



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI
CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE; VITICOLTURA
ED ENOLOGIA

EVOLUZIONE DEI POLIFENOLI IN VINI INVECCHIATI IN LEGNO

TIPO TESI: compilativa

Studente:
GIORGIO FOSCHI

Relatore:
PROF. DEBORAH PACETTI

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE.....	3
ELENCO DELLE FIGURE	4
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI	5
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	6
CAPITOLO 1 “GENERALITÀ SULL’INVECCHIAMENTO DI UN VINO”	8
1.1 Polifenoli nelle uve”	8
1.1.1 Acidi fenolici	8
1.1.2 Flavonoli e flavanoli	9
1.1.3 Antociani.....	10
1.1.4 Tannini	11
1.2 L'utilizzo del legno in enologia.....	12
1.2.1 Stagionatura	13
1.2.2 Tostatura	13
1.3 Composti polifenolici e aromatici presenti nelle botti di legno	14
1.2.1 Fenoli volatili.....	14
1.2.2 Acidi fenolici	15
1.2.3 Ellagitannini.....	15
1.2.4 Lattoni.....	16
1.4 Variazione della composizione polifenolica in base al processo di fabbricazione delle botti.....	16
1.4.1 Botti stagionate	17
1.4.2 Botti tostate.....	17
1.5 Principali reazioni che coinvolgono i polifenoli nel vino.....	17
1.5.1 Copigmentazione	17
1.5.2 Reazione tra tannini e proteine	19
1.5.3 Degradazione degli antociani.....	19
1.5.4 Condensazione tra antociani e tannini	19
1.5.4.1 Condensazione diretta.....	19

1.5.4.1 Condensazione indiretta.....	20
1.5.5 Meccanismi di ossidazione	20
CAPITOLO 2 VARIAZIONI DEL PROFILO POLIFENOLICO DOVUTE ALL'INVECCHIAMENTO DEL VIN IN BOTTE DI LEGNO	22
2.1 Variazioni del colore.....	23
2.2 Variazioni del profilo aromatico.....	25
CONCLUSIONI	29
BIBLIOGRAFIA	30

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1-1:Principali composti fenolici delle uve...**Errore. Il segnalibro non è definito.**

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1: Struttura base dei Flavonoli	8
Figura 1-2: Struttura base dei Flavanoli.....	8
Figura 1-3: Struttura base degli Antociani.....	9
Figura 1-4: Equilibrio delle forme antocianiche a pH del vino.....	10
Figura 1-6: Ellagitannino acutissimina A.....	15
Figura 2-1: Reazioni di sovra-ossidazione nel vino.....	24
Figura 2-2: Andamento delle antocianine in affinamento	24
Figura 2-3: Decrescita delle antocianine in botti.....	24
Figura 2-4: Decrescita assorbanza e aumento della tonalità e del TPI.....	24
Figura 2-5: Evoluzione dei fenoli volatili e dei composti furanici.....	24
Figura 2-6: Evoluzione dei lattoni e delle aldeidi fenoliche	24

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

PPO	Polifenolossidasi
SO ₂	Anidride solforosa
HHDP	Acido esaidrossidifenico
OTR	Rateo di trasmissione dell'ossigeno/ Oxygen transmission rate
HOTR	Alto rateo di trasmissione d'ossigeno/ High oxygen transmission rate
LOTR	Basso rateo di trasmissione d'ossigeno/ Low oxygen transmission rate
PF	Polifenolo
PFO	Polifenolo ossidato
ABS	Assorbanza/ Absorbance
TPI	Indice dei polifenoli totali/ Total polyphenol index

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Le sostanze polifenoliche sono molecole, di diverse dimensioni e strutture, già presenti all'interno dei tessuti delle bacche d'uva e della pianta; sono anche presenti e apprezzabili in serbatoi di legno usati per l'invecchiamento e l'affinamento dei vini. Alla base della struttura chimica di questi composti c'è un anello benzenico a cui si va a sostituire un H⁺ con un gruppo OH⁻; in questo modo si origina il fenolo, che in una soluzione alcalina, va a reagire con altri composti di natura elettrofila sostituendo così anche il proprio idrogeno, il quale può venire scambiato con cationi metallici, generando così un fenato. Questo meccanismo è alla base della variazione di reattività dei diversi composti fenolici.

Queste sostanze sono per lo più in forma di acidi fenolici, divisibili in benzoici e cinnamici, normalmente incolori e insapori, ma che possono mutare in questi loro aspetti se sottoposti a ossidazione e attacco da parte di microrganismi.

Nel corso delle lavorazioni delle uve, passando dall'ottenimento del mosto-vino, fino all'invecchiamento e imbottigliamento del prodotto finito, questi composti compiono molteplici reazioni anche tra di loro, andando così a mutare il profilo polifenolico originale.

L'intero insieme di reazioni che comprendono i polifenoli influiscono in maniera importante nei caratteri di colore, astringenza e sentori più o meno amari, nei vini finiti. Sotto questo aspetto è particolarmente importante il periodo di affinamento del vino, cioè quel lasso di tempo che parte da fine della fermentazione alcolica e termina con il consumo, perché generalmente è qui che buona parte dei processi di modificazione dei polifenoli avvengono. Questo è vero soprattutto in virtù del fatto che differenti vini vengono spesso affinati in diversi contenitori, ognuno dei quali apporta modifiche al vino in base alla propria composizione; sono quindi utilizzati contenitori ritenuti chimicamente inerti, come acciaio, cemento e vetro, per lasciare che l'affinamento del vino non venga influenzato da fattori esterni ad esso; oppure, contenitori di legno, quando si intende conferire al vino in invecchiamento un insieme di composti influenti sulle sue caratteristiche organolettiche, ceduti dal legno o scambiati con esso.

L'obiettivo di questo elaborato è quello di valutare l'evoluzione dei polifenoli nei vini che vengono sottoposti a invecchiamento, soprattutto quelli che vengono posti in botti di legno, in

modo da avere una generale indicazione, all'attuale stato dell'arte, per poter ragionevolmente prevedere il profilo polifenolico di un determinato vino alla fine del proprio periodo di invecchiamento

Capitolo 1

GENERALITÀ SULL'INVECCHIAMENTO DI UN VINO

Nonostante la moltitudine e la complessità delle reazioni chimiche che intercorrono nel periodo di invecchiamento di un vino, si possono individuare degli elementi costanti; non tanto nella loro concentrazione, quanto nella loro presenza.

1.1 Polifenoli nelle uve

Nell'uva sono presenti diversi componenti fenolici che variano in base al grado di maturazione della bacca e tipologia di vitigno.

Si tratta di metaboliti secondari prodotti naturalmente dalla pianta e presenti nelle bacche in quantità predominante in vinacce e vinaccioli, secondariamente nella polpa. I principali composti fenolici presenti nei frutti sono: acidi idrossibenzoici; acidi idrossicinnamici; flavonoli; flavanoli, antocianine; fenoli volatili e stilbeni (Tab.1) (Li & Duan, 2019; Zhang et al., 2015)

Tabella 1-1 (Li & Duan, 2019)

Phenolic compounds	Concentration level (mg/L)
Hydroxybenzoic acids ⁵	8–54
Hydroxycinnamic acids ⁵	11–164
Flavonols ⁵	4–114
Flavanols ⁵	436–3600
Anthocyanins ⁵	185–895

1.1.1 Acidi fenolici

Trattasi degli acidi idrossibenzoici e idrossicinnamici, presenti nelle bacche d'uva in concentrazioni variabili da 10 a 200 mg/L (Ribèreau-Gayon, 2021).

L'acido idrossibenzoico più presente nelle bacche d'uva è l'acido gallico, presente nella sua forma libera (Li & Duan, 2019). Gli acidi idrossicinnamici, invece, non sono presenti in forma libera nelle bacche ma si trovano sotto forma prevalente di esteri tartarici che, nel processo di vinificazione, verranno idrolizzati. Mentre gli acidi idrossibenzoici rimangono piuttosto stabili durante tutto il ciclo di vinificazione, gli acidi idrossicinnamici partecipano a reazioni, sia enzimatiche che no, soprattutto perché si comportano da substrati per le PPO, andando a influire sulla colorazione del vino dato il loro imbrunimento (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

1.1.2 Flavonoli e flavanoli

Composti presenti nelle bucce delle uve, sia bianche che rosse. La loro struttura è identificata da due anelli benzenici collegati da un eterociclo ossigenato (Fig.1; Fig.2). Presenti nelle uve fino a concentrazioni di circa 100 mg/L (Ribèreau-Gayon, 2021).

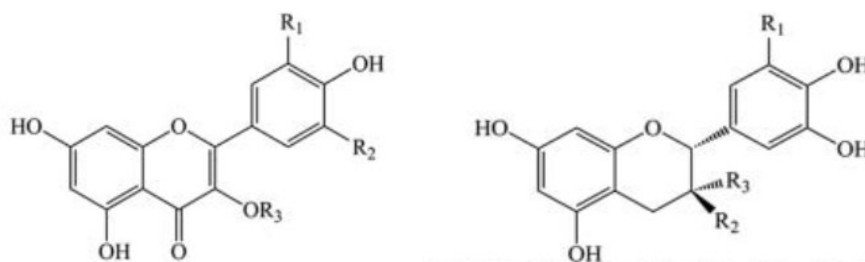


Figura 1-1-1: Struttura base dei Flavonoli (Li & Duan, 2019)

Figura 1-1-2: Struttura base dei Flavanoli (Li & Duan, 2019)

I flavonoli sono i composti più comuni e rappresentativi in questione di colorazione, che si presenta di un giallo di variabile intensità, rispetto ai flavanoli, che invece hanno colorazione molto più pallida (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

I flavanoli si presentano come agliconi e sono 6: kaempferolo; quercitina; miricetina; isoramnetina; laricitrina e siringetina.

I flavanoli, invece, sono presenti come monomeri nelle uve, quali sono le catechine e le epicatechine, ma queste hanno la possibilità di esterificare con l'acido gallico e di andare a creare oligomeri o polimeri: se il grado di polimerizzazione non supera le 3 molecole questi oligomeri vengono chiamati proantocianidine, al contrario, sopra le 3 molecole di polimerizzazione, si parla di tannini condensati.

I flavanoli concorrono in maniera importante all'amarezza e all'astringenza del vino, in quanto è stato studiato come l'amarezza sia correlata a flavanoli di basso peso molecolare e l'astringenza sia direttamente proporzionale al grado di polimerizzazione. Infatti, in vini giovani, notoriamente più astringenti, la loro presenza è stata ritrovata in misura del 25-50% su tutta la componente fenolica totale (Li & Duan, 2019).

1.1.3 Antociani

Rappresentano i pigmenti rossi delle uve; solitamente presenti, da 100 a 1500 mg/L, nelle bucce e, in via eccezionale, nelle polpe di alcune varietà tintorie. La molecola caratteristica degli antociani è rappresentata da due anelli benzenici uniti da un eterociclo ossigenato, insaturo e sul quale insorge una carica positiva, detta catione Flavilio (Fig.3) (Ribèreau-Gayon, 2021)

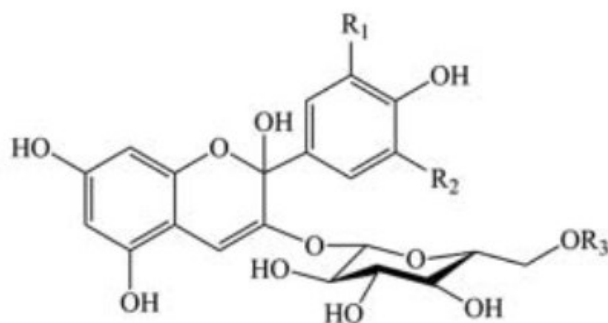


Figura 1-1-3: Struttura base degli antociani (Li & Duan, 2019)

Questa struttura di base può trovarsi legata a uno zucchero, e quindi in forma eterosidica, prendendo il nome di antocianina, oppure sotto forma di aglicone, prendendo il nome di antocianidina. Le antocianine sono chimicamente più stabili rispetto alle antocianidine e inoltre, in *V. vinifera* sono state ritrovate antocianine esclusivamente monoglucosilate, rendendole così un marker per poter comprendere se un vino è stato ottenuto con specie diverse dalla *vinifera*. (Ribèreau-Gayon, 2021).

Proprio in base alle tipologie di gruppi sostituenti che prendono inserzione sull'anello laterale delle antocianidine si possono distinguere cinque composti caratteristici: Cianidina; Peonidina; Delfinidina; Petunidina e Malvidina. Inoltre, è stato riscontrato come in *V. vinifera* le antocianidine predominanti siano quelle a base di Malvidina (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

La gradazione di colore che questi composti assumono è dipendente dal mezzo, dalla loro composizione chimica e dalle sostanze presenti insieme ad essi (Ribèreau-Gayon, 2021); si può dire che ai pH del vino le principali forme antocianiche sono: ione Flavilio (rosso); antocianina in forma emichetaleica (incolore); antocianina in forma di calcone (giallo) e antocianina in forma quinoidale (viola). Queste, in condizioni di equilibrio si ritrovano rispettivamente nelle percentuali di 12.2%; 15.0%; 45.2%; 27.6%. Ciò è vero fintanto che il pH del mezzo non subisce variazioni, che possono essere dovute ad attacchi di microrganismi o ad aggiunte di SO₂, comportando così uno spostamento nell'equilibrio e, di conseguenza, una variazione del colore.(Li & Duan, 2019)

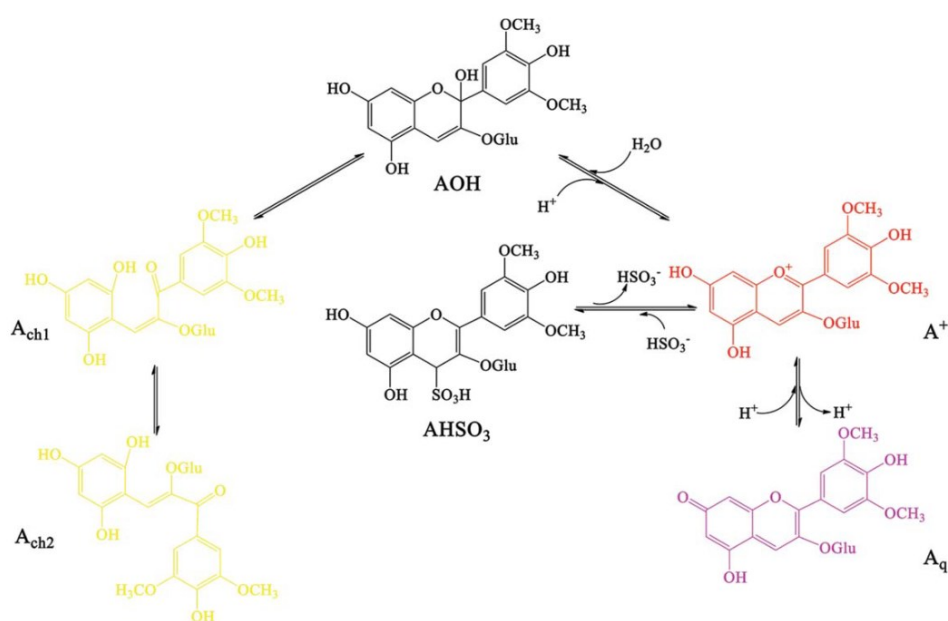


Figura 1-1-4: Equilibrio dei composti antocianici a pH del vino, con: forma emichetaleica (AOH); catione Flavilio (A⁺); forma quinoidale (A_q); forma cis-calcone (A_{ch1}); forma trans-calcone (A_{ch2}); forma antocianica post aggiunta di solforosa (AHSO₃) (Li & Duan, 2019).

1.1.4 Tannini

Sono fenoli molto voluminosi, con masse molecolari comprese tra 600 e 3500, originatisi dalla polimerizzazione di più molecole contenenti gruppi fenolici; inoltre, sono in grado di legare e creare composti stabili con le proteine e polisaccaridi (Ribèreau-Gayon, 2021). Proprio la loro voluminosità incide sulla loro capacità di poter legare diversi composti, questo perché se sono troppo poco voluminosi le combinazioni che creeranno con le proteine non

saranno sufficientemente stabili, ma se sono troppo ingombranti non saranno in grado di avvicinarsi ai siti attivi delle molecole con cui devono reagire (Ribèreau-Gayon, 2021).

Vengono suddivisi in: tannini condensati (originati dalla polimerizzazione dei flavanoli); tannini idrolizzabili e tannini misti.

1.2 Utilizzo del legno in enologia

È universalmente riconosciuto che l'utilizzo del legno in ambito enologico sia finalizzato all'ottenimento di vini con caratteristiche organolettiche associate a un prodotto di maggior qualità. Questo perché, a differenza degli altri materiali che si possono usare in enologia, a contatto con il vino, il legno è l'unico che è volutamente impiegato come materiale non inerte, e quindi, capace di trasferire una certa categoria e quantità di composti chimici determinanti nel costruire il profilo sensoriale di un vino alla fine di un periodo di invecchiamento. Questo perché le botti in legno, oltre a svolgere la loro funzione di contenimento, fungono anche per: apporto di ossigeno; separazione dei sedimenti dalla massa liquida; apporto di tannini al vino; stabilizzazione del colore (Carpena et al., 2020). Proprio perché il serbatoio in legno si comporta come materiale attivo, anche la sua durata tecnologica è limitata nel tempo, indipendentemente dalla correttezza dell'utilizzo che si fa di questo materiale (Carpena et al., 2020); questo perché il legno è un materiale poroso con varie insenature che permettono lo scambio di ossigeno ma che, nel corso degli anni, potranno a ostruirsi, impedendo l'ottimale ossigenazione e diventando substrati ottimali per la crescita di microrganismi indesiderati; inoltre anche la quantità di sostanze cedibili e/o scambiabili nel contatto legno-vino è limitata e finita, in base: all'intensità dell'uso del serbatoio; alle sue caratteristiche strutturali; alla procedura produttiva con la quale è stato costruito (Carpena et al., 2020; Ribèreau-Gayon, 2021). Proprio in questo senso, la tipologia di produzione della botte è fondamentale, soprattutto per i composti chimici che possono diffondere nel vino.

Infine, va specificato che le principali querce utilizzate per la produzione di botti sono americane (*Quercus alba*) e francesi (*Quercus petraea* e *Quercus robur*); a seguire vi sono tutta una serie di specie di querce, presenti areali che, ad oggi, non sono comunemente utilizzati per la produzione di serbatoi in legno; seppur sia ora in corso una valutazione su alcune specie di querce presenti in est Europa (Ucraina; Romania; Ungheria) per una maggior presenza, nel loro legno, di sostanze aromatiche cedibili rispetto alle controparti francesi e americane. (Zhang et al., 2015).

1.2.1 *Stagionatura*

La stagionatura è la prima operazione che viene fatta al legno di quercia; questa avviene impilando le doghe di quercia, ancora giovani, all'aria aperta e facendole restare così per un periodo di tempo variabile in funzione dello spessore delle doghe stesse; generalmente 24 mesi per doghe da 21 mm e 36 mesi per doghe da 28 mm; dove i primi 10 mesi rappresentano l'essiccazione vera e propria del legno e successivamente, nella restante parte di tempo di stagionatura, avviene la maturazione del materiale, con una modificazione a livello chimico dei composti di interesse enologico. (Ribèreau-Gayon, 2021)

È bene citare il fatto che, seppur sia comunemente accettato e dimostrato che la stagionatura naturale del legno sia la pratica che rende un materiale finito di qualità superiore, esiste anche la via dell'essiccazione artificiale tramite ventilazione; seppur più breve rispetto all'affinamento del legno con metodo naturale, ad oggi il prodotto stagionato ottenuto mediante questa tecnica si presenta troppo astringente e disequilibrato rispetto al primo, venendo quindi occasionalmente impiegato nella fase iniziale dell'essiccamento per accelerare il periodo che serve per la sola disidratazione del legno, lasciando così la sua maturazione al metodo naturale. (Ribèreau-Gayon, 2021)

1.2.2 *Tostatura*

Procedura che, quando eseguita, deve essere successiva alla stagionatura. Consiste nello scaldare le doghe del legno, per permetterne una più agevole curvatura; in modo che vengano fissate a una delle due future estremità della botte, tramite un cerchio di metallo. A questo punto, la botte, ancora aperta per una delle due estremità, viene posizionata sopra una fonte di calore (sia essa una fiamma o una resistenza elettrica emettitrice di radiazione infrarossa) che tosterà la superficie interna del serbatoio. In base in base alla temperatura e al tempo di riscaldamento ai quali si sottopone il legno, le botti prodotte secondo questo metodo vengono suddivise in tre livelli: tostatura leggera (180°C raggiunti in 5 minuti); tostatura media (160-170°C raggiunti in 35 minuti) e tostatura forte (230°C raggiunti in circa 15-17 minuti). Questa procedura origina botti capaci di conferire ai vini che vi invecchiano all'interno sentori completamente diversi rispetto a quelli ottenibili tramite sola stagionatura (Ribèreau-Gayon, 2021; Zhang et al., 2015). Inoltre, è stato studiato come, l'estraibilità dei composti di queste botti sia direttamente proporzionale a: tempo e temperatura della tostatura; grandezza della grana del legno utilizzato (Li & Duan, 2019).

1.3 Composti polifenolici e aromatici presenti nelle botti di legno

Nel legno di quercia vi sono diversi composti fenolici, tipici del materiale, che possono diffondere all'interno del vino modificandone sensibilmente il profilo organolettico e agendo da potenti antiossidanti; però alcuni di essi, al raggiungimento di determinate concentrazioni, possono risultare sgradevoli (Zhang et al., 2015). Questi polifenoli sono dipendenti dal tipo di legno e dal tipo di fabbricazione che la botte ha subito.

1.3.1 Fenoli volatili

Sono sempre presenti nei legni di quercia ed estraibili da parte dei vini.

I più importanti, sotto l'aspetto sensoriale, sono il 4-vinilfenolo e il 4-etilfenolo; che se presenti in concentrazioni pari o superiori al livello di soglia olfattiva (rispettivamente di 605 µg/L e 425 µg/L), possono conferire al vino aromi sgradevoli quali: sentore di "medicinale" e sentore di "sudore di cavallo". (Zhang et al., 2015). Altrettanto rilevanti sono guaiacolo, responsabile degli aromi affumicati e speziati, e vinilguaiacolo, che contribuisce a sentori descritti come di "chiodi di garofano"; inoltre, le loro soglie olfattive sono sensibilmente più basse rispetto ai precedenti, essendo rispettivamente di 25 µg/L e 33 µg/L. (Zhang et al., 2015)

Va però precisato che etilfenolo e vinilfenolo sono stati ritrovati in scarsa quantità nei legni di rovere, dimostrando come le loro concentrazioni riscontrate nei vini siano date perlopiù dall'azione dei microrganismi (batteri lattici e lieviti). Nonostante ciò, questi composti rivestono un secondo ruolo, altrettanto importante, che è quello di complessarsi con gli antociani, provocandone un viraggio di colore verso l'arancione, ma, allo stesso tempo, proteggendoli dalla possibile idratazione, stabilizzandoli (Zhang et al., 2015).

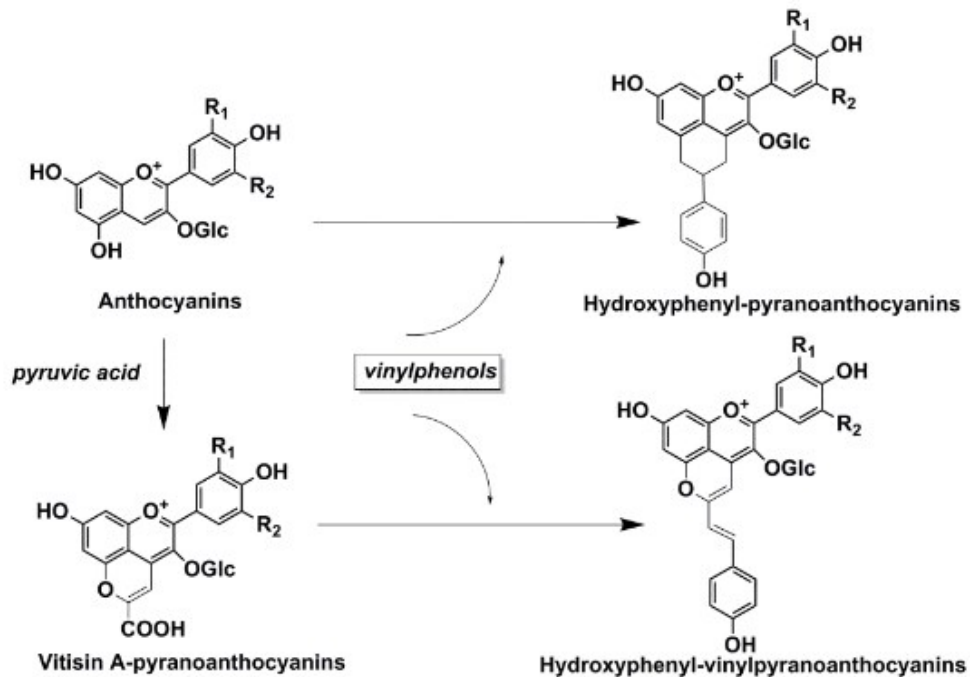


Figura 1-5: creazione del complesso antociani-vinilfenoli. (Zhang et al., 2015)

1.3.2 Acidi fenolici

Anche nel legno, i principali acidi fenolici sono gli acidi idrossibenzoici e idrossicinnamici, come nelle bacche. Ma, per i serbatoi, sono più importanti i composti a essi correlati: relativamente agli acidi idrossibenzoici ci sono le aldeidi idrossibenzoiche, come siringaldeide e vanillina (aroma di legno e vaniglia); mentre i corrispettivi degli acidi idrossicinnamici più importanti sono l'acido *p*-cumarico, caffeico e ferulico. (Ribèreau-Gayon, 2021; Zhang et al., 2015).

Inoltre, è stato studiato come il colore dei vini rossi venga influenzato in maniera importante dagli acidi fenolici (in particolare quelli idrossicinnamici), con un miglioramento e stabilizzazione del 60-70%, tramite reazioni di copigmentazione (Zhang et al., 2015).

1.3.3 Ellagitannini

Categoria di tannini idrolizzabili, non presenti nelle uve, ma per quanto riguarda il vino, solo nel rovere delle botti (Ribèreau-Gayon, 2021), in quanto prodotti dal metabolismo secondario delle piante (Zhang et al., 2015).

Caratterizzati da strutture con una o più porzioni di HHDP esterificate con uno zucchero; i composti più presenti sono la vescalagina e la castalagina, che rappresentano il 40-60% degli ellagitannini (Zhang et al., 2015).

La loro importanza deriva dal fatto che sono potenti antiossidanti e sono tossici per i microrganismi (Carpena et al., 2020; Zhang et al., 2015), e quindi sono regolatori dei due dei principali problemi del vino in fase di invecchiamento. Secondariamente, prevengono l'eccessiva degradazione del legno e conferiscono una buona resistenza alla degradazione da parte di funghi (Zhang et al., 2015).

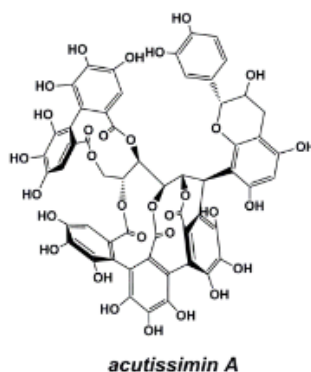


Figura 1-6: Ellagitannino acutissimina A (Zhang et al., 2015)

1.3.4 Lattoni

Composti formati per esterificazione tra una funzione acida e una alcolica, che appartengono alla stessa molecola, conducendo così, ad un eterociclo ossigenato (Ribèreau-Gayon, 2021). Alcuni di questi composti possono partecipare in maniera attiva alla composizione del profilo sensoriale del vino. Possono essere presenti nelle uve attaccate da *Botrytis cinerea* ma, più comunemente, nel legno delle botti (come il “lattone di quercia” o il “whisky lattone”); che conferiscono particolari aromi di noce di cocco (Ribèreau-Gayon, 2021).

1.4 Variazione della composizione polifenolica in base al processo di fabbricazione delle botti

La composizione fenolica della botte non varia solo dalla specie arborea della quercia selezionata e dall'areale d'origine, ma è dipendente anche dal processo di produzione del serbatoio, differenziandosi tra botti stagionate e botti tostate.

1.4.1 *Botti stagionate*

In botti sottoposte ad essiccazione all'aperto si è riscontrato un aumento di fenoli volatili e aldeidi fenoliche (vanillina; siringaldeide; eugenolo) proporzionale alla temperatura di stagionamento e, inoltre, è stato dimostrato come l'acido ellagico fosse il componente più presente nel legno giovane, mentre, in quello stagionato, il principale fosse l'acido gallico (Zhang et al., 2015).

1.4.2 *Botti tostate*

Sottoporre le botti alla tostatura provoca la pirolisi dei costituenti della superficie interna delle doghe, tra cui ellagitannini, lignina e cellulosa (Zhang et al., 2015). La lignina, venendo idrolizzata (tramite idrotermolisi), dà luogo ai due alcoli che la compongono: l'alcol siringilico e l'alcol coniferilico. Questi due composti, tramite ulteriori meccanismi di idrolisi e ossidazione volti alla loro degradazione, partecipano positivamente alla formazione di acidi cinnamici, acidi benzoici e aldeidi (Zhang et al., 2015); con un riscontro desiderabile sul profilo sensoriale del vino.

1.5 **Principali reazioni che coinvolgono i polifenoli nel vino**

Durante tutto il processo di vinificazione, i composti polifenolici presenti nel vino subiscono diverse modificazioni, sia per fattori esterni (come pH; temperatura; O₂; SO₂) che per reazioni con altri composti interni.

1.5.1 *Copigmentazione*

La reazione di copigmentazione vede coinvolti gli antociani e altri composti che si comportano come copigmenti. Al pH del vino (3.2-3.8) la forma rossa degli antociani, il catione flavilio, può idratarsi; l'idratazione di questo composto porta alla sua forma emichetaleica incolore. La via della copigmentazione impedisce il verificarsi di questo processo, tramite l'associazione di porzioni di antocianine (in forma colorata A⁺) e altri composti, mediante legami idrogeno e forze di van der Waals (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

Esistono tre diverse vie di copigmentazione, differenziate in base al tipo di composto che va a legare, e a proteggere, l'antocianina colorata: la copigmentazione intermolecolare, quando

i copigmenti sono composti di natura non antocianica, come metalli (Cu^{2+} ; Al^{3+} ; Fe^{3+} ; Mg^{2+}), acidi organici e amminoacidi, che si legano attorno all'antocianina in un pacchetto, proteggendola dall'idratazione; copigmentazione intramolecolare, se il copigmenti che proteggono l'antocianina sono delle porzioni modificate della stessa molecola che si ripiegano su loro stesse, proteggendo il catone flavilio; copigmentazione per auto-associazione, quando più molecole di antocianine indipendenti si legano proteggendosi vicendevolmente dalla decolorazione (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

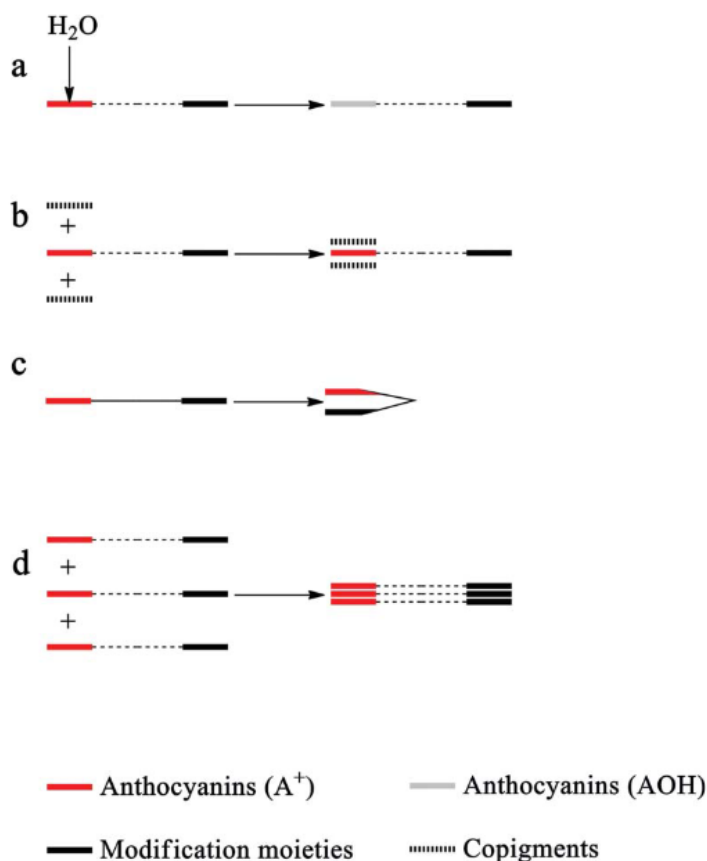


Figura 1-7: a) idratazione dell'antocianina; b) copigmentazione intermolecolare; c) copigmentazione intramolecolare; d) copigmentazione per auto-associazione (Li & Duan, 2019).

I composti così formati sono caratterizzati da legami di debole energia, che possono modificare la risonanza del catione. Tutto questo avviene anche in funzione di altri fattori come: tipologia e quantità di composti che si comportano come copigmenti e natura del mezzo (Ribèreau-Gayon, 2021).

1.5.2 *Reazione tra tannini e proteine.*

Le principali vie, tramite le quali, i tannini legano le proteine sono legami idrogeno e interazioni idrofobiche. Le modalità con cui i tannini possono attaccare gli elementi proteici dipendono proprio dalla concentrazione di questi ultimi: se c'è bassa presenza di proteine nel liquido, i tannini vanno a disporsi in un monostrato che le ricopre interamente, diminuendo di molto la loro idrofilia; nel caso la concentrazione di proteine sia più importante, i tannini oltre alla azione sopra citata si comportano anche come leganti, favorendo l'agglomerato di più composti tannino-proteici che, superato un certo peso, sedimenteranno (Ribèreau-Gayon, 2021)

1.5.3 *Degradazione degli antociani*

Gli antociani sono molecole dalla bassa stabilità, tanto che la loro quantità libera si annulla nell'arco di qualche anno di affinamento (Martínez-Gil et al., 2022; Ribèreau-Gayon, 2021).

Nonostante ciò, il vino rimane di color rosso, soprattutto perché gli antociani rimasti non sono più in forma libera, ma per la maggior parte, si trovano in forma combinata, specialmente con i tannini (Ribèreau-Gayon, 2021). Esistono più vie per poter degradare gli antociani, ma quella più comune in fase di invecchiamento è sicuramente quella ossidativa: in presenza di luce e di ossigeno, che agiscono solo da catalizzatori, e in soluzione alcolica acida, gli antociani subiscono decolorazione in pochi giorni determinando una perdita di colore del vino.

1.5.4 *Condensazione tra antociani e tannini*

Gli antociani possono legare con i tannini, formando composti strutturalmente più complessi, dal color rosso più intenso (effetto ipercromico) e poco suscettibili a variazioni di pH o aggiunte di SO₂ del mezzo (Ribèreau-Gayon, 2021).

1.5.4.1 *Condensazione diretta*

La condensazione diretta può avvenire da parte del tannino nei confronti dell'antociano (T-A), o dall'antociano nei confronti del tannino (A-T).

Nel primo caso (condensazione T-A) si prendono in considerazione le procianidine (facenti parte della famiglia delle proantocianidine considerate, quindi, tannini condensati) e la loro elevata capacità di diventare carbocationi una volta che sono state protonate; in questo stato, i tannini sono capaci di reagire con l'antociano, andando a formare un nuovo complesso

incolore (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021). Il secondo caso (condensazione A-T) avviene per quegli antociani che si trovano nel vino in forma di catione flavilio A^+ , in questo caso sarà questa molecola a reagire con le procianidine dando vita a un composto incolore A-T; questo composto, però, può riassumere colore tramite ossigenazione, che riporta la forma A-T incolore in forme A^+T e/o AO-T, in equilibrio fra loro (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021); successivamente questa forma ossigenata e colorata può, con grande facilità, subire riarrangiamenti strutturali in modo da diventare ione xantilio, di color giallo (Li & Duan, 2019).

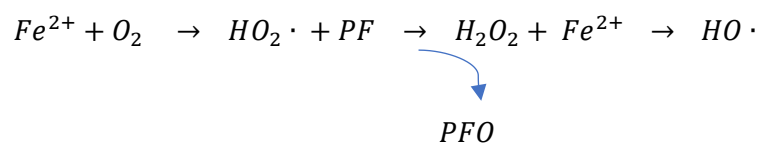
1.5.4.2 Condensazione indiretta

In mezzo acido si può creare un carbocatione dall'etanale, il quale va a reagire con alcuni tipi di flavanoli (soprattutto catechine e procianidine), creando un composto intermedio; a sua volta, questo composto intermedio è capace di reagire con gli antociani, dando vita a composti diversamente colorati in base alle condizioni del vino, variabile dal malva all'arancione (Li & Duan, 2019; Ribèreau-Gayon, 2021).

1.5.5 Meccanismi di ossidazione

L'ossigeno è uno dei composti più influenti nella modificazione del vino in tutte le sue fasi, soprattutto quella di affinamento, così importante che le botti vengono divise tra quelle ad alta trasmissione d'ossigeno (HOTR) e a bassa trasmissione d'ossigeno (LOTR), il quale può passare: attraverso il legno, negli spazi tra le doghe e attraverso il foro di cocchiame (Ribèreau-Gayon, 2021). Le reazioni di ossidazione possono avvenire per via enzimatica o non enzimatica; la prima è tipica di reazioni complesse che avvengono perlopiù nei mosti, mentre, la seconda è maggiormente presente nei vini (Li & Duan, 2019).

L'ossigeno molecolare non è una specie ossidante di particolare potenza, in quanto, per la composizione chimica del vino, sono ben pochi i composti capaci di essere ossidati direttamente, eccezion fatta per i polifenoli, che invece sono i maggiori consumatori di ossigeno (Carpena et al., 2020); per questo l'ossigeno reagisce in un primo luogo con specie autoossidanti (come alcuni metalli, per esempio) che intervengono in più reazioni che porteranno alla produzione di perossidi sempre più reattivi; questi composti, particolarmente instabili di natura, sono invece capaci di ossidare buona parte dei composti presenti all'interno del vino (Ribèreau-Gayon, 2021).



Equazione 1-1: Formazione di radicale ossidrile partendo da ossigeno molecolare

Quindi, se in un primo momento l'ossigeno, anche con la formazione di perossidi meno reattivi di altri (ad esempio HO₂), riesce a ossidare poche specie e perlopiù limitate ai polifenoli, in maniera discretamente selettiva; una volta raggiunto lo stato più instabile di radicale (HO, in questo caso), provoca ossidazione non selettiva di tutti i composti organici con cui entra in contatto, con maggior probabilità verso quelli più concentrati (Li & Duan, 2019).

Capitolo 2

VARIAZIONI DEL PROFILO POLIFENOLICO DOVUTE ALL'INVECCHIAMENTO DEL VINO IN BOTTE DI LEGNO

Tramite l'interazione dei composti chimici precedentemente descritti, durante tutto il periodo dell'affinamento il vino subisce più o meno importanti modificazioni organolettiche, soprattutto nel caso del colore e del sapore.

Questi cambiamenti vengono fortemente influenzati anche e soprattutto dalla botte, che non solo può diffondere nel mezzo diversi composti in base al suo processo di produzione, ma anche in base all'età del legno con cui è stata fabbricata (la quantità di composti fenolici è direttamente proporzionale agli anni della pianta) e l'origine geografica, in quanto l'ambiente e la tecnica di coltivazione delle querce fluiscono significativamente sul legno finito (Carpena et al., 2020).

In ogni caso, l'elemento costante che ha forte influenza sul periodo di invecchiamento del vino è l'ossigeno, che è capace di modificare i composti fenolici del legno che, con il tempo, sono stati lisciviati e passati al mezzo. La micro-ossigenazione è indispensabile per una evoluzione dei polifenoli e per l'esaltazione delle caratteristiche sensoriali del prodotto finito, ma se eccessiva si incorre in sovra-ossidazione con conseguente perdita di composti fenolici; questo avviene perché i polifenoli che già sono stati ossidati si sono trasformati, tramite polimerizzazione rigenerativa dei semi chinoni (mano a mano attaccati dall'ossigeno), in oligomeri con proprie caratteristiche organolettiche; se l'esposizione all'ossigeno dovesse diventare eccedentaria, questi oligomeri sarebbero i primi a venir incontro a reazioni di ossidazione e ripartirebbero altri processi di polimerizzazione, fino a che non si creerebbero dei polimeri dal peso molecolare talmente elevato da precipitare, perdendo così le loro caratteristiche sensoriali e protettive nei confronti di fenomeni negativi; inoltre si promuoverebbe la polimerizzazione, di altri composti fenolici, mediata da acetaldeide, che potrebbe portare nuovamente alla sedimentazione dei polifenoli, o peggio, alla torbidità del vino. (Li & Duan, 2019).

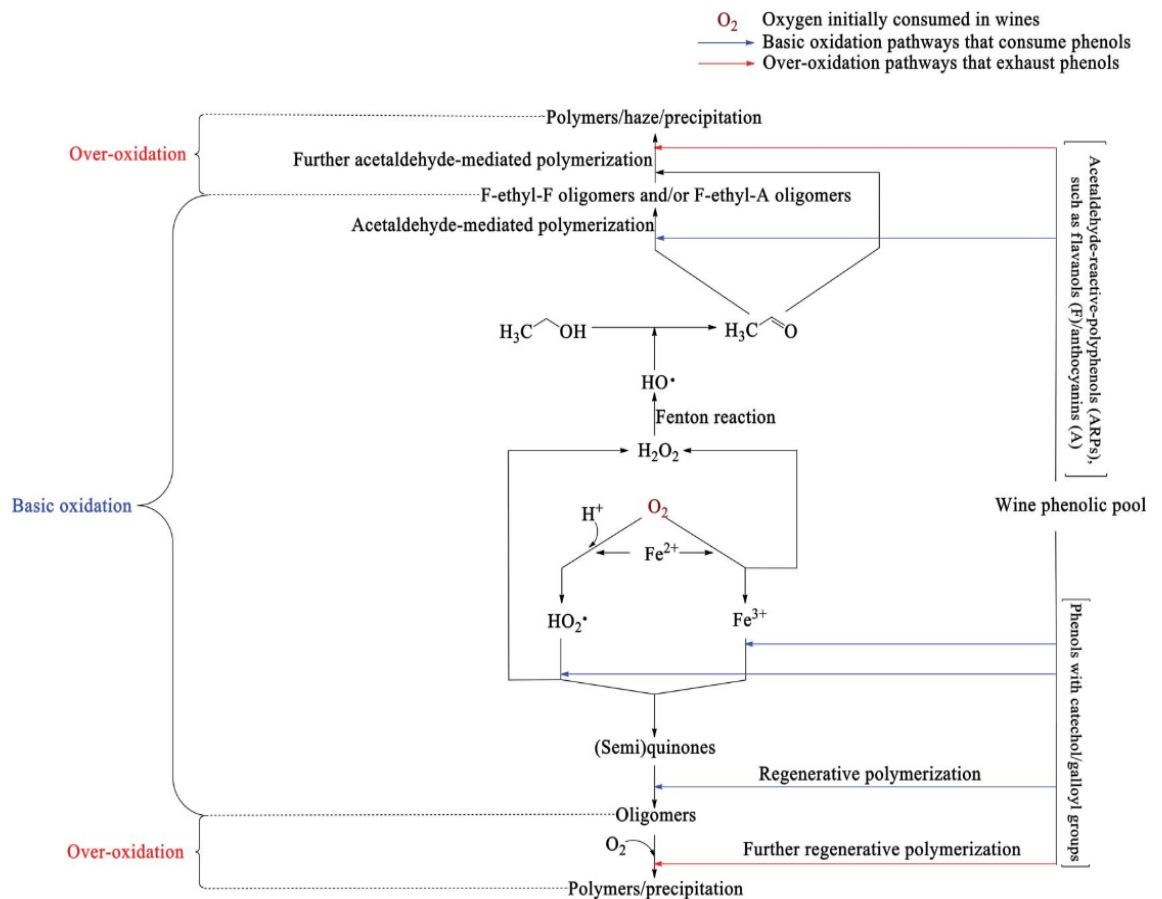


Figura 2-1: schema delle reazioni di sovra-ossidazione del vino (Li & Duan, 2019).

2.1 Variazioni del colore

Nei vini che hanno passato un periodo di affinamento si è evidenziata una perdita generale di antociani liberi (Del Fresno et al., 2020; Laqui-Estaña et al., 2019), questo soprattutto a causa del loro consumo di ossigeno, che li ha portati a sedimentare o a partecipare alla creazione di nuovi pigmenti (Gambutì et al., 2018).

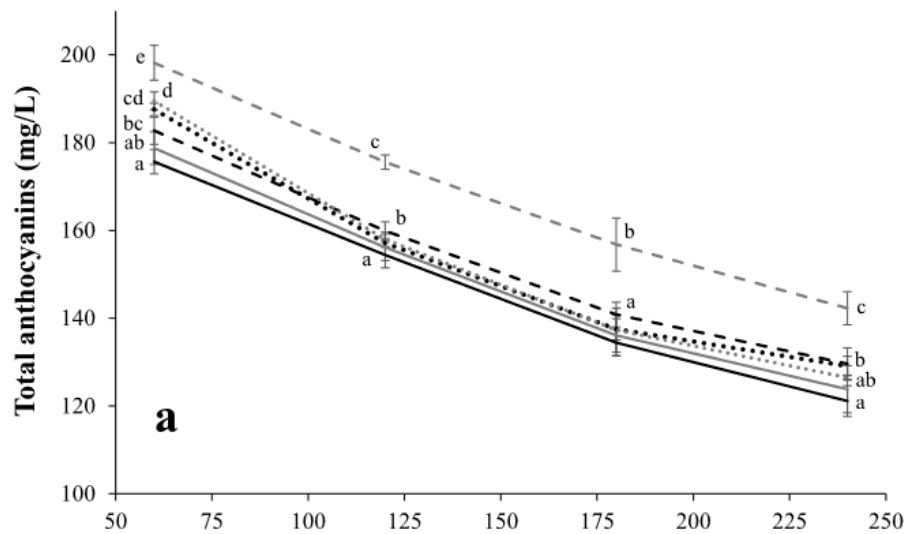


Figura 2-2: andamento delle antocianine in affinamento, misurato ogni 25 giorni (Del Fresno et al., 2020).

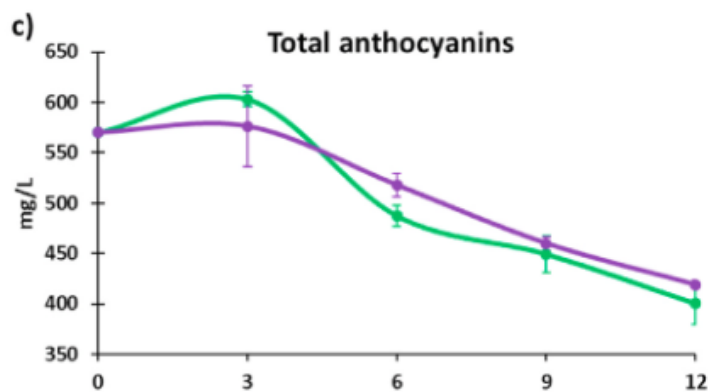


Figura 2-3: Decrescita delle antocianine in botti con alto tasso di trasmissione d'ossigeno (HOTR), linea viola, e basso tasso di trasmissione d'ossigeno (LOTR), linea verde (Martínez-Gil et al., 2022).

In generale, è stato osservato come ci sia stato un aumento della tonalità, misurata come rapporto tra il giallo (ABS 420 nm) e il rosso (ABS 520 nm), con un conseguente viraggio del colore del vino da un rosso più scuro a un giallognolo più evidente, correlatamente a un aumento della sua intensità (Del Fresno et al., 2020; Laqui-Estaña et al., 2019).

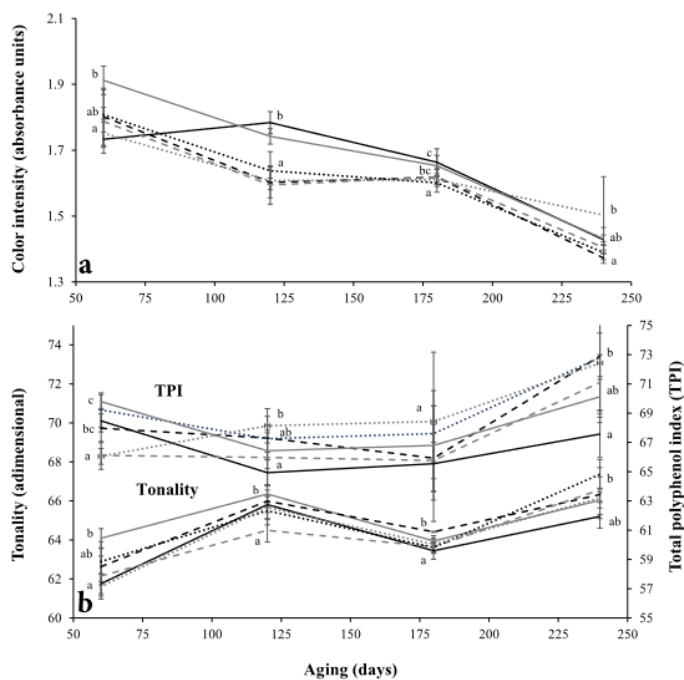


Figura 2-4: decrescita dell'assorbanza (a); aumento generalizzato della tonalità e del TPI (b) (Del Fresno et al., 2020)

La formazione di questi pigmenti rilevanti, dal colore aranciato, è imputata all'ossidazione degli antociani.

Infine, secondo alcuni studi, nella maggior parte degli studi condotti su vini invecchiati, è stato riportato un aumento significativo dei pigmenti polimerici, fino al 45% (Gambutì et al., 2018), dimostrando come, in fase di affinamento, le reazioni di polimerizzazione comportino modifiche rilevanti nel mezzo, dando luogo a pigmenti molto più stabili, come proantocianidine (Del Fresno et al., 2020).

2.2 Variazione del profilo aromatico

Le modificazioni più d'impatto sono quelle legate al sapore, essendo anche le più variabili in base alla tipologia di botte utilizzata; questo avviene sia per uno scambio di tannini tra vino e legno, sia per una lisciviazione e cessione di sostanze aromatiche dal legno e che passano al vino.

In generale, si nota una perdita di astringenza nei vini invecchiati, dovuta a una graduale perdita di tannini precipitabili con le proteine, che legano con l'ossigeno e formano composti

dal peso molecolare sempre più elevato, con loro conseguente precipitazione (Gambutì et al., 2018).

Nonostante ciò, si evidenzia un graduale aumento del TPI, dovuto alla cessione dei polifenoli da parte del legno che però non corrisponde a un aumento di astringenza; al contrario, è stata riscontrata una maggior morbidezza dei vini dovuta proprio a causa della polimerizzazione di tannini condensati (Del Fresno et al., 2020; Gambuti et al., 2018).

Per quanto riguarda l'evoluzione dei fenoli volatili e dei composti furanici, anche qui c'è un loro aumento per cessione da parte della botte, soprattutto quelle tostate (che si presentano più ricche in questi composti, formati dalla rottura di cellulosa e lignina in tostatura), nei primi mesi di affinamento; dopodiché, procedendo con l'invecchiamento in botte si ha una loro decrescita (Del Fresno et al., 2020). Questo andamento spiega come mai, determinati sentori di affumicato (descrittore del guaiacolo), per esempio, siano percepibili dai sensi umani solo per vini che hanno fatto un invecchiamento non troppo lungo.

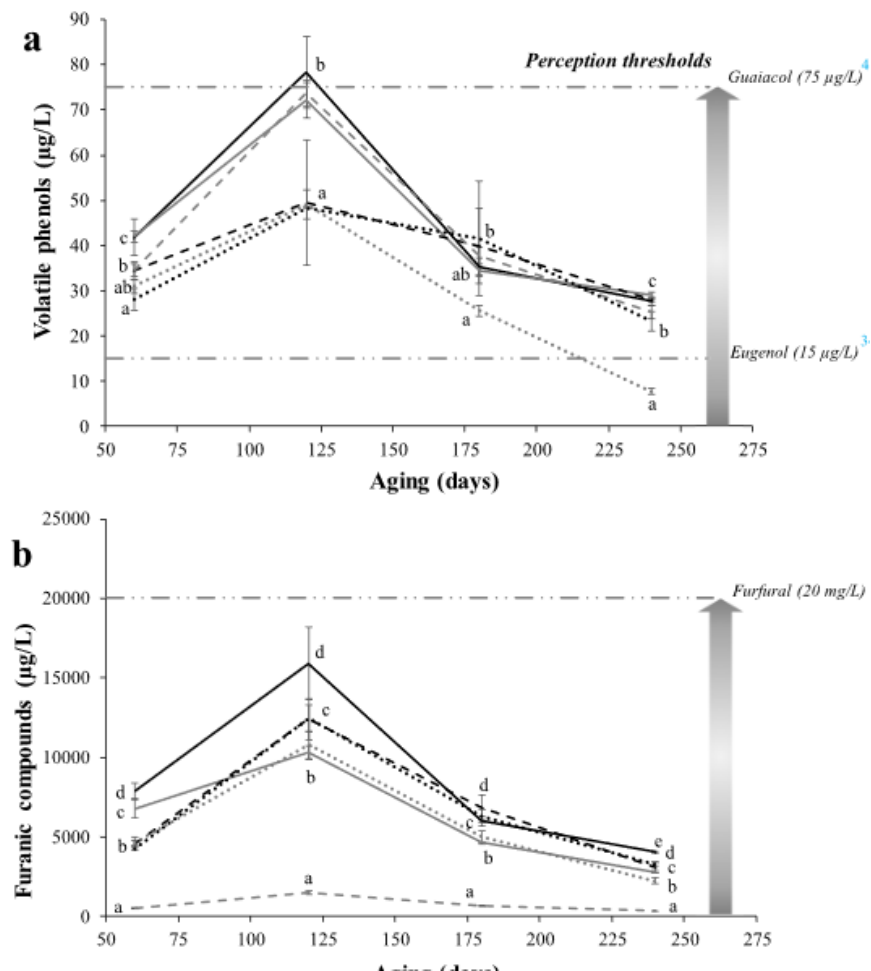


Figura 2-5: evoluzione dei fenoli volatili in affinamento (a); evoluzione dei composti furanici in affinamento (b) (Del Fresno et al., 2020).

L'intensità con cui è stata condotta la tostatura è strettamente correlata con l'estraibilità e il trasferimento dei fenoli volatili; questi valori vanno poi a decrescere mano a mano che si fa uso della botte (Del Fresno et al., 2020).

Anche l'estrazione e la presenza di lattoni (come il Whiskey-lattone), è stata osservata aumentare in maniera più o meno progressiva, rilevandone una quantità apprezzabile dopo poco più di 100 giorni di invecchiamento, per poi andare a decrescere mano a mano che l'affinamento in legno continuava (Del Fresno et al., 2020).

Al contrario, l'andamento delle aldeidi fenoliche (soprattutto vanillina e siringaldeide, o derivati), aumenta in maniera piuttosto lineare con l'andare avanti dell'affinamento (Del Fresno et al., 2020).

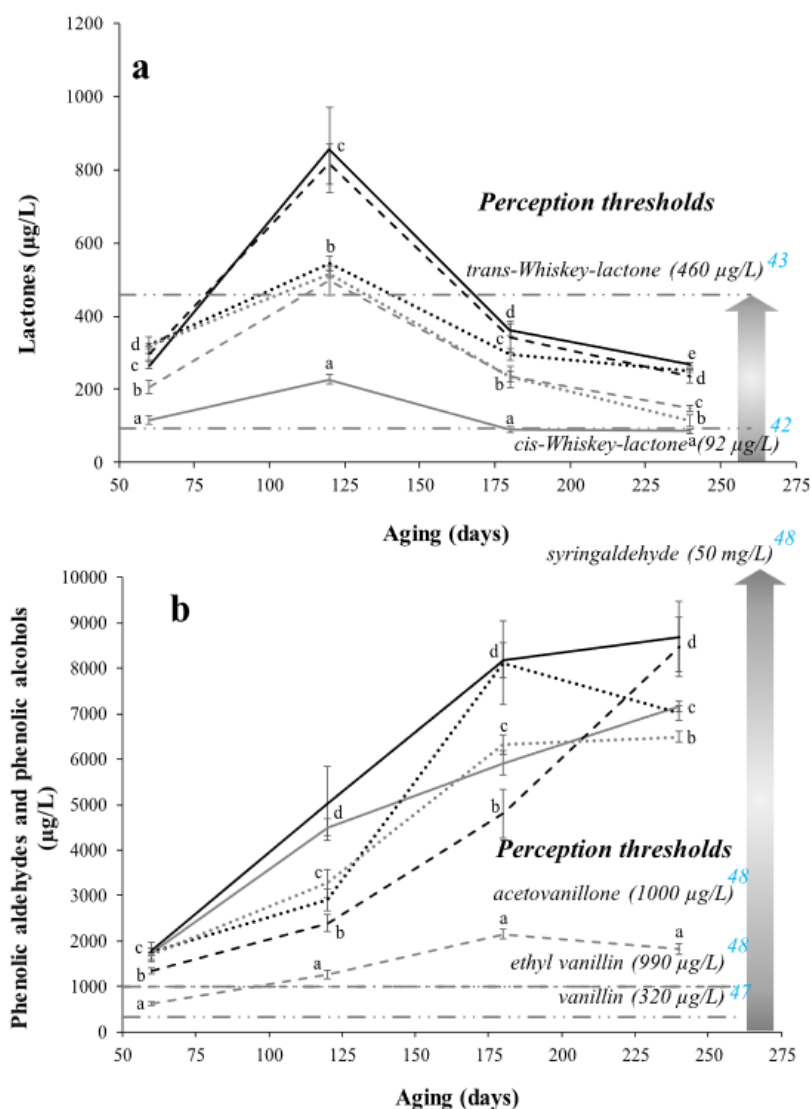


Figura 2-6: evoluzione dei lattoni in affinamento (a); evoluzione delle aldeidi fenoliche in affinamento (b) (Del Fresno et al., 2020).

Al contrario dell'andamento dei fenoli volatili, non è stata riscontrata una correlazione tra livello di tostatura e rilascio di lattoni, però è stato osservato come, all'aumentare del contenuto di fenoli volatili nei vini ci sia un riduzione di estrazione di composti furanici e aldeidi fenoliche (Del Fresno et al., 2020)

CONCLUSIONI

In termini generali, l'invecchiamento del vino in serbatoi di legno può provocare sentori e caratteristiche organolettiche diversi fra loro, che però si possono riassumere con: diminuzione dell'astringenza e modificazione della stessa con una più matura e meno acerba; viraggio del colore verso una tonalità più vicina al giallo per polimerizzazione e ossidazione dei composti antocianici, e una acquisizione di morbidezza con aromi più delicati.

L'affinamento del vino richiede una conoscenza piuttosto approfondita del materiale che si sta lavorando e del prodotto finito che si vuole ottenere, in quanto, non tutti i vini sono adatti e/o richiedono un periodo di invecchiamento, ma quando è vero il contrario bisogna allora tener conto che vini diversi richiedono tempi di affinamento diversi, proprio in ragione del fatto che bisogna già sapere che tipo di vino finito è desiderabile ottenere, in base a ciò che si vuole che il legno ceda o meno al liquido.

Quando le scelte che si fanno, in termini di materiale da utilizzare e metodi da adottare, si rivelano adeguate al prodotto che si sta lavorando, l'invecchiamento in legno conferisce al vino un'impronta sensoriale nettamente distinta e organoletticamente superiore, ottenendo, così, un prodotto equilibrato e con una varietà di aromi armoniosi.

Tale è l'obiettivo di questa operazione.

BIBLIOGRAFIA

- Carpena, M., Pereira, A. G., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Wine Aging Technology: Fundamental Role of Wood Barrels. *Foods*, 9(9), 1160. <https://doi.org/10.3390/foods9091160>
- Del Fresno, J. M., Morata, A., Loira, I., Escott, C., & Suárez Lepe, J. A. (2020). Evolution of the Phenolic Fraction and Aromatic Profile of Red Wines Aged in Oak Barrels. *ACS Omega*, 5(13), 7235–7243. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03854>
- Deshaies, S., Garcia, F., Suc, L., Saucier, C., & Mouls, L. (2022). Study of the oxidative evolution of tannins during Syrah red wines ageing by tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 385, 132538. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132538>
- Gambutì, A., Picariello, L., Rinaldi, A., & Moio, L. (2018). Evolution of Sangiovese Wines With Varied Tannin and Anthocyanin Ratios During Oxidative Aging. *Frontiers in Chemistry*, 6, 63. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00063>
- Guld, Zs., Rácz, A., Tima, H., Kállay, M., & Sárdy, D. N. (2019). Effects of aging in oak barrels on the *trans*-resveratrol and anthocyanin concentration of red wines from Hungary. *Acta Alimentaria*, 48(3), 349–357. <https://doi.org/10.1556/066.2019.0004>
- Laqui-Estaña, J., López-Solís, R., Peña-Neira, Á., Medel-Marabolí, M., & Obreque-Slier, E. (2019). Wines in contact with oak wood: The impact of the variety (Carménère and Cabernet Sauvignon), format (barrels, chips and staves), and aging time on the phenolic composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 436–448. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9205>

- Li, S.-Y., & Duan, C.-Q. (2019). Astringency, bitterness and color changes in dry red wines before and during oak barrel aging: An updated phenolic perspective review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(12), 1840–1867. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762>
- Martínez-Gil, A., Del Alamo-Sanza, M., & Nevares, I. (2022). Evolution of red wine in oak barrels with different oxygen transmission rates. Phenolic compounds and colour. *LWT*, 158, 113133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113133>
- Ribèreau-Gayon, P. (2021). *Traité d'oenologie. 2. Chimie du vin—Stabilisation et traitements* (4^a ed., Vol. 2). Edagricole.
- Zhang, B., Cai, J., Duan, C.-Q., Reeves, M., & He, F. (2015). A Review of Polyphenolics in Oak Woods. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 6978–7014. <https://doi.org/10.3390/ijms16046978>