

DIFFERENZE CLONALI NELLA DOTAZIONE DI PRECURSORI DEI TIOLI VARIETALI IN GEWÜRZTRAMINER

Giorgio NICOLINI*, Umberto MALOSSINI, Loris TONIDANDEL, Tomás ROMÁN

Centro Trasferimento Tecnologico, Fondazione E. Mach, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN)

*autore corrispondente: giorgio.nicolini@fmach.it

Introduzione

Com'è noto, la tipicità dell'aroma del vino Gewürztraminer, *alias* Traminer aromatico (TRAM), è in buona parte riconducibile a molecole di origine essenzialmente varietale e fermentativa, e un ruolo importante rivestono i terpeni, tra le prime, e i vinilfenoli tra le seconde. Relativamente ai terpeni sono riportate differenze significative a livello clonale soprattutto in termini di concentrazione di geraniolo, nerolo e citronellolo, sia nelle loro forme libere che glicosilate, in relazione positiva con la tipicità (Marais e Rapp 1991; Versini *et al.* 1989, 1990; Schaeffer *et al.* 1990; Dirninger *et al.* 1998). Al geraniolo - più abbondante in uve e mosti che non nei vini (Mandery 1983; Versini 1985; Marais 1987), complessivamente anche fino a qualche mg/L - va in buona parte attribuito il tipico sentore floreale del TRAM, cui contribuisce fortemente anche un altro terpene, l'ossido di rosa (Schreier *et al.* 1977; Guth, 1997a,b; Carlin, 1998; Ong e Acree 1999) e, in particolare, il suo diastereoisomero *l-cis* grazie alla soglia organolettica di soli 0.1 - 0.5 µg/L (Ong e Acree 1999; Guth 1997b; Fenoll *et al.* 2009; Kreis e Mosandl 1993; Wüst e Mosandl 1999; Yamamoto *et al.* 2002). Complessivamente, si può sostenere che TRAM abbia, sotto il profilo terpenico, rilevanti analogie con la Malvasia di Candia aromatica (Versini *et al.* 1990; Nicolini *et al.* 2009).

Uve e mosti di questa varietà hanno evidenziato anche la presenza di altri composti di origine primaria, in particolare alcuni precursori del 3-mercaptoesanolo (3MH) coniugati alla cisteina (Cys-3MH) e al glutatione (GSH-3MH) (Dubourdiu e Tominaga 2009; Roland *et al.* 2010 a,b; Concejero *et al.* 2014; Román *et al.* 2016); questi, mediante adeguati approcci enologici funzionali all'incremento delle corrispondenti forme libere, hanno dimostrato di poter aumentare significativamente la tipicità aromatica del TRAM con incrementi delle note agrumate, tipo pompelmo (Román *et al.* 2018). Solo l'uso di adeguati ceppi di lievito dotati di attività beta-lasica, congiuntamente all'applicazione di altre opzioni enologiche e all'attenzione alla minimizzazione in primo luogo della presenza di residui di rame, può peraltro permettere il manifestarsi di tali tioli a livelli di percepibilità sensoriale e, nel caso del TRAM, va fatto riferimento ai soli precursori del 3MH, non essendo stati misurati quantitativi tecnologicamente rilevanti dell'altro importante tiolo varietale, il 4-mercapto-4-metil-pentan-2-one.

Se la variabilità aromatica su base terpenica di biotipi di molte varietà di *Vitis* è già stata ampiamente documentata, con la messa in evidenza - nel caso del TRAM (Malossini *et al.* 2002, WWW.INFOVINE.COM - RIVISTA INTERNET DI VITICOLTURA ED ENOLOGIA, 2019, N. 6/1

2003) - di rilevanti differenze clonali, poco è invece riportato circa l'esistenza di differenze clonali su base tioli varietali (Capone *et al.* 2011; Chen *et al.* 2018); questo lavoro intende approfondire proprio questo aspetto.

Materiali e metodi

Sei tra cloni ufficiali (ISMA-AVIT 904, ISMA 916, ISMA 918, Lb14) e biotipi (906, 1101) di Gewürztraminer sono stati utilizzati nella sperimentazione. Le uve sono state raccolte a maturazione tecnologica, compatibilmente con le condizioni dell'annata, nelle vendemmie 2015, 2016 e 2017 in cinque appezzamenti (Tabella 1) collocati tra i 230 e i 350 m s.l.m. in Trentino (Italia).

Tabella 1. Caratteristiche degli appezzamenti

Appezzamento	Comune	Altitudine (m.a.s.l.)	Sistema di allevamento	Orientamento del filare
Marchi	Faedo	313	Pergola	SW-NE
Filippi	S.Michele	268	Pergola	N-S
Sarche	Sarche	250	Guyot	N-S
Padaro	Avio	353	Guyot	W-E
Mazzavacche	S.Michele	230	Pergola	SW-NE

Uve e mosti sono stati processati e analizzati, in triplicato, relativamente alla concentrazione di GSH-3MH e Cys-3MH, utilizzando un UHPLC dotato di detector di massa con triplo quadrupolo (Larcher *et al.* 2013). L'analisi dei dati è stata realizzata con Statistica 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Risultati e discussione

In relazione alle motivazioni del presente scritto, più tecniche che solo scientifiche, in questa sede non si discuterà su base statistica (ANOVA, HSD test di Tukey, $p < 0.05$) la variabilità osservata tra le annate e tra gli appezzamenti, in quanto ampiamente attesa e comunque riportata nelle tabelle 2 e 3; ci si soffermerà, invece, sulle differenze più interessanti riscontrate tra i cloni.

Tabella 2. Variabilità osservata tra le annate (LEGENDA: APA = azoto prontamente assimilabile)

Anno	2015		2016		2017	
	Media (N=90)		Media (N=90)		Media (N=90)	
SST (°Brix)	21.6	b	22.2	a	22.1	a
pH	3.52		3.54		3.51	
Acidità titolabile (g/L)	3.27	c	4.15	b	4.30	a
Acido tartarico (g/L)	6.63	b	6.71	b	6.83	a
Acido malico (g/L)	1.13	c	2.08	a	1.99	b
Potassio (g/L)	1.92	c	2.02	a	1.97	b
APA(mg/L)	138	c	186	a	181	b
GSH-3MH (µg/L)	103.7	b	113.3	a	78.9	c
Cys-3MH (µg/L)	19.1		19.9		19.5	
GSH-3MH (nmol/L)	254.8	b	278.2	a	193.8	c
Cys-3MH (nmol/L)	86.4		90.1		88.3	
Somma dei precursori (nmol/L)	341.1	b	368.2	a	282.1	c
GSH-/Cys-3MH (mol/mol)	2.90	b	3.13	a	2.36	c

Tabella 3. Variabilità osservata tra gli appezzamenti

Appezzamento	Filippi		Marchi		Padaro		Sarthe		Mazzavacche	
	Media (N=54)		Media (N=54)		Media (N=54)		Media (N=54)		Media (N=54)	
SST (°Brix)	21.9	b	21.5	b	22.8	a	21.7	b	21.8	b
pH	3.56	bc	3.50	c	3.66	a	3.28	d	3.61	ab
Acidità titolabile (g/L)	3.83	b	4.17	a	3.51	c	4.09	a	3.93	b
Acido tartarico (g/L)	7.06	a	6.56	b	7.03	a	6.94	a	6.04	c
Acido malico (g/L)	1.57	b	2.22	a	1.62	b	1.00	c	2.25	a
Potassio (g/L)	2.06	b	1.98	c	2.20	a	1.53	d	2.09	b
APA (mg/L)	136	d	157	c	167	b	171	b	209	a
GSH-3MH (µg/L)	90.5	bc	94.6	b	87.3	c	107.3	a	113.4	a
Cys-3MH (µg/L)	19.3	b	15.9	c	19.6	b	24.6	a	18.2	b
GSH-3MH (nmol/L)	222.4	bc	232.3	b	214.5	c	263.6	a	278.5	a
Cys-3MH (nmol/L)	87.1	b	71.9	c	88.6	b	111.1	a	82.4	b
Somma dei precursori (nmol/L)	309.4	b	304.2	b	303.1	b	374.8	a	360.9	a
GSH-/Cys-3MH (mol/mol)	2.57	b	3.14	a	2.56	b	2.44	b	3.26	a

Differenze clonali nella composizione di base

Tra i cloni/biotipi si sono riscontrate differenze statisticamente significative per tutti i parametri compositivi di base e per quelli relativi ai precursori aromatici dei tioli varietali. La variabilità media interclonale relativa ai parametri di base (Fig. 1) è stata:

- per i solidi solubili totali (SST) pari a 0.9°Brix, con i valori medi massimo e minimo rispettivamente per il biotipo 1101 e per il clone 904, gli unici a differenziarsi statisticamente tra loro;
- di 0.14 unità per il pH, con i massimi e i minimi rispettivamente per il biotipo 1101 e per il clone 916, unici tra loro discriminabili;

- di 0.74 g/L per l'acidità titolabile, di 0.36 g/L per il malico e di 0.20 g/L per il potassio, con i valori medi estremi nel caso del biotipo 1101 e del clone 916, statisticamente differenti sia tra loro che dagli altri quattro materiali sotto indagine, tra loro non discriminabili;
- di 0.31 g/L per l'acido tartarico, con una differenziazione statistica più articolata tra i materiali vegetali allo studio e valori medi estremi per i due biotipi - 906 e 1101 - non ancora omologati.

La variabilità media interclonale relativa all'azoto prontamente assimilabile (APA; Fig. 2) è stata di 20 mg/L, con i cloni 904, 1101, 906 e Lb14 significativamente differenti, per i loro valori medi più bassi, rispetto a 918 e 916. I dati dell'APA sembrano confermare la tendenza già osservata (Nicolini *et al.* 2004) del TRAM a fornire mosti non particolarmente problematici in termini di disponibilità azotata (Fig. 3).

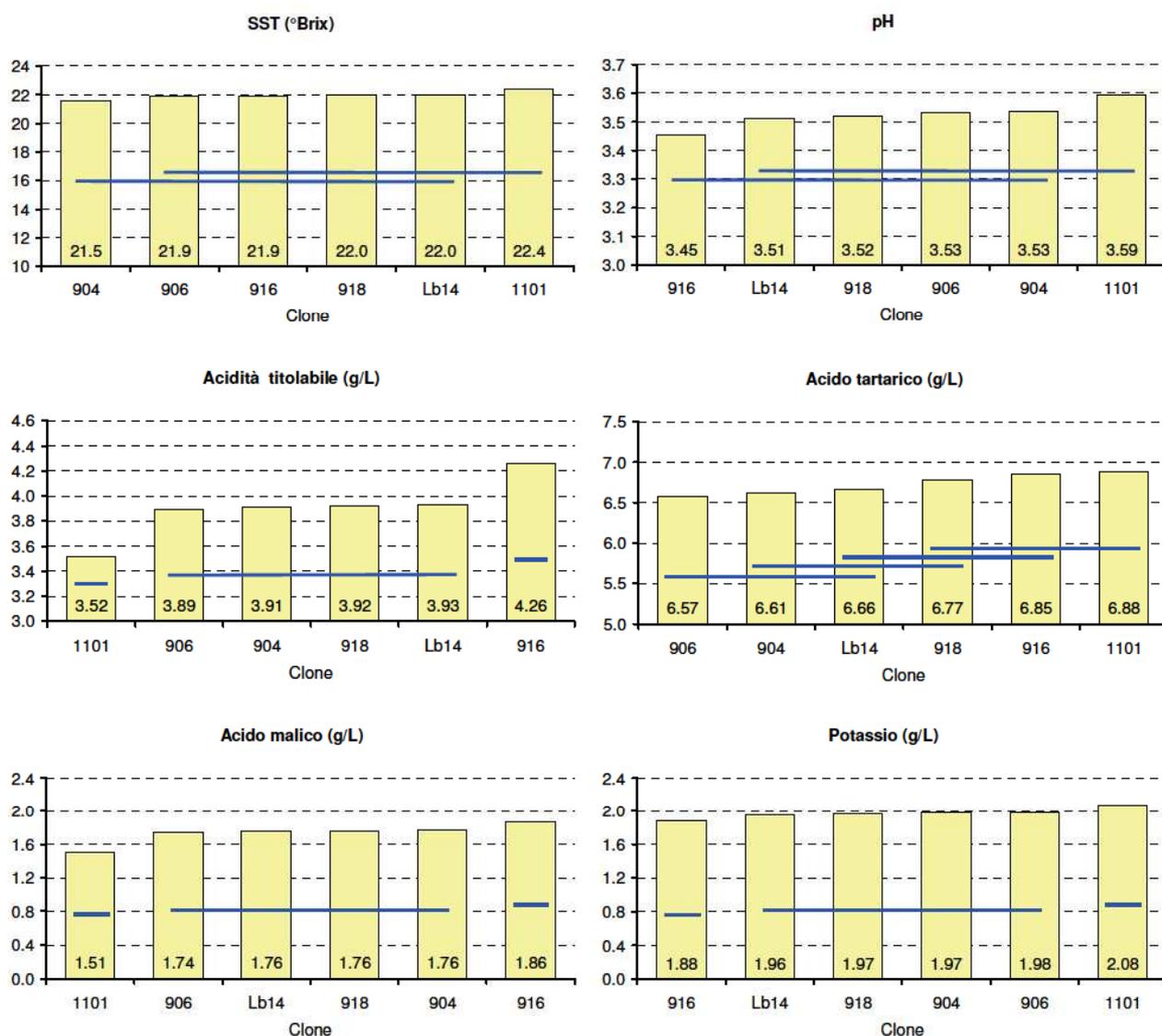


Figura 1. Variabilità clonale per i parametri compositivi di base dei mosti (valori medi; n=45). Cloni collegati dalla stessa linea continua non sono statisticamente differenti (test HSD di Tukey, p<0.05)

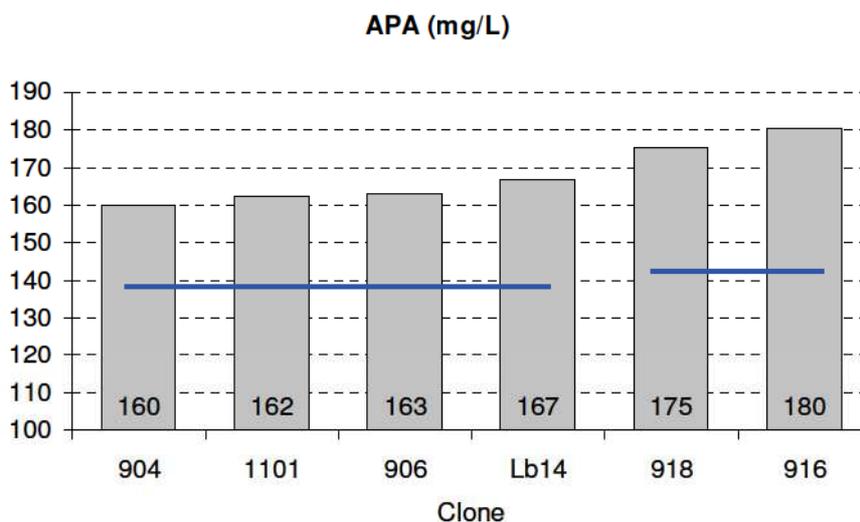


Figura 2. Variabilità clonale relativamente all'azoto prontamente assimilabile nei mosti. (Vedi Figura 1)

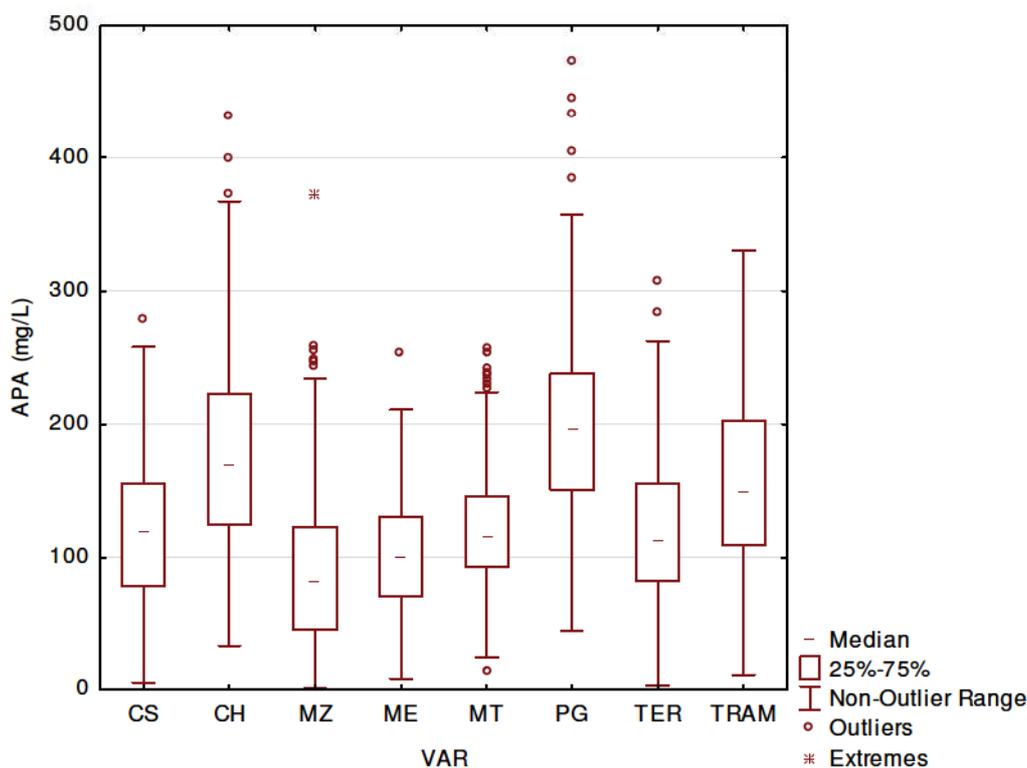


Figura 3. Distribuzione varietale dell'azoto prontamente assimilabile nei mosti 2007-2015, campionati settimanalmente in Trentino nel mese precedente la raccolta tecnologica.

(LEGENDA: CS: Cabernet Sauvignon, N.=222; CH: Chardonnay, 457; MZ: Marzemino, 258; ME: Merlot, 299; MT: Mueller Thurgau, 283; PG: Pinot grigio, 229; TER: Teroldego, 206; TRAM: Traminer aromatico, 212)

Differenze clonali nei precursori dei tioli varietali

La variabilità media interclonale relativa ai precursori del 3-mercaptoesano (Tabella 4) è stata di:

- 14.4 µg/L per il GSH-3MH, con i massimi e i minimi rispettivamente per il biotipo 906 (105.6 µg/L, significativamente differente da tutti ad esclusione del clone Lb14) e il clone ISMA 916 (91.3 µg/L);
- 4.7 µg/L per il Cys-3MH, con i massimi e i minimi rispettivamente per 906 (21.4 µg/L, non diverso da Lb14 e 1101) e ISMA 916 (16.7 µg/L, statisticamente meno dotato rispetto a tutti gli altri).

Tali valori sono sostanzialmente in accordo con la letteratura (Capone *et al.* 2010; Roland *et al.* 2010 a,b); il GSH-3MH è risultato prevalere sul Cys-3MH - rappresentando in termini molarari circa il 73 % dei precursori totali - in accordo con buona parte della letteratura su mosti e vini e pur con differenze a testimonianza del peso dell'effetto matrice e della tecnologia applicata (Capone *et al.* 2010; Allen *et al.* 2011; Roland *et al.* 2011; Pinu *et al.* 2012; Concejero *et al.* 2014).

Tabella 4. Variabilità osservata tra i cloni o biotipi di Gewürztraminer.

Clone	ISMA-AVIT 904		906		ISMA 916		ISMA 918		1101		Lb14	
	Media (N=45)		Media (N=45)		Media (N=45)		Media (N=45)		Media (N=45)		Media (N=45)	
GSH-3MH (µg/L)	98.0	bc	105.6	a	91.3	c	95.7	c	97.8	bc	103.5	ab
Cys-3MH (µg/L)	19.5	bc	21.4	a	16.7	d	18.3	c	20.2	ab	21.0	ab

Ipotizzando una liberazione percentuale del 3 % dei due precursori tiolici a seguito del processo fermentativo, nonché una esterificazione ad acetato di 3-mercaptoesile (con soglia organolettica pari a ca. 1/10 di quella del corrispondente alcol) del 6.5 %, pari alla media di quella di Fig. 4, misurata per due comuni ceppi di lievito commerciali cosiddetti tiolici, le differenze tra i cloni potrebbero tradursi in vino in oltre 7 Unità di Flavour.

Complessivamente (Fig. 5), la variabilità in termini di differenza media tra i cloni è risultata pari a 56.5 nmol/L, tendenzialmente inferiore rispetto a quella osservata tra le annate (86.2 nmol/L) o tra le zone (71.7 nmol/L), ma anche a quella che è riportata in letteratura ad esempio in relazione a trattamenti di concimazione (Choné *et al.* 2006). Il biotipo 906 sembrerebbe fornire - rispetto a ISMA 916, ISMA 918, ISMA-AVIT 904 e 1101 - maggiori livelli di precursori tiolici, la cui estrinsecazione è comunque legata - com'è noto - a una nutrita serie di ulteriori fattori microbiologici e tecnologici.

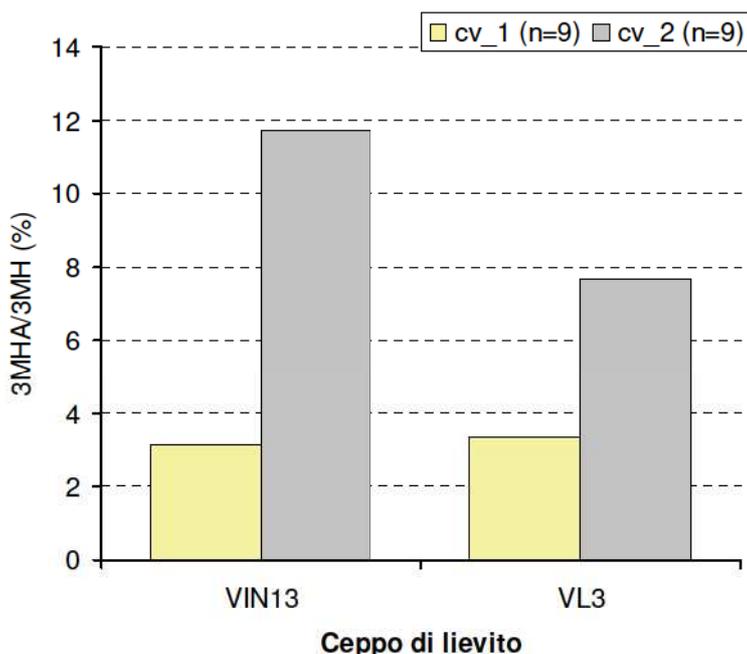


Figura 4. Variabilità del rapporto percentuale di esterificazione del 3-mercaptoesano (3MH) ad acetato di 3-mercaptoesile (3MHA) osservato in vini bianchi prodotti in scala semi-industriale da mosti (n=9) di 2 differenti cultivar fermentati con 2 comuni lieviti commerciali "tirolici".

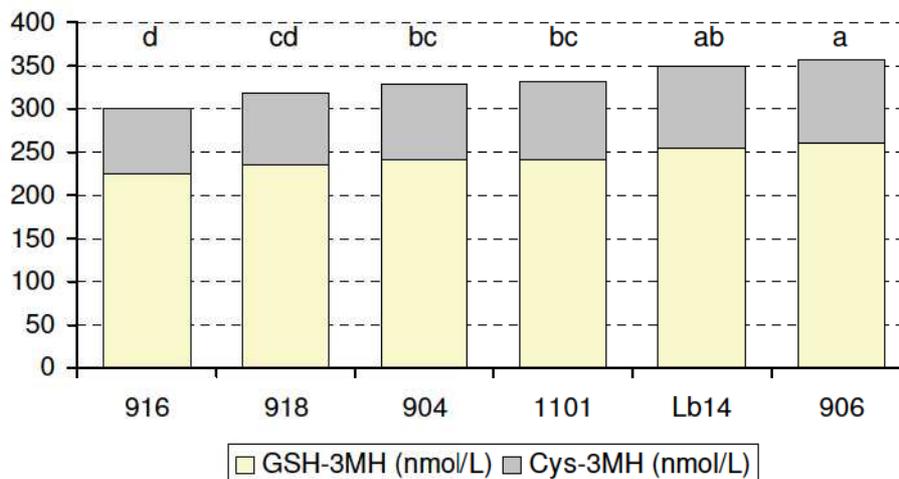


Figura 5. Variabilità clonale relativamente ai precursori del mercaptoesano. Sommatorie molari che condividono una stessa lettera non sono statisticamente differenti (test HSD di Tukey, $p < 0.05$)

Considerazioni conclusive

Il lavoro ha permesso di mettere in evidenza potenziali differenze nell'espressione tiolica dei vini riconducibili al clone o biotipo di Gewürztraminer utilizzato; l'entità delle differenze clonali osservate appare nel complesso non trascurabile, benché di minore rilievo enologico complessivo rispetto a quanto è noto derivare dalla tecnica di vinificazione, dalla scelta del lievito e sua nutrizione e, probabilmente, anche dalle opzioni agronomiche di concimazione applicate.

Diversamente, quindi, da quanto avviene per altri marker aromatici della varietà, principalmente terpenici, da un punto di vista enologico non si può considerare il clone come la principale delle fonti di variazione da ottimizzare per favorire l'esaltazione della nota tiolico-agrumata che contribuisce alla tipicità del Gewürztraminer. Tuttavia, al momento dell'impianto del vigneto è opportuno si tenga conto di queste nuove conoscenze sulle potenzialità clonali nella caratterizzazione aromatica e nel contributo alla complessità dei vini.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano CAVIT s.c. per il supporto alla sperimentazione.

Riferimenti bibliografici

- Allen T., Herbst-Johnstone M., Girault M., Butler P., Logan G., Jouanneau S., Nicolau L., Kilmartin P. A. (2011). Influence of grape-harvesting steps on varietal thiol aromas in Sauvignon Blanc wines. *J. Agric. Food Chem.* 59(19), 10641-10650.
- Capone D. L., Sefton M. A., Hayasaka Y., Jeffery D. W. (2010). Analysis of precursors to wine odorant 3-mercaptohexan-1-ol using HPLC-MS/MS: resolution and quantitation of diastereomers of 3-S-cysteinylhexan-1-ol and 3-S-glutathionylhexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* 58(3), 1390-1395.
- Capone, D. L., Sefton, M. A. & Jeffery, D. W. (2011). Application of a modified method for 3-mercaptohexan-1-ol determination to investigate the relationship between free thiol and related conjugates in grape juice and wine. *J. Agric. Food Chem.* 59(9), 4649-4658.
- Chen L., Capone D.L., Tondini F.A., Jeffery D.W. (2018). Chiral polyfunctional thiols and their conjugated precursors upon winemaking with five *Vitis vinifera* Sauvignon blanc clones. *J. Agric. Food Chem.* 66(18), 4674-4682.
- Choné X., Lavigne-Cruège V., Tominaga T., van Leeuwen C., Castagnède C., Saucier C., Dubourdieu D. (2006). Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potential: flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis vinifera* L. Cv Sauvignon blanc grape juice. *J. Int. Vigne Vin*, 40(1), 1-6.
- Concejero B., Peña-Gallego A., Fernandez-Zurbano P., Hernández-Orte P., Ferreira, V. (2014). Direct accurate analysis of cysteinylated and glutathionylated precursors of 4-mercapto-4-methyl-2-pentanone and 3-mercaptohexan-1-ol in juice by ultrahigh performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 812, 250-257.
- Dubourdieu D., Tominaga T. (2009). Polyfunctional thiol compounds. In: *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 275-293). Springer, New York.
- Carlin S. (1998). Metodi di arricchimento di composti dell'aroma per una possibile tipicizzazione di vini Traminer. Tesi di laurea, a.a. 1997/98, Facoltà di Agraria dell'Università di Udine.
- Dirninger N., Duc D., Schneider C., Dumas V., Asselin C., Schäffer A. (1998). Qualité des Wine quality and 'terroirs': Influence of environmental characteristics on the Gewurztraminer flavor profile. *Sci. Aliments*, 18, 193-209.
- Fenoll J., Manso A., Hellín P., Ruiz L., Flores P. (2009). Changes in the aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Muscat Hamburg during ripening. *Food Chem.* 2009, 114, 420-428.
- Guth H. (1997a). Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3022-3026.
- Guth H. (1997b). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3027-3032.
- Kreis P., Mosandl A. (1993). Chiral components in essential oils. Part XIII. Simultaneous clarity evaluation of geranium oil constituents. *Flavour Fragrance J.*, 8, 161-168.
- Larcher R., Nicolini G., Tonidandel L., Román Villegas T., Malacarne M., Fedrizzi B. (2013). Influence of oxygen availability during skin-contact maceration on the formation of precursors of 3-mercaptohexan-1-ol in Müller-Thurgau and Sauvignon Blanc grapes. *Aus. J. Grape Wine Res.* 19(3), 342-348.
- Malossini U., Nicolini G., Versini G., Roncador I., Vindimian M.E., Carlin S. (2002). Aggiornamenti e nuove omologazioni di Traminer aromatico. *L'Informatore Agrario* 58(17), 51-55.
- Malossini U., Ciccotti A.M., Bragagna P., Vindimian M.E., Moser S., Versini G., Nicolini G. (2003). Changes in agronomical and oenological performances of clones of the grapevine cv

- Gewürztraminer after GFLV elimination by heat therapy. In: Proc. 14th ICVG, meeting of the International council for the study of virus and virus-free diseases of the grapevine: 252-255.
- Mandery H. (1983). Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Traubenmost- und Weinaromas: Auswirkung der Süßung auf die Aromazusammensetzung". Dissertation, Universität Karlsruhe.
 - Marais J. (1987). Terpene concentrations and wine quality of *Vitis vinifera* L. cv. Gewürztraminer as affected by grape maturity and cellar practices. *Vitis*, 26, 231-245.
 - Marais J., Rapp A. (1991). The selection of aroma-rich clones of *Vitis vinifera* L. Gewürztraminer and Weisser Riesling by means of terpene analyses. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 12(1), 51-56.
 - Nicolini G., Larcher R., Versini G. (2004). Status of yeast assimilable nitrogen in Italian grape musts, and effect of variety, ripening and vintage. *Vitis* 43(2), 89-96.
 - Nicolini G., Moser S., Larcher R., Versini G. (2009). Caratterizzazione della Malvasia aromatica di Candia coltivata sulle colline parmensi. *L'Enologo* 45(11), 93-98.
 - Ong P.K.C., Acree T.E. (1999). Similarities in the aroma chemistry of Gewürztraminer variety wines and lychee (*Lichi chinesis* Sonn.) fruit. *J. Agr. Food Chem.* 47, 665-670.
 - Pinu F. R., Jouanneau S., Nicolau L., Gardner R. C., Villas-Boas S. G. (2012). Concentrations of the volatile thiol 3-mercaptohexanol in Sauvignon Blanc wines: No correlation with juice precursors. *Am. J. Enol. Vitic.* 63, 407-412.
 - Roland A., Schneider R., Le Guernevé C., Razungles A., Cavelier F. (2010a). Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine. *Food Chem.* 121, 847-855.
 - Roland A., Vialaret J., Moniatte M., Rigou P., Razungles A., Schneider R. (2010b). Validation of a nanoliquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the identification and the accurate quantification by isotopic dilution of glutathionylated and cysteinylated precursors of 3-mercaptohexan-1-ol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in white grape juices. *J. Chromatography A* 1217, 1626-1635.
 - Roland A., Schneider R., Charrier F., Cavelier F., Rossignol M., Razungles A. (2011). Distribution of varietal thiol precursors in the skin and the pulp of Melon B. and Sauvignon Blanc grapes. *Food Chem.* 125(1), 139-144.
 - Schaeffer A., Dirninger N., Boulard G., Jaegli N. (1990). Differenzierung zwischen Traminer und Gewürztraminer. Atti del Simposio: Traminer aromatico, Ed. Ass. Agr. Prov. Aut. - C.C.I.A.A. di BZ, 16-20.
 - Schreier P., Drawert F., Junker A. (1977). Gaschromatographische Bestimmung der Inhaltsstoffe von Gärungsgetränken. X. Quantitative Bestimmung von Weinaromastoffen im µg/l-Bereich. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 5, 45-52.
 - Román T., Tonidandel L., Larcher R., Celotti E., Nicolini G. (2018). Importance of polyfunctional thiols on semi-industrial Gewürztraminer wines and the correlation to technological treatments. *Eur. Food Res. Technol.* 244 (2018), 379-386.
 - Román Villegas T., Tonidandel L., Fedrizzi B., Larcher R., Nicolini G. (2016). Novel technological strategies to enhance tropical thiol precursors in winemaking by-products. *Food Chem.* 207, 16-19.
 - Versini G. (1985). Sull'aroma del vino «Traminer aromatico» o «Gewürztraminer»: l'interessante ed originale apporto organolettico del 4-vinilguaiacolo rispetto alla componente terpenica. *Vignevini* 12(1/2), 57-65.
 - Versini G., Rapp A., Volkmann C., Scienza A. (1989). Flavour compounds of clones from different grape varieties. Proc. of 5th Int. Symp. on Grape Breeding, St. Martin/Pfalz (D)12-16 Sept. 1989. *Vitis, Special Issue (1990)*, 513-524.
 - Versini G., Dalla Serra A., Scienza A., Barchetti P. (1990). Particolarità compositiva dell'uva e del vino Traminer aromatico. Atti del Simposio: Traminer aromatico, Ed. Ass. Agr. Prov. Aut. - C.C.I.A.A. di BZ, 59-71.
 - Wüst M., Mosandl A. (1999). Important chiral monoterpenoid ethers in flavours and essential oils - enantioselective analysis and biogenesis. *Eur. Food Res. Technol.* 209 (1), 3-11.
 - Yamamoto T., Matsuda H., Utsumi Y., Hagiwara T., Kanisawa T. (2002). Synthesis and odor of optically active rose oxide. *Tetrahedron Lett.* 43(50), 9077-9080.