maggior parte nel succo (80% circa), mentre 3MHS-cys si trova sia nel succo che nelle bucce.
- Di conseguenza la macerazione con le bucce ha un modesto effetto sull'estrazione di 4MMP-S-cys e 4MMPOH-S-cys, mentre potrebbe influenzare la concentrazione del 3MH-S-cys ed il contenuto di 3-MH nei vini.





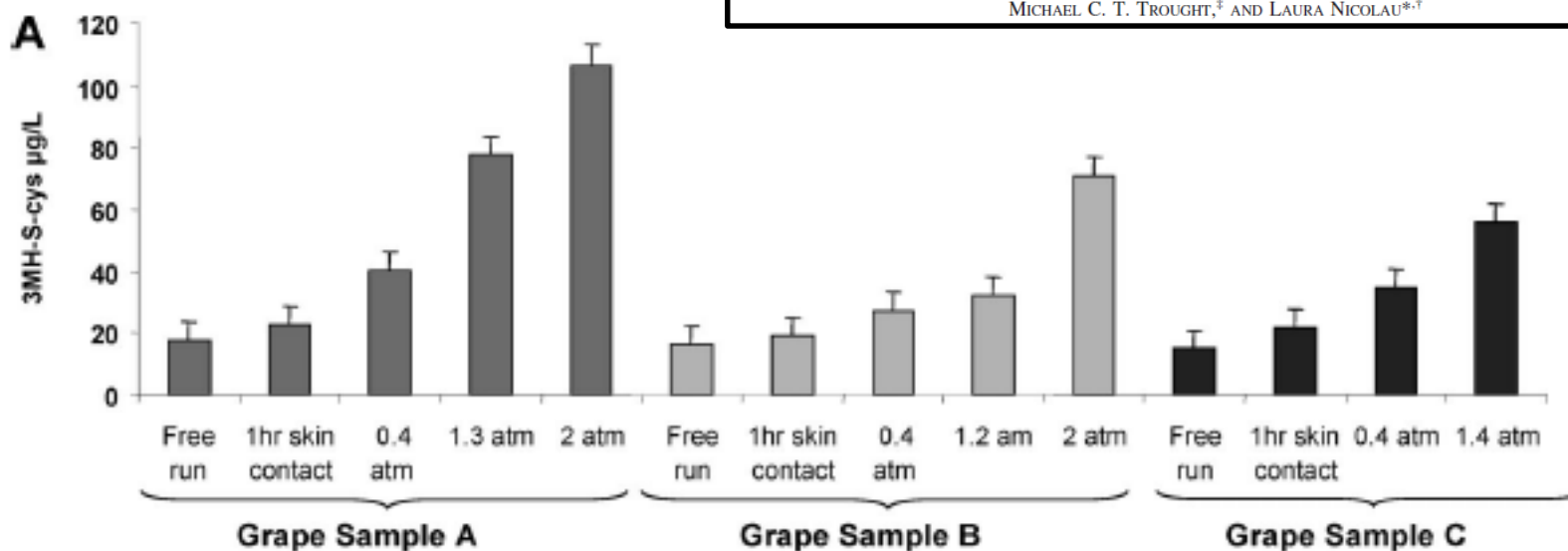
## Variation of content in 3MH-S-cysteine during the pressing

JOURNAL OF  
AGRICULTURAL AND  
FOOD CHEMISTRY

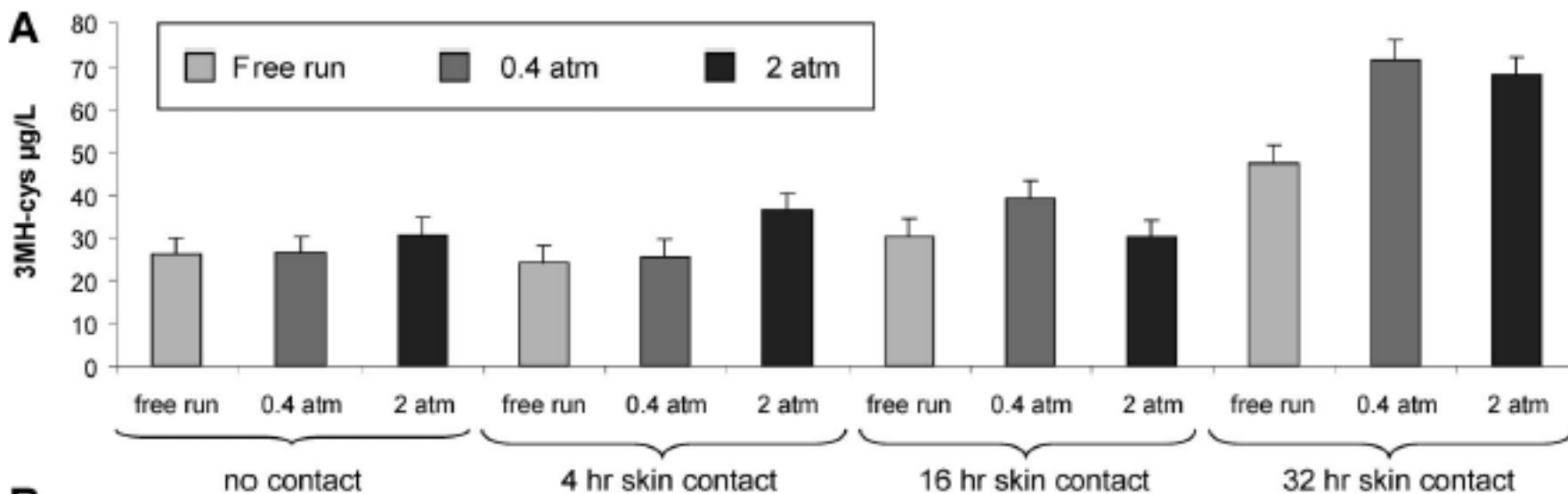
*J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 10281–10288 10281

Effect of Skin Contact and Pressure on the  
Composition of Sauvignon Blanc Must

MANU MAGGU,<sup>†</sup> ROBERT WINZ,<sup>†</sup> PAUL A. KILMARTIN,<sup>†</sup>  
MICHAEL C. T. TROUGHT,<sup>‡</sup> AND LAURA NICOLAU<sup>\*†</sup>



La temperatura delle uve all'arrivo in cantina era tra 10 e 18 °C e il ciclo di pressatura è durato 5 h dal riempimento della pressa. Sono state confrontate pressature a pressioni diverse: 0.4, 1.2 e 2 atm.



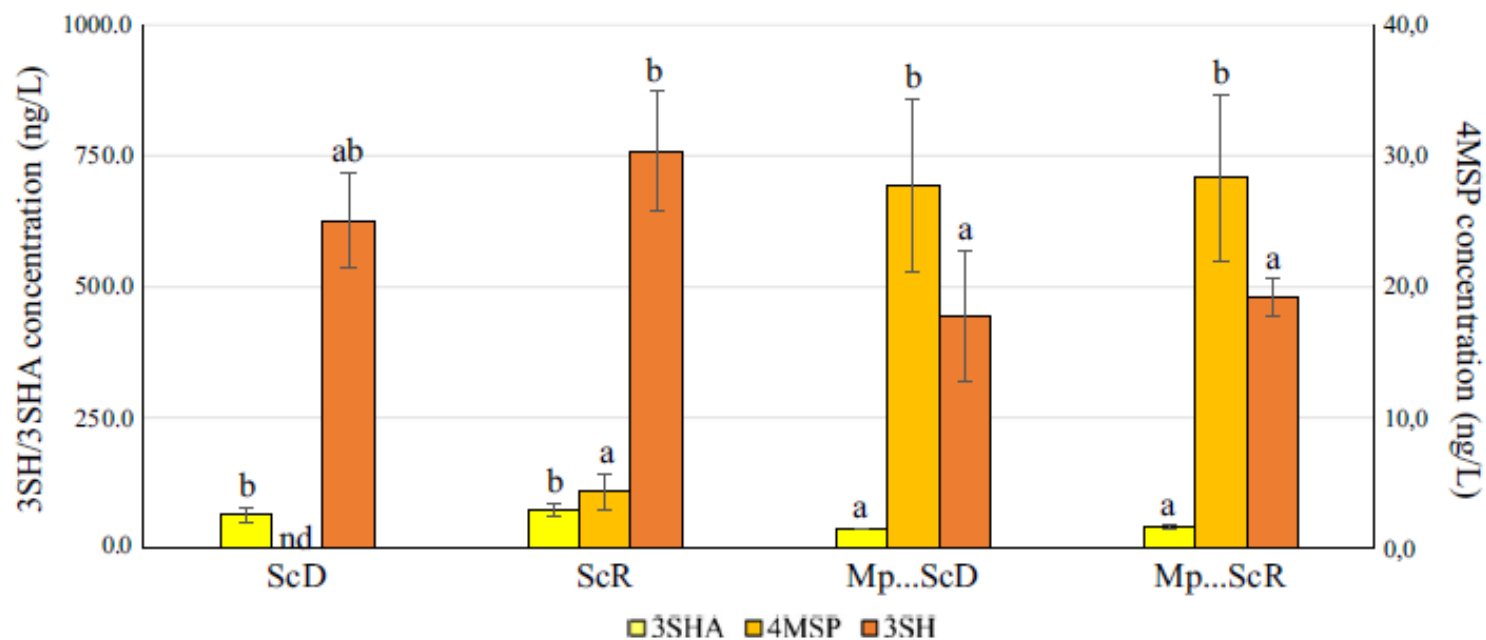
Sono state effettuate macerazioni prefermentative della durata di 0 (testimone), 4, 16 e 32 h. Le diverse tesi sono state quindi pressate e sono stati raccolti il mosto di sgrondo e le frazioni pressate a 0.4 ed a 2 atm. La macerazione prefermentativa ha consentito di incrementare l'effetto della pressione di pressatura.

I benefici derivanti dall'arricchimento in composti aromatici (3-MH) a seguito di un più lungo contatto con le bucce risultano vanificati da fenomeni ossidativi.

### **Aumentando il contatto tra mosto e bucce o la durata e l'intensità della pressatura:**

- scende la concentrazione di **GSH** ed acido caftarico, sostituiti dall'acido 2-S-glutationilcaftarico (GRP) (frazioni più ossidate)
- aumenta il tenore in acido cis-cutarico, flavonoli e flavanoli.
- aumenta l'ossidabilità dei vini, legata alla concentrazione in fenoli estratti, in particolare orto difenoli ossidabili a o-chinoni, molecole in grado di reagire direttamente con i tioli (3-MH) (reazioni di addizione di Michael) o attraverso la produzione di perossidi.

Occorre scegliere il compromesso tra durata di macerazione e intensità della pressatura che porta ad un aumento della componente volatile e il parallelo aumento dell'ossidabilità dei vini che influisce sulla perdita di questi aromi.



**ScD:** FA con *S. cerevisiae*- ceppo D

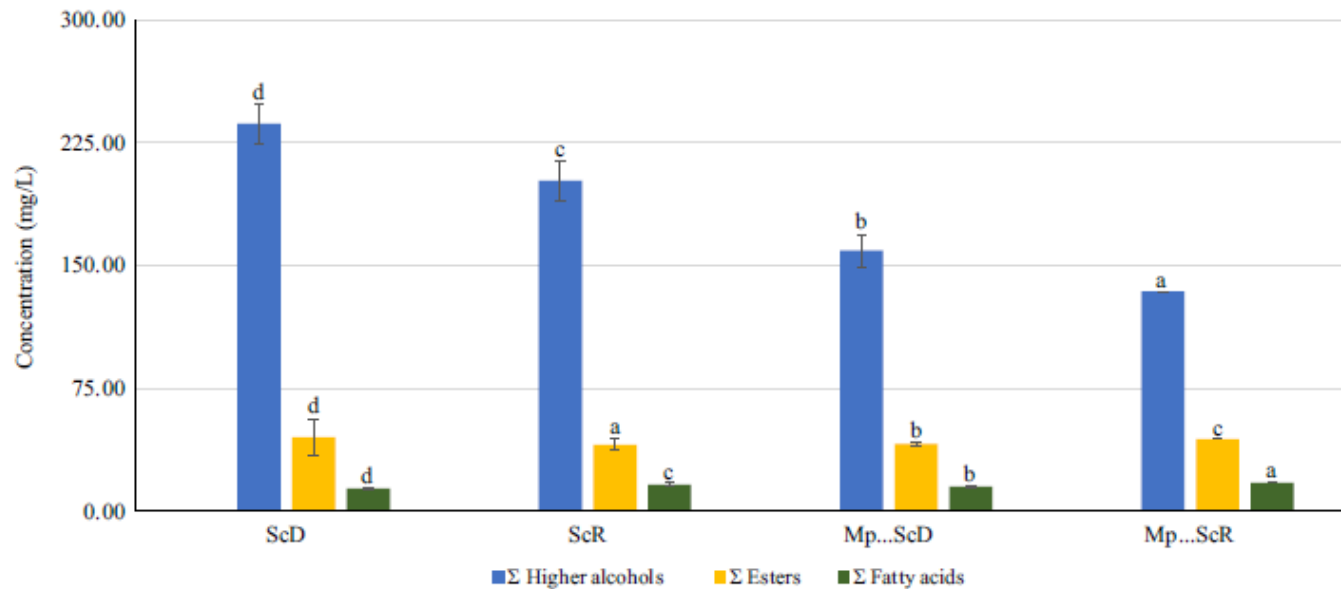
**ScR:** FA con *S. cerevisiae* – ceppo R

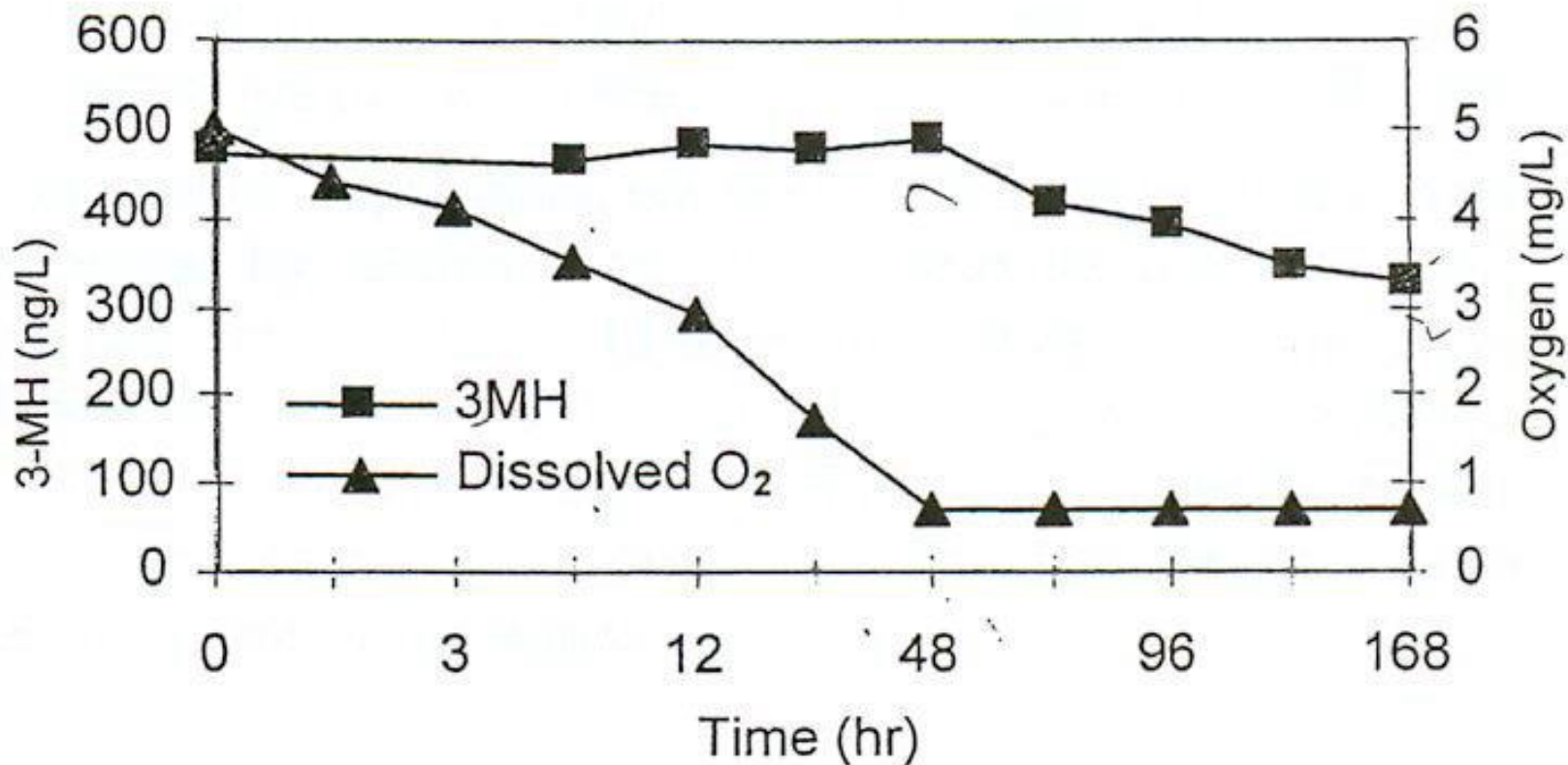
**Mp-ScD:** Inoculo scalare con *Metschnikovia pulcherrima* e *S.cerevisiae* D

**Mp\_ScR:** Inoculo scalare con *Metschnikovia pulcherrima* e *S.cerevisiae* R

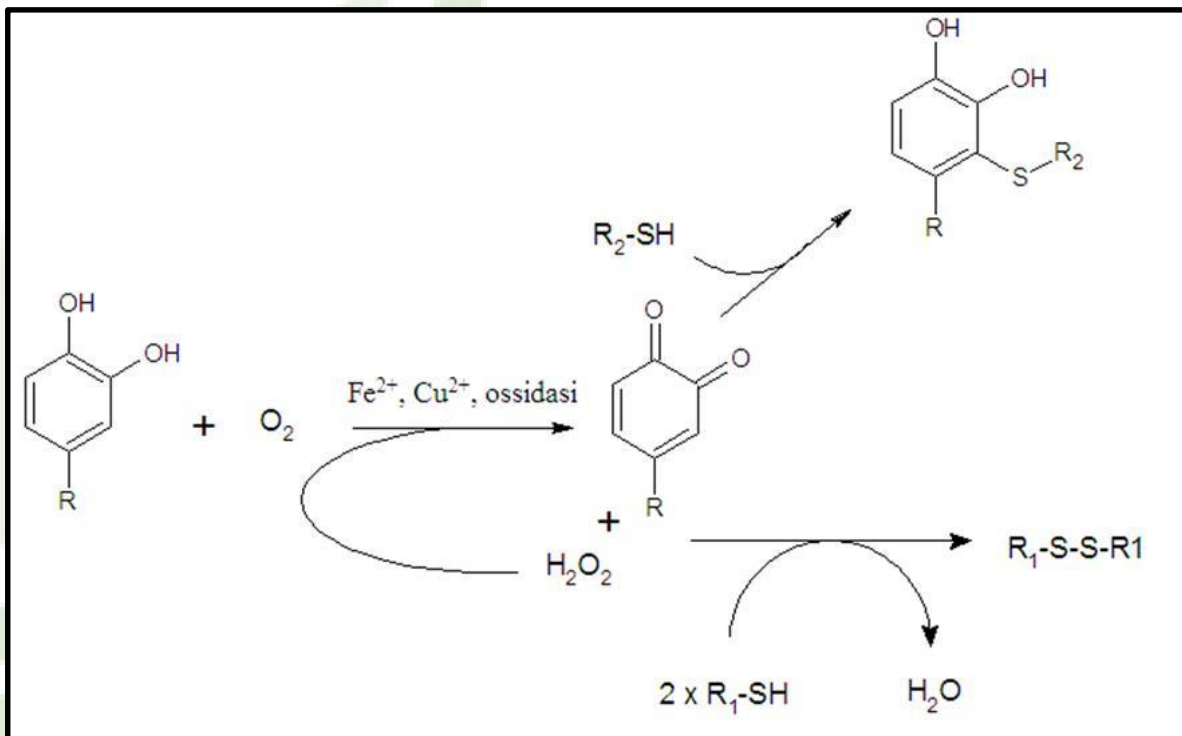
L'impiego dell'inoculo scalare con **M. pulcherrima** ha determinato l'aumento del tenore in 4-MMP e, parallelamente, la diminuzione del tenore in 3-MH e in 3-MHA

- I vini da inoculo sequenziale presentavano un tenore in alcoli superiori significativamente inferiore a quelli fermentati con *S. cerevisiae*.
- I vini da inoculo sequenziale erano giudicati più fruttati, malgrado il minore contenuto in 3-MH e 3-MHA.
- Secondo gli Autori, questo potrebbe dipendere dalla riduzione del contenuto in alcoli superiori che tenderebbero a coprire gli aromi presenti in concentrazioni minori.
- Si ritiene, inoltre, che la riduzione del tenore alcolico nei vini sottoposti ad inoculi sequenziali migliori la sensibilità dell'assaggiatore e la percezione delle note fruttate.





Tratto da: Reactivity of 3-MH in redwine: impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide.  
 Blanchard et al. Am. J. Enol. Vitic. 55:2 (2004):



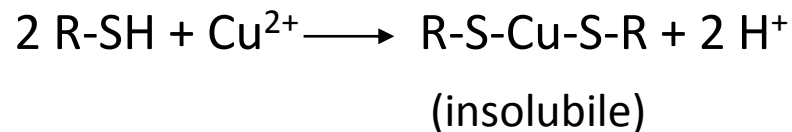
Come nucleofili, i tioli sono in grado di reagire con gli orto-dichinoni attraverso una reazione di addizione per dare il corrispondente tiolo ridotto coniugato.

I tioli possono, inoltre, essere ossidati a disolfuri dal perossido di idrogeno che si forma nel corso del processo di ossidazione.

Le perdite variano in funzione:

- **della molecola tiolica:** 3-MH è più ossidabile di 4-MMP;
- **del pH:** a pH più elevati le perdite sono maggiori;
- **della temperatura:** abbassando la temperatura rallentano le reazioni di idrolisi e la perdita dei tioli. La temperatura, tuttavia, favorisce la dissoluzione dell'O<sub>2</sub> molecolare nel vino;
- **del contenuto in metalli di transizione: rame e ferro.** Le reazioni di ossidazione accoppiata dei polifenoli sono catalizzate dai metalli.

Inoltre, il rame è in grado di legare i composti tiolici in modo irreversibile, «sequestrandone» una quota importante.





- Quantità di O<sub>2</sub> disciolto (affinamento *sur lies*, modalità di imbottigliamento, tipo di chiusura impiegata..)
- Contenuto in polifenoli e in SO<sub>2</sub> del vino;

**Table 4** Evolution of 3MH content and dissolved oxygen in model wines with added phenolic fractions, SO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> after seven days conservation at 20°C.

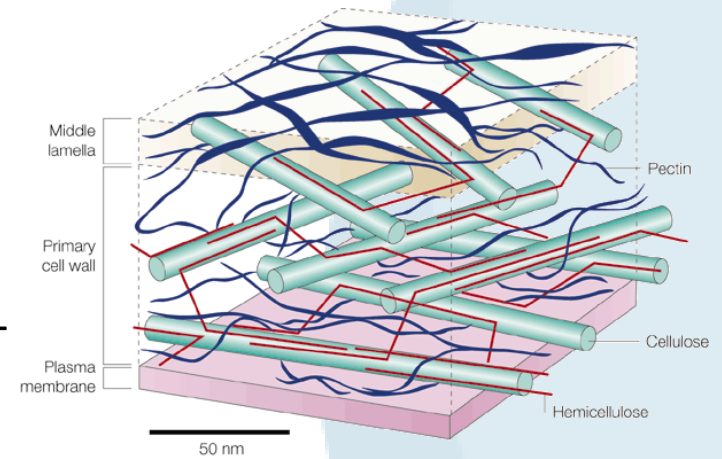
Sample	3MH (ng/L)	Initial dissolved O <sub>2</sub> (mg/L)	O <sub>2</sub> consumed (mg/L)
<b>Immediate</b>			
Control	1000	0.2	nd <sup>a</sup>
<b>After seven days</b>			
Control	670	0.2	0.1
Sample + O <sub>2</sub>	507	4.7	0.3
Sample + O <sub>2</sub> + SO <sub>2</sub>	617	4.7	0.9
Sample + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	269	nd	nd
Sample catechin	459	0.2	0.1
Sample catechin + SO <sub>2</sub>	668	0.2	0.1
Sample catechin + O <sub>2</sub>	238	4.7	1.4
Sample catechin + O <sub>2</sub> + SO <sub>2</sub>	647	4.7	1.2
Sample anthocyanin	887	0.2	0.1
Sample anthocyanin + O <sub>2</sub>	750	4.7	2.2
Sample anthocyanin + O <sub>2</sub> + SO <sub>2</sub>	883	4.7	2.3

<sup>a</sup>nd: not determined.

## Aumentare l'estrazione degli antociani dalle bucce

La quantità di antociani estratti dipende da:

- Quantità di antociani presenti nelle bucce (varietà, grado di maturazione)
- Struttura della buccia (varietà, grado di maturazione)
- Pratiche enologiche:
  1. Impiego di enzimi pectolitici (maggiore effetto sui tannini che sugli antociani)
  2. SO<sub>2</sub> (estrazione di tannini e antociani a basso PM)
  3. Alcol (effetto su membrane cellulari e vacuolari e sulle cere e cuticole dei semi)
  4. Temperature (termovinificazione, flash-détente)
  5. Azione meccanica sul cappello (rimontaggi, follature, délestage,...)
  6. Anaerobiosi (macerazione carbonica)



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

## **Limitare le perdite di antociani durante la FA**

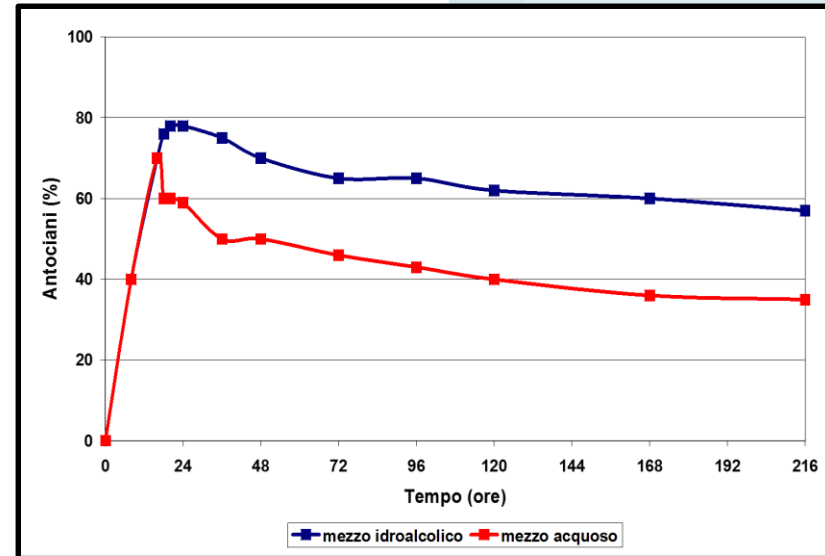
### **I principali fattori che intervengono sulle perdite degli antociani durante la macerazione:**

1. Composizione del mezzo di estrazione;
2. Ossidazione (in particolare durante la fase prefermentativa e ad inizio FA);
3. Adsorbimento su bucce e vinaccioli e pareti cellulari dei lieviti.
4. Precipitazione con i cristalli di bitartrato di potassio.
5. Formazione di complessi insolubili con i tannini.

## 1. Composizione del mezzo di estrazione

*Legata a:*

- a) Profilo antocianico delle uve;
- b) Fattori che provocano un ritardato avvio della FA (aumento dell'assorbimento sulle bucce, maggiori perdite per ossidazione);
- c) Presenza di molecole che agiscono come cofattori che stabilizzano gli antociani (copigmentazione).



Tratto da Amrani Joutei e Glories, 1994

**Le pratiche enologiche:**

- a) Creare le condizioni per un rapido avvio della FA (apporto di fonti azotate quando il mosto ne è carente, corretta preparazione del *pied de cuve* e scelta del ceppo di lievito adatto alla composizione del mosto da fermentare).
- b) Aggiunta di tannini enologici (effetto sulla copigmentazione).

### *Legata a:*

- a) Profilo antocianico delle uve (prevalenza delle forme diidrossilate sulle triidrossilate)
- b) Fattori che provocano un ritardato avvio della FA
- c) Presenza di ossigeno disciolto e azione delle ossidasi dei mosti (tirosinasi)
- d) Anticipata estrazione degli antociani nel corso dei primi gg di macerazione (prima dell'avvio della FA e nei primi gg di FA)
- e) Scarsa formazione di pigmenti stabili tra antociani e tannini

### **Le pratiche enologiche:**

- a) Interventi per consentire il rapido avvio della FA
- b) Aggiunta di tannini enologici (antiossidanti, antiossidasici e copigmentazione)
- c) Vinificazioni a cappello sommerso
- d) Formazione di pigmenti stabili con i tannini (délestage, macrossigenazione)
- e) Estrazione differita degli antociani

### 3. Adsorbimento su bucce e vinaccioli e pareti cellulari dei lieviti

Dovuto a:

- Presenza delle parti solide dell'acino
- Ceppo di lievito impiegato

#### Le pratiche enologiche:

Scelta del ceppo di lievito più adatto; in genere i ceppi di lievito del commercio sono selezionati per questa proprietà.

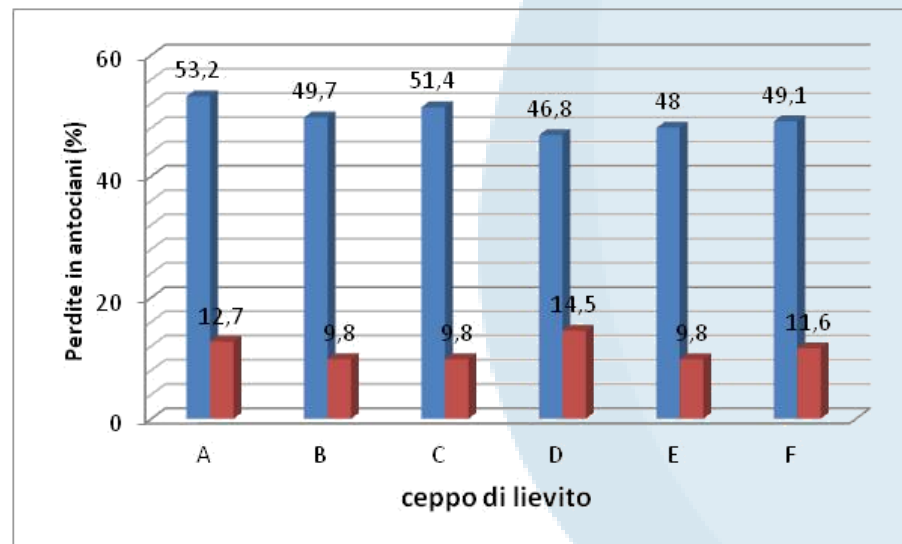
### 4. Precipitazione con i cristalli di KHT

Dovuta a:

- Concentrazione in acido tartarico e pH del succo
- Estrazione del potassio dalle bucce nel corso della macerazione

#### Le pratiche enologiche:

- Estrazione differita degli antociani
- Vinificazioni a cappello sommerso



*Blu:* perdita complessiva % nel corso della FA

*Rosso:* perdita % per adsorbimento sulle pareti cellulari

# La tecnica dell'estrazione differita degli antociani



**UVE**

**PIGIATURA**

**Avvio della  
fermentazione alcolica**

**AGGIUNTA DI LIEVITI A BASSO POTERE  
ADSORBENTE NEI CONFRONTI DEGLI ANTOCIANI**

**Dal sollevamento del  
cappello a circa 6 °  
alcolici**

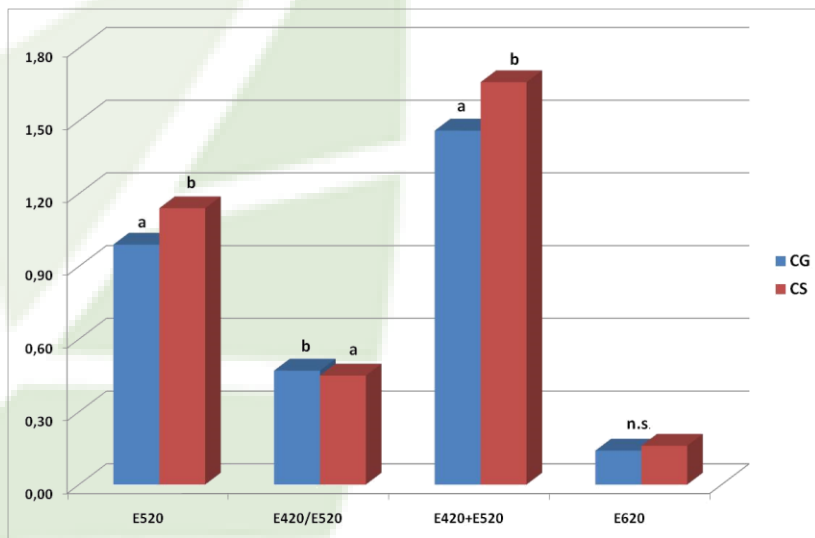
- **Bagnatura del cappello con piccoli volumi di mosto**
- **oppure effettuazione di una follatura al giorno.**
- **Interventi che minimizzano il contatto e gli scambi tra cappello e mosto.**

**Fino a fine  
fermentazione alcolica**

**Effettuazione di rimontaggi, follature od anche  
“délestage” secondo lo stile della cantina.**

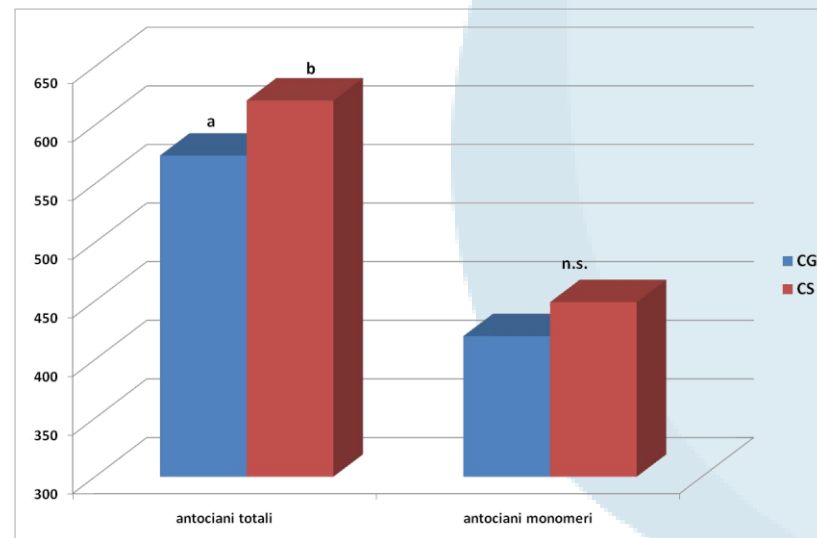
**Interventi che consentono un efficace contatto tra  
cappello e mosto senza provocare formazione di  
feccia.**

## Colore dei vini a svinatura



**CG (blu):** cappello galleggiante  
**CS (rosso):** cappello sommerso

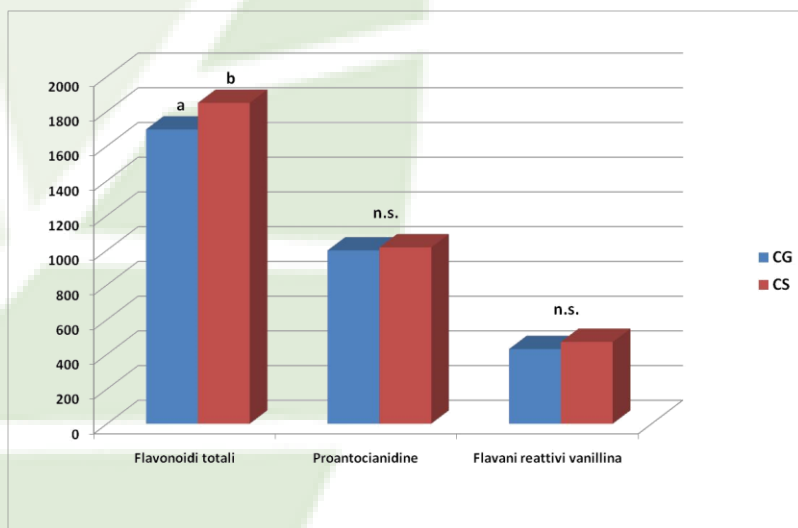
## Contenuto in antociani totali (mg/L) dei vini a svinatura



**CG (blu):** cappello galleggiante  
**CS (rosso):** cappello sommerso

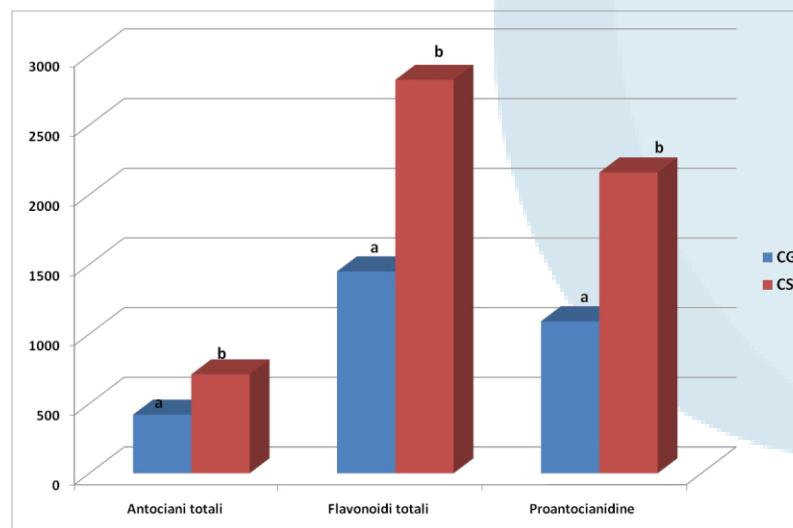


## Composizione polifenolica (mg/L) dei vini a svinatura



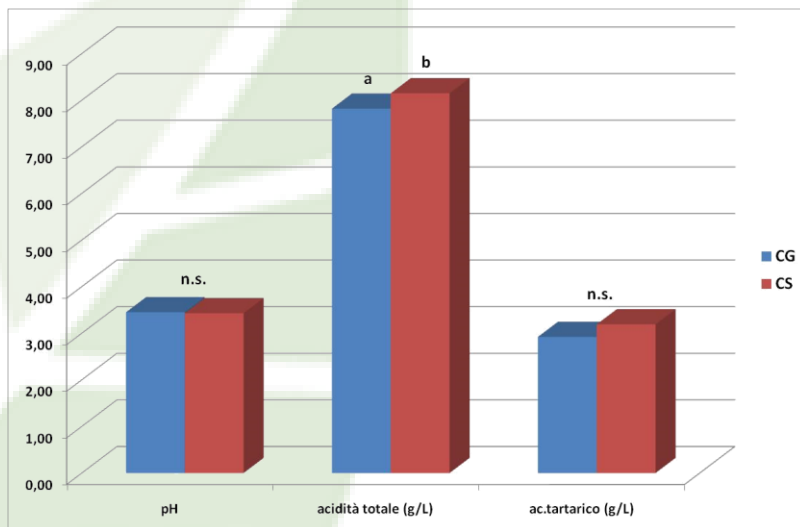
CG (blu): cappello galleggiante  
CS (rosso): cappello sommerso

## Composizione polifenolica (mg/L) della frazione di torchiato (0,5 atm)



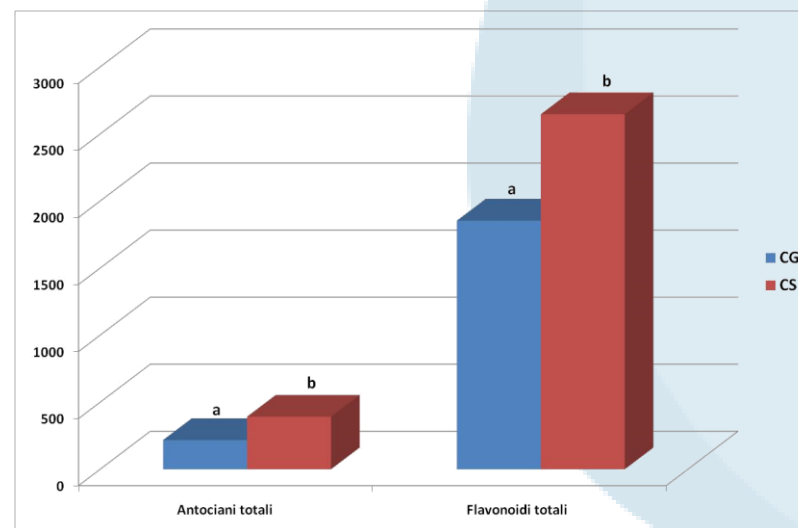
CG (blu): cappello galleggiante  
CS (rosso): cappello sommerso

## Quadro acido dei vini



CG (blu): cappello galleggiante  
CS (rosso): cappello sommerso

## Contenuto in composti polifenolici (mg/L) delle vinacce



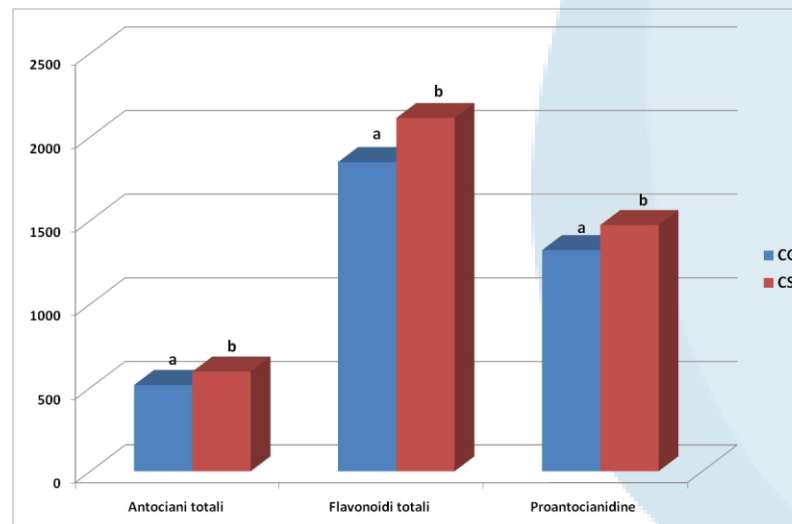
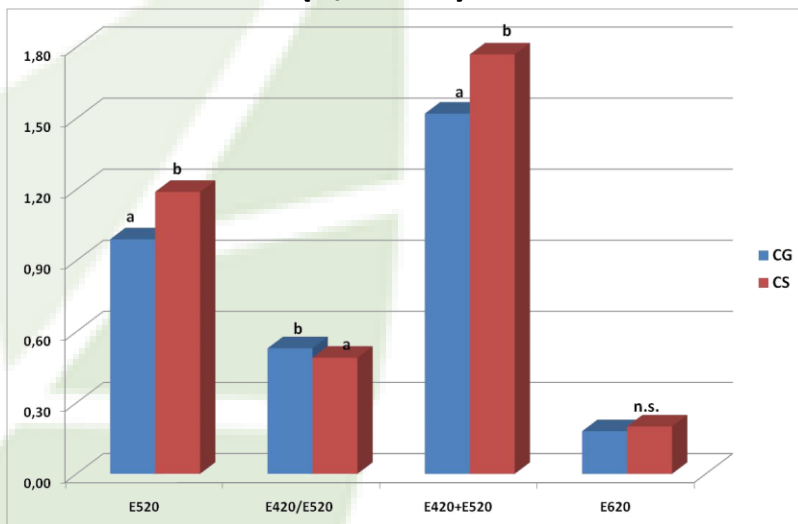
CG (blu): cappello galleggiante  
CS (rosso): cappello sommerso

## Risultati

La tecnica della vinificazione con cappello sommerso consente di:

- limitare l'estrazione di **antociani e tannini** dalle bucce;
- ridurre le **perdite degli antociani per ossidazione e per precipitazione con KHT** (minore estrazione di potassio)

## Composizione polifenolica (mg/L) e colore dei vini dopo unione del vino fiore con il vino torchiato (0,5 atm)



### Risultati

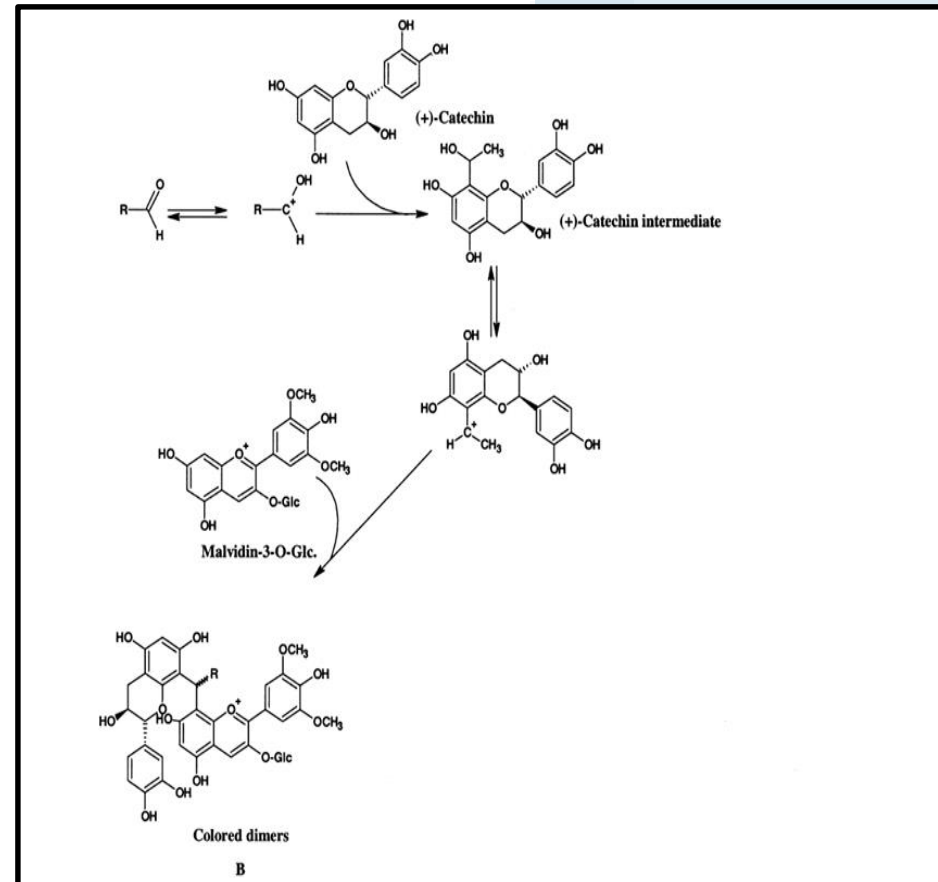
- La tecnica della vinificazione a cappello sommerso ha consentito di ottenere vini più colorati, ricchi in antociani e tannini e con una maggiore acidità titolabile.
- Le vinacce presentavano un contenuto in antociani e flavonoidi totali maggiore rispetto a quelle ottenute per vinificazione con cappello galleggiante.

- Gli antociani liberi delle uve che partecipano al colore dei vini giovani, sono molecole facilmente ossidabili e degradabili nel corso della conservazione.
- La stabilizzazione del colore dei vini nel corso del tempo si ottiene favorendo le reazioni chimiche che portano, a partire dagli antociani liberi, alla formazione di pigmenti rossi più resistenti all'ossigeno e più stabili nel tempo che sono i pigmenti dei vini invecchiati.

- 1. Copigmentazione:** associazione tra antociani liberi e molecole incolori (acidi fenolici, flavonoli, flavanoli) con formazione di copigmenti dal colore più intenso.

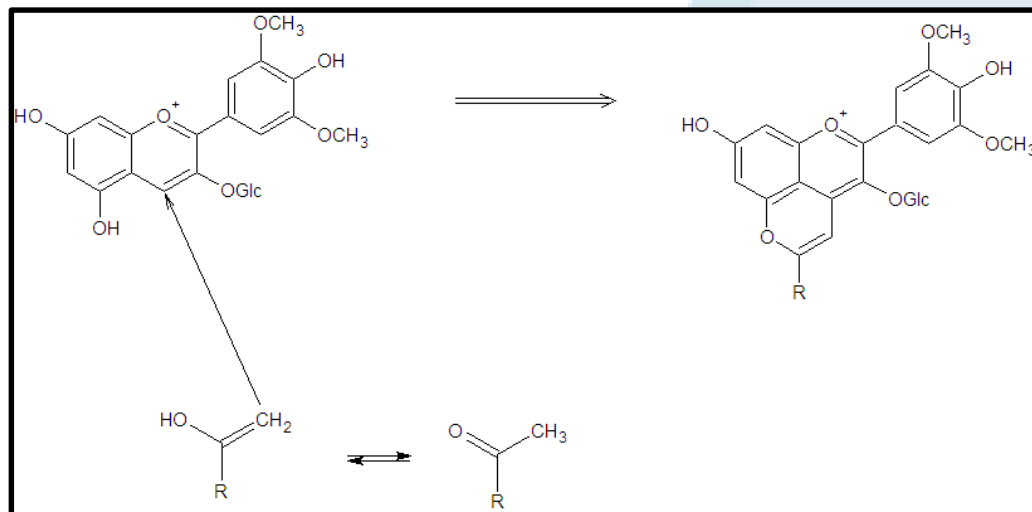
## *Impiego di tannini enologici.*

- 2. Formazione di pigmenti colorati tra antociani e tannini in presenza di etanale.** Polimeri tra flavan-3-oli e malvidina-3 glucoside con ponti etilici. Sono pigmenti con un max di adsorbimento intorno a 540 nm, traslato rispetto a quello della malvidina-3G (525 nm). Queste molecole sono stabili. Risultano protette dalle reazioni di idratazione che portano alla formazione di molecole incolori. La principale causa di instabilità è rappresentata dall'acidità. **Pratiche enologiche che apportano ossigeno al vino: macrossigenazione, micro ossigenazione, affinamento in legno e nanossigenazione. Adeguata estrazione di composti polifenolici**



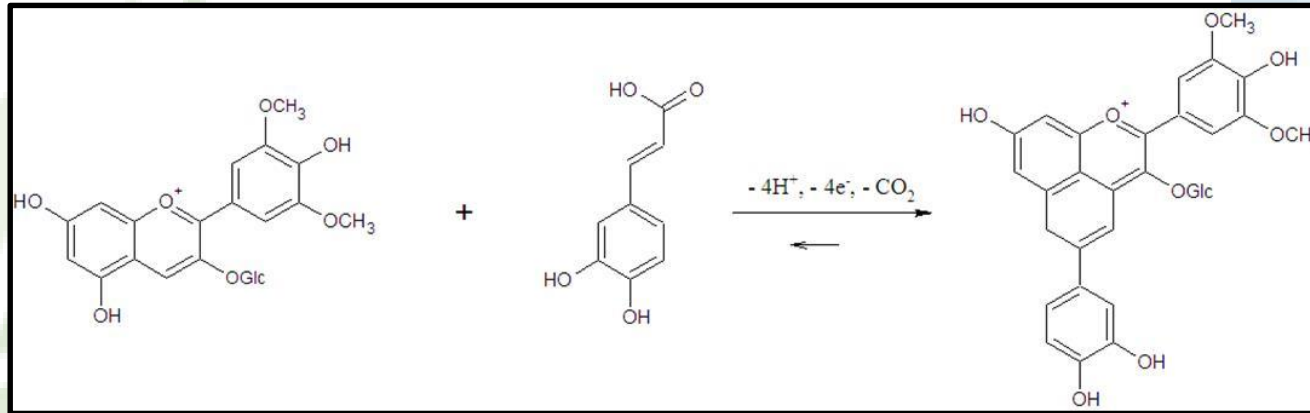
- 3) Formazione di pigmenti per reazione tra antociani e acetaldeide o acido piruvico, prodotti durante la FA. Alcuni Autori hanno osservato un aumento della vitisina A durante la conservazione in bottiglia, indipendentemente dal tenore in  $O_2$  apportato al vino.

Tutte le pratiche che favoriscono l'estrazione degli antociani.



**R = H acetaldeide : piranomalvidina-3G vitisina B**

**R = COOH acido piruvico: carbossipiranomalvidina-3G vitisina A**



4. **Formazione di pigmenti (fenilpiranoantociani) per reazione tra antociani e alcuni costituenti del vino o prodotti dal metabolismo dei lieviti.** Un anello pirano si forma tra il gruppo OH del C5 ed il C4 dell'antociano di partenza. La **Pinotina A** (figura) si ottiene dalla reazione della malvidina-3-glucoside con l'acido caffeico che si forma dalla decarbossilazione dell'acido caftarico durante la conservazione. Questa molecola è stabile ed è colorata al pH del vino, non subisce idratazione e non è decolorabile dalla  $SO_2$ . Presenta un massimo di assorbimento intorno ai 501-511 nm. Si è osservata una buona correlazione tra il suo contenuto e l'intensità colorante del vino. Sembra favorita da nanossigenazione (dal tipo di chiusura), dal tenore in acido caffeico dei vini.

**Grazie per l'attenzione!**

