

DOCUMENTO
TECNICO**Maurizio Ugliano
Alessandro Genovese
Luigi Moio***Dipartimento
di Scienze degli Alimenti.
Università degli Studi di Foggia*

L. Moio

IDROLISI DI PRECURSORI D'AROMA GLICOSILATI NEL CORSO DELLA FERMENTAZIONE MALOLATTICA

È stata studiata l'influenza di differenti preparati commerciali di batteri lattici appartenenti alla specie *O. oeni* sulla concentrazione di composti volatili liberi e glicosilati nel corso della fermentazione malolattica. I risultati dimostrano un significativo grado di idrolisi dei composti glicosilati con conseguente rilascio di agliconi odorosi.

Introduzione

La fermentazione malolattica (FML) determina profondi cambiamenti delle caratteristiche chimiche del vino. Tra questi, il più importante è rappresentato dalla trasformazione dell'acido malico in acido lattico, attraverso un processo di decarbossilazione operato da batteri lattici appartenenti, in particolare, alla specie *Oenococcus oeni*. La degradazione dell'acido malico e la contemporanea formazione

di acido lattico, dotato di una sola funzione carbossilica e caratterizzato da una minore K_a , comportano una riduzione dell'acidità del vino, con conseguente modifica dell'equilibrio gustativo.

Numerosi studi hanno inoltre evidenziato importanti cambiamenti delle caratteristiche aromatiche del vino a seguito della FML (Sauvageot e Vivier, 1997; Henick-Kling et al., 1998; Bartowsky et al., 2002). In molti casi, tali cambiamenti sono stati attribuiti alla capacità

dei batteri malolattici di produrre sostanze volatili. In particolare, nei vini sottoposti a FML è stato riscontrato un significativo aumento della concentrazione di composti carbonilici, risultanti dal metabolismo dell'acido citrico e degli zuccheri (Fig. 1). Tra di essi, il diacetile (2,3-butandione), in virtù della sua soglia di percezione relativamente bassa (100 mg/L, Guth 1997), è risultato avere un importante ruolo sensoriale, ed è stato direttamente correlato all'aumento del-



Tab. 1 - Composizione del vino modello*

Ingrediente	Concentrazione**
Etanolo (% v/v)	12,5
Acido tartarico	5,0
Acido L-malico	3,5
Acido acetico	0,6
D-Glucosio	2,0
D-Fruttosio	2,0
NaCl	0,2
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
K ₂ HPO ₄	2,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2
MnSO ₄	0,05
Estratto di lievito	2,0
Estratto glicosidico (mL/L)	12,3

* pH del mezzo: 3,2 o 3,4 (NaOH); mezzo sterilizzato mediante filtrazione a 0,2 µm

** Espressa in g/L se non diversamente specificato

l'aroma di burro frequentemente riscontrato, in particolare nei vini bianchi, al termine della FML (Henick-Kling et al., 1998, Moio et al.; 1993).

Alcuni autori hanno tuttavia riportato modificazioni più complesse a carico dell'aroma dei vini sottoposti a FML, quali ad esempio la diminuzione dell'intensità dei caratteri vegetale e fruttato (Laurent et al., 1994) e l'incremento dell'intensità di descrittori sensoriali del tipo cotto, tostato, caramellato, miele (Henick-Kling et al. 1994 e 1998; Moio e Gerbaux, 1995). Tali modificazioni non appaiono facilmente spiegabili prendendo esclusivamente in considerazione l'accumulo di composti carbonilici durante la FML, mentre i composti volatili ad esse associati sono per lo più ad oggi sconosciuti. Ciononostante, è possibile ipotizzare l'esistenza di alcuni meccanismi potenzialmente implicati nella loro formazione:

- biosintesi di composti odorosamente attivi da parte dei batteri malolattici. Tale meccanismo, già evidenziato per il diacetile, potrebbe portare alla formazione di composti volatili non ancora identificati;

- degradazione di componenti volatili presenti nel vino prima della FML, con formazione di composti dotati

di maggiore o minore attività odorosa, e/o in grado di generare stimoli olfattivi diversi da quelli dei loro precursori;

- liberazione di sostanze odorosamente attive a partire da precursori non volatili.

In relazione a quest'ultimo meccanismo, tra i precursori d'aroma sinora identificati nei vini ottenuti da uve *Vitis vinifera*, particolare importanza è stata attribuita alla classe dei precursori glicosilati. Tali composti sono generalmente presenti sia in forma di glucosidi, che di disaccaridi, questi ultimi caratterizzati dalla presenza di un secondo residuo zuccherino (α -L-arabinofuranosio, β -D-apuiofuranosio, o α -L-rampiranosio) legato alla molecola di glucosio contenente l'aglicone (Williams et al., 1982a; Gunata et al., 1988). Numerosi studi hanno dimostrato che dall'idrolisi di tali costituenti secondari dell'uva si originano composti volatili aventi un importante ruolo nell'espressione del carattere varietale dei vini (Francis et al., 1992, 1994, 1999), da cui l'interesse verso i meccanismi chimici e biochimici in grado di promuovere tali processi di idrolisi nel corso della vinificazione. Recentemente è stata riportata la presenza di enzimi glicosidasi in cellule di batteri lattici appartenenti al genere *O. oeni*

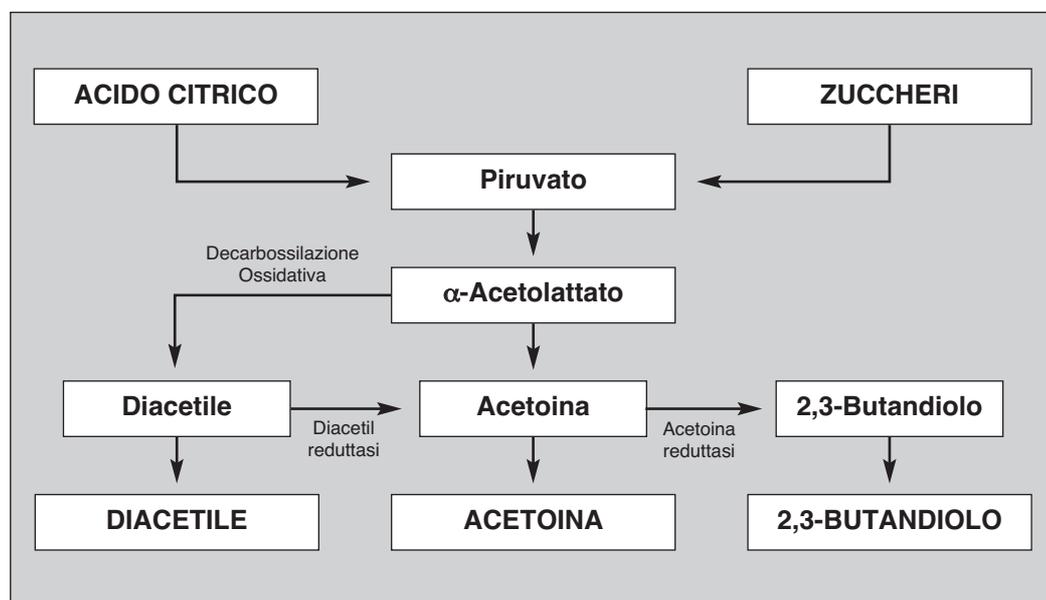
(Guilloux-Benatier et al., 1993; Grimaldi et al., 2000; Boido et al., 2002; Mansfield et al., 2002). Tali evidenze sperimentali hanno quindi suggerito la possibilità che alcune delle modificazioni del carattere aromatico dei vini associate alla FML potessero essere dovute al rilascio di sostanze volatili a partire da precursori glicosilati. Tuttavia, gli studi sopra citati sono stati per lo più condotti in mezzi di crescita sintetica con caratteristiche diverse da quelle normalmente riscontrate nel vino (in particolare riguardo alla concentrazione di etanolo ed al pH), e ricorrendo all'impiego di substrati modello per la valutazione dell'attività enzimatica. Il ruolo di *O. oeni* sull'evoluzione della frazione aromatica glicosilata nel corso del processo di vinificazione risulta quindi tutt'ora poco noto.

Vengono qui riportati i risultati di uno studio sull'idrolisi dei precursori aromatici glicosilati del vino durante FML condotta con quattro distinti starter di *O. oeni* in soluzioni di vino modello, al fine di valutare la possibilità che l'attività metabolica di tali microrganismi possa influenzare la composizione della frazione volatile del vino attraverso la liberazione di composti volatili glicosilati.

Materiali e metodi

Preparazione dell'estratto di precursori aromatici glicosilati. I precursori d'aroma impiegati come substrato nel presente esperimento sono stati estratti da 8 litri di vino Moscato, mediante l'impiego di cartucce C18 per estrazione in fase solida (SPE), secondo la procedura descritta da Williams et al. (1982b). L'estratto ottenuto è stato portato a secco sottovuoto e ridisciolti in 100 mL di acqua. I composti volatili residui sono stati rimossi mediante estrazione con diclorometano (3 x 15 mL).



Fig. 1 - Formazione di composti carbonici in *O. oeni*

Fermentazioni. Quattro differenti colture starter di batteri malolattici sono state impiegate nel presente studio (starter 1-4).

In base alle specifiche del produttore, tutte le colture impiegate erano mono-ceppo, ad esclusione della n. 3, contenente i ceppi Erla e Eysd.

Sono stati condotti due differenti studi.

Studio 1. Le fermentazioni sono state condotte in soluzioni di vino modello contenenti alcuni costituenti di base del vino e diversi nutrienti per lo sviluppo dei batteri, secondo le concentrazioni riportate in Tab. 1. Quattrocento millilitri di vino sintetico sono stati trasferiti in beute sterili in condizioni di sterilità, e inoculati con 15 mg/L di starter preventivamente reidratati in 20 mL di acqua sterile a 35° C per 30 min. Un campione di riferimento è stato preparato aggiungendo 20 mL di acqua sterile a 400 mL di vino sintetico. Il possibile sviluppo di batteri malolattici o di altri microrganismi in questo campione è stato inibito mediante l'aggiunta di 50 mg/L di SO₂. Tutti i campioni sono stati incubati a 25° C fino a completa scomparsa dell'acido malico, determinato per via enzimatica (Roche, Mannheim, Germany).

Studio 2. Sono state adoperate le stesse condizioni descritte per lo studio 1, ad esclusione del pH del mezzo di crescita, che è stato fissato in questo caso a 3,2, al fine di valutare l'influenza di questo fattore sull'attività glicosidica delle quattro colture di *O. oeni*.

Per entrambi gli studi, tutte le fermentazioni sono state condotte in doppio.

Estrazione ed analisi dei composti volatili liberi e legati. Al termine della FML i campioni sono stati centrifugati a 5000 rpm per 10 min. Il supernatante è stato poi filtrato a 0,4 mm. L'analisi dei composti volatili liberi e legati è stata condotta come descritto da Di Stefano (1991), impiegando Rohapect C quale preparato enzimatico ad attività β-glucosidica. Le condizioni relative all'analisi GC e GC-MS sono state descritte precedentemente (Moio et al., 2002).

Analisi statistica. Le differenze tra i valori medi relativi al dosaggio dei composti volatili liberi e legati sono state valutate ad un livello di confidenza del 95% mediante analisi della varianza e LSD test. Le elaborazioni sono state condotte mediante Statgraphics 5.0 Plus PC (Manugistics, Inc.).

Risultati e discussione

Fermentazioni. Per tutti i campioni, la durata della FML è stata compresa tra 14 e 15 gg. Nelle condizioni sperimentali dello studio 1, i valori di pH del mezzo di crescita al termine della FML erano i seguenti (per ciascuna coppia di fermentazioni): 3,61 e 3,64 per lo starter n. 1; 3,58 e 3,61 per lo starter n. 2; 3,56 e 3,56 per lo starter n. 3; 3,60 e 3,54 per lo starter n. 4. Nel caso delle fermentazioni condotte a pH 3,2 (studio2), i valori finali di pH erano: 3,43 e 3,48 per lo starter n. 1; 3,45 e 3,46 per lo starter n. 2; 3,43 e 3,41 per lo starter n. 3; 3,44 e 3,48 per lo starter n.4. In tutti i casi la concentrazione residua di acido malico era al di sotto del limite di rilevabilità del metodo.

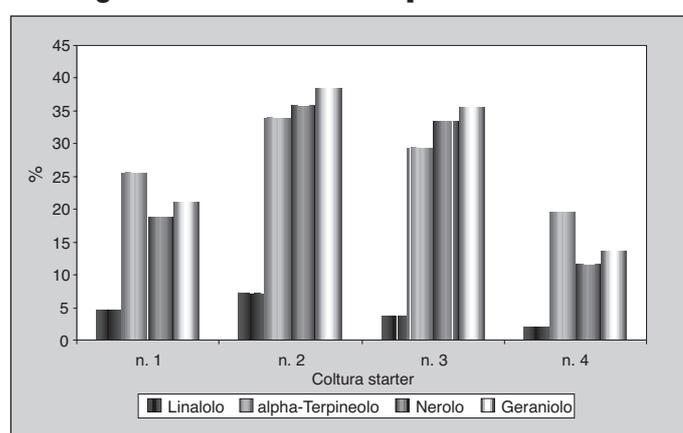
Idrolisi dei precursori d'aroma glicosilati. Studio 1. I risultati dell'analisi GC dei campioni al termine della FML nelle condizioni sperimentali dello studio 1 sono riportate in Tab. 2. I quattro terpenoli principali (linaiolo, α-terpineolo, nerolo e geraniolo) sono stati presi in considerazione per valutare l'idrolisi dei composti glicosilati nel corso della FML. In tutti i campioni è stato osservato un significativo aumento della concentrazione dei terpenoli liberi, accompagnato da una concomitante diminuzione delle relative forme glicoconjugate. Dal confronto dei dati relativi ai campioni sottoposti a FML ed al campione di riferimento non fermentato è possibile osservare che l'idrolisi dei precursori glicosilati ed il conseguente rilascio di agliconi odorosi appaiono strettamente correlati al realizzarsi della FML, dal momento che le concentrazioni di terpenoli liberi riscontrate nel campione non fermentato sono risultate poco rilevanti, e sono probabilmente dovute a un processo di idrolisi acida dei legami glicosidici. Pertanto, le quattro colture di batteri malolattici testate sono risultate in



Tab. 2 - Concentrazione dei quattro principali terpenoli e dei loro precursori nei vini sintetici al termine della FML nelle condizioni sperimentali dello Studio 1

	Concentrazione (mg/L)*									
	Rif.	Liberi				Rif.	Legati			
		N. 1	N. 2	N. 3	N. 4		N. 1	N. 2	N. 3	N. 4
Linalolo	nr	3,3 a	11,7 c	4,6 b	nr	211,7 c	202,1 ba	196,8 a	203,8 a	207,5 cb
α -Terpineolo	2,3 a	13,8 c	21,5 d	15,2 c	11,4 b	47,8 d	35,6 b	31,6 a	33,8 ab	36,5 c
Nerolo	12,5 a	118,5 c	214,9 e	180,4 d	80,7 b	584,5 d	466,2 b	369,0 a	382,6 a	508,8 c
Geraniolo	15,2 a	128,6 c	240,2 e	205,6 d	87,8 b	624,2 e	492,4 c	383,8 a	402,1 b	538,5 d
Totale	30,0 a	264,2 c	488,3 e	405,8 d	185,9 b	1458,2 e	1196,3 c	981,2 a	1022,3 b	1293,3 d

*: lettere differenti (a, b, c, d, e) indicano differenze statisticamente significative per $p < 0,05$ (LSD test).
nr: non rilevato

Fig. 2 - Percentuale di idrolisi dei quattro principali terpenoli associata a ciascuna coltura starter, calcolata come rapporto tra la concentrazione di glicosidi al termine e prima della FML

grado di idrolizzare, in mezzo sintetico, precursori glicosidici di alcoli terpenici estratti dal vino, liberando la frazione volatile legata. Tale comportamento è stato osservato per la prima volta nel corso del presente esperimento. In uno studio simile recentemente condotto da Mansfield et al. (2002), nessuno dei sette ceppi di *O. oeni* testati era risultato in grado di idrolizzare i glucosidi estratti dal vino, benché questi stessi ceppi fossero stati preventivamente selezionati sulla base della loro capacità di idrolizzare un glucoside modello di riferimento. Le differenze di comportamento osservate nel corso di questo studio e di quello qui presentato potrebbero essere dovute all'impiego di diversi substrati di crescita. Ad esempio, la presenza di concentrazioni moderate di etanolo potrebbe aver favorito, nel nostro caso, l'at-

tività β -glucosidasi dei batteri malolattici (Grimaldi et al, 2000).

Le elevate concentrazioni di agliconi riscontrate nei campioni fermentati indicano che *O. oeni* è potenzialmente in grado di influenzare le caratteristiche aromatiche del vino al termine della FML attraverso l'idrolisi dei precursori glicosilati. Ad esempio, la concentrazione del geraniolo è risultata fino ad otto volte superiore alla sua soglia di percezione (30 mg/L; Guth, 1997). Tuttavia, il reale impatto del rilascio di agliconi odorosi sulle caratteristiche aromatiche del vino al termine della FML potrebbe essere influenzato dall'adsorbimento di tali molecole volatili sui polisaccaridi prodotti da *O. oeni* stesso durante la FML, come recentemente riportato da Boido et al. (2002).

I precedenti lavori sull'atti-

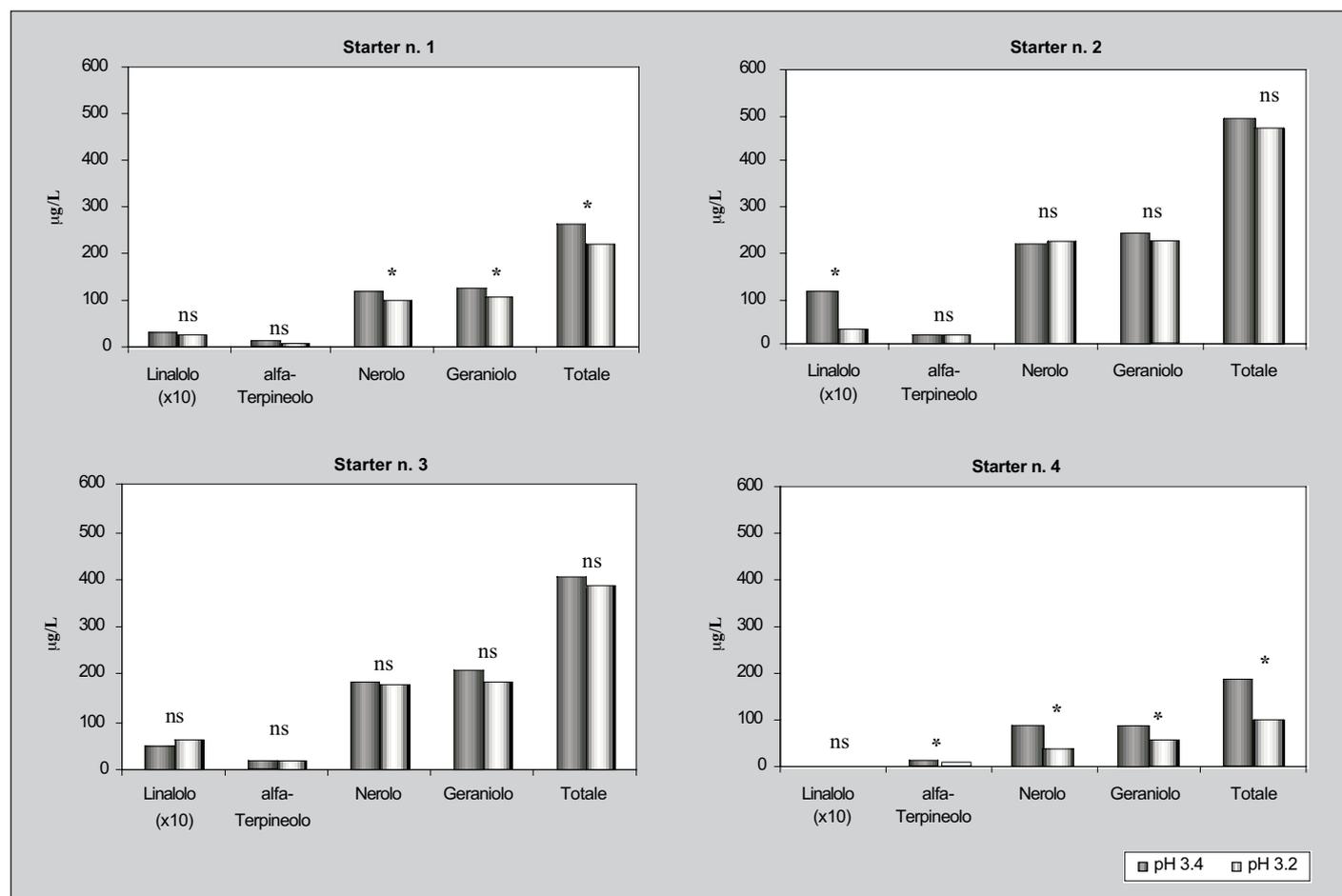
vità glicosidasi di *O. oeni* descrivono questa caratteristica come fortemente legata al ceppo batterico (Grimaldi et al., 2000). In accordo con tali risultati, significative differenze nell'entità dei fenomeni di idrolisi associati a ciascun ceppo sono state da noi osservate. Le due colture caratterizzate dalla più elevata attività idrolitica sono risultate essere le n. 2 e 3, in accordo con i risultati di Grimaldi et al. (2000). In ogni caso, le differenze relative alle concentrazioni di terpenoli riscontrate nei campioni al termine della FML non sono mai state superiori alle tre volte. Tale dato, benché da verificare mediante prove di analisi sensoriale, sembrerebbe suggerire una minore influenza del ceppo batterico sulle possibili modifiche del carattere aromatico del vino dovute all'idrolisi di precursori d'aroma glicosilati durante la FML.

Influenza dell'aglicone

L'influenza della FML sulla concentrazione dei precursori dei quattro terpenoli determinati è risultata largamente variabile in funzione della struttura dell'aglicone (Fig. 2). Nel caso dei glicosidi del linalolo, circa il 2,0-7,0% di quelli inizialmente presenti è stato idrolizzato. Una diminuzione del 19,46-33,9% è stata osservata per i precursori dell' α -terpineolo. Nel caso dei precursori di nerolo e geraniolo, è stata osservato un grado di idrolisi



Fig. 3 - Effetto del pH sulla concentrazione di terpenoli liberati nel corso della FML. Gli asterischi indicano differenze significative per $p < 0,05$ (LSD test); ns: differenza non significativa



variabile rispettivamente dal 11,4% al 35,8% e dal 13,7% al 38,5%. La struttura chimica dei due alcoli primari (nerolo e geraniolo) potrebbe spiegare la maggiore idrolisi osservata per i precursori di questi due composti, poiché il grado di idrolisi enzimatica dei precursori degli alcoli primari è in genere più elevato di quello osservato per gli alcoli terziari come linalolo e α -terpineolo (Gunata et al., 1994). Tuttavia, se il grado di idrolisi dei precursori di ciascun alcol viene valutato in relazione al ceppo batterico impiegato per la FML, appare chiaro che la struttura chimica dell'aglicone non è l'unico fattore in grado di determinare l'efficienza dell'idrolisi (Fig. 2). Infatti, mentre la capacità di idrolizzare i precursori degli alcoli primari è generalmente elevata, quella relativa agli alcoli terziari appare ancora elevata nel caso dell' α -terpi-

neolo, ma relativamente bassa per il linalolo, i cui precursori erano peraltro originariamente presenti in quantità elevate rispetto a quelli dell' α -terpineolo. Poiché il meccanismo di liberazione degli agliconi per via enzimatica avviene mediante un meccanismo sequenziale che richiede la presenza di due differenti enzimi (Gunata et al., 1988), è possibile supporre che i diversi ceppi batterici possiedano *pool* di enzimi glicosidasi differenti per caratteristiche chimiche e compositive, e dunque in grado di determinare un diverso profilo di idrolisi di una data miscela di glicosidi.

Nel corso dello studio 2 è stata valutata l'influenza del pH del mezzo di crescita sull'attività glicosidasi dei quattro preparati commerciali di batteri lattici. A pH 3.2 è stata osservata, per le colture n. 1 e 4., una significativa diminuzione della quantità di

terpenoli rilasciata a partire da precursori glicosidici nel corso della FML (Fig. 3). Tale comportamento potrebbe essere dovuto ad un abbassamento dell'attività degli enzimi β -glucosidasi prodotti dai due ceppi batterici (Grimaldi et al. 2000).

Considerazioni conclusive

I risultati riportati nel presente lavoro dimostrano che preparati commerciali di *O. oeni* comunemente impiegati per la FML possono contribuire all'aumento della complessità aromatica del vino attraverso l'idrolisi dei precursori d'aroma glicosilati. I diversi ceppi valutati sono risultati caratterizzati da una diversa capacità di idrolisi, il che suggerisce l'importanza di ulteriori studi per l'individuazione di ceppi batterici caratterizzati da elevata atti-



vità glicosidica. Attualmente sono in corso diversi esperimenti volti alla valutazione dell'influenza di differenti parametri di interesse enologico sul ruolo dei batteri lattici appartenenti alla specie *O. oeni* nell'espressione del carattere varietale del vino.

Riassunto

La capacità di quattro preparati commerciali di batteri lattici *Oenococcus oeni* di idrolizzare precursori d'aroma glicosilati del vino è stata valutata in un sistema modello contenente precursori estratti da vino Moscato. A pH 3,4 è stata osservata, per tutte le colture, una diminuzione della concentrazione di precursori, accompagnata da un proporzionale aumento dei relativi composti volatili. Quando la fermentazione malolattica è stata condotta a pH 3,2, una diminuzione della capacità idrolitica è stata osservata per i preparati n. 1 e n. 4. Sono state riscontrate significative differenze tra i vari ceppi in relazione alla loro capacità idrolitica, che è risultata dipendere dalla struttura chimica dell'aglicone e da specifiche caratteristiche di ciascun ceppo. Le concentrazioni di composti volatili rilevate nei vini sintetici al termine della fermentazione malolattica suggeriscono che *O. oeni* è in grado di modificare le caratteristiche sensoriali del vino attraverso l'idrolisi dei precursori d'aroma glicosilati.

Summary

The ability of four commercial preparations of *Oenococcus oeni* lactic acid bacteria to hydrolyse wine aroma precursors was evaluated by measuring the concentration of free and bound aroma compounds at the end of malolactic fermentation carried out in model wines containing a mixture of glycosides extracted from Muscat wine. At pH 3,4 there was a decrease in glycosylated compounds matched by a

concomitant increase in free forms in all starter cultures tested. When malolactic fermentation was carried out at pH 3,2 a significant decrease in the ability to hydrolyse aroma precursors was observed for two of the cultures tested. Large differences in the extent of hydrolysis and in the specificity of this activity towards specific aroma precursors were observed, and appeared related to the chemical structure of the aglycon as well as to individual characteristics of each starter culture. The amounts of glycosylated aroma compounds released during malolactic fermentation suggest that *O. oeni* can alter the sensory characteristics of wine through the hydrolysis of aroma precursors.

Si ringraziano L. Paronetto, P. Vagnoli e l'Assessorato all'agricoltura della Regione Campania per la gentile collaborazione.

Bibliografia

- (1) Bartowsky, E. Costello, P.; Henschke, P. (2002). Management of malolactic fermentation - wine flavour manipulation. Aust. NZ Grape-grower Winemaker., 7-8: 10-12.
- (2) Boido, E., Lloret, A., Medina, K., Carrau, F., Della Cassa, E. (2002). Effect of b-glycosidase activity of *Oenococcus oeni* on the glycosylated flavour precursors of Tannat wine during malolactic fermentation. J. Agric. Food Chem., 50: 2344-2349.
- (3) Di Stefano, R. Proposal for a method of sample preparation for the determination of free and glycoside terpenes of grapes and wines. (1991). Bulletin de l'O.I.V., 721-722: 219-223.
- (4) Francis, I. L., Sefton, M. A., Williams, P. J. (1992). Sensory descriptive analysis of hydrolysed precursors fractions from Semillon, Chardonnay and Sauvignon Blanc grape juices. J. Sci. Food Agric., 59: 511-520.
- (5) Francis, I. L., Sefton, M. A., Williams, P. J. (1994).

The sensory effects of pre- or post-fermentation thermal processing on Chardonnay and Semillon wines. Am. J. Enol. Vitic., 45: 243-251.

(6) Francis, I.L.; Kassara, S., Noble, A.C., Williams, P.J. (1999). The contribution of glycoside precursors to Cabernet Sauvignon and Merlot aroma: sensory and compositional studies. In: Chemistry of wine flavour. A.L Waterhouse and S.E Ebeler Eds.; American Chemical Society: Washington, DC. pp 13-30.

(7) Grimaldi, A., McLean, H., Jiranek, V. (2000). Identification and partial characterization of glycosidic activity of commercial strains of the lactic acid bacterium, *Oenococcus oeni*. Am. J. Enol. Vitic., 51 : 362-369.

(8) Guilloux-Benatier, M., Son, H.S., Bouhier, M. Feulliat, M. (1993). Activités enzymatiques: glycosidases et peptidases chez *Leuconostoc oenos* au cours de la croissance bactérienne. Influence des macromolécules des levures. Vitis 32: 51-57.

(9) Gunata, Y. Z., Dugelay, L., Sapis, J.-C., Baumes, R., Bayonove, C. (1994). Role of enzymes in the use of flavour potential from grapes glycosides in winemaking. In: Progress in flavour precursor studies. Proceedings of the international conference. P. Schreier and P. Winterhalter Eds. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL; pp 219-245.

(10) Günata, Z. Y., Bitteur, S., Brillouet, J.-M., Bayonove, C. L., Cordonnier, R. E (1988). Sequential enzymic hydrolysis of potentially aromatic glycosides from grapes. Carbohydr. Res., 184:139-149.

(11) Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wines varieties. J. Agric. Food Chem., 45: 3027-3032.

(12) Henick-Kling, T., Acree, T. E., M. Laurent, S. H., Edinger, W. D. (1994) Modificazioni del gusto indotte dalla fermentazione malolattica. Vignevini 21: 41-47.

(13) Henick-Kling, T., Acree, T. E. (1998). Modifi-

cazioni dell'aroma del vino con la fermentazione malolattica ed uso di colture selezionate negli U.S.A. Vignevini., 25: 44-50.

(14) Laurent, M.H., Henick-Kling, T., Acree, T.E. (1994). Changes in the aroma and odor of Chardonnay wine due to malolactic fermentation. Vitic. Enol. Sci.: 49, 3-10.

(15) Mansfield, A. K., Zoecklein, B. W., Whiton, R. S. (2002). Quantification of glycosidase activity in selected strains of *Brettanomyces bruxellensis* and *Oenococcus oeni*. Am. J. Enol. Vitic., 53: 303-307.

(16) Moio, L., Sclich, P., Issanchou, S., Etievant, P., Feulliat, M. (1993). Description de la typicité aromatique de vin de Bourgogne issus du cépage Cardonnay. J. Int. Vigne Vin, 27 : 179-189.

(17) Moio, L., Gerbaux, V. (1995). Fermentazione malolattica e aroma del vino. Uno studio analitico mediante gas-cromatografia/olfattometria. Atti del 2° Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti. Giardini Naxos (ME).

(18) Moio, L., Di Marzio, L., Genovese, A., Piombino, P., Squillante, E., Castellano, L., Mercurio, V. (2000). I descrittori sensoriali ed i componenti volatili ad elevato impatto olfattivo dell'aroma del vino Fiano Vignevini 29: 115-123

(19) Sauvageot, L., Vivier, P. (1997). Effects of malolactic fermentation on the sensory properties of four Burgundy wines. Am. J. Enol. Vitic., 48:187-192.

(20) Williams, P. J., Strauss, C. R., Wilson, B., Massy-Westropp, R. A. (1982 a). Novel monoterpenes disaccharide glycoside of *Vitis vinifera* grapes and wines. Phytochemistry., 21: 2013-2020.

(21) Williams, P. J., Strauss, C.R., Wilson, B., Massy-Westropp, R. A. (1982 b). Use of C18 reversed-phase liquid chromatography for the isolation of monoterpene glycosides and nor-isoprenoid precursors from grape juice and wines. J. Chromatography, 235: 471-480.

