



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

CONCENTRAZIONE DEGLI AMMINOACIDI LIBERI
NELLE UVE DI MONTEPULCIANO E VERDICCHIO

Effetti di inerbimento e trattamenti con caolino

CONCENTRATION OF FREE AMINO ACIDS IN
MONTEPULCIANO AND VERDICCHIO GRAPES

Effects of grassing and treatments with kaolin

TIPO TESI: sperimentale

Studente:
DOMENICO GALANTE

Relatore:
PROF.SSA DEBORAH PACETTI

Correlatore:
PROF.SSA ORIANA SILVESTRONI

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

A mamma e papà

SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE	5
ELENCO DELLE FIGURE	6
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI	7
ABSTRACT	8
RIASSUNTO	9
INTRODUZIONE	10
LITERATURE REVIEW	12
1.1 I Vitigni.....	12
1.1.1 Il Montepulciano.....	12
1.1.2 Il Verdicchio	14
1.2 Le tecniche agronomiche	16
1.2.1 L'inerbimento	16
1.2.2 Il caolino	17
1.3 Nutrizione azotata: il fabbisogno dei lieviti durante la fermentazione.	19
1.3.1 Gli amminoacidi	20
1.3.2 La prolina.....	22
MATERIALI E METODI	23
2.1 Siti di sperimentazione.....	23
2.1.1 Preparazione dello standard	25
2.1.2 Analisi degli amminoacidi mediante HPLC	26
2.2 Analisi statistica.....	27
RISULTATI E DISCUSSIONE	28
3.1 Profilo amminoacidico delle uve	28
3.1.1 Montepulciano	28
3.1.2 Verdicchio.....	31
3.2 L'effetto delle pratiche agronomiche.....	32

CONCLUSIONI	33
BIBLIOGRAFIA	34
RINGRAZIAMENTI	40

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Gradiente delle fasi mobili.....	26
---	----

ELENCO DELLE FIGURE

Fig. 1: Potature di allevamento	13
Fig. 2: Vigneto inerbito.....	16
Fig. 3: Filare trattato con caolino.....	18
Fig. 4: Gli amminoacidi.....	21
Fig. 5: Foto aeree	24
Fig. 6: Preparazione del campione.....	25
Fig. 7: Cromatogramma degli amminoacidi	28
Fig. 8: Concentrazioni medie degli amminoacidi nei campioni di Montepulciano	29
Fig. 9: Concentrazioni medie degli amminoacidi nei campioni di Verdicchio.....	31

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

UPLC-PDA	Ultra Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array Detector
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
P5C	Pirrolina-5-Carbossilato
DOC	Denominazione di Origine Controllata
DOCG	Denominazione di Origine Controllata e Garantita
IGT	Indicazione Geografica Tipica

ABSTRACT

Soil cover and kaolin treatment are widely used management practices in the vineyard. Soil cover involves a vegetative cover between rows to reduce erosion and improve soil structure, while kaolin treatment consists of applying a white clay to the plant to mitigate thermal and water stresses. These practices could affect the assimilation and/or accumulation of nutrients of grapes, including nitrogen-containing compounds (e.g., amino acids) useful for yeasts during alcoholic fermentation. This study aims to investigate the effect of agronomic practices on the concentration of free amino acids in grape musts. The amino acid profile of Montepulciano and Verdicchio varieties, cultivated with grassing and treated with kaolin, was evaluated by means UHPLC-PDA. Kaolin treatment did not affect the amino acid concentration of Verdicchio grapes, while it slightly improved the one of Montepulciano. By contrast, the soil cover determined a significant reduction of amino acids content. In conclusion, agronomic practices may affect the availability of amino acids useful both for yeast metabolism and the aroma profile of wine. Therefore, the use of agronomic practices should be carefully evaluated not only at agronomic level, but also at a nutritional level, to obtain high-quality wines.

RIASSUNTO

La copertura del suolo e il trattamento con caolino sono pratiche di gestione ampiamente utilizzate nel vigneto. La copertura del suolo comporta una copertura vegetativa tra i filari per ridurre l'erosione e migliorare la struttura del suolo, mentre il trattamento con caolino consiste nell'applicare un'argilla bianca alla pianta per mitigare gli stress termici e idrici. Queste pratiche potrebbero influenzare l'assimilazione e/o l'accumulo di nutrienti dell'uva, inclusi composti contenenti azoto (ad esempio, amminoacidi) utili per i lieviti durante la fermentazione alcolica. Questo studio mira a indagare l'effetto delle pratiche agronomiche sulla concentrazione di amminoacidi liberi nei mosti d'uva. Il profilo amminoacidico delle varietà Montepulciano e Verdicchio, coltivate con inerbimento e trattate con caolino, è stato valutato mediante UHPLC-PDA. Il trattamento con caolino non ha influenzato la concentrazione amminoacidica delle uve Verdicchio, mentre ha leggermente migliorato quella del Montepulciano. Al contrario, la copertura del suolo ha determinato una significativa riduzione del contenuto di amminoacidi. In conclusione, le pratiche agronomiche possono influenzare la disponibilità di amminoacidi utili sia per il metabolismo del lievito che per il profilo aromatico del vino. Pertanto, l'impiego di pratiche agronomiche deve essere attentamente valutato non solo a livello agronomico, ma anche a livello nutrizionale, per ottenere vini di elevata qualità.

INTRODUZIONE

La vite è una pianta conosciuta fin dalla più remota antichità, coltivata principalmente lungo il bacino del Mediterraneo, specialmente in Italia, Spagna e Francia. A livello mondiale la superficie coltivata a vite è di circa 7,2 milioni di ettari con produzioni che si aggirano attorno a 237 milioni di ettolitri di vino (OIV, 2024). Italia, Spagna e Francia si contendono il primato produttivo mondiale, ad esse si aggiungono Portogallo, Ungheria e Paesi extra – Europei come Asia e America (Valli & Corradi, 2016). L'Italia rappresenta circa il 19% della produzione mondiale, con un'estensione della superficie vitata di 720 mila ettari ed una produzione di circa 38,3 milioni di ettolitri di vino (OIV, 2024).

Il vino è una bevanda alcolica ottenuta dalla trasformazione delle uve in seguito alla fermentazione alcolica degli zuccheri presenti all'interno dell'acino, prevalentemente glucosio e fruttosio, in alcool etilico (Capozzi et al., 2015). La fermentazione alcolica avviene ad opera dei lieviti, microrganismi eucarioti unicellulari, in assenza di ossigeno, ed in presenza di alte concentrazioni di zucchero (Tofalo et al., 2020). Filogeneticamente i lieviti che maggiormente rivestono il ruolo di protagonisti della fermentazione alcolica, appartengono al phylum *Ascomycota*, classe *Saccharomycetes*, ordine *Saccharomycetales*, famiglia *Saccharomycetaceae*, genere *Saccharomyces* e specie *cerevisiae* (Pontes et al., 2020).

In natura, la presenza di questo ceppo è ubiquitaria, si trova su tessuti animali e vegetali, nel terreno, ma la sua principale applicazione è legata al campo alimentare (Zarraonaindia et al., 2015). Infatti, il lievito *Saccharomyces cerevisiae* viene utilizzato nella maggior parte delle trasformazioni di bevande alcoliche quali vino e birra, oltre che per la produzione di lievitati e di latticini fermentati acido – alcolici (Jeyaram & Rai, 2017).

Sebbene i lieviti siano naturalmente presenti sull'epicarpo degli acini di uva, nella maggior parte dei casi, durante le fasi di vinificazione, si preferisce affidarsi a ceppi selezionati, per una questione di sicurezza di riuscita del prodotto finale, ma anche di praticità (Leder, 2011a).

Per portare a termine con successo la fermentazione, i lieviti hanno bisogno di nutrienti, tra cui azoto per la sintesi di proteine, acidi nucleici e altre molecole essenziali (Granes et al.,

2008). Questo andrà ad influenzare anche il profilo sensoriale del vino (García-Orenes et al., 2013).

In questo studio si vuole comprendere come diverse pratiche agronomiche possano influire sull'apporto di azoto e quindi sul profilo amminoacidico delle uve. Tra le pratiche agronomiche più comunemente utilizzate per migliorare la sostenibilità e la gestione dei vigneti, ci sono l'inerbimento e il trattamento con caolino. L'inerbimento prevede la crescita di un tappeto erboso tra i filari allo scopo di ridurre l'erosione, migliorare la struttura del suolo e limitare la competizione idrica e nutritiva (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003). Nel secondo caso, una sospensione acquosa di caolino (argilla bianca) viene utilizzata per il trattamento degli organi vegetativi della pianta, con l'intento di mitigare gli effetti dello stress termico e idrico (Romualdi G., 2021). Tali interventi potrebbero incidere sull'assimilazione dei nutrienti, incluso l'azoto, e di conseguenza anche sul profilo amminoacidico delle uve.

A tal proposito ci si è concentrati su due vitigni ampiamente diffusi nelle Marche, il Montepulciano e il Verdicchio, coltivati con la pratica dell'inerbimento o trattati con caolino, e di questi è stata valutata l'influenza delle pratiche agronomiche sul profilo amminoacidico delle uve, il quale influirà non solo sulla fermentazione, ma anche sul bouquet aromatico del vino.

LITERATURE REVIEW

1.1 I Vitigni

Le Marche vantano un ampio panorama ampelografico grazie a un territorio ideale per la viticoltura, in quanto le sue colline e aree montuose sono influenzate dal clima mite e dalla vicinanza al mare (Carlin et al., 2019). Le varietà di vite coltivate nelle Marche sono circa quaranta, tra queste possiamo trovare vitigni come il Verdicchio; ma anche il Pecorino, la Passerina e il Biancame (o Bianchello). Tra le varietà a bacca nera, invece, troviamo il Montepulciano e il Sangiovese, seguiti dalla Lacrima e dalla Vernaccia Nera; da quest'ultima può essere prodotto il noto spumante rosso Vernaccia di Serrapetrona DOCG (MIPAAF, 2004).

1.1.1 *Il Montepulciano*

Il Montepulciano è un vitigno a bacca nera, molto diffuso in Italia per la produzione di vini di elevata qualità; esso viene coltivato principalmente nelle regioni centrali e meridionali, in particolare sulle colline di Marche e Abruzzo (MIPAAF, 1968a).

I vini prodotti dal vitigno di Montepulciano occupano una posizione di rilievo nel panorama vitivinicolo italiano, sia a livello nazionale che internazionale. Tra le denominazioni più celebri spiccano il Rosso Conero DOCG, il Colline Teramane DOCG e il Montepulciano d'Abruzzo DOC, che offrono una gamma diversificata di vini, dai giovani e fruttati ai più strutturati riserva. La produzione varia a seconda della zona: nelle Marche si trova il Rosso Conero DOCG, mentre in Abruzzo il Montepulciano d'Abruzzo (MIPAAF, 1968a). Secondo i disciplinari di produzione, questi vini devono essere prodotti con almeno l'85% di uve di varietà Montepulciano, ed eventuali aggiunte del 15% di altre varietà coltivabili nel territorio (MIPAAF, 1968a).

Il nome, inoltre, non deve essere confuso con il Vino Nobile di Montepulciano, il quale viene prodotto in Toscana da uve di Sangiovese, e quindi si tratta di due varietà diverse. Il Vino Nobile di Montepulciano deve contenere minimo il 70% di uve di Sangiovese, tipico

vitigno toscano, con possibilità di blend fino al 30%, senza superare il 5% di vitigni a bacca bianca (MIPAAF, 1966).

Il successo della coltivazione del vitigno di Montepulciano è dovuto alla sua versatilità, alla discreta resistenza alle principali malattie della vite, come la Peronospora e la Muffa grigia, e alla varietà di prodotti che si possono ottenere dalla sua vinificazione (Leder, 2011b). È un vitigno che si adatta a condizioni climatiche diverse, il che ne consente la coltivazione sia in ambienti più caldi e secchi come nel Centro-Sud Italia, sia in aree con climi più freschi (MIPAAF, 1968a).

La pianta presenta una vigoria medio-elevata e una maturazione tardiva, che avviene tra la seconda e la terza decade di ottobre con rese produttive che oscillano tra 15 e 16 T/ha (MIPAAF, 1968a).

Questo lungo periodo di maturazione permette agli acini di sviluppare una maggiore concentrazione di zuccheri, che si traduce in un grado alcolico più elevato alla fine della fermentazione, oltre ad un incremento di tannini e sostanze aromatiche (Palliotti et al., 2017).

Dal punto di vista della gestione agronomica, il Montepulciano si presta bene sia alla potatura corta che a quella media, poiché la produzione si concentra maggiormente sui germogli vicino al fusto. Le potature di allevamento più utilizzate sono il cordone speronato e il Guyot (Fig. 1), con una densità di impianto variabile a seconda dei fattori climatici e del suolo in cui il vitigno viene coltivato (Valli & Corradi, 2016).



Fig. 1: Potature di allevamento: cordone speronato (a sinistra) e guyot (a destra).

Dal punto di vista chimico, le uve di Montepulciano si distinguono per l'elevata concentrazione di antociani, pigmenti responsabili dell'intensa colorazione, e per una moderata quantità di tannini, che conferiscono ai vini una struttura morbida e vellutata (MIPAAF, 1967a). Tuttavia, la composizione fenolica può variare a seconda della zona di produzione, del suolo e delle tecniche di vinificazione utilizzate. Ad esempio, in Abruzzo, dove le temperature estive sono più elevate, il vino tende ad avere una maggiore struttura

tannica ed una più alta concentrazione di zuccheri, traducendosi in prodotti più corposi e alcolici (MIPAAF, 1968a).

I vini ottenuti da uve di Montepulciano sono di buona qualità, caratterizzati da un'elevata intensità aromatica e da un buon equilibrio tra acidità e grado alcolico (Leder, 2011b). I vini presentano un colore rosso rubino intenso, con riflessi violacei, soprattutto nei prodotti più giovani. Hanno un grado alcolico generalmente superiore rispetto ai vini bianchi e offrono sentori che spaziano da aromi di frutta rossa matura (ciliegia), alla frutta scura (mirtillo) (Tofalo et al., 2016).

Gli affinamenti in botti di rovere sono una pratica comune, specialmente per i vini di alta qualità, le tempistiche possono variare da pochi mesi a diversi anni, influenzando profondamente il profilo sensoriale del vino (MIPAAF, 1968a).

1.1.2 *Il Verdicchio*

Il concetto di terroir è essenziale per comprendere le peculiarità del Verdicchio, un vitigno a bacca bianca che trova la sua massima espressione nelle denominazioni Verdicchio dei Castelli di Jesi DOC e Verdicchio di Matelica DOC (Carlin et al., 2019). La diffusione di questa cultivar nelle Marche avviene prevalentemente nella zona collinare attorno alla città di Jesi e nelle province di Ancona e Macerata (MIPAAF, 1968b). Questi territori, pur condividendo la stessa varietà di uva, offrono caratteristiche uniche che si riflettono nei vini prodotti. Nei Castelli di Jesi, la diversità di suoli, altitudini e microclimi dà origine a vini che spaziano dai più freschi e minerali, ottenuti da vigne poste su pendii ripidi e altitudini maggiori, fino a vini più morbidi e fruttati, tipici delle zone collinari più vicine al mare, con una minore acidità (Pretorius, 2020).

Dall'altra parte, il Verdicchio di Matelica beneficia di un terroir diverso, situato in una valle chiusa e caratterizzato da un clima continentale; questo conferisce ai vini una struttura più complessa, una maggiore acidità e una spiccata longevità (Amato, 2017). La combinazione tra altitudini elevate e forti escursioni termiche favorisce lo sviluppo di aromi intensi e persistenti, rendendo il Verdicchio di Matelica particolarmente apprezzato per la sua eleganza e profondità (MIPAAF, 1967b). L'espansione di questo vitigno non riguarda solo le Marche, dove la varietà si esprime al meglio, ma comprende anche gran parte dell'Italia centrale, fino addirittura in Sardegna (MIPAAF, 1968b).

Dal punto di vista chimico, il Verdicchio si distingue per l'equilibrio tra zuccheri e acidi, che lo rende ideale sia per vini giovani e freschi sia per vini riserva (MIPAAF, 1968b). I vini prodotti si caratterizzano per colori che variano dal giallo paglierino al verde chiaro,

suggerendo freschezza. Al naso, si percepiscono aromi di frutta bianca (mela e pera), accompagnati da delicate note di fiori di campo. Nei vini affinati emergono anche note di miele e spezie (MIPAAF, 1968b).

La denominazione Verdicchio dei Castelli di Jesi DOC prevede che almeno l'85% delle uve utilizzate sia di Verdicchio, con il restante 15% costituito da altri vitigni bianchi autorizzati. In maniera analoga, anche il disciplinare del Verdicchio di Matelica DOC garantisce standard qualitativi rigorosi, pur esaltando le peculiarità legate al suo territorio specifico (MIPAAF, 1967b). Questi due Verdicchi rappresentano l'eccellenza vinicola delle Marche, valorizzando un vitigno che sa esprimersi al meglio in contesti così diversi, ma complementari.

Il Verdicchio è un vitigno con un'elevata resistenza a fenomeni come le gelate tardive in primavera e presenta un vigore medio-alto, che contribuisce alla sua adattabilità, e una maturazione tardiva rispetto ad altri vitigni a bacca bianca, che avviene tra la fine di settembre e l'inizio di ottobre (MIPAAF, 1968b). La resa di produzione è generalmente elevata (circa 14 T/ha), ma, per garantire una qualità superiore, molti produttori adottano pratiche di gestione accurata del vigneto, come potature severe e diradamento dei grappoli (Valli & Corradi, 2016).

1.2 Le tecniche agronomiche

Le pratiche agronomiche sono un insieme di tecniche e interventi mirati a gestire e ottimizzare le coltivazioni, con l'obiettivo di ottenere prodotti di alta qualità e garantire la sostenibilità dell'ecosistema agricolo (AICS, 2024). Queste pratiche includono operazioni come la gestione del suolo, la potatura, l'irrigazione, la fertilizzazione, e la difesa fitosanitaria, ognuna delle quali contribuisce a influenzare lo sviluppo della pianta, la resa e le caratteristiche organolettiche del raccolto (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003). In questo studio le pratiche agronomiche adottate sono state l'inerbimento e i trattamenti della chioma con caolino.

1.2.1 L'inerbimento

L'inerbimento è una tecnica agronomica che prevede la copertura permanente del suolo negli interfilari attraverso la crescita di un cotico erboso, che può essere sia spontaneo che seminato, per esempio con le leguminose (Fig. 2) (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003). In parallelo, il terreno lungo le file delle viti viene mantenuto pulito mediante diserbo chimico o lavorazioni meccaniche (Valli & Corradi, 2016). Questa pratica, seppur temporanea, viene attuata principalmente durante il periodo primaverile-estivo; al termine del ciclo, nel periodo autunnale, la biomassa erbacea può essere incorporata nel terreno, arricchendolo in sostanza organica e migliorando così la struttura fisica e chimica del suolo (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003).



Fig. 2: Vigneto inerbito.

I vantaggi dell'inerbimento sono molteplici e includono la protezione contro l'erosione del suolo, la riduzione del compattamento e l'aumento della biodiversità (Valli & Corradi, 2016). Inoltre, l'inerbimento con leguminose contribuisce all'apporto di azoto per le viti grazie alla capacità di fissazione simbiotica di azoto atmosferico (spesso superiori a 50 kg/ha/anno) operata dai batteri del genere *Rhizobium* (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003).

Tra gli svantaggi di questa pratica si annovera la competizione tra la copertura erbosa e le viti per le risorse idriche e nutritive, soprattutto nei periodi di siccità (Bianchi & Brancadoro, 2023). Per minimizzare tali effetti negativi, la copertura erbosa viene regolarmente sfalciata quando raggiunge un'altezza compresa tra 10 e 15 cm. Il materiale sfalciato viene lasciato sul terreno, contribuendo così al ciclo dei nutrienti, in particolare all'apporto di azoto organico (Bonciarelli & Bonciarelli, 2003).

Nel presente studio, sono stati utilizzati sia l'inerbimento naturale, con erbe spontanee, sia l'inerbimento mediante la semina di trifoglio alessandrino (*Trifolium alexandrinum*).

1.2.2 Il caolino

Il caolino è una roccia di origine sedimentaria, di colore bianco o grigiastro, costituita prevalentemente da caolinite, un minerale argilloso, con formula chimica $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (Del Zozzo et al., 2021).

Oltre alla caolinite, possono essere presenti altri minerali argillosi in quantità variabile, a seconda dell'origine geologica del deposito (Britannica, 2018). Le sue caratteristiche strutturali, la sua origine naturale e il costo relativamente basso rendono il caolino ampiamente utilizzato in diversi settori, tra cui l'agricoltura, dove trova impiego come ammendante e protettivo (Romualdi G., 2021). Negli ultimi anni, l'uso del caolino si è diffuso sia nell'agricoltura convenzionale, ma in particolare in quella biologica, dove viene apprezzato per la sua azione come corroborante, ovvero in grado di potenziare le difese naturali delle piante (Del Zozzo et al., 2021).

Il caolino risulta particolarmente utile per migliorare la resistenza delle colture agli stress ambientali, specialmente quelli legati alle alte temperature e alla scarsità di acqua (Bernardo et al., 2017). Agendo come una sorta di "climatizzante naturale", contribuisce a mitigare gli effetti del calore eccessivo e del deficit idrico, senza compromettere l'ambiente, in linea con i principi dell'agricoltura biologica (Brillante et al., 2016).

In agricoltura, l'applicazione del caolino ha mostrato risultati molto promettenti, grazie alla sua capacità di fungere da protezione solare per la vite (Coniberti et al., 2013). Viene applicato

tramite irrorazione meccanica, formando una patina bianca sulla superficie delle foglie e dei frutti (Fig. 3).



Fig. 3: Filare trattato con caolino.

Questa patina riflette parte della radiazione solare, in particolare la radiazione fotosinteticamente attiva (PAR), riducendo così l'attività fotosintetica in eccesso che potrebbe danneggiare la pianta durante i mesi più caldi (Romualdi G., 2021). Grazie a questo effetto schermante, il caolino non solo protegge le piante dall'eccessiva radiazione solare, ma contribuisce anche a ridurre la temperatura delle foglie e dei grappoli (Coniberti et al., 2013).

Un'altra proprietà del caolino è la sua capacità di ridurre la traspirazione delle piante; limitando le perdite d'acqua attraverso le foglie, migliora l'efficienza d'uso delle risorse idriche, una caratteristica particolarmente preziosa nei periodi estivi sempre più siccitosi a causa del cambiamento climatico (Frioni et al., 2019). Questa protezione dalle alte temperature permette anche di rallentare la maturazione delle uve, influenzando positivamente sul loro profilo qualitativo, poiché interviene indirettamente sulla fotosintesi (Del Zozzo et al., 2021).

L'impiego in viticoltura si sta dimostrando un valido strumento per la gestione degli stress estivi, favorendo una maturazione delle uve più graduale e riducendo i danni da calore e siccità (Brillante et al., 2016). Queste caratteristiche fanno del caolino un componente chiave per le pratiche agricole sostenibili, soprattutto in contesti di agricoltura biologica e in aree soggette a condizioni climatiche estreme (Romualdi G., 2021).

1.3 Nutrizione azotata: il fabbisogno dei lieviti durante la fermentazione.

La nutrizione azotata è un aspetto fondamentale nelle pratiche agronomiche, specie per i vigneti, in quanto l'azoto è essenziale per il corretto sviluppo vegetativo della vite e incide direttamente sulla composizione nutrizionale delle uve e, di conseguenza, sul profilo organolettico del vino (Verdenal et al., 2023).

La nutrizione azotata è un fattore cruciale per la crescita e l'attività metabolica dei lieviti del genere *Saccharomyces*, in particolare *Saccharomyces cerevisiae*, durante il corso della fermentazione alcolica e malolattica. Durante i processi fermentativi, la disponibilità di azoto è strettamente legata alla velocità di fermentazione e alla produzione di aromi secondari. Proprio per questo, uno stato di carenza può comportare una fermentazione rallentata o incompleta, andando ad influenzare negativamente la qualità del prodotto finale, intaccando il gusto e l'aroma del vino (Gonzalez-Ramirez et al., 2024).

I lieviti del genere *Saccharomyces* sono in grado di utilizzare diverse forme di azoto, che possono essere suddivise in due principali categorie: fonti organiche e fonti inorganiche. Tra le fonti organiche, gli amminoacidi sono le principali risorse di azoto per i lieviti (Bell & Henschke, 2005). Alcuni amminoacidi, come la glutammina e l'asparagina, sono particolarmente apprezzati dai lieviti grazie alla loro capacità di essere rapidamente assimilati e impiegati nella sintesi proteica e in altre funzioni cellulari essenziali (Boer et al., 2007). Oltre agli amminoacidi, i lieviti possono anche utilizzare piccoli peptidi, che derivano dalla degradazione delle proteine. Tuttavia, l'assimilazione di proteine più complesse richiede la presenza di enzimi specifici, come le proteasi, necessari per scomporre le proteine in unità più semplici (Rendueles & Wolf, 1988). Un'altra fonte organica di azoto, seppur meno comune, è l'urea (Navarathna et al., 2010).

Le fonti inorganiche di azoto includono principalmente gli ioni ammonio (NH_4^+), che costituiscono la forma di azoto preferita dai lieviti, poiché possono essere direttamente incorporati nelle reazioni di sintesi degli amminoacidi (Tkachenko et al., 2020). A differenza di molti altri organismi, tuttavia, *Saccharomyces cerevisiae* non è in grado di utilizzare i nitrati (NO_3^-) come fonte di azoto, poiché non possiede gli enzimi necessari per ridurli a nitriti (Siverio, 2002). Anche l'ammoniaca (NH_3) può essere sfruttata dai lieviti come fonte di azoto, ma questa è meno comunemente utilizzata nei normali processi di fermentazione (Bell & Henschke, 2005). Comprendere i meccanismi di assimilazione dell'azoto e gestire adeguatamente le fonti azotate è dunque essenziale per ottimizzare i processi fermentativi e migliorare la qualità dei prodotti finali. Questa conoscenza ha implicazioni dirette per

sviluppare prodotti di maggiore qualità e garantire processi di fermentazione più efficienti e sostenibili (The et al., 2021).

1.3.1 *Gli amminoacidi*

Gli amminoacidi sono le unità monomeriche delle proteine. Sono così chiamati poiché costituiti da un gruppo amminico (NH_2), un gruppo carbossilico ($-\text{COOH}$), un atomo di carbonio centrale (α), al quale sono legati a sua volta un atomo di idrogeno e una catena laterale (gruppo R) specifica per ciascun amminoacido. Gli amminoacidi si distinguono per la presenza di diverse catene laterali, che conferiscono loro proprietà chimiche e strutturali differenti (Fig. 4).

In base alle caratteristiche chimiche dominanti delle catene laterali, gli amminoacidi sono suddivisi in quattro classi principali: apolari (idrofobici), polari non carichi, carichi positivamente (basici), carichi negativamente (acidi).

Agli amminoacidi apolari fanno parte: la glicina, l'alanina, la valina, la leucina, l'isoleucina, la metionina, la fenilalanina, il triptofano e la prolina; man mano che il gruppo R diventa più esteso, aumenta l'idrofobicità dell'amminoacido (Di Rienzo et al., 2021). La fenilalanina e la tirosina possiedono catene laterali aromatiche, che conferiscono loro un'elevata idrofobicità (Dean et al., 2017).

Al contrario, la serina, la cisteina, l'asparagina, la glutammina, la tirosina, la treonina e l'asparagina sono dotate di catene laterali polari, in grado di formare molteplici legami idrogeno con le molecole d'acqua o con altri donatori e accettori di legami idrogeno (Cianci, 2021).

Tra gli amminoacidi carichi positivamente abbiamo la lisina, l'arginina e l'istidina; mentre tra quelli carichi negativamente abbiamo l'acido aspartico e l'acido glutammico (Dean et al., 2017).

La prolina rappresenta un'eccezione particolare: è l'unico amminoacido in cui la catena laterale forma un legame covalente con il gruppo α -amminico, conferendole una struttura ciclica (Dean et al., 2017).

Nella fermentazione alcolica, i lieviti del genere *Saccharomyces* utilizzano preferenzialmente alcuni amminoacidi, tra cui glutammina, arginina, valina, leucina, isoleucina e serina, mentre altri, come prolina, glicina e lisina, sono meno consumati (Bell & Henschke, 2005). Inoltre, alcuni amminoacidi, come fenilalanina, leucina e isoleucina, sono i precursori di composti aromatici che caratterizzano il profilo organolettico del vino; questi amminoacidi non solo sono fondamentali per la crescita e il metabolismo del lievito, ma anche per lo sviluppo del profilo aromatico del vino (Fairbairn et al., 2017). Alcuni di essi, la

fenilalanina, la leucina e l'isoleucina, sono infatti precursori di composti aromatici che, durante la fermentazione, vengono convertiti dal lievito in α -chetoacidi e poi trasformati in alcoli superiori e acidi (Bell & Henschke, 2005). Ciò è possibile grazie ad un processo metabolico, il *pathway* di Ehrlich, che coinvolge proprio le catene ramificate degli amminoacidi (Prusova et al., 2022). In base all'amminoacido ed alla sua concentrazione, il profilo aromatico viene arricchito diversamente; ad esempio, la fenilalanina viene convertita in 2-feniletanolo e dona profumi floreali, leucina e isoleucina invece sono responsabili di aromi fruttati e dolci (Wang et al., 2016).

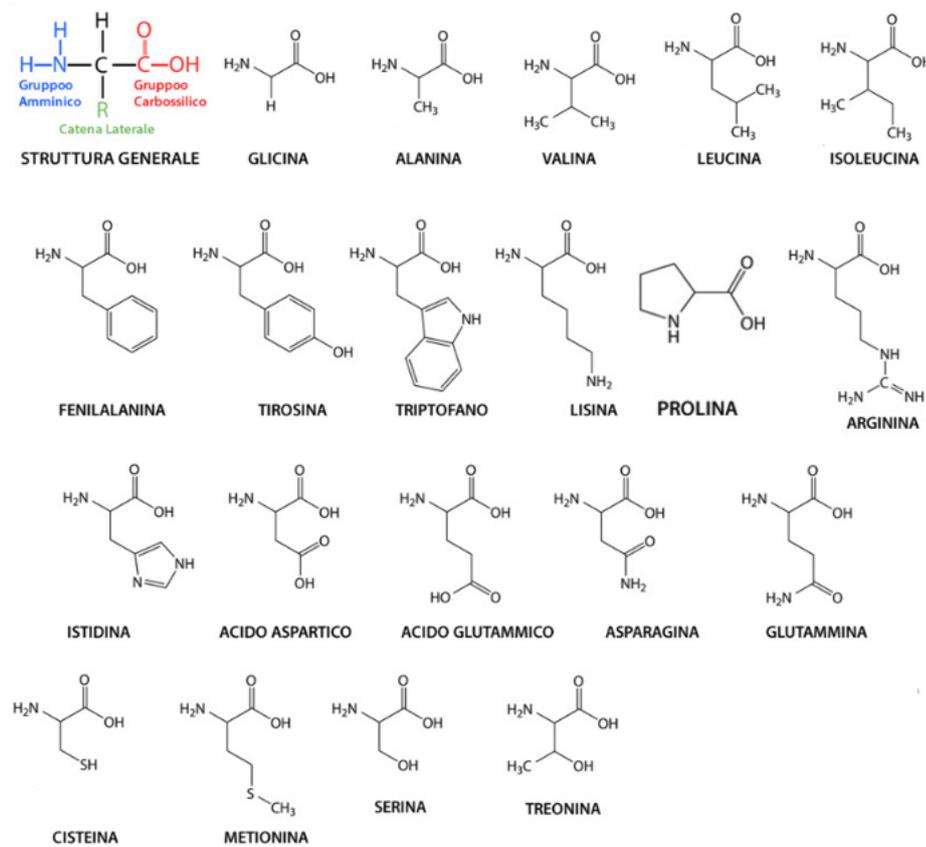


Fig. 4: Gli amminoacidi.

1.3.2 La prolina

La prolina si è vista essere coinvolta nella regolazione degli equilibri osmotici della pianta (Hare & Cress, 1997). La sintesi della prolina tende ad aumentare in risposta a condizioni di stress termico, come le alte temperature (Kavi Kishor et al., 2022).

La prolina è un amminoacido particolare che i lieviti, come *Saccharomyces cerevisiae*, non utilizzano facilmente come fonte di azoto, specialmente in condizioni di fermentazione anaerobica. Questo comportamento è dovuto a una combinazione di fattori biochimici e regolatori che riguardano la sua assimilazione (Long et al., 2018).

L'assimilazione della prolina nei lieviti richiede la presenza di ossigeno, poiché il metabolismo della prolina è legato a una via metabolica di degradazione, che avviene nei mitocondri, e che dipende dall'energia fornita dai processi respiratori. Tramite l'azione di due enzimi mitocondriali, la prolina-ossidasi e la P5C (Pirrolina-5-Carbossilato) deidrogenasi, la prolina viene convertita in glutammato, una fonte diretta di azoto per la cellula da utilizzare in altre vie metaboliche (Brandriss & Magasanik, 1979). In condizioni anaerobiche invece, tipiche della fermentazione alcolica, i lieviti non possono metabolizzare la prolina in modo efficiente perché non hanno accesso a questi processi di ossidazione per via della scarsità o totale assenza di ossigeno (Nishimura, 2024).

MATERIALI E METODI

2.1 Siti di sperimentazione

Le uve utilizzate per questo studio sono delle varietà Montepulciano e Verdicchio, coltivate in agricoltura convenzionale nella regione Marche.

Il Montepulciano proviene dal vigneto dell'azienda Villa Boccolini sita in via Monte Conero a Sirolo (AN) (coordinate 43°31'49"N 13°36'30"E) ad una altitudine di 200 m s.l.m. (delimitato in rosso, Fig. 5 A). Il vigneto, messo a dimora nel marzo-aprile 2011, presenta filari posti a 2,5 m di distanza e viti a 0,80 m sulla fila, per un totale di 5000 ceppi/ha.

I filari interessati dalla sperimentazione si suddividono in filari a basso vigore (in blu) e medio vigore (in giallo, Fig. 5 A).

I campioni vengono differenziati come Montepulciano medio vigore e Montepulciano basso vigore e ulteriormente con inerbimento naturale, inerbimento seminato con trifoglio alessandrino e trattamento con caolino; è presente anche un campione di Montepulciano medio vigore testimone.

Rispettivamente vengono indicati come:

- **VBMT** (Villa Boccolini Medio Vigore Testimone)
- **VBVCA** (Villa Boccolini Medio Vigore Caolino)
- **VBVTA** (Villa Boccolini Basso Vigore Trifoglio Alessandrino)
- **VBVIN** (Villa Boccolini Basso Vigore Inerbimento Naturale)

Il Verdicchio proviene dal vigneto sito in contrada Busche a Montecarotto (AN) (coordinate 43°31'40"N 13°05'42"E) ad una altitudine di 230 m s.l.m. I filari sono a 2,5 m di distanza tra loro e le viti sono poste a 1,0 m sulla fila, per un totale di 4000 ceppi/ha.

Il trattamento con caolino è stato eseguito su quattro filari evidenziati nella figura 5 B in giallo, e differenziati come **BUSCA** (trattamento al caolino) e **BUSTE** (campione testimone, area in rosso).

Entrambi i vigneti sono allevati a contropalliera con potatura lunga a Guyot.



Fig. 5: Foto aeree: A) Vigneto di Montepulciano; B) Vigneto di Verdicchio.

2.1.1 Preparazione dello standard

Il campionamento delle uve è stato effettuato durante la vendemmia della stagione 2022-2023. Per garantire che i campioni fossero rappresentativi sono state effettuate scelte casuali delle viti lungo il filare, fino al raggiungimento di una quantità sufficiente di campione per effettuare l'analisi.

Al termine della raccolta, i campioni sono stati conservati in congelatore ad una temperatura di circa $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Prima di effettuare le analisi, gli acini sono stati scongelati e pigiati manualmente al fine di ottenere il mosto (Fig. 6). I mosti ottenuti sono stati filtrati per eliminare le impurità e renderli limpidi per l'analisi cromatografica, utilizzando filtri *Sartorius Regenerated cellulose (RC)* da $0,45\text{ }\mu\text{m}$.

Come standard, è stato usato "Amino Acid Hydrolysate Standard" della Waters (Waters Corporation, USA), contenente $250\text{ pmol}/\mu\text{L}$ di ciascun amminoacido ad eccezione della cistina ($125\text{ pmol}/\mu\text{L}$, equivalente a $250\text{ pmol}/\mu\text{L}$ di cisteina) diluito di 10 volte con acqua Milli-Q.



Fig. 6: Preparazione del campione: A) campioni di uve; B) spremitura manuale delle uve.

2.1.2 Analisi degli amminoacidi mediante HPLC

Il profilo amminoacidico dei mosti è stato determinato secondo il metodo Gómez-Alonso et al., 2007 e Garde-Cerdán et al., 2009 apportando piccole modifiche.

10 μ L di mosto filtrato è stato aggiunto a 70 μ L di Borate Buffer e 20 μ L di AccQ•Tag Ultra Reagent, mantenuto a temperatura ambiente per 1 minuto e successivamente riscaldato a 55 °C per 10 minuti usando Thermobloc (Falc instruments srl, Italy). Ciascun campione è stato analizzato in triplicato, iniettando 2 μ L in un sistema Acquity H-class UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography, Waters Corporation, USA) accoppiato con un rivelatore a serie di diodi (PDA).

La separazione è stata effettuata su una colonna Accucore C18 (150 x 2,1 mm, 2.6 μ m). Le fasi mobili impiegate erano: A costituito da eluente A AccQ•Tag Ultra al 100%; la fase B eluente B AccQ•Tag Ultra diluito di 10 volte con acqua; C costituito da acqua per HPLC al 100%; D costituita da eluente B AccQ•Tag Ultra al 100%. Il gradiente utilizzato era il seguente illustrato nella Tabella 1.

Tabella 1: Gradiente delle fasi mobili

Fase	Time	%A	%B	%C	%D
1	0.00	2.0	0.0	98.0	0.0
2	0.29	2.0	0.0	98.0	0.0
3	5.49	9.0	80.0	11.0	0.0
4	7.1	8.0	15.6	57.9	18.5
5	7.3	8.0	15.6	57.9	18.5
6	7.69	7.8	0.0	70.9	21.3
7	7.99	4.0	0.0	36.3	59.7
8	8.59	4.0	0.0	36.3	59.7
9	8.68	2.0	0.0	98.0	0.0
10	10.20	2.0	0.0	98.0	0.0

Il flusso è stato impostato a 0.7 ml/min, mentre la colonna a 49 °C. Il PDA è stato impostato ad una lunghezza d'onda di 260 nm. Gli amminoacidi sono stati identificati comparando i tempi di ritenzione degli standards e sono stati quantificati utilizzando la retta di calibrazione esterna. La retta di calibrazione è stata ottenuta iniettando lo standard a 5 concentrazioni diverse nel range compreso tra 1.5 e 25 pM/ μ L ottenendo in tutti i casi un $R^2 > 0.9914$.

2.2 Analisi statistica

I dati sono stati elaborati utilizzando il software STATISTICA v.10 (StatSoft, Inc., Tibco, CA, USA). I test one-way ANOVA e Tukey sono stati applicati per identificare differenze statistiche ($p < 0,05$) tra i campioni in termini di profilo amminoacidico.

RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Profilo amminoacidico delle uve

Dall'analisi degli amminoacidi condotte sui mosti ottenuti dalle uve di Montepulciano e Verdicchio sono stati identificati 15 amminoacidi, inclusi: istidina, serina, arginina, glicina, asparagina, glutammina, treonina, alanina, prolina, tirosina, metionina, valina, isoleucina, leucina e fenilalanina (Fig. 7). Tra questi, la metionina non è stata identificata nei campioni di Verdicchio.

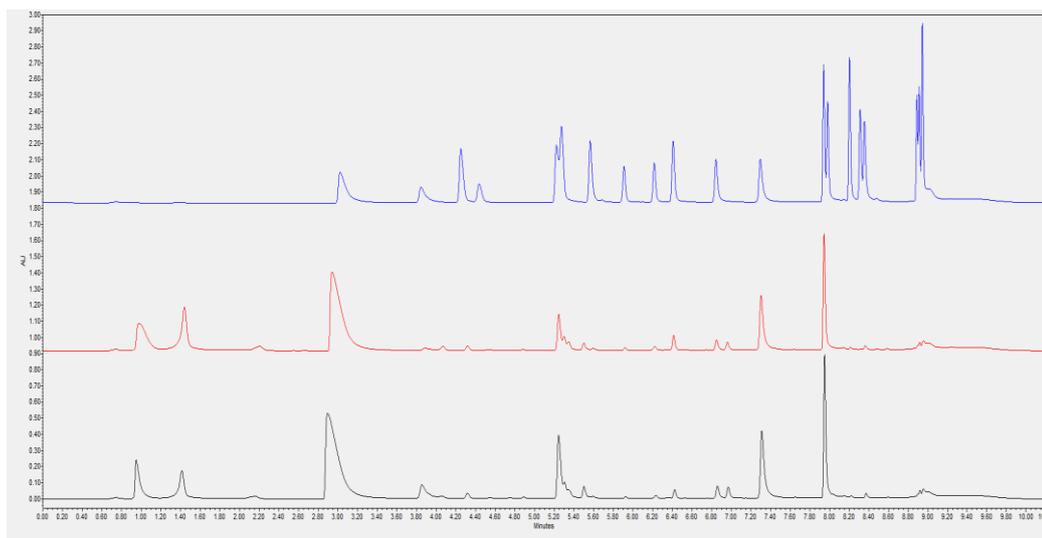


Fig. 7: Cromatogramma degli amminoacidi: Mix di amminoacidi standard (in blu); campione di Montepulciano (in rosso); campione di Verdicchio (in nero).

3.1.1 Montepulciano

Il contenuto totale di amminoacidi liberi nelle uve di Montepulciano variava da circa 260 a 500 mg/L, rispettivamente registrati per il campione VBBVTA e VBMVCA.

Come evidenziato in figura 8, nelle uve di Montepulciano, la prolina è l'amminoacido presente in maggiore concentrazione. Studi precedenti su uve a bacca nera hanno identificato la prolina come amminoacido preponderante (Petrovic et al., 2019).

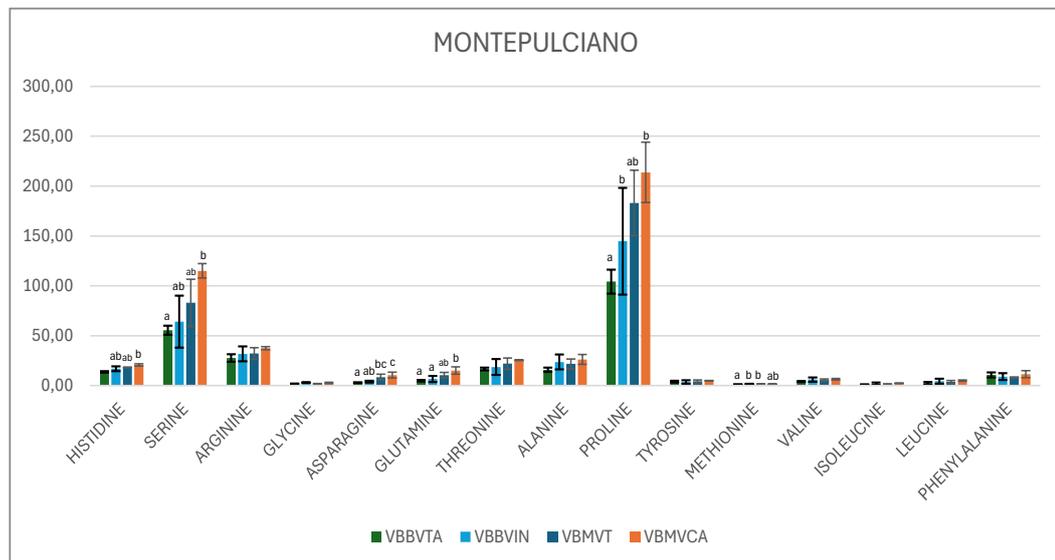


Fig. 8: Concentrazioni medie degli amminoacidi nei campioni di Montepulciano: VBBTA-Villa Boccolini Basso Vigore Trifoglio Alessandrino; VBBVIN-Villa Boccolini Basso Vigore Inerbimento Naturale; VBMVT-Villa Boccolini Medio Vigore Testimone; VBMVCA-Villa Boccolini Medio Vigore Caolino.

La concentrazione di prolina è risultata più alta nei campioni a medio vigore (VBMVT e VBMVCA) variando tra 183,13 e 213,78 mg/L, rispetto a quelli a basso vigore (VBBVTA, VBBVIN). La concentrazione di questo amminoacido è risultata 2 volte superiore nel campione VBMVCA rispetto al campione VBBVTA (104,30 mg/L). L'incremento della prolina nella vite avviene sia in risposta a stress termici e idrici sia come effetto indiretto del trattamento con caolino, che pur riducendo lo stress non lo elimina completamente (Kaur & Asthir, 2015). Il caolino, modulando il microclima e influenzando la traspirazione, stimola ulteriormente la produzione di prolina come meccanismo di difesa e adattamento (Kavi Kishor et al., 2022). La prolina non è direttamente assimilabile dai lieviti in condizioni anaerobiche, il suo aumento non rappresenta un vantaggio per il processo fermentativo ad opera dei lieviti del genere *Saccharomyces* (Long et al., 2018). Tuttavia, nei vini rossi, la prolina è stata identificata come uno tra i composti attivi che determinano il profilo organolettico dei vini, spesso attribuita ad un sapore dolciastro (Espinase Nandorfy et al., 2022).

Spesso la concentrazione di prolina (azoto non assimilabile) viene rapportata a quella di arginina (azoto assimilabile) per distinguere cultivar diverse, e fornendo una indicazione utile del probabile valore nutrizionale del mosto d'uva di una particolare cultivar rispetto al lievito. Tale rapporto potrebbe variare a seconda di pratiche agronomiche che apportino azoto alle viti e dell'epoca di raccolta (Bell & Henschke, 2005). Nel caso delle uve di Montepulciano prese in esame, il rapporto prolina/arginina è risultato essere sempre maggiore di 1, ma tende a diminuire nel caso dei trattamenti con inerbimento.

Al secondo posto per abbondanza, troviamo la serina. Il campione testimone VBMVT ha mostrato un valore medio di 82,98 mg/L, lievemente inferiore rispetto al campione con caolino (VBMVCA: 115,11 mg/L), il che suggerisce un incremento della concentrazione in corrispondenza del trattamento applicato. Il valore più basso viene rilevato nel campione con l'inerbimento con Trifoglio Alessandrino (VBBVTA: 55,44 mg/L) che, anche in questo caso, denota una differenza significativa tra le due pratiche agronomiche (caolino e inerbimento). Lo stesso andamento è stato evidenziato anche per altri amminoacidi, quali istidina, asparagina, glutammina, e metionina, mostrando concentrazioni significativamente più elevate nei campioni trattati con caolino rispetto a quelli con l'inerbimento con Trifoglio Alessandrino. Tra questi, la glutammina è il primo amminoacido per importanza ad essere consumato dai lieviti durante la fermentazione (Boer et al., 2007). La concentrazione di glutammina nel campione trattato con caolino era significativamente maggiore rispetto ai campioni a basso vigore inerbiti (15,13 mg/L vs 4,90-6,62 mg/L).

Nel caso degli amminoacidi, valina, leucina, isoleucina e fenilalanina, i quali sono precursori di alcoli superiori durante la fermentazione alcolica, non sono state riscontrate differenze significative tra i vari campioni. Tuttavia, il campione trattato con caolino ha registrato concentrazioni sempre maggiori rispetto sia al testimone (VBMVT) sia ai campioni a basso vigore inerbiti (VBBVTA, VBBVIN).

Tali risultati suggeriscono il trattamento con caolino come una buona pratica agronomica al fine di migliorare il contenuto di composti azotati, specialmente amminoacidi, necessari non solo per una corretta fermentazione, ma anche come importanti precursori di composti aromatici che possono influenzare la qualità del vino.

3.1.2 Verdicchio

Nei campioni di uve Verdicchio, la concentrazione di amminoacidi liberi totali era di 466,45 e di 512,18 mg/L, rispettivamente per il campione trattato con caolino (BUSCA) e il controllo (BUSTE). Serina e prolina sono i due amminoacidi preponderanti con concentrazioni che si aggirano attorno ai 205 e 160 mg/L, rispettivamente (Fig. 9). Nelle uve di Verdicchio, l'arginina è il terzo composto in ordine di abbondanza, per cui anche questa cultivar presenta un rapporto prolina/arginina superiore ad 1, indicando un maggiore accumulo di azoto non assimilabile. È importante notare, che in entrambe i campioni di uve di Verdicchio non sono stati rilevati amminoacidi contenenti zolfo, quali cisteina e metionina, necessari per il metabolismo dei lieviti. In questo caso, l'aggiunta di composti azotati e solforati, come per esempio il glutatione, potrebbe favorire la corretta fermentazione alcolica da parte dei lieviti (Gobbi et al., 2013). In generale, non si sono registrate differenze statisticamente significative tra le concentrazioni dei vari amminoacidi delle uve di Verdicchio provenienti dal campione testimone e dal campione trattato con caolino. Tali risultati indicano che il trattamento con caolino non influisce sul profilo amminoacidico della cultivar Verdicchio, effetto probabilmente dovuto alla grande resistenza di questa cultivar agli stress ambientali. Tuttavia, è bene valutare anche altri parametri chimico-fisici al fine di comprendere se l'applicazione del caolino sulle viti sia una pratica agronomica efficiente o meno per questa cultivar.

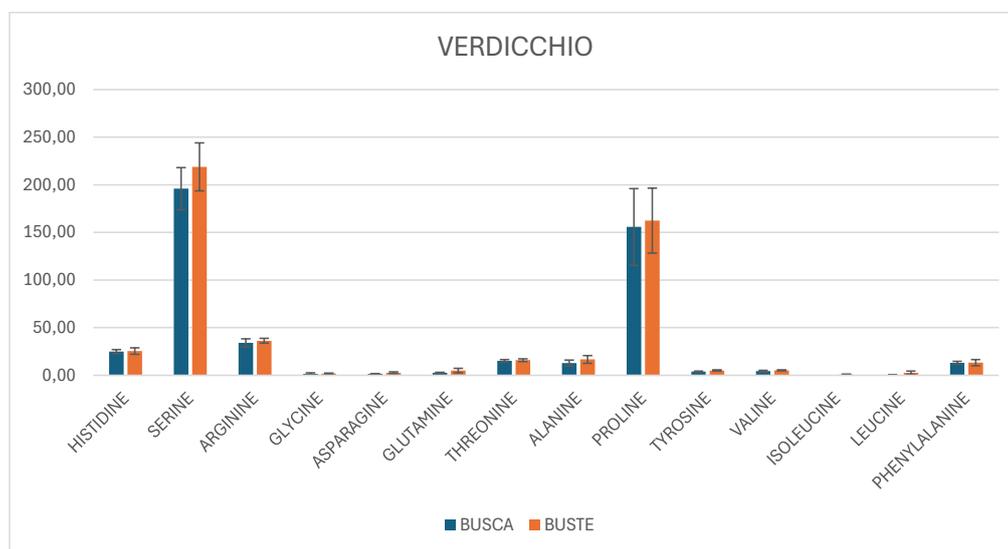


Fig. 9: Concentrazioni medie degli amminoacidi nei campioni di Verdicchio: BUSCA-Trattamento con caolino; BUSTE-Campione testimone.

3.2 L'effetto delle pratiche agronomiche

L'andamento dei profili amminoacidici osservato nei mosti di Montepulciano e Verdicchio, trattati con caolino o inerbiti, è frutto di una combinazione di risposte fisiologiche delle piante agli stress ambientali e delle interazioni con le tecniche agronomiche impiegate (Romualdi G., 2021). Entrambe le pratiche, infatti, introducono variazioni nell'ambiente della vite e nella fisiologia della pianta che incidono sul metabolismo degli amminoacidi e sulla loro disponibilità nei mosti ai fini della fermentazione alcolica.

La riduzione degli stress ambientali grazie al trattamento con caolino contribuisce ad un equilibrio metabolico in grado di sostenere la sintesi di amminoacidi più elevata rispetto ai testimoni non trattati, un effetto particolarmente evidente nel Montepulciano. L'effetto non è così pronunciato nella cultivar Verdicchio, suggerendo che l'influenza del trattamento dipenda anche dalla specifica risposta varietale della pianta.

D'altra parte, l'inerbimento tende a influenzare il profilo amminoacidico dei mosti principalmente attraverso la competizione idrica e nutrizionale tra le piante erbacee e la vite (Bianchi et al., 2024). Nei campioni inerbiti esaminati, si osserva infatti una generale riduzione della concentrazione di amminoacidi. Nei terreni con copertura erbosa, la vite può subire un ridotto apporto di azoto, portando ad una sintesi limitata di alcuni amminoacidi essenziali (Pelusi, 2024). Questa pratica, sebbene contribuisca al miglioramento della qualità del suolo e della sostenibilità agronomica, può dunque avere effetti limitanti sulla nutrizione della vite, specialmente in annate meno piovose (Bianchi et al., 2024). È quindi fondamentale considerare pratiche agronomiche diverse, le esigenze nutrizionali specifiche della cultivar, e le condizioni ambientali, al fine di ottenere uve con una concentrazione di amminoacidi e azoto assimilabile ottimale per il metabolismo dei lieviti durante la fermentazione.

CONCLUSIONI

L'inerbimento e il trattamento della vite con caolino rappresentano due pratiche agronomiche ampiamente utilizzate in viticoltura. L'inerbimento presenta vantaggi ecologici e contribuisce alla salute del suolo, mentre l'applicazione del caolino sulla vite aiuta a mitigare gli stress termici e idrici della pianta, specialmente nelle stagioni più calde e per le varietà più sensibili. Tali pratiche influenzano l'apporto e/o l'accumulo di composti azotati, come gli amminoacidi, nelle uve, con conseguenze sulla riuscita della fermentazione alcolica da parte dei lieviti e sul profilo aromatico del vino finale. In particolare, l'inerbimento con Trifoglio Alessandrino, ha determinato una diminuzione della concentrazione amminoacidica nelle uve, probabilmente a causa della competizione per le risorse nutritive tra la vite e il tappeto erboso. D'altra parte, trattare la vite con il caolino può portare a vantaggi significativi per alcune cultivar, come il Montepulciano, determinando un accumulo di amminoacidi fermentabili dai lieviti. Nel caso del Verdicchio, il trattamento con caolino sembra non avere alcun effetto sull'accumulo di composti azotati nelle uve. È bene dunque, valutare l'effetto di diverse pratiche non solo dal punto di vista agronomico, ma anche dal punto di vista nutrizionale per poter ottenere vini di alta qualità.

BIBLIOGRAFIA

- AICS. (2024). *Buone Pratiche Agricole*.
- Amato, V. (2017). *Wine landscape of Italy* (pp. 523–535).
- Bell, S. J., & Henschke, P. A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. In *Australian Journal of Grape and Wine Research* (Vol. 11, Issue 3). <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x>
- Bernardo, S., Dinis, L. T., Luzio, A., Pinto, G., Meijón, M., Valledor, L., Conde, A., Gerós, H., Correia, C. M., & Moutinho-Pereira, J. (2017). Kaolin particle film application lowers oxidative damage and DNA methylation on grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.04.002>
- Bianchi, D., & Brancadoro, L. (2023, September 28). Inerbimento in vigneto contro erosione e stress idrico. *L'Informatore Agrario*.
- Bianchi, D., Cavenago, B., & Brancadoro, L. (2024, October 24). Vite: gestire l'inerbimento con l'agricoltura di precisione. *L'Informatore Agrario*.
- Boer, V. M., Tai, S. L., Vuralhan, Z., Arifin, Y., Walsh, M. C., Piper, M. D. W., De Winde, J. H., Pronk, J. T., & Daran, J. M. (2007). Transcriptional responses of *Saccharomyces cerevisiae* to preferred and nonpreferred nitrogen sources in glucose-limited chemostat cultures. *FEMS Yeast Research*, 7(4). <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00220.x>
- Bonciarelli, F., & Bonciarelli, U. (2003). *AGRONOMIA*. EDAGRICOLE Scolastico.
- Brandriss, M. C., & Magasanik, B. (1979). Genetics and physiology of proline utilization in *Saccharomyces cerevisiae*: Enzyme induction by proline. *Journal of Bacteriology*, 140(2). <https://doi.org/10.1128/jb.140.2.498-503.1979>
- Brillante, L., Belfiore, N., Gaiotti, F., Lovat, L., Sansone, L., Poni, S., & Tomasi, D. (2016). Comparing kaolin and pinolene to improve sustainable grapevine production during drought. *PLoS ONE*, 11(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156631>
- Britannica, T. (2018, November 9). *Kaolinite* (T. Britannica, Ed.). Encyclopaedia Britannica; Editors of Encyclopaedia. <https://www.britannica.com/science/kaolinite>

- Capozzi, V., Garofalo, C., Chiriatti, M. A., Grieco, F., & Spano, G. (2015). Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiological Research*, *181*, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.005>
- Carlin, S., Vrhovsek, U., Lonardi, A., Landi, L., & Mattivi, F. (2019). Aromatic complexity in Verdicchio wines: A case study. *Oeno One*, *53*(4). <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.4.2396>
- Cianci, M. (2021). INTRODUCTION TO PROTEINS, Introduction to Proteins: Structure, Function, and Motion, 2nd edition. *Crystallography Reviews*, *27*(1). <https://doi.org/10.1080/0889311x.2020.1858067>
- Coniberti, A., Ferrari, V., Dellacassa, E., Boido, E., Carrau, F., Gepp, V., & Disegna, E. (2013). Kaolin over sun-exposed fruit affects berry temperature, must composition and wine sensory attributes of Sauvignon blanc. *European Journal of Agronomy*, *50*. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.06.001>
- Dean, R., Spencer, J., & Christopher, K. M. (2017). *Biochimica, molecole e metabolismo*. Pearson.
- Del Zozzo, F., Guadagna, P., Squeri, C., Poni, F., & Frioni, T. (2021, April 2). Caolino, un alleato contro il cambiamento climatico in vigneto. *VITE & VINO*, *2*.
- Di Rienzo, L., Miotto, M., Bò, L., Ruocco, G., Raimondo, D., & Milanetti, E. (2021). Characterizing Hydropathy of Amino Acid Side Chain in a Protein Environment by Investigating the Structural Changes of Water Molecules Network. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.626837>
- Espinase Nandorfy, D., Watson, F., Likos, D., Siebert, T., Bindon, K., Kassara, S., Shellie, R., Keast, R., & Francis, I. L. (2022). Influence of amino acids, and their interaction with volatiles and polyphenols, on the sensory properties of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *28*(4). <https://doi.org/10.1111/ajgw.12564>
- Fairbairn, S., McKinnon, A., Musarurwa, H. T., Ferreira, A. C., & Bauer, F. F. (2017). The impact of single amino acids on growth and volatile aroma production by *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Frontiers in Microbiology*, *8*(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02554>
- Frioni, T., Saracino, S., Squeri, C., Tombesi, S., Palliotti, A., Sabbatini, P., Magnanini, E., & Poni, S. (2019). Understanding kaolin effects on grapevine leaf and whole-canopy physiology during water stress and re-watering. *Journal of Plant Physiology*, *242*. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153020>

- García-Orenes, F., Morugañ-Coronado, A., Zornoza, R., & Scow, K. (2013). Changes in soil microbial community structure influenced by agricultural management practices in a Mediterranean agro-ecosystem. *PLoS ONE*, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080522>
- Garde-Cerdán, T., Lorenzo, C., Lara, J. F., Pardo, F., Ancín-Azpilicueta, C., & Salinas, M. R. (2009). Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differentiate grape varieties and cultivated systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6). <https://doi.org/10.1021/jf8037049>
- Gobbi, M., Comitini, F., D'Ignazi, G., & Ciani, M. (2013). Effects of nutrient supplementation on fermentation kinetics, H₂S evolution, and aroma profile in Verdicchio DOC wine production. *European Food Research and Technology*, 236(1). <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1870-0>
- Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I., & García-Romero, E. (2007). Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3). <https://doi.org/10.1021/jf062820m>
- Gonzalez-Ramirez, M., Kazakova, J., Garcia-Serrano, P., Ubeda, C., Valero, E., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2024). Commercial wine yeast nitrogen requirement influences the production of secondary metabolites (aroma, hydroxytyrosol, melatonin and other bioactives) during alcoholic fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 421. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110788>
- Granes, D., Medina, E., Blateyron, L., Romero, C., Bru, E., Roux, C., Bonnefond, C., Piperno, A., Rouanet, M., & Oui, T. (2008, September). Alimentazione azotata dei lieviti. *INFOWINE*, 8, 1–6.
- Hare, P. D., & Cress, W. A. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21(2). <https://doi.org/10.1023/A:1005703923347>
- Jeyaram, K., & Rai, A. K. (2017). Role of yeasts in food fermentation. In *Yeast Diversity in Human Welfare*. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2621-8_4
- Kaur, G., & Asthir, B. (2015). Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. In *Biologia Plantarum* (Vol. 59, Issue 4). <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0549-3>
- Kavi Kishor, P. B., Suravajhala, P., Rathnagiri, P., & Sreenivasulu, N. (2022). Intriguing Role of Proline in Redox Potential Conferring High Temperature Stress Tolerance. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.867531>

- Leder, M. (2011a). *Conoscere il vino* (M. Leder, Ed.).
- Leder, M. (2011b). *Quattrocalici - Conoscere i vitigni*.
- Long, D., Wilkinson, K. L., Taylor, D. K., & Jiranek, V. (2018). Novel wine yeast for improved utilisation of proline during fermentation. *Fermentation*, 4(1).
<https://doi.org/10.3390/fermentation4010010>
- MIPAAF, Gazzetta Ufficiale (1966).
- MIPAAF, Pub. L. No. 210, Gazzetta Ufficiale (1967).
- MIPAAF, Pub. L. No. 211, Gazzetta Ufficiale (1967).
- MIPAAF, Pub. L. No. 178, Gazzetta Ufficiale (1968).
- MIPAAF, Pub. L. No. 245, Gazzetta Ufficiale (1968).
- MIPAAF, Pub. L. No. 205, Gazzetta Ufficiale (2004).
- Navarathna, D. H. M. L. P., Harris, S. D., Roberts, D. D., & Nickerson, K. W. (2010). Evolutionary aspects of urea utilization by fungi. *FEMS Yeast Research*, 10(2).
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00602.x>
- Nishimura, A. (2024). Regulations and functions of proline utilization in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* (Vol. 88, Issue 2).
<https://doi.org/10.1093/bbb/zbad165>
- OIV. (2024). *STATE OF THE WORLD VINE AND WINE SECTOR IN 2023*.
- Pallioti, A., Frioni, T., Tombesi, S., Sabbatini, P., Cruz-Castillo, J. G., Lanari, V., Silvestroni, O., Gatti, M., & Poni, S. (2017). Double-pruning grapevines as a management tool to delay berry ripening and control yield. *American Journal of Enology and Viticulture*, 68(4).
<https://doi.org/10.5344/ajev.2017.17011>
- Pelusi, F. (2024, October 1). Inerbimento in vigneto, quali opportunità per una viticoltura più resiliente? *AgroNotizie*.
- Petrovic, G., Alexandre-Tudo, J. L., & Buica, A. (2019). Grape must profiling and cultivar discrimination based on amino acid composition and general discriminant analysis with best subset. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 40(2).
<https://doi.org/10.21548/40-2-3373>
- Pontes, A., Hutzler, M., Brito, P. H., & Sampaio, J. P. (2020). Revisiting the taxonomic synonyms and populations of *saccharomyces cerevisiae*—phylogeny, phenotypes, ecology and domestication. *Microorganisms*, 8(6).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8060903>
- Pretorius, I. S. (2020). Tasting the terroir of wine yeast innovation. *FEMS Yeast Research*, 20(1).
<https://doi.org/10.1093/femsyr/foz084>

- Prusova, B., Humaj, J., Sochor, J., & Baron, M. (2022). Formation, Losses, Preservation and Recovery of Aroma Compounds in the Winemaking Process. In *Fermentation* (Vol. 8, Issue 3). <https://doi.org/10.3390/fermentation8030093>
- Rendueles, P. S., & Wolf, D. H. (1988). Proteinase function in yeast: Biochemical and genetic approaches to a central mechanism of post-translational control in the eukaryote cell. *FEMS Microbiology Letters*, *54*(1). [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(88\)90239-X](https://doi.org/10.1016/0378-1097(88)90239-X)
- Romualdi G. (2021, March 23). Vigneto, un alleato che non ti aspetti: il caolino. *AgroNotizie*.
- Siverio, J. M. (2002). Assimilation of nitrate by yeasts. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 26, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(02\)00100-6](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(02)00100-6)
- The, S. V., Snyder, R., & Tegeder, M. (2021). Targeting Nitrogen Metabolism and Transport Processes to Improve Plant Nitrogen Use Efficiency. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 11). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.628366>
- Tkachenko, O., Kananykhina, O., Suhachenko, T., Turpurova, T., & Titlova, O. (2020). SPECIFIC FEATURES OF NITROGEN METABOLISM DURING FERMENTATION OF MUST FROM WHITE GRAPE VARIETIES GROWN IN THE ODESSA REGION. *Food Science and Technology*, *14*(2). <https://doi.org/10.15673/fst.v14i2.1712>
- Tofalo, R., Fusco, V., Böhnlein, C., Kabisch, J., Logrieco, A. F., Habermann, D., Cho, G.-S., Benomar, N., Abriouel, H., Schmidt-Heydt, M., Bockelmann, W., & Franz, C. M. A. P. (2020). The life and times of yeasts in traditional food fermentations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(18), 3103–3132. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1677553>
- Tofalo, R., Patrignani, F., Lanciotti, R., Perpetuini, G., Schirone, M., Di Gianvito, P., Pizzoni, D., Arfelli, G., & Suzzi, G. (2016). Aroma profile of montepulciano d’abruzzo wine fermented by single and co-culture starters of autochthonous *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts. *Frontiers in Microbiology*, *7*(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00610>
- Valli, R., & Corradi, C. (2016). *Coltivazioni arboree*. EDAGRICOLE Scolastico.
- Verdenal, T., Zufferey, V., Dienes-Nagy, Á., J.-S., R., & J.-L., S. (2023). Nutrition azotée de la vigne: mesures et interprétations. *Swiss Agricultural Research*, *14*, 167–171. <https://doi.org/https://doi.org/10.34776/afs14-167>
- Wang, Y. Q., Ye, D. Q., Liu, P. T., Duan, L. L., Duan, C. Q., & Yan, G. L. (2016). Synergistic effects of branched-chain amino acids and phenylalanine addition on major volatile compounds in wine during alcoholic fermentation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *37*(2). <https://doi.org/10.21548/37-2-683>

Zarraonaindia, I., Owens, S. M., Weisenhorn, P., West, K., Hampton-Marcell, J., Lax, S., Bokulich, N. A., Mills, D. A., Martin, G., Taghavi, S., van der Lelie, D., & Gilbert, J. A. (2015). The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *MBio*, 6(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.02527-14>

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la mia Relatrice, la professoressa Pacetti, per avermi dato la possibilità di lavorare a questo progetto, accogliendo la mia richiesta.

La mia Correlatrice, la professoressa Silvestroni, per avermi capito e seguito nella stesura della parte agronomica della mia tesi.

La Dott.ssa Benedetta Fanesi, per avermi fornito tutto l'aiuto necessario, avermi trasmesso le competenze per poter lavorare autonomamente in laboratorio e per avermi seguito nella stesura della tesi, non lasciandomi mai da solo.

Ringrazio innanzitutto me stesso, per la determinazione e per non aver mollato nonostante le difficoltà lungo il cammino. Non mi ero mai posto l'obiettivo di terminare una triennale nei tempi previsti, perché sapevo che, pur essendone capace, avrei voluto prima capire come muovermi in questo nuovo mondo. Non pensavo, però, di impiegarmi il doppio del tempo! Al termine di questo percorso posso davvero constatare che non importano le basi da cui parti, quanto studi, quanto tempo ci metti, quante lacrime versi o quante maledizioni mandi. Conta solo chi sei, quanto vali e come riesci a esprimerti. Il futuro è dietro l'angolo e aspetta solo di spaventarti. Non preoccuparti, però, caro Domenico: previdente come sei, sai già che lui è lì. Riuscirai, anche questa volta, a far finta che ti abbia spaventato.

Mamma e papà, grazie per avermi dato la possibilità di intraprendere, ma soprattutto di continuare, questo percorso travagliato. Grazie per tutti i sacrifici che avete affrontato: so quanto sia stato difficile e spero che questo traguardo, anche se in minima parte, possa ripagarvi. Non ve lo dico mai, ma grazie per avermi cresciuto così. Vi voglio bene.

I miei nonni, il mio porto sicuro. Mi avete da sempre trasmesso tutto quello di cui avevate conoscenza, con una storia, una canzone o un rimprovero. Grazie alle mie nonne che, facendomi sempre mettere le mani in pasta, hanno influenzato il mio immenso amore per il cibo, al quale io ho solo aggiunto un pizzico di curiosità che mi ha portato su questo percorso.

A nonna Rosa, più che dire grazie devo chiedere scusa, lei lo sa. Negli ultimi, difficili anni della sua vita, aveva smesso di insegnarmi attraverso le parole o i gesti concreti; lo faceva soltanto con la sua presenza. Il suo ultimo, grande insegnamento è stato sicuramente questo: non importa se non riesci a comunicare a parole, perché stringendo le mani e guardando negli occhi puoi dire molto di più.

Tutta la mia famiglia, gli zii e i cugini. Mi avete sempre seguito, anche se a distanza in questo lungo percorso. Grazie per il rapporto che abbiamo.

Davide, il mio punto fermo da una vita. Hai camminato sempre al mio fianco in questo percorso, nonostante le nostre continue idee contrastanti. Non ricordo il giorno preciso in cui il nostro rapporto sia diventato così importante, ma ricordo che, da quel momento, non è mai cambiato: dall'aperitivo da Giovanni dopo la messa, all'ACR, alle bevute, alle discussioni e poi ai piani insieme, siamo sempre andati a braccetto. Spero, e sono sicuro che sarà così, che continueremo a farlo per sempre anche se distanti. Ti voglio bene.

Donato, non saprei nemmeno come definirti. Sei amico dai tempi delle medie, sei stato coinquilino, gymbro, e quante volte hai ascoltato le mie storie... solo i muri devastati di casa nostra lo sanno. Abbiamo condiviso gioie, disastri, spese, pranzi e cene. Sono sicuro che, un giorno, quando saremo vecchi, saremo ancora davanti ai fornelli a preparare una carbonara della mado. Grazie per esserci sempre stato.

Il Morganmenta: Antonio, Danilo e Gianfranco Manuel Antonio. Siete da anni la mia famiglia, il posto in cui rifugiarmi e le persone che mi rimproverano quando faccio una delle mie tante cavolate. Il nostro rapporto è sempre stato singolare,

diverso da tutti gli altri gruppi e da qualsiasi persona abbia frequentato. Siete le persone più mature che conosco, e sono felice che, da una casualità, aggiungendo pezzi (da 8) e posti del cuore, siamo diventati quello che siamo oggi. Dovrei ringraziarvi per avermi reso il vostro sindaco, ma dato che mi sono auto-intitolato tale, non avrebbe senso. Vi ringrazio, però, per esserci sempre, per i mille bicchieri condivisi e per tutti quelli che il futuro ci riserverà.

Gaetano, il mio fratcugin, nonostante tutto. Sei la persona più difficile da ringraziare, ma allo stesso tempo una delle più importanti. Ne abbiamo passate tante insieme, dai momenti felici a quelli tristi. Nonostante alcune decisioni ci abbiano allontanato, sono davvero felice che il nostro rapporto, anche se diverso da prima, sia tornato. Ti vorrei dire tante cose, ma sarebbero scontate, perché tu mi conosci e io conosco te. Ti dico solo grazie per le migliaia di chilometri percorsi insieme lungo la strada della vita, ma anche per quelli fatti con la Punto. Se dovessi trasferirmi di nuovo in futuro, avrai sempre una stanza sufficientemente capiente per tutta la casa che ti porterai appresso.

Valentina, la sorella gemella che la vita mi ha fatto incontrare. Da quando abbiamo scoperto di essere nati lo stesso giorno, tra i banchi del primo anno, ho capito che questa coincidenza, in qualche modo, ci avrebbe unito. Grazie per tutti gli esami affrontati insieme, per le ore di studio, per il materiale che mi passavi e che, nonostante io passassi le giornate a risistemarlo per renderlo perfetto e ordinato come piace a noi, tu non utilizzavi comunque. Grazie per le confidenze e le consulenze, e grazie per condividere con me gli stessi pensieri e gusti su così tante cose. Ti voglio bene.

Alessia, mia sorella maggiore. Piano piano ti sei infiltrata nella mia quotidianità e, senza che me ne accorgessi, siamo diventati molto uniti nell'ultimo anno. Mi hai aiutato tanto con tutte le questioni che solo tu conosci, con la tua maturità e la tua razionalità, che a volte mi sconvolgono. Grazie per avermi sempre ascoltato e per avermi sempre consigliato la cosa giusta da fare. Ti voglio bene.

Chiara, la mia spina nel fianco. Non so nemmeno come tu sia entrata nella mia vita, ma hai fatto un percorso incredibile in pochissimi mesi. Sei ciò che non mi sarei mai aspettato di avere, ma anche quello di cui ormai non riuscirei più a fare a meno. Anche se non hai fatto parte di tutto il percorso, ti devo il merito per tante decisioni prese nell'ultimo periodo. Mi stai aiutando a fare ordine nella testa senza pretendere nulla in cambio. Grazie di esserci.

A via Piave, 32 INT.1, e ai suoi inquilini: da Giuseppe e Donato a Cristiana e Alessia. Siete stati il motivo per cui ho potuto chiamare quell'appartamento "casa", anche se sappiamo tutti che, nonostante le macerie, il suo vero nome è Villa Marziali. Con una puccia, una carbonara, un sushino sotto casa, una tigre di nome Shacky, una pistola o una semplice pasta al sugo, siete stati la migliore compagnia che potessi desiderare, sia durante le giornate di studio sia nelle lunghe notti insonni.

Grazie a chiunque abbia fatto parte di questo percorso: i compagni di corso, gli amici conosciuti in università e quelli completamente esterni.

Un grazie particolare va anche a chi non fa più parte della mia vita; probabilmente doveva andare così, oppure, chissà, un giorno la vita farà incrociare di nuovo le nostre strade. Grazie a chi ha creduto in me, anche solo dicendomi: "Dai, arriverà la fine." E grazie anche a chi non ci credeva, perché anche il vostro contributo mi ha spinto ad andare avanti.