

A cura di:



Tomas Roman



Tiziana Nardin



Jacopo Maria Pace



Nicola Cappello



Roberto Larcher



Giorgio Nicolini

# PESO DEL CEPPO DI LIEVITO

## SULLA PRESENZA DI MOLECOLE CORRELATE ALL'INVECCHIAMENTO ATIPICO

L'invecchiamento atipico (UTA) è un difetto dei vini bianchi che si manifesta con la precoce formazione di note tipo sapone di Marsiglia-ibrido, correlate principalmente alla concentrazione del 2-aminoacetofenone (2AAP). Dalle esperienze riportate si ricava che, sebbene talora si possano trovare differenze significative tra ceppi di lievito, questa fonte di variazione sembra essere di minor rilievo rispetto ad altre di natura climatico-agronomica, chimico- compositiva e tecnologica

In un nostro recente articolo proprio sulle pagine di questa stessa rivista (Nicolini *et al.* 2019) - al quale peraltro si rimanda per un eventuale inquadramento più generale del problema "invecchiamento atipico" *alias* UTA (Rapp *et al.* 1993) e letteratura connessa - avevamo già mostrato come la pressatura delle uve incida sulla concentrazione dei precursori del 2-aminoacetofenone (2AAP). In esso concludevamo che, ragionando in termini di pura disponibilità di precursori, i mosti di pressatura siano da considerare come potenzialmente più a rischio di sviluppare UTA.

In questa occasione si vuole invece indagare la variabilità che può essere determinata nella concentrazione di 2AAP dalla consueta scelta tecnologica del ceppo di lievito al quale far condurre la fermentazione.

A questo riguardo si riportano sinteticamente i risultati di un paio di distinte esperienze recentemente realizzate a San Michele all'Adige presso la Cantina

Sperimentale e di Microvinificazione del Centro Trasferimento Tecnologico della Fondazione Edmund Mach.

### Esperienza n.1: descrizione

Il piano sperimentale era così costituito. Otto ceppi di lievito (Anchor Yeast Vin13, Blastosel FR95, Aeb Fermol Arome Plus, Lamothe Abiet Excellence STR, Anchor Yeast Alchemy II, La Claire EM2, Vason Premium Chardonnay, Laffort Zymaflore VL3) sono stati impiegati (10 g/hL), previa reidratazione, per fermentare 6 mosti bianchi, monovarietali e non (Aromera; Glera; Moscato giallo, MG; Riesling renano, RR; Pinot grigio, PG; un taglio PG+RR), originariamente congelati, adeguatamente illimpiditi e solfitati. I risultati dettagliati relativi alla composizione di base dei vini nonché alle loro principali componenti volatili (acetaldeide, acetato di etile, alcoli superiori, acetati di alcoli superiori, esteri etilici di acidi grassi, ecc.)

Fondazione Edmund Mach (FEM),  
Centro Trasferimento Tecnologico,  
San Michele all'Adige, Italia.

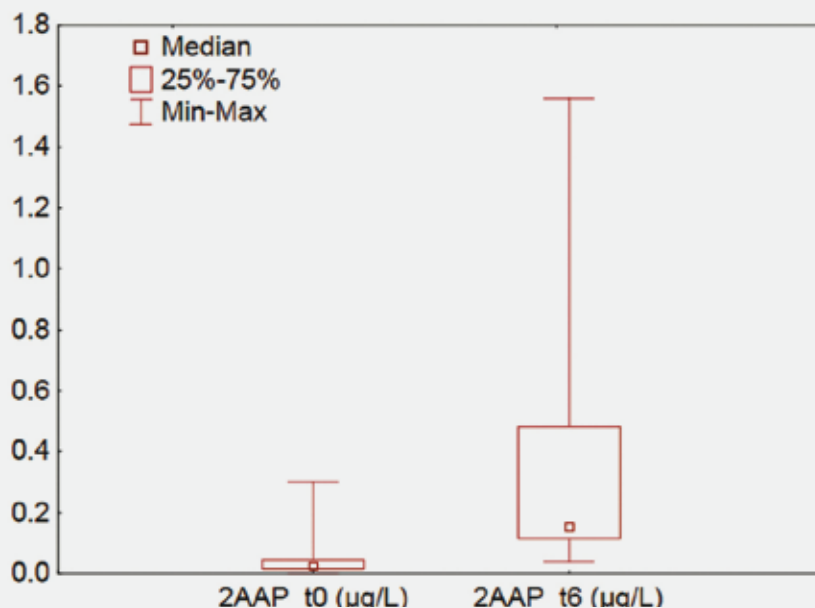
sono già stati riportati e commentati, e sono pubblicamente disponibili (<https://www.researchgate.net/publication/337085683>). In relazione alla concentrazione di acido indolacetico libero e alla formazione del 2AAP, i vini sono stati analizzati alla fine della fermentazione alcolica (t0) e successivamente, dopo invecchiamento accelerato a 40 °C per 6 giorni (t6) al fine di evidenziare la propensione alla produzione di 2AAP da parte del singolo vino.

L'analisi è stata realizzata mediante cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa ad alta risoluzione (UHPL-HRMS) previa estrazione in fase solida online per concentrare gli analiti presenti in tracce, secondo quanto proposto da Roman *et al.* (2020) per l'analisi in mosto.

### I risultati

Al t0 le concentrazioni di 2AAP riscontrate nei 48 vini disponibili variavano da livelli analiticamente non quantificabili fino a 0,300 µg/L. Valutate col test a coppie, le condizioni di invecchiamento accelerato applicate (t6) hanno aumentato di circa 8 volte - in maniera altamente significativa - la formazione del 2AAP, portandone il valore medio dagli 0,038 µg/L di partenza a 0,308 µg/L (**Fig. 1**). Parallelamente, la quantità di acido indolacetico libero si riduceva in maniera altamente significativa di un 40% circa, passan-

Fig. 1 - Distribuzione dei valori di concentrazione del 2-aminoacetofenone (2AAP) in 48 vini bianchi misurati al tempo zero (t0) e dopo test di invecchiamento accelerato (t6)



do mediamente da 28,9 a 17,0 µg/L. Le concentrazioni di 2AAP e del precursore libero acido indolacetico nel vino, per ceppo e per mosto (matrice), sono riportate nella **Tab. 1**, assieme alla significatività all'analisi di varianza (effetti principali: ceppo, matrice). Relativamente al 2AAP, al momento t0 le concentrazioni medie si collocano principalmente tra gli 0,02 e gli 0,04 µg/L con un ceppo che si discrimina significativamente al test di Tukey per livelli di concentrazione di circa 0.1 µg/L superiori a tutti gli altri.

Dopo test di invecchiamento accelerato tale significatività viene invece a sparire, lasciando addirittura quello stesso ceppo su valori di concentrazione prossimi a quelli del ceppo minor produttore. Le medie di ceppo riscontrate dopo riscaldamento vanno da 0,202 a 0,515 µg/L, con differenze potenziali che - pur a fronte degli incrementi di concentrazione osservati - anche in questo caso difficilmente raggiungono l'unità di flavour (UF = concentrazione/soglia). Infatti, le soglie organolet-

Tab. 1 - Concentrazioni medie di 2-aminoacetofenone e di acido indolacetico in vino, in relazione al ceppo di lievito utilizzato e alla matrice di mosto fermentata

Variabile (µg/L)	Tempo	Arome (N=6)	EM2 (N=6)	FR95 (N=6)	FR95 (N=6)	PremCH (N=6)	STR (N=6)	Vin13 (N=6)	VL3 (N=6)	Sign.
2-Aminoacetofenone (µg/L)	0	0,023	0,022	0,022	0,038	0,023	0,023	0,128	0,029	***
	6	0,315	0,248	0,202	0,515	0,280	0,298	0,203	0,397	n.s.
Acido indolacetico (µg/L)	0	26,1	31,3	20,1	26,2	54,7	24,1	17,9	30,7	n.s.
	6	16,1	19,2	13,1	15,3	28,9	14,5	12,0	16,6	n.s.

Variabile (µg/L)	Tempo	Aromera (N=8)	Glera (N=8)	MG (N=8)	PG (N=8)	PG+RR (N=8)	RR (N=8)			Sign.
2-Aminoacetofenone (µg/L)	0	0,074	0,055	0,021	0,045	0,011	0,025	-	-	*
	6	0,159	0,680	0,633	0,111	0,115	0,146	-	-	***
Acido indolacetico (µg/L)	0	9,5	101,6	18,3	13,7	13,2	17,0	-	-	***
	6	5,9	55,7	18,3	6,1	6,2	9,6	-	-	***

tiche riportate in letteratura sono tra 0,3-0,4 µg/L negli spumanti e salgono a 0,5 µg/L in bianchi aromaticamente semplici, a 1,5 µg/L in prodotti più marcatamente aromatici (Rapp *et al.* 1993; Schmarr *et al.* 2007; Košmerl e Zlatič 2009) arrivando fino a 10 µg/L (Perry e Hayes 2016).

Più marcata invece e sempre statisticamente significativa la variabilità osservata sulla base della matrice mosto fermentata, con evidenza di alta significatività sia al t0 che al t6. In quest'ultima situazione, le differenze tra vini "varietali" sono certamente dell'ordine di 1 unità di flavour.

## Esperienza n. 2: descrizione

In condizioni fermentative sostanzialmente analoghe a quelle dell'esperienza precedente - ma in un'annata di vendemmia diversa e a partire da mosti freschi - 4 ceppi, pre-commerciali e non, sono stati messi a fermentare 6 diverse matrici di mosto da uve bianche. L'analisi del 2AAP e dell'acido indolacetico dei vini è stata realizzata con l'approccio analitico sopra riportato.

Al t0, il 2AAP aveva media (n=24) pari a 0,030 µg/L e copriva un intervallo di concentrazione che andava dal livello di tracce fino a 0,220 µg/L, tutti valori di insignificanza sensoriale.

Dopo invecchiamento accelerato, il valore medio si collocava a 0,560 µg/L, aumentando quindi mediamente di ca. 18 volte ed arrivando a livelli di probabile percezione organolettica, mentre il massimo raggiungeva i 2,12 µg/L. Nessuna differenza significativa nella concentrazione di 2AAP è stata riscontrata tra ceppi di lievito (**Fig. 2**), né nei vini valutati al t0 né dopo invecchiamento accelerato. Analogamente è successo, al t0, sulla base della matrice di mosto fermentata (**Fig. 3**) mentre, dopo riscaldamento, i vini ottenuti a partire dal mosto 4 si sono differenziati significativamente da quelli di tutte le altre matrici. A riguardo, è forse interessante osservare che al t0 la concentrazione media di acido indolacetico libero nei vini della matrice 4 superava i 70 µg/L mentre nelle altre 5 matrici tale valore era tra i 15 e i 22 µg/L, ossia 3-4 volte più basso, a conferma della cor-

Fig.2 - Concentrazioni medie (n = 6) di 2-aminoacetofenone nei vini, prima (t0) e dopo (t6) riscaldamento, in relazione al ceppo di lievito utilizzato in fermentazione

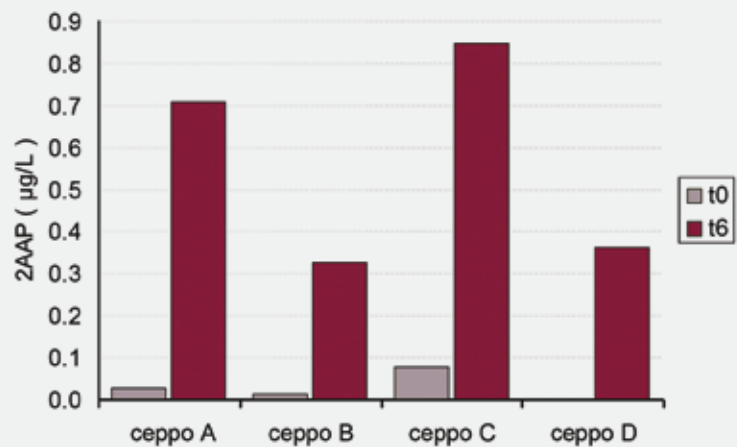
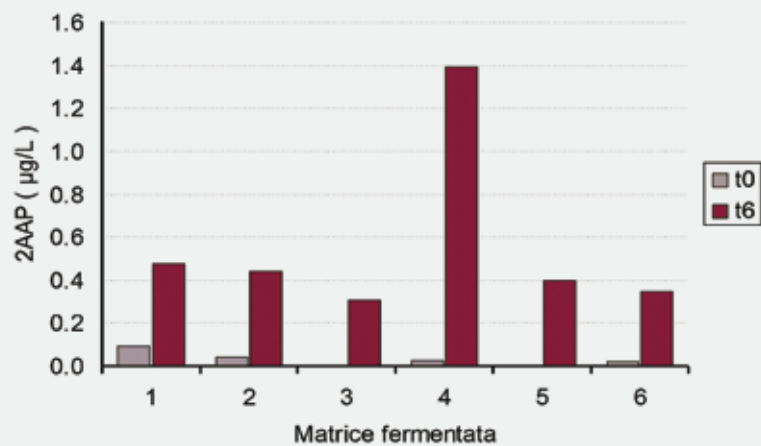


Fig.3 - Concentrazioni medie (n = 6) di 2-aminoacetofenone nei vini, prima (t0) e dopo (t6) riscaldamento, in relazione alla matrice di mosto fermentata



relazione positiva, benché con  $r^2$  relativamente bassi, tra indolacetico e 2AAP già osservata da Simat *et al.* (2004).

## Considerazioni conclusive

Tra ceppi di lievito utilizzati a parità di condizioni fermentative si possono talora osservare delle differenze significative nella presenza di 2-aminoacetofenone in vini prodotti con lo stesso protocollo operativo ed analizzati allo stesso momento. Il tutto sembra essere ragionevolmente coerente con il peso del ceppo del lievito nella produzione del principale precursore del 2AAP, l'acido indolacetico, composto quest'ultimo già ben studiato da Mihaljevic Zulj *et al.* (2015).

Questi autori avevano annoverato il ceppo Vin13 tra i maggiori produttori di indolacetico - cosa che peraltro sembra

avvenire anche nel caso di fermentazioni spontanee e/o con lieviti non-Saccharomyces (Simat *et al.* 2004; Maslov *et al.* 2011) - e l'unico caso di significatività riscontrato relativamente alla concentrazione del 2AAP nelle esperienze da noi qui riportate riguarda proprio quello specifico ceppo, a fronte invece di valori di concentrazione di indolacetico piuttosto bassi e di una significatività statistica che, con l'invecchiamento accelerato, non si riscontrava più.

L'insieme delle osservazioni spinge a ritenere che il peso reale del ceppo di lievito nella formazione del 2AAP sia secondario rispetto a quello di altri fattori, sia di natura agroclimatica, sia compositiva della matrice mosto, come ad esempio i polifenoli o il triptofano, sia di natura tecnologica, come già osservato per la solforosa e l'acido ascorbico. Tuttavia può essere una variabile da prendere in considerazione in



contesti difficili - per motivi varietali, agronomici o di processo - come ulteriore misura di riduzione del rischio di comparsa dell'invecchiamento atipico. Va inoltre detto che, probabilmente, la misura dell'acido indolacetico libero, benché necessaria e fondamentale, non è forse sufficiente per descrivere il complesso sistema di molecole interagenti che porta - come ultimo passaggio - alla formazione del 2-aminoacetofenone e per prevederne la formazione. L'approccio di invecchiamento accelerato applicato sembra comunque essere un utile strumento in termini previsionali.

## Bibliografia

- Košmerl T., Zlatiž E. (2009). Determination of 2-aminoacetophenone in wines using the stir bar sorptive extraction method coupled with GC-MS and GC-NPD. *Mitt. Klosterneub. 59*, 121-126.
- Maslov L., Jeromel A., Herjavec S., Jagatić Korenika A.M., Mihaljević M., Plavša T. (2011). Indole-3-acetic acid and tryptophan in Istrian Malvasia grapes and wine. *J. Food Agric. & Environment 9*(3-4), 29-33.
- Mihaljević Zulj M., Tomaz I., Maslov Bandić L., Puhelek I., Jagatić Korenika A.M., Jeromel A. (2015). Influence of different yeast strains on metabolism of tryptophan and indole-3-acetic acid during fermentation. *S. Afr. J. Enol. Vitic. 36*(1), 44-49.
- Nicolini G., Román T., Azzolini P., Nardin T., Malacarne M., Larcher R. (2019). Invecchiamento atipico dei bianchi: evoluzione dei precursori nelle frazioni di pressatura. *L'Enologo 2019*(6), 91-96.
- Perry D.M., Hayes J.E. (2016). Effects of matrix composition on detection threshold estimates for methyl anthranilate and 2-aminoacetophenone. *Foods 5*, 35. (doi:10.3390/foods5020035)
- Rapp A., Versini G., Ullemeyer H. (1993). 2-Aminoacetophenone: Causal component of 'untypical ageing flavour,' 'naphthalene note,' 'hybrid note' of wine. *Vitis 32*, 61-62.
- Román T., Nardin T., Trenti G., Barnaba C., Nicolini G., Larcher R. (2020). Press fractioning of grape juice: a first step to manage potential atypical aging development during winemaking. *Am. J. Enol. Vitic. 71*(1), 17-25.
- Schmarr H.G., Ganss S., Sang W., Potouridis T. (2007). Analysis of 2-aminoacetophenone in wine using a stable isotope dilution assay and multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A 1150*(1-2), 78-84.
- Simat T.J., Hoenicke K., Gessner M., Christoph N. (2004). Metabolism of tryptophan and indole-3-acetic acid formation during vinification and its influence on the formation of 2-aminoacetophenone. *Mitt. Klosterneub. 54*, 43-55. ■