



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

VALUTAZIONE DELL'ANDAMENTO
CROMATICO DEI MOSTI MUTI DESOLFORATI
Evaluation of the chromatic trend of the desulphurised
mute musts

TIPO TESI: SPERIMENTALE

Laureanda:
ALESSIA SARACENI

Relatore:
DOTT.SSA ROBERTA FOLIGNI

Correlatore:
PROF. PACETTI DEBORAH

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

SOMMARIO

1. Introduzione.....	3
1.1 I Mosti muti	4
1.1.1 Produzione di mosti muti	5
1.2 La desolfurazione.....	6
1.2.1 Tecniche di desolfurazione.....	7
1.2.2 Impianti di desolfurazione.....	8
1.3 Antociani.....	11
1.3.1 Determinazione degli antociani.....	12
1.3.2 Stabilità degli antociani.....	14
2. Parte sperimentale.....	20
2.1 Introduzione alla parte sperimentale.....	21
2.2 Scopo dell'indagine.....	25
2.3 Materiali e metodi.....	26
2.4 Discussione dei risultati.....	30
3. Conclusioni.....	39

1. Introduzione

Il Montepulciano d'Abruzzo è un vitigno autoctono da cui si ricava l'omonimo vino dal profumo floreale e fruttato, e dal colore che va dal rosso rubino al rosso granata con l'invecchiamento.

Il colore viene considerato come uno dei principali parametri organolettici che attrae il consumatore. Questo è dovuto alla presenza dei polifenoli, in particolare gli antociani, responsabili del colore rosso. L'estrazione degli antociani dalle bucce avviene tramite la macerazione, a sua volta influenzata da alcuni fattori come, la presenza di anidride solforosa e l'attività del lievito.

In questo lavoro di tesi è stato valutato l'andamento cromatico del Montepulciano d'Abruzzo ottenuto da un mosto muto utilizzando tre diverse tipologie di lievito commerciali: R2, 377 e Montrachet.

1.1 I mosti muti

Tra i vari prodotti che possiamo trovare in ambito enologico uno è sicuramente il mosto muto. Per mosto muto si intende un mosto in cui qualsiasi fermentazione viene impedita tramite pratiche enologiche diverse, allo scopo di poter essere poi utilizzato nell'industria enologica come materia prima per la preparazione di concentrati d'uva e per la preparazione di mosti concentrati rettificati, utilizzati per l'arricchimento di mosti con bassa concentrazione zuccherina.

Le tecniche di mutizzazione dei mosti sono diverse:

1. Mutizzazione tramite l'utilizzo di elevate dosi di SO₂
2. Mutizzazione tramite l'utilizzo di etanolo
3. Mutizzazione tramite filtrazione (filtrati dolci)

Generalmente, la tecnica più utilizzata prevede l'aggiunta di grandi quantitativi di anidride solforosa, dell'ordine dei 1200-2000 mg/l. L'anidride solforosa è un gas incolore, caratterizzato da un tipico odore acre e pungente. Questa trova largo impiego soprattutto in ambito enologico, ma il suo utilizzo a dosi elevate, con metodologie d'impiego non idonee, potrebbe risultare tossico e soffocante per l'uomo; l'anidride solforosa, è infatti, da anni messa in discussione, tanto che sono state emanate dosi e legislazioni che limitano il suo utilizzo nelle tecnologie alimentari e nello specifico in enologia.

L'utilizzo di anidride solforosa, in enologia, risulta però indispensabile per le sue numerose azioni e proprietà che proteggono il mosto da possibili malattie o fermentazioni indesiderate per questo è stato trovato un punto d'incontro e i limiti di legge stabiliti secondo il regolamento CE N. 606/2009 sono: 150 mg/l per i vini rossi finiti e 200 mg/l per i vini bianchi finiti.

1.1.1 Mutizzazione tramite l'utilizzo di SO₂

La produzione di mosti muti consiste, principalmente, nell'aggiunta diretta di anidride solforosa nel mosto in modo tale da bloccare qualsiasi fermentazione; uno dei vantaggi di questa tecnica è sicuramente la massima estrazione delle sostanze coloranti dalle bucce. In questo caso l'uva di partenza è a bacca rossa e l'aggiunta di anidride solforosa viene fatta al mosto e alla vinaccia con quantitativi di almeno 100/150g/hL. In questo caso si parla di macerazione solfitica, ovvero l'uva diraspata e pigiata viene aggiunta di grandi quantitativi di SO₂ tali per cui la fermentazione risulta essere inibita e allo stesso tempo tramite rimontaggi si avrà una maggiore estrazione del colore, perché l'anidride solforosa ha anche funzione estraente oltre a quella di controllo microbico.

I quantitativi di anidride solforosa da aggiungere al mosto vengono stabiliti sulla base degli agenti riducenti formati, che sostanzialmente sono l'anidride solforosa (SO₂), lo ione solfito (SO₃⁻) lo ione bisolfito (HSO₃⁻) e lo ione metabisolfito (S₂O₅⁻). Tra i formulati commerciali ritroviamo:

- Zolfo puro che mediante combustione origina SO₂
- Anidride solforosa liquefatta somministrata con bombole a pressione maggiore di 3 atmosfere dotate di apposito erogatore che ne consente il dosaggio
- Soluzione liquida di SO₂ sciolta in acqua che origina acido solforoso H₂SO₃
- Sali di bisolfito di potassio o di metabisolfito di potassio

La somministrazione di SO₂ avviene mediante appositi apparecchi denominati solfitometri, i quali sono molto validi per la somministrazione omogenea di grandi quantitativi; mentre per piccole aggiunte la solfitazione può essere effettuata direttamente in vasca tramite l'utilizzo di metabisolfito di potassio.

1.2 La desolfurazione dei mosti

Con il termine desolfurazione si indica il processo con il quale vengono eliminati lo zolfo e i suoi composti all'interno di una matrice di vario tipo, infatti la desolfurazione interessa anche ambiti come la metallurgia o l'industria petrolifera.

Per quanto riguarda l'ambito enologico, la desolfurazione è di fondamentale importanza considerando l'utilizzo frequente di anidride solforosa indispensabile in questo campo. In base ai diversi quantitativi impiegati, possiamo affermare che in presenza di piccole concentrazioni di SO₂ non è difficile liberarsene anche con semplici travasi all'aria; ma in presenza di grandi concentrazioni, come nel caso di mosti muti, servono dei veri e propri trattamenti per eliminare l'eccesso di questo gas.

La desolfurazione è basata sulle tecniche in grado di eliminare la maggior parte di anidride solforosa tenendo però sotto controllo la qualità del prodotto finale. Il prodotto ottenuto dai mosti muti desolforati può prendere diverse strade:

- Produzione di mosto concentrato rettificato (MCR), il quale ha molta importanza in Italia in quanto rispetto agli altri Paesi qui è bandita la tecnica dello zuccheraggio;
- Produzione di "rossissimo" ovvero produzione, tramite desolfurazione, di mosti ottenuti da lavorazioni di uve a bacca rossa dediti principalmente al taglio di vini aventi scarse caratteristiche cromatiche;
- Utilizzo dei mosti muti, previa desolfurazione, in periodi meno caotici rispetto al culmine vendemmiale;

1.2.1 Tecniche di desolfurazione

Le tecniche di desolfurazione possono essere classificate considerando la natura dei processi da effettuare in: chimiche o fisiche.

Attualmente è consigliabile fare ricorso ai mezzi fisici in quanto si è notato che nei mosti muti rossi desolforati chimicamente vi è una fortissima perdita di colore, dovuta all'utilizzo nella tecnica del perossido di idrogeno che ossida gli antociani. In linea generale quindi per la desolfurazione tramite mezzi fisici si utilizzano metodi basati sull'arieggiamento o sull'evaporazione, ma va ricordato che l'arieggiamento è consigliabile solo per l'eliminazione di piccoli quantitativi di SO₂.

Per quanto riguarda le metodologie volte all'arieggiamento dei mosti, tra le tecniche impiegate troviamo il rimontaggio e l'uso dell'aerocompressore; con il rimontaggio la desolfurazione avviene lentamente e presenta l'inconveniente che l'anidride solforosa che si libera si diffonde nell'ambiente provocando danni alle attrezzature metalliche comuni. Per quanto riguarda l'uso dell'aerocompressore invece, si fa utilizzo di aria sterile e la desolfurazione avviene in modo più sollecito riuscendo ad eliminare fino al 50% del contenuto totale di anidride solforosa, la restante parte viene poi eliminata facilmente durante la fermentazione.

Per quanto riguarda invece le tecniche basate sull'evaporazione, si fa riferimento alla concentrazione dove tramite la fornitura di calore abbiamo il passaggio dallo stato liquido allo stato di vapore dell'acqua di costituzione contenuta nel mosto, seguita da una separazione delle fasi. Il fenomeno di concentrazione è dovuto, essenzialmente all'aumento di temperatura che si impone al sistema con il fine di eliminare per strippaggio l'anidride solforosa presente nel mosto muto.

Questa concentrazione avviene tramite l'utilizzo di impianti di evaporazione, costituiti essenzialmente da:

- Generatore di vapore
- Evaporatore
- Separatore
- Pompa del vuoto
- Condensatore

In questi impianti, il riscaldamento avviene in modo indiretto tramite scambiatori di calore a superficie dove il mosto, grazie ad un'elettropompa, si muove per circolazione forzata. All'interno del percorso il mosto viene riscaldato fino alla temperatura di ebollizione dal calore

posseduto dal vapore vivo, prodotto a sua volta dal generatore di vapore. Ai fini della qualità del mosto, importante è ridurre al minimo il danno termico, a sua volta proporzionale al tempo di contatto e alla temperatura di contatto. Proprio per questo grande importanza assume la pompa del vuoto, la quale ci consente di abbassare la temperatura di ebollizione al di sotto dei 100°C creando una depressione all'interno dell'impianto, mantenendo così inalterate le caratteristiche organolettiche del mosto evitando la reazione di Maillard.

1.2.2 Impianto di desolfurazione

La desolfurazione dei mosti muti, quindi viene effettuata avvalendosi di tecniche incentrate su impianti evaporazione, infatti anche se l'operazione effettuata è relativa alla desolfurazione, questa se avviene per evaporazione porta inevitabilmente ad una concentrazione. Il processo è ottenuto mediante degassaggio del mosto con l'impiego di impianti operanti sottovuoto per mantenere inalterate le caratteristiche organolettiche e chimico fisiche del prodotto e limitare i consumi energetici che il processo comporta. Di seguito illustriamo lo schema di funzionamento e i componenti dell'impianto di desolfurazione della SAVE, il quale utilizza resine scambiatrici di ioni per l'eliminazione della SO₂ dalle condense dei vapori del mosto desolforato (*De Vita et al., 2015*)

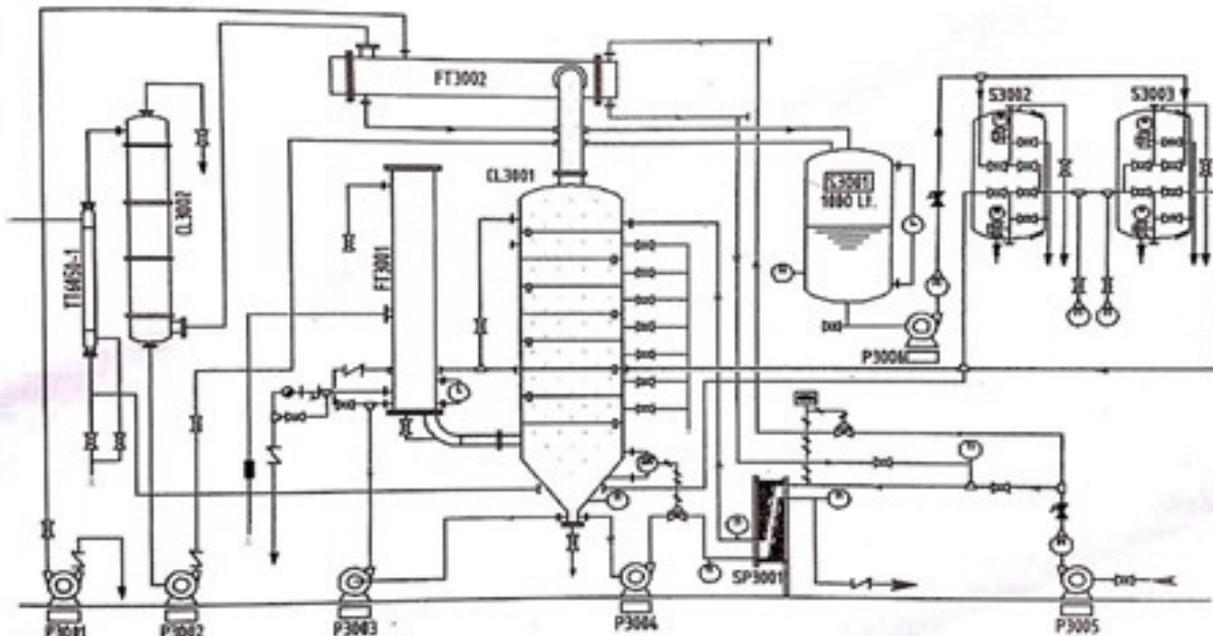


Figura 1 - Impianto di desolfurazione con rimozione della SO₂ dalle condense mediante resine scambiatrici di ioni. (De vita et al., 2015)

Le parti costitutive dell'impianto illustrato nella figura 1 sono:

- pompa P3005: pompa in ingresso
- colonna di desolfurazione CL 3001
- scambiatore di calore a piastre a due stadi SP 3001
- pompa P3004: pompa per estrazione
- pompa 3003: pompa riciclo
- scambiatore di calore a fascio tubiero FT3001
- generatore di vapore: ha il compito di alimentare lo scambiatore a fascio tubiero con vapore vivo passante all'esterno dei tubi
- condensatore a fascio tubiero FT 3002: all'interno di questo vengono convogliati i vapori formati nella colonna di desolfurazione CL3001
- serbatoio di raccolta S3001: raccoglie i vapori condensati
- pompa del vuoto ad anello liquido P3001
- torre di raffreddamento
- colonna di abbattimento CL3002
- serbatoi di demineralizzazione S3002/3003

A livello operativo, l'impianto funziona come segue:

il mosto muto, alimentato dalla pompa P3500, è inviato alla sommità della colonna di desolforazione CL3001, dopo essere passato attraverso la prima delle due sezioni dello scambiatore di calore a piastre a due stadi SP3001. Questo ha la funzione di preriscaldare il mosto in entrata recuperando, mediante circolazione in controcorrente, il calore del mosto desolfurato estratto, mediante la pompa P3004, dalla base della medesima colonna di desolforazione CL3001. Dalla base di tale colonna, quando l'impianto è a regime, il mosto: in parte è inviato tramite la pompa P3004 allo scambiatore di calore a piastre SP3001 e quindi accumulato come prodotto finito; in parte invece è prelevato dalla pompa P3003 e riciclato attraverso lo scambiatore di calore a fascio tubiero FT3001, nel quale è riscaldato fino alla temperatura di circa 100°C, richiesta dal processo di desolforazione; il calore necessario per tale riscaldamento è ottenuto facendo circolare all'esterno dei tubi del fascio tubiero il vapore vivo (a 1-1,5 bar) prodotto da un generatore di vapore.

I vapori formati nella colonna di desolforazione CL3001, per effetto del riscaldamento del mosto (contenenti la SO₂ che si libera per strippaggio dallo stesso mosto), affluiscono nel condensatore a fascio tubiero FT3002, dove vengono condensati e inviati al serbatoio di raccolta S3001. La condensa che non contiene SO₂ è miscelata a parte del prodotto prelevato dal fondo del corpo desolforante e reintrodotta in questo stesso corpo, dopo tale miscela.

Il condensatore FT3002 è collegato con la pompa del vuoto ad anello liquido P3001, che opera nell'impianto la depressione di circa 0.4 bar, necessaria per l'esecuzione del processo. Per ottenere una buona desolforazione occorre regolare la portata dell'acqua inviata nel condensatore, in modo che all'uscita da questo la temperatura dell'acqua non superi i 60-65°C. L'acqua in uscita, viene normalmente riciclata previo abbassamento della temperatura mediante torre di raffreddamento e reintegro della quantità consumata.

Gli eventuali vapori di SO₂ che non riescono a condensarsi nel condensatore FT3001, sono invece inviati alla colonna di abbattimento CL3002 e rimossi mediante acqua raffreddata, successivamente raccolta nel serbatoio S3001.

Dal serbatoio di raccolta S3001 le condense contenenti SO₂ sono infine inviate ai serbatoi di neutralizzazione S3002/3003 per la rimozione della SO₂ mediante resine scambiatrici di ioni. Quando le resine esauriscono la loro capacità di scambio sono rigenerate impiegando una soluzione di idrossido di sodio (NaOH).

All'uscita dall'impianto, prima di essere inviato allo stoccaggio, il mosto desolfurato è sottoposto a raffreddamento mediante lo scambiatore a piastre a due stadi SP 3001, il quale consente un doppio raffreddamento. Nella prima sezione dello scambiatore di calore, dove

circola in contro corrente col mosto muto a temperatura ambiente da desolforare (in entrata nell'impianto), e un secondo raffreddamento (che ne abbassa la temperatura a circa 15 °C), nella seconda sezione dello stesso scambiatore dove circola in controcorrente con una soluzione glicolata a 5 °C.

L'impianto comprende, inoltre, tubazioni di collegamento corredate di valvole, per collegare i suoi componenti: quadro di comando e controllo con la strumentazione elettrica ed elettronica per l'avvio, l'arresto e la protezione termica dei motori elettrici, i termoregolatori delle temperature principali, i regolatori di livello, la struttura di sostegno in acciaio zincato, per il sostegno dei suoi componenti, ecc.

L'impianto è, altresì, dotato di attacchi per l'allacciamento alla linea elettrica, nonché di attacchi per il collegamento con la condotta del vapore vivo proveniente dal generatore di vapore e per il collegamento con la condotta di alimentazione dell'acqua di raffreddamento. Tutti i componenti dell'impianto che hanno i contatti con il mosto sono in acciaio AISI 316.

(De Vita et al., 2015)

1.3 Antociani

Nei vini rossi tra le caratteristiche organolettiche più importanti troveremo sicuramente l'intensità colorante, dipendente a sua volta dagli antociani.

Gli antociani sono una classe dei polifenoli flavonoidi delle uve che rappresentano i pigmenti rossi; si trovano prevalentemente nella buccia e in piccola parte nella polpa. La molecola degli antociani (fig. 2) è costituita da due anelli benzenici uniti per mezzo di un eterociclo ossigenato, insaturo e dotato di carica positiva, lo ione flavilio.

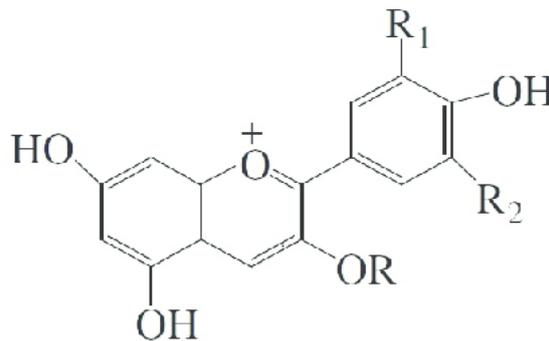


Figura 2 - Antociani.
(Melosini, 2014)

All'interno di questa classe di composti, possiamo distinguere le antocianine (sotto forma eterosidica) e le antocianidine (agliconi): le prime risultano più stabili. Nelle uve e nei vini secondo la struttura dell'anello laterale vengono classificate cinque molecole fondamentali, aventi due o tre sostituenti: cianidina, peonidina, delfidina, petunidina e malvidina; rappresentate nella figura 3:

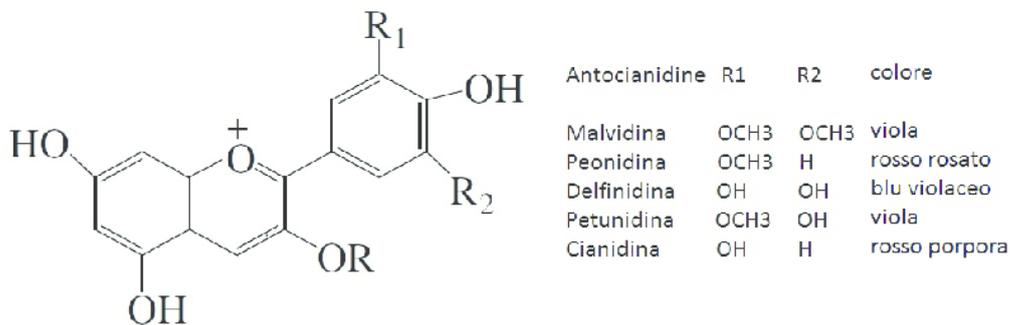


Figura 3 - Classificazione degli antociani secondo i vari sostituenti.
(Melosini, 2014)

1.3.1 Determinazione degli antociani

Gli antociani totali si trovano nel vino sotto diverse forme: antociani liberi e antociani combinati con i tannini, una parte dei quali è decolorabile dall'anidride solforosa (tannino – antociani) e l'altra (tannino – antociani – tannino) non è sensibile all'attività dell'SO₂. Le tecniche di determinazione degli antociani non permettono di quantificare esattamente gli antociani totali, ma semplicemente permettono di effettuarne una stima; al contrario gli antociani liberi e quelli decolorati dalla SO₂ possono essere quantificati tramite metodi chimici e cromatografici.

I metodi chimici di determinazione si basano sulle proprietà caratteristiche degli antociani: variazioni di colore in funzione del pH e decolorazione con anidride solforosa. Il metodo per variazione di pH prevede la preparazione di due campioni contenenti ciascuno 1 ml di vino e 1 ml di etanolo allo 0,1% di HCl; in uno si aggiungono 10 ml di HCl al 2% (pH 0.8), nell'altro 10 ml di tampone a pH 3.5. Infine, si misura la differenza di densità ottica a 520 nm, su 10 mm di percorso ottico e si ricava la concentrazione con la seguente formula:

$$C \text{ (mg/l)} = \Delta d \times 388$$

Il metodo per decolorazione con SO₂ prevede la preparazione di due campioni contenenti ciascuno 1 ml di vino, 1 ml di etanolo allo 0.1% di HCl conc e 20 ml di HCl al 2% (pH 0.8). A 10 ml del primo si aggiungono 4 ml di acqua; a 10 ml del secondo, 4 ml di una soluzione di bisolfito di sodio di densità 1.24 diluita 1:1. Si misura la differenza di densità ottica a 520nm su 10 mm di percorso ottico e si ricava la concentrazione con la seguente formula:

$$C(\text{mg/l}) = \Delta d \times 875$$

Dato che il metodo per differenza di pH, è più sensibile alla presenza di SO₂ libera che si trova nel vino, il metodo per decolorazione con diossido di zolfo, che non dipende da questo parametro risulta più affidabile.

La determinazione specifica della concentrazione degli antociani liberi, Al, è realizzabile dopo frazionamento. Il vino è assorbito su una colonna di PVPP (Ribéreau – Gayon et al., 2015). Dopo lavaggio con acqua, l'eluizione con una soluzione idroalcolica consente di recuperare gli antociani monomeri; gli antociani combinati e i tannini restano assorbiti sul PVPP. Dopo evaporazione, l'eluato è riportato al volume iniziale e il dosaggio è realizzato utilizzando il diossido di zolfo; si ottiene così la concentrazione As.

A partire da queste due determinazioni, As e Al, Glories (1978) ha definito l'indice di PVPP che permette di quantificare l'importanza delle forme combinate che intervengono nella determinazione degli antociani. Tale indice aumenta nel corso dell'invecchiamento del vino:

$$I_{pvpp} = \frac{(A_s - AA')}{A_s} \times 100$$

È possibile determinare, la composizione antocianica dell'uva e del vino per mezzo della cromatografia su carta, ad oggi in disuso (*Ribéreau-Gayon. et al., 2015*); similmente queste molecole possono essere dosate per HPLC e HPTLC, utilizzando fasi che consentono di attuare una cromatografia di ripartizione in fase inversa.

In un vino giovane non è facile identificare gli antociani acilati in quanto i loro tempi di ritenzione corrispondono a certi complessi catechine – antociani. Dato però che queste molecole scompaiono rapidamente nel corso dell'invecchiamento i metodi cromatografici e chimici, eccetto che per i vini giovani, danno risultati identici (*Ribéreau – Gayon, et al., 2015*)

1.3.2 Stabilità degli antociani

La stabilità degli antociani e, di conseguenza, la loro degradazione può essere influenzata da diversi fattori fra cui i principali sono la struttura molecolare, il pH della soluzione in cui si trovano, la presenza di anidride solforosa nel mezzo e la temperatura. Durante l'invecchiamento dei vini rossi, gli antociani, responsabili inizialmente del colore dei vini, vengono sostituiti da pigmenti polimerici più stabili che, su un vino di un anno, incidono per più del 50 % sull'intensità del colore. Questi polimeri sono meno sensibili alle variazioni di pH e di ossigeno e determinano, quindi, una colorazione più stabile.

1.3.2.1 Effetto della struttura molecolare

Per quanto riguarda la stabilità della molecola, intesa come perdita di colore delle molecole antocianiche al mutamento del pH e non come stabilità in conservazione, Robinson et al., nel 1966 e Hrazdina. *et al.*, nel 1970 hanno dimostrato che un elevato livello di metossilazione all'interno della molecola antocianica, è associato ad un incremento della stabilità della molecola stessa, mentre un elevato numero di sostituenti idrossilici svolge l'effetto contrario. Nel 1983, però, Iacobucci e Sweeney tentarono di migliorare la stabilità delle molecole antocianiche mediante metilazione ma ottennero l'effetto contrario. Videro, infatti, che la presenza di gruppi -OH sul carbonio in posizione 4' e 7 stabilizza notevolmente la molecola mentre la metilazione, nelle medesime posizioni, la destabilizza. La presenza di gruppi idrossilici al C5 o una sostituzione sul C4 stabilizza la molecola in quanto ritarda la reazione di idratazione del flavilio (Brouillard., 1982). Le antocianine glicosilate sono molto più stabili dei rispettivi agliconi (Iacobucci e Sweeney, 1983; Ohta et al., 1980). Quando si idrolizza lo zucchero in C3, in condizioni di pH elevato e luce intensa, la molecola si destabilizza in quanto l'idratazione avviene immediatamente e l'equilibrio fra il carbinolo e il calcione si instaura in maniera tanto rapida che la base carbinolo non viene rilevata (Brouillard., 1982). È stato, inoltre, rilevato da Starr. e Francis. nel 1968 [A] che anche il tipo di zucchero legato può influenzare la stabilità, infatti i galattosidi della cianidina e della petunidina sono più stabili degli analoghi arabinosidi. Si è visto (Asen, 1976), inoltre, che le molecole acilate mostrano una maggiore stabilità in soluzioni neutre o leggermente acide. Brouillard nel 1981, suggerì che la presenza di interazioni idrofobiche fra il pirilio e la frazione aromatica dei gruppi acilici, uno sopra e uno sotto l'anello pirilio, contribuisce alla stabilizzazione della molecola antocianica a fronte degli attacchi nucleofili da parte dell'acqua; questa conformazione proteggerebbe lo ione ossonio dall'idratazione prevenendo la formazione della pseudobase e

del calcone. Le antocianine monoacilate non hanno, infatti, mostrato la stabilità delle antocianine contenenti più gruppi acilici. Yoshitama e Hayashi nel 1974 videro che in soluzioni acquose neutre, le antocianine acilate con acido p-cumarico erano meno stabili di quelle ottenute mediante legame con l'acido caffeico. Questo fu spiegato grazie ai gruppi idrossilici vicinali che sarebbero in grado di stabilizzare la molecola. Quindi, possiamo dire che l'aumento dei gruppi acilici nella molecola ne aumenta sicuramente la stabilità rispetto agli omologhi non acilati (*Teh e Francis, 1988; Bassa e Francis, 1987; Saito et al., 1985; Goto et al., 1982, 1983, 1984*). Robinson. et al. nel 1966, infine, videro che i 3,5-diglucosidi con un alto grado di acilazione nelle uve erano più stabili nei confronti della radiazione ultravioletta rispetto ai loro omologhi non acilati. Ovviamente la monoacilazione può proteggere solo un sito di attacco del nucleo del pirilium mentre un livello di acilazione superiore e la copigmentazione conferisce stabilità su più siti di attacco (*Brouillard, 1983*).

1.3.2.2 Effetto del pH

Le molecole degli antociani contengono un nucleo di tipo flavilium, che possiede un ossigeno carico positivamente.

Le soluzioni di antociani presentano colori che dipendono direttamente dal valore del pH. Le soluzioni acide contenenti queste sostanze sono di colore rosso e si decolorano man mano che il pH aumenta. La massima decolorazione si osserva per valori di pH compresi tra 3.2 e 3.5. Il colore varia dal malva al blu, per pH maggiori di 4; il giallo appare successivamente in mezzo neutro o alcalino.

Brouillard et al., (1978 e 1979) hanno mostrato che questi colori sono la risultante degli equilibri fra quattro gruppi di strutture (come in figura 4):

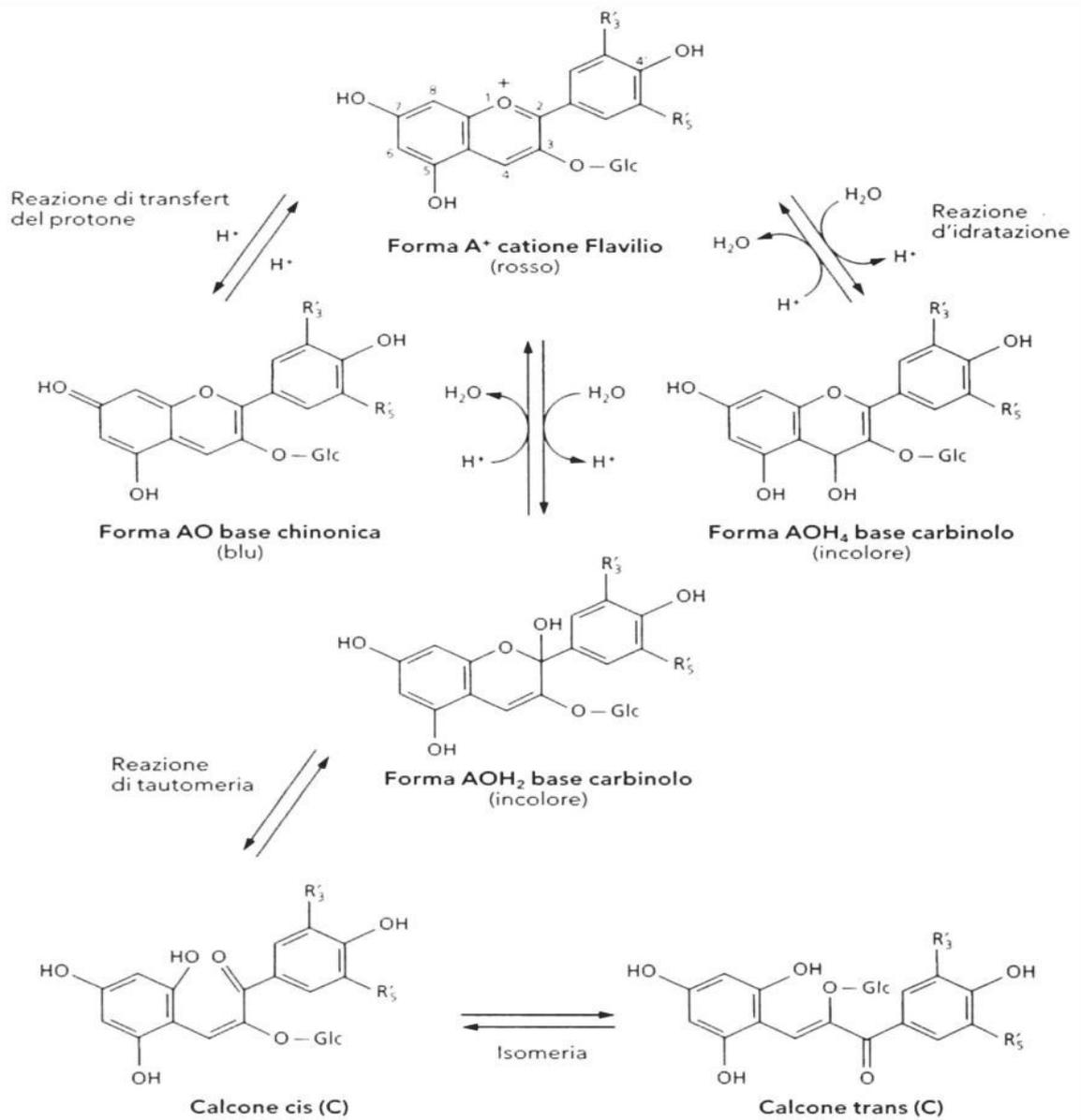
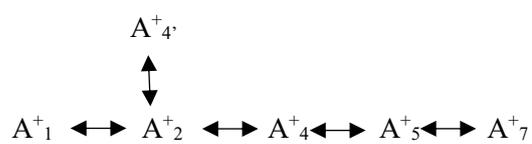


Figura 4 - Le diverse forme di antociani.

(Ribéreau - Gayon et al., 2015)

1. Il catione flavilio, di color rosso, possiede un deficit elettronico. Secondo la posizione della carica (+), sono possibili sei formule limiti in equilibrio



2. La base chinonica, di color blu, presenta una funzione chetonica aromatica, formata a partire dagli OH fenolici. Sono possibili tre formule limiti che derivano dai cationi flavilio corrispondenti (AO_5 , AO_7 , AO_4^+), che tuttavia non sono in equilibrio di mesomeria (*Brouillard e Cheminat, 1986*);
3. La base carbinolo incolore può essere caratterizzata da una funzione alcolica nelle posizioni 2 e 4 (AOH_2 e AOH_4). Solo la prima forma è stata identificata;
4. I calconi di colore giallo molto pallido, che derivano dalle strutture precedenti, dopo apertura dell'eterociclo, possono presentare la funzione chetonica in posizione 2 (la più probabile) o 4 e possono esistere due forme isomere cis e trans.

Il colore degli antociani in funzione della loro struttura è causato dal catione flavilio, che a causa della sua carica positiva non è molto stabile e può reagire in due modi:

1. Equilibrio acido base

Avviene a causa di un trasferimento di protoni molto rapido (10^{-4} S) corrispondente all'equilibrio ROSSO \rightleftharpoons MALVA nel quale si ha il passaggio del catione flavilio (A^+) alla base chinonica (AO):



La proporzione tra catione e base dipende dal pH. Quindi la posizione di equilibrio caratteristica della "particolare" molecola di antocianina è descritta dalla costante di acidità pK_a :

$$K_a = \frac{[AO][H^+]}{[A^+]} \qquad pK_a = pH + \log \frac{[A^+]}{[AO]}$$

2. Idratazione

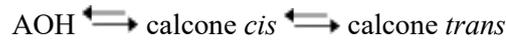
Questa reazione è un'addizione nucleofila di acqua al nucleo pirilico in posizione C2 (più spesso) oppure C4 (meno spesso) con successivo transfert di un protone. Operazione che corrisponde all'equilibrio tra ROSSO \rightleftharpoons INCOLORE nel quale si ha il passaggio del catione flavilio (A^+) a base carbinolo (AOH):



La posizione di equilibrio della reazione è descritta dalla costante di idratazione pK_h caratteristica della molecola di antocianina (*Brouillard et al., 1978*)

$K_h = \frac{[AOH][H^+]}{[A^+]}$ $pK_h = pH + \log \frac{[A^+]}{[AOH]}$ Successivamente, una parte della base carbinolo (incolore) subisce un processo di tautomerizzazione che dà origine a un calcone. In questo caso l'equilibrio è

lento e per raggiungerlo sono necessarie molte ore:



Le due forme isomere sono in equilibrio tra loro poiché se il passaggio *cis* → *trans* non pone particolari problemi, la reazione inversa è lenta e difficile. La proporzione delle forme flavilio ed emichetone è determinata dalla costante di idratazione in base al pH. Per la malvidina-3-glucoside $pK_h = 2,6$ (Brouillard et al., 1977a, b), per pH maggiori di 2,6 la malvidina-3-glucoside è nella sua forma emichetale incolore. Al pH del vino (3,6) il 90% degli antociani sono sotto forma di cationi flavilio idratati AOH.

1.3.2.3 Effetto del diossido di zolfo

Come già detto diverse volte, l'utilizzo di anidride solforosa in questo campo è di fondamentale importanza, tuttavia in presenza di diossido di zolfo le soluzioni di antociani risultano fortemente decolorate. Infatti, a pH=3.2, il 96% dell'acido solforoso si trova sotto forma di anione bisolfito (HSO_3^-), il quale reagisce con il catione flavilio dando dei composti incolore:



La formazione di questi composti incolore è direttamente proporzionale alla quantità di SO_2 aggiunta.

Infine, in base all'effetto del pH e del diossido di zolfo, possiamo affermare che se il vino rosso non possedesse altri pigmenti oltre gli antociani liberi, il suo colore sarebbe poco intenso, simile ad un vino rosato. La percentuale della colorazione dipende, per tenori di SO_2 , dal tenore di antociani: più essa è elevata, più la colorazione è importante (Ribéreau – Gayon et al., ANNO).

1.3.2.4 Reazioni di degradazione degli antociani

Gli antociani sono molecole poco stabili, infatti il loro tenore diminuisce sensibilmente man mano che si procede con l'affinamento. Tuttavia, il vino rosso conserva il suo colore grazie alla formazione di composti tannini-antociani meno sensibili, rispetto agli antociani liberi, alle reazioni di degradazione. Le possibili reazioni di degradazione degli antociani sono:

1. Degradazione termica

Gli antociani risultano sensibili alle alte temperature, infatti un riscaldamento a 100°C di una soluzione di antociani causa una decolorazione tanto più importante quanto più lungo è il tempo di esposizione. Durante il riscaldamento, si ha uno spostamento degli equilibri verso lo ione calcone e le sue forme incolore, infatti lo studio per spettroscopia e per HPLC mettono in evidenza due reazioni:

- a. Rottura della catena degli atomi di carbonio del calcone trans con formazione dell'acido benzoico corrispondente;
- b. Idrolisi dell'eteroside e formazione di diidroflavonolo che può dare un acido cinnamico.

Inoltre, si è constatato che la malvidina, costituente fondamentale della materia colorante del vino, risulta più sensibile alla degradazione termica rispetto alla cianidina. Per questo la temperatura è un fattore fondamentale da tenere sotto controllo per proteggere il colore dei vini rossi.

2. Degradazione ossidativa

Gli antociani in soluzione alcolica acida, esposti alla luce, si decolorano in qualche giorno. La reazione è influenzata dalla natura dell'alcol e dalla sua concentrazione con ossigeno e luce che agiscono da catalizzatori (*Glories, 1978*)

3. Degradazione in presenza di chetoni

Gli antociani in mezzo acido e acquoso contenente acetone danno origine a composti aranciati. La presenza degli acidi 2-oxogluconico e 5-oxogluconico, derivanti da vendemmie alterate, porta a colori che si evolvono rapidamente verso l'arancio.

2. Parte Sperimentale

2.1 Introduzione alla parte sperimentale

Il colore è una delle caratteristiche più importanti attribuite ai vini rossi. Nelle prime fasi di vinificazione, il colore iniziale è dato principalmente dalle antocianine, estratte durante la macerazione e fermentazione. Tuttavia, durante l'invecchiamento dei vini, le antocianine partecipano a numerose reazioni di condensazione, che danno come risultato la formazione di pigmenti polimerici più stabili, che modificano il colore iniziale rosso brillante dei vini giovani in tonalità più aranciate, color mattone.

L'attività dei lieviti durante la fermentazione va a influenzare il colore dei vini in due modi: da un lato, favoriscono l'estrazione delle antocianine durante la macerazione e la formazione di composti più stabili durante l'invecchiamento; mentre d'altro canto possono influenzare altri tipi di reazioni con il risultato di perdite di colore. L'attività β -glucosidica dei lieviti ha effetti positivi sull'aroma del vino, ma, può avere effetti negativi sul loro colore in quanto l'antocianidina, risultante dalla rottura del legame glucosidico dell'antocianidina-3-glucosidi, è una forma meno stabile e potrebbe facilmente essere degradata durante l'invecchiamento del vino. Un altro fenomeno che provoca perdite di colore è l'assorbimento delle antocianine dalle cellule di lievito, infatti, la parete cellulare è composta nello strato più esterno da mannoproteine che provocano l'assorbimento di molecole del vino tra cui gli antociani.

Proprio per questi motivi nella selezione dei ceppi di lievito, il colore risultante dei vini è un ulteriore criterio di selezione.

Da uno studio condotto da *Morata et al., 2004*, tramite l'inoculo di ceppi di lievito di *Saccharomyces Cerevisiae* 9CV, 2EV, 3VA, 7VA e un lievito commerciale (S6U), isolati dai grappoli della varietà spagnola Graciano, raccolte nelle regioni di La Roja (9CV), Navarra (2EV), e Ribera Del Duero (3VA e 7VA); si è analizzato il diverso assorbimento di antocianine dei diversi ceppi di lievito.

Nello studio vengono classificate le antocianine presenti in base ai derivati trovati come: antocianidina-3-glucoside (3G), derivati acilati (6Ac), derivati caffeici (6Caf), derivati cumarici (6Cm) e piroantocianine A e B.

In base al diverso assorbimento dei diversi ceppi di lievito si è visto che: i ceppi 3VA e S6U avevano il minor assorbimento percentuale medio e mostravano delle significative differenze solo per i derivati cumarici e antocianina-3-glucoside; ceppi 7VA e 9CV, e 2EV e 3VA mostravano delle differenze significative nell'assorbimento di tutte le antocianine ad eccezione delle piroantocianine.

Ad eccezione delle piroantocianine, le più importanti differenze venivano viste sempre tra i ceppi 3VA e S6U (con un basso assorbimento percentuale medio) e ceppi 7VA e 9CV (con

alto assorbimento percentuale medio), mentre il ceppo 2EV mostra un medio assorbimento percentuale. Questa differenza nell'assorbimento delle antocianine dai ceppi di lievito è dovuta probabilmente al diverso contenuto dei gruppi polari esposti sulle pareti cellulari che vanno a influenzare tale assorbimento.

Secondo uno studio condotto dall'Università degli studi di Teramo intitolato "Influenza dei ceppi di lievito sul colore e sulla componente fenolica del Montepulciano d'Abruzzo", svolto da *Di Gianvito et al., 2016*, si è confrontata l'influenza che hanno sul colore tre ceppi di lievito autoctoni isolati dal Montepulciano d'Abruzzo (RT73, MS72, SRS) con un ceppo commerciale (CS).

Le uve provenienti da tre appezzamenti della zona di produzione del Montepulciano d'Abruzzo DOCG "Colline Teramane" sono state trasformate utilizzando la medesima tecnologia di vinificazione in rosso classica. Nei mosti venivano giornalmente controllati temperatura e grado Babo, e al raggiungimento di 0° Babo si è proceduto con la svinatura e il mosto è stato reintegrato a 90 mg/l di anidride solforosa. In questo studio si è visto che i diversi ceppi non avevano influenzato la colorazione gialla e rossa dei vini, conseguentemente neppure l'intensità del colore e la sua tonalità differivano fra i vini considerati. In seguito, sono state osservate differenze statistiche relative al tenore in antociani totali e antocianine riportate nel grafico 1:

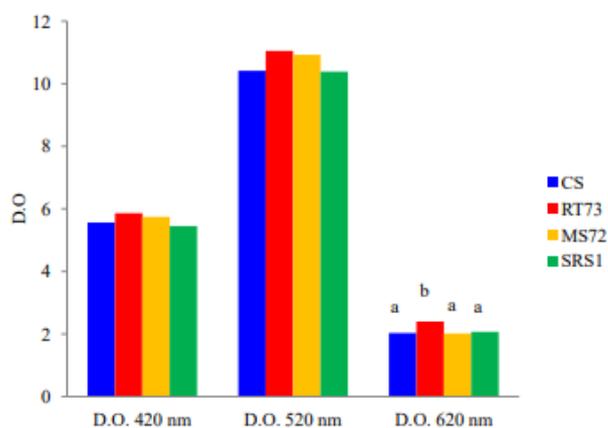


Grafico 1- Colorazione dei vini. (Influenza dei ceppi di lievito sul colore e sulla componente fenolica del Montepulciano d'Abruzzo; Di Gianvito et al., 2016)
D.O.: densità ottica

Nel grafico 2 è riportato il contenuto di antociani totali. Il ceppo RT73 portava ad un minor contenuto in antociani. La spiegazione di questa differenza può avere diverse motivazioni: alcuni metaboliti secondari della fermentazione alcolica sono coinvolti nella formazione di pigmenti antocianici, ad esempio l'acetaldeide fa da ponte fra antociani e flavanoli, portando alla formazione di composti più stabili in funzione di pH e anidride solforosa rispetto alle antocianine monomere. L'attività β - glicosidasi di alcuni ceppi può avere un effetto negativo sul colore dei vini in quanto porta alla rottura del legame fra aglicone e zucchero, rendendo l'antocianina più facilmente degradabile. Infine, la parete cellulare dei lieviti può adsorbire antocianine.

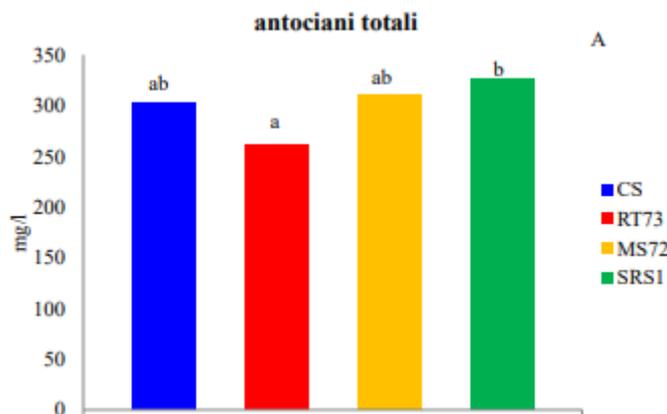


Grafico 2 - Antociani totali. (Di Gianvito et al., 2016)

2.2 Scopo dell'indagine

Il presente lavoro di tesi ha avuto come obiettivo quello di verificare come l'azione dei lieviti vada ad influenzare la colorazione del vino durante la fermentazione.

E' stata valutata l'azione di tre diversi ceppi di lievito commerciali: 377, Montrachet e R2 attraverso il monitoraggio del contenuto in antociani e dell'intensità colorante nel prodotto all'inizio, durante e alla fine della fermentazione.

2.3 Materiali e metodi

La sperimentazione è stata svolta presso la società cooperativa Agricola S. Nicola, situata nel comune di Pollutri (CH).

1. Mosto muto

Mosto muto ottenuto tramite uve di Montepulciano d'Abruzzo e macerazione solfitica sul pigiato. In seguito alla macerazione solfitica, dopo 3-4 giorni si procede alla separazione del liquido dal solido tramite tecniche di svinatura facendo uso di pompe e torchi. Il solido separato è destinato alla pressatura per ricavare l'ultimo succo rimasto e il liquido ottenuto è poi destinato alla desolforazione. La composizione chimica del mosto muto analizzata con il Foss, subito dopo la desolforazione, è riportata nella tabella 1.

Alcol svolto	Vol.%	0
Zuccheri riducenti	g/L	216
Estratto totale	g/L	252,1
Acidità totale	g/L	5,5
pH		3,4
Acido malico	g/L	0,7
Acido lattico	g/L	0,07
Anidride solforosa	mg/L	70
Antociani totali	mg/L	1735
Intensità colorante		30,9
Tonalità del colore		0,6

Tabella 1 - Composizione chimica del mosto muto di partenza

2. Lieviti

I ceppi di lieviti utilizzati sono dei ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus* commerciali con le seguenti caratteristiche:

Montrachet

Il ceppo del lievito *Saccharomyces cerevisiae* con il nome commerciale Montrachet è stato acquistato dall'azienda "Enologica Vason", si presenta come un ceppo resistente alle alte concentrazioni di SO₂, con un'alta energia fermentativa. Si considera un ceppo criofilo in quanto rivela una buona attività a partire dai 10°C. La dose utilizzata è di 20 g/hL.

R2

Il ceppo di *Saccharomyces bayanus* R2 è stato acquistato dall'azienda "Lallemand", si presenta come un ceppo molto resistente con una richiesta di nutrienti medio-bassa e attivo ad un ampio intervallo di temperature. È idoneo a diverse tipologie di vino, in particolare nei vini rossi viene assicurata l'intensità e la stabilità del colore. La dose utilizzata è di 25 g/hL.

377

Il ceppo di *Saccharomyces cerevisiae* 377, è stato acquistato dall'azienda "Fermentis", si presenta come un ceppo attivo da 16 a 35°C ma sensibile ai cambiamenti di temperatura, con un fabbisogno nutrizionale medio - alto e una forte resistenza all'anidride solforosa. È destinato principalmente alla produzione di vini rossi che risulteranno corposi ed equilibrati. La dose impiegata è di 20 g/hL.

3. Impianto di desolforazione

L'impianto utilizzato per le prove è stato il Mod. DESOLF 4/C- Mat. 15014 -01, così composto: 1) P01 pompa alimentazione mosto; 2) P02 pompa ricircolazione mosto; 3) P03 pompa estrazione mosto desolfato; 4) P04 pompa estrazione condense evaporatore EV 02; 5) P05 pompa ricircolo e estrazione mosto concentrato; 6) P06 pompa estrazione condense evaporatore FT02; 7) P07 pompa ad anello liquido, utilizzata per effettuare il vuoto nell'impianto; 8) P08 pompa circolazione acqua ai condensatori FT 01/02; 9) P09 pompa circolazione H2O torre evaporativi; 10) CL 01 colonna di desolforazione; 11) CE 02 camera di evaporazione; 12) CA01 colonnina di abbattimento SO₂; 13) SC 01 evaporatore a piastre; 14) SC 02 scambiatore recuperatore di calore a piastre; 15) EV02 evaporatore a fascio tubero; 16) FT 01/02 condensatori a superficie 112 a fascio tubero; 17) T01 torre raffreddamento acqua; 18) S 01 serbatoio trattamento acqua solfitata; 19) PD01 pompa dosatrice soda; 20) PD02 Pompa dosatrice acqua ossigenata.

Le caratteristiche dell'impianto sono riportate nella tabella 2.

Portata	Kg/h	4000
Riduzione anidride solforosa come termine di confronto	mg/L	Da 1500 a 80
Consumo di vapore a 1,5/2 bar	Kg/L	750
Acqua necessaria per la colonnina SO ₂ a 15°C / torre evaporativa	mc ³ /h	0,8 / 0,5
Potenza installata	Kw	11
Temperatura del processo	°C	102

Tabella 2 - Caratteristiche dell'impianto di desolforazione utilizzato

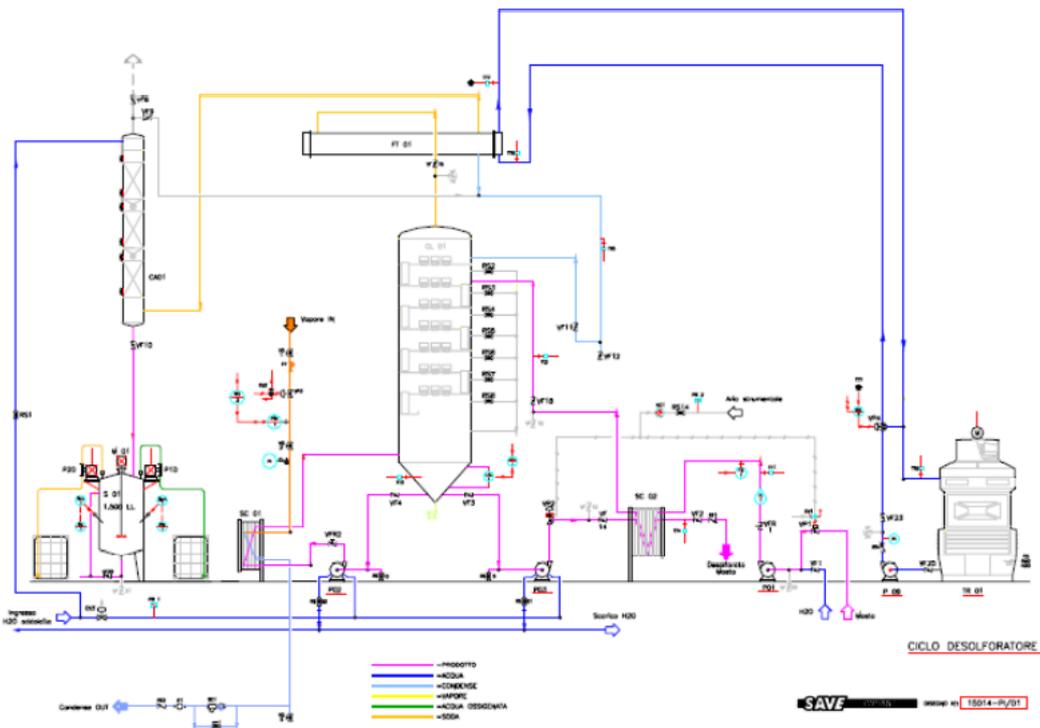


Figura 5 - Schema di funzionamento dell'impianto di desolforazione; (saveimpianti.it)

Il processo di desolfurazione è avvenuto secondo lo schema riportato nella figura 5. Il mosto muto alimentato dalla pompa P01 viene inviato allo scambiatore a piastre SC02 che ha la funzione di preriscaldare il mosto, prima che lo stesso venga sottoposto alla desolfurazione. Lo scambiatore SC 02 sfrutta il calore del mosto desolforato estratto dalla colonna di desolfurazione CL01, scambiandosi in controcorrente con il mosto in alimentazione. Il prodotto attraversato lo scambiatore a piastre viene inviato alla colonna di desolfurazione ad una temperatura di circa 100 °C. Ottenuto il livello di prodotto nella colonna di desolfurazione lo stesso viene fatto ricircolare nell'evaporatore a piastre SC01 per mezzo della pompa di ricircolo P02. A questo punto è necessario alimentare gradatamente il vapore fino ad una pressione di 1,5-2 bar necessario per riscaldare il prodotto ad una temperatura di circa 102 °C. Le condense che si formano nell'evaporatore vengono scaricate attraverso uno scaricatore di condense automatico. L'evaporatore dalla colonna di desolfurazione, tramite la relativa tubazione, entra nel condensatore a superficie FT01 dove viene trasformato in condensa per poi ritornare nella colonna stessa nell'ultimo piatto superiore, mentre i vapori di SO₂ e gli incondensabili passano alla colonnina CA01 dove vengono abbattuti mediante acqua alimentata nella parte superiore stessa. È importante precisare che per ottenere una buona desolfurazione si deve regolare la portata di acqua, tale da ottenere la temperatura del condensato intorno ai 60-70 °C. Il mosto così desolforato viene estratto dalla pompa P03 ad una temperatura di 100 °C e inviato nello scambiatore a piastre SC02, dove cede calore al mosto muto in alimentazione prima che lo stesso venga sottoposto alla desolfurazione. Il mosto desolforato viene inviato allo stoccaggio a una temperatura di 30 °C.

4. Spettrometria FTIR e spettrofotometria nella regione del visibile utilizzando il modello “WINESCAN FLEX” della ditta Foss (Fig. 6). Questo strumento è un analizzatore che permette il controllo completo sul processo di vinificazione e permette di determinare contemporaneamente tramite spettrometria FTIR: pH, acido malico, acido tartarico, acidità totale, grado brix, densità, etanolo, rapporto Glucosio/ Fruttosio, acidità volatile, APA, antociani. Il modello winescan flex è inoltre dotato di un modulo integrato che permette la determinazione del colore mediante l’assorbimento a frequenze d’onda del visibile 420 nm, 520nm, 620 nm.



Figura 6 - Modello winescan flex; fossanalytics.com

4. Conduttimetria, utilizzando il titolatore automatico Titrex modello ACT 2 della ditta Steroglass (Fig. 7). Il titolatore si basa sul metodo Ripper - Schimitt che consiste nell’ossidazione iodometrica dell’anidride solforosa:



Figura 7 - Titrex modello ACT2; keidy.com

2.4 Discussione dei risultati

I dati analitici ottenuti dalle analisi sono riportati nelle tabelle 3, 4 e 5, ed evidenziano la perdita di colore ad inizio, metà (5° giorno) e fine fermentazione alcolica (10 giorni):

Tesi A Ceppo 377		Inizio F.A.	Metà F.A.	Fine F.A.
Alcol svolto	vol %	0,0	7,8	14,5
Zuccheri riducenti	g/L	216,0	105,4	2,8
Acidità totale	g/L	5,5	7,3	6,2
Acidità volatile	g/L	0,1	0,2	0,2
pH		3,4	3,4	3,5
Acido malico	g/L	0,7	0,7	0,7
Acido lattico	g/L	0,07	0,07	0,32
estratto totale	g/L	252,1	141,5	32,4
Anidride solforosa tot	mg/L	70,0	68,0	130,0
Antociani totali	mg/L	1735,0	1828,0	529,0
Intensità colorante		30,9	29,2	19,3
Tonalità del colore		0,6	0,6	0,5

Tabella 3 - Dati ottenuti dall'analisi del mosto inoculato con il ceppo 377

Tesi B Ceppo R2		Inizio F.A.	Metà F.A.	Fine F.A.
Alcol svolto	vol %	0,0	8,6	14,1
Zuccheri riducenti	g/L	216,0	82,2	2,8
Acidità totale	g/L	5,5	7,3	6,3
Acidità volatile	g/L	0,1	0,3	0,2
pH		3,4	3,4	3,5
Acido malico	g/L	0,7	0,7	0,7
Acido lattico	g/L	0,07	0,07	0,28
estratto totale	g/L	252,1	117,2	32,3
Anidride solforosa tot	mg/L	70,0	65,0	128,0
Antociani totali	mg/L	1735,0	1691,0	557,0
Intensità colorante		30,9	25,3	19,6
Tonalità del colore		0,6	0,5	0,5

Tabella 4 - Dati ottenuti dall'analisi del mosto inoculato con il ceppo R2

Tesi C Ceppo Montrachet		Inizio F.A.	Metà F.A.	Fine F.A.
Alcol svolto	vol %	0	9,3	13,9
Zuccheri riducenti	g/L	216	70,2	2,7
Acidità totale	g/L	5,5	6,8	6,1
Acidità volatile	g/L	0,1	0,5	0,3
pH		3,4	3,4	3,5
Acido malico	g/L	0,7	0,7	0,7
Acido lattico	g/L	0,07	0,07	0,3
estratto totale	g/L	252,1	103,4	32,1
Anidride solforosa tot	mg/L	70	64	132,0
Antociani totali	mg/L	1735	1472	486,0
Intensità colorante		30,9	24,5	18,1
Tonalità del colore		0,6	0,5	0,5

Tabella 5 - Dati ottenuti dall'analisi del mosto inoculato con il ceppo Montrachet

Le analisi svolte evidenziano il calo dell'intensità colorante avuto nel periodo finale di fermentazione. Tale affermazione viene mostrata nel grafico 3 e tabella 5 che evidenziano come, durante la fermentazione alcolica, si abbia la perdita di un quantitativo elevato di antociani. Tale diminuzione può essere spiegata con la formazione di un addotto tannino-antociano o antociano-tannino. Gli addotti tannino – antociano e antociano – tannino differiscono nella reazione di formazione: nel primo caso (TA), i tannini formano un carbocatione che va a reagire con i siti nucleofili di una molecola di antociano e il nuovo complesso formato è incolore e assume un colore rosso – aranciato dopo disidratazione; nel secondo caso (AT) gli antociani sotto forma cationica reagiscono sulle posizioni negative dei tannini dando origine ad un flavene incolore in cui la presenza di ossigeno o di un mezzo ossidante è indispensabile per la ricolorazione.

Un'altra probabile causa di diminuzione dell'intensità colorante è l'assorbimento da parte delle cellule di lievito degli antociani. La parete cellulare dei lieviti è infatti costituita da mannoproteine legate a polisaccardi (chitina e glucano), le cui diverse polarità e natura idrofilica o idrofobica influenza la capacità di trattenere diversi composti del vino, tra cui gli antociani.

	TESI A (mg/L)	TESI B (mg/L)	TESI C (mg/L)
Inizio F.A.	1735	1735	1735
Fine F.A.	529	557	486
Calo %	70	68	72

Tabella 5 - Calo percentuale della concentrazione di antociani espressa in mg/L

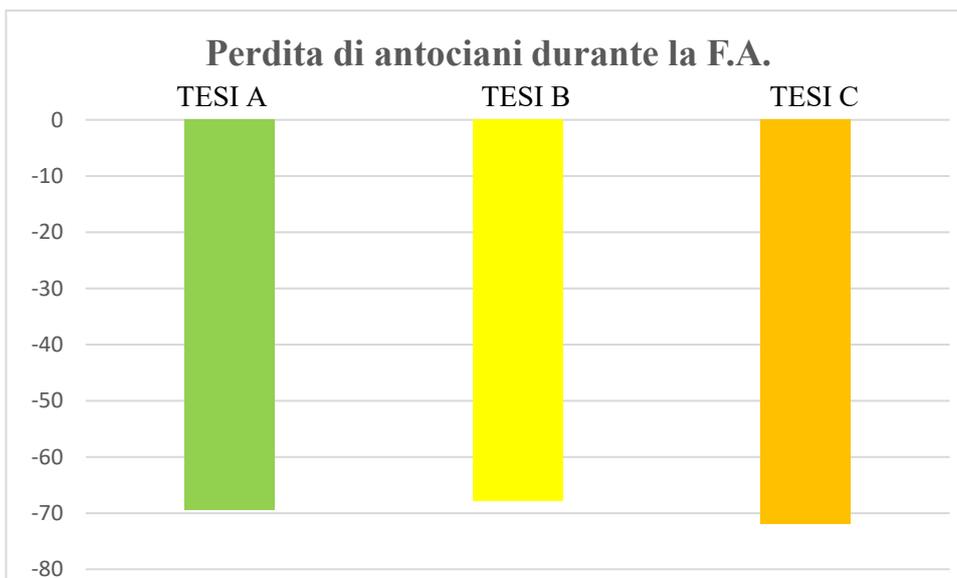


Grafico 3 – Valutazione della perdita di antociani durante la fermentazione alcolica. Il grafico evidenzia una perdita percentuale di antociani maggiore nella tesi C ma non sostanzialmente dissimile dalle altre.

	TESI A	TESI B	TESI C
Inizio F.A	30,9	30,9	30,9
Fine F.A.	19,3	19,6	18,1
Calo %	-37	-36	-42

Tabella 6 - perdita percentuale dell'intensità colorante

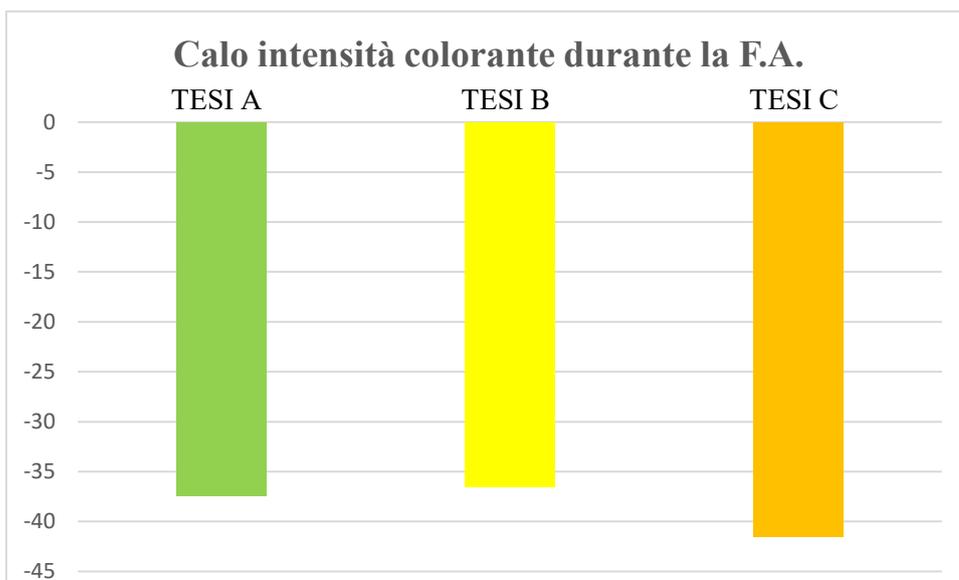


Grafico 4 – Calo dell'intensità colorante verificata durante la fermentazione alcolica

Come nel caso della perdita di antociani, quindi, la perdita di colore si verifica durante il periodo fermentativo; infatti, osservando il grafico 4 il calo dell'intensità colorante segue di pari passo la perdita di antociani, ed è evidente che la maggior perdita di colore l'abbiamo nella tesi C rispetto alle altre che riescono a frenare seppur lievemente la perdita netta del colore. Probabilmente la maggiore perdita di intensità colorante nella tesi C è dovuta alla perdita di antociani e all'assorbimento di polifenoli leggermente più intenso del ceppo Montrachet.

Possiamo analizzare la variazione del contenuto di antociani tramite la spettrometria FTIR, facendo delle letture a 420 nm, 520 nm e 620 nm:

TESI A	420 nm	520 nm	620 nm
Inizio F.A.	9,8	17,6	3,5
Metà F.A.	9,3	16,7	2,9
Fine F.A.	5,5	12,2	1,6
Calo%	-44	-31	-53

Tabella 7 - Dati ottenuti dall'analisi del campione nello spettro visibile, tesi A

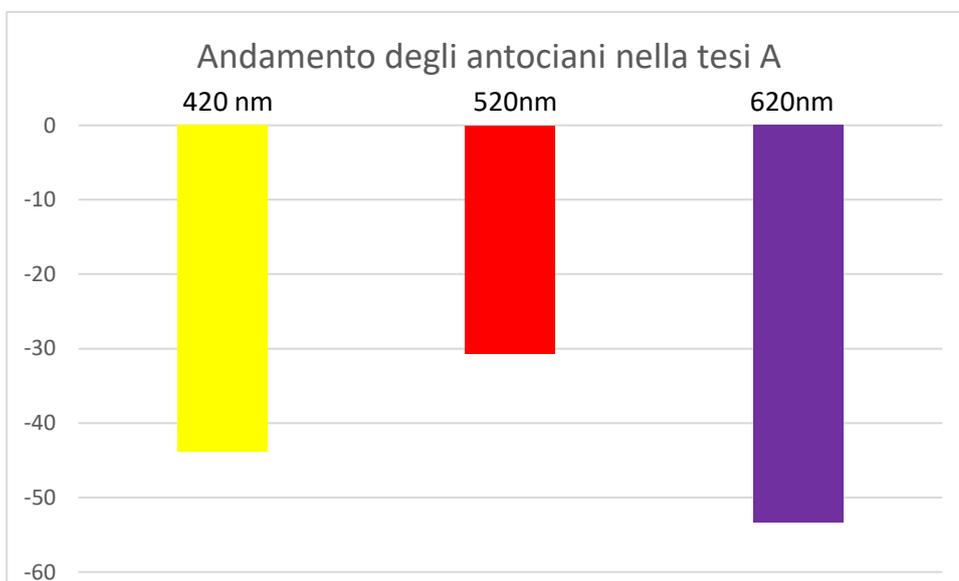


Grafico 5- Valutazione del contenuto di antociani con la lettura nello spettro visibile, tesi A.

TESI B	420nm	520nm	620nm
Inizio F.A.	10,6	17,9	3,5
Metà F.A.	7,7	15,3	2,3
Fine F.A.	5,6	14,4	1,6
Calo%	-47	-19	-56

Tabella 8 - Dati ottenuti dall'analisi del campione nello spettro visibile, tesi B

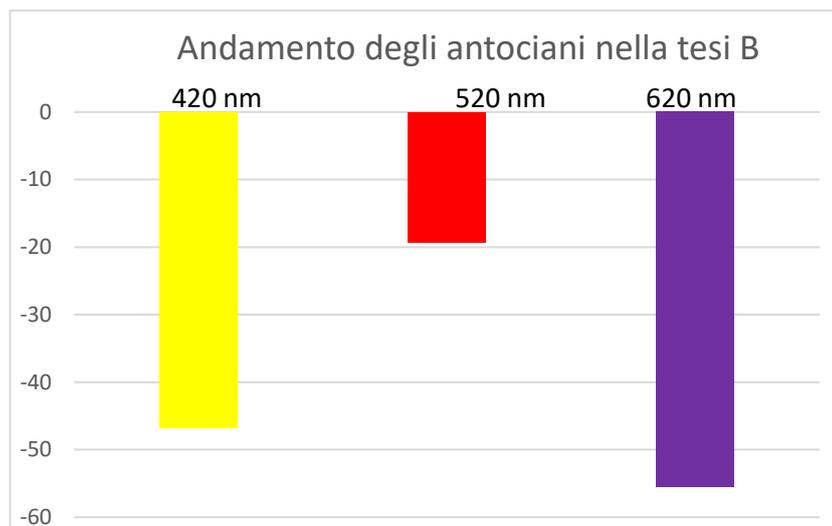


Grafico 6- Valutazione del contenuto di antociani con la lettura nello spettro visibile, tesi B.

TESI C	420nm	520nm	620nm
Inizio F.A.	9,3	16,9	3,2
Metà F.A.	7,2	14,9	2,4
Fine F.A.	5,1	11,4	1,5
Calo%	-45	-32	-54

Tabella 9 - Dati ottenuti dall'analisi del campione nello spettro visibile, tesi C.

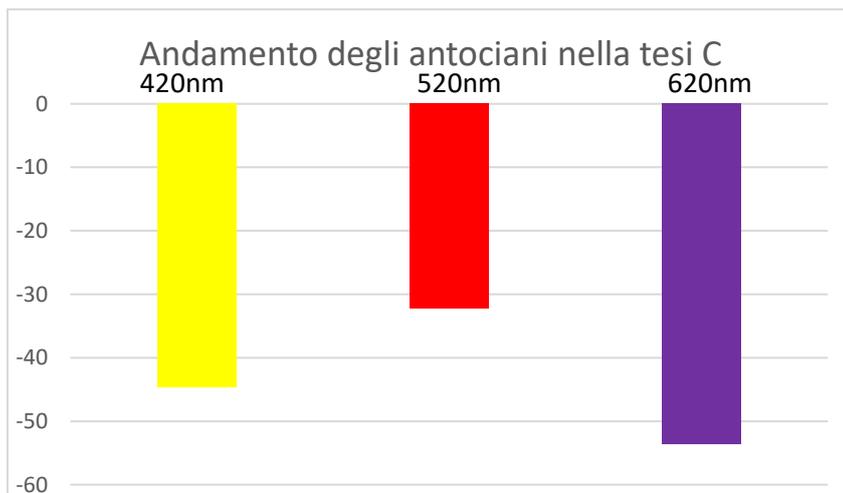


Grafico 7 - Valutazione del contenuto di antociani con la lettura nello spettro visibile, tesi C.

Nelle tre tesi notiamo che durante la fermentazione, nell' analisi spettrofotometrica alla lunghezza d'onda di 420nm si osserva un calo importante dei polifenoli perché tendono a ossidarsi in seguito a diverse reazioni chimiche.

A 520nm non abbiamo un calo maggiore poiché nei vini rossi la componente polifenolica preponderante è rappresentata dagli antociani. Come evidenziato dai grafici precedenti, il calo degli antociani è direttamente proporzionale al calo della lunghezza d'onda a 520nm.

Alla lunghezza d'onda di 620 nm il calo è repentino perché durante la fermentazione alcolica non si formano i cosiddetti addotti tannino- antociano, antociano – tannino con ponte etile che si formano invece nel corso dell'affinamento in botte/barriques oppure in seguito a microossigenazione.

Ciò concorda con quanto trovato in bibliografia: nello studio di *Di Gianvito et al., 2016* “Influenza dei ceppi di lievito sul colore e sulla componente fenolica del Montepulciano d’Abruzzo” si è visto che i diversi ceppi di lievito non avevano influenzato la colorazione gialla e rossa dei vini ma risultavano fortemente modificati i contenuti di antociani totali e antocianine monomere per adsorbimento delle stesse.

Nello studio di *Morata et al., 2004* si è invece osservato il diverso assorbimento da parte dei diversi ceppi di lievito isolati e in conclusione si può affermare che i vini prodotti con un ceppo a basso assorbimento di antocianine risulterà con elevata intensità colorante, mentre vini prodotti con ceppi ad alto assorbimento di antocianine avranno valori di intensità colorante sotto la media.

3. Conclusioni

L'aspetto economico assume un'importanza fondamentale sia a livello di vendita del prodotto desolforato, sia a livello di gestione del mosto muto di partenza, ottenuto cioè tramite una macerazione solfitica. Il lato economico interessa principalmente la vendita del desolforato in quanto lo stesso assume maggior valore all'aumentare dei punti colore. Ciò premesso, alla luce di quanto precedentemente osservato, appare opportuno che il mosto muto sia desolforato e fermentato esclusivamente quando vi sia la richiesta, dato che tende a perdere maggiori punti colore nel primo mese di stoccaggio. Questo problema potrebbe essere ovviato producendo desolforato su richiesta, non perdendo così punti colore in caso di stoccaggio, e ovviamente aumentando il bilancio aziendale.

Nelle tre tesi analizzate si nota che l'intensità colorante dei tre vini ottenuti è molto simile con piccole marginalità, quindi la scelta del ceppo di lievito non riveste un ruolo assai rilevante nonostante esso assorba antociani, a differenza della scelta del tannino, il quale favorisce la formazione di addotti tannino – antociano stabili.

Bibliografia

- Asen S.** 1976. Known factors responsible for infinite flower color variation. In: *Acta Horticulturae*, 63: International Symposium on Floriculture Plant breeding and Genetics, Sink K.C. jr editore, ISSN: 0567-7572, International Society for Horticultural Science (ISHS) East Lansing, Michigan, USA 217-223.
- Brouillard R.** 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as food colors*, Markakis P. Editore, Academic Press New York, ISBN 0-12- 472550-3, 1-40.
- Dallas C.** e Laureano O. 1994. Effect of SO₂ on the extraction of individual anthocyanins and colored matter of three Portuguese grape varieties during winemaking. *Vitis*, pp 41-47.
- De Vita P.** e De Vita G. *Manuale di meccanica enologica*, seconda edizione, 2015. Hoepli, pp 235- 258.
- Di Gianvito P.,** Arfelli G., Piva A., Tofalo R., Suzzi G., 2016. Influenza dei ceppi di lievito sul colore e sulla componente fenolica del Montepulciano d’Abruzzo, infowine.
- Garoglio P. G.** *nuova enologia*, 1981. Edizioni AEB.
- Glories Y.** 1978 – *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*, Tesi di Dottorato in Scienze, Université de Bordeaux II.
- Iacobucci G.A.** e Sweeney J.G. 1983. The chemistry of the anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. *Tethaedron*, 39 (19), 3005-3038.
- Monagas M., Gómez – Cordovés C., Bartolomé B.** 2006. Evaluation of different *Saccharomyces cerevisiae* strains for red winemaking. Influence on the anthocyanin, pyranoanthocyanin and non – anthocyanin phenolic content and colour characteristics of wine. Elsevier.
- Morata A., Gómez – cordovés M. C., Colomo B., Suárez.,** 2004. Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes. ResearchGate.
- Ohta H.,** Akuta S. e Osajima Y. 1980. Stabilization of anthocyanin pigments and their utilization. II. Stability of anthocyanin pigments and related compounds in acidic solution. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 27 (2), 81- 85.
- Ribéreau – Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D.** *Trattato di enologia vol. 2. Chimica del vino, Stabilizzazione e Trattamenti.* Terza edizione, 2015. Pp 156-159; 164-172.
- Scotti B.,** *Usò della solforosa in affinamento e nuove forme d’impiego*, Vinidea.net – Rivista Internet Tecnica del vino, 2004, N.1/2.
- Somers T.C.** e Wescombe L.G. *Red wine quality: the critical role of SO₂ during vinification and conservation.* Austr. & New Zeal. Grapegrow. Winemaker, 1982.

Teh L.S. e Francis F.J. 1988. Stability of anthocyanins from *Zebrina pendula* and *Ipomoea tricolor* in a model beverage. *J. Food Sci.*, 53 (5), 1580- 1581.

Sitografia

<https://www.qualigeo.eu/prodotto-qualigeo/montepulciano-dabruzzo-dop/#:~:text=Il%20Montepulciano%20d'Abruzzo%20DOP%20si%20distingue%20per%20un%20colore,secco%2C%20armonico%20e%20giustamente%20tannico.>

[SO2 e conservazione dei vini \(viniferanieri.it\)](#)

[Anidride solforosa in Enologia \(agraria.org\)](#)

[Solfiti nel vino: nuovo regolamento - Vinix Platform](#)

[L'uso Dell'anidride Solforosa In Enologia - Appunti di Agronomia gratis Studenti.it](#)

[Desolforazione - Wikipedia](#)