



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

INFLUENZA DELL’AFFINAMENTO SULL’AROMA DI VINI MERLOT

TESI Sperimentale

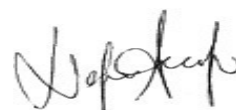
Studente:
TOMMASO VAGNINI



Relatore:
PROF.SSA DEBORAH PACETTI



Correlatore:
DOTT.SSA ANCUTA NARTEA



ANNO ACCADEMICO 2020-2021

*Con Affetto
A mia sorella Benedetta.
Ai miei genitori Fabrizio e Federica*

SOMMARIO

SOMMARIO	3
ELENCO DELLE TABELLE	5
ELENCO DELLE FIGURE	6
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	7
CAPITOLO 1 LE SOSTANZE AROMATICHE NEL VINO.....	8
1.1 Gli aromi primari.....	10
1.1.1 I composti terpenici	10
1.1.2 I norisoprenoidi	13
1.1.3 Metossipirazine	15
1.1.4 I composti solforati che possiedono una funzione tiolica	16
1.1.5 L'evoluzione dell'aroma nel corso della maturazione dell'uva e l'influenza di alcune pratiche viticole	18
1.2 Aromi secondari.....	20
1.2.1 La formazione degli alcoli superiori e degli esteri.....	21
1.2.2 Alcoli superiori	23
1.2.3 Acetaldeide	24
1.2.4 Acetoino e 2,3-butandiolo	25
1.2.5 Acetato di etile	26
1.3 Gli aromi terziari	28
1.3.1 I lattoni.....	30
1.3.2 La dissoluzione dei costituenti non volatili del legno	31
1.3.3 La dissoluzione dei costituenti volatili del legno.....	32
CAPITOLO 2 AFFINAMENTO DEL VINO: DOVE AVVIENE E COME INFLUISCE SUL PRODOTTO FINALE	34
2.1 Operazioni che si eseguono durante l'affinamento e come queste influenzano il prodotto finale.....	36
2.2 Affinamento in acciaio	38
2.3 Affinamento in cemento e in anfora	39

2.4 Affinamento in legno	41
CAPITOLO 3 LA SPERIMENTAZIONE: MATERIALI E METODI UTILIZZATI....	45
3.1 Campionamento e analisi parametri qualitativi dei vini	46
3.1.1 Determinazione glucosio-fruttosio	46
3.1.2 Determinazione del pH	47
3.1.3 Determinazione dei polifenoli e degli antociani.....	48
3.2 Determinazione delle sostanze volatili: tecnica GC-MS-SPME.....	52
CAPITOLO 4: RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE, ANALISI E CONFRONTI DEI RISULTATI OTTENUTI	56
4.1 pH	56
4.2 Glucosio- fruttosio	57
4.3 Antociani.....	57
4.4 Polifenoli.....	58
4.5 Sostanze volatili	59
CONCLUSIONI.....	64
BIBLIOGRAFIA	65
SITOGRAFIA.....	68

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Lieviti e prodotti secondari.....	20
Tabella 2: Componenti aromi terziari.....	29
Tabella 3: Sostanze aromatiche che rilascia il legno.....	44
Tabella 4: Risultati sperimentali pH.....	56
Tabella 5: Risultati sperimentali glucosio/fruttosio.....	57
Tabella 6: Risultati sperimentali antociani.....	57
Tabella 7: Risultati sperimentali polifenoli.....	58
Tabella 8: Analisi gascromatografiche con aree e RSD%.....	60

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Alcoli monoterpici	11
Figura 2: Attività enzimatica di un lievito	13
Figura 3: Esempi di norisoprenoidi	13
Figura 4: Principali metossipirazine	15
Figura 5: Struttura chimica delle metossipirazine.....	15
Figura 6: Esempi di mercaptani.....	17
Figura 7: Formazione degli alcoli superiori a partire dagli amminoacidi (reaz. Ehrlich)...21	
Figura 8: Produzione dei composti da parte dei vari tipi di lieviti (sopra) - produzione di sostanze aromatiche di diversi ceppi di lievito (sotto)	27
Figura 9: Esempi di lattoni	30
Figura 10: γ -butirrolattone.....	31
Figura 11: Schema della vinificazione.....	35
Figura 12: Serbatoi in acciaio	38
Figura 13: Serbatoi in cemento.....	39
Figura 14: Anfora.....	40
Figura 15: Serbatoio in legno stagionato/essiccato - Barrique	42
Figura 16: Spettrofotometro Varian Cary 5000	47
Figura 17: Misurazione del pH, con strumento portatile.....	48
Figura 18: Kit enzimatico e campioni di vino.....	48
Figura 19: Agitatore vortex e dispositivo di riscaldamento	49
Figura 20: Estrazione in fase solida, SPME, inserito in un GC-MS.....	52
Figura 21: Gascromatografo e rilevatore di massa.....	53
Figura 22: Esempio gascromatogramma	54

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Il Merlot è un vitigno internazionale, coltivato in più di 35 paesi del mondo e per una superficie di 266 mila ettari (circa la metà solo in Francia).

Il Merlot è definito un vitigno “semi-aromatico”, e dalle sue uve si ricavano differenti vini, con differenti denominazioni, fasce di mercato e prezzi.

Il Merlot è un vitigno molto versatile che si adatta bene a produrre vini di annata, da quelli che si trovano a pochi euro sugli scaffali di tutti i supermercati, fino ad arrivare ai più famosi vini delle zone del Pomerol in Francia (la Tache) o del nostro paese, tra cui il celebre Masseto che arriva a costare in alcune annate anche più di mille euro a bottiglia.

Date le spiccate qualità aromatiche delle uve Merlot, lo scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di capire come differenti metodi di affinamento e maturazione del vino influenzano lo sviluppo di aroma terziario del vino prodotto da uve 100 % Merlot.

Le differenti tecniche di affinamento prese in considerazione sono state rispettivamente: acciaio, legno tostato (Barrique, Tonneau), e legno stagionato.

I vini analizzati sono stati campionati in tre cantine diverse, due localizzate nella Regione Marche ed una in Abruzzo.

Il vino derivante dalla maturazione in acciaio è un IGT Terre di Chieti campionato presso un supermercato, quello derivante dalle maturazioni in botte di legno stagionato è stato preso presso la Tenuta Santi Giacomo e Filippo in Urbino (PU), mentre quello derivante da maturazione in barrique è stato preso presso la cantina “La Monacesca” in Matelica (MC).

Sui vini campionati sono stati determinati:

- pH
- Antociani
- Polifenoli totali
- Glucosio/fruttosio
- Profilo delle sostanze volatili

Capitolo 1

LE SOSTANZE AROMATICHE NEL VINO

Le sostanze volatili sono quelle percepite e captate dal nostro sistema olfattivo per la loro bassa tensione di vapore e quindi alta volatilità. Ognuna di esse ha una sua soglia di percezione (dove la sua presenza viene individuata da almeno un 50% di assaggiatori definiti panel), può essere espressa in mg/l, µg/l, oppure ng/l. Non è detto che le sostanze più concentrate siano più avvertite rispetto a quelle meno concentrate, perché potrebbero trovarsi sotto la loro soglia di percezione.

La soglia di percezione è influenzata da diversi fattori: il vitigno, il clima, il terreno, i trattamenti effettuati, i processi fermentativi ed infine le tecniche e modalità di affinamento, maturazione e conservazione del vino.

Ogni vino ha il suo profilo sensoriale (grafico radar), in base al quale si possono distinguere vitigni autoctoni da quelli internazionali. I vitigni autoctoni naturalizzati e adattati nel tempo a quell'ambiente hanno un profilo sensoriale inimitabile fuori da quel territorio: esempi delle nostre zone sono il Verdicchio, la Lacrima di Morro d'Alba e la Vernaccia di Serrapetrona. Invece altri vitigni denominati internazionali hanno un profilo sensoriale simile e imitabile in qualsiasi altro posto dove sono coltivati: questi vitigni sono ad esempio Chardonnay, Sauvignon, Syrah, Cabernet e Merlot.

A loro volta le uve in base alla loro varietà si distingueranno in uve derivanti da vitigni denominati *aromatici* (Moscato, Malvasia, Brachetto, Gewürztraminer), *semi aromatici* (Merlot, Cabernet, Sauvignon, Riesling, Glera) e *neutri* (Trebbiano, Sangiovese, Montepulciano).

Gli aromi o sentori del vino possono essere diversi: ci sono gli aromi *primari* che sono quelli derivanti dalle uve aromatiche e semi aromatiche, quindi influenzate da quelle che sono le varietà di uve utilizzate e appunto chiamati anche *aromi varietali*. Questi non sempre sono percepibili nell'uva in quanto presenti come precursori non odorosi, verranno poi liberati durante la fermentazione e invecchiamento del vino. Le molecole riconducibili all'aroma primario o varietale sono i terpeni, norisoprenoidi, metossipirazine e i composti tiolici.

Gli aromi *secondari* sono quelli fermentativi, che si sviluppano durante la fermentazione alcolica e sono riconducibili alla scelta del ceppo di lievito.

Queste sostanze odorose provengono dal metabolismo azotato e lipidico dei lieviti: per esempio dalla degradazione degli amminoacidi si sviluppano alcoli superiori molto importanti nel vino bianco, che danno sentori fruttati (pesca, banana, mela) e floreali (viola, frutti gialli e frutti rossi).

Infine, l'aroma post-fermentativo o *terziario*, che è quello che si sviluppa durante l'affinamento, maturazione e invecchiamento del vino. Queste fasi coinvolgono reazioni di idrolisi, esterificazione, riduzioni, ossidazioni ecc, delle sostanze aromatiche già presenti, arricchendo o diminuendo la loro percezione. Gli aromi secondari fruttati, che sono poco persistenti, vengono idrolizzati e vanno a svanire, invece altri aromi, come quelli derivanti da affinamenti in legno, vengono a predominare su tutti gli altri.

I diversi tipi di affinamento possono quindi conferire diversi aromi e sentori al vino finale, sia in vini bianchi sia in vini rossi: ad esempio nei vini rossi d'annata, che fanno un breve affinamento in acciaio, gli aromi prevalenti sono soprattutto i primari e secondari, mentre i terziari, avendo una maturazione molto breve, non si sviluppano.

Situazione differente invece per quei vini che subiscono maturazione e invecchiamento in legno: questo può essere stagionato o tostato. Gli aromi della tostatura (bruciatura con fiamma accesa nella parte interna della botte) derivano da affinamento in barrique o tonneau e sono quegli aromi riconducibili ai sentori di spezia, affumicato, legno, vaniglia. Tutti questi sono sentori tipici della tostatura che può essere più o meno intensa. Nel caso invece degli affinamenti in legno stagionato, le doghe vengono stagionate un anno per ogni centimetro di spessore: questa non dona aromi particolari ma li ammorbidisce, dando al vino quella rotondità e armonicità organolettica. Questi sono affinamenti caratterizzanti i vini Brunello di Montalcino, Barolo, Vino Nobile di Montepulciano, dove non si devono riconoscere gli aromi e sentori tipici di barrique.

Lo stesso vale nei vini bianchi, che possono sostare più o meno tempo in acciaio: l'affinamento sulle fecce fini in alcuni tipi di vitigni, come ad esempio il Verdicchio, possono sviluppare alcuni sentori tipici dell'invecchiamento sulle fecce, come ad esempio la pietra focaia.

L'insieme delle sensazioni olfattive, delle sostanze volatili e dell'aroma del vino viene definito *bouquet*.

1.1 Gli aromi primari

Si definiscono aromi *primari o varietali* quelli derivanti direttamente dalle varietà di uve utilizzate, soprattutto quelli derivanti dalle uve di tipo aromatico come il Moscato e di tipo semi aromatico. Ad esempio, per il Merlot, l'aroma primario caratteristico è il lampone, mirtillo e more.

Queste sono contenute nella buccia e nella polpa dell'acino e il loro contenuto è influenzato in modo sensibile dall'ambiente e dalle condizioni pedoclimatiche. In alcuni casi si parla anche di aroma pre-fermentativo, associato sempre agli aromi primari, ma che è dovuto a composti che si liberano in seguito alla lavorazione: tecniche di raccolta e di pressatura. Ad esempio, la raccolta meccanica accentua gli odori erbacei dovuti alla lacerazione dell'acino e dei raspi e conseguente estrazione di clorofilla, oppure nei vini bianchi tecniche diverse d'illimpidimento dei mosti possono variare il quantitativo di queste sostanze. Flottazioni spinte diminuiscono il contenuto di aminoacidi. In generale più si tende ad asportare feccia più si eliminano sostanze aromatiche e precursori aromatici.

Nei vini rossi invece la macerazione, che consiste nel contatto delle bucce con il mosto, favorisce l'estrazione di composti aromatici derivanti dalla buccia e della polpa che danno il sentore di erbaceo e floreale, questi sono più marcati tanto più è duratura la macerazione. Tutti questi aromi definiti pre-fermentativi fanno riferimento sempre agli aromi primari dell'uva.

I composti odorosi dell'uve di *Vitis Vinifera* appartengono principalmente alla classe dei terpeni. Questi sono presenti sia nelle uve definite aromatiche sia in quelle definite a sapore semplice e inoltre si possono trovare in forma libera e sotto forma di precursori inodori nella forma glicosilata, cioè legati a zuccheri a formare un precursore non volatile e non aromatico. Per liberare questi ultimi alcune aziende produttrici di lievito hanno messo in commercio alcuni tipi di lieviti con attività β -glucosidica, definiti anche lieviti tiolici.

Altri composti che intervengono negli aromi primari e varietali sono ad esempio i norisoprenoidi, anche loro in forma libera o glicosilata, e derivano dalla degradazione chimica o enzimatica dei carotenoidi dell'uva. Altri composti sono le metossipirazine responsabili del sentore erbaceo: non si conoscono i precursori di questi composti nell'uva e si è visto che in vitigni come il Sauvignon essi contribuiscono all'aroma dei composti solforati.

I vini caratterizzati da questi aromi sono tantissimi, ogni vitigno ha i suoi aromi caratteristici: ad esempio il peperone verde del Sauvignon, i frutti di bosco del Pinot Noir, il pepe nel Syrah, la ciliegia nel Sangiovese, la viola nel Nebbiolo e infine i sentori erbacei nel Merlot.

1.1.1 I composti terpenici

I composti terpenici sono una grande famiglia di circa 4000 composti.

I terpeni sono costituiti da unità isopreniche, con unità di carbonio sempre multipli di 5. I

composti odorosi sono i monoterpeni (formati da 10 atomi di carbonio) ed i sesquiterpeni (formati da 15 atomi di carbonio).

All'interno della classe dei terpeni, il maggiore effetto sensoriale è esercitato dagli alcoli monoterpenici o monoterpenoli (*Figura 1*) e sono responsabili dell'aroma floreale del vino e dei sentori di rosa, gelsomino, fiori d'arancio e giglio. Derivanti dai vitigni: Brachetto, Moscato, Malvasia, Gewuztraminer, Tokay.

Nell'uva i composti terpenici presenti sono circa una quarantina, che appartengono quasi tutti alla classe degli alcoli monoterpenici e in particolare sono il linalolo, l' α -terpineolo, il geraniolo, il nerolo e il citronellolo.

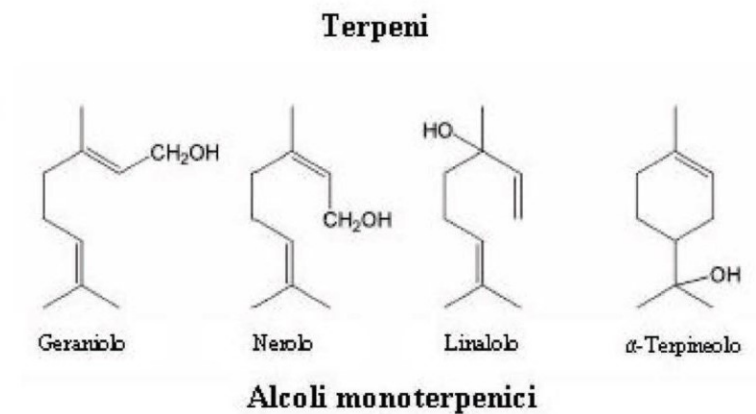


Figura 1: Alcoli monoterpenici (da sito web <https://vinoeviticultura.altervista.org/gli-aromi-varietali/>)

Le soglie di percezione di questi composti sono molto basse, comprese tra qualche decina e qualche centinaio di $\mu\text{g/L}$, e giocano un ruolo importante nei vini di tipo Moscato, dove la loro concentrazione è maggiore della soglia di percezione. Di tutti gli alcoli monoterpenici i più profumati sono il citronellolo e il linalolo.

Il contenuto in monoterpenoli nei vini derivanti da vitigni a sapore semplice come Sauvignon, Syrah, Cabernet, Merlot sono generalmente inferiori alla loro soglia di percezione.

Il contenuto di alcoli monoterpenici varia a seconda di molte condizioni, come ad esempio la varietà, le condizioni climatiche ma soprattutto lo stato sanitario delle uve, in quanto ad esempio la *Botrytis Cinerea* può modificare la composizione terpenica dell'uva poiché porta alla degradazione dei principali alcoli terpenici.

I monoterpenoli si trovano nelle uve in forma libera o in forma glicosilata, legati a zuccheri per formare un precursore non volatile.

I monoterpenoli possono trovarsi anche in forma libera quindi non glicosidata e non legata a zuccheri.

I glicosidi terpenici nell'uva sono concentrati in modo diverso. La buccia è più ricca in monoterpenoli liberi, e la composizione in terpenoli liberi varia sensibilmente: è diversa nelle varie parti dell'acino (ad esempio il geraniolo e il nerolo sono più abbondanti nella buccia rispetto alla polpa e al succo). Invece i terpenoli legati sono presenti in quantità pressoché simile nelle differenti parti dell'acino. Il rapporto tra liberi e legati dipende dalla varietà: in quelle neutre, la concentrazione dei precursori non aromatici è maggiore da 3 a 10 volte rispetto alla concentrazione degli aromi in forma libera, però la concentrazione di queste sostanze aromatiche è più alta nelle uve aromatiche rispetto a quelle neutre.

Esistono particolari enzimi con attività β -glucosidasi, che sono presenti nell'uva, capaci di liberare terpenoli odorosi a partire dalle loro forme eterosidiche.

I diversi enzimi operano soprattutto un'idrolisi enzimatica, in modo sequenziale, con differente intervento di due tipi differenti di glicosidasi.

Nella prima fase interviene una *eso*-glicosidasi che scinde il legame glicosidico tra i due zuccheri, liberando uno zucchero e il terpenil-glucoside, su cui agisce poi la β -glucosidasi che libera il monoterpenolo odoroso (*Figura 2*).

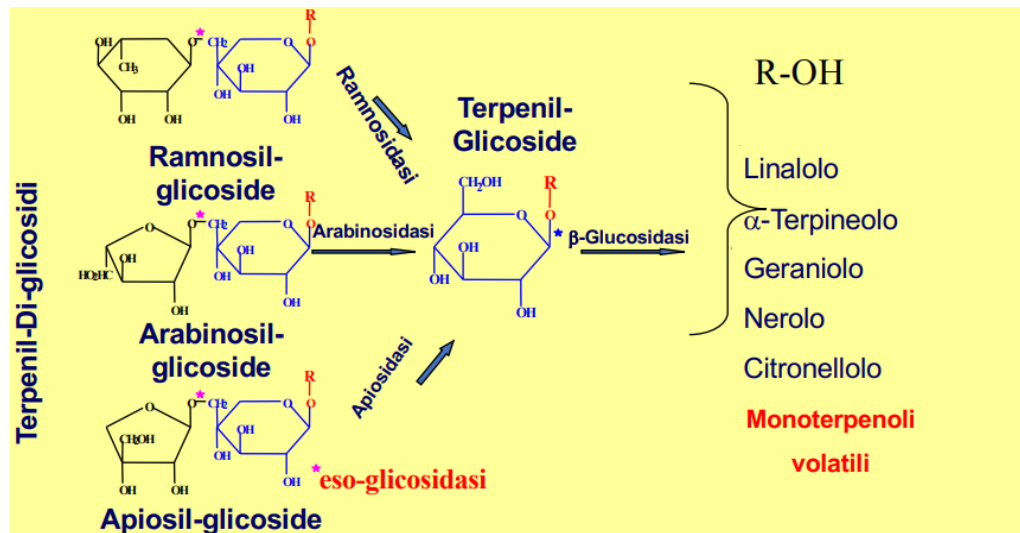


Figura 2: Attività enzimatica di un lievito

L'uso delle forme fungine di β -glucosidasi rafforza in modo incontestabile l'aroma dei vini giovani derivanti da varietà aromatiche ma per quanto riguarda le varietà a sapore semplice l'uso di preparati glicosidasi è più limitato in quanto non tutti i precursori aromatici sono glicosilati.

1.1.2 I norisoprenoidi

I norisoprenoidi (*Figura 3*) sono composti volatili di origine primaria presenti nell'uva. Questi composti derivano dalla degradazione ossidativa dei carotenoidi ed appartengono alla famiglia dei terpeni a 40 atomi di carbonio. La degradazione ossidativa porta all'origine di composti a 9, 10, 11 e 13 atomi di carbonio, (Enzel, 1985) in particolare questi ultimi sono quelli che presentano caratteristiche odorose interessanti (Demole et al. 1970). Da un punto di vista chimico si distinguono due principali gruppi di composti: i megastigmani e i non megastigmani.

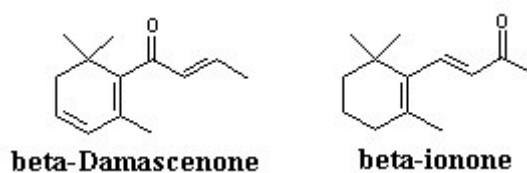


Figura 3: Esempi di norisoprenoidi (da sito web <https://vinoeviticoltura.altervista.org/gli-aromi-varietali/>)

In questi composti, il β -damascenone da odore caratteristico di fiori, frutti esotici e di mele, anche se ha una soglia di percezione molto bassa in acqua e bassa in soluzione modello.

La soglia di riconoscimento nei vini rossi è di 5000 ng/l ed è stato identificato nelle varietà Riesling, Scheurebe e Moscato (Schreier et al 1983), ma esistono anche in tutti i vitigni. (Sefton et al., 1993).

La concentrazione in β -damascenone dei vini bianchi e rossi è estremamente variabile, si ritiene però che il suo impatto olfattivo sia importante in certi vini: infatti il valore riscontrato in alcuni vini rossi è più importante di quello riscontrato in certi vini bianchi secchi, però è molto elevato in quelli che sono i vini dolci naturali ottenuti da varietà di tipo moscato.

Si riporta però che mediamente varietà come Merlot, Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc, non presentano differenze significative.

Il β -ionone, composto caratteristico di violetta, possiede una soglia di percezione di 120 ng/l nell'acqua e di 800 ng/L in soluzione idroalcolica modello, e la sua soglia di riconoscimento nei vini è di 1,5 μ g/l. Esso è stato identificato nelle uve di diversi vitigni bianchi (Schreier et al., 1976) e, come il β -damascenone, è presente in tutti i vitigni.

Il contributo aromatico del β -ionone è significativo nei vini rossi. La sua concentrazione è ancora più variabile di quella del β -damascenone e non sembra influenzata dal vitigno.

Ci sono altri norisoprenoidi identificati nel vino come ad esempio il 3-oxo- α -ionolo (tabacco), il 3-idrossi- β .damascone (tè e tabacco) e infine il β -damascone (tabacco e fruttato).

L'impatto olfattivo di questi composti è trascurabile (per le alte soglie di percezione), anche se sono contenuti a volte in quantità molto alte nel vino.

I non megastigmani sono sempre norisoprenoidi a tredici atomi di carbonio ed anche questi contengono alcuni composti molto odorosi come ad esempio il TDN (1,1-6-trimetil-1,2-diidronaftalene). (Simpson, 1978).

Generalmente il TDN è assente nell'uva e nei vini giovani, questo si può formare nel corso dell'invecchiamento in bottiglia, fino a raggiungere tenori di 200 μ g/l, ed è un difetto per il vino in quanto la sua soglia di percezione è di circa 20 μ g/l.

Altri composti della stessa famiglia sono ad esempio gli actinidoli e i vitispirani. Questi posseggono odore caratteristico di canfora; certi norisoprenoidi non megastigmani derivano dalla trasformazione "acido-catalizzata" dei megastigmani (Sefton et al., 1989), le sostanze che si formano da questa reazione possono sviluppare difetti odorosi, come quello ad esempio di canfora, se invecchiati per troppo tempo. Nell'uva i norisoprenoidi si trovano in forma glicosilata (glicosidi) o sotto forma di carotenoidi, quindi sotto forma di precursori non aromatici, così come i monoterpeni ecc... (Skouroumounis e Winterhalter, 1984).

I glicosidi dei norisoprenoidi sono dei monoglucosidi a tutti gli effetti, e non sono idrolizzati dalle glucosidasi dell'uva ma da glicosidasi fungine esogene; per questo i composti odorosi liberati sono poco accentuati e poco odorosi.

1.1.3 Metossipirazine

Le metossipirazine (Figura 4, Figura 5) sono composti eterociclici azotati provenienti dal metabolismo degli amminoacidi. Le principali sono la 2 metossi-3-isopropilpirazina, la 2-metossi-3-secbutilpirazina e la 2-metossi-3-isobutilpirazina. Tutte queste possiedono un aroma vegetale di asparago, peperone e note terrose; queste sostanze sono dotate di una soglia olfattiva molto bassa.

Pirazine	Soglia di percezione olfattiva in acqua (ng/L)	Descrittori
2-metossi-3-isobutil	2	Peperone verde
2-metossi-3-isopropil	2	Peperone verde, terroso
2-metossi-3-secbutil	1	Peperone verde
2-metossi-3-etil	400	Peperone verde, terroso

Figura 4: Principali metossipirazine (da Trattato di enologia, Ribéreau – Gayon, 2017, Edagricole)

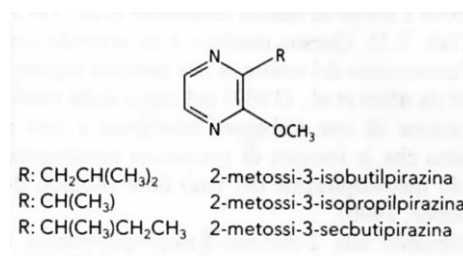


Figura 5: Struttura chimica delle metossipirazine (da Trattato di enologia, Ribéreau – Gayon, 2017, Edagricole)

Ad esempio, la 2-metossi-3-isobutilpirazina è stata identificata in numerosi vegetali per la prima volta da Bayonove et al., (1975), trovata nell'uva di varietà Cabernet Sauvignon, ed essa possiede note aromatiche di peperone verde, pisello e patata (Buttery et al., 1969) (Maga, 1989). La 2-metossi-3-isobutilpirazina e le altre pirazine sono state identificate anche nelle uve e nei vini di numerose varietà come ad esempio il Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Pinot grigio, Gewürztraminer, Chardonnay, Riesling) (Augustyn et al., 1982; Allen et al., 1994). Il quantitativo di questi composti però supera la soglia di percezione solo nelle uve e nei vini derivanti da uve Sauvignon, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc e a volte pure il

Merlot che possono presentare questi caratteri aromatici erbacei soprattutto dalle uve che sono state raccolte a maturazione fenolica e tecnologica non ancora presente. La 2-metossi-3-isobutilpirazina si trova in parti differenti nell'acino. Secondo studi eseguiti da Bayonove et al., 1975, questa sostanza si trova nella buccia, infatti da esperimenti registrati da Allen et al., (1989), nel corso di una vinificazione di Cabernet Sauvignon, il tenore di 2-metossi-3-isobutilpirazina era molto più alto nel mosto di pressatura rispetto al mosto fiore (Roujou de Bobèe., 1996).

Altre pirazine quali la 2-metossi-3-metilpirazina (Harris et al.,1987) e la 2-metossi-3-etilpirazina (Augustin et al., 1982) sono sempre state identificate nelle uve e nei vini, queste però sono meno odorose della 2-metossi-3-isobutilpirazina.

1.1.4 I composti solforati che possiedono una funzione tiolica

I composti solforati di tipo tiolico sono anche chiamati mercaptani, generalmente questi composti sono riconducibili a difetti olfattivi.

Queste sostanze contribuiscono però anche alla formazione dell'aroma di certi frutti quali il Ribes nero (Rigaud et al., 1986), il frutto della passione (Engel e Tressl,1991), il pompelmo (Demole et al., 1982) e la guava (Idstein e Schreier, 1985).

Il 3-mercaptopropionato di etile e il 2-mercaptopropionato di etile sono caratteristici dell'aroma di uve derivanti da *Vitis Labrusca* (Kolor, 1983; Winter et al., 1990).

Ultimamente numerosi tioli molto odorosi sono stati identificati nei vini di uve Sauvignon, che possiedono aromi di bosso, ginestra, pompelmo, frutto della passione, fumo, note erbacee, fruttate e il tipico sentore di peperone verde; questi più pronunciati tanto più immature sono le uve. Il 4-mercapto-4-metil-penta-2-one (Darriet et al., 1995), si trova nelle foglie di bosso e nei fiori di ginestra (Tominaga e Doubourdieu, 1997).

Per questo motivo alcuni enologi in alcuni vini derivanti da uve Sauvignon trovano descrittori di bosso e ginestra, in accordo con la presenza di questi composti nel vino.

Altri tioli e mercaptani sono stati identificati nei vini Sauvignon come, l'acetato di 3-mercaptoesan-1-olo (Tominaga et al., 1996), 4-mercapto-4-metilpentan-2-olo, 3-mercaptoesan-1-olo e il 3 mercapto-3-metilbutan-1-olo (Tominaga et al., 1998).

Un altro mercaptano è l'acetato del 3-mercaptoesan-1-olo. Esso possiede un aroma complesso di bosso, insieme a note di buccia di pompelmo e di frutto della passione, dove è stato indentificato da (Engel e Tressl, 1991). Questo composto nel corso della maturazione si idrolizza a 3-mercaptoesan-1-olo.

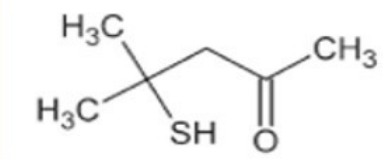
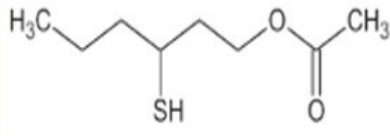
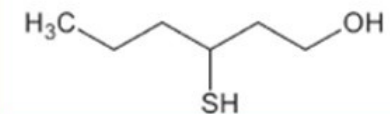
Molecola	Nome	Descrittori aromatici	Soglie in soluzione modello (ng/L)	Intervallo di conc. riportati in letteratura
	4-MMP	Bosso, germoglio di ribes nero	0,8	fino a 400
	3-MHA	Bosso, frutto della passione	4,2	fino a 2500
	3-MHA	Pompelmo, frutto della passione	60	fino a 14000

Figura 6: Esempi di mercaptani (da sito web <https://www.millevigne.it/tioli-ci-sono-anche-nei-vini-rossi/>)

Pure l'aroma del 3-mercaptoesan-1-olo è riconducibile a quello del pompelmo e del frutto della passione.

Il ruolo sensoriale degli altri mercaptani, come ad esempio il 4-mercapto-4-metilpentan-1-olo, con il suo odore tipico di buccia d'agrumi, è più limitato. Altri composti solforati come il 3-mercapto-3-metilbutan-1-olo, con odore di pere cotte, è molto meno odoroso.

Molti di questi composti sono stati recentemente identificati (Darriet et al., 1997) anche nei vini di vitigni a bacca rossa delle zone di Bordeaux come Cabernet Sauvignon e Merlot, anche se la loro influenza sensoriale non è stata ancora precisata.

Per alcuni aromi derivanti da composti solforati bisogna fare un discorso diverso, ad esempio quelli derivanti da mosti di Sauvignon.

I mosti di Sauvignon non sono tanto odorosi, tuttavia l'aroma caratteristico del vitigno appare durante la fermentazione alcolica.

Peynaud nel 1980 aveva già previsto l'esistenza di precursori aromatici nei mosti di Sauvignon, non a caso disse:

“quando si mastica un acino dorato a buccia spessa di Sauvignon si avverte un aroma particolare, poco intenso, anche il succo prodotto ha un aroma poco intenso, poco odoroso. Si può quindi affermare che è la vinificazione che rilevi l'aroma primario nascosto nel frutto,

in quanto il vino presenta un aroma varietale più intenso di quello dell'uva e quindi la fermentazione agisce come un rilevatore d'aroma e libera i principi odorosi dell'uva".

Il rilascio di questi composti è più o meno marcato in base al ceppo di lievito *Saccharomyces cerevisiae* che conduce la fermentazione (Masneuf, 1996).

Alcuni ceppi come lo Zymaflore VL3 sono stati selezionati apposta per la loro attitudine a liberare questo aroma. Si potrebbe ipotizzare la questione di un'idrolisi chimica o enzimatica, ad esempio si è visto che in presenza di acido ascorbico (vitamina C), un estratto inodore di precursori d'aroma Sauvignon libera molecole odorose (Darriet, 1993). Anche enzimi che sono presenti nella cavità della bocca assicurano nel corso della degustazione la liberazione delle forme legate. (Peynaud, 1980).

1.1.5 L'evoluzione dell'aroma nel corso della maturazione dell'uva e l'influenza di alcune pratiche viticole

Le forme libere e legate dei terpenoli si accumulano nell'acino a partire dall'invasatura e via via durante la maturazione.

Alcuni ricercatori riportano la loro sintesi anche in surmaturazione (Wilson et al., 1984 Park et al., 1991), per altri l'ipotesi più diffusa è che le sostanze aromatiche in forma libera diminuiscono già prima della fine degli accumuli degli zuccheri nell'acino (Günata, 1984; Marais, 1983).

Alcuni ricercatori come Park et al., 1991 hanno proposto che le condizioni di maturazione dell'uva e i fattori da cui deriva, in particolare la temperatura, sono da considerare tra i fattori responsabili delle variazioni osservate.

Anche l'irrigazione delle viti può influenzare l'evoluzione di questi composti in maturazione, per esempio i norisoprenoidi mostrano un'evoluzione simile, il tenore di carotenoidi diminuisce dalla fase fenologica dell'invasatura e questa diminuzione è correlata con l'aumento di norisoprenoidi, sotto forma di precursori glicosilati.

Tutte queste trasformazioni si verificano grazie all'intervento di enzimi presenti nell'uva, in grado di compiere degradazione ossidativa dei carotenoidi e poi dei meccanismi di glicosilazione (Razungles e Bayonove, 1996).

Alcuni studi hanno dimostrato per esempio che l'esposizione dell'uva al sole nel corso della maturazione accelera i fenomeni di degradazione dei carotenoidi e contemporaneamente si verifica un incremento del contenuto di norisoprenoidi glicosilati. Anche la defogliazione, soprattutto nel caso del Riesling, porta ad un accumulo di norisoprenoidi glicosilati, ad eccezione di quelli che sono precursori del β -damascenone (Marais et al., 1992).

Per quanto riguarda le metossipirazine, queste si trovano nelle uve non mature e possono raggiungere un centinaio di ng/L nei mosti di Sauvignon o Cabernet (Allen e Lacey 1993), poi

nel corso della maturazione si riscontra una notevole diminuzione.

Nelle condizioni climatiche Bordolessi, il terreno e l'influenza che esso ha nella vigoria della pianta giocano un ruolo fondamentale sul tenore di metossipirazine di vini Merlot e Cabernet Sauvignon e Franc.

Terreni ben drenati riportano tenori bassi di metossipirazine, al contrario terreni più calcarei e argillo-limosi, riportano tenori più elevati.

Un altro fattore che influisce sul contenuto di metossipirazine nel corso della maturazione è l'esposizione dei grappoli d'uva al sole, in quanto le pirazine sono molto sensibili alla luce, e questa ne causa un loro abbassamento di concentrazione (Maga, 1989; Heyman et al., 1986). Infine, è stato dimostrato che certi trattamenti fitosanitari alla vite possono avere conseguenze inattese sull'aroma varietale dei vini, in particolare il rame, a causa della sua forte reattività coi tioli e conseguente diminuzione della tipicità dei vini. (Hatzidimitriu et al., 1996)

1.2 Aromi secondari

Gli aromi secondari o fermentativi sono quelli che si liberano durante la fermentazione alcolica e malo-lattica, sono di origine enzimatica e concorrono al bouquet del vino.

I principali rappresentanti di questa classe sono gli esteri e gli alcoli. Composti come i tioli varietali, i terpeni, i norisoprenoidi e tutte le sostanze aromatiche primarie, nel corso della fermentazione alcolica subiscono alcune reazioni che portano alla liberazione dei loro precursori non volatili: questa azione è dovuta soprattutto ad attività enzimatiche che riguardano l'attività del lievito secco attivo selezionato scelto. (Tebaldi.n.d)

Le sostanze odorose quindi derivano dal metabolismo azotato e lipidico dei lieviti; dalla degradazione degli amminoacidi si formano gli alcoli superiori. Altri aromi secondari molto presenti sono gli esteri etilici che hanno origine dagli acidi grassi a catena medio-corta.

LIEVITO	SOSTANZE PRODOTTE	AZIONE
Lieviti fortemente alcoligeni (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. baianus</i> , <i>S. chevalieri</i> , <i>S.italicus</i>)	Formano elevati quantitativi di alcoli superiori ed esteri.	Sono responsabili in modo preponderante del profumo secondario del vino.
Lieviti mediamente alcoligeni (<i>Saccharomyces rosei</i> , <i>S.capensis</i> , <i>S.bailii</i> , <i>Torulopsis stellata</i>)	Producono poche sostanze aromatiche.	Hanno scarsa influenza sull'aroma fermentativo del vino.
Lieviti scarsamente alcoligeni (diverse specie dei generi <i>Torulopsis e Hanseniaspora</i>)	Rilasciano poche sostanze volatili ad eccezione dell'acetato di etile.	Hanno scarsa influenza sull'aroma fermentativo del vino.
Lieviti forti produttori di acido acetico (<i>Pichia spp</i> , <i>Saccharomyces ludwigii</i>)	Producono acido acetico.	Il loro sviluppo è negativo e quindi va ostacolato durante la vinificazione e l'invecchiamento

Tabella 1: Lieviti e prodotti secondari

Oltre alla scelta del lievito, che è fondamentale per lo svolgersi degli aromi secondari, questi dipendono anche dalle tecniche di vinificazione adottate; normali tecniche di vinificazione risaltano le caratteristiche aromatiche derivanti dalla scelta del lievito, denominati a volte

lieviti “tiolici”. Tuttavia, in presenza di vinificazioni particolari come criomacerazione, crioestrazione selettiva, macerazione carbonica, spumantizzazione, queste possono influenzare la formazione di aromi secondari.

Oltre a queste tipologie di vinificazione, anche le condizioni di vinificazione possono influenzare queste sostanze: disponibilità di azoto, pH, velocità della fermentazione (se una fermentazione è troppo veloce le sostanze aromatiche evaporano) e infine la temperatura di fermentazione. Le sostanze appartenenti alla classe degli aromi secondari sono prodotti secondari della fermentazione alcolica. I principali esponenti sono gli esteri che danno profumi di fruttato, come ad esempio la banana, mela, melone, ananas, e gli alcoli superiori, associati alle caratteristiche tipiche della macerazione carbonica dei vini novelli.

1.2.1 La formazione degli alcoli superiori e degli esteri

I lieviti vinari possono produrre alcoli superiori con un meccanismo chiamato “reazione di Ehrlich”, che consiste nella deaminazione degli aminoacidi con produzione dei corrispondenti α -chetoacidi, seguita dalla decarbossilazione ad aldeide e infine alla riduzione all'alcol corrispondente (Figura 7).

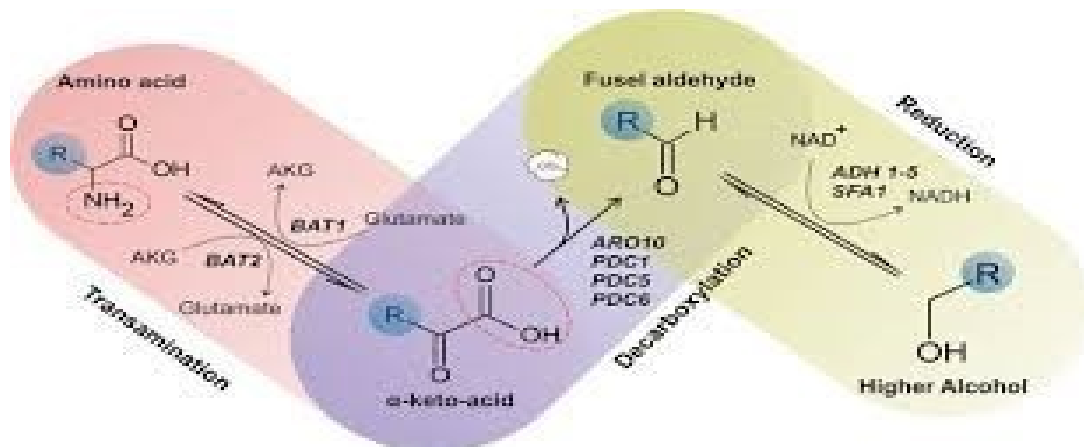


Figura 7: Formazione degli alcoli superiori a partire dagli amminoacidi (reazione di Ehrlich) (da sito web <https://www.microbiologiaitalia.it/micologia/a-tutta-birra-4-lorigine-degli-aromi/>)

Si è visto sperimentalmente che la degradazione degli amminoacidi non è l'unica via di formazione degli alcoli superiori nei vini. Alcuni di essi infatti, come ad esempio l'1-propanolo e il 1-butanolo, non hanno un corrispondente amminoacido precursore. Invece alcuni amminoacidi non sono in grado di produrre il proprio alcol superiore ed infine non c'è

nessuna correlazione tra il contenuto in amminoacidi nei mosti e il contenuto di alcoli superiori nei vini. Così è confermata la teoria che spiega come gli alcoli superiori nel vino derivino per la maggior parte dal metabolismo degli zuccheri esosi, soprattutto del glucosio.

Per questo motivo non è ancora del tutto chiara la funzione metabolica dei lieviti sulla produzione degli alcoli superiori: questi potrebbero costituire una modalità di eliminazione degli zuccheri, un processo di detossificazione oppure un mezzo di regolazione del metabolismo degli amminoacidi.

Infatti, ad eccezione del 2-feniletanolo che ha odore di rosa, tutti gli altri alcoli superiori hanno odore per lo più sgradevole, somigliante a quello dei solventi, pertanto i produttori cercano di ridurre la presenza di questi composti al minimo, soprattutto nei vini bianchi.

Per fortuna il loro impatto organolettico è di solito molto limitato alle normali concentrazioni nel vino, però dipende dall'intensità aromatica totale: vini con bassa aromaticità metteranno in risalto i caratteri negativi degli alcoli superiori, come ad esempio il metionolo, che ha odore di cavolo cotto poiché contiene un atomo di zolfo e può dare origine a uno o più difetti olfattivi di riduzione più sgradevoli nei vini bianchi.

Si può dedurre quindi che la predominanza dei caratteri olfattivi degli alcoli superiori non è ricercata dall'enologo. I parametri di vinificazione che influenzano sulla concentrazione di questi composti sono: pH alto, temperatura di fermentazione elevata e l'arieggiamento.

Nelle vinificazioni con macerazione, dove le temperature di fermentazione e di vinificazione sono molto più elevate, si hanno difficoltà nel perseguire la limitazione sulla produzione di alcoli superiori da parte dei lieviti vinari. Al contrario nei vini bianchi le basse temperature di fermentazione portano invece a limitare la loro formazione.

Altre tecniche che portano alla diminuzione del contenuto di alcoli superiori sono i *travasi*, che sottraggono sostanza organica al vino e quindi limitano la formazione di questi composti: chiarifiche spinte la limitano, mentre carenza di ione ammonio e di amminoacidi nei mosti incrementano la formazione degli alcoli superiori, in quanto i lieviti si attivano per recuperare tutto l'azoto organico mediante transaminazione e accumulo di alcoli superiori.

Anche la natura del lievito (specie, ceppo), che intervengono nella fermentazione, influisce sulla loro produzione: ad esempio in *S. Cerevisiae* un carattere di scelta secondario per il lievito è quello di essere basso produttore di alcoli superiori. Altri lieviti come ad esempio *Hansenula anomala*, producono grandi quantità di alcoli superiori, soprattutto in condizioni aerobiche, ma questi sono lieviti scarsamente utilizzati in enologia per condurre fermentazioni (Guymon et al., 1961). In lavori eseguiti su ceppi di *S. bayanus* si sono formati quantitativi di feniletanolo più elevati rispetto a ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* (Kishimoto; 1994 Masneuf, 1996), questo perché *S. bayanus* è un lievito freddo-fermentante.

I lieviti vinari, grazie alle proprie attività esterasiche, possono formare diversi esteri, dando valori a volte anche di alcuni mg/L. Si tratta principalmente di acetati degli alcoli superiori: i

più importanti sono l'isoamilacetato, che ha odore di banana, ed il feniletilacetato che ha odori di rosa: questi sono più importanti dal punto di vista aromatico, e soprattutto quelli che derivano dalla condensazione del coenzima A. Un esempio è l'esanoato che possiede un odore floreale e fruttato che ricorda la mela verde. Questi esteri si formano nella vinificazione in bianco e soprattutto nei vini bianchi, e la loro presenza è favorita da temperature di fermentazione basse e mosti ben chiarificati e illimpiditi. Alcuni ceppi ne producono quantitativi importanti. Questi composti intervengono nell'aroma di fermentazione del vino giovane, in quanto si idrolizzano velocemente nel corso della conservazione in bottiglia e non influiscono a lungo sul profilo aromatico.

1.2.2 Alcoli superiori

Durante la fermentazione alcolica i lieviti, oltre ai prodotti principali, formano anche prodotti secondari in piccole quantità, i più importanti sono i cosiddetti alcoli superiori, rappresentati principalmente da: n-propanolo, isobutanolo, alcol amilico attivo, alcol isoamilico e 2-feniletanolo. Questi composti derivano per via catabolica dagli aminoacidi (treonina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina) presenti nel mosto, ma anche dal metabolismo del glucosio, senza coinvolgere gli aminoacidi.

Questi composti occupano un posto rilevante tra gli elementi che conferiscono l'aroma del vino e la loro produzione è dovuta principalmente all'azione dei lieviti in quanto i quantitativi presenti nel vino sono completamente diversi da quelli presenti nell'uva.

Gli alcoli superiori in base alla loro concentrazione contribuiscono positivamente e negativamente sulla qualità del vino: piccole quantità in maniera positiva, grandi quantità in maniera negativa. In quest'ultimo caso un esempio particolarmente interessante è costituito dall'alcol isoamilico, che ha odore caratteristico di bruciato. Tuttavia, fa eccezione a questa regola il 2-feniletanolo, che libera fragranza di rosa e contribuisce positivamente all'aroma del vino. Il quantitativo di alcoli superiori dipende da diversi fattori: composizione del mezzo, ossigeno, azoto, concentrazione dello zucchero. Anche la temperatura influenza il suo quantitativo.

La capacità di produrre questi composti è una caratteristica generale di tutti i lieviti, e i quantitativi prodotti variano in base alla specie e al genere; *S. cerevisiae* ne produce maggiori

quantità, seguita poi da *S'codes ludwigii* e *Z.fermentati*, mentre *H.uvarum* e *C.stellata* ne sono bassi produttori.

Per quel che riguarda il 2-feniletanolo, occorre sottolineare il suo carattere floreale, che conferisce un odore di rosa al vino, esso è presente in quantitativi differenti a seconda della tipologia di vino e dell'area in cui è prodotto, e la sua concentrazione è strettamente legata alla composizione dei mosti, al vitigno, ma anche dall'attività del lievito che ha dominato durante la fermentazione.

Infatti i lieviti producono quantitativi di 2-PE molto differenti, si possono distinguere lieviti bassi produttori di 2-PE, come ad esempio *S. cerevisiae*, *P. fermentans* e *K. marxianus*. Sono i lieviti criotolleranti quelli che producono maggiori quantitativi di 2-PE e tra i *Saccharomyces* vinari sono i *bayanus* (ex. *Uvarum*). Altri prodotti secondari di fermentazione sono omologhi superiori dell'alcol etilico, quali propilico e butilico: anch'essi concorrono con il loro profumo alla formazione dell'aroma e del bouquet del vino inoltre svolgono un'azione di solvente nei confronti di altre sostanze odorose, esaltandone la volatilità.

1.2.3 Acetaldeide

L'acetaldeide è il composto carbonilico che si forma durante la fermentazione e costituisce più del 90 % del contenuto totale di aldeidi nel vino.

L'acetaldeide è un precursore dell'acetato, dell'acetoino e dell'etanolo; gioca un ruolo fondamentale nella biosintesi di due alcoli superiori, rispettivamente l'alcol isoamilico attivo e l'isobutanolo.

L'acetaldeide è un normale prodotto della fermentazione alcolica, il suo contenuto è indicato come grado di ossidazione del vino. Alti livelli di acetaldeide si verificano quando la sua concentrazione è maggiore di 500 mg/L, risulta indesiderabile e i vini sono considerati non commerciabili. Per i vini bianchi in genere il contenuto medio di acetaldeide è di 80 mg/L, mentre nei vini rossi di 30 mg/L. Presente nel vino a livelli bassi conferisce un gradevole aroma di frutta, ma a concentrazioni più alte liberano un aroma pungente ed irritante.

La produzione di acetaldeide da parte dei lieviti dipende da diversi fattori che avvengono durante la fase tumultuosa (quando il lievito è dotato di massimo vigore fermentativo) della fermentazione e in particolare: la composizione del mezzo, la natura dei materiali utilizzati per la chiarifica dei mosti, le condizioni di anaerobiosi, la temperatura di fermentazione, lo stato di invecchiamento del vino.

Un fattore principale nella produzione di acetaldeide è l' SO_2 : vini fermentati in presenza di anidride solforosa hanno contenuti di acetaldeide più alti rispetto a quelli fermentati in sua

assenza. Questo è dovuto alla resistenza dei lieviti nei confronti dell'anidride stessa. I lieviti principali produttori di questo composto sono la specie *S. cerevisiae*, mentre altre specie come *H. uvarum*, *C. stellata*, *H. anomala*, *M. pulcherrima*, ne producono quantitativi notevolmente più basse.

Si è dimostrato che in *S. cerevisiae* la variabilità di produzione di acetaldeide è ceppo-specifica. Questo può essere spiegato dal fatto che per un determinato ceppo, la produzione di acetaldeide è in relazione all'attività dell'enzima piruvato decarbossilasi, dato che l'acetaldeide è un composto intermedio di fermentazione: alte concentrazioni potrebbero derivare dall'inibizione dell'alcol deidrogenasi. Essendo il prodotto intermedio della fermentazione alcolica, alte concentrazioni di acetaldeide possono indicare anche arresti fermentativi mentre basse concentrazioni possono stimolare lo sviluppo dei lieviti.

1.2.4 Acetoino e 2,3-butandiolo

L'acetoino è un costituente naturale del vino, prodotto dall'attività microbica dei lieviti e batteri. Questo composto svolge un ruolo importante per la potenzialità aromatica del vino, soprattutto il diacetile e il 2,3-butandiolo, che influenzano fortemente l'aroma delle bevande alcoliche.

I lieviti producono acetoino attraverso diverse vie biosintetiche, la prevalente è la condensazione dell'acetaldeide attiva con quella libera, con conseguente formazione di acetoino. Questa sostanza è poi ridotta a 2,3-butandiolo, i lieviti attivamente fermentanti producono elevate quantità di 2,3-butandiolo e bassissime di acetoino, quelli mediamente fermentanti producono in egual misura i due composti, infine i debolmente fermentanti producono elevate quantità di acetoino e bassi quantitativi di 2,3-butandiolo.

I lieviti prevalenti nella prima fase di fermentazione, i lieviti non-saccharomyces quali *Hanseniaspora/Kloeckera* e *C. stellata*, sono alti produttori di acetoino ed è poi utilizzato dal lievito principale della fermentazione *S. cerevisiae* per la formazione del 2,3 butandiolo e altri composti per aumentare il grado alcolico.

L'acetoino ha un andamento decrescente, si ha un aumento nella fase iniziale della fermentazione, e via via si va decrescendo fino alla sua riduzione a 2,3 butandiolo. Di conseguenza vini che hanno svolto una fermentazione regolare avranno bassi contenuti di acetoino e alti di 2,3 butandiolo.

La produzione di acetoino dipende da vari fattori come: pH, temperatura di fermentazione, aereazione (la produzione aumenta all'aumentare dell'aereazione e della temperatura di fermentazione), il substrato, l'ossigeno, la consistenza della popolazione dei lieviti, e la specie di lievito che ha dominato la fermentazione.

Il diacetile o 2,3 butandiolo ha odore caratteristico di burro e caramello, a volte l'elevata presenza potrebbe derivare da difetti del vino.

1.2.5 Acetato di etile

Gli esteri sono prodotti dai lieviti durante la fermentazione alcolica. I fattori di produzione più importanti sono: la composizione del mosto, le condizioni di fermentazione ma soprattutto il ceppo e la specie di lievito che ha condotto la fermentazione alcolica.

Gli esteri derivano da condensazione di acido lattico e acetico con l'etanolo e altri alcoli nel vino, il principale estere è l'acetato di etile in quanto contribuisce più marcatamente all'aroma del vino. In quantità elevate costituisce un difetto, mentre a basse concentrazioni è gradevole. L'acetato di etile è prodotto dai lieviti durante la fermentazione, e sulla base della sua produzione si evidenziano comportamenti differenti da parte delle diverse specie (Rojas et al., 2001).I lieviti vinari non *Saccharomyces* (*Hanseniaspora*, *Candida*, *Hansenula*, *Metschnikowia*, *Torulaspora*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*) ne producono quantità relativamente alte, *Saccharomyces* ne produce in quantità minori.

L'acetato di etile in quantità basse ha odore caratteristico di floreale e fruttato, mentre ad elevate concentrazioni ha odore sgradevoli che ricordano il tipico profumo di aceto.

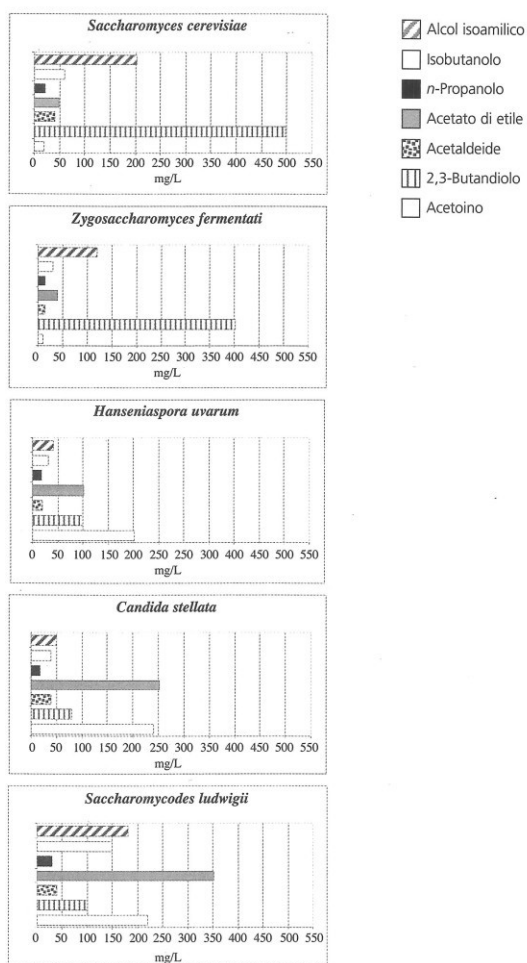
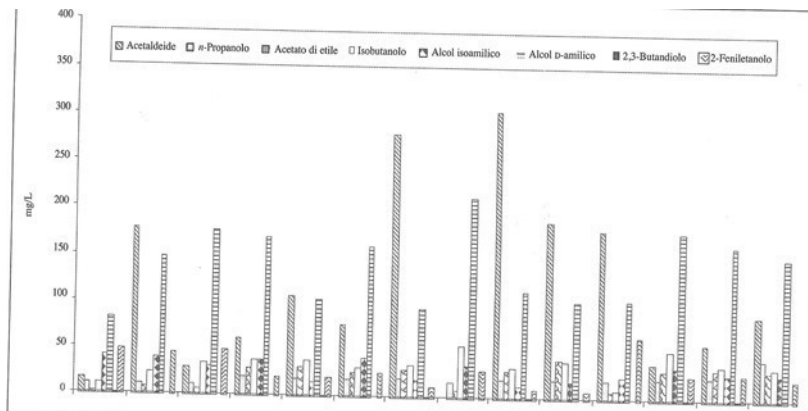


Figura 8: Produzione dei composti da parte dei vari tipi di lieviti (sopra) - produzione di sostanze aromatiche di diversi ceppi di lievito (sotto) (da *Microbiologia del vino*, 2005, Casa editrice Ambrosiana)

1.3 Gli aromi terziari

L'aroma terziario (*Tabella 2*) è anche definito post-fermentativo. Questo si forma durante l'affinamento e maturazione di un vino e durante l'invecchiamento, quando a carico delle sostanze aromatiche già presenti e ad alcuni componenti del vino, avvengono reazioni chimiche come reazioni di idrolisi, esterificazioni, ossidazioni, acetalizzazioni, ciclizzazioni e riduzioni. Queste reazioni portano a rielaborare completamente il profilo aromatico e lo arricchiscono di nuovi profumi più morbidi, delicati e fini, facendo diminuire quella che è la nota fresca e fruttata. Per esempio, sostanze come esteri e acetali subiscono reazioni di idrolisi, seguite poi da nuove reazioni di esterificazione tra vari alcoli e acidi, con il riarrangiamento di nuovi esteri etilici (monoetilici, dietilici, trietilici). In seguito a reazioni di ossidazione poi si ottengono aldeidi, che rendono il profilo del prodotto più piatto e nei vini rossi a volte più gradevole.

Se il vino matura affina e invecchia in botti di legno. Si possono formare aromi derivanti dal contatto del legno, aromi diversi in base alla tipologia di legno, tostato o stagionato.

SOSTANZE	ESEMPIO
Composti volatili che si originano da precursori volatili	Alcoli volatili come i terpenici es. linalolo, geraniolo, nerolo; tipici di vini bianchi aromatici, danno luogo a ossidi, derivanti dal pirano. Es. terpineolo
Composti volatili che derivano da precursori non volatili	Dai carotenoidi presenti nell'uva si generano molti idrocarburi aromatici. Es. TDN, responsabile della nota aromatica di cherosene.
Composti volatili dovuti a cessioni del legno	Alcune sostanze passano dalle botti di legno al vino per semplice diffusione, come accade per gli isomeri cis-trans del lattone di quercia, l'eugenolo. Altri provengono dalla degradazione termica dell'emicellulosa e della cellulosa durante la lavorazione del legno come ad esempio il furfurale il 5-metilfurfurale e l'alcol furfurilico, altri ancora derivano dal metabolismo di batteri lattici sui costituenti del legno come la lignina, es. il 4-vinilguaiacolo e il 4-etilfenolo.

Tabella 2: Componenti aromi terziari

I serbatoi di acciaio (AISI 304) non influiscono direttamente sulle trasformazioni chimiche che avvengono durante la maturazione e l'affinamento di un vino. Il legno riveste un ruolo fondamentale sugli aromi terziari di un vino. Esempi di aroma terziario sono anche i sentori di "crosta di pane" dovuta a maturazione *sur lie* di alcuni champagne, spumanti metodo classici e spumanti derivanti da metodi "charmat lunghi". Questi profumi e aromi di panificazione, che richiamano alle brioches e appunto alla crosta di pane, derivano dalle sostanze di diacetile e lattoni, che si formano dall'autolisi dei lieviti e dal contatto quindi delle fecce fini durante la maturazione e l'affinamento dei vini. Altri esempi sono dati dal sentore di pietra focaia, riscontrato in alcune riserve di vini bianchi, anche tipici del nostro territorio come il Verdicchio.

Come detto in precedenza, lo stretto contatto con il legno influisce in maniera diretta sull'aroma terziario di un vino, il rilascio di queste sostanze dipende anche dal tempo di permanenza in botte, la provenienza legnosa, la dimensione della botte; la barrique rilascia più

velocemente rispetto a una botte grande in quanto il rapporto tra la superficie della botte e il vino è massimo. Il ruolo delle barrique è stato particolarmente studiato per i vini provenienti dalle uve Cabernet-Sauvignon, Pinot Nero (Dubois et al., 1971; Dubois 1989; Chatonnet et al., 1990; Moio et al., 1999; Pèrez Prieto et al., 2002). I componenti odorosi più importanti rilasciati nei vini affinati in legno sono: la vanillina, dal tipico odore di vaniglia e cioccolato; il guaiacolo che ricorda note di affumicato; il 4-metil guaiacolo, 4-vinil guaiacolo, l'eugenolo con odore di chiodi di garofano, gli isomeri cis-trans della 3-metil-gamma-lattone dall'odore di noce di cocco e il furfurale dall'odore di mandorla. I whisky lattoni, rispettivamente il cis e trans della 3-metil-gamma-lattone, sono presenti naturalmente nel legno e la loro concentrazione aumenta all'aumentare della stagionatura e della tostatura del legno (Sefton et al., 1993). I fenoli volatili e le aldeidi fenoliche derivano dalla degradazione della lignina, mentre il furfurale dalla termolisi della cellulosa ed emicellulosa insieme alla reazione di Maillard, che deriva dalla tostatura durante la fabbricazione delle barrique (Sefton et al., 1990; Hale et al., 1999). I vini invecchiati in barrique risultano essere meno dotati di note floreali e fruttati dei vini affinati in acciaio o vetroresina: ciò è dovuto alla diminuzione dei componenti volatili di origine fermentativa durante il processo di invecchiamento in legno (Moio et al., 1995, Escalona et al., 2002).

1.3.1 I lattoni

I lattoni sono formati per reazione di esterificazione interna tra una funzione acida ed una alcolica della stessa molecola, la reazione porta alla formazione di un composto eterociclico ossigenato (*Figura 9*).

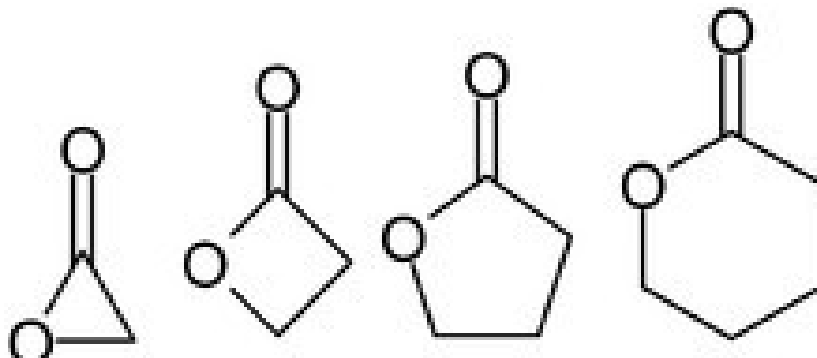


Figura 9: Esempi di lattoni

Alcuni lattoni, soprattutto quelli di origine fermentativa, possono contribuire all'aroma del vino. Il lattono più noto è il γ -butirrolattone che deriva dalla lattonizzazione dell'acido γ -idrossibutirrico (Figura 10).

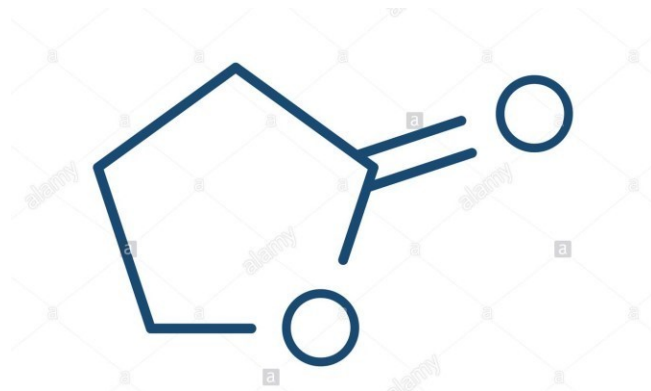


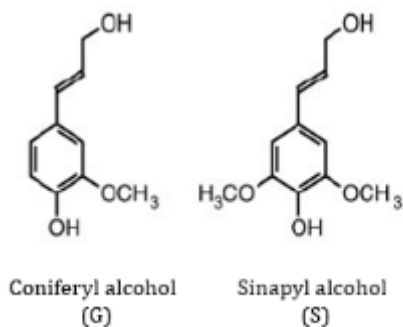
Figura 10: γ -butirrolattone

I lattoni possono avere anche altre origini, possono provenire dall'uva, e anche dall'attacco di Botrytis cinerea sull'uva; questa genera il sotolone (4,5 dimetil-3-idrossi-2-furanone), che interviene nei vini Sauterne, classico vino derivante da uve attaccate da marciumi nobili (Masuda et al., 1984).

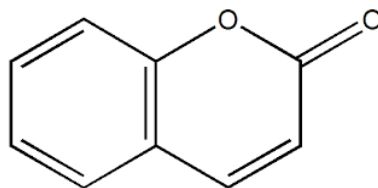
I lattoni più importanti sono quelli che si formano durante la conservazione in fusti di legno di rovere, questo cede i "lattoni di quercia" o anche "whisky lattoni", che sono isomeri cis trans del β -metil- γ -octalattone. Allo stato puro questi composti hanno un odore di cocco.

1.3.2 La dissoluzione dei costituenti non volatili del legno

Il legno è responsabile della liberazione di alcuni composti, come le lignine ricche in unità di guaiacile (detto anche alcool coniferilico) e siringile (o alcool sinapilico).



Nel legno sono presenti anche sostanze cumarine, che in determinate proporzioni possono dare aroma amaro. Il loro contenuto dipende dalla composizione e dal tipo di essiccamento del legno, e queste possono trovarsi sotto forme eterosidica o di agliconi (Salagoity –Auguste et al., 1987).



Cumarina

Il legno rilascia anche un altro gruppo di molecole, queste derivano dalla trasformazione degli ellagitannini e della lignina, e contribuiscono ad aumentare la composizione in acidi fenolici, soprattutto quello gallico (Pontallier et al., 1982).

Queste sostanze influiscono anche sul sapore e sulle caratteristiche sensoriali del vino, (Vivas, 1997), infatti gli acidi fenolici (Acido gallico) hanno un sapore acido, le sostanze cumariniche (agliconi) sono acide e possono dare al vino sensazione di acido ed amaro, mentre gli ellagitannini sono astringenti. È dunque chiaro che vini affinati conservati e invecchiati nel legno presentano caratteristiche organolettiche diverse da quelli affinati in vasche normali, in quanto il legno svolge due effetti opposti: accentua la sensazione di acido e amaro attraverso la dissoluzione delle componenti fenoliche e ammorbidisce i tannini condensati grazie alla formazione di strutture polimeriche eterogenee.

1.3.3 La dissoluzione dei costituenti volatili del legno

L'affinamento dei vini nel legno porta anche alla dissoluzione di alcuni composti aromatici, che contribuiscono alla ricchezza, alla complessità e al sapore del vino.

Tuttavia, per beneficiare totalmente dell'apporto del legno, il vino deve già avere una struttura e una finezza aromatica equilibrata, così che si possa fondere al meglio con i caratteri sensoriali del legno. Bisogna fare attenzione nell'aromatizzare troppo un vino perché si rischia di ottenere un prodotto le cui caratteristiche risultano unicamente dovute all'apporto del legno e quindi non più equilibrate.

Il legno grezzo di rovere contiene tante sostanze volatili che presentano degli odori particolari, questi derivano dalla degradazione di alcuni polimeri complessi, soprattutto i lattoni, specialmente il β -metil- γ -octalattone di cui ne esistono 4 enantiomeri, due isomeri geometrici cis e due ottici.

L'isomero cis possiede sentori di terra, vegetali e di noce di cocco, esso è da 4-5 volte più profumato del trans che ha odore di noce di cocco e spezie (Chatonnet, 1995). Sopra una determinata concentrazione, l'apporto eccessivo di questo lattone può influire negativamente sull'aroma dando intensità troppo legnose e resinose.

Altri fenoli volatili, presenti in concentrazioni elevate, sono gli eugenoli, che hanno caratteristiche odorose che ricordano i chiodi di garofano. Sono presenti anche aldeidi fenoliche anche se in quantità moderate: sono state identificate la vanillina e la siringaldeide (aldeidi benzoiche), la coniferaldeide e la sinapaldeide (aldeidi cinnamiche). La vanillina interviene attivamente nella percezione dell'aroma di legno e di vaniglia trasmessi dalla botte di legno al vino.

Alcune molecole variano in base alla tipologia di campione di legno come ad esempio il trans-2-nonenale, trans-2-octenale e il 1-decanale. Questi sono caratteristici dell'aroma di "planche" che i vini acquisiscono durante l'affinamento: si tratta di un odore sgradevole, che spesso si attribuisce al legno fresco (Chatonnet e Dubourdieu, 1997) e può essere attenuato aumentando il grado di tostatura interno delle barrique e tonneau.

Il legno di rovere cede al vino anche composti come i norisoprenoidi di cui il più importante è il β -ionone. A seconda della sua origine il legno può essere più o meno profumato, gli odori caratteristici li acquisisce durante la fase di essiccamento e fabbricazione delle barrique: ad esempio il riscaldamento produce derivati furanici, fenoli volatili e fenilchetoni, inoltre aumenta il contenuto in aldeidi fenoliche e lattoni.

Capitolo 2

AFFINAMENTO DEL VINO: DOVE AVVIENE E COME INFLUISCE SUL PRODOTTO FINALE

L'affinamento è il periodo compreso tra la fine della vinificazione, che coincide con la fine della fermentazione alcolica, e la fase di imbottigliamento. La sua durata è estremamente variabile in funzione di quello che dovrà poi essere il prodotto finale: il vino. La durata di questa fase dipende quindi dal progetto vitivinicolo. Questa fase consente di stabilizzare i vini e di prepararli poi al successivo invecchiamento in bottiglia, quindi influisce anche sulla shelf-life (longevità) di un vino. In questo periodo avvengono numerose modificazioni alle caratteristiche del vino: ad esempio la modificazione del colore, del profumo e anche del sapore. In questa fase avvengono anche le classiche operazioni di cantina (travasi, chiarifiche, aggiunte e correzioni), questi interventi e le caratteristiche del serbatoio in cui è presente il vino svolgono una forte influenza sulle trasformazioni chimiche, soprattutto sui fenomeni di ossidoriduzione (*Figura 11*).

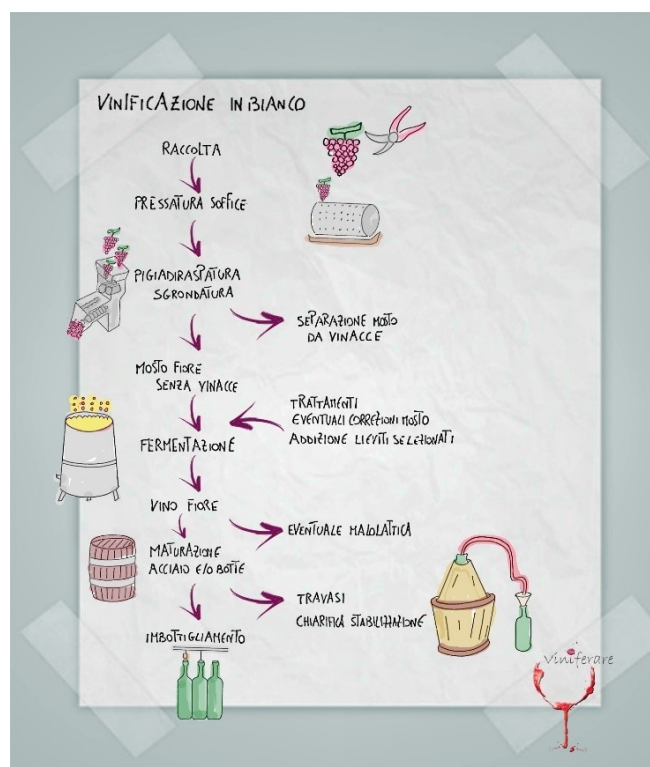


Figura 11: Schema della vinificazione (da sito web <https://www.viniferare.it/la-vinificazione/>)

Di solito l'affinamento viene anche chiamato maturazione o invecchiamento, in quanto si fa riferimento al tempo con cui un vino sosta nei vari tipi di botte prima dell'imbottigliamento. Lo scopo dell'affinamento è quello di rendere equilibrato il vino dal punto di vista del colore, dei profumi e del sapore, modificando quelle che sono le componenti fino al raggiungimento dell'“equilibrio organolettico”. Durante l'affinamento avvengono fenomeni di natura fisica (sedimentazione o flocculazione di sostanze) e chimiche (esterificazione e polimerizzazione), le più importanti però come precedentemente detto sono le ossidoriduzioni. L'affinamento può essere più o meno lungo in base al progetto vitivinicolo e quindi alle qualità del prodotto finale, per esempio per vini giovani, di annata, con una shelf-life molto breve di circa 2 anni. Questo periodo può durare da 3 a 6 mesi e di solito avviene in acciaio o vetroresina, materiali inerti. Per vini più strutturati (DOCG, riserve) si sceglie spesso di lasciare il vino più tempo in affinamento a volte anche 3 - 4 anni. Per queste tipologie di vino a volte si usano tipologie di botti differenti dall'acciaio, come ad esempio, botti di legno grandi (stagionate, essiccate naturalmente). Per grandi si intendono botti superiori a 5 hl, o botti di legno piccole come barrique (225 l) o i tonneau (500 l), o altri serbatoi di altro materiale come anfore di terracotta o campane di vetro. Queste botti possono rilasciare aromi e sentori diversi al vino, denominati aromi terziari o di affinamento.

2.1 Operazioni che si eseguono durante l'affinamento e come queste influenzano il prodotto finale

Durante la maturazione, per raggiungere il cosiddetto “equilibrio organolettico”, in cantina si eseguono diverse operazioni come travasi, chiarifiche, filtrazioni e aggiunte (solforosa).

I *travasi* non sono altro che spostamenti del vino da un recipiente ad un altro con la separazione dei depositi, per far evitare il contatto del vino con le fecce grossolane che possono conferire cattivi odori e sapori sgradevoli. La feccia non deve mai costiparsi, quindi o viene tenuta in continua agitazione (affinamento sulle fecce fini) o viene separata dal vino. Questi travasi nei vini rossi sono più frequenti, in quanto la vinificazione avviene con macerazione (contatto del mosto con le bucce), rendendo più necessario l'illimpidimento del vino, mentre nei vini bianchi sono meno frequenti in quanto subiscono già chiarifiche a mosto. Il numero di travasi che si eseguono varia in base alla tipologia di vino, in base allo stato di chiarifica iniziale, per ottenere così un vino pulito e limpido.

I travasi possono avvenire in ambiente ordinario quindi in presenza di ossigeno o in ambiente ridotto di ossigeno quindi con saturazione mediante gas inerti (azoto, CO₂). Questa pratica influisce sulle caratteristiche organolettiche in quanto apporta ossigeno disciolto al vino in quantità da 2 a 5 mg/L, quindi il potenziale di ossidoriduzione aumenta, questo aumenta in modo rilevante se i travasi vengono eseguiti con pompe centrifughe che agiscono bruscamente sul vino in uscita, creando uno stress.

Le chiarifiche nei vini bianchi sono meno spontanee. Si tratta di aggiunte al vino di sostanze minerali o proteiche (caseina e bentonite), con lo scopo di illimpidire il vino, trascinando i solidi sospesi nel vino in superficie grazie alla natura elettrostatica (negativa o positiva) del minerale utilizzato. In questa fase le chiarifiche vengono chiamate “a vino”. Queste se molto spinte possono portare all'evaporazione di sostanze aromatiche. In particolare, la bentonite (se in eccesso) è in grado di rimuovere indirettamente gli aromi primari, allo stesso modo dei colloidali proteici, in quanto si è verificato un abbassamento di terpeni liberi e glicosilati come ad esempio linalolo, geraniolo, nerolo, α -terpineolo. Al contrario un'eccessiva torbidità porta al vino sentori erbacei forti e sproporzionati.

La filtrazione è un'operazione molto tecnologica e delicata, in quanto può incidere tantissimo sulla qualità sensoriale finale del vino. Il vino deve filtrarsi col tempo e gradualmente,

filtrazioni sterilizzanti (0,45 micron) in vini ancora torbidi possono sconvolgerli completamente e appiattirli. I filtri che si usano per la filtrazione del vino durante la maturazione di solito sono quelli a piastre.

Inoltre, durante l'affinamento e maturazione di un vino si possono fare delle aggiunte come ad esempio, di SO₂. L'anidride solforosa influisce sull'aroma del vino, ha un'azione antisettica e antiossidante. Proprio quest'ultima agisce durante l'affinamento in quanto protegge le sostanze aromatiche e fenoliche dalle reazioni radicaliche e dai perossidi. Inoltre, in certi quantitativi da 0,4-0,6 mg/l di solforosa molecolare (SO₂) funge da inibitore di lieviti *Brettanomyces* e di batteri acetici che possono provocare aromi sgradevoli. La solforosa in quantitativi sopra le soglie limite di legge di 160 mg/l nei vini rossi e di 210 mg/L nei bianchi, possono conferire odori sgradevoli di piccante, dando difetti di odore di uova marce causato dalla presenza dell'acido solfidrico o solfuro di idrogeno H₂S, che si forma in ambiente povero di ossigeno (anaerobiosi), per riduzione dell'anidride solforosa SO₂. Questo difetto viene normalmente chiamato "odore di ridotto" e si elimina normalmente con l'arieggiamento del vino (travasi). Bisogna stare attenti a non esagerare con l'aggiunta di solforosa per non provocare anche l'insorgenza del difetto di odore di solforosa, facilmente eliminato con dei travasi.

2.2 Affinamento in acciaio

L'acciaio è un materiale neutro, non cede nulla al vino, ma allo stesso tempo lo difende dall'ossigeno. L'acciaio è sensibile agli sbalzi di temperatura, per risolvere questo difetto si è inserita un'intercapedine dove circola un fluido per la refrigerazione (glicole) o per il riscaldamento del liquido al suo interno. I serbatoi di acciaio sono quelli più usati in enologia, in quanto duraturi, duttili e di facile impiego e pulizia. Questi sono i serbatoi più usati per i vini cosiddetti di "annata", che fanno un affinamento breve e quindi vengono consumati giovani, in quanto permette una maturazione costante, senza cedere sapori o aromi, e a volte risalta quelli che sono i profumi primari e secondari (fruttati e floreali). Il materiale che si usa per la costruzione di questi serbatoi è l'acciaio inox AISI 304/316, che risulta essere eterno e duttile, in quanto in alcuni si può sia far fermentare (fermentini) sia far maturare e affinare il vino (serbatoi). La capienza di questi serbatoi varia da 5 hl fino ad arrivare anche a 300-500 hl. Queste vasche sono dotate di numerosi accessori come rubinetterie, follatori, pompe per rimontaggi che le possono rendere utili sia per vinificazioni in bianco, con affinamenti normali o particolari (es. l'affinamento *sur lie*, chiamato anche affinamento sui lieviti o sulle sue fecce fini, tenute in agitazione costantemente, o utilizzati per la presa di spuma in metodi charmat che avviene in apposite vasche chiamate "autoclavi" dove lo spumante prosegue regolarmente la sua seconda fermentazione).

Questi serbatoi vengono utilizzati però anche per le vinificazioni in rosso, in quanto dotati di pompe per rimontaggi automatici, termocondizionamento, e sono in grado di agevolare la fase di svinatura.



Figura 12: Serbatoi in acciaio (da sito web <https://www.lemarche.com/struttura/tenuta-santi-giacomo-e-filippo-wine>) este/

2.3 Affinamento in cemento e in anfora

L'affinamento in cemento era molto utilizzato verso gli anni 60-70, poi con l'avvento dell'acciaio inox è stato via via smantellato. Oggi ancora qualche cantina utilizza vasche in cemento vetrificato, per volontà di mettere in risalto le caratteristiche varietali dell'uva e del vino. Il cemento è una via di mezzo tra il legno e l'acciaio in quanto le vasche in cemento-vetrificato non interagiscono con il vino, hanno proprietà isolanti e non fanno passare l'ossigeno. L'affinamento in cemento permette una maturazione costante e non cede alcun sapore né aroma e odori aggiuntivi. Il cemento è ottimo poiché permette di ottimizzare lo spazio disponibile in quanto le botti sono costruite sul posto, ma per il dispendioso mantenimento e per i trattamenti da fare eccessivi, nel tempo sono state sostituite dall'acciaio.



Figura 13: Serbatoi in cemento (da sito web <https://www.winesurf.it/inchiesta-sulle-vasche-cemento-cosa-ne-pensano-produttori-enologi-consumatori/>)

Le anfore, specialmente quelle di terracotta, sono aumentate sporadicamente in questi ultimi anni. L'affinamento in anfora si basa sul concetto della micro-ossigenazione. La terracotta è un materiale poroso che consente il passaggio dell'ossigeno: questo può essere un pregio o un difetto in quanto gli effetti della micro-ossigenazione non sono sempre semplici da prevedere. L'anfora ha diversi pregi: è un prodotto naturale, non modifica l'aspetto organolettico del vino, inoltre è un materiale eterno, non come il legno che deve subire trattamenti particolari e dopo alcuni anni necessita di essere cambiato. Inoltre, la terracotta fornisce un ottimo isolamento termico, dovuto sia al materiale, sia al fatto che essa per la maggior parte delle volte viene interrata, e in senso di isolamento termico funziona meglio dell'acciaio ed è quasi allo stesso

livello del cemento. Consente allo stesso tempo al vino di ossigenarsi: l'ossigenazione è inferiore a quella di una barrique ma è paragonabile a quella di una botte di legno di medie dimensioni, con il vantaggio di non aggiungere né tannini né aromi al vino. La terracotta rispetto al cemento crea isolamento con l'aggiunta di una benefica ossigenazione, in quanto aiuta a ravvivare i profumi di fruttato e floreale che il cemento invece tende a spegnere, soffocare e appiattire. Infine, la terracotta ha tutti i pregi del legno di medie dimensioni, senza gli svantaggi ed ha anche i vantaggi dell'acciaio inox senza però turbare il vino con problemi elettrostatici.

È un contenitore molto adatto a far emergere l'aroma varietale, inoltre essendo eterni e di un materiale naturale sono compatibili con lo sviluppo sostenibile e sono molto usati in agricoltura biologica e biodinamica.



Figura 14: Anfora (da sito web <https://www.tava.it/it>)

2.4 Affinamento in legno

Il legno è un materiale nobile ed i contenitori di legno fanno parte della tradizione delle grandi regioni viticole. Il legno è il materiale più antico utilizzato per la conservazione e l'affinamento del vino, secondo solo alla terracotta.

Oggi la maggior parte dei vini di qualità di tutto il mondo viene fatta maturare in contenitori di legno prima di essere imbottigliata, infatti l'affinamento in legno è in grado d'influenzare positivamente le caratteristiche sensoriali e organolettiche del vino dal punto di vista del colore, del profumo e del gusto.

Tutte le tipologie di vino possono essere affinate e invecchiate nel legno, dai più celebri vini rossi (Barolo, vino nobile Montepulciano, Chianti, Brunello di Montalcino) ad alcune riserve di vino bianco (Verdicchio di Jesi, Verdicchio di Matelica, Ribona, Bianchetto del Metauro) e addirittura ad alcuni vini di tipo rosato.

Il vino per affinare in legno deve avere delle caratteristiche adeguate: deve avere una gradazione alcolica alta, buona acidità e un importante corredo polifenolico. Il tempo di affinamento varia in base alla tipologia di legno (tostato e stagionato) e in base a quello che è il progetto vitivinicolo, cioè in base alle caratteristiche organolettiche che dovrà avere poi il prodotto finito. Per alcune tipologie di vino (Brunello di Montalcino) i tempi di affinamento e maturazione in botte sono imposti dal disciplinare di produzione. In media il periodo di sosta in legno varia da 12 a 48 mesi. Soste più lunghe sono adottate per vini rossi di grande struttura, come i vini rossi di Bordeaux o i noti vini italiani (Barolo, Brunello, ecc...).

I motivi per cui il vino viene fatto affinare nel legno sono sostanzialmente due: il primo è che il legno è un materiale poroso, a differenza del cemento e dell'acciaio, e quindi permette un graduale e lento rilascio gassoso con l'esterno. Il passaggio gassoso è sostanzialmente a carico dell'ossigeno ed è questo che consente al vino di evolvere. L'ossigeno porta alla stabilizzazione del colore del vino, inoltre ne ammorbidisce la ruvidità diminuendo l'astringenza dei tannini. Il secondo motivo per il quale viene scelto il legno è la cessione di aromi terziari. Il legno a differenza del cemento e dell'acciaio non è un materiale inerte, la tostatura del legno ha un impatto aromatico sul vino.

L'impatto aromatico del legno varia in base alla tipologia di vino che si inserisce nel legno, a seconda del tempo di affinamento, dalla natura del legno (tostato o stagionato), dal grado di tostatura del legno e se il contenitore è nuovo o usato. Inoltre, il legno cede composti tannici che ne influenzano il gusto rendendolo più morbido ed avvolgente.

Il legno nuovo arricchisce il vino di composti aromatici, ma questa proprietà non viene osservata durante la vinificazione. Tuttavia, il legno ha anche qualche difetto, in quanto la manutenzione di questi componenti è delicata, inoltre il legno vecchio è fonte di contaminazione e di gusti sgradevoli, in quanto il legno non andrebbe mai sporcato. La tenuta a volte non è stagna, bisogna utilizzare mastici specifici e provare la tenuta con acqua, con

rischi di sviluppo microbico. Nelle botti fatte artigianalmente, il fondo non potrebbe combaciare e questi non sono adatti alla conservazione di vino per lungo periodo. Il legno è anche un cattivo conduttore di calore, infatti durante la fermentazione i contenitori di legno subiscono un forte riscaldamento, quindi per svolgere una normale fermentazione bisogna compensare con una refrigerazione. Tuttavia, quando la fermentazione è terminata, mantengono per lungo tempo il calore acquisito, favorendo la macerazione post-fermentativa e un adeguata temperatura per l'affinamento.

Il legno può avere diverse origini geografiche e infine diversi tipi di lavorazione, le lavorazioni più importanti per la produzione di serbatoi per la vinificazione sono il legno tostato e il legno stagionato. Quando si parla di “tostato” si fa riferimento di solito a legno di rovere francese, lavorato internamente con il fuoco (tostatura). Le botti di questo tipo hanno una capienza che va dai 100 fino ai 500 litri di capacità, i due formati più famosi sono quelli da 225 litri denominati Barrique e quelli da 500 litri che prendono invece il nome di Tonneau. Quando il vino matura e affina in questi serbatoi acquisisce aromi terziari caratteristici della “tostatura” come: spezie, barricato, torrefatto ecc....

Per quanto riguarda il legno stagionato, si tratta sempre di botti di rovere che però subiscono un processo di stagionatura che dura circa 1 anno per ogni cm di spessore della doga in termini tecnici si parla di essiccazione naturale e spontanea del legno. Qui esistono equilibri tannici per raggiungere l'obiettivo, non tutti i vini si adattano a questo tipo di affinamento, che rilascia aromi di vaniglia, cuoio, erbe aromatiche; ci deve essere un matrimonio armonico tra



Figura 15: Serbatoio in legno stagionato/essiccato – Barrique

(da sito web <https://www.lemarche.com/struttura/tenuta-santi-giacomo-e-filippo-wine-estate/>)

il vino e la botte. Il legno come sopra descritto può subire quindi differenti trattamenti. Per quanto riguarda l'essiccazione naturale, ha una durata variabile in base allo spessore della doga. L'essiccamento può durare anche parecchie decine di mesi. Le doghe generalmente sono

di spessore variabile che va dai 21 mm (e queste essiccano all'aria aperta per 24 mesi), e di 28 mm (queste essiccano invece per 36 mesi). (Taransaud, 1996). Durante l'essiccazione si ha un'evoluzione della composizione fenolica del legno, come la diminuzione dell'astringenza e del colore degli estratti del legno. Dal punto di vista aromatico, l'essiccamento porta all'aumento del tenore di diversi composti, come ad esempio: eugenolo, aldeide siringica e vanillina, questi derivanti dalla degradazione della lignina e infine i due isomeri del β -metil- γ -octalattone, con un rapporto isomerico a favore della forma cis più odorosa.

Nella tostatura i fattori principali che possono influire sono: il tipo di combustibile utilizzato (legno, gas, elettricità), le modalità di riscaldamento (a fuoco chiuso o aperto), la durata e l'intensità del riscaldamento e infine il cambiamento di colore del legno (Chatonnet et al., 1993). La tostatura influenza la struttura superficiale e profonda del legno (Chatonnet, 1991). Di solito si distinguono tre tipi di tostatura: tostatura leggera, che comprende un riscaldamento di 5 minuti a una temperatura di superficie di 120-180 C°; tostatura media che corrisponde a un riscaldamento di 10 minuti a una temperatura di superfici di 200 C° e infine una tostatura forte che corrisponde a un riscaldamento di 15 minuti a una temperatura di superficie di 250 C°. La tostatura provoca la comparsa di nuovi composti volatili e profumati, come ad esempio le aldeidi fumariche, aldeidi fenoliche e fenoli volatili, acidi grassi, metiloctaltoni e infine dimetilpirazine (odore di cacao). La scelta dell'intensità di tostatura dei fusti permette di adattare quindi l'apporto sensoriale del legno al tipo di vino, non solo per le caratteristiche aromatiche ma anche per quanto riguarda le caratteristiche generali (Chatonnet, 1995).

Per questo l'affinamento in barrique del vino ha un impatto organolettico abbastanza marcato, grazie alla loro ridotta capacità, che permette un maggiore contatto del vino con la superficie di legno, e per questo quindi avrà una maggiore ossigenazione e cessione di composti aromatici e polifenolici. Un altro impatto sensoriale importante rispetto alle botti grandi sono gli effetti della tostatura, che in base alla sua intensità rilascia aromi terziari differenti come ad esempio aromi speziati, tostati e aromi di torrefazione. Infine, sulle molecole odorose rilasciate, influisce anche l'età della barrique, in quanto essa rilascia aromi solo per un determinato lasso di tempo (4-5 anni) dopo di che ha bisogno di essere cambiata. Per questo le cantine devono adottare un turnover di barrique, che così diventano un costo fisso per la cantina e vanno ad influenzare quello che è il costo di produzione. Il costo di una barrique si aggira intorno alle 400-900 euro.

Lo stesso discorso vale per i tonneau ma le dimensioni sono diverse (500 litri) e quindi l'impatto sul corredo aromatico e polifenolico sarà meno evidente che sulle barrique perché l'ossidazione procede più lentamente.

Discorso differente invece per quel che riguarda le botti grandi. Il loro impatto organolettico è molto limitato rispetto alla barrique francesi, in quanto le grandi dimensioni, lo spessore delle doghe e l'assenza di tostatura permettono al vino di preservare le sue caratteristiche originali.

In questo modo il vino può invecchiare mantenendo il carattere tipico del vitigno e la sua espressione territoriale. Inoltre, queste tipologie di botti hanno una vita più duratura: possono durare decenni. Le molecole odorose che il legno rilascia al vino variano a seconda dei seguenti fattori: grado di utilizzo del legno (primo o secondo passaggio se si tratta di barrique), le tipologie di legno utilizzato, essiccato/stagionato o tostato, il grado di tostatura (leggera, media, forte), la dimensione e il tempo di affinamento del vino. In base ai vari fattori qui sotto descritti (*Tabella 3*) i composti aromatici rilasciati dal legno:

FAMIGLIA	COMPOSTI	DESCRITTORI	SOGLIA PERCEZIONE
Lattoni	Cis- whisky lactone	Noce di cocco	790 µg/L
	- Trans-whisky lattoni	-	67 µg/L
Aldeidi fenoliche	Vanilline	Vaniglia	995 µg/L
	Methyl vanillate	Vaniglia	3000 µg/L
	Ethyl-vanillate	Vaniglia	990 µg/L
	Syringaldehyde	Legnoso	50000 µg/L
Fenilacetone	Apocynin	Vaniglia	1000 µg/L
	Propiovanillone	Boisé	-
	Siringolo	Spezie	1800 µg/L
Fenoli	Eugenolo	Chiodi di garofano	6 µg/L
	Gaiacolo	Affumicato, torrefazione	10 µg/L
	4-methyl-gaiacol	Affumicato, cenere	-
	4-ethyl-gaiacol	Pepe nero, speziato	100 µg/L
	4-vinyl-gaiacol	Chiodi di garofano	1100 µg/L
	4-ethyl-phenol	Cuoio, stalla	500 µg/L
	4-vinyl-phenol	Erba stropicciata	180 µg/L
	Phenols	China, fenoli	-
	Cresolo	Prodotti farmaceutici	31-58 µg/L
Composti tostati	Furfurale	Mandorla tostata	3000 µg/L
	Methyl-5-furfural	Mandorla amara	
	Cyclotene	Pane tostato	3100 µg/L
	Maltolo	Affumicato	11400 µg/L
Aldeide fumarica	Furfurythiolo	Caffe, torrefazione	1 ng/L

Tabella 3: Sostanze aromatiche che rilascia il legno

Capitolo 3

LA SPERIMENTAZIONE: MATERIALI E METODI UTILIZZATI

La sperimentazione si è basata sul campionamento di 3 vini, con uvaggio 100% Merlot, che hanno subito diverso affinamento. L'anno di vendemmia dei 3 campioni è il 2020.

La scelta del vitigno, il Merlot, è stata dettata, oltre da scelte personali, anche dal fatto che questo vitigno è estremamente versatile, ed è soprattutto un vitigno internazionale, coltivato in tutto il mondo. È un vitigno molto versatile in quanto può adattarsi bene a una vinificazione semplice con affinamenti in acciaio, vini di annata con shelf life molto breve, di circa 2 anni (come il primo campione), sia per affinamenti di vini più complessi come quelli della zona di Bordeaux o i colossi dell'enologia italiana come Masseto.

Lo scopo del presente lavoro di tesi consiste nel definire come influisce l'affinamento del vino sul profilo aromatico finale, quale tipo di affinamento dona aromi terziari e quale invece rispecchia gli aromi varietali e primari, mettendo a confronto anche le varie tecniche tra loro.

3.1 Campionamento e analisi parametri qualitativi dei vini

I campioni in esame sono i seguenti:

- 1- Un campione affinato in acciaio, Terre di Chieti 2019 IGT proveniente da uno scaffale di supermercato,
- 2- Un campione della Tenuta Santi Giacomo e Filippo di Urbino (PU) di IGT Marche Merlot affinato in legno essiccato/stagionato, vendemmia 2020, così da poter confrontare come rilascia il legno stagionato i suoi aromi durante la sosta.
- 3- Un campione di Merlot affinato in barrique della cantina “La Monacesca” di Matelica (MC) vendemmia 2020.

I campioni sono stati prelevati direttamente dai serbatoi di affinamento in quanto non ancora maturi per il consumo finale. Mentre il primo campione è stato prelevato in un supermercato, quindi già destinato al consumo finale. In tutti i campioni sono stati determinati i seguenti parametri qualitativi:

- pH
- Glucosio-Fruttosio
- Antociani
- Polifenoli
- Composti volatili

3.1.1 Determinazione glucosio-fruttosio

Per la determinazione di questo parametro è stato utilizzato lo spettrofotometro mod. Varian Cary 5000 spettrofotometro UV/VIS (*Figura 16*). Esso consiste in una sorgente di luce bianca, da cui prende origine la radiazione policromatica, che attraverso una fenditura di entrata, entra nel monocromatore, ossia un sistema ottico usato per disperdere la radiazione acquisita in bande monocromatiche. Da qui il raggio di luce colpisce il prisma con un angolo ad una specifica lunghezza d'onda (λ , distanza tra due punti successivi e in fase dell'onda, ossia fra due creste o due ventri dell'onda) in base alla misurazione da fare. Dopodiché la luce colpisce una cuvetta in quarzo in cui vi è la soluzione del campione. Essa ha due pareti ruvide e due lisce, proprio quest'ultime devono essere trasparenti e poste in direzione della luce per permetterne il passaggio. Poi vi è un tubo fotosensibile che permette la misurazione primaria e trasforma l'energia radiante in un segnale elettrico che verrà trasferito all'apparato di registrazione mediante il quale si avrà la misura della quantità di luce assorbita e cioè il valore dell'assorbanza. Essa è una grandezza adimensionale descritta dalla legge di Lambert-Beer.

Tale legge definisce la diretta proporzionalità fra l'assorbanza e la concentrazione del campione, a condizione che la sorgente di luce sia monocromatica e che la soluzione sia sufficientemente diluita, ed è anche il principio su cui si fonda l'intera analisi. Inoltre, essendo uno spettrofotometro a doppio raggio, vi sono due alloggiamenti per le cuvette, in uno viene posta quello contenente il solo solvente (definito "bianco") e nell'altro quella contenente il campione. In questo modo viene sottratto al contributo del campione quello del bianco.



Figura 16: Spettrofotometro Varian Cary 5000

Per la determinazione del glucosio-fruttosio, sono stati utilizzati dei kit enzimatici spettrofotometrici. Il kit si basa sul seguente principio: il D-glucosio e il D-fruttosio reagiscono con l'ATP in presenza di un'enzima esochinasi, formando così il glucosio-6-fosfato e fruttosio-6-fosfato, quest'ultimo prodotto viene poi convertito in glucosio-6-fosfato dalla PGI (fosfogluco isomerasi) il glucosio-6-fosfato totale riduce il dinucleotide in presenza di G6P-DH. L'intensità dell'assorbanza che si sviluppa a 340 nm è proporzionale alla somma delle concentrazioni del glucosio e del fruttosio, come suggerito dalla legge di Lambert-Beer e può essere misurata spettrofotometricamente.

3.1.2 Determinazione del pH

Per la misurazione del pH è stato utilizzato il pH-metro portatile "XS sensor 7/70" (Figura 17). Il pH viene determinato per via potenziometrica utilizzando, come sensore, un elettrodo a vetro combinato con opportuno elettrodo di riferimento. Il valore da determinare viene ottenuto dopo aver effettuato una operazione di taratura con due soluzioni tampone a pH noto portate alla stessa temperatura del campione

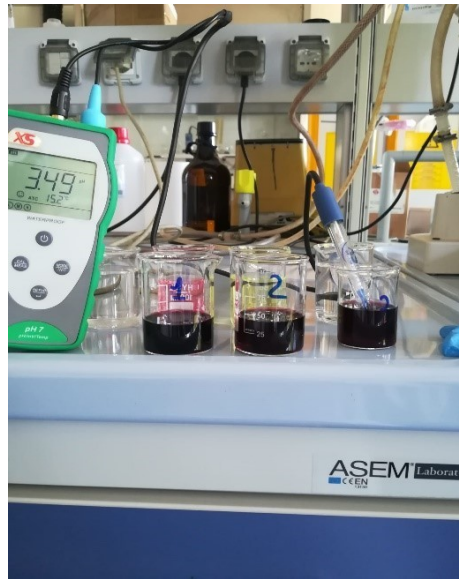


Figura 17: Misurazione del pH, con strumento portatile



Figura 18: Kit enzimatico e campioni di vino

3.1.3 Determinazione dei polifenoli e degli antociani

La determinazione della concentrazione di polifenoli e antociani è stata effettuata utilizzando la tecnica spettrofotometrica descritta nel paragrafo 3.1.1. L'analisi dei polifenoli è stata eseguita utilizzando il reattivo di Folin-Ciocalteu. Esso è una miscela di fosfomolibdato e fosfotungstato, che in ambiente fortemente alcalino ossida il gruppo ossidrilico (-OH) contenuto nei polifenoli riducendoli a gruppo carbonilico, formando ossidi di molibdeno e di tungsteno aventi una colorazione blu.

Quindi in base alla colorazione dei campioni si potrà capire la concentrazione di polifenoli presenti in un campione post trattamento con reattivo di Folin-Ciocalteu. Quindi si avranno due componenti del kit enzimatico:

- POLI3 R1 ossia il reattivo di Folin-Ciocalteu ≥ 3 %;
- POLI3 R2, tampone di Good, idrossido di sodio $\geq 0,5$ %.

La strumentazione utilizzata consiste in: micropipette, provette, cuvette, dispositivo riscaldante, agitatore (vortex).

Prima di aggiungere il primo reagente al vino, quest'ultimo è stato diluito con acqua distillata, in proporzione 1:5. Per la prova spettrofotometrica sono state preparate le seguenti provette:

- 1 provetta in cui sono stati pipettati 100 μ l di acqua distillata e 2 ml di reagente POLI3 R1 ed è denominata "bianco";
- 1 provetta in cui sono stati pipettati 100 μ l di standard, ossia acido gallico (600 mg/L) e 2 ml di reagente POLI3 R1 ed è denominata "Standard";
- 3 provette in cui sono stati pipettati 100 μ l di campione ossia i vini presi (diluiti come precedentemente descritto) in esame e 2 ml di reagente POLI3 R1 denominate "V1", "V2" e "V3";

Successivamente le provette sono state chiuse con dei tappi e utilizzando l'agitatore Vortex (*Figura 19*), il liquido viene mescolato e dopo posto ad incubare a 37°C per 1 minuto.



Figura 19: Agitatore vortex e dispositivo di riscaldamento

Poi in ogni provetta viene aggiunto 1 ml del reattivo POLI3 R2, si mescola nuovamente e infine vengono poste ad incubare a 37°C per 30 minuti, tempo necessario per permettere il viraggio del colore tendente al blu. Successivamente si passa alla lettura del valore dell'assorbanza utilizzando lo spettrofotometro e selezionando la lunghezza d'onda di lavoro pari a 620 nm (talvolta è ammessa anche la lunghezza d'onda pari a 720 nm), corrispondente alla massima sensibilità del metodo, in quanto c'è un massimo di assorbanza in questa specifica lunghezza d'onda.

Nella cuvetta di quarzo si inserisce la quantità di campione da analizzare. Si procede con la lettura dell'assorbanza per quanto concerne il "bianco", poi lo "standard" e infine la misurazione dei campioni.

Il risultato finale espresso in mg/L sarà ottenuto mediante l'utilizzo della seguente formula:

$$\text{Acido gallico} = (Ac - Ar) / (As - Ar) \times 3$$

Dove Ac è l'assorbanza del campione;

Ar = assorbanza del bianco

As = assorbanza dello standard

Il metodo analitico viene utilizzato in modo specifico per i gruppi ossidrilici dei polifenoli ed è espresso come concentrazione di acido gallico anidro (g/l).

Anche per la determinazione della concentrazione degli antociani, sono state preparate le seguenti provette:

- 1 provetta in cui ci sono 100 µl di acqua distillata e 2 ml di reattivo ANTO R1, denominata anche qui "bianco";
- 3 provette in cui ci sono 100 µl di campione estratto dai vini presi in esame e 2 ml di reattivo ANTO R1, denominate "V1", "V2" e "V3";

Il reattivo ANTO R1 è una composizione tampone a pH 1.0, stabilizzanti e solubilizzanti. Il reattivo, a forza ionica controllata, viene utilizzato per permettere agli antociani di ionizzarsi in ambiente acido determinandone la loro concentrazione. Il metodo è infatti in grado di determinare la concentrazione di antociani ionizzati e ionizzabili, quindi liberi, con questo metodo invece non è possibile determinare gli antociani polimerizzati con le sostanze tanniche, quindi combinati. In caso di presenza di composti di natura proteica nel campione che provocano la sua torbidità, quest'ultima è eliminata dagli stabilizzanti presenti nella composizione del reattivo.

Per questa analisi sono stati utilizzati: micropipette automatiche, cuvette in quarzo, provette, agitatore (vortex), dispositivo riscaldante.

Dopo aver pipettato le diverse concentrazioni nelle provette, esse vanno chiuse ed agitate mediante l'utilizzo dell'agitatore elettronico Vortex e sono poste ad incubare a 37°C per 5 minuti.

Successivamente si passa alla lettura dell'assorbanza di ogni campione. A differenza dell'analisi per la concentrazione dei polifenoli in questo caso la lunghezza d'onda (λ) pari a 520 nm (talvolta è accettato anche il valore 535 nm).

Mediante la seguente formula si può determinare la concentrazione di antociani (mg/L) presenti:

$$\text{Antociani} = (Ac - Ar) \times 523$$

Dove Ac = assorbanza del campione

Ar = assorbanza del bianco

523 = costante riferita alla lettura allo spettrofotometro con λ pari a 520 nm.

Quindi questo metodo analitico è specifico per gli antociani non polimerizzati, ed è espresso in mg/l. Inoltre, grazie a questo metodo si determina la capacità degli antociani di svilupparsi in ambiente acido.

3.2 Determinazione delle sostanze volatili: tecnica GC-MS-SPME

L'estrazione in fase solida (SPME-Solid Phase Micro Extraction, *Figura 20*) consiste nell'utilizzo di una fibra polimerica in materiale come polidimetilsilossano, o altri materiali, in grado di assorbire nel campione (liquido o solido), le sostanze gassose (volatili) emesse dopo condizionamento termico. Le fibre sono in grado d'adsorbire queste sostanze volatili al loro interno. Questa fase dura per circa 5/10 minuti, in seguito queste fibre vengono inserite nell'iniettore del gascromatografo e mantenute a una temperatura tale da permettere il desorbimento del campione. Per rendere completo il desorbimento la fibra verrà mantenuta nell'iniettore per alcuni minuti. Questo permette sia il completo trasferimento delle sostanze volatili nella colonna del gascromatografo che il completo spurgo della fibra.



Figura 20: Estrazione in fase solida, SPME, inserito in un GC-MS

La gascromatografia, detta anche cromatografia in fase gassosa, si fa quando le sostanze da separare sono facilmente volatilizzabili (sostanze aromatiche del vino). I principi su cui si basa questa tecnica sono identici a quelli della cromatografia: si ha una fase (o più fasi) solida e liquida, mantenuta fissa e quindi chiamata fase stazionaria, e una fase mobile (gassosa) che trasporta i soluti. Questa tecnica, negli ultimi anni è stata portata a un livello di precisione elevatissimo, con settori di applicazione sempre più vasti, in particolare: la ricerca degli antifermentativi, residui antibiotici e infine per determinare gli aromi del vino.

La funzionalità dell'intera apparecchiatura richiede:

- colonne cromatografiche, che sono formate da tubo di acciaio inox, di diametro molto piccolo (meno di 0,6 cm) e di alcuni metri di lunghezza (fino a 20 metri) avvolto a spirale;
- una camera per l'introduzione del campione: questa ha una forma diversa in base alla natura

del campione, solido o liquido. In questo caso esso è iniettato da una siringa munita di ago (liquido).

-un termostato di precisione che mantiene la colonna cromatografica a una determinata temperatura

-il materiale di riempimento adsorbente solido attivo o inerte o liquido ad alto punto di ebollizione e bassa tensione di vapore

-un rivelatore, elemento fondamentale e sensibile dell'apparecchio, che si trova all'uscita della colonna e questo va accuratamente termostatato; questo è composto da due o più resistenze lambite da gas di trasporto e riscaldato da energia elettrica continua. Le due resistenze sono montate in modo tale che quando una è lambita dal gas di efflusso, l'altra è lambita dal gas d'ingresso, in modo tale che quando lo stesso gas lambisce le due resistenze non si crea differenza di potenziale nel ponte; la differenza si verifica quando il gas in uscita ha una composizione chimica diversa da quello d'ingresso. Il rivelatore invia un impulso al registratore scrivente, la penna traccia delle variazioni su un foglio di carta che si sposta a velocità costante, ottenendo così dei cromatogrammi (diagrammi).

-il gas, inerte (elio, azoto, argon, idrogeno) che ha il compito di trasportare la sostanza in esame volatilizzata. (fase mobile).

GASCROMATOGRAFO



Figura 21: Gascromatografo e rivelatore di massa

Con la gascromatografia possono essere applicate tre tecniche, a seconda di come vengono fatte migrare le sostanze da analizzare nella colonna. Quella che dà risultati di alta precisione è la cromatografia per eluzione. Con questo metodo il campione da analizzare è introdotto all'inizio della colonna e subisce due azioni contrastanti: l'adsorbimento da parte della fase stazionaria ed il trascinarsi da parte di quella mobile. In momenti diversi i vari componenti lasceranno la colonna separatamente a seconda della loro affinità con l'assorbente. Ne segue una cromatografia costituita da una serie di curve con una coda lunga e il fronte molto ripido. Nel secondo metodo con cromatografia per eluzione gas-liquido, il campione è sempre introdotto all'inizio della colonna e trascinato all'interno del gas inerte, i vari componenti migreranno sulla colonna con una velocità differente che dipende dalla tensione di vapore della loro soluzione nel solvente non volatile, queste che posseggono un coefficiente di ripartizione

GASCROMATOGRAFIA

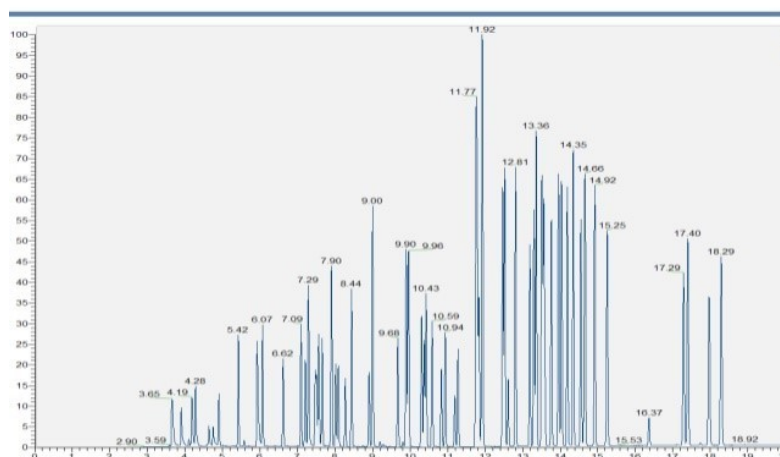


Figura 22: Esempio gascromatogramma

differente, attraversano la colonna a differente velocità, insieme al gas inerte e in tempi diversi, infine usciranno separatamente. Ne uscirà così un diagramma con una serie di curve ad andamento simmetrico. Questa è la tecnica più utilizzata in quanto permette l'impiego della stessa colonna per un numero considerevole di analisi senza ricorrere alla rigenerazione della colonna stessa. L'applicazione della gascromatografia nel settore enologico, ha permesso di studiare numerosi composti, e di isolare quelli che sono gli acidi, gli zuccheri presenti nel vino e nel mosto. Infine, ha permesso di studiare i composti odorosi delle uve aromatiche e di isolare i composti volatili del vino, per questo è risultato utile nella sperimentazione. La seconda parte dello strumento sopra descritto è costituito dallo spettrometro di massa. Esso consente di individuare molecole gassose cariche (ioni) in funzione della loro massa. Tali ioni vengono prodotti per collisione fra le molecole del gas da analizzare (se la sostanza è solida deve essere previamente vaporizzata) ed elettroni accelerati, tanto da produrre l'estrazione di uno o più elettroni dalle orbite più esterne degli atomi costituenti le molecole suddette. Gli ioni prodotti vengono estratti per mezzo di un elettrodo accelerante carico negativamente, mentre le residue molecole gassose non ionizzate vengono rimosse con una pompa aspirante tenuta in funzione

per tutta la durata dell'esperienza. Gli ioni positivi sono convogliati in una camera a vuoto mediante l'applicazione di un potente campo magnetico (H) il quale conferisce ad essi traiettorie circolari, le cui curvature, per un certo valore del campo magnetico e di campo elettrico applicati, sono funzione del rapporto fra la massa dello ione e la carica dell'elettrone. Infatti, a seguito della loro accelerazione da parte del campo elettrico, gli ioni acquistano un'energia pari al prodotto della carica dello ione per la differenza di potenziale applicata (V). Accelerati dal campo elettrico e opportunamente selezionati a seconda dei valori della velocità, gli ioni vengono sottoposti ad un campo magnetico che li obbliga a percorrere traiettorie circolari esercitando su di essi una forza costante. È quindi possibile rilevare come per valori dati di H e V il raggio della traiettoria circolare dipenda soltanto dal rapporto fra la massa e la carica dello ione e come quindi da una misura di r si possa determinare, nota la carica, anche la massa. Viceversa, si può, disponendo per come è costruito l'apparecchio di un solo valore di r utile a portare gli ioni sul sistema di rivelazione, focalizzare successivamente su tale sistema ioni caratterizzati da valori differenti del rapporto massa/carica: ciò si realizza variando con continuità H oppure V . Il collettore è connesso ad un apparato elettronico di misura che comanda a sua volta un registratore grafico.

Capitolo 4: RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE, ANALISI E CONFRONTI DEI RISULTATI OTTENUTI

I seguenti 3 vini sono stati sottoposti ad analisi:

Campione 1: Merlot 100% IGT Marche rosso 2020, Tenuta Santi Giacomo e Filippo, affinato in legno stagionato/essiccato naturalmente.

Campione 2: Merlot 100%, IGT Marche rosso 2020, “La Monacesca”, affinato in barrique

Campione 3: Merlot 100%, IGT Terre di Chieti, affinato in acciaio

Per ogni campione sono state eseguite 3 letture dei seguenti parametri: pH, glucosio-fruttosio, antociani e polifenoli. Nelle tabelle 4-7 è riportato il valore medio e la deviazione standard.

4.1 pH

Dall’analisi di misurazione del pH sono stati ottenuti i seguenti risultati sperimentali:

CAMPIONE	pH
1	$3,63 \pm 0,04$
2	$3,57 \pm 0,06$
3	$3,49 \pm 0,09$

Tabella 4: Risultati sperimentali pH

I valori standard di pH dei vini rossi variano da 3,3 a 3,8 (da Pisciotta G., 2019, dal sito web <https://www.rivistadiagraria.org/articoli/anno-2019/determinazione-del-ph-del-vino/>), quindi i risultati sperimentali sono perfettamente in linea. Valori bassi di pH sono un fattore positivo in quanto conferiscono al vino maggiore stabilità microbiologica chimica e fisica, inoltre il pH migliora la stabilità degli antociani: infatti più il pH è basso più il colore del vino tende al violaceo ed è più brillante. Anche il clima influisce sul pH, valori più bassi, compresi tra 2,9 e 3,4 sono tipici vini ottenuti da uve coltivate in regioni climatiche fredde, come nel caso del campione 3, mentre valori superiori a 3,6 sono tipici di zone calde. Per quanto riguarda l’influenza del pH sul profilo sensoriale del vino, valori più bassi (<3,3) influiscono negativamente in quanto incrementano la sensazione di tannico, amaro e sensazione acida.

4.2 Glucosio- fruttosio

Dall'analisi spettrofotometrica effettuata per la determinazione di glucosio-fruttosio sono stati ottenuti i seguenti dati sperimentali:

CAMPIONE	RISULTATI
1	1,64 ± 0,03 g/L
2	1,43 ± 0,09 g/L
3	>10 ± 0,12 g/L

Tabella 5: Risultati sperimentali glucosio/fruttosio

Dalla letteratura per vini analoghi si evidenziano valori nell'intervallo di 1-2 g/L per vini secchi e di 10 g/L per vini dolci (prevalentemente fruttosio) (Dugo G. et al., 2004), e anche qui si osservano valori sperimentali in linea con la letteratura. Il terzo campione contiene quantitativi di fruttosio/glucosio così elevati da finire oltre l'intervallo di linearità della retta di taratura, si suppone tuttavia che il quantitativo di glucosio/fruttosio si aggiri attorno ai 17 g/L.

4.3 Antociani

Dall'analisi spettrofotometrica effettuata per la determinazione degli antociani sono stati ottenuti i seguenti dati sperimentali:

CAMPIONI	RISULTATI
1	456,9 mg/L
2	454,6 mg/L
3	206,6 mg/L

Tabella 6: Risultati sperimentali antociani

I risultati in letteratura ottenuti per lavori analoghi evidenziano valori di antociani che, per alcuni Merlot, si trovano nell' intervallo 120-200 mg/l (Alderighi, 2012, da sito web <https://www.teatronaturale.it/strettamente-tecnico/mondo-enoico/13394-evoluzione-del-colore-nel-vino-rosso-in-invecchiamento.htm>). Dalle sperimentazioni e dai risultati si è notato che nei campioni 1 e 2, che sono affinati in legno, ci sono quantitativi superiori di antociani, anche superiori a quanto riportato in letteratura. Infatti, si tratta di campioni di annate 2020, e come riportato da diversi testi, si prospetta che nei mesi seguenti, con la fine della fermentazione malolattica, l'intensità colorante dei vini evolva: incrementandosi più o meno velocemente.

L'arieggiamento gioca un ruolo fondamentale in questa fase: se il vino è conservato al riparo dall'aria, la sua intensità colorante rimane stabile; invece in caso di arieggiamento, l'intensità colorante aumenta nettamente, ma al contrario la quantità di antociani diminuisce. (Pontallier, 1981). Le condizioni di arieggiamento condizionano solo le forme libere degli antociani, mentre le forme combinate ai tannini restano stabili ed il loro contributo percentuale al colore aumenta regolarmente con l'arieggiamento. Nel complesso gli antociani totali diminuiscono, ma il quantitativo di sostanze coloranti aumenta: si spiega così l'incremento di sostanze coloranti. Il contenuto di questi composti varia infatti sensibilmente con l'età dei vini e con la natura delle varietà da cui derivano: da 100 mg/L (Pinot) a 1500 mg/L (Syrah, Cabernet Sauvignon). Gli antociani, come sopra già riportato, durante la vinificazione diminuiscono, durante l'affinamento e poi l'invecchiamento del vino, fino ad arrivare a valori compresi nell'intervallo 0-50 mg/L. Molti antociani però si combinano con i tannini del vino per formare una classe di molecole colorate più stabili, questi però non vengono rilevati con metodi cromatografici. Una parte di antociani nel corso della vinificazione quindi scompare sia per degradazione sia per l'azione di agenti esterni (temperatura, luce, ossigeno). Questa riduzione di antociani è pregiudizievole per la qualità del vino, in quanto essa comporta la diminuzione del colore.

4.4 Polifenoli

Dall'analisi spettrofotometrica effettuata per la determinazione dei polifenoli sono stati ottenuti i seguenti risultati sperimentali:

CAMPIONI	POLIFENOLI
1	2,48 ± 0,10 g/L
2	2,50 ± 0,15 g/L
3	2,06 ± 0,24 g/L

Tabella 7: Risultati sperimentali polifenoli

Secondo alcuni ricercatori il tenore in polifenoli di alcuni Merlot toscani varia da 2.0 a 2.9 g/L di polifenoli, quindi i dati sperimentali sono in linea. (F. Giannetti et al., 2017).

I polifenoli, come tutte le sostanze fenoliche e gli antociani, diminuiscono nel corso dell'affinamento. Il tenore di polifenoli totali varia in base alla cultivar e alla tecnica di vinificazione, in quanto queste sostanze vengono accumulate nell'acino durante la sua maturazione. Le macerazioni (contatto delle bucce con il mosto) più o meno durature possono influenzare il contenuto di sostanze fenoliche nel vino. Le sostanze fenoliche nel vino comprendono vari composti tra cui gli antociani, descritti nel paragrafo precedente: infatti dai risultati delle analisi notiamo un andamento simile dei due parametri, notando quindi una stretta correlazione.

4.5 Sostanze volatili

Si riporta di seguito il profilo delle sostanze volatili determinato nei vari vini utilizzando la tecnica cromatografica SPME-GC-MS:

		Legno stagionato (campione 1)		Barrique (campione 2)		Commerciale (campione 3)	
ret time	Compound	Area %	RSD%	Area %	RSD%	Area %	RSD%
10,431	Decane						
11,58	<i>ethyl butyrate</i>	0,24	16,23	0,32	9,82	0,28	1,96
12,095	<i>Propanol</i>	0,08	24,31	0,37	2,62	0,13	20,58
12,329	<i>ethyl 2-methyl butyrate</i>	0,09	8,42	0,19	0,59	0,23	0,54
13,057	<i>butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester</i>	0,13	24,28	0,12	11,14	0,10	3,13
14,873	<i>Isobutanol</i>	2,28	6,78	2,13	6,39	1,56	0,32
15,179	Unedecane						
15,528	<i>isoamyl acetate</i>	1,95	10,64	1,53	0,17	3,39	0,25
17,438	<i>Butanol</i>	0,06	8,01	0,04	14,44	0,07	18,71
20,286	Undodecane						
20,949	<i>isoamyl alcohol</i>	40,50	9,17	38,64	5,57	28,67	0,02
21,58	<i>ethyl hexanoate</i>	5,20	20,01	4,72	22,12	7,47	1,02
23,614	<i>acetic acid, hexyl ester</i>	0,03	13,07	0,02	6,19	0,03	1,95
24,603	<i>3-hexenoic acid ethyl ester</i>	0,00		0,00		2,47	0,01
25,706	Tridecane						
26,913	<i>ethyl heptanoate</i>	0,07	22,60	0,07	19,99	0,04	17,05
27,114	<i>7-methyl-1-octene</i>	0,08	14,27	0,59	2,94	0,05	5,63
27,4	<i>ethyl lactate</i>	0,62	32,14	0,59	10,63	0,80	1,36
28,008	<i>trans-rose oxide</i>	0,02	12,45	0,02	26,51	0,01	14,44
28,446	<i>Hexanol</i>	0,58	22,80	0,47	6,32	0,72	3,08
29,757	<i>methyl octanoate</i>	0,06	9,23	0,07	1,16	0,10	14,19
30,911	Tetradecane						
32,338	<i>ethyl octanoate</i>	17,96	19,12	15,48	0,14	25,89	0,12
32,726	<i>acetic acid</i>	0,87	19,01	0,53	0,78	0,82	6,06
33,483	<i>isopentyl hexanoate</i>	0,05	7,27	0,04	25,50	0,07	11,73
34,668	<i>7-Octenoic acid, ethyl Ester</i>	0,05	9,67	0,01	141,42	0,14	16,83
35,5	<i>formic acid</i>	0,00		0,00		1,56	1,48
35,952	Pentadecane						
37,246	<i>nonanoic acid ethyl ester</i>	0,05	5,87	0,06	15,04	0,05	10,74
37,91	<i>Linalool</i>	0,12	18,23	0,09	9,60	0,12	7,45
38,564	<i>isopropanoic acid</i>	0,10	17,47	0,11	15,28	0,06	26,28
38,667	<i>Octanol</i>	0,09	26,34	0,08	13,56	0,07	13,43
38,791	<i>isoamyl lactate</i>	0,08	25,42	0,05	8,44	0,07	10,79
40,056	Hexadecane						
40,279	<i>Butyrolactone</i>	0,08	7,77	0,13	23,73	0,05	23,90
40,429	<i>butanoic acid</i>	0,04	6,08	0,02	22,98	0,03	6,85
40,828	<i>ethyl decanoate</i>	4,88	6,60	5,95	2,03	6,27	0,24
41,225	<i>2-furanmethanol</i>	0,03	20,97	0,07	91,70	0,02	6,76
41,291	<i>Octanoic acid, 3-methylbutyl ester</i>	0,07	22,98	0,07	22,63	0,09	10,16
41,409	<i>isobutanoic acid</i>	0,35	24,04	0,26	0,29	0,18	16,19
41,583	<i>diethyl succinate</i>	5,91	7,29	6,04	1,37	4,33	0,48
41,883	<i>ethyl 9-decenoate</i>	0,08	3,21	6,06	0,29	0,48	5,26
42,078	<i>cyclohexene 1 methyl 4-(1-methylethylidene)</i>	0,05	22,34	0,05	4,28	0,21	32,50

42,253	Heptadecane						
42,442	3-(methylthio)- propanol	0,12	12,69	0,09	6,18	0,07	24,37
43,187	methyl salicylate	0,08	5,22	0,08	17,88	0,07	0,55
43,279	Citronellol	0,08	14,56	0,08	46,93	0,00	
43,38	benzeneacetic acid, ethyl ester	0,07	4,35	0,05	38,34	0,11	5,98
43,558	Succinic acid, ethyl 3-pentyl ester	0,05	4,54	0,04	31,70	0,04	10,43
43,791	Octadecane						
43,815	acetic acid, 2-phenylethyl ester	0,41	9,42	0,48	13,36	0,59	0,05
43,957	4-ethylbenzoic acid, 2-butyl ester	0,06	33,39	0,03	32,44	0,07	6,13
44,164	hexanoic acid	0,43	6,12	0,33	19,68	0,49	17,81
44,228	ethyl dodecanoate	0,44	3,56	1,42	23,74	0,27	28,53
44,465	pentyl decanoate	0,06	62,44	0,05	35,58	0,04	1,73
44,603	benzyl alcohol	0,07	23,20	0,05	17,08	0,06	4,03
44,693	Nonadecane						
44,881	2,4-difluoroaniline	0,50	20,24	0,14	37,85	0,22	3,16
45,047	phenylethyl alcohol	11,63	5,52	8,96	19,32	6,13	1,45
45,327	heptanoic acid	0,08	16,31	0,06	45,92	0,07	7,25
45,764	butanoic acid 2-methyl 2 phenylethyl ester	0,05	1,00	0,23	62,09	0,09	5,12
45,925	Eicosane						
46,072	4-ethyl-2-methoxy-phenol	0,18	24,19	0,04	23,13	0,26	1,78
46,121	Nerolidol	0,09	1,72	0,09	5,37	0,06	2,81
46,233	Octanoic acid	1,33	8,37	1,07	1,33	1,82	0,32
46,35	Heneicosane						
46,354	3-(butylthio)-1,2-propanediol	0,06	0,94	0,07	4,81	0,07	3,69
46,725	N-methyl-octadecanamine	0,07	23,66	0,04	55,79	0,02	4,28
47,05	nonanoic acid	0,09	1,20	0,12	2,61	1,19	0,15
47,139	4-ethyl phenol	0,21	20,77	0,08	19,42	0,11	18,60
47,162	Docosane						
47,774	ethyl hexadecanoate	0,30	32,84	0,35	41,91	0,48	10,16
47,822	decanoic acid	0,33	3,52	0,29	31,65	0,68	5,74
47,947	Tricosane						
48,235	geranic acid	0,09	41,88	0,23	8,00	0,20	12,10
48,666	ethyl hydrogen succinate	0,21	21,67	0,25	42,02	0,09	16,34
48,795	Tetracosane						
49,469	dodecanoic acid	0,08	8,2337 52	0,20	2,79	0,07	6,70
49,829	Pentacosane						

Tabella 8: Analisi gascromatografiche con aree e RSD%

Dalle analisi dei dati sperimentali è possibile evidenziare come vi siano sostanze volatili che si equivalgono in presenza, che non prendiamo in considerazione in quanto poco significative, mentre in altre è possibile evidenziare un andamento ben definito, considerando le tre tipologie d'affinamento, e per le quali è possibile effettuare qualche considerazione. In particolare:

- Si ha una maggiore presenza delle seguenti sostanze per il vino in legno stagionato: etil-2-metilbutirrato (aroma fruttato, fragola), isobutanolo, isoamilalcolool (aroma erbaceo, grappa), acido acetico (pungente), acido isobutanico, 2,4 difluoroanilina, feniletalcolool, 4 etil fenolo (note affumicate ma anche aroma di cuoio e di stalla).
- Per quanto riguarda la barrique: propanolo, 7-metil-1-octene, butirrolattone (aroma crosta del pane), dietilsuccinato, etil-9-decanoato, etil dodecanoato (aroma di pesche ed ananas), acido geranico, etilidrogenosuccinato, acido dodecanoico.
- Per quanto riguarda l'acciaio: isoamilacetato (banana), etilesanoato (ananas), acido 3 esanoico etil estere, esanolo, acido formico, etildecanoato (aroma pesche, ananas), cicloesene, 1 metil 4(1 metiletildene), acido acetico, 2 fenil etil estere, acido esanoico (sudore, pungente, formaggio, rancido), 4 etil 2 metossifenolo, acido ottanoico (rancido, formaggio), acido nonanoico, etilesadecanoato, acido decanoico.

Dai dati sperimentali è emerso che il legno e la barrique rilasciano più aromi caratteristici nel vino, di natura più fruttata nella barrique ed erbacea nel legno, mentre c'è un rilascio di aromi di ananas, banana, pesche nell'acciaio, ma allo stesso tempo c'è un rilascio di acidi con aromi sgradevoli (rancido, formaggio). (Cano-López et al. 2008, Bautista-Ortín et al. 2008, Prieto et al. 2012, Espitia- López et al. 2018, Jarauta, Cacho, and Ferreira 2005).

Dal confronto tra i dati sperimentali di questo lavoro di tesi ed altri dati sperimentali ottenuti da lavori analoghi sui vini rossi Merlot, si è riscontrato quanto segue:

- Il 4 etil fenolo, come tutti gli altri etilfenoli, si possono trovare nei vini Merlot affinati in legno. La sua presenza è dovuta principalmente alla mancata pulizia e usura del legno. Inoltre, è possibile trovare queste sostanze in vini giovani che non sono stati ancora stabilizzati e in vini dove la fermentazione malolattica avviene spontaneamente. (Cano-López et al. 2008) (Bautista-Ortín et al. 2008)
- I lattoni, ed in particolare il butirrolattone, sono aromi caratteristici dell'affinamento in legno. Questo si trova in maggior quantità in serbatoi piccoli, come nel caso della barrique. (Bautista-Ortín et al. 2008)
- Si è riscontrato anche che i sentori di legno mascherano quelli erbacei presenti in minore quantità. È stato evidenziato anche il contrario, cioè là dove siano prevalenti gli aromi erbacei, quelli derivanti dal legno vengono coperti. (Cano-López et al. 2008)

- Nell'affinamento in acciaio si è evidenziata una maggiore presenza di aromi fruttati con sentori tipici di banana (isoamilacetato), ananas (etilesanoacetato), pesche (etiloctanoato, etildodecanoato, etildecanoato) (Cano-López et al. 2008), anche se questi nel corso dell'affinamento tendono a diminuire (Prieto et al. 2012) (Espitia-López et al. 2018)
- Per quanto riguarda la presenza di linalolo non si è riscontrata alcuna differenza sostanziale tra l'affinamento in acciaio e quello in legno (Jarauta, Cacho, and Ferreira 2005)

CONCLUSIONI

Lo scopo della tesi è quello di dimostrare come l'affinamento di un vino influenza il suo profilo sensoriale e aromatico. Dalle sperimentazioni eseguite si è giunti alle seguenti considerazioni: i vini hanno dei tenori di pH corrispondenti a quelli tipici dei vini rossi, compresi tra 3,4 e 3,6. Le minime differenze riscontrate nei vari campioni derivano dalle condizioni climatiche dei territori di provenienza dei differenti vini. Per quanto riguarda il tenore zuccherino nell'analisi sperimentale si è notato che ci troviamo di fronte a due vini secchi e un vino dolce, e in tutti e 3 i campioni abbiamo ottenuto valori in linea con quelli ottenuti da analoghi lavori in letteratura sui vini rossi Merlot, con residui zuccherini di 1-2 g/L per vini secchi e residui zuccherini di oltre 10 g/L per vini dolci. Essendo vini provenienti da due regioni differenti, con condizioni differenti di temperatura, piovosità e tecniche di lavorazione, questi influenzano la maturazione del grappolo, il tenore zuccherino nell'uva e il conseguente residuo nel vino. Per quanto riguarda gli antociani e i polifenoli si è osservato un andamento abbastanza simile dei tre campioni: questo è dovuto al fatto che i polifenoli totali nel corso della maturazione e affinamento di un vino diminuiscono in quanto tendono a legarsi ad altre sostanze e quindi a polimerizzare, dando prevalenza alle forme coniugate rispetto a quelle libere. I risultati ottenuti sono quindi analoghi ad altre sperimentazioni scientifiche già svolte in precedenza. Per quanto riguarda la parte gascromatografica, riguardante le sostanze aromatiche del vino nei tre campioni, si è osservato che dai differenti affinamenti emergono sostanze aromatiche caratteristiche. L'acciaio tende ad accentuare gli aromi fruttati, floreali e vegetali, appartenenti principalmente alla classe degli aromi primari e secondari. Il legno invece tende a rilasciare aromi caratteristici di cuoio e crosta di pane tipici del legno, ma anche aromi di fruttato come la fragola, caratteristico del vitigno Merlot.

In conclusione, l'affinamento influenza gli aromi finali del vino: l'acciaio accentua quelli che sono gli aromi caratteristici della varietà, dando un ridotto contributo al profilo aromatico terziario del vino o a volte non influenzandolo per niente. Il legno, a sua volta, influenza molto il profilo terziario di un vino, non mascherando però quelli che sono i suoi aromi varietali principali.

BIBLIOGRAFIA

- Bautista-Ortín, A. B., A. G. Lencina, M. Cano-López, F. Pardo-Mínguez, J. M. López-Roca, and E. Gómez-Plaza. 2008. "The Use of Oak Chips during the Ageing of a Red Wine in Stainless Steel Tanks or Used Barrels: Effect of the Contact Time and Size of the Oak Chips on Aroma Compounds." *Australian Journal of Grape and Wine Research* 14 (2): 63–70. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00008.x>.
- Belli. M., Centioli.D., De Lonzi.P., Sansone.V., Capri.S., Pagnotta. R., Pettine.M, Metodi analitici per le acque. Apat-Manuali e linee guida 29/2003,1.
- Bergmeyer H.U., 1984, ed.3, "Methods of enzymatic analysis", vol. VI, pp. 163 - 171.
- Cano-López, Marta, Ana B. Bautista-Ortín, Francisco Pardo-Mínguez, Jose M. López-Roca, and Encarna Gómez-Plaza. 2008. "Sensory Descriptive Analysis of a Red Wine Aged with Oak Chips in Stainless Steel Tanks or Used Barrels: Effect of the Contact Time and Size of the Oak Chips." *Journal of Food Quality* 31 (5): 645–60. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2008.00226.x>.
- Capelli.P., Vannucchi.V., 2014, Enologia. Zanichelli
- Dugo G., Salvo F., La Torre G. L., Giuffrida D., Pellicanò T. M., Vilasi F., 2004, "Profilo polifenolico e monitoraggio dell'attività antiossidante in vini siciliani". *L'enologo*
- Espitia-López, J., H. Luna, H. B. Escalona-Buendía, and J. R. Verde-Calvo. 2018. "Identification, Quantification, and Sensory Profile of Esters and Alcohols of a Mexican Red Merlot Wine Comparing Barrel Ageing with Wood Chips, Using a Multivariable Analysis." *Journal of Food Processing and Preservation* 42 (2): 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13433>.
- Folin. O and V. Ciocalteu., J. Biol. 1927, Chem, 73, pp 627-650
- Folin. O and W. Denis, J. Biol. 1912, Chem 12, pp 239-243
- Fregoni. M., Fregoni. C., Ferrarini. R., Spagnolli. F., 2006, Chimica viticolo - enologica, - *Elementi per la didattica di settore*. Reda

- Gambutì.A., Capuano. R., Lisanti. M. T., Strollo. D., Moio. L. 2010. Effect of aging in new oak, one-year-used oak, chestnut barrels and bottle on color, phenolics and gustative profile of three monovarietal red wines, *Eur Food Res Technol* pp.455–465, DOI 10.1007/s00217-010-1292-9
- Giannetti F., Epifani A.M., Puccioni S., Zombardo A., Martini G., Storchì P. Effetti dei tempi di macerazione sulla composizione fenolica e l'evoluzione del colore in vini prodotti da diverse varietà di uva. www.infowine.it: Rivista internet di viticoltura ed enologia. 2017 n.8/1
- Nicolini.G., Mocchiutti.R., Larcher.R., Moser.S., 2000, Lieviti ed aromi dei vini: comparazione tra ceppi commerciali di larga diffusione. Associazione enologi enotecnici italiani
- Jarauta, Idoia, Juan Cacho, and Vicente Ferreira. 2005. "Concurrent Phenomena Contributing to the Formation of the Aroma of Wine during Aging in Oak Wood: An Analytical Study." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (10): 4166–77. <https://doi.org/10.1021/jf0481960>.
- Piombino.P., Pessina. R., Genovese. A. 2004, Gli odori di frutti di bosco dell'aroma del vino. Pt II: Analisi strumentale. *L'Enologo*
- Prieto, N., M. L. Rodríguez-Méndez, R. Leardi, P. Oliveri, D. Hernando-Esquisabel, M. Iñiguez-Crespo, and J. A. de Saja. 2012. "Application of Multi-Way Analysis to UV-Visible Spectroscopy, Gas Chromatography and Electronic Nose Data for Wine Ageing Evaluation." *Analytica Chimica Acta* 719: 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.009>.
- Raccolta dei metodi internazionale di analisi dei vini O.I.V, ed. 2005, vol 1
- Ribéreau-Gayon. P., Dubourdieu. D., Donéche. B., Lonvaud. A. 2017. Trattato di enologia I, - *Microbiologia del vino - Vinificazioni*. Edagricole
- Ribéreau-Gayon. P., Glories. Y., Mausean. A., Dubordieu. D. 2018. Tratto di enologia II, - *Chimica del vino - stabilizzazioni - trattamenti*. Edagricole
- Rigou.P., Mekoue. J., Sieczkowski.N. 2020. Impact of industrial yeast derivative products on the modification of wine aroma compounds and sensorial profile. *Food Chemistry*. DOI [10.1016/j.foodchem.2021.129760](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129760)
- Saracco. C., Raffo. E., 2010, Manuale per le analisi dei mosti e dei vini. Edizione agricole
- Singleton. V. L and J. A. Rossi jr, *Am, J.* 1965. of enology and viticulture 16, pp 144-158
- Suzzi. G., Tofalo. R., 2018, *Microbiologia enologica*. Edagricole

T, L Enotecnico T Ottobre. n.d. “Tioli Varietali: Come Massimizzarli Dal Vigneto Alla Bottiglia,” 1–10.

Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, 1994. Burtis - Ashwood

Torre, G Loredana La, Teresa M Pellicanò, and Monitoraggio Dell Attività. 2004. “Profilo polifenolico e antiossidante in vini siciliani.”

Vincenzini. M., Romano. P., Farris. G. A., 2005, Microbiologia del vino. Casa Editrice Ambrosiana

SITOGRAFIA

<https://fabio13280.wordpress.com/2016/07/02/i-difetti-del-vino/>

<https://italysfinestwines.it/aromi-vino/#12>

https://vinoeviticultura.altervista.org/gli-aromi-varietali/https://winenews.it/it/troppa-anidride-solforosa-rovina-gli-aromi-dei-vini_319809/

<https://www.enotecalecantinedeidogi.com/blog/2011/02/i-profumi-terziari-del-vino/>

<https://www.greenwine.it/it/blog/articolo/32/il-vino-in-anfora-storia-e-futuro-delle-anfore-in-terracotta-in-vinificazione/#:~:text=Generalmente%20il%20vino%20rimane%20in,frontiera%20da%20sperimentare%20per%20altri.>

<https://www.intravino.com/grande-notizia/terracotta-e-vino-a-che-punto-siamo-report-dallimpruneta-in-5-punti-e-vari-assaggi/>

<https://www.lemarche.com/struttura/tenuta-santi-giacomo-e-filippo-wine-estate/>

<https://www.microbiologiaitalia.it/micologia/a-tutta-birra-4-lorigine-degli-aromi/>

<https://www.millevigne.it/tioli-ci-sono-anche-nei-vini-rossi/>

<https://www.quattrocalici.it/conoscere-il-vino/affinamento-del-vino/>

<https://www.quattrocalici.it/conoscere-il-vino/i-profumi-nel-vino-e-la-loro-origine/>

<https://www.rivistadiagraria.org/articoli/anno-2019/determinazione-del-ph-del-vino/>

<https://www.sommelierwinebox.com/2020/09/13/cosa-ce-da-sapere-sullaffinamento-del-vino/>

<https://www.tava.it/it>

<https://www.teatronaturale.it/strettamente-tecnico/mondo-enoico/13394-evoluzione-del-colore-nel-vino-rosso-in-invecchiamento.htm>

https://www.unimontagna.it/web/uploads/2017/07/Rodegher-Elaborato-finale_PROTETTO.pdf

<https://www.viniferare.it/la-vinificazione/>

<https://www.winesurf.it/inchiesta-sulle-vasche-cemento-cosa-ne-pensano-produttori-enologi-consumatori/>

RINGRAZIAMENTI

Ci tenevo a ringraziare pubblicamente tutte le persone che sono state vicine a me in questo periodo, in particolare tutta la mia famiglia. I professori che mi hanno aiutato in questo percorso. La cantina “Tenuta Santi Giacomo e Filippo” di Urbino (PU) e in particolare Marco Tomasetti il cantiniere e Marianna Bruscoli, per il tempo e lo spazio dedicatomi. La cantina “La Monacesca” di Matelica (MC), il cantiniere e tutto lo staff dirigenziale. Ringrazio il professore Lorenzo Lippi dell’istituto agrario G. Garibaldi di Macerata (MC) per avermi fornito libri di testo e materiale su cui ho potuto lavorare.

Infine, ringrazio tutto il personale di laboratorio che mi ha assistito, i futuri PhD Edoardo Bartolucci ed Ancuta Nartea ed i professori Deborah Pacetti e Roberto Potentini.