

TIOLI VARIETALI: COME MASSIMIZZARLI DAL VIGNETO ALLA BOTTIGLIA

A cura dell'Ufficio Tecnico di Tebaldi Srl

Richiamo sugli aromi dei vini

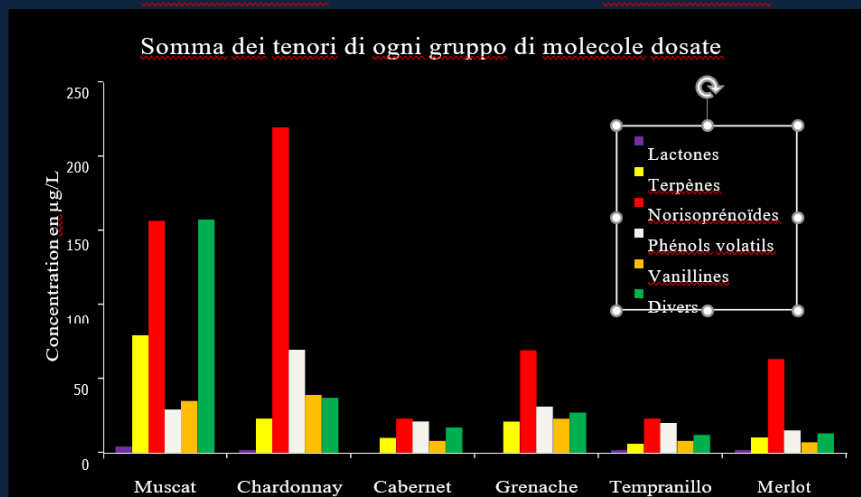
Aromi primari dell'uva: questa famiglia include quei composti considerati "aromi varietali" presenti in forma volatile, quindi percepibili dal punto di vista organolettico. Queste molecole sono presenti nell'uva e possono essere presenti nella buccia e/o nella polpa. Come esempio si cita l'IBMP (2-Metossi-3-Isobutil Pirazina) che esprime aromi di peperone verde in alcune varietà quali il Cabernet Sauvignon ed il Sauvignon Blanc quando vendemmiate non a piena maturità. Un'altra famiglia di aromi primari è quella dei terpeni. Questi composti volatili sono presenti in alcune varietà come i Moscati, i Gewurztraminer e caratterizzano il profilo aromatico varietale esprimendo aromi quali: fiore d'arancio, petalo di rosa, litchi ecc. I terpeni sono prevalentemente presenti nell'uva in forma di precursori glicosilati.

Tra gli aromi primari sono inclusi anche i composti C-6 (a sei atomi di C) quali l'esanolo e l'esenale che presentano caratteristiche aromatiche "erbacee/vegetali".

Aromi secondari fermentativi (fermentazione alcolica e fermentazione malolattica).

Questi aromi vengono biosintetizzati dal lievito o dai batteri durante le fermentazioni alcolica (FA) e malolattica (FML) e sono rappresentati prevalentemente da esteri ed alcoli. Composti quali i tioli varietali, i terpeni ed i nor-isoprenoidi, vengono liberati dai loro precursori non volatili nel corso della FA da parte di enzimi presenti nel lievito.

Variabilità delle quantità di precursori aromatici dell'uva secondo la varietà



Sources: Hernandez-Orte et coll. 2008. WAC 2008, « Aroma compounds released from glycosidic precursors present in vine leaves from spanish cultivars »

Fig. 1 - La figura riporta le concentrazioni delle sostanze aromatiche raggruppate per famiglia ritrovate in alcune varietà bianche e rosse. Si nota che la varietà Moscato è particolarmente ricca in terpeni mentre le quantità più elevate di nor-isoprenoidi sono state ritrovate nello Chardonnay. Alcune famiglie di composti volatili si ritrovano nell'uva prevalentemente in forma di precursori. Nella figura qui sotto è riportato l'esempio dei precursori glicosilati, legati cioè ad una o due molecole di glucosio. In questa forma queste molecole non sono volatili, è necessario l'intervento dell'enzima glicosilasi al fine di rompere il legame tra la molecola volatile (aglicone) e la "zavorra" glucosio e di conseguenza liberarle.

Ruolo dei precursori aromatici : l'esempio dei precursori glicosilati

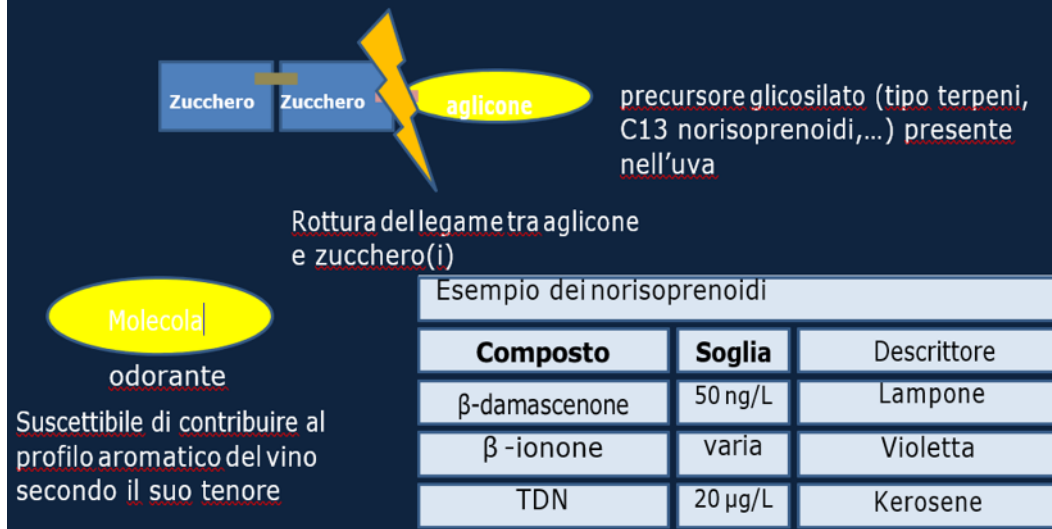


Fig. 2 - Nella figura vengono riportati alcuni esempi di composti volatili appartenenti alla famiglia dei norisoprenoidi, con a fianco i descrittori più comunemente utilizzati per ogni aroma. Da ricordare che in funzione del tipo di vino (bianco o rosso) e della matrice (pH ecc.) i descrittori possono variare in modo molto importante.

Aromi terziari (legati alla conservazione e all'invecchiamento del vino). Questa famiglia include:

- Aromi dal legno (barrique, botte e alternativi tipo chips)
- Aromi provenienti dall'affinamento sulle fecce di lievito
- Aromi di evoluzione ossidativa (aromi che si sviluppano nel corso dell'affinamento e della conservazione)

Le principali classi di composti aromatici riconosciute come caratterizzanti il profilo aromatico dei vini sono le seguenti:

1. alcoli
2. esteri
3. nor-isoprenoidi
4. terpeni
5. tioli (R-SH)

L'obiettivo di questa newsletter è di presentare i tioli varietali e di fare una panoramica delle evidenze scientifiche a riguardo della massimizzazione della loro concentrazione dalla vigna alla bottiglia.

Tioli varietali: natura, nomenclatura

Un gruppo di composti comunemente chiamati "tioli varietali" è di grande interesse per la qualità organolettica dei vini prodotti da varietà quali il Sauvignon Blanc ed il Colombard.

Nomenclatura

In base alla nomenclatura internazionale (IUPAC) il prefisso sulfidrilico identifica il gruppo funzionale - SH. I composti chimici portanti questo gruppo funzionale sono definiti "tioli" o "mercaptani". Dal punto di vista chimico si tratta di sinonimi. Nel gergo enologico si definiscono "mercaptani" i composti volatili responsabili del difetto cosiddetto di "riduzione" del vino. Quando si parla di tioli, si associa questo termine ad aromi considerati positivi e responsabili del carattere varietale dei vini prodotti dalle varietà citate qui sopra. Per quanto riguarda invece, il termine «tioli varietali» si riferisce principalmente alle 3 molecole qui sotto riportate:

Tioli varietali: strutture chimiche e descrittori sensoriali

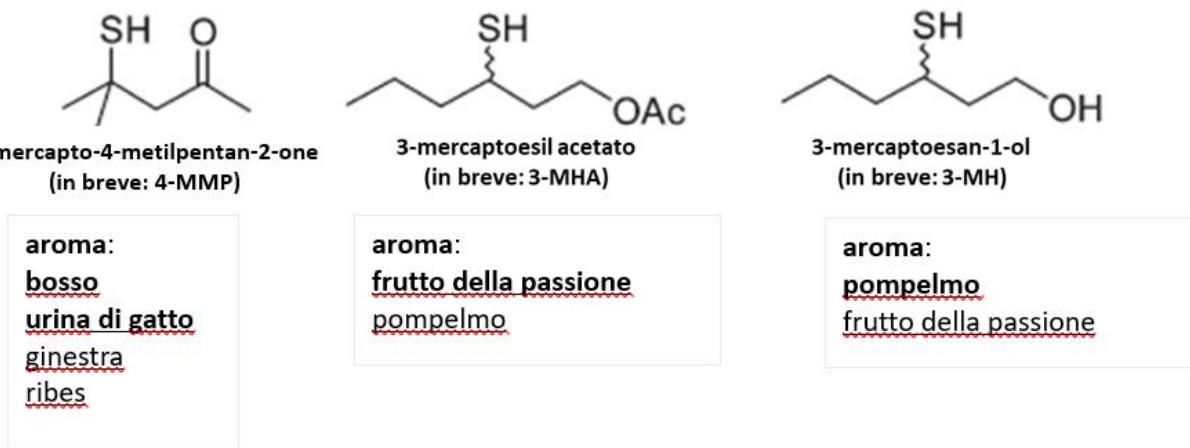


Fig. 3 - In funzione della concentrazione e della matrice (vino bianco, rosato o rosso) l'aroma percepito può variare. In grassetto sono riportati i descrittori sensoriali più comunemente riportati in letteratura.

Tioli varietali: soglie, concentrazioni

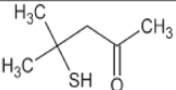
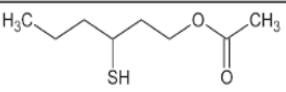
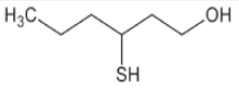
ORIGINS	NUMBERS	MOLECULES	NAMES	ODORS	PERCEPTION THRESHOLDS IN MODEL SOLUTION (ng/L)	REFERENCES	CONCENTRATION RANGE REPORTED IN LITERATURE (ng/L)
	<u>1</u>		4-methyl-4-mercaptopentan-2-one (4MMP)	Box-tree, blackcurrant bud	0.8	2,3c,6b	until 400
	<u>2</u>		3-mercaptohexyl acetate (3MHA)	Box-tree	4.2	in racemic mixture 6b,7a	until 2500
	<u>3</u>		3-mercaptohexan-1-ol (3MH)	Grape fruit, passion fruit	60	in racemic mixture 6b,7b	until 19000

Fig. 4 - Troveremo le soglie di percezione dei tre tioli varietali ed i limiti massimi di concentrazione che sono stati individuati nei vini. Da notare che la soglia del 4MMP è una delle soglie più basse riportate in letteratura scientifica per le sostanze volatili responsabili di aromi del vino. Come esempio esplicativo, le soglie di percezione sensoriale dei tre tioli varietali riportati in figura nell'intervallo 0,8-60,0 ng/L si possono immaginare come l'aggiunta di qualche goccia in una piscina olimpionica!

Un po' di storia

4-MMP

1981 Prima evidenza del contributo di 4MMP alla percezione di un vino aromatico di Sauvignon Blanc del Sud Africa (Du Plessis e Augustyn). Nello studio si è evidenziato che l'aggiunta di 4MMP a vini neutri induce un forte aroma di guava. Inoltre, il trattamento con CuSO₄, che reagisce legando il gruppo funzionale sulfidrilico, diminuisce l'intensità di guava (frutto della passione).

1991 4MMP fu identificato in un Sauvignon Blanc francese (Darriet et al.).

1997 4MMP fu identificato in vini Scheurebe (Riesling x varietà selvatica sconosciuta) (Guth).

2000 4MMP fu identificato in vini di Colombard, Petit Manseng, Gewürztraminer, Riesling, Muscat (Tominaga e Dubourdieu).

2004 4MMP fu identificato in Maccabéo (Escudero et al.).

4MMP mostra caratteristiche note di bosso, ribes e urina di gatto (in funzione di concentrazione e matrice di vino). Le concentrazioni più elevate furono trovate in vini Sauvignon Blanc della Nuova Zelanda.

3-MH e 3-MHA

3-Mercaptoesanolo (3MH) e il suo **acetato (3MHA)** sono stati identificati non solamente in vari vini bianchi ma anche in **rossi** e in vini **rosé** della Provenza (Masson e Schneider) e di Bordeaux (Murat et al.)

3MH è un composto chiave nella percezione aromatica di vini rosé spagnoli "top-ranked" da **Grenache**. (Ferreira et al.)

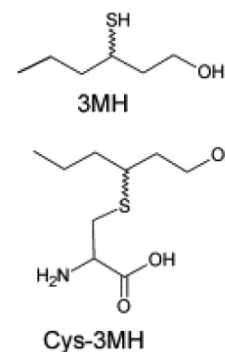
Precursori dei tioli varietali: identità, localizzazione nella bacca, influenza di *Botrytis cinerea*

Identità. I precursori dei tioli varietali sono stati identificati in forma cisteinilata, legati cioè ad una cisteina (vedi figura qui sotto):

1. S-3-(esan-1-ol)-L-cisteina (Cys3MH)
2. S-4-(4-metilpentan-2-one)-L-cisteina (Cys4MMP)

Questo precursore è stato identificato nelle seguenti uve:

- Sauvignon Blanc
- Merlot
- Cabernet Sauvignon
- Sémillon
- Petit et le Gros Manseng
- Riesling
- Melon B (Muscato)
- Gewürztraminer



I tioli vengono evidenziati anche in una seconda forma La seconda forma glutationilata legati in questo caso al glutatione, GSH):

1. S-3-(esan-1-ol)-glutatione (G3MH),
2. S-4-(4-metilpentan-2-one)-glutatione (G4MMP)

Questo precursore è stato identificato nelle seguenti uve:

- Sauvignon Blanc (mosto, Peyrot des Gachons et al. 2002)
- Gewurztraminer
- Riesling (Role et al. 2010)
- Melon B (Role et al. 2010)
- Chardonnay (Capone et al. 2010)
- Pinon Grigio (Capone et al. 2010)

Localizzazione dei precursori di «tioli varietali»

Localizzazione nella bacca

Per entrambe le varietà Sauvignon e Melon B, il precursore Cist3MH ha una localizzazione preferenziale nella buccia, invece il precursore Cist4MMP è quasi egualmente distribuito tra la buccia e la polpa. Questi sono i risultati che escono da studi condotti in Francia su Sauvignon Blanc, in vigneti di Bordeaux (Peyrot des Gachons) e su Melon B e Sauvignon, nella valle della Loira (Role et al.).

Biogenesi dei tioli varietali

I tioli varietali sono rilasciati nel vino durante la fermentazione alcolica dai precursori inodore illustrati precedentemente. E' in questa forma che i precursori sono presenti nelle uve.

Biogenesi di 4MMP e 3MH. Meccanismo 1:

I Tioli varietali contenuti nei vini sono generati dal metabolismo del lievito

La biogenesi coinvolge il rilascio di 3MH e 4MMP dai loro rispettivi precursori cisteinilati e glutationilati attraverso l'attività β-liasi (un enzima presente nel lievito) che scinde il legame C-S liberando così il composto volatile.

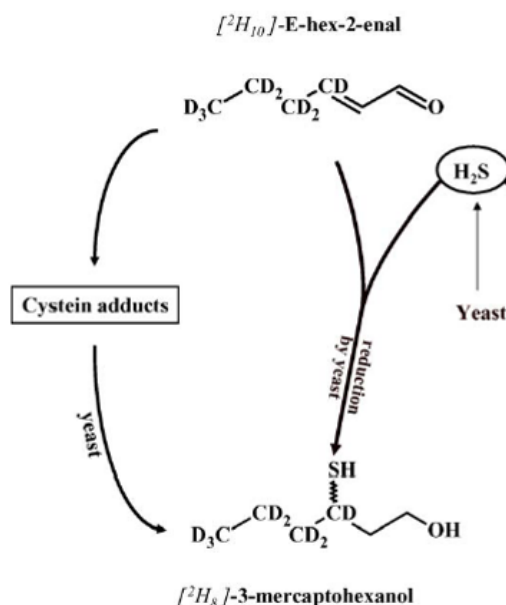
Biogenesi di 3MH. Meccanismo 2:

È stato evidenziato che la raccolta meccanica produce vini più ricchi in tioli varietali.

Il 3MH può essere formato **per via chimica** a partire da esenolo (un alcool a 6 atomi di carbonio) ed esenale (un'aldeide a 6 atomi di carbonio). Questi composti sono presenti nella buccia dell'uva e sono formati a partire da acidi grassi polinsaturi presenti nelle membrane quando le cellule della buccia sono danneggiate da infezioni fungine, raccolta meccanica o macerazione pellicolare in cantina.

La figura sotto sintetizza il meccanismo chimico implicato nella sintesi del 3MH. La reazione prevede l'intervento dell'acido solfidrico (H_2S) che si forma nel corso della fermentazione alcolica.

R. Schneider et al. / *Analytica Chimica Acta* 563 (2006) 58–64



Biogenesi del 3MHA. Meccanismo 3:

Il **3MHA** (3-mercapto-esil acetato) risulta dall'acetilazione di 3MH da parte dell'acetil transferasi codificata dal gene ATF1 del lievito (Swiegers e Pretorius).

Precursori dei tioli varietali dell'acino d'uva e impatto delle pratiche colturali

Fattori che influenzano I livelli dei precursori di "tioli varietali" nel vino:

1. Lo stato idrico della vite
2. Fertilizzazione azotata e addizione di S
3. Data della vendemmia
4. Effetto dell'annata

Normalmente l'accumulo dei precursori dei tioli varietali avviene verso la fine della maturazione. L'effetto della surmaturazione (vendemmia tardiva) ha dimostrato di aumentare la concentrazione di Cyst-3MH in uve di Sauvignon e Semillon fino a sette volte in otto giorni!

Lo stesso effetto non è stato dimostrato in uve della varietà Melon B. L'effetto varia comunque in base alla localizzazione del vigneto (dati disponibili per Bordeaux, Sancerre e Touraine). In generale I dati disponibili in letteratura scientifica suggeriscono una vendemmia all'inizio della surmaturazione per massimizzare I tioli.

Ruolo di B. cinerea

Lo sviluppo di B. botrytis cinerea verso la "muffa nobile" ha un significativo impatto positivo sul contenuto di Cist3MH. Incrementi nelle concentrazioni di Cist3MH fino a 126 e 82 volte sono stati riportati per Sauvignon e Semillon rispettivamente nella denominazione Sauternes.

Ruolo dello stress idrico

Uno stress idrico moderato conduce a livelli elevati di Cist3MH, d'altra parte, un deficit idrico leggero contribuisce ad incrementare la concentrazione di Cist4MMP (Choné 2001)

Precursori di tioli varietali e pratiche colturali

Fertilizzazione Azotata: all'aumentare della disponibilità, aumenta la quantità di precursori cisteinilati (Cist3MH e Cist4MMP) nel Sauvignon (Choné et al.). Fertilizzazione Azotata + zolfo elementare (10 kg/ha di N e 5 kg/ha di S) incrementa le concentrazioni di 4MMP, 3MH e 3MHA (Lacroux et al.). L'associazione urea + zolfo elementare incrementa la concentrazione di "tioli varietali" nei vini

Precursori di tioli varietali e pratiche colturali: N & S (azoto e zolfo)

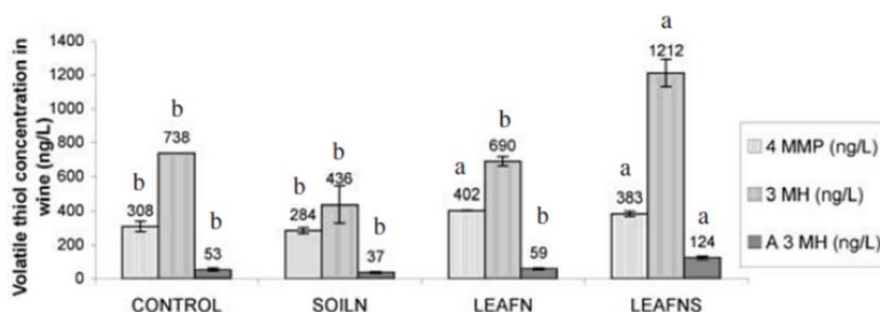


Figure 4 - Volatile thiol concentrations in wines produced by small scale vinification: comparison of leaf N supplemented treatment, leaf N + S supplemented treatment, soil N supplemented treatments and control

Influenza della vendemmia meccanica

Kilmartin ha dimostrato che in vini sperimentali fatti da uve raccolte manualmente si ottengono concentrazioni da 5 a 10 volte inferiori di tioli rispetto a vini prodotti da uve vendemmate meccanicamente.

Tioli varietali durante la vinificazione

Influenza di operazioni di prefermentazione: Il contatto del mosto con la buccia in operazioni di macerazione pellicolare corta (fino a 32 ore) risulta in un incremento di precursori cisteinilati. Il risultato è dovuto alla localizzazione prevalente dei precursori nella buccia dell'acino.

Influenza dell'ossidazione: Ipotesi: ossigeno è deleterio per la ritenzione dei tioli varietali. Condizioni stringenti per la protezione contro l'ossidazione sono sempre più frequentemente usate quali la vendemmia notturna, la solfitazione precoce, il prima possibile quando la vendemmia è meccanica o alla pigiatura in caso di vendemmia manuale, abbondanti addizioni di ghiaccio secco dalla vigna fino in cantina, inertizzazione durante la pigiatura. In realtà non ci sono argomenti scientifici disponibili per supportare queste osservazioni.

La struttura chimica dei precursori cisteinilati e glutationilati in uve e mosto non possiede gruppi funzionali -SH liberi per cui questi precursori non sono ossidabili! Quindi, i precursori presenti nel mosto al momento dell'estrazione non possono essere ossidati

Diventa invece di capitale importanza proteggere il vino dall'ossigeno alla fine della fermentazione alcolica per evitare ogni reazione di ossidazione dei tioli varietali

Impatto delle condizioni della fermentazione alcolica ed influenza del ceppo di lievito: I ceppi di lievito differiscono notevolmente nella loro capacità di liberare i tioli dai loro precursori coniugati e nell'acetilazione di 3MH a 3MHA. Ceppi presentanti elevate attività dell'enzima β -liasi, responsabile della liberazione del 3MH e del 4MMP dai loro precursori (CYS- e GSH-) produrranno vini con concentrazioni di tioli varietali più elevate. La liberazione dei tioli dai loro precursori avviene nel corso della prima parte della FA (vedi figura sotto).

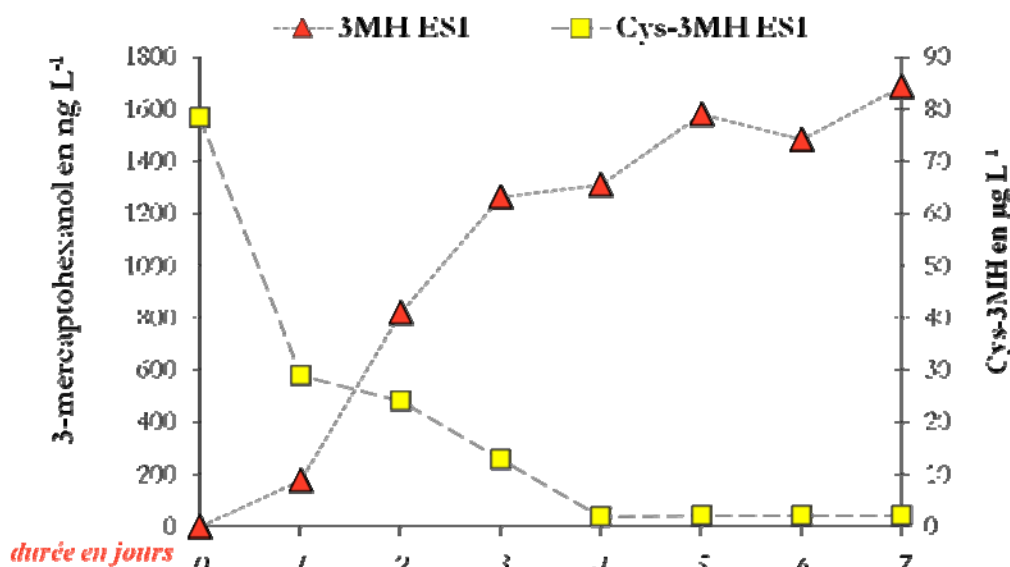


Fig. 5 - Numerosi studi sono stati realizzati al fine di ottenere maggiori informazioni sui meccanismi coinvolti. Diversi articoli scientifici hanno evidenziato che i precursori rappresentano solo una piccola parte della quantità totale di tioli presenti nel vino. L'entità di conversione da parte dei due meccanismi biosintetici descritti precursori → tioli varietali non eccede il 15% per le due classi di precursori. Apparentemente, il meccanismo "chimico" precedentemente presentato ha un ruolo importante nella massimizzazione dei tioli varietali.

La co-inoculazione ha dimostrato di aumentare in modo significativo i "tioli varietali".

L'utilizzo di *Pichia kluyveri* (lievito non-*Saccharomyces*) accoppiato con *Saccharomyces* ha dimostrato di generare più 3MHA e 3MH durante la fermentazione del mosto di Sauvignon Blanc (Anfang et al. 2009).

Influenza della temperatura di fermentazione e dei nutrienti del lievito:

Le fermentazioni condotte a 20°C sono più favorevoli alla liberazione dei tioli (4MMP, 3MH e 3MHA) piuttosto che a 13°C (indipendentemente dal lievito usato). Basse temperature, quali quelle classiche utilizzate in fermentazione di vino bianco non sono adatte alla completa espressione dei potenziali aromatici disponibili nel mosto.

La biogenesi dei precursori dei tioli da parte del lievito è correlata alla natura dell'azoto disponibile nel mosto in fermentazione. La sostituzione di diammonio fosfato (DAP) con urea come unica sorgente di azoto risulta in un incremento in 3MH in soluzione modello. Qui sotto in sintesi gli effetti della nutrizione del lievito sui tioli:

- Vitamine ↑
- Fitosteroli ↑
- Ossigeno ↓
- Arricchimento in zuccheri ↓
- Azoto ammoniacale (NH₃) ↓
- Glutazione ↑ 3MH, ≈ 3MHA

Le esperienze condotte in Tebaldi con il lievito UOA Maxithiol® (oppure con il lievito Sauvignon) e il nutriente Provital Thiol hanno portato in vari anni ad individuare le seguenti condizioni ottimali per massimizzare la concentrazione di tioli varietali su vino finito.

In funzione dei gradi Babo iniziali, la fermentazione si divide in 3 parti.

Durante il primo 1/3 della FA si consiglia una temperatura di 18-20 °C per l'acclimatazione e avvio della fermentazione. In questa fase la produzione di TIOLI è massimale.

Durante il secondo 1/3 della FA si consiglia abbassare gradatamente la temperatura a 14-15 °C. In questa fase la produzione di ESTERI è massimale.

Si raccomanda in seguito di terminare la FA (ultimo 1/3) a 16-17 °C aggiungendo sempre Provital Cure o Scorze 100, con funzione detossificante, che permettono di chiudere la fermentazione in modo efficace.

La regola da tenere in considerazione: per ogni movimento di temperatura, 0.5 °C ogni 2/3 ore.



Evitare rimontaggi all'aria perché i tioli volatili sono ossidabili. Si consiglia di agire in atmosfera controllata e svinare solo a fine fermentazione.

Evoluzione durante l'invecchiamento del vino e le condizioni di conservazione

I tioli varietali sono facilmente ossidabili a causa del loro gruppo funzionale – SH che viene facilmente in presenza di ossigeno trasformato in disolfuro: **2R-SH → R-S-S-R**

il loro contenuto è ridotto a ciascun rimontaggio o trasferimento in vasca. L'ossigeno è ritenuto altamente dannoso per la qualità del profilo sensoriale a causa dell'ossidazione di componenti aromatici (perdita di fruttato), sviluppo di note "ossidate" (acetaldeide o aroma di "sherry"), imbrunimento.

Protezione dell'aroma del vino:

La SO2 è usata per prevenire o ridurre gli effetti negativi dell'ossigeno.

La presenza di lieviti durante l'invecchiamento in legno preserva l'aroma di fruttato del Sauvignon (Dubourdiou e Lavigne 1998, la concentrazione di 4MMP, era due volte inferiore in barriques senza lieviti)

L'imbottigliamento è il punto critico per quanto riguarda l'esposizione all'ossigeno. L'obiettivo dovrebbe essere <0.5-1 mg/L di ossigeno in bottiglia. Un decremento del 45% in 3MH e 3MHA fu osservato cinque mesi dopo l'imbottigliamento in una serie di vini Melon B e Sauvignon Blanc (Role 2010).

La maggior perdita di aroma fruttato/tropicale di Sauvignon Blanc dopo 1-2 anni in bottiglia è dovuto all'idrolisi di 3MH.

E' possibile esprimere tioli nei vini rossi?

Questa domanda ha suscitato grande interesse in molti produttori enologici italiani. Andando quindi in cerca di una risposta abbiamo visto che ci sono stati degli studi a riguardo e che c'è la possibilità di trovare espressioni tioliche anche in alcuni vini rossi. (*Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine, Peggy Rigou et al.*).



Tebaldi srl propone una linea guida specifica per la ricerca dei tioli nei vini rossi utilizzando lo stesso attivante e lievito che si utilizza per massimizzare l'esaltazione dei tioli nei vini bianchi. Ci sono già dei risultati in Europa e noi abbiamo l'intenzione FARE TEST anche in Italia.

L'obiettivo è quello di sviluppare **aromi di ribes nero** che sono stati evidenziati nei vini rossi di alcune varietà di uva quali: Merlot, Cabernet Sauvignon, Grenache (Cannonau) e Syrah. E perché non espanderci e trovare precursori tiolici anche in altre varietà italiane?

Vi proponiamo quindi l'utilizzo di questi prodotti per la vinificazione in rosso:

In Raccolta	20-30 g/ql ANTIOX UVA	Miscela antiossidante per proteggere l'uva durante la raccolta
In Pigiatura	10 g/hl ANTIOX MUST 60-80 g/hl PROVITAL DETOX RED	- Antiossidante per mosto - Prodotto con azione sequestrante dei metalli pesanti
Avvio della Fermentazione alcolica	20 g/hl PROVITAL THIOL 20 g/hl UOA MAXITHIOL	- Attivante di fermentazione specifico - Ceppo di lievito che produce elevata quantità di tioli volatili
Fine riempimento vasca	3 g/hl EXPERZYME R	Enzima per l'estrazione di tannini e antociani

**VOLETE ADERIRE ANCHE VOI AL NOSTRO
PIANO DI SPERIMENTAZIONE?**

contattateci

e saremo lieti di lavorare insieme!

telefono: 045 7675023

mail: laboratorio@tebaldi.it

***Le schede tecniche dei prodotti citati sono reperibili
on line sul sito www.tebaldi.it***

Documento divulgato a cura di

The logo for Tebaldi.it, featuring the company name in a green and purple font with a stylized swirl around the dot of the 'i'.

TEBALDI SRL

Via Colomba 14 - Colognola ai Colli (VR)

Tel. + 39 0457675023

www.tebaldi.it tebaldi@tebaldi.it