

l'Enologo

DAL 1893 LA VOCE DELLA CATEGORIA

MENSILE DELL'ASSOCIAZIONE ENOLOGI ENOTECCNICI ITALIANI. ORGANIZZAZIONE NAZIONALE DI CATEGORIA DEI TECNICI DEL SETTORE VITIVINICOLO - N°10 OTTOBRE 2020

INTERVISTA ESCLUSIVA

MASSIMO BOTTURA

ENOLOGIA E GASTRONOMIA
BINOMIO VINCENTE

Editoriale del Presidente

**Può raggiungere l'autonomia dei sapori
solo chi ha raggiunto l'autonomia dei saperi**



ASSOENOLOGI
IL VINO PER CULTURA E PROFESSIONE

L'ETIL LEUCATO NEI VINI INDAGINE SULLA MOLECOLA RESPONSABILE DELLA NOTA DA MORA FRESCA

Si riportano i primi dati relativamente a quella che, con buona probabilità, è la prima indagine nazionale sulla concentrazione della molecola in vini da *Vitis vinifera* e da varietà cosiddette resistenti. Gli autori discutono gli intervalli di concentrazione osservati, anche in relazione al ceppo di lievito, e le variazioni determinate sul piano organolettico. Allo stato attuale la gestione tecnologica di questo aroma non appare particolarmente semplice.



Di

Giorgio Nicolini ^{1*}

Mauro Paolini ²

Maurizio Bottura ⁴

Tomás Román ⁵

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

* autore corrispondente: giorgio.nicolini@fmach.it

Valeria Bianchin ³

Corso di Laurea interateneo in Viticoltura ed
Enologia - San Michele all'Adige (TN)

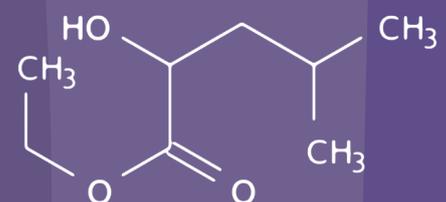
INTRODUZIONE

● L'etil leucato (EL), alias 2-idrossi-4-metilpentanoato di etile (**Fig. 1**), è un estere etilico individuato nei distillati già da Schreier *et al.* (1979) e successivamente da Ledauphin *et al.* (2004, 2010), mentre nel saké la sua presenza e quantificazione è riportata da Suzuki *et al.* (1982, in Shimizu *et al.* 2016). Nei vini le prime osservazioni, per quanto di nostra conoscenza, sono relative a prodotti alcolizzati invecchiati (Campo *et al.* 2006) senza però che fossero associate ad esse i livelli di concentrazione né discusso il ruolo di questo estere in termini aromatico-senso-

riali. L'EL è ritenuto responsabile - o, per lo meno, corresponsabile - della nota da frutti rossi e mora fresca che caratterizza in modo particolare certi vini rossi (Falcao *et al.* 2012). Questi autori hanno infatti dimostrato un suo impatto diretto, seppur limitato, sull'aroma da mora fresca che era considerato fino a quel momento la risultante dell'interazione fra i numerosi esteri ed acetati presenti nei vini; così come avviene, peraltro, per l'insieme delle sensazioni da frutti rossi e neri dei vini rossi (Pineau *et al.* 2009), che vedono coinvolti almeno una quindicina di composti. In qualche modo corresponsabili della nota da mora fresca e da frutti rossi sembrano

essere, senza presunzione di esaustività, anche etil propanoato, etil butanoato, etil-3-idrossibutanoato, etil-2-metilbutanoato, 2-metilpropilacetato e butilacetato (Lytra *et al.* 2012a, 2012b, 2013a, 2013b, 2014, 2015), talora con contributi rilevanti anche quando singolarmente in quantità

Fig. 1 - La molecola dell'etil leucato



sottosoglia, o con effetti sinergici e con ruoli diversificati a seconda degli enantiomeri coinvolti. Viceversa, altri composti - quali principalmente diacetile ma anche acetoino, acido acetico e gamma-butilrolattone - sembrano attenuare l'aroma di frutta fresca (Lytra *et al.* 2013a,b).

L'EL è riportato essere presente nei vini rossi a livelli di concentrazione media di 410 µg/L, con massimo di 672 µg/L (Falcao *et al.* 2012). Nei bianchi i valori medi osservati sono solitamente inferiori (40 µg/L, Li *et al.* 2008; 90 µg/L, Câmpeanu *et al.* 1998), benché su prodotti lungamente invecchiati siano state trovate concentrazioni anche di 630 µg/L (Falcao *et al.* 2012) e 827 µg/L (Lytra *et al.* 2012).

- Relativamente alla distribuzione enantiomerica, la forma R è pressoché l'unica presente nei bianchi, con differenze tra gestioni microbiologiche diverse del processo fermentativo non significative e pari a soli pochi microgrammi per litro; differenze significative sono state invece riportate sulla base dell'origine varietale dei mosti di partenza (Puertas *et al.* 2018).

- Nei rossi è stata riscontrata la presenza di entrambi gli enantiomeri, in rapporti di concentrazione magari diversi a seconda delle scelte enologiche applicate; la forma R, tuttavia, è sempre largamente prevalente, con un rapporto enantiomerico medio R/S di 95:5 - come osservato in vini di età molto differente - e con la tendenza dello stesso rapporto a valori solo di poco più bassi (91:9) in vini a lunghissimo invecchiamento (Lytra *et al.* 2012a).

- L'invecchiamento sembrerebbe comunque favorire l'aumento della concentrazione complessiva di etil leucato (Lopez *et al.* 2002), il che supporta anche il ruolo di una più o meno importante fase di esterificazione per via chimica per raggiungere l'equilibrio, come dimostrato da Díaz-Maroto *et al.* (2005) per gli acidi grassi ramificati a corta catena i quali sono correlati, diversamente da quelli lineari, al metabolismo azotato dei lieviti. Il che significa che l'EL può avere un'origine fermentativa ma può anche essere un composto aromatico terziario.

- Tra gli altri fattori potenzialmente impattanti sulla concentrazione di EL, l'epoca di raccolta delle uve sembra incidere - in maniera significativa o come sola tendenza dei valori medi - determinando la presenza di concentrazioni maggiori in corrispondenza di raccolte precoci (Šuklje *et al.* 2014, 2017; Longo *et al.* 2018).

- Un effetto significativo sembrerebbe poi essere esercitato sia dal ceppo di *Saccharomyces cerevisiae* che da quello di *Oenococcus oeni* utilizzati nelle fermentazioni, con variazioni massime - nell'insieme dell'accoppiamento lievito/batterio lattico - di poche decine di microgrammi per litro (Gammacurta *et al.* 2017, 2018); un incremento massimo di qualche decina di microgrammi è riportato da Pereira *et al.* (2014) come conseguenza di trattamenti di riscaldamento di vini Madera ad alta temperatura (45-70 °C) protratti per qualche mese.

- Oltre al vino, tra le bevande fermenta-

te l'EL è presente - ma in concentrazioni certamente maggiori, fino a 20 mg/L (Suzuki *et al.* 1982 in Shimizu *et al.* 2016) - nel saké dove la fermentazione alcolica del riso da parte di *Saccharomyces cerevisiae* avviene previa trasformazione dell'amido in glucosio grazie all'attività enzimatica dell'*Aspergillus oryzae*. In questo caso, è proprio la prima fase di trasformazione enzimatica subita dalla materia prima a incrementare in maniera rilevantissima la produzione di leucato dalla leucina e, conseguentemente, la sua successiva esterificazione a EL durante la fermentazione alcolica (Shimizu *et al.* 2016).

- Obiettivo del presente lavoro è stata la quantificazione dell'etil leucato in vini bianchi, rosati e rossi di produzione semi-industriale e la valutazione del contributo della molecola alle sensazioni organolettiche ortonasali.

MATERIALI E METODI

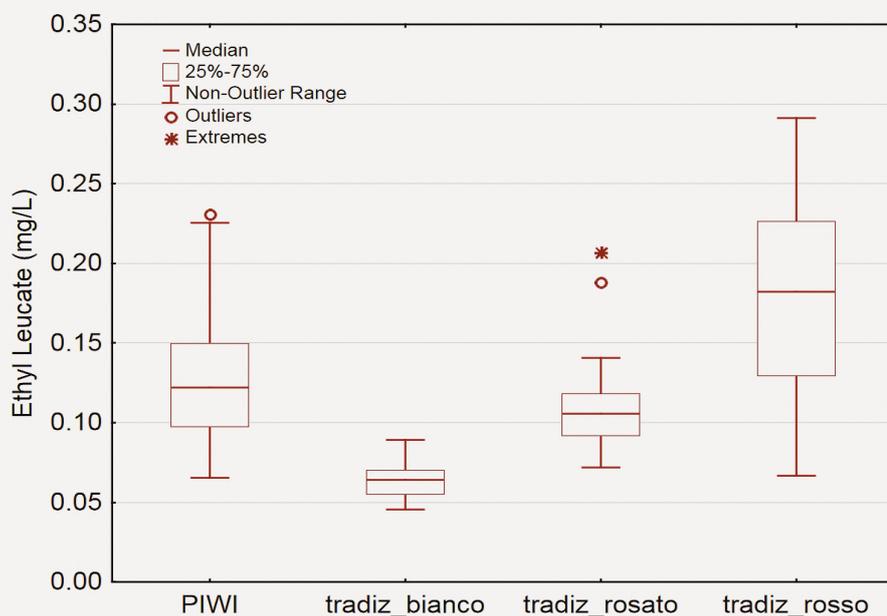
- L'etil leucato dei vini è stato estratto in fase solida e fissato su una cartuccia ENV+, quindi eluito con diclorometano e analizzato - con un GC Agilent Intuvo 9000 accoppiato ad un Agilent 7000 Series Triple Quadrupole MS operando in modalità multiple reaction monitoring (MRM) - secondo il metodo di Paolini *et al.* (2018). Relativamente all'etil leucato, il metodo ha un limite di rilevabilità di 3 µg/L, un limite di quantificazione di 10 µg/L e un R² > 0.999 nell'intervallo di linearità tra 10 e 10000 µg/L (Paolini *et al.* 2019).

- Sono stati analizzati 108 vini monovarietali prodotti da uve raccolte a maturazione tecnologica, lavorate in scala semi-industriale nelle vendemmie 2017 e 2018 e riconducibili a diverse varietà a bacca rossa cosiddette resistenti (PIWI; N=52), a diverse cultivar tradizionali di vinifera anch'esse processate in rosso (N=20), ad altra vinifera lavorata in rosato (N=28) e ad alcuni vini da vinifera a bacca bianca (N=8).

RISULTATI E DISCUSSIONE

- L'intero data-set ha mostrato valori di concentrazione di EL variabili tra 46 e 291 µg/L, con media di 127 ± 50 µg/L. Valutando i dati sulla base delle 4 tipologie di vino analizzate (PIWI rossi, tradizionali rossi, tradizionali rosati, tradizionali bianchi) va innanzitutto fatto rilevare che una elabo-

Fig. 2 - Distribuzione dei valori di concentrazione (mg/L) di etil leucato in vini di produzione semi-industriale.



razione statistica su base tipologia sarebbe in qualche modo forzata; la numerosità campionaria è infatti particolarmente diversa e i vini non sono riferibili ad un piano sperimentale vero e proprio.

- Valutando comunque la campionatura disponibile, peraltro complessivamente nutrita, si può osservare in **Fig. 2** come la concentrazione nei bianchi sia a livelli inferiori che non nei rossi, confermando in linea di massima i dati di letteratura, con i rosati in posizione intermedia.

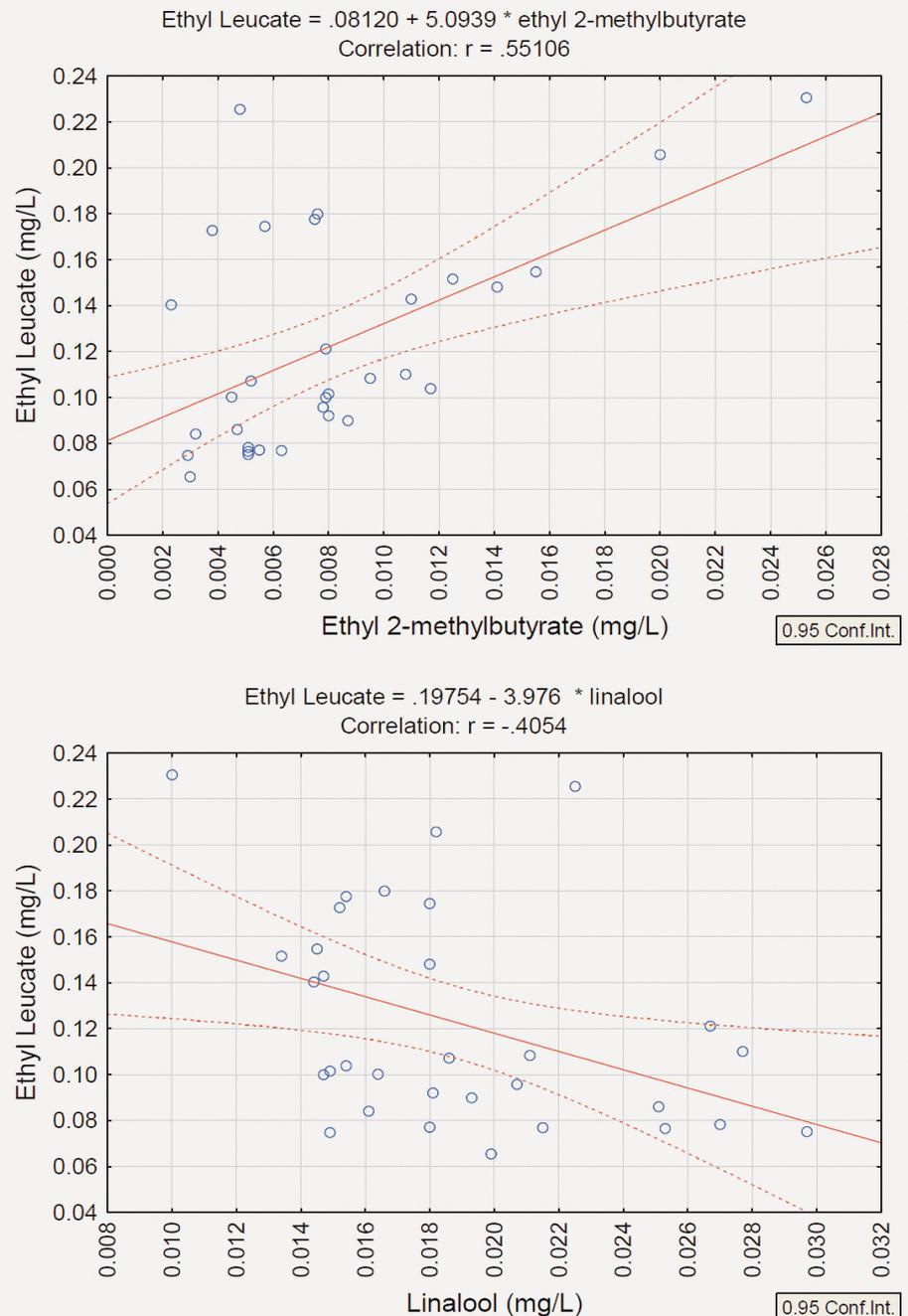
- Relativamente a quest'ultima tipologia, però, trattandosi di campioni appartenenti ad un'unica varietà non è possibile ricondurre le concentrazioni esclusivamente all'aspetto tecnologico, né sono disponibili in letteratura dati specifici di confronto. I vini da varietà tolleranti "PIWI" a bacca rossa - processate con vinificazione classica in rosso e indicativamente una settimana di macerazione - al test non parametrico di Kruskal-Wallis hanno mostrato concentrazioni statisticamente inferiori rispetto a quelle dei rossi tradizionali processati in maniera analoga. Naturalmente, il valore di questa differenziazione va inteso come strettamente limitato alla campionatura disponibile.

Correlazione con altre molecole volatili

- Su un campione di 32 vini rossi (8 varietà x 2 annate x 2 zone) è stato possibile mettere in relazione la concentrazione di EL con quella di una sessantina di altri composti volatili, tra varietali, prefermentativi e fermentativi. Solo per due di essi - presenti ambedue in concentrazioni di circa un ordine di grandezza inferiore a quella del leucato di etile - è stata osservata una correlazione statisticamente significativa con la molecola oggetto del presente lavoro: di segno positivo con il 2-metilbutanoato di etile ($p=0.001$) e di segno negativo con il linalolo ($p=0.021$) (**Fig. 3**).

- Quanto al primo, la letteratura ne riporta la presenza in quantità media di circa 50 $\mu\text{g/L}$, con la netta prevalenza della forma enantiomerica S - caratterizzata da una soglia olfattiva in soluzione idroalcolica di 125 $\mu\text{g/L}$, minore di quella dell'enantiomero R - e livelli di concentrazione maggiori nei campioni più invecchiati (Lytra *et al.* 2014). Un apporto di 50 $\mu\text{g/L}$ di (2S)-2-metilbutanoato di etile abbasserebbe la soglia olfattiva di una miscela

Fig. 3 - Le uniche correlazioni statisticamente significative osservate in 32 vini rossi giovani dell'etil leucato con circa altre 60 molecole volatili presenti.



di esteri relativamente alla nota da frutti a bacca nera, confermando il contributo della molecola alla sensazione citata.

- Quanto al linalolo, la correlazione negativa sembrerebbe sostanziare le osservazioni di Šuklje *et al.* (2014, 2017) e di Longo *et al.* (2018) secondo cui a raccolte precoci corrisponderebbero maggiori concentrazioni di EL, considerando che la componente terpenica solitamente cresce, almeno entro certi limiti, con la maturazione delle uve.

Variabilità indotta dal lievito

- Il possibile peso del ceppo di lievito è messo in evidenza dalla **Fig. 4**. In essa si riporta, rispetto al dato medio (26.5 $\mu\text{g/L}$), la produzione di etil leucato ottenuta a partire da una stessa massa di uva vinificata in rosso con 9 diversi ceppi di lievito - commerciali e non - avendo come riferimento il ceppo Vin13. La variabilità tra il ceppo maggior produttore e quello minor produttore è stata di poco più di 19 $\mu\text{g/L}$,

sostanzialmente in accordo con quanto riportato da Gammacurta *et al.* (2017, 2018).

Aminoacidi nei mosti e nei vini

- Una tendenza a registrare un effetto varietà nella formazione di EL sembra emergere da qualche lavoro già citato e anche da nostre preliminari indagini ancora in corso. Del resto - quale che sia il momento di formazione dell'EL - in linea generale è ragionevole attendersi un effetto della matrice. Ad esempio, la **Fig. 5** riporta alcuni dati relativi alla leucina nei mosti ricavati da un'indagine su 104 campioni da uve coltivate in Trentino. Questo aminoacido è presente a una concentrazione media di 14.2 ± 8.2 mg/L, coprendo l'intervallo da 2.5 a 41.1 mg/L, e rappresenta mediamente lo 0.99 ± 0.45 % degli aminoacidi liberi totali variando tra un minimo di 0.37 e un massimo di 2.34 %. Differenze significative tra varietà (test di Kruskal-Wallis) esistono per la leucina in termini quantitativi ma ancor più in termini di percentuale sul totale degli aminoacidi liberi e tale situazione è possibile che abbia ricadute anche sulla formazione del leucato di etile, almeno quella fermentativa, benché non necessariamente solo.

Aspetti organolettici

- La soglia di percezione del leucato di etile è stata studiata da Falcao *et al.* (2012) trovandola pari a 900 µg/L in vino dearomatizzato e a 300 µg/L in una soluzione di vino modello. Gli stessi autori hanno evidenziato come l'EL abbia un effetto "diretto" sull'aroma del vino piuttosto limitato mentre la sua eliminazione da una miscela di esteri era statisticamente ben individuata, indicando con questo che la molecola riveste un ruolo comunque rilevante nel quadro aromatico, in particolare nell'interazione con l'etilbutanoato. In effetti, i due isomeri dell'EL hanno dimostrato sia di sinergizzare tra di loro - abbassando a 51 µg/L in soluzione idroalcolica la soglia dell'EL (in rapporto R/S = 95:5) rispetto a quelle più alte degli isomeri separati - che di abbassare di 2.2-4.5 volte la soglia della sensazione fruttata e da mora dei vini rossi rispetto a quanto avviene nella sola soluzione idroalcolica (Lytra *et al.* 2012a).

- Nel presente lavoro abbiamo voluto verificare l'effetto diretto dell'EL in vini reali, apportando dell'EL racemico in concen-

Fig. 4 - Variabilità nella concentrazione di etil leucato in relazione all'uso di differenti lieviti.

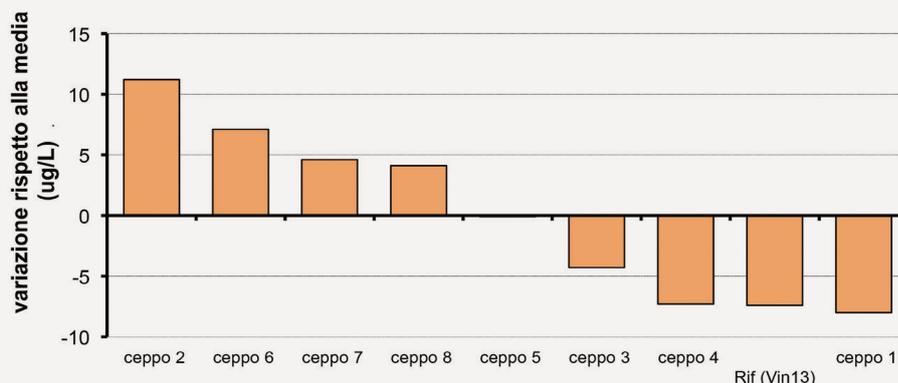
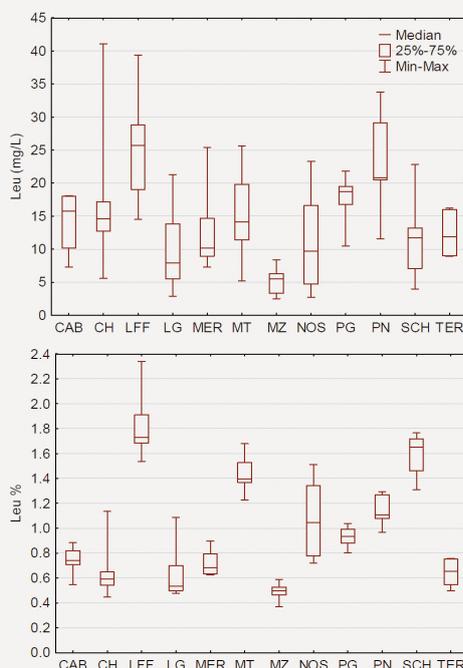


Fig. 5 - Distribuzione dell'aminoacido leucina in mosti varietali (in quantità e in percentuale sulla somma degli aminoacidi liberi) e significatività delle differenze.



	CAB	CH	LFF	LG	MER	MT	MZ	NOS	PG	PN	SCH	TER
CAB												
CH												
LFF				X			XXX	X				
LG			X									
MER												
MT												
MZ			XXX						XX	XXX		
NOS			X									
PG								XX				
PN							XXX					
SCH												
TER												

(Legenda: X, XX, XXX = p< 0.05, 0.01 e 0.001 rispettivamente; CAB= Cabernet sauvignon; CH= Chardonnay; LFF = Lambrusco foglia frastagliata; LG= Lagrein; MER= Merlot; MT= Müller Thurgau; MZ= Marzemino; NOS= Nosiola; PG= Pinot grigio; PN= Pinot nero; SCH= Schiava; TER= Teroldego)

trazioni di 200 e di 400 µg/L a 7 vini rossi. I vini sono stati valutati, per sola via orthonasale, sulla base di vari test di differenza realizzati da diverse commissioni di giudici costituite ciascuna da un numero di persone variabile tra 12 e 51.

- I risultati sono riassunti nella **Fig. 6** dalla quale si evince come in nessun caso le aggiunte di 200 µg/L abbiano portato a vini significativamente diversi dai non addizionati, mentre livelli di significatività statistica (Roessler *et al.* 1978) erano raggiunti in 5 dei 7 vini trattati con 400 µg/L. Nessuno tra i descrittori di uso enologico più comune (ossidato, ridotto, fruttato, floreale, verde, svanito, franco/netto) ha giustificato si-

gnificativamente le differenze riscontrate, benché i trattati fossero valutati come più fruttati con una maggior frequenza rispetto agli altri descrittori proposti. In questo si conferma, da una parte, una tendenza coerente con quanto riportato in letteratura e, dall'altra, il ruolo "diretto" - in vini naturali già dotati di EL - relativamente limitato della molecola di per sé.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

- Il lavoro presentato aveva il semplice obiettivo di acquisire primi dati circa la concentrazione di etil leucato presente

in vini di produzione semi-industriale in Trentino Alto Adige; questo, a fronte della limitatezza dei dati complessivamente presenti in letteratura su una molecola che è ritenuta importante perché in grado di sinergizzare la percezione delle note da frutta rossa e nera, principalmente mora fresca, nei vini rossi.

● I dati ottenuti mostrano un buon livello di concordanza con la letteratura, in particolare quando ci si riferisca a vini giovani, e le valutazioni sensoriali confermano il ruolo abbastanza limitato dell'etil leucato nell'apporto aromatico diretto.

● Per vini di maggiore età, la letteratura riporta concentrazioni di etil leucato più elevate di quanto trovato nell'indagine presente, il che sembra suffragare il ruolo addizionale e non trascurabile della sintesi dell'estere anche per sola via chimica, per reazione dell'etanolo con l'acido leucico disponibile a fine fermentazioni alcolica e malolattica.

● Nel complesso, la gestibilità e programmabilità tecnologica della componente olfattiva da "frutti rossi/neri-mora fresca" non appare allo stato attuale particolarmente semplice e diversi aspetti meritano ancora di essere adeguatamente approfonditi. ■

BIBLIOGRAFIA

- Câmpeanu, G.; Burcea, M.; Doneanu, C.; Nămolosanu, I.; Visan, L. "GC/MS characterization of the volatiles isolated from the wines obtained from the indigenous cultivar Feteasca Regală", *Analisis*, 1998, 26, 93-97.
- Campo, E.; Cacho, J.; Ferreira, V. "Multidimensional chromatographic approach applied to the identification of novel aroma compounds in wine identification of

ethyl-cyclohexanoate, ethyl 2-hydroxy-3-methylbutanoate and ethyl 2-hydroxy-4-methylbutanoate", *Journal of J. Chromatogr. A*, 2006, 1137, 223-230.

● Díaz-Maroto, M. C.; Schneider, R.; Baumes, R. "Formation pathways of ethyl esters of branched short-chain fatty acids during wine aging", *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 3503-3509.

● Falcao, L.D.; Lytra, G.; Darriet, P.; Barbe, J.-C. "Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma", *Food Chemistry*, 2011, 132, 230-236.

● Gammacurta, M.; Lytra, G.; Marchal, A.; Marchand, S.; Barbe, J.-C.; Moine, V.; de Revel, G. "Influence of lactic acid bacteria strains on ester concentrations in red wines: specific impact on branched hydroxylated compounds", *Food Chemistry*, 2018, 239, 252-259.

● Gammacurta, M.; Marchand, S.; Moine, V.; de Revel, G. "Influence of different yeast/lactic acid bacteria combinations on the aromatic profile of red Bordeaux wine", *J. Sci. Food Agric.*, 2017, 97, 4046-4057.

● Ledauphin, J.; Saint-Clair, J.F.; Lablanquie, O.; Guichard, H.; Fournier, N.; Guichard, E.; Barillier, D. "Identification of trace volatile compounds in freshly distilled calvados and cognac using preparative separations coupled with gas chromatography-mass spectrometry", *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, 5124-5134.

● Ledauphin, J.; Le Milbeau, C.; Barillier, D.; Hennequin, D. "Differences in the volatile compositions of French labeled brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) using GC-MS and PLS-DA", *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 7782-7793.

● Li, H.; Tao, Y.S.; Wang, H.; Zhang, L. "Impact odorants of Chardonnay dry white wine from Changli County (China)", *Eur. Food Res. Technol.* 2008, 227, 287-292.

● Longo, R. J.; Blackman, W.; Antalick, G.; Torley, P. J.; Rogiers, S. Y.; Schmidtke, L. M. "A comparative study of partial dealcoholisation versus early harvest: effects on wine volatile and sensory profiles", *Food Chemistry*, 2018, 261, 21-29.

● Lopez, R.; Aznar, M.; Cacho, J.; Ferreira, V. "Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection", *J. Chromatogr. A*, 2002, 966, 167-177.

● Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. "Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate enantiomers in wine" *J. Agric. Food Chem.*, 2012a, 60, 1503-1509.

● Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. "Impact of perceptive interactions on red wine fruity aroma", *J. Agric. Food Chem.* 2012b, 60, 12260-12269.

● Lytra, G.; Tempere, S.; Le Floch, A.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. "Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution", *J. Agric. Food Chem.*, 2013a, 61, 8504-8513.

● Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. "How particular perceptive interactions could affect red wines' fresh fruity aroma?", *Ampelos*, 2013b, 1-14.

● Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. "Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-methylbutanoate enantiomers in wine", *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62, 5005-5010

● Lytra, G.; Cameleyere, M.; Tempere, S.; Barbe, J.-C. "Distribution and organoleptic impact of ethyl 3-hydroxybutanoate enantiomers in wine", *J. Agric. Food Chem.*, 2015, 63, 10484-10491.

● Paolini, M.; Tonidandel, L.; Moser, S.; Larcher, R. "Development of a fast gas chromatography-tandem mass spectrometry method for volatile aromatic compound analysis in oenological products", *Journal of Mass Spectrometry*, 2018, 53, 801-810.

● Paolini, M.; Bianchin, V.; Nicolini, G.; Román, T.; Tonidandel, L.; Larcher, R. "Qualitative and quantitative determination of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate (ethyl leucate) in wine", in: 6th MS Food day, Camerino, September 25-27, 2019: Società Chimica Italiana, 295-296.

● Pereira, V.; Cacho, J.; Marques, J. C. "Volatile profile of Madeira wines submitted to traditional accelerated ageing", *Food Chemistry*, 2014, 162, 122-134.

● Pineau, B.; Barbe, J.-C.; Van Leeuwen, C.; Dubourdieu, D. "Examples of perceptive interactions involved in specific «red- and black-berry» aromas in red wines", *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57, 3702-3708.

● Puertas, B.; Jimenez-Hierro, M.J.; Cantos-Villar, E.; Marrufo-Curtido, A.; Carbu, M.; Cuevas, F.J.; Moreno-Rojas, J.M.; González-Rodríguez, V.E.; Cantoral, J.M.; Ruiz-Moreno, M.J. "The influence of yeast on chemical composition and sensory properties of dry white wines", *Food Chemistry*, 2018, 253, 227-235.

● Roessler, E. B.; Pangborn, R. M.; Sidel, J. L.; Stone, H. "Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired difference, duotrio and triangle tests", *J. Food Sci.*, 1978, 43, 940-941.

● Schreier, P.; Drawert, F.; Winkler, F. "Composition of neutral volatile constituents in grape brandies", *J. Agric. Food Chem.*, 1979, 27, 365-372.

● Shimizu, M.; Yamamoto, T.; Okabe, N.; Sakai, K.; Koide, E.; Miyachi, Y.; Kurimoto, M.; Mochizuki, M.; Yoshino-Yasuda, S.; Mitsui, S.; Ito, A.; Murano, H.; Takaya, N.; Kati, M. "Novel 4-methyl-2-oxopentanoate reductase involved in synthesis of the Japanese sake flavour, ethyl leucate", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, 100, 3137-3145.

● Šuklje, K.; Antalick, G.; Meeks, C.; Blackman, J. W.; Deloire A.; Schmidtke, L. M. "Optimising harvest date through use of an integrated grape compositional and sensory model: a proposed approach for a better understanding of ripening of autochthonous varieties?", *Exploitation of autochthonous and more used vines varieties*, Oenoviti International Network, 2014, 1-6.

● Šuklje, K.; Antalick, G.; Meeks, C.; Blackman, J. W.; Deloire A.; Schmidtke, L. M. "Grapes to wine: the nexus between berry ripening, composition and wine style", *ISHS Acta Horticulturae 1188: X International Symposium on Grapevine Physiology and Biotechnology*, DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1188.6, 2017.

Fig. 6 - Percentuale di risposte esatte nel riconoscimento della differenza e significatività statistica legate ad apporti crescenti di leucato di etile in vini rossi rispetto ai corrispondenti vini di controllo non addizionati. (*, *** = $p < 0.05$ e $p < 0.001$, rispettivamente).

