



ASSOCIAZIONE ENOLOGI ENOTECNICI ITALIANI

ORGANIZZAZIONE NAZIONALE DI CATEGORIA
DEI TECNICI DEL SETTORE VITIVINICOLO

LIEVITI ED AROMI DEI VINI: COMPARAZIONE TRA CEPPI COMMERCIALI DI LARGA DIFFUSIONE

Nove lieviti sono stati comparati sulla base delle loro performance fermentative e dell'incidenza che essi hanno sulle componenti volatili di vini Müller-Thurgau, Sauvignon blanc e su due Chardonnay, prodotti in normali condizioni di cantina. Sono emerse differenze significative sia per quanto riguarda parametri analitici routinari che per composti aromatici di rilievo sensoriale.

Giorgio Nicolini, Roberto Larcher
Istituto Agrario, S. Michele all'Adige

Raffaele Mocchiutti
Corso di Studi Superiori in Viticoltura ed Enologia, San Michele all'Adige

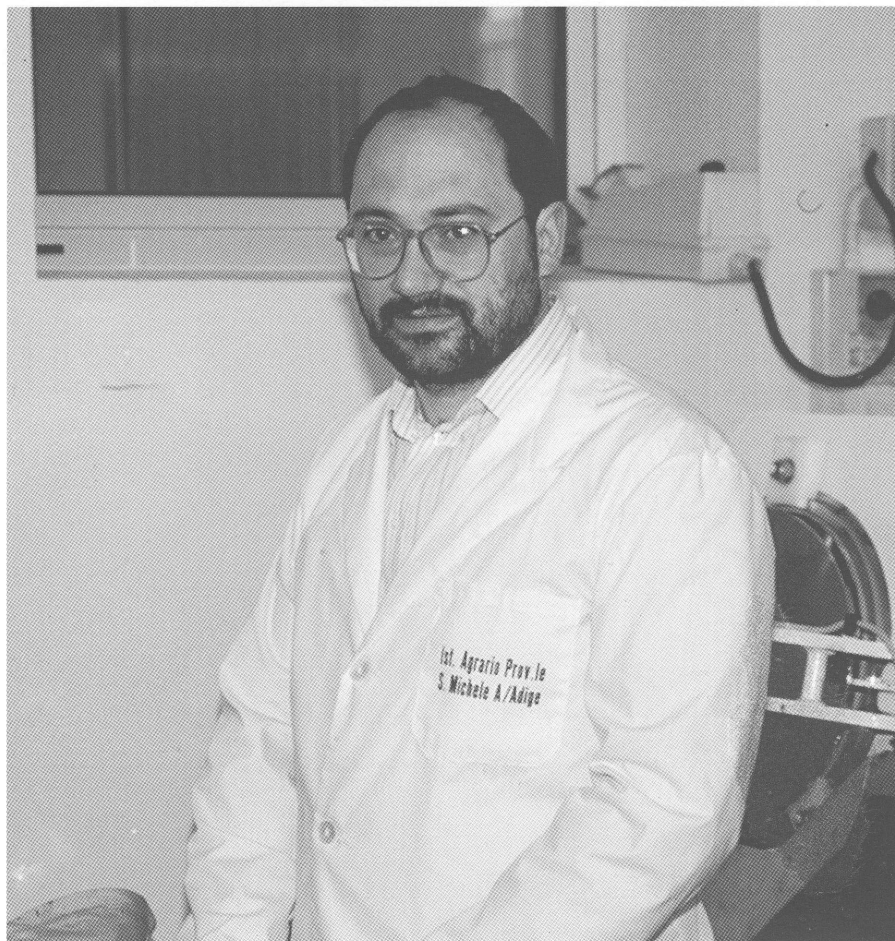
Sergio Moser
DISTAM, Università di Milano

Estratto da "L'Enotecnico" - Mensile dell'Associazione Enologi Enotecnici Italiani
Anno XXXVI - nuova serie - N. 3 marzo 2000

DOCUMENTO
TECNICO

Giorgio Nicolini*
Raffaele Mocchiutti**
Roberto Larcher*
Sergio Moser***

* Istituto Agrario,
 S. Michele all'Adige
 ** Corso di Studi Superiori
 in Viticoltura ed Enologia,
 San Michele all'Adige
 *** DISTAM, Università di
 Milano



G. Nicolini

LIEVITI ED AROMI DEI VINI: COMPARAZIONE TRA CEPPI COMMERCIALI DI LARGA DIFFUSIONE

Nove lieviti sono stati comparati sulla base delle loro performance fermentative e dell'incidenza che essi hanno sulle componenti volatili di vini Müller-Thurgau, Sauvignon blanc e su due Chardonnay, prodotti in normali condizioni di cantina. Sono emerse differenze significative sia per quanto riguarda parametri analitici routinari che per composti aromatici di rilievo sensoriale.

Introduzione

L'incidenza del lievito sull'aroma globale dei vini - solitamente distinto nelle classi dei composti varietali, pre-fermentativi, fermentativi e post-fermentativi o del bouquet - si manifesta principalmente a livello dei composti detti appunto di origine fermentativa, ossia sintetizzati ex-novo dai lieviti nel corso delle fermentazioni. Il ruolo del lievito è tuttavia ben più complesso, potendo esso modificare sia composti

primari, volatili e non volatili, che composti di origine prefermentativa.

Oltre a fattori strettamente legati al lievito stesso, quali la sua origine genetica e la specificità del suo metabolismo, anche fattori di natura tecnologica condizionano il tipo ed il livello dei composti aromatici. Infatti, le modifiche che la tecnica enologica determina nel substrato - ad esempio nella disponibilità di nutrienti, di fattori di crescita e di precursori aromatici non volatili - incidono

sul pool enzimatico della microflora. Attorno a queste tematiche esiste comunque una nutrita bibliografia sia originale che di rivisitazione dello stato dell'arte [Suomalainen et Lehtonen, 1979; Ciolfi et Di Stefano, 1983; Bertuccioli et al., 1984; Ciolfi et al., 1985a; 1985b; Montedoro e Ricci, 1987; Herraiz et al., 1990; Di Stefano et al., 1992; Nicolini, 1996]. Non va dimenticato che anche i batteri possono incidere sulla componente aromatica fermentativa; ad

Tab. 1
Nome commerciale o ceppo dichiarato e siglatura utilizzata nel lavoro

Ceppo dichiarato	Sigla	Ceppo dichiarato	Sigla
7303 INRA Narbonne	1	Uvaferm Floral V	9
SM 102	3	EG8 INRA Alsace	14
Fermicru LS2	5	9010 INRA Narbonne	17
Fermicru VR5	6	522 Davis Montrachet	19
Uvaferm CEG	8		

Tab. 2
Composizione dei mosti dopo arricchimento con MCR

varietà	°Bx	pH	Acidità titolabile (g/L)	Azoto assimilabile (mg/L)
CH	21,3	-	-	240
CH2	22,7	3,21	9,75	438
SB	22,0	3,36	7,15	291
MT	21,0	-	-	120

Tab. 3
Valori medi per ceppo di alcuni parametri analitici dei vini espressi, salvo diversa indicazione, in g/L

zuccheri			alcol % vol			acid. titolabile			SO ₂ lib. (mg/L)			SO ₂ tot. (mg/L)		
n.s.	D	media	n.s.	D	media	**	D	media	*	D	media	*	D	media
1		2,8	6		13,10	9	a	6,80	3	a	31,3	3	a	133
3		2,2	8		13,07	5	ab	6,68	6	a	30,5	5	ab	119
19		1,7	3		13,04	1	bc	6,53	8	ab	28,5	9	ab	113
17		1,6	17		13,03	19	bc	6,53	9	ab	27,0	14	b	112
9		1,3	19		12,98	14	bc	6,53	17	abc	24,8	1	b	108
5		1,3	9		12,98	6	bc	6,50	1	abc	24,3	6	b	107
8		1,3	1		12,97	17	bc	6,50	5	abc	23,3	17	b	106
14		1,2	5		12,94	3	cd	6,40	14	bc	19,0	8	b	101
6		1,2	14		12,91	8	d	6,19	19	c	16,3	19	b	101

acid. volatile			ac. malico			ac. alfa-chetoglutar. (mg/L)			ac. piruvico (mg/L)			glicerolo		
**	D	media	*	D	media	*	D	media	***	D	media	***	D	media
9	a	0,61	5	a	3,41	8	a	58,1	9	a	62,2	14	a	7,46
14	a	0,59	9	a	3,40	3	ab	49,0	14	a	58,7	9	a	7,31
5	ab	0,49	1	a	3,40	6	abc	37,1	5	a	54,2	5	ab	7,24
17	ab	0,41	3	ab	3,39	14	abc	36,7	19	a	49,3	19	bc	6,56
1	b	0,36	6	ab	3,39	1	bc	30,1	1	b	43,7	1	c	6,47
3	b	0,32	17	ab	3,37	19	bc	28,6	3	b	30,1	8	c	6,27
6	b	0,32	19	abc	3,28	5	c	26,4	8	b	22,1	6	c	6,23
19	b	0,31	14	bc	3,23	17	c	25,4	6	b	19,0	3	c	6,13
8	b	0,28	8	c	3,19	9	c	24,5	17	b	17,6	17	c	5,96

Significatività delle differenze tra le medie al test F (n.s.= non significative; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$) e di Duncan (D).

esempio quelli lattici modificano i livelli di acetaldeide [Mayer, 1977] e producono alcuni composti analogamente ai lieviti, com'è nel caso del diacetile [Nielsen et Prahl, 1996; De Revel et al., 1996].

La verifica dell'incidenza

di 9 diversi ceppi di lievito di larga diffusione commerciale sulla composizione aromatica dei vini è stata l'obiettivo principale del presente lavoro.

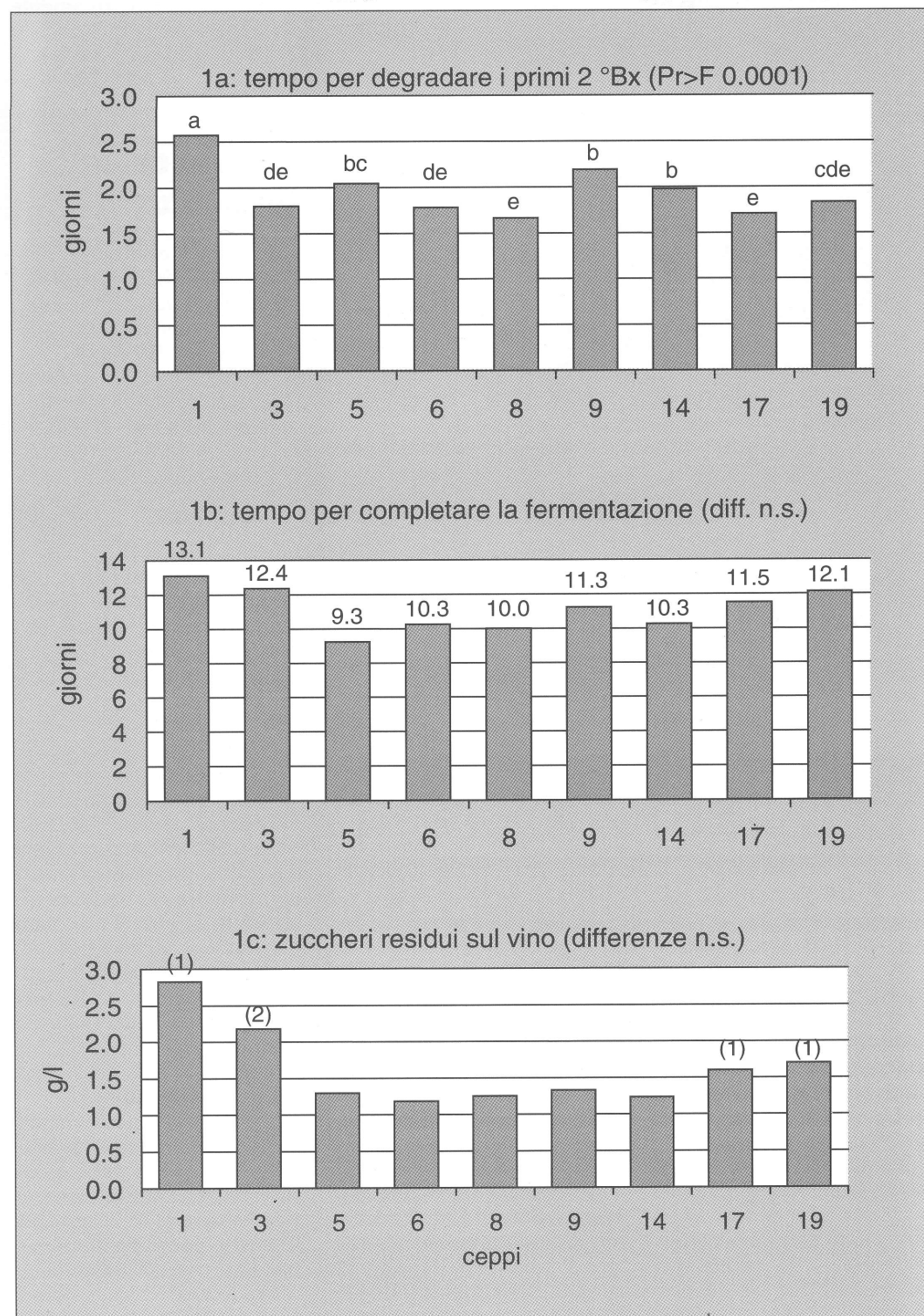
Tale obiettivo è stato perseguito effettuando gli inoculi in mosti illimpiditi non

sterilizzati al fine di avvicinarsi quanto più possibile alle normali modalità d'utilizzazione industriale dei lieviti secchi selezionati per l'enologia.

Materiali e metodi

Quattro mosti ottenuti nella vendemmia 1997 per pigiadiraspatura e pressatura di uve Chardonnay (CH, CH2), Müller-Thurgau (MT) e Sauvignon blanc (SB) sono stati divisi - dopo solfitazione (50 mg/L), decantazione statica a freddo, travaso ed arricchimento con MCR - ciascuno in 9 frazioni di 30 litri, ognuna inoculata con un diverso ceppo di lievito commerciale reidratato a 40°C. Per l'inoculo si è utilizzata la dose di 20 g/hL anziché un definito numero di cellule per unità di volume in considerazione del fatto che il secondo parametro non è solitamente verificabile nella pratica quotidiana della gran parte delle cantine ed inoltre che l'acquisto del lievito è fatto a peso e non a numero di cellule vive. Nella presente trattazione i lieviti saranno riportati con la siglatura numerica riportata in Tab.1. Precedentemente all'inoculo, tutti i mosti presentavano una carica spontanea inferiore alle 300000 cellule per millilitro. Il decorso fermentativo è stato monitorato mediante la misura del grado Brix rifrattometrico sino a 7°Bx e successivamente con la metodica di Fehling; congiuntamente si è controllata la temperatura di fermentazione in un range tra 20 e 23°C. A fine fermentazione i vini sono stati travasati, solfitati e conservati a 5°C per evitare la fermentazione malolattica; ulteriormente travasati e risolfitati, sono stati imbottigliati dopo filtrazione brillantante a cartoni e sterilizzante a membrana da 0.45 µm. Tutte le operazioni sono state svolte presso la Cantina Sperimentale dell'Istituto Agrario di S. Michele all'Adige. L'analisi dei vini imbottigliati è stata eseguita nella primavera

Fig. 1
Performance fermentative medie (n=4) dei diversi ceppi di lievito



I ceppi i cui valori medi superano 1.5 g/L hanno fatto registrare i casi di arresti di fermentazione riportati tra parentesi

1998.

Le analisi dei parametri routinari di controllo dei vini sono state effettuate con metodiche usuali: alcool (%/vol) per densimetria sul distillato, acidità volatile (g/L) e zuccheri (g/L) in continuo su Autoanalyzer II, aci-

dità titolabile (g/L) e solforosa libera e legata (mg/L) per titolazione su Compact Titrator III. Gli acidi L-malico (g/L), α -chetoglutarico (mg/L) e piruvico (mg/L) ed il glicerolo (g/L) sono stati misurati per via enzimatica. La quantificazione dell'azoto

prontamente assimilabile (N mg/L) è stata effettuata con un metodo [Nicolini et al., 1997; Nicolini et Corradin, 1998] sviluppato specificatamente per mosti e vini come modifica del metodo ASBC.

Alcoli superiori, acetaldeide ed acetato di etile sono stati determinati per via gascromatografica col metodo di Gabri et Salvagiotto [1980]. I composti volatili dei vini sono stati analizzati con la metodica riportata in Margheri et Versini [1979], derivata da quella di Drawert et Rapp [1968].

L'analisi sensoriale è stata condotta da 11 degustatori utilizzando una scheda di valutazione non strutturata riportante i seguenti descrittori sensoriali: fruttato, floreale, ridotto, volatile, speziato, piacere.

L'elaborazione statistica dei dati è stata effettuata con la procedura Anova del pacchetto software SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Come fonte di variazione sono stati utilizzati, per le analisi chimiche, il ceppo di lievito e il mosto e, per le analisi sensoriali, anche i degustatori e l'interazione "mosto x lievito".

Risultati e discussione

Composizione dei mosti.

La composizione dei mosti di partenza, valutata dopo arricchimento con MCR, è riportata in Tab.2. I mosti CH, CH2 e SB non presentavano valori limitanti di azoto prontamente assimilabile; in particolare, è risultato decisamente elevato il dato per il mosto CH2, ben al di sopra anche di quel valore di 300 mg/L sopra il quale risulta ininfluente, ai fini della durata della fermentazione, ogni aggiunta di sali di ammonio [Bely et al., 1991]. È comunque noto che lo Chardonnay è una varietà solitamente ricca di azoto assimilabile, al contrario del Mueller-Thurgau che anche in questo caso manifesta la sua tradizionale bassa dotazione [Nicolini et al., 1999]. Quest'ultimo, in-

Tab. 4
Contenuti medi (n=4) per ceppo di alcuni composti volatili dei vini (mg/L)

1-propanolo (1)			2-metil- 1-propanolo (2)			2-metil - 1-butanolo (3)			3-metil - 1-butanolo (4)			alc. sup. tot. (1+2+3+4)		
***	D	media	***	D	media	**	D	media	***	D	media	***	D	media
5	a	58,1	19	a	40,3	19	a	22,6	5	a	146,0	5	a	247
19	b	28,9	1	ab	36,6	6	a	22,0	6	a	142,4	1	b	217
14	b	27,1	14	abc	35,0	1	a	21,6	1	ab	132,8	6	b	216
3	b	26,9	9	bcd	32,1	3	ab	20,1	17	abc	130,9	19	bc	212
9	b	26,3	3	bcd	32,0	14	ab	18,5	8	bcd	120,4	3	bc	196
8	b	26,1	8	bcd	31,0	8	b	17,3	19	bcd	119,9	8	bc	195
1	b	25,9	6	cd	30,3	17	b	17,1	3	bcd	116,6	14	c	191
6	b	21,6	5	d	27,0	9	b	16,4	9	cd	113,6	17	c	190
17	b	20,5	17	e	21,6	5	b	16,1	14	d	109,9	9	c	188

somma alc. sup. (2+3+4)			acetaldeide			acetato di etile			alcool b-feniletile			3-etossi propanolo		
*	D	media	**	D	media	**	D	media	n.s.	D	media	**	D	media
6	a	195	3	a	57,8	14	a	58,4	6		20,3	5	a	6,42
1	ab	191	5	ab	49,9	9	a	58,3	3		19,9	14	b	1,88
5	ab	189	19	abc	49,0	5	ab	48,6	5		18,9	9	b	1,50
19	abc	183	14	abc	48,9	19	ab	46,9	1		18,4	3	b	1,37
17	bc	169	1	bcd	44,6	1	b	43,5	17		17,2	1	b	1,02
3	bc	169	17	bcd	43,6	3	b	39,8	8		16,5	17	b	0,72
8	bc	169	9	bcd	40,4	17	b	38,4	19		15,9	19	b	0,64
14	c	163	6	cd	37,4	6	b	37,8	14		14,7	8	b	0,56
9	c	162	8	d	33,9	8	b	35,8	9		14,7	6	b	0,52

Significatività delle differenze tra le medie al test F (n.s.= non significative; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$) e di Duncan (D).

fatti, nel caso specifico ha presentato valori di 120 mg/L, collocandosi ca. 20 mg/L al di sotto di quello che è considerato il limite di carenza azotata per fermentazioni da completarsi attorno ad una gradazione alcoolica di 12%vol [Agenbach, 1977; Reed et Nagodawithana, 1991].

Avvio di fermentazione.

I ceppi utilizzati hanno mostrato differenze altamente significative nell'avvio della fermentazione, inteso come numero di ore necessarie a consumare i primi 2 °Bx. In Fig.1a tale parametro è riportato espresso in giorni, per comodità di comparazione con la Fig.1b relativa al completamento della fermentazione. I ceppi che, nelle condizioni sperimentali, hanno avuto l'avvio medio più rapido e nettamente inferiore

ai 2 giorni sono stati nell'ordine: 8, 17, 6, 3 e 19; significativamente il più lento in assoluto è stato il ceppo 1.

Ad un avvio rapido non necessariamente è corrisposto un completamento altrettanto veloce (Fig. 1b). Ricordando che le differenze tra i ceppi non sono state statisticamente significative per quanto riguarda tale parametro, si osserva comunque che tempi medi inferiori agli 11 giorni hanno fatto registrare i ceppi 5, 6; 8, 14; leggermente più lento il ceppo 9. Nessuno di questi cinque ha lasciato, in nessuno dei 4 vini prodotti per stipite, zuccheri superiori ai 2 g/L. Gli stipiti 17, 19, 3 ed 1 sono arrivati a fine fermentazione in tempi mediamente più lunghi, lasciando tutti almeno un campione con residuo zuccherino superiore a 2.5 g/L (Fig.1c). Il livello della gradazione al-

coolica, media prodotta per varietà di uva era di 12.7 e 13.3 % vol, rispettivamente per Chardonnay CH e CH2, di 13.1% vol per Sauvignon e di 12.9 % vol per Mueller-Thurgau.

Decorso della fermentazione

I ceppi 1 e 9 hanno mostrato una diminuzione del grado Brix nel corso della fermentazione molto regolare e lineare (Fig.2), senza quell'abbassamento deciso e rapido che si evidenzia solitamente nella fase di fermentazione tumultuosa attorno al 2°-4° giorno dall'inoculo. Mentre però il ceppo 1 non è andato a secco in uno dei 4 mosti (CH), il 9 ha completato perfettamente la fermentazione in tutti i casi. Questo aspetto di "regolarità" del consumo zuccherino, cui è associato un minore sviluppo di calore nell'unità di tempo, può essere un fattore tecnologico interessante per quelle situazioni aziendali in cui ci sia una limitata disponibilità di frigoriferi.

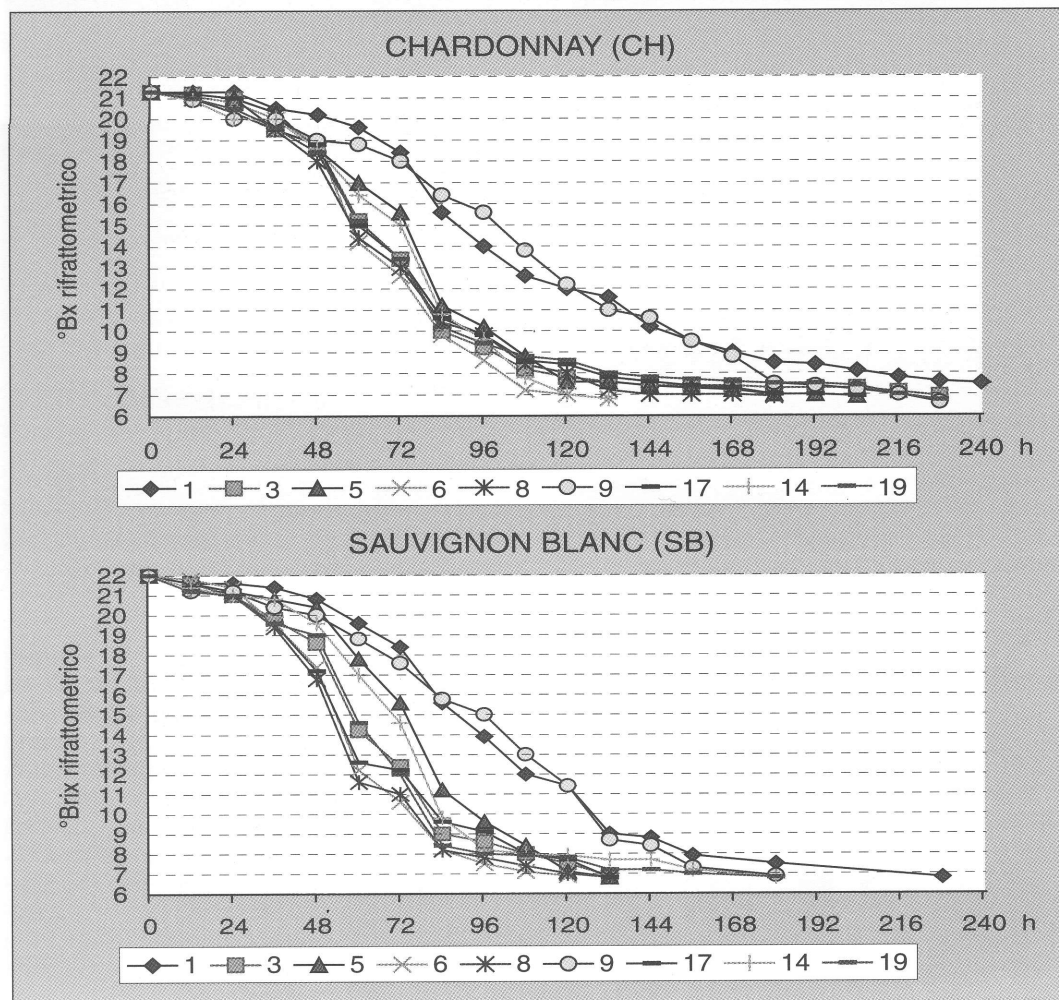
Valutati esclusivamente dal punto di vista dell'andamento delle fermentazioni, gli stipiti 5, 6, 9, 8 e 14 hanno fornito i migliori risultati; il ceppo 19 ha manifestato una certa tendenza alla formazione di schiume piuttosto persistenti.

Parametri routinari.

Di tutti i composti analizzati verranno discussi principalmente quelli per i quali sono risultate statisticamente significative le differenze tra le medie per la fonte di variabilità "ceppo" di lievito.

Tra le analisi routinarie e quelle effettuate per via enzimatica si sono osservate differenze significative per acidità volatile, acidità titolabile, SO₂ libera e totale, acidi malico, α -chetoglutarico e piruvico, e glicerina (Tab. 3). Benché con differenze non significative per l'alcool prodotto, l'unico bayanus presente tra i ceppi testati (ceppo 5) ha mostrato in media la tendenza della "specie" a

Fig. 2
Curve di fermentazione (ore) dei diversi ceppi di lievito in due mosti



fornire una minor resa in alcool [Ciolfi et al., 1985a]. I livelli generali dell'acidità volatile sono risultati piuttosto elevati e ben al di sopra dei livelli medi usualmente riscontrati nei vini della Cantina Sperimentale; probabilmente l'elevato livello di limpidezza dei mosti utilizzati per la presente sperimentazione ha contribuito in tal senso. Per quanto riguarda l'acidità volatile, al di là delle differenze significative o meno, quattro ceppi (9, 14, 5, 17) hanno superato il livello medio di 0.40 g/L; di questi, 9 e 14 sono addirittura a valori di ca. 0.60 g/L. Il bayanus (5) conferma la tendenza tipica della "specie" [Ciolfi et al., 1985a, 1985b]. Il valore medio minimo in assoluto è stato quello del ceppo 8, per altro significativamente differente solo da quelli elevatissimi dei ceppi 9 e 14.

Relativamente all'acidità titolabile, al di là dei valori più elevati riscontrati per quei ceppi che avevano manifestato l'acidità volatile elevata, si osserva in particolare il valore più basso del ceppo 8, legato anche al fatto che esso lascia anche i più bassi livelli dell'acido malico. Tale ceppo ha prodotto anche il massimo livello di α -chetoglutarico, legato al malico attraverso la via ossidativa del ciclo di Krebs. I valori dell'acido malico, pur senza il suffragio della diretta determinazione dell'acido lattico, sono da considerare reali e non interferiti da malolattica sia per il fatto che le trafille di vinificazione prevedevano l'uso del freddo (5°C) dalla svinatura fino all'imbottigliamento sia per i bassi livelli (qualche mg/L) registrati, senza differenze significative tra i ceppi, per il lat-

tato di etile. Per quanto riguarda l'acido piruvico si è osservata una netta discriminazione in due gruppi, con valori più bassi per i ceppi 17, 6, 8, 3 ed 1. Ad eccezione del ceppo 1, questi ceppi hanno dato, come atteso, anche i più bassi valori di glicerina e la più alta resa in alcool.

Composti che legano la SO₂

Tra i composti che legano la solforosa, oltre all'appena discusso piruvico, hanno un peso rilevante sia l'acetaldeide (Tab. 4) che l'acido α -chetoglutarico (Tab. 3). Per ambedue sono state riscontrate differenze significative tra i ceppi. I valori medi per l'acetaldeide sono nel complesso abbastanza elevati per vinificazioni in bianco, con i livelli massimi fatti registrare dal ceppo 3, come ci si poteva attendere in relazione ai due arresti di fermentazione (Fig. 1c). Statisticamente si discriminano solamente i ceppi 3, 5 e 19, alto produttori, dal ceppo 8 con i valori minimi. Quest'ultimo invece ha prodotto, assieme al ceppo 3 i più elevati valori di acido α -chetoglutarico, statisticamente superiori a quelli dei ceppi 5, 17 e 9. L'insieme dei valori di acetaldeide, piruvico ed α -chetoglutarico ha condizionato il livello di SO₂ combinata (misurato per differenza della libera dalla totale) e combinabile (calcolato secondo i coefficienti riportati da Mayer [1977]). I livelli più bassi, tecnologicamente più interessanti, sono stati quelli relativi ai ceppi 8, 6 e 17; i più elevati quelli dei ceppi 3, 5 e 14 (Fig. 3).

Alcooli superiori.

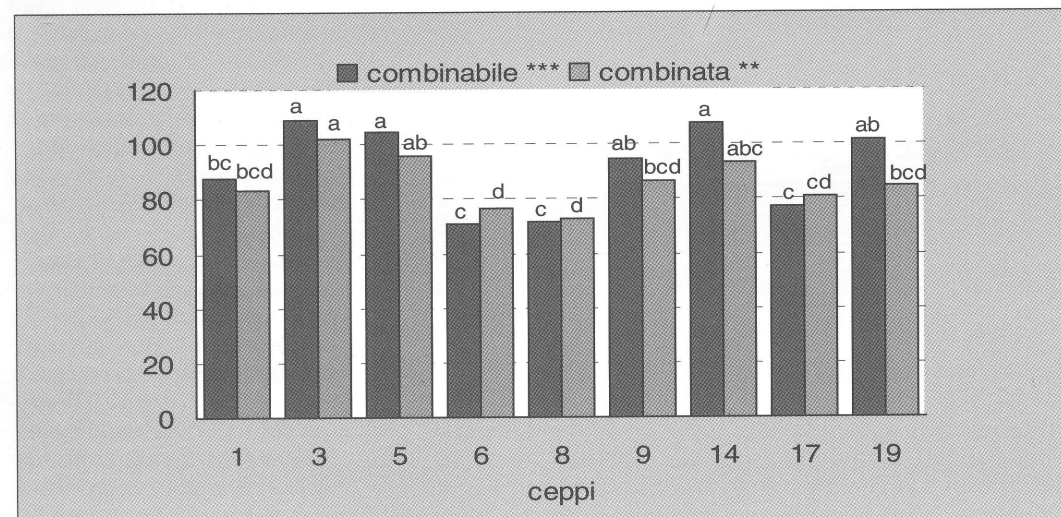
Relativamente agli alcoli superiori totali (Tab. 4), il ceppo di bayanus (5) si discrimina nettamente dagli altri ceppi, essenzialmente per la maggiore produzione di 1-propanolo; tale stipite, come tipico per i bayanus, si conferma inoltre fra gli alto produttori di 3-etossi-propanolo [Ciolfi et al., 1985b]. Propa-

Tab. 6
Interpretazione riassuntiva dei risultati della sperimentazione

Codice	1	3	5	6	8	9	14	17	19
ceppo commerciale	7303 INRA Narbonne	SM 102	Fermicru LS2	Fermicru VR5	Uvaferm CEG	Uvaferm Floral V	EG8 INRA Alsace	9010 INRA Narbonne	522 Davis Montrachet
Saccharomyces	cer.	cer.	bay.	cer.	cer.	cer.	cer.	cer.	cer.
rapidità di avvio di fermentazione	-	+	+/-	+	+	+/-	+/-	+	+
giorni di fermentazione	+	+	-	-	-	+/-	-	+	+
presenza di residui zuccherini	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4
volatile	-	-	+/-	-	-	+	+	+/-	-
glicerina	+/-	-	+	-	-	+	+	-	+/-
composti combinanti la SO ₂	+/-	+	+	-	-	+/-	+	-	+/-
propanolo; 3-etossi-propanolo	-	-	+	-	-	-	-	-	-
altri alcoli superiori	+	+/-	+	+	+/-	+/-	-	+/-	-
acetati	+/-	+/-	+/-	+	-	-	-	-	+
esteri	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-
metionolo	-	-	-	-	-	-	-	+	-
U.F. fruttato-floreale	+/-	+/-	+	+/-	-	-	-	-	+

Presenza di residui zuccherini = numero di vini sui 4 prodotti per ceppo

Fig. 3
Livelli medi (mg/L; n=4) di solforosa combinata e combinabile



Significatività al test di F (***) $p < 0.001$; (**) $p < 0.01$) e di Duncan

nolo e 3-etossi-propanolo derivano dal metabolismo, parzialmente in comune, dell'omoserina: via treonina il primo, via acetilomoserina il secondo. Relativamente alla somma degli altri 3 principali alcoli superiori (2-metil-1-propanolo, 2-metil-1-butanolo, 3-metil-1-butanolo), i ceppi 6, 1 e 5 sono risultati significativamente maggiori produttori rispetto ai ceppi 14 e 9. Per l'alcool β -feniletilico i contenuti generali sono risultati a livelli medio-bassi, senza differenze significative tra i ceppi e con il ceppo 6 ai livelli medi

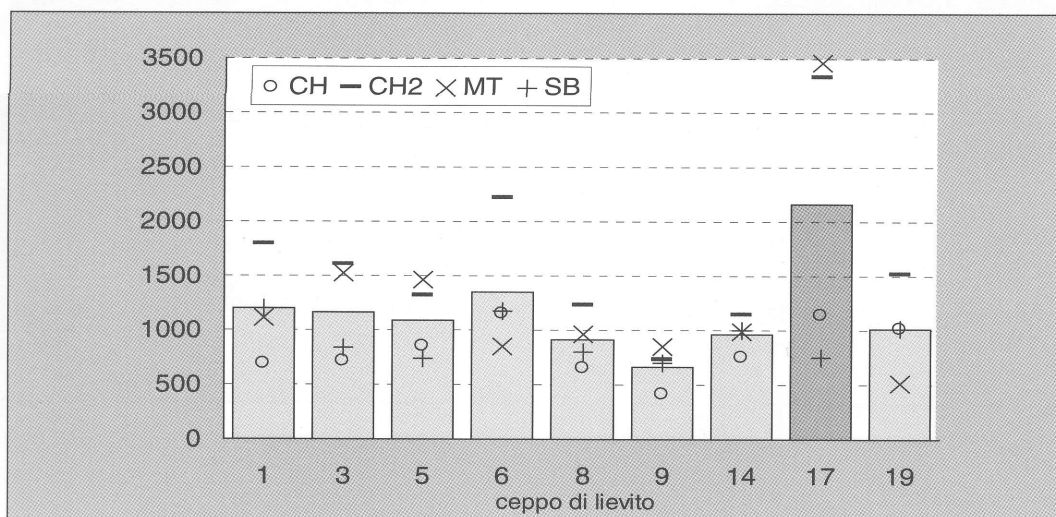
più elevati; solamente ai valori massimi registrati, attorno ai 28 mg/L, tale composto potrebbe contribuire alla nota fermentativa di rosa.

Acetati ed esteri etilici

Tra le classi di composti responsabili delle note fruttate, si sono osservate differenze significative tra i ceppi per quanto riguarda gli "acetati" e non per gli "esteri etilici" (Tab. 5). I livelli degli "acetati" riscontrati in questa sperimentazione spaziavano da

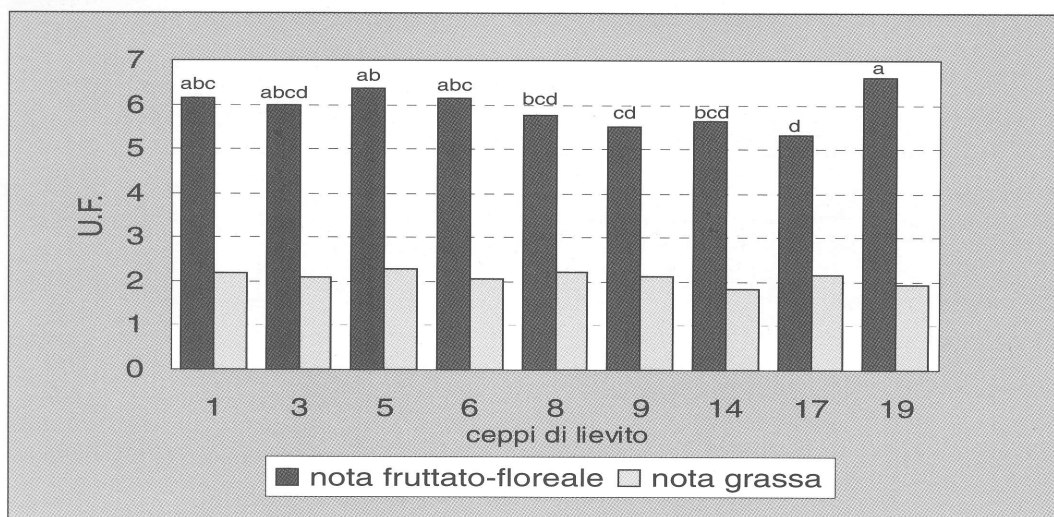
valori massimi tipici per vini molto fruttati, dell'ordine dei 4-5 mg/L, fino a valori minimi inferiori al milligrammo per litro, decisamente limitati per vini di un anno come erano quelli analizzati. Gli esteri si collocavano su valori nella media di vini trentini anche di produzione su scala industriale e più elevati rispetto a vini di produzione tedesca [Versini et al., 1996a; Versini et al., 1996b]. Per quanto riguarda gli acetati (Tab. 5), si discriminano i ceppi 19 e 6, con i valori più alti, dai ceppi 8, 14, 17 e 9 ai livelli più bassi; le differenze sono attribuibili, dal punto di vista statistico, essenzialmente all'acetato di isobutile - a contenuti giudicabili ininfluenti, almeno sulla base delle soglie di 1600 $\mu\text{g/L}$ riportate da Meilgaard [1975] per la birra - e, principalmente, all'acetato di isoamile. Per quest'ultimo, tutti i ceppi, ad eccezione del 17 e del 9, hanno prodotto contenuti medi al di sopra del livello di soglia che è analogo a quello dell'acetato di isobutile. Differenze significative sono emerse anche per i corrispondenti acidi isobutirrico ed isovalerianico. Differenze significative sono state riscontrate anche per i composti: 4-idrossibutirrato di etile, 2-idrossiglutarato di etile, 9-decenoato di etile ed il corrispondente acido 9-de-

Fig. 4
Ruolo del ceppo di lievito in relazione alla produzione di metionolo ($\mu\text{g/L}$):
Contenuto medio (barra) e livelli nei 4 vini



Il ceppo 17 ha fornito livelli significativamente più elevati ($Pr > F$ 0.0180) rispetto agli altri ceppi.

Fig. 5
Unità di Flavour medie ($n=4$) calcolate per lievito in base ai valori di soglia definiti da Meilgaard [1975]



cenoico, nonché per l'acido caprico. Per il 9-decanoato di etile, Schreier [1979] riporta una maggiore concentrazione nei casi di vini prodotti in limitate quantità e con ossigenazione dell'ambiente fermentativo.

Non sono emerse differenze significative tra i ceppi, invece, per i composti: lattato e succinato acido di etile, dietilsuccinato, γ -butirrolattone, alcool benzilico, acidi grassi lineari a C4, C6 e C8, 4-vinilfenolo, esanolo, trans 3-esenolo e cis 3-esenolo, gli ultimi tre di origine tipicamente pre-fermentativa. Per

il 4-vinilfenolo, i contenuti massimi registrati sono risultati in qualche caso prossimi ai livelli di soglia per una soluzione alcoolica ma comunque inferiori ad 1/3 del valore riportato come soglia di riconoscimento in un vino.

Relativamente ai composti solforati, con la metodica utilizzata è stato possibile analizzare solamente il 3-metil-tio-1-propanolo, o metionolo (Fig. 4). Tale composto è considerato tra i "solforati pesanti" in relazione al suo punto di ebollizione [Anocibar-Beloqui et Bertrand, 1996] ed è caratterizzato da

una nota olfattiva di cavolo cotto. I livelli osservati, benché mediamente vicini a quelli di percezione in soluzione modello, sono comunque inferiori al livello di soglia per i vini bianchi (4.5 mg/L); solo i valori massimi riscontrati per il ceppo 17 si collocano tra i livello di soglia dei bianchi e quello per i vini rossi (3.2 mg/L) [Lavigne et al., 1993]. I livelli medi di 2168 $\mu\text{g/L}$ relativi al ceppo 17 sono risultati i più elevati ($Pr > F$ 0.0180); gli altri lieviti, pur a fronte di notevoli differenze nei valori medi, non differiscono statisticamente tra loro.

Lieviti ed Unità di Flavour

Dividendo le concentrazioni medie dei composti compresi tra gli "acetati" gli "esteri" e l'alcool β -fenilettilico - presi in considerazione per il contributo alla nota "fruttata-floreale-fermentativa" - per le loro rispettive soglie [Meilgaard, 1975] ed operando con lo stesso criterio anche per gli acidi grassi (isoC4, C4, isoC5, C6, C8, C10), responsabili di note "grasse", si è ricavata una classificazione dei ceppi in base alle Unità di Flavour prodotte (UF). Tale approccio è stato attuato nell'ipotesi che sensazioni olfattive simili possano essere considerate additive in termini di perceibilità. Per l'alcool β -fenilettilico si è usata la soglia di 25 mg/L relativa a miscele con altri alcoli superiori. La classificazione ottenuta è graficata in Fig. 5. Si evidenziano le differenze significative ($Pr > F$ 0.0181) per le U.F. fruttato-floreale-fermentative dei ceppi 19 (6.6 U.F.) e 5 (6.4 U.F.) rispetto ai ceppi 9 (U.F. 5.5) e 17 (U.F. 5.3). Su valori medi uguali o superiori alle 6 U.F. si trovano anche i ceppi 6 (6.2 U.F.), 1 (6.1 U.F.) e 3 (6.0 U.F.). Risulta interessante osservare che la componente fruttata del ceppo 19 si differenzia da quella del ceppo 5 per un maggiore ruolo della nota fruttata da "gomma americana".

Tab. 5
Contenuti medi (n=4) per ceppo di alcuni composti volatili dei vini (µg/L)

act.isobutile (1)			act.isoamile (2)			act.n-esile (3)			act.b-feniletile (4)			act.1,3propandiolo			acetati (1+2+3+4)		
*	D	media	**	D	media	n.s.	D	media	n.s.	D	media	***	D	media	**	D	media
19	a	54,4	19	a	2496	19		252	6		504	5	a	5971	19	a	3286
14	ab	45,2	6	ab	2409	3		215	3		487	14	ab	4713	6	ab	3132
1	bc	35,2	1	abc	2197	1		197	19		484	3	ab	4406	1	abc	2892
3	bc	33,0	3	abcd	1929	6		189	1		464	9	bc	3545	3	abcd	2663
8	bc	30,7	8	bcd	1814	5		178	5		429	1	bcd	3161	5	bcd	2438
9	bc	29,4	5	bcd	1803	9		175	17		362	8	cd	2653	8	cd	2322
5	bc	29,1	14	cd	1729	14		173	14		319	17	cd	2461	14	cd	2265
6	bc	28,8	17	d	1558	8		169	8		308	6	cd	2436	17	d	2107
17	c	22,5	9	d	1425	17		165	9		302	19	d	1852	9	d	1931

etil butirrato (a)			etil capronato (b)			etil caprilato (c)			etil caprato (d)			9-decenoato di etile			esteri (a+b+c+d)		
n.s.	D	media	n.s.	D	media	n.s.	D	media	n.s.	D	media	**	D	media	n.s.	D	media
19		159	5		837	14		982	9		159	17	a	68,3	5		1998
5		139	19		793	5		879	5		145	1	ab	61,9	14		1888
9		118	1		771	3		875	19		137	19	ab	60,8	19		1880
14		111	8		759	1		847	6		137	3	ab	53,0	3		1857
17		107	3		754	6		820	3		134	8	abc	45,1	1		1819
8		105	9		752	19		792	1		126	6	bc	42,8	6		1790
6		102	6		731	8		770	8		116	9	bc	38,4	9		1762
3		65	17		720	9		733	14		112	5	c	28,6	8		1750
1		75	14		682	17		655	17		101	14	c	24,4	17		1782

4-OH-butirr. etile			2-OH-glutar. etile			ac. isobutirrico			ac. isovalerianico			ac. caprico			ac. 9-decenoico		
**	D	media	*	D	media	*	D	media	*	D	media	**	D	media	*	D	media
3	a	4179	14	a	152,3	8	a	1737	17	a	900	9	a	1580	17	a	522
17	a	4145	17	a	138,0	1	a	1636	8	ab	787	5	ab	1428	1	ab	488
14	ab	2869	8	ab	126,3	17	a	1625	6	abc	744	6	ab	1297	19	abc	425
5	b	2490	19	ab	115,0	3	ab	1207	1	abc	718	3	ab	1244	3	abc	399
1	b	2405	3	ab	111,5	14	ab	1077	5	abc	716	14	ab	1242	8	abcd	382
9	b	2304	6	ab	108,8	5	ab	1073	19	bc	628	19	ab	1226	6	abcd	337
6	b	2028	1	ab	101,3	19	b	951	3	bc	621	1	b	1169	9	bcd	328
8	b	1654	5	b	75,5	9	b	930	9	bc	536	8	b	1126	5	cd	257
19	b	1578	9	b	72,8	6	b	906	14	c	519	17	c	718	14	d	206

Significatività delle differenze tra le medie al test F (n.s.= non significative; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$) e di Duncan (D).

na" dell'acetato di isoamile, mentre la nota fruttata di derivazione "esteri" è sugli stessi valori per i due ceppi.

Non sono emerse differenze significative per quanto riguarda le U.F. per le note "grasse".

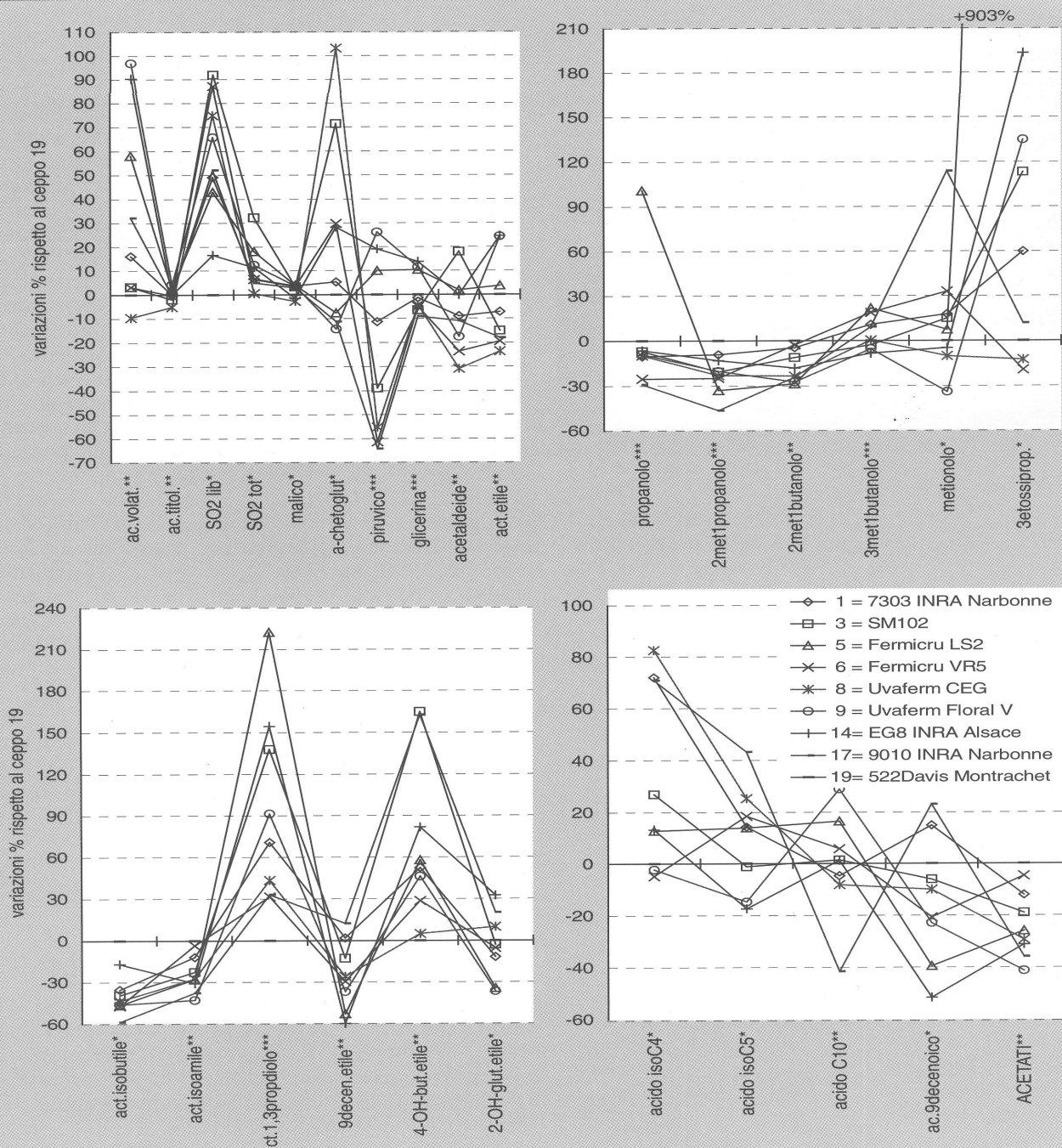
Confronto col ceppo 19 usato come riferimento internazionale.

I dati analitici medi di ogni ceppo sono stati rielaborati esprimendoli in termini per-

centuali rispetto al lievito 19. Questo, venduto sotto diversi nomi commerciali, corrisponde ad uno dei ceppi più noti a livello internazionale (Davis 522; Montrachet). Si riporta la Fig. 6 per facilità di comparazione tra lieviti. La quasi totalità dei lieviti ha prodotto livelli medi di acidità volatile più elevati rispetto al ceppo 19 e tutti hanno mostrato livelli medi di SO₂ libera maggiori. La gran parte dei ceppi tende a

dare valori mediamente inferiori rispetto al ceppo 19 per quanto riguarda i composti: propanolo, 2-metil-1-propanolo, 2-metil-1-butanolo, 3-metil-1-butanolo, acetati di isobutile, isoamile e n-esile, butirrato di etile. Viceversa, la gran parte dei lieviti testati mostra valori mediamente più elevati rispetto al ceppo 19 per quanto riguarda i composti: acetato di 1,3-propandiolo, 4-idrossibutirrato di etile e 3-etossipropanolo.

Fig. 6
Variazioni medie percentuali per i diversi composti calcolate per ceppo rispetto al lievito 19



Dal punto di vista tecnologico il ceppo 19 si è caratterizzato in particolare per la elevata produzione di acetati e per la SO_2 libera bassa.

Differenze in relazione alla "varietà".

Le differenze riscontrate su base statistica tra i vini ottenuti dai 4 mosti monovarietali non possono essere interpretate come differenze riconducibili alla "varietà" e conseguentemente, essendo

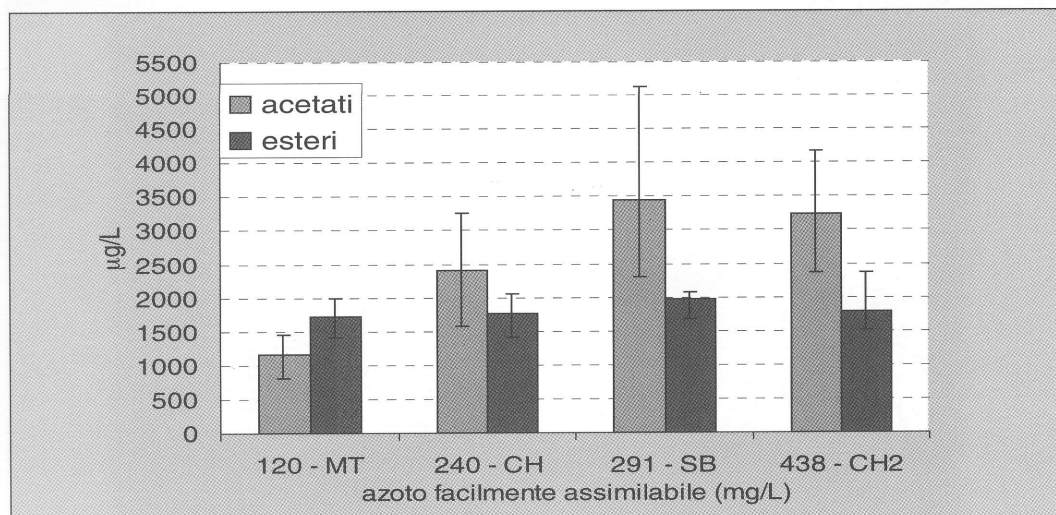
di poco interesse, non vengono riportate. Tuttavia, si può osservare come, ad esempio in relazione alla dotazione azotata iniziale, la sintesi di alcuni prodotti volatili ad essa legati quali gli acetati (Fig 7) mostri la nota evoluzione positiva con il crescere dell'azoto disponibile, almeno fino a valori di azoto dell'ordine dei 300 mg/L. Tale comportamento è stato seguito da tutti e nove i ceppi utilizzati.

Gli esteri, viceversa, non evidenziano nessun comportamento generalizzabile. I ceppi 5 e 17 sembrano caratterizzarsi con una certa costanza rispettivamente per i livelli più elevati e più bassi di esteri, indipendentemente dal mosto di partenza.

Risultati sensoriali.

All'analisi sensoriale (11 degustatori x 4 varietà x 9 ceppi) sono risultate differenze statisticamente signifi-

Fig. 7
Relazione tra il contenuto medio (n=9), massimo e minimo di acetati ed esteri nei vini e la dotazione in azoto assimilabile dei mosti monovarietali



cative ($Pr > F 0.0001$) tra i ceppi solamente per il descrittore "volatile", con la netta discriminazione dei valori più elevati dei lieviti 14 e 9 rispetto a tutti gli altri indistintamente. Questi ceppi avevano fatto registrare i massimi livelli chimico-analitici medi dello stesso parametro ed anche i valori medi sensorialmente misurati per gli altri ceppi concordano bene con i valori analitici. Benché non a livelli di significatività statistica, i giudizi sensoriali per il descrittore "fruttato" hanno collocato i ceppi 19 e 9 rispettivamente ai livelli medi massimo e minimo, individuando tendenzialmente i due estremi nel range degli "acetati" (Tab.3). Relativamente al giudizio di "piacere" i ceppi 6 e 14 sono stati collocati, pur senza significatività statistica, rispettivamente ai livelli medi massimo e minimo.

Conclusioni

Obiettivo del lavoro è stato quello di confrontare 9 ceppi di lievito, alcuni dei quali sicuramente presenti sul mercato con denominazioni commerciali diverse. La valutazione è stata basata sia sugli usuali parametri di controllo dell'andamento fermentativo sia, ed in particolare, sugli effetti sulla composizione aromatica dei vini.

Si è operato in condizioni di mini-vinificazione [Schaffer et Meyer, 1992] senza preventiva sterilizzazione dei mosti, con lo scopo di testare i lieviti nelle reali condizioni operative enologiche.

I risultati della sperimentazione sono riassunti nella Tab. 6, in cui le informazioni acquisite sono state interpretate e tradotte, a fini applicativi, in 3 fasce di giudizio: "+" (alto, elevato), "+/-" (medio) e "-" (basso/lento).

Abstract

Yeasts and wine aroma compounds: comparison of commercial strains.

The aim of this study was to evaluate - under real wine-making conditions and on 4 juices - the performances of nine commercial strains of yeast both in terms of fermentation kinetics and, more particularly, in terms of the aroma composition of the wine. Just before inoculum, the juices all had less than 300 000 cells/ml. The yeasts were: 7303 INRA Narbonne (coded 1), SM 102 (3), Fermicru LS2 (5), Fermicru VR5 (6), CEG Uvaferm (8), Floral V Uvaferm (9), EG8 INRA Alsace (14), 9010 INRA Narbonne (17) e 522 Davis Montrachet (19). With strains 5, 6, 8, 14, and secondarily 9, completion of fermentation

proved to be quicker while 17, 19, 3 and 1 all left residual sugars in at least one sample. Strains 9, 14, 5 and 17 had a volatile acidity mean level higher than the overall average; the lowest level was for strain 8. In relation to the levels of the substances linking the sulphur dioxide - acetaldehyde, piruvate and a-ketoglutarate - the level of the bound SO_2 was lower for strains 6, 8, and 17. The glycerol content for strains 14, 9 and 5 was significantly higher compared to that for strains 8, 6, 3, and 17. Strain 5, bayanus, proved to be the highest producer of 1-propanol and 3-ethoxypropanol. There proved to be statistical differences among the yeasts for the acetates but not for the esters. In particular, strains 19 and 6 stand out for their production of significantly higher levels of acetates compared to 8, 14, 17 and 9. Strain 17 proved to be significantly the greatest producer of methionol.

Si ringraziano il prof. G. Volonterio dell'Università di Milano, la dott. A. Dalla Serra, i tecnici P. Barchetti, M. Marchio, W. Agostini e M. Agostini del Centro Sperimentale dell'Istituto Agrario nonché l'enot. F. Coser.

Bibliografia

- Agenbach W.A. (1977) - A study of nitrogen content in relation to incomplete fermentations, yeast production and fermentation activity. - Proc. S.A.S.E.V., Stellenbosch, Cape Town, November 1977, pp 66-87
- Anocibar Belouqui A., Bertrand A. (1996) - Étude des composés soufrés "lourds" dans le vin. - In: Œnologie 95, 5e Symp. Int. Œnologie, Lonvaud-Funel A. ed., TEC&DOC, Paris, pp. 593-601
- Bely M., Sablayrolles J.M., Barre P. (1991) - Automatic detection and correction of assimilable nitrogen deficiency during alcoholic fermentation under enological conditions. - In: Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wine,

- Seattle, Washington, USA, 18-19 June 1991, J.M. Rantz ed., ASEV publ., pp 211-214
- Bertuccioli M., Montedoro G.F., Rosi I. (1984) - Recent developments in processing and fermentation technologies for improving the aroma of white wine. - Proc. Int. Symp. Cool. Climate Viticulture Enology, Oregon State University, publ. N°7628, Corvallis, pp. 460-478
- Ciolfi G., Di Stefano R. (1983) - I composti volatili ceduti dai lieviti durante la fermentazione: confronto fra stipiti della stessa specie e di specie diverse. - *Vigne-vini* (10, 12): 43-49
- Ciolfi G., Castino M., Di Stefano R. (1985a) - Studio della risposta metabolica di lieviti di specie diverse fermentanti un unico mosto a temperature comprese fra 10 e 40 °C. - Nota I - *Riv. Vitic. Enol.* (38, 9): 447-470
- Ciolfi G., Castino M., Di Stefano R. (1985b) - Studio della risposta metabolica di lieviti di specie diverse fermentanti un unico mosto a temperature comprese fra 10 e 40 °C. - Nota II - *Riv. Vitic. Enol.* (38, 10): 489-507
- De Revel G., Lonvaud-Funel A., Bertrand A. (1996) - Étude des composés dicarbinolés au cours des fermentations alcoolique et malolactique. - In: *Œnologie 95, 5e Symp. Int. Œnologie*, Lonvaud-Funel A. ed., TEC&DOC, Paris, pp. 321-325
- Di Stefano R., Maggiorotto G., Gianotti S. (1992) - Trasformazioni di nerolo e geraniolo indotte da lieviti - *Riv. Vitic. Enol.* (45,1): 43-49
- Drawert F., Rapp A. (1968) - Gaschromatographische untersuchung pflanzlicher aromen. - *Chromatographia* (1): 446-457
- Gabri G., Salvagiotto R. (1980) - Dosamento gas-cromatografico simultaneo della acetaldeide, del metanolo, dell'acetato e del lattato di etile, e degli alcoli superiori nei distillati alcolici. - *Vini d'Italia* (22,124): 37-43
- Herraiz T., Herrera M., Reglero G., Martín-Alvarez J.P., Cabezas M.D. (1990) - Changes in the composition of alcohols and aldehydes of C6 chain length during the alcoholic fermentation of grape must. - *J. Agric. Food. Chem.* (38): 969-972
- Lavigne V., Chatonnet P., Dubourdieu D. (1993) - Les défauts olfactifs de réduction d'origine fermentaire. - Actes Symp. Int. "Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins", Bayonove C., Crouzet J., Flanzky C., Martin J.C. & Sapis J.C. eds., *Revue Française Œnologie* publ., 9-10 Février 1993. Montpellier, France, pp. 288-296
- Margheri G., Versini G. (1979) - L'apporto delle tecniche moderne alla definizione ed al controllo della qualità dei vini. - *Vini d'Italia* (21, 119): 83-93
- Mayer M.K. (1977) - Progress recents dans la connaissance des phenomenes microbiologiques en vinification. - XVe Congrès Int. Vigne Vin, 24-30 juillet 1977, Nyon-Changins, Section II: Œnologie, pp. 43-55
- Meilgaard M.C. (1975) - Aroma volatiles in beer: purification, flavour, threshold and interaction. - In: *Geruch- und Geschmacksstoffe*, F. Drawert ed., H. Carl, Nürnberg, 1975, pp. 211-254
- Montedoro G.F., Ricci A. (1987) - I composti aromatici di derivazione fermentativa della produzione di vini provenienti da uve non aromatiche. - Proc. Int. Symp. "The aromatic substances in grapes and wines", S. Michele a/A, Italy, June 25-27, 1987. Scienza A. & Versini G. eds., pp. 133-157
- Nicolini G. (1996) - Composti aromatici dei vini bianchi: interazione con aspetti di tecnica enologica. - In: "Gli aromi in enologia: il punto sulle nuove conoscenze di indirizzo applicativo", Atti corso di aggiornamento nazionale A.E.I., Milano 6 luglio 1996
- Nicolini G., Versini G., Corradin L., Grandi C. (1997) - Un nuovo metodo valutativo dell'azoto assimilabile nei mosti e nei vini base Trento DOC. - Convegno "Nuove conoscenze nella produzione di Trento DOC.", S. Michele all'Adige, 7 novembre 1997.
- Nicolini G., Corradin L. (1998) - Il metodo ISMA per la determinazione in mosti d'uva dell'azoto prontamente assimilabile. - Workshop AEL, S. Michele all'Adige, 30 gennaio 1998
- Nicolini G., Stefanini M., Versini G., Gimenez Martinez R., A. Merz (1999) - Comportement agronomique et variabilité aromatique de vin de quelques clones de Müller-Thurgau dans le Trentin (Italie). *Riv. Vitic. Enol.* (52,2): in stampa
- Nielsen J.C., Pahl C. (1996) - Metabolism of citric acid by *Leuconostoc oenos* in direct inoculation effect on wine flavor. - In: *Œnologie 95, 5e Symp. Int. Œnologie*, Lonvaud-Funel A. ed., TEC&DOC, Paris, pp. 317-320
- Reed G., Nagodawithana T.W. (1991) - Yeast technology, 2nd edition - AVI Book, R. Van Nostrand publ., New York, pp. 179
- Schaeffer A., Meyer J.P. (1992) - La vinification des lots d'essai. - *Progrès Agricole et Viticole* (109, 7):164-166
- Schreier P. (1979) - Flavour composition of wines: a review. - *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* (12):59-111
- Suomalainen H., Lehtonen M. (1979) - The production of aroma compounds by yeast. - *J. Inst. Brew.* (85, 3):149-156
- Versini G., Nicolini G., Rapp A., Dalla Serra A., Amadei E. (1996a) - Topics on aroma compounds of northern Italian Müller-Thurgau wines. - In: Proc. 1st SASEV Int. Congress, Cape Town, South Africa, 8-10 November 1995, Goussard P.G., Archer E., Saayman D., Tromp A. & van Wyk J. eds., pp. 35-37
- Versini G., Rapp A., Dalla Serra A., Nicolini G., Barchetti P. (1996b) - Aroma profile differences among grape products from different geographic areas. - In: 11th Int. Œnological Symp., Sopron, Hungary, 3-5 June 1996, Lemperle E., Trogus H. & Figlestahler P. eds., pp. 402-424