



# LAFFORT

*l'œnologie par nature*



## INFO

NUMERO 65 - Marzo - Aprile 2009

### Ruolo sensoriale di peptidi e di altre macromolecole estratte da lievito.

A partire dai primi anni del secolo scorso, dapprima principalmente ad opera di studiosi giapponesi quali Kikunae Ikeda e Shintaro Kodama, suo allievo, è stato messo in evidenza l'importante ruolo di diverse macromolecole di natura principalmente peptidica e nucleotidica nella definizione e nella esaltazione organolettica di svariati alimenti.

Cerchiamo di approfondire l'argomento, delinearne gli sviluppi ed i progressi nel tempo e considerarne infine le ricadute in ambito enologico.

#### La tavolozza dei sapori si amplia: alla scoperta di nuovi gusti-base.

Tradizionalmente, fino ai primi del '900, nella codifica occidentale dei sapori, amaro, dolce, acido e salato erano considerati i quattro gusti base, dalla combinazione - o dal contrasto - dei quali prendono vita le innumerevoli sensazioni legate al gusto degli alimenti e delle bevande.

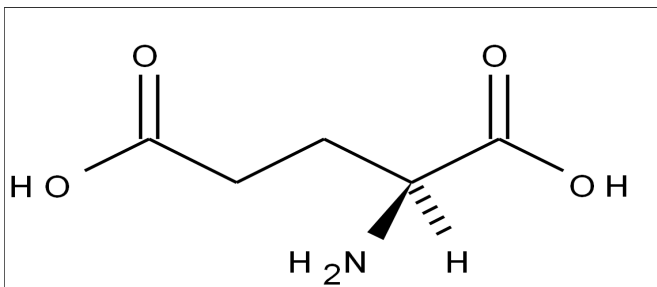


Fig. 1 - Rappresentazione strutturale della molecola dell'acido glutammico, (acido 2(S)-ammino-1,5-pentandioico) primo amminoacido a forte valenza sapida ad essere identificato.

In Oriente i sapori-base codificati erano - già a quell'epoca - più numerosi: cinque in Giappone (dolce, salato, acido, amaro e piccante), di più ancora in Cina.

Nei primi anni del '900 il giapponese Kikunae Ikeda individuò ed isolò nel brodo tradizionalmente preparato, nel suo paese, utilizzando una particolare tipologia di alghe (*Laminaria japonica*) un amminoacido particolarmente sapido, l'acido glutammico, al quale in seguito verrà ascritto un nuovo sapore-base, l'*umami* o sapore di glutammato.

Da questa scoperta prese in breve tempo il via la produzione, a livello industriale, del sale sodico di questo amminoacido, l'ormai celeberrimo glutammato monosodico, uno dei condimenti oggi più utilizzati nelle cucine del mondo intero.

A Shintaro Kodama, suo allievo, dobbiamo l'osservazione che anche un nucleotide, la guanosina 5'-monofosfato è caratterizzato da sapore *umami*.

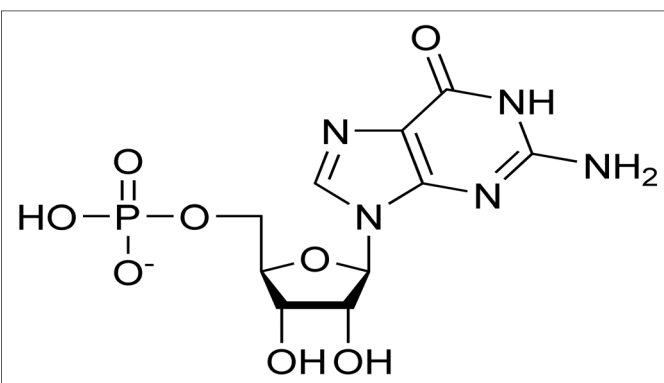


Fig. 2 - Rappresentazione strutturale della molecola della guanosina 5' monofosfato, nucleotide a valenza sapida.

Successivamente un altro ricercatore, Akira Kuninaka scoprì che guanosina ed inosina 5'-monofosfato agiscono sinergicamente nell'esaltare notevolmente, anche se presenti in quantità relativamente piccole, il gusto *umami*.

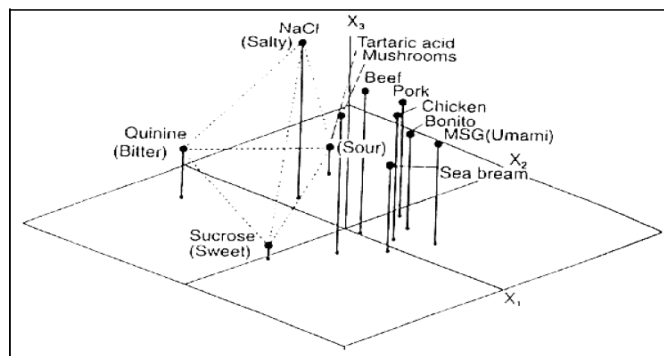


Fig. 3 - Modello tridimensionale delle relazioni tra i differenti gusti. Maga, 1998

Possiamo a questo proposito notare che dai lavori poc'anzi riferiti vengono affermati due fondamentali concetti, che ritroveremo confermati anche dalla più recenti ricerche ed osservazioni.

Da un lato infatti viene identificata la *valenza organolettica di specifiche molecole amminoacidiche, nucleotidiche e peptidiche*; dall'altro si afferma l'importante *concetto dell'interazione sinergica* tra molecole sapide.

A questa serie di scoperte ed osservazioni, seguite ben presto da altre, frutto di studi condotti non più solo in Giappone,

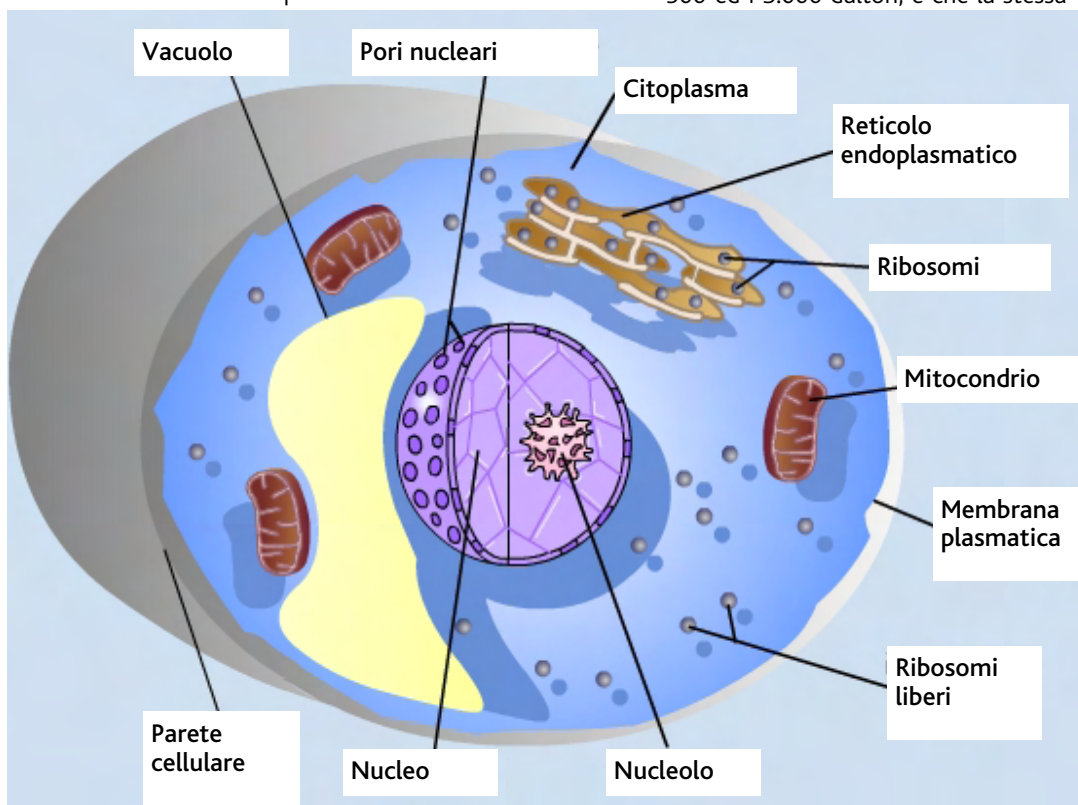


possiamo collegare la nascita della moderna scienza del gusto, che ebbe uno dei suoi momenti più importanti nel *International Symposium on Umami - Physiology of its taste* - tenutosi nell'Ottobre del 1985 alle Hawaii, durante il quale l'*umami* venne ufficialmente definito come gusto-base; nel 2001 poi la scoperta della proteina che nell'uomo funge da recettore specifico del glutammato fu una ulteriore conferma dell'indipendenza dell'*umami* dagli altri gusti. Da tutta questa mole di lavori la sempre maggiore importanza organolettica attribuita a macromolecole quali appunto peptidi, nucleotidi, polisaccaridi a lunga catena, amminoacidi solforati, che sono ritenute ormai di basilare importanza nella definizione e modulazione dei sapori di cibi e bevande.

E nei vini?

### La lisi dei lieviti: una fonte di macromolecole per la ricchezza, la complessità e la stabilità.

E' noto da tempo che durante il periodo di affinamento sulle fecce i vini subiscono una serie di fenomeni e di modificazioni di elevata complessità.



In particolare dal punto di vista dei lieviti è noto da lungo tempo (Ribéreau-Gayon, 1933) che essi, andando incontro a lisi, possono arricchirlo di macromolecole che possiedono, fra gli altri, un marcato effetto stabilizzante; altre classi di sostanze aumentano in vario modo le sensazioni di dolcezza e pienezza al palato, la complessità e l'armonia al gusto.

Questi effetti, chiaramente percettibili all'assaggio, sono collegati ad una pluralità di interazioni che si possono così riassumere:

- cessione diretta di macromolecole attive dal punto di vista sensoriale;
- interazione molecolare tra composti liberati dalle fecce e composti del vino;
- fenomeni sottrattivi di molecole ad impatto organolettico indesiderato.

La cellula non più vitale del *S. cerevisiae* va in effetti incontro ad una degradazione nella quale possiamo distinguere due livelli: la demolizione dei costituenti della parete sotto l'azione delle  $\beta$ -glucanasi endogene naturali del lievito, ed una lisi delle strutture e dei componenti intracellulari.

Il primo fenomeno, oltre a liberare, come detto, mannoproteine e polisaccaridi, provoca anche un aumento della permeabilità della parete cellulare, favorendo la fuoriuscita dei prodotti di idrolisi frutto della demolizione intracellulare.

Da qui l'importanza - in questi processi - delle attività enzimatiche  $\beta$ -glucanasiche che, tanto più agiscono, quanto più favoriscono sia la liberazione di macromolecole di derivazione parietale, ed al contempo la fuoriuscita dalla cellula dei prodotti della lisi interna (peptidi, peptidi di membrana, nucleotidi, amminoacidi).

### Le molecole coinvolte

Test sensoriali eseguiti sui derivati della lisi di lieviti, previo frazionamento, hanno mostrato che la frazione organoletticamente attiva è quella di massa molecolare compresa tra i 500 ed i 3.000 dalton, e che la stessa viene costantemente

preferita dai degustatori; viene distinta in concentrazioni mediamente basse, intorno all'ordine dei 16 mg/L.

Studiandola dal punto di vista chimico ne è emersa la natura peptidica, derivante con ogni probabilità dalla degradazione di materiale proteico intracellulare; sottoposta ad ulteriore lisi (ad es. tramite una proteasi) la frazione perde le caratteristiche di gradevolezza e di sapidità che la contraddistinguono. Il descrittore più utilizzato per

definirla è stato il termine "sapido", intesa come complessa serie di sensazioni gustative piacevoli, alle quali è strettamente legato il termine francese "sucrosité".

Le osservazioni appena descritte stanno alla base della formulazione di un preparato quale il Biolees (Laffort).

A questo riguardo è stato altresì posto in evidenza come l'utilizzazione durante l'affinamento sulle fecce di un complesso enzimatico esogeno ad azione  $\beta$ -glucanasica (ad es. Extralyse nella gamma Laffort) permette di liberare molecole organoletticamente interessanti fino ad un livello doppio rispetto al testimone non enzimato.

Queste molecole risultano essere della medesima taglia e natura rispetto a quelle estratte mediante attività enzimatica naturale, ed avere le medesime proprietà sensoriali.

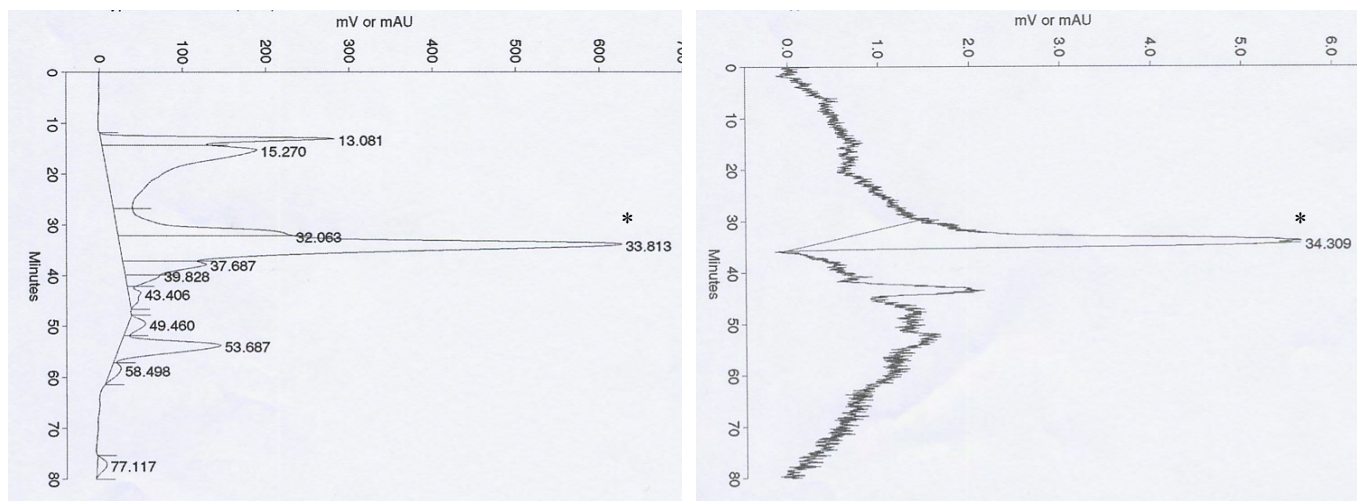


Fig. 5 - Analisi in HPLC ad esclusione molecolare di Biolees (a sinistra) e di una frazione purificata di lisato naturale di lievito in presenza di Extralyse (a destra). Si notino i due picchi caratteristici (\*) corrispondenti, in entrambe le curve, alla frazione sapida di taglia 500 - 3000 dalton

### I fenomeni di interazione nel vino.

Data la loro capacità di interagire in vario modo con le varie classi di composti presenti nel vino le macromolecole solubilizzate durante la lisi cellulare tipica dell'affinamento sulle fecce fini hanno, sotto il profilo organolettico, un comportamento molto complesso ed interessante.

Da un punto di vista generale è indubbia la loro influenza sulla percezione aromatica dei vini.

Un trattamento (es. chiarifica) che ne determini - ad esempio - una perdita - induce una diminuzione della persistenza aromatica; al contrario un'aggiunta di macromolecole derivanti da lieviti (es. affinamento sulle fecce fini; addizione di Biolees) può generare un incremento delle caratteristiche aromatiche.

Queste osservazioni hanno portato alcuni ricercatori a supporre - ed in seguito a dimostrare - come alcune delle macromolecole cedute dai lieviti siano in grado di legarsi a composti aromatici.

Alcuni esteri infatti possono venir legati con legami deboli - tipo ponte idrogeno; altre classi di composti aromatici - quali aromi varietali tipo il  $\beta$ -ionone - possono sviluppare legami più forti, ad esempio con la porzione proteica di macromolecole di tipo glicoproteico.

Molti osservano che, parallelamente all'aumento della persistenza aromatica si osserva, in termini assoluti, una leggera diminuzione dell'intensità, soprattutto alle temperature più basse. Si determina, in effetti, una certa diminuzione della volatilità delle molecole odorose: infatti ciò che, in gergo, in un vino viene definito "lunghezza in bocca" e "persistenza" è dovuto alla graduale liberazione di molecole volatili organoletticamente attive legate in maniera labile ad altri composti.

Il corpo e la morbidezza dei vini sono due degli aspetti gustativi che - abbiamo visto - risultano essere maggiormente coinvolti ed esaltati dall'arricchimento del vino con macromolecole di natura peptidica e glicoproteica, polisaccaridi e mannoproteine: tutti questi elementi possiedono, ciascuno singolarmente ed nei diversi abbinamenti nei quali si evidenziano le sinergie dovute alle interazioni, importanti impatti sensoriali.

Con particolare riferimento ai polisaccaridi parietali derivanti da lieviti si è messo in evidenza come questi possano com-

portarsi quali agenti di stabilizzazione della sostanza colorante nei vini rossi.

Nel modello proposto da C. Saucier queste macromolecole agirebbero come veri e propri colloidali protettori, interagendo e legandosi ad elementi della sostanza colorante, attenuandone la reattività ed impedendone in tal modo la polimerizzazione spinta e quindi la precipitazione.

Un altro effetto legato alla diminuzione di reattività dovuta all'effetto colloidale delle molecole polisaccaridiche complesse derivate da lieviti è l'aumento del corpo e della pienezza dei vini al palato: infatti una minore aggressività della matrice polifenolica nei confronti delle mucose orali si traduce in un incremento delle sensazioni "morbide" e piacevoli, senza la necessità di pesanti interventi di tipo sottrattivo.

Ed a conferma di questo modello si può ricordare l'osservazione che il trattamento di vini rossi giovani con scorze di lievito porta sistematicamente, come conseguenza, la diminuzione dell'indice di gelatina.

### Le dinamiche sottrattive.

Nell'affinamento dei vini sulle fecce fini si sono evidenziati, accanto al rilascio di numerose classi molecolari e macromolecolari i cui effetti abbiamo fin qui per sommi capi accennato, anche fenomeni di tipo sottrattivo.

E' da tempo noto e riferito da numerosi Autori come i vini bianchi conservati secondo la tradizionale procedura sulle fecce di fermentazione periodicamente rimesse in sospensione (*batonnage*) presentino una elevata morbidezza ed un ridotto tenore di polifenoli totali, come se fossero effettivamente stati sottoposti ad un collaggio.

Più di recente, considerata l'esigenza di produrre vini sempre più morbidi, pieni e rotondi, è stata introdotta la pratica di affinare anche i rossi su fecce fini o mediante prodotti a base di scorze di lievito.

Si è notato come vengano in tal modo eliminati buona parte dei flavonoidi ed una piccola frazione di proantocianidine oligomere caratterizzate da sapore amaro ed astringente.

Gli effetti sono in tutto e per tutto paragonabili a quelli di un microcollaggio, una operazione di enologia di precisione mirata e selettiva, di piccola intensità ma di grande efficacia gustativa: non comportando alcuna perdita significativa a livello di corredo antocianico - quindi di intensità colorante - permette di migliorare in maniera significativa la morbidezza e la rotondità del vino.

## LA PROPOSTA LAFFORT

### Affinamento su fecce fini - Affinamento con estratti parietali e peptidi sapidi

#### Extralysé®

EXTRALYSÉ® è un preparato enzimatico (pectolitico) dotato di attività pectinasiche e  $\beta$ -glucanasiche.

È formulato a partire da un estratto purificato e concentrato di substrati di coltura di ceppi selezionati di *Aspergillus niger* e *Trichoderma harzianum* non OGM in coltura pura.

Non contiene conservanti aggiunti.

EXTRALYSÉ® accelera tutte le cinetiche biologiche coinvolte nell'affinamento su fecce fini, consentendo un pieno sfruttamento del potenziale arricchente (mannoproteine, peptidi, nucleotidi, polisaccaridi, ) legato ai lieviti presenti alla fine della fermentazione alcolica.

La rapida dissoluzione dei componenti derivati da lievito che, nei vini, partecipano alle sensazioni di rotondità e volume, ne favorisce la stabilizzazione, oltre a garantirne la protezione del profilo aromatico.



#### Biolees®

BIOLEES® è frutto della comprensione dei fenomeni naturali associati all'affinamento del vino sulle fecce fini (élevage sur lies). La sua azione contribuisce all'aumento delle sensazioni di ampiezza e sapidità, ed alla riduzione di quelle aggressive:

Una specifica frazione peptidica, naturalmente liberata dai lieviti nel corso dell'autolisi (élevage sur lies), possiede una naturale ed elevata sapidità, caratterizzata da una soglia di percezione particolarmente ridotta (16 mg/L contro i 3 g/L del saccarosio). (Brevetto n° 0452803).

BIOLEES® è specificamente formulato e prodotto in funzione della particolare ricchezza in questa particolare frazione peptidica.

Le pareti cellulari esercitano un effetto di affinamento assimilabile al collaggio, favorendo l'eliminazione delle frazioni polifenoliche responsabili di amaro ed astringenza.

Si applica con successo fin dalla fermentazione e nel corso dell'affinamento (in presenza o meno di lies) dei vini rossi, bianchi e rosati: BIOLEES® permette un apporto complementare specifico di elementi sapidi naturalmente liberati dai lieviti nel corso della loro lisi.



#### Biolees MP®

Estratto parietale di lievito (mannoproteine) ricco in peptidi sapidi (brevetto n° 0452803) ed in polisaccaridi.

Anche questo prodotto è frutto delle ricerche che hanno contribuito alla comprensione delle dinamiche naturalmente associate all'affinamento dei vini sulle fecce fini, e delle conoscenze acquisite riguardo all'effetto di alcune classi di polisaccaridi sulla loro tessitura organolettica. Bioprodotto derivato da lievito, BIOLEES® MP è un estratto parietale di lievito contenente mannoproteine e ricco in peptidi sapidi.

La composizione esclusiva di BIOLEES® MP consente di agire sulle sensazioni gustative dei vini, quali la dolcezza, la rotondità e la lunghezza al palato.

Viene utilizzato nel corso dell'affinamento dei vini (con o senza presenza di lies); inoltre, essendo un prodotto solubile al 100% e ad azione rapida ne è possibile l'utilizzo nella fase che precede immediatamente l'imbottigliamento.