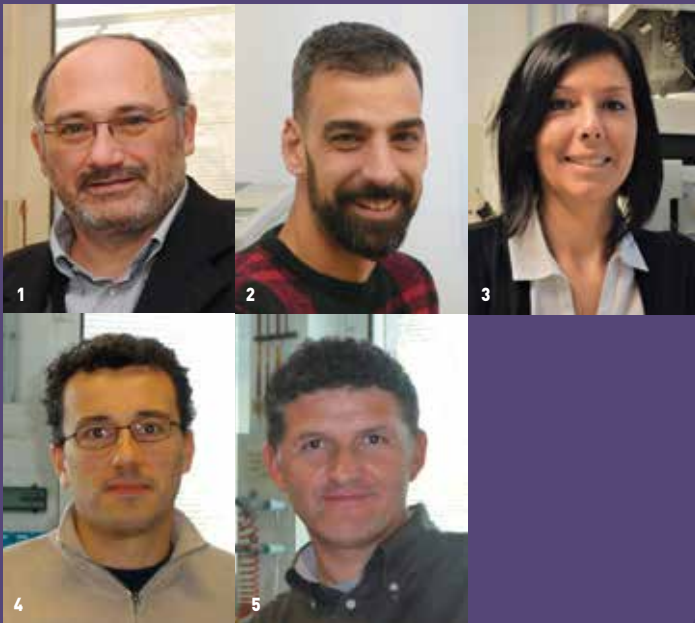


INVECCHIAMENTO ATIPICO DEI BIANCHI EVOLUZIONE DEI PRECUSORI NELLE FRAZIONI DI PRESSATURA

L'invecchiamento atipico è un difetto che si manifesta principalmente nei vini bianchi con la precoce comparsa di off-flavours tipo sapone di marsiglia-ibrido correlati in primo luogo al 2-aminoacetofenone. La causa è legata a fattori non del tutto noti che incidono sulla presenza e/o formazione di alcuni precursori nelle uve e, successivamente, nel processo produttivo. Tali precursori sono maggiori nelle frazioni di prima e, ulteriormente, di seconda pressatura rispetto alle frazioni di sgrondo.



Di
Giorgio Nicolini¹
Tomás Román²
Pietro Azzolini
Tiziana Nardin³
Mario Malacarne⁴
Roberto Larcher⁵

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

INTRODUZIONE

- Il problema del cosiddetto invecchiamento atipico dei vini bianchi - conosciuto anche come UTA (UnTypischen Alterungsnote) nel mondo tedesco o ATA (ATypical/untypical Ageing) in quello di lingua inglese - è noto dagli anni '80 del secolo scorso (Rapp *et al.* 1993).
- Dalla metà degli anni '90 (Christoph *et al.* 1995; Schneider 2013) ne è stata evidenziata la correlazione di segno positivo con la concentrazione di 2-aminoacetofenone (2AAP; **Fig. 1**), molecola

che, notoriamente, è corresponsabile delle note da foxy nelle varietà di *Vitis* americane (Acree *et al.* 1993). L'UTA è un difetto nell'aroma del vino caratterizzato dalla presenza in vini giovani di sentori complessi, da naftalina, ibrido, straccio bagnato, sudore, fiori di acacia, sapone di marsiglia, smalto, cera... mescolati comunque ad altri (Fan *et al.*, 2007), tanto che la concentrazione del solo 2AAP spiegherebbe circa solo un terzo dell'intensità percepita come UTA (Linsenmeier *et al.* 2007).

- Schneider (2013, 2014) ha rivisitato

l'aroma complesso dell'UTA, provando a differenziare al suo interno sostanzialmente due gruppi di descrittori:

- un primo, con sensazioni che ricordano naftalina, detersivo in polvere, sapone, lucido per pavimenti e per mobili, cera antica, gelsomino, fiori di acacia, fiori di limone, biancheria asciutta e alcoli superiori; sensazioni la cui intensità sarebbe favorita da alte concentrazioni di SO₂ libera;
- un secondo gruppo, con sensazioni interferenti da asciugamano bagnato, legno umido, straccio bagnato, resti di

urina... che segnerebbero la transizione verso note più "da riduzione".

- La letteratura ha approfondito lo studio di quali molecole siano all'origine della formazione dell'UTA e tra queste l'acido indolacetico (IAA) è ritenuto il principale precursore, benché non esclusivo; a scatenare la serie di reazioni ossidative che - attraverso vari intermedi, tra cui ad esempio lo scatolo - porta alla formazione del 2AAP è la solforosa (Christoph *et al.* 1998; Hoenicke *et al.* 2002a,b). L'acido ascorbico può invece contribuire significativamente a limitare la formazione di 2AAP (Rapp *et al.*, 1993; Gessner *et al.* 1999; Versini e Lunelli 2002; Rauhut *et al.* 2003; Linsenmeier *et al.* 2007); è peraltro chiaro che non è in grado di eliminare il problema, ma può solo ritardarne la comparsa (Gessner *et al.* 2000).

- L'IAA è già presente nel mosto in quanto importante fitormone vegetale della classe delle auxine e, successivamente, lo troviamo nel vino anche come metabolita prodotto dai lieviti in fermentazione (Rapp *et al.* 1995) dall'aminoacido triptofano (TRP).

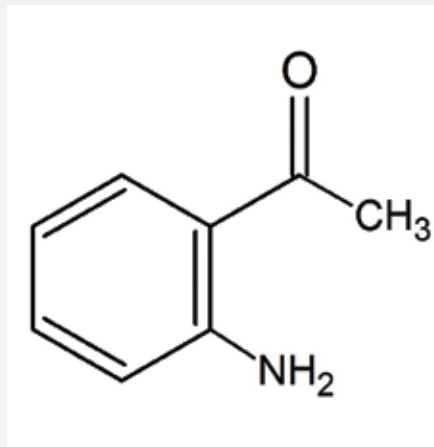
- In un contesto che vede ancora la necessità di dare risposta operativa ai molti dubbi che esistono sui fattori predisponenti al manifestarsi del difetto da invecchiamento atipico, il presente lavoro di scala semi-industriale si è proposto di studiare l'evoluzione in pressatura dei "precursori" - liberi e legati ad aminoacidi - del 2-aminoacetofenone.

MATERIALI E METODI

- Cinque masse di uve Pinot Grigio, 3 di Chardonnay e 2 di Glera, ciascuna di circa 250 kg, sono state raccolte a maturazione tecnologica e conferite alla Cantina Sperimentale e di Microvinificazione del Centro Trasferimento Tecnologico della Fondazione Mach a San Michele all'Adige (TN).

- Previa pigiadiraspatura (Ares 15, OMAC s.r.l., Corridonia, MC), le uve sono state caricate in pressa pneumatica (Willmes GmbH, Lorsch, Germany), lasciate sgrondare e successivamente sottoposte a successivi incrementi di pressione, ciascuno di 0.2 bar fino a 1.6 bar. Il mosto - ottenuto dall'assemblaggio di 3 pressate applicate per 4 minuti ad ogni livello di pressione - è stato rac-

Fig. 1 - Il 2-aminoacetofenone (2AAP), principale responsabile della nota da invecchiamento atipico



colto separatamente, pesato, campionato e analizzato immediatamente in FTIR (WineScan FT 120; FOSS, Hillerød, Danimarca). Previa calibrazione con i metodi ufficiali, sono stati misurati i principali parametri chimico-compositivi di base (°Brix, pH, acidità titolabile, acido tartarico, acido malico, potassio, azoto prontamente assimilabile).

- L'analisi del triptofano e dell'acido indolacetico - sia in forma libera che legata - è stata realizzata su campioni di mosto filtrati a 0.45 µm con cartuccia in politetrafluoroetilene (PTFE) e diluizione 1:5 con una soluzione acqua-metanolo 70:30.

- Le analisi sono state eseguite in cromatografia liquida ad ultra alte prestazioni con un ThermoUltimate™ R3000 UHPLC (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, USA) accoppiato a uno spettrometro di massa ibrido quadrupolo Orbitrap Q-Exactive™ (Thermo Scientific, Bremen, Germania) fornito di sorgente elettrospray riscaldata (HESI-II). L'elaborazione statistica dei dati è stata realizzata con le procedure del pacchetto software STATISTICA v. 8.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK, USA).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Evoluzione della composizione di base

- La resa percentuale complessiva media delle uve in mosto (p/p) alle condizioni di pressatura applicate è stata del 84.5 ± 2.4 % p/p (Fig. 2). Come atteso, la quantità maggiore di mosto è stata

ottenuta direttamente già dallo sgrondo del pigiadiraspato; tale frazione rappresenta infatti mediamente quasi il 57% dell'intera quantità di mosto ottenuta. L'evoluzione media degli zuccheri sembra crescere fino a 0.4 bar per poi calare, con variazioni tra le diverse frazioni di circa il 7%.

- Tartarico, malico, potassio e pH (Fig. 3, 4) hanno mostrato valori via-via maggiori nelle frazioni ottenute a pressioni crescenti; rispetto allo sgrondo, nel caso delle ultime frazioni gli incrementi registrati sono stati del 49% per il tartarico e del 96% per il malico, mentre il potassio è quasi triplicato e il pH è incrementato di quasi 1.5 unità.

- L'acidità titolabile media ha subito una flessione di poco meno di 1 g/L fino a 0.6 bar per poi risalire nelle frazioni successive - che rappresentano ca. il 10% dell'intero mosto ottenuto - avvicinandosi ai livelli della frazione di sgrondo.

- Quanto all'azoto prontamente assimilabile (APA; Fig. 4), sulla base del dato medio si evidenzia un incremento di ca. 2.7 volte nell'ultima frazione rispetto allo sgrondo ma, curiosamente, tale incremento sembra interessare più il Pinot grigio che non le altre due varietà (dati non mostrati).

- Peraltro, la ricchezza in APA del Pinot grigio, tendenzialmente maggiore rispetto allo Chardonnay era già stata messa in luce (Nicolini *et al.* 2004), in particolare rispetto a una campionatura triennale di 52 campioni industriali di Glera (media \pm d.s.: 113 ± 35 mg/L; min.-max: 37-176 mg/L) realizzata da Versini, Dalla Serra e Nicolini per conto del Consorzio del Prosecco tra il 1998 e il 2000.

Il triptofano

- L'evoluzione della concentrazione di triptofano (TRP) nelle singole frazioni di pressatura di tutte le uve analizzate è riportata in Fig. 5; mediamente il suo andamento è crescente e l'ultima frazione ha una concentrazione maggiore del 55.4% rispetto alla frazione di sgrondo; peraltro, nel caso delle uve Chardonnay (dato non mostrato) sembrerebbe apparire una tendenza anche a una riduzione della concentrazione nelle ultime frazioni.

- In Fig. 6 è invece riportata la concentrazione di TRP misurata sul mosto torbido complessivamente ottenuto dalla pressatura fino a 1.6 bar. Benché non sia

Fig. 2 - Evoluzione della resa dell'uva in mosto [% p/p] e della concentrazione zuccherina nelle singole frazioni ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. (Valori medi, n=10)

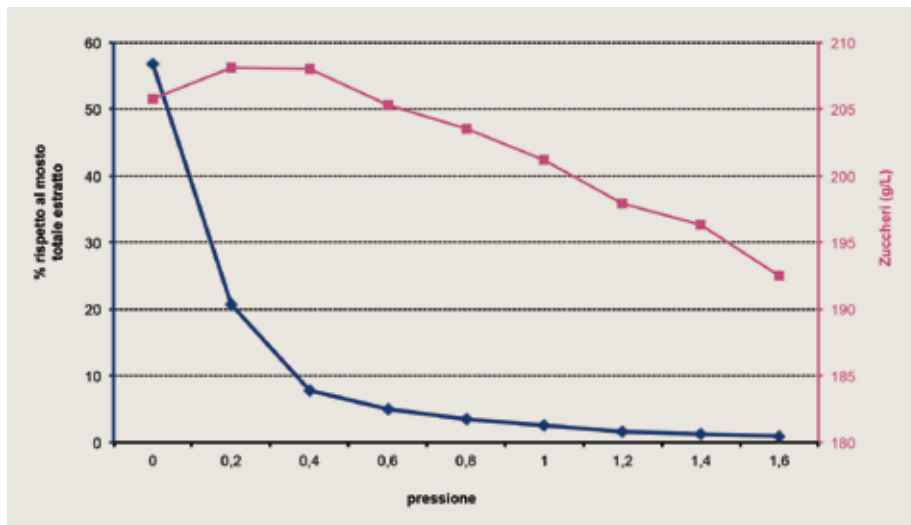


Fig. 3 - Evoluzione della concentrazione di tartarico, malico e potassio nelle singole frazioni di mosto ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. (Valori medi, n=10)

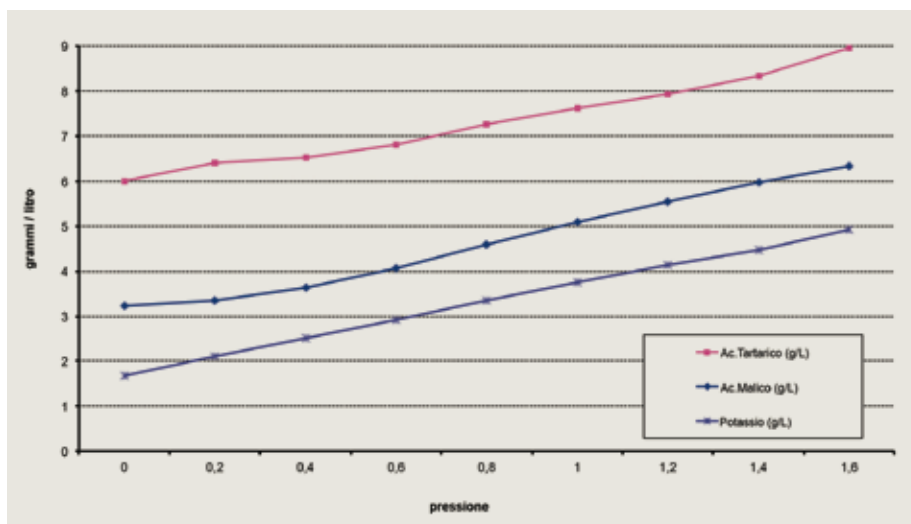
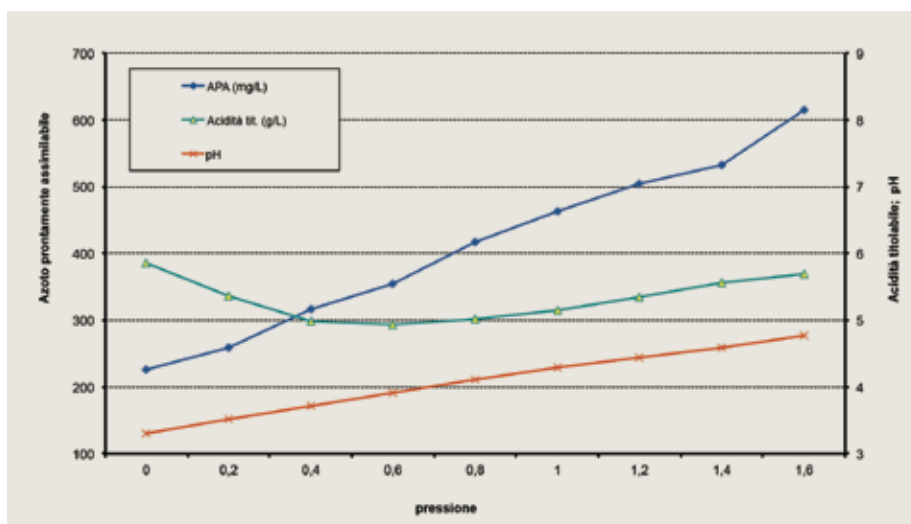


Fig. 4 - Evoluzione dell'azoto prontamente assimilabile (APA), dell'acidità titolabile e del pH nelle singole frazioni di mosto ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. (Valori medi, n=10)



possibile ricavare dati di validità statistica per varietà, sembrerebbe esistere una "classificazione" di concentrazione di triptofano con Glera (media 12.6 mg/L) > Chardonnay (9.9 mg/L) > Pinot grigio (4.0 mg/L).

● Tale classificazione è sostanzialmente inversa di quella attesa, secondo cui Pinot grigio e Chardonnay sarebbero varietà a più elevata concentrazione aminoacidica complessiva rispetto a Glera. Questa situazione meriterà ulteriori conferme.

Acido indolacetico libero

● Il mosto torbido complessivamente ottenuto dalla pressatura fino a 1.6 bar era a concentrazioni di indolacetico libero certamente più basse rispetto a quelle - molto variabili - misurate in campioni di altre annate (Trenti 2016), variando tra 0.7 e 1.6 µg/L circa nei tre Chardonnay ed essendo inoltre a livelli misurabili in un solo Pinot grigio (0.8 µg/L) e in nessuno dei due campioni di Glera.

● Probabilmente, proprio in conseguenza dei bassi livelli complessivi non è emersa alcuna chiara evoluzione della concentrazione di questo acido nelle frazioni di pressatura singolarmente analizzate.

Acido indolacetico legato

● Dei composti dell'IAA in forma legata potenzialmente misurabili con la metodica, nei campioni di questa sperimentazione - diversamente da quanto in nostre altre esperienze - l'IAA legato all'alanina non è stato trovato a concentrazioni misurabili; sono invece stati misurati sia l'indolacetico metilato (me-IAA; Fig. 7) che quello legato all'aspartato (IAA-asp; Fig. 8).

● Pur con qualche differenza tra varietà, in particolare per il me-IAA sembra esserci nelle ultime frazioni un avvicinamento all'esaurimento delle estrazioni. In termini complessivi (Fig. 9), non sembrano esserci - limitatamente ai pochi campioni disponibili - particolari differenze di concentrazione tra le varietà per l'IAA-asp. Qualche differenza è invece forse evidenziabile per il me-IAA, ma in particolare per il rapporto me-IAA/IAA-asp; questo è maggiore per Chardonnay e Glera e prossimo all'unità per Pinot grigio. Naturalmente, tali ipotizza-

Fig. 5 - Evoluzione della concentrazione del triptofano (TRP) misurata nelle singole frazioni di mosto ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. Si riportano i valori medi per varietà (GLE = Glera; CH = Chardonnay; PG = Pinot grigio)

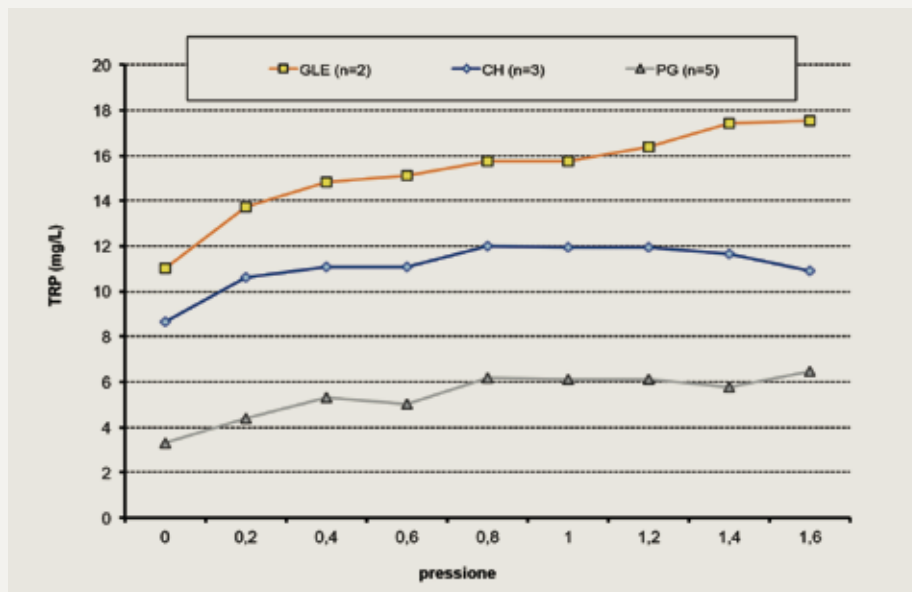


Fig. 6 - Concentrazione di triptofano (TRP) misurata sull'intero mosto ottenuto dalla pressatura, distinta per partita di uva monovarietale (CH = Chardonnay; GLE = Glera; PG = Pinot grigio)

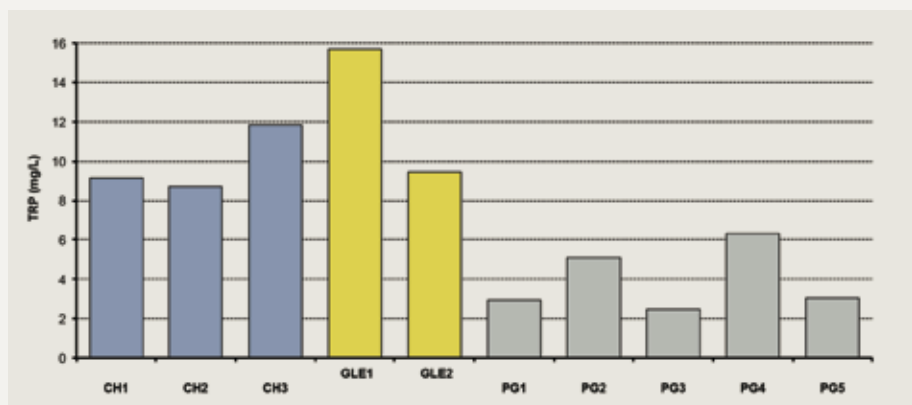
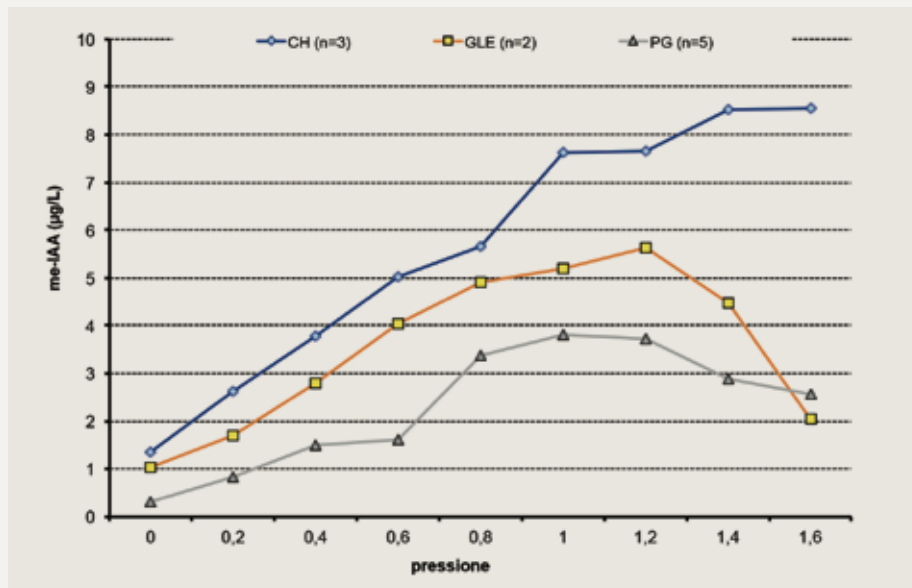


Fig. 7 - Evoluzione della concentrazione dell'acido indolacetico metilato (me-IAA) misurata nelle singole frazioni di mosto ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. Si riportano i valori medi per varietà (CH = Chardonnay; GLE = Glera; PG = Pinot grigio)



te differenze varietali potranno trovare conferma solo attraverso un più articolato e nutrito piano di campionamento.

Frazionamento industriale

- Il frazionamento fin qui descritto - ottenuto da condizioni di pressatura che avevano garantito una resa media del 75% v/p - va ricondotto a quanto industrialmente realizzabile nella pratica. Si sono quindi accorpate le diverse frazioni tra loro e, specificatamente:
 - si è mantenuta la frazione di "sgondo" corrispondente a 0 bar, da cui si era ottenuto mediamente circa il 56 % dell'intero mosto;
 - si sono accorpate le frazioni da 0.2 fino a 0.6 bar, considerate prossime a quelle di "prima pressatura" industriale, visto che a questo livello di pressione era stato estratto mediamente un ulteriore 34 % circa, raggiungendo assieme allo sgondo il 90 % del mosto totale;
 - sono state accorpate le frazioni da 0.8 fino a 1.6 bar, considerandole come di "seconda pressatura" industriale, rappresentative dell'ultimo 10 % di mosto. La concentrazione delle molecole analizzate è riportata in **Fig. 10**, distintamente per le 3 frazioni di pressatura "industriale".
- Risulta evidente come l'applicazione di maggiori pressioni e cicli di pressatura comporti, nei pressati rispetto agli sgrondi, un aumento della concentrazione delle varie molecole; le ampie deviazioni standard indicano comunque l'esistenza di una rilevante variabilità tra le 10 partite di uve utilizzate, diverse per origine varietale e geografica.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

- Il lavoro ha interessato le varietà bianche Chardonnay, Pinot grigio e Glera che, secondo alcuni enologi delle aree dove sono state raccolte le uve, sarebbero soggette a manifestare note riconducibili al cosiddetto "invecchiamento atipico" con una frequenza tendenzialmente maggiore rispetto ad altre.
- Ci si è soffermati esclusivamente sulla variabilità inducibile dalle condizioni di pressatura, focalizzandosi sulla concentrazione di alcune delle molecole che, po-

Fig. 8 - Evoluzione della concentrazione dell'acido indolacetico legato all'aspartato [IAA-asp] misurata nelle singole frazioni di mosto ottenute alle condizioni di pressione (bar) crescente applicate. Si riportano i valori medi per varietà (CH = Chardonnay; GLE = Glera; PG = Pinot grigio)

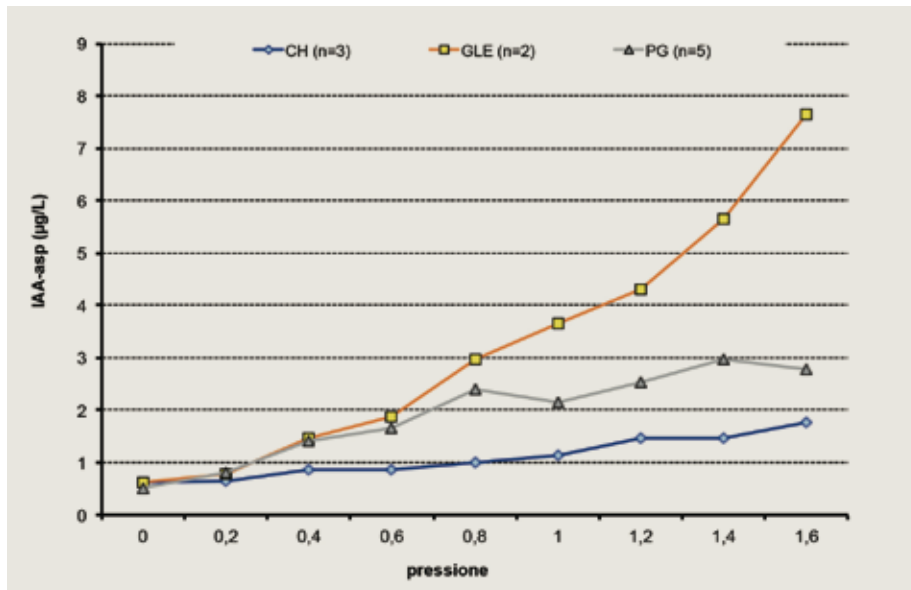


Fig. 9 - Acido indolacetico legato misurato nel mosto, riportato distintamente per partita di uva monovarietale (CH = Chardonnay; GLE = Glera; PG = Pinot grigio)

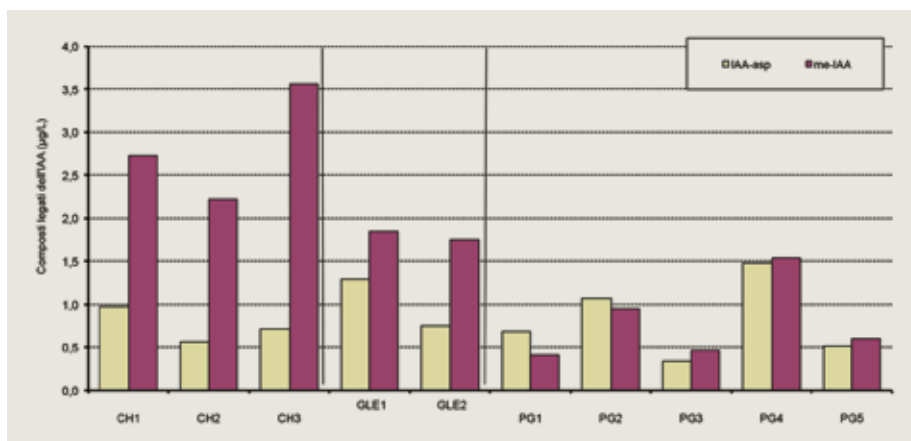
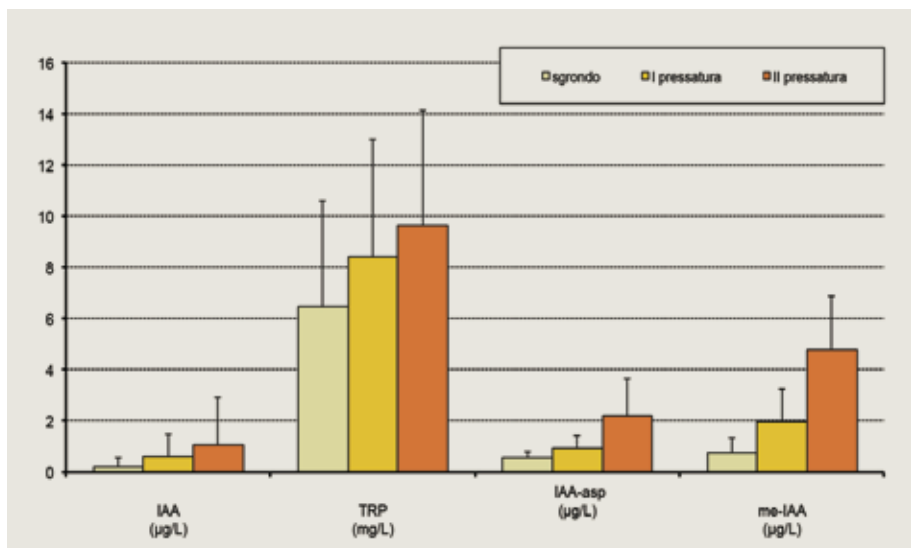


Fig. 10 - Concentrazione (media + dev.st.; N=10) delle molecole potenzialmente coinvolte nella formazione del 2-aminoacetofenone presenti nei mosti delle 3 frazioni di pressatura "industriale"



enzialmente, potrebbero essere coinvolte nella genesi del 2-aminoacetofenone, il principale composto ritenuto responsabile di tale difetto olfattivo.

- Com'è noto, sulla formazione di 2-aminoacetofenone incidono, dall'ingresso delle uve in cantina, sia fattori chimico-compositivi (ad esempio, la presenza di molecole antiossidanti quali i tannini) sia opzioni tecnologiche (ad esempio, l'apporto di antiossidanti esogeni, nonché le modalità e il momento in cui questo intervento viene realizzato).

- Le osservazioni sperimentali riportate in questo lavoro indicano chiaramente un incremento dei precursori del 2-aminoacetofenone con l'aumentare delle pressioni e cicli di pressatura "industriale"; tuttavia, causa i sopracitati vari fattori incidenti, non è possibile garantire che gli incrementi osservati si traducano automaticamente in maggiori note da invecchiamento atipico.

- Indiscutibilmente però, almeno in termini di pura disponibilità di precursori, i mosti di pressatura sono da considerare come potenzialmente più a rischio. Inoltre, quanto da noi osservato sembrerebbe suffragare l'esistenza di potenziali differenze varietali, meritevoli di ulteriori approfondimenti.

SUMMARY

Atypical ageing: course of precursors during pressing

- Tryptophan, indole-3-acetic acid, N-(3-indolylacetyl)-L-alanine, N-(3-indolylacetyl)-DL-aspartic acid and methyl-indole-3-acetate, all potential precursors of 2-aminoacetophenone, were measured in Chardonnay (n=3), Pinot gris (5) and Glera (2) juices collected at 0.2 bar steps during grape pressing from free-run up to 1.6 bar.

- A UHPLC system coupled with a Q-Exactive® hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometer equipped with heated electrospray ionization interface was used. Press fractions are richer in precursors than free-run. A remarkable variability was observed between varietal juices. ■

Gli autori ringraziano CaVit s.c. e Collis Veneto Group per il supporto economico alla sperimentazione.

