

PRECURSORI DI AROMI SOLFORATI FRUTTATO-TROPICALI IN UVE DA IBRIDI FRUITY/TROPICAL SULFUR AROMA PRECURSORS IN HYBRID GRAPES

Roberto Larcher^{1,a}, Loris Tonidandel¹, Giorgio Nicolini¹, Tomás Román Villegas¹, Massimo Gardiman² and Riccardo Flamini²

¹FEM Fondazione Edmund Mach, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige, TN, Italy

²Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura – Centro Ricerca per la Viticoltura (CRA-VIT), Conegliano (TV), Italy

*Email: roberto.larcher@fmach.it

ABSTRACT

In the last century, several hybrid grape varieties were produced in order to overcome pest (phyloxera) and vine diseases, such as downy, powdery mildew. As they are not currently used to any significant extent either for wine-making in Europe, for technological and legal reasons (European Community Regulation, 1998) or for edible purposes, they are little studied and relegated to germplasm collections. However, there is a renewed interest for many of these varieties, due to their richness of secondary metabolites. As a matter of fact, the chemical metabolites of these grapes are often qualitatively and quantitatively superior to V. vinifera varieties. For instance, recent studies showed that several hybrids are very rich in monoglucoside and diglucoside anthocyanins [De Rosso et al., 2012], flavonol glycosides [De Rosso et al., 2014], and have relevant contents of trillinolein [De Marchi et al., 2012]. Varietal thiols (e.g. 3-mercaptohexan-1-ol; 3-mercaptohexyl acetate; 4-mercapto-4-methylpentan-2-one), belonging to an important class of aroma compounds characterized by extremely low sensory threshold, can impart strong tropical and citrus-like sensory notes to wine. Their occurrence in wine is related to the presence of non-volatile S-glutathionylated and S-cysteinylation precursors in grapes, even if other alternative pathways of synthesis have been proposed. Moreover, the cleavage of the S-cysteinylation precursors caused by mouth bacteria suggests a direct retronasal contribution of this precursors also in unfermented beverages [Starkenmann et al., 2008]. This study presents for the first time a detailed survey on the varietal thiol precursors in hybrid grapes with the aim of giving support to possible new uses in soft drinks and low-alcohol beverages production. The precursor's content measured, in particular in some red grapes, were very high with levels of GSH-3MH up to 1140 µg/Kg, while Cys-3MH was up to 47 µg/Kg.

INTRODUZIONE

Per fare fronte alla diffusione della fillossera e di malattie fungine quali peronospora e oidio, nel secolo scorso furono selezionate e quindi introdotte numerose nuove varietà ibride. A causa di limiti tecnologici e normativi (European Community Regulation, 1998) queste varietà sono attualmente poco diffuse e sono state per lo più relegate nelle collezioni di germoplasma. Recentemente si osserva tuttavia un crescente interesse per molte di esse in ragione della loro ricchezza di metaboliti secondari. Molti dei metaboliti sono addirittura qualitativamente e quantitativamente superiori in queste varietà rispetto alla V. vinifera. Recenti studi dimostrano come alcune di queste varietà siano spesso ricche di antocianine mono e diglucosilate [1], flavonoli glicosilati [2] e di trillinoleina [3]. Alcuni titoli varietali [4] hanno la peculiarità di impartire ai vini note sensoriali comunemente descritte come "tropicali". Parliamo nello specifico di 3-mercaptoesano (3MH; pompelmo), 3-mercaptoacetato (3MHA; frutto della passione / bosso / ginepro) e 4-mercapto-4-metil-pentano (4MMP; aroma complesso; dall'odore di gemme di ribes nero al "pipi de chat"), tutti dotati di soglia di percezione assai bassa, variabile tra qualche frazione e qualche decina di nanogrammi per litro. In alcune tipologie di vino essi determinano note così tipiche da aver fatto considerare in passato tali molecole come appunto "varietali". Molto citato è l'esempio del Sauvignon blanc dove nei prodotti migliori, oltre alle classiche note piraziniche "verdi, da peperone", note tropicali sfumano dal pompelmo al frutto della passione, alla ginepro, ai ribes. Sono state ipotizzate sinora tre possibili vie di sintesi di questi composti. La prima ipotizza, nel caso del 3MH, una addizione diretta nel mosto dell'acido solfidrico all'aldeide insatura [E]-2-esenale, e la successiva riduzione di tale addotto. Recentemente è stata suggerita anche una seconda via alternativa alla formazione di questo composto: la possibile addizione di anidride solforosa alla stessa aldeide seguita dalla riduzione di tale addotto da parte dei lieviti. La terza via invece individuata la presenza di precursori non volatili già nella bacca, giustificando così la definizione di varietale attribuita al carattere tiolico di alcuni vini. In particolare stiamo parlando dei precursori S-glutationil (Glu-) e S-cisteinil (Cys-) di 3MH e 4MMP. Nonostante i notevoli sforzi intrapresi e i pur innegabili successi ottenuti nella individuazione delle possibili vie biosintetiche, sembra che ancora oggi la genesi dei titoli liberi nei vini sia spiegata per non più del 10-30%. Allo stesso modo molto bassa, qualche unità μg , sembra essere la resa di conversione operata dai lieviti dai precursori solforati alle corrispondenti forme libere. Interessante infine è la capacità mostrata da alcuni batteri naturalmente presenti nel cavo orale di liberare i titoli dai loro precursori cisteinici, suggerendo un loro possibile contributo sensoriale diretto retronasale anche in bevande non fermentate [5].

Questo studio indaga per la prima volta il contenuto di precursori dei titoli varietali presenti in 38 uve ibride, anche con lo scopo di fornire un supporto alla loro valorizzazione nella produzione di soft drink o bevande a bassa gradazione alcolica caratterizzate da note sensoriali fruttate e tropicali.

MATERIALI E METODI

Reattivi e materiali.

L'acqua ultrapura era prodotta con un sistema Arim Pro UV Di Ultrapore Water (Sartorius, Göttingen, Germany). Acido formico e acetoneitrile di grado LC-MS, potassio metabisolfito $\geq 97\%$ erano di Sigma-Aldrich (Milan, Italy). d3-(R/S)-3-S-cisteinylhexan-1-ol, d3-(R/S)-glutathionylhexan-1-ol, e i relativi composti non deuterati (Cys-3MH and GSH-3MH) erano forniti da Buchem B.V. (Apeldoorn, The Netherlands).

Nel 2013, presso la collezione di germoplasma del Centro Ricerca per la Viticoltura (CRA-VIT), Conegliano (Trevise, Italy), sono state raccolte, a maturità tecnologica, 38 uve di diverse varietà ibride, 15 bianche e 23 rosse, (tabella 1).

Per ogni varietà sono stati campionati, in maniera casuale e da più grappoli, 100 acini sani e con peduncolo, ponendoli rapidamente a 2-4°C per il trasporto e la successiva lavorazione. Il campione è stato quindi pesato, posto in un bicchiere da 500 mL e aggiunto di 80 mL di metanolo e 50 mg di bisolfito di potassio. Il tutto è stato quindi omogeneizzato con Ultraturax e conservato a -20 °C per l'analisi. Ogni campione prima dell'analisi LC/MSMS è stato diluito 1:5 con metanolo, aggiunto degli standard interni (d3-GSH-3MH e d3-Cys-3MH; entrambi a 35 µg/L e filtrato 0.22 µm (Millex-GV, Millipore).

RISULTATI E DISCUSSIONE

I contenuti di GSH-3MH misurati nelle uve delle varietà ibride andavano da un minimo di 4.4 µg/Kg sino ad un massimo di 1140 µg/Kg, più alto di quello osservato per la varietà Sauvignon blanc (il volume di estrazione di mosto da uva era di circa 0.70 L/Kg), mentre il Cys-3MH variava da un minimo di 0.28 µg/Kg ad un massimo di 47 µg/Kg, con valori più bassi rispetto a quelli riportati dagli stessi autori [6,8,9]. I contenuti delle uve bianche e rosse sono risultati statisticamente differenziabili - con approcci parametrici (Unequal Number HSD Tukey's test, HSD) e non parametrici (Mann-Whitney U test, MW; Kolmogorov-Smirnov test, KS) - sia per il GSH-3MH che per il Cys-3MH, con valori mediamente più alti di entrambi i precursori nelle uve rosse (tabella 2). Non è risultato invece differenziabile il rapporto tra i precursori nelle due tipologie di uve.

Nelle figure 1 e 2 sono riportate le distribuzioni dei contenuti di GSH-3MH e Cys-3MH nelle uve bianche e rosse. I contenuti più ragguardevoli di GSH-3MH sono risultati presenti in ordine decrescente nelle uve rosse Seibel 19881, 8357 e 8745, seguite dall'uva bianca Galbey Treblanc, tutte comunque con contenuti al di sopra degli 800 µg/Kg. Le maggiori dotazioni di Cys-3MH caratterizzavano invece, a decrescere, Seyve Villard 12.390, Seibel 13.666 e Regent (uva rosse), e Seyve Villard 23512 (bianca), con contenuti sempre superiori ai 20 µg/Kg.

Il rapporto medio dei contenuti di Cys-3MH / GSH-3MH era pari a circa 0.09, minore di quello osservato nel Sauvignon blanc di circa 0.4 [6]. In figura 3 sono riportate le distribuzioni del rapporto tra i contenuti di Cys-3MH e GSH-3MH. I contenuti dei precursori del 4-mercapto-4-metil-pentano sono risultati invece sempre molto bassi e al di sotto di 0.01 µg/Kg.

Figura 1. Contenuti di 3-S-glutathionyl-hexan-1-ol nelle uve ibride bianche e rosse studiate.

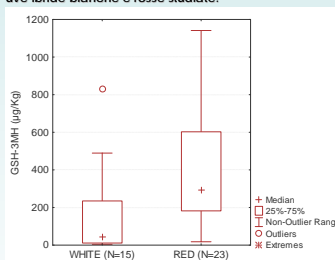


Figura 2. Contenuti di 3-S-cisteinyl-hexan-1-ol nelle uve ibride bianche e rosse.

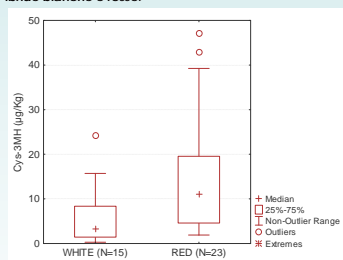
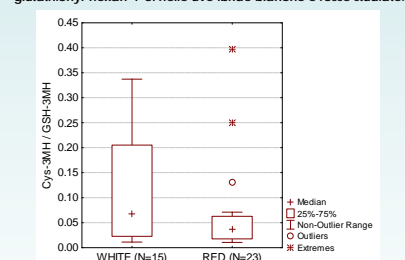


Figura 3. Rapporto tra 3-S-cisteinyl-hexan-1-ol e 3-S-glutathionyl-hexan-1-ol nelle uve ibride bianche e rosse studiate.



CONCLUSIONI

I risultati ottenuti mostrano come alcune delle varietà ibride considerate, soprattutto a bacca rossa, siano piuttosto ricche di precursore glutationil del 3MH. Queste osservazioni mettono in luce l'elevata potenzialità di queste uve che nella trasformazione a succhi di frutta o soft drink, attraverso adeguati trattamenti enzimatici o biologici per la liberazione delle forme libere, potrebbero essere valorizzate dall'espressione di note fruttate tropicali.

REFERENCES

- M. De Rosso, L. Tonidandel, R. Larcher, G. Nicolini, V. Ruggeri, A. Dalla Vedova, F. De Marchi, Gardiman M., Flamini R., Anal. Chim. Acta 732, 120-129 (2012)
- M. De Rosso, L. Tonidandel, R. Larcher, G. Nicolini, A. Dalla Vedova, F. De Marchi, M. Gardiman, M. Giust, R. Flamini, Food Chem. 1635, 244-251 (2014)
- F. De Marchi, R. Seraglia, L. Molin, P. Traldi, M. De Rosso, A. Panighel, A. Dalla Vedova, M. Gardiman, M. Giust, R. Flamini, J. Mass Spectrom. 47, 1113-1119 (2012)
- A. Roland, R. Schneider, A. Razungles, F. Caveller, Chemical Reviews, 111, 7355-7376 (2011)
- C. Starkenmann, B. Le Calvé, Y. Niclass, I. Cayeux, S. Beccucci, M. Troccaz, J. Agric. Food Chem., 56, 9575-9580 (2008)
- R. Larcher, G. Nicolini, L. Tonidandel, T. Román Villegas, M. Malacarne, B. Fedrizzi, Aust. J. Grape Wine R., 19, 342-348 (2013)
- R. Larcher, L. Tonidandel, T. Román Villegas, T. Nardin, B. Fedrizzi, G. Nicolini, Food Chemistry 166, 56-61 (2015)
- D.L. Capone and D.W. Jeffery, J. Agric. Food Chem., 59, 4659-4667 (2011)
- T. Allen, M. Herbst-Johnstone, M. Girault, P. Butler, G. Logan, S. Jouanneau, L. Nicolau, P.A. Kilmartin, J. Agric. Food Chem., 59, 10641-10650 (2011)