

in cantina

CONSORZIO
TUSCANIA

Vista dall'alto
della cantina
sperimentale
del Consorzio
Toscana.

LE INTERAZIONI

CHE FANNO LA DIFFERENZA

□ LUCA CALAMAI**, FEDERICO VALORI*,
IRENE LOZZI*, STEFANO DI BLASI***,
ALESSANDRA BIONDI BARTOLINI***

DAI PROFILI AROMATICI DEI VINI È POSSIBILI DEDURRE
GLI EFFETTI DOVUTI ALL'INTERAZIONE TRA TECNICHE
ENOLOGICHE DIVERSE. CON UN APPROCCIO INNOVATIVO
RISPETTO A QUELLO CHE VALUTA LE PRATICHE
ENOLOGICHE SINGOLARMENTE

Uno degli obiettivi enologici principali nella
moderna produzione vinicola è quello di riu-
scire a ottenere e preservare il massimo livel-
lo qualitativo rispetto alla potenzialità intrin-
seca delle uve di partenza.

La professionalità del produttore e dell'eno-
logo sta nella capacità di associare tecniche



LE TECNICHE ENOLOGICHE TESTATE

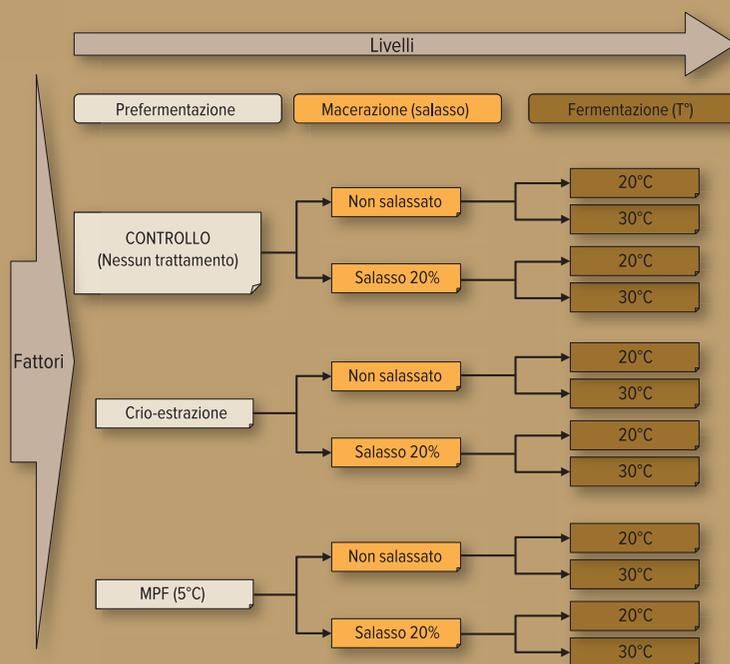


Fig. 1 - Schema sperimentale dei trattamenti enologici di cui sono state valutate le interazioni nella presente sperimentazione.



di vinificazione e affinamento diverse sulla base delle caratteristiche delle uve, allo scopo di ottenere un risultato qualitativo atteso. Le tecniche scelte nella definizione dei protocolli di vinificazione riguardano fasi e ambienti diversi, dalle tecniche prefermentative (gestione delle uve alla raccolta, temperature di conservazione, trattamenti termici ed enzimatici) alla gestione delle fermentazioni (temperature di fermentazione, scelta dei ceppi di lievito, strategie nutrizionali e ossigenazioni) e infine naturalmente, parlando di vini rossi, all'estrazione del colore (tecniche di estrazione, durata della macerazione, frequenza delle operazioni ecc.).

Nella maggior parte dei casi la combinazione con cui le tecniche vengono associate deriva dall'esperienza del professionista e dai risultati positivi o negativi ottenuti con l'uso di una o dell'altra su uve più o meno simili a quelle che ci si trova a dover trasformare.

Del resto è vero anche che dal punto di vista sperimentale i lavori di ricerca hanno avuto sempre come obiettivo quello di valutare l'effetto o l'efficacia dell'una o dell'altra tecnica, applicata a una fase di produzione, possibilmente su uve con caratteristiche diverse, ma nella maggior parte dei casi standardizzando le tecniche applicate alle altre fasi del processo.

Difficilmente ci si è chiesti se i risultati di due o più tecniche enologiche applicate a fasi diverse del processo siano assimilabili o anche sinergici o se al contrario agiscono in senso opposto ai fini del risultato finale.

In altri termini (e in parte banalizzando il problema), se con la macerazione prefermentativa a freddo si ottengono risultati aromatici interessanti e con la tecnica del délestage si sono sempre avuti vini colorati e gustativamente equilibrati, associando le due tecniche avremo vini profumati e colorati o si otterranno risultati ancora diversi?

Conoscere le relazioni causa-effetto delle varie tecniche enologiche disponibili, allo scopo di combinarle correttamente nella costruzione dei protocolli di vinificazione, rappresenta quindi un approccio enologico innovativo e tecnicamente corretto.

Nel progetto del Consorzio Toscana si sono combinate tecniche enologiche diverse e applicate a tre diverse fasi della vinificazione: le fasi prefermentative, la fermentazione e la macerazione.

IL PROGETTO SPERIMENTALE

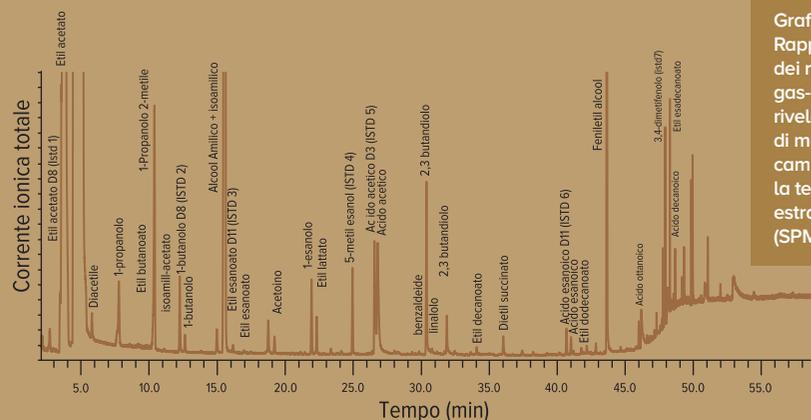
Gli obiettivi del progetto sperimentale di cui la ricerca qui descritta è parte sono: a) stabilire un criterio scientifico da utilizzare nella scelta delle diverse tecnologie da asso-

ciare al fine di costruire un protocollo di vinificazione; b) identificare metodi analitici fini in grado di descrivere e discriminare le differenze che da tali tecnologie si possono generare.

Per perseguire tale obiettivo si è scelto un approccio di tipo multidisciplinare che coinvolge Istituti di Ricerca specializzati in varie discipline, dalla chimica analitica all'ingegneria agraria, dalla microbiologia enologica alla statistica applicata, in modo da spiegare con



I RISULTATI DELLA SPETTROMETRIA DI MASSA



Graf. 1 Rappresentazione grafica dei risultati dell'analisi gas-cromatografica con rivelazione in spettrometria di massa mediante campionamento con la tecnica della micro-estrazione in fase solida (SPME).



diversi approfondimenti tutti gli aspetti della sperimentazione enologica.

Il progetto, coordinato dal Consorzio Toscana, ha come partner scientifici diversi istituti e strutture dell'Università di Firenze, il Cism (Centro Interdipartimentale di Spettrometria di Massa), il Dssnp (Dipartimento di Scienza del Suolo e Nutrizione della Pianta), il Diaf (Dipartimento di Ingegneria Agraria e Forestale), il Diba (Dipartimento di Biotecnologie Agrarie) e il Cirve (Centro Interdipartimentale di Ricerca per la Valorizzazione degli alimenti).

Nella sperimentazione sono state messe a confronto, in un esperimento comparativo su scala di cantina con vasche da 10 ettolitri, alcune tecniche enologiche capaci di determinare possibili incrementi qualitativi in un vino ottenuto da uve Sangiovese.

Per mettere in evidenza le differenze risultanti dai vari trattamenti, è stato necessario disporre di uva di partenza omogenea, cosa ottenuta raccogliendo separatamente le uve provenienti da aree diverse del vigneto (individuate sulla base delle mappe di vigore ottenute da foto aerea) e randomizzandole in modo proporzionale.

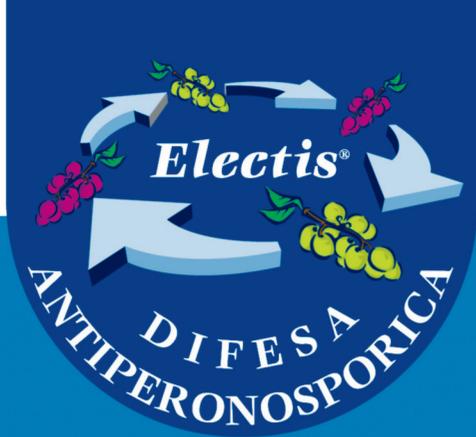
Lo schema sperimentale dei trattamenti enologici in cantina è riportato in figura 1.

Il trattamento di criomacerazione prefermentativa (CRIO) è stato effettuato con un crioestrattore della ditta Parsec funzionante ad azoto liquido. Le uve diraspate, deposte in mono-strato su di un tapis-roulant in maglia d'acciaio inox, vengono fatte avanzare in un tunnel dove l'azoto liquido viene spruzzato a pressione sulla superficie degli acini, causando uno *shock col freddo* delle cellule dell'epidermide.

La macerazione prefermentativa a freddo (MPF) è stata ottenuta raffreddando il pigiato immediatamente dopo il riempimento delle vasche, mediante lo scambio termico delle camicie refrigeranti, fino alla temperatura di 5°C, alla quale è stato lasciato per un periodo di 48 ore. Successivamente la temperatura è stata riportata rapidamente a 20 o 30°C (a seconda della tesi prevista). Per le prove di salasso è stato allontanato dalle vasche il

I COMPOSTI VOLATILI INDIVIDUATI					
Composto	Classe	Fattore			Interazione temperatura x macerazione
		Macerazione prefermentativa	Temperatura di fermentazione	Salasso	
1,1 dietossietano	esteri	ns	ns	ns	ns
etil acetato	esteri	ns	20°C ↑	ns	ns
etil propanoato	esteri	ns	20°C ↑	ns	ns
diacetile	chetoni	MPF ↑	ns	ns	ns
acetoino	OH-chetoni	ns	30°C ↑	ns	ns
1-propanolo	alcoli	ns	ns	ns	ns
1-butanolo	alcoli	ns	ns	ns	Crio x 20°C ↑
1-Propanolo, 2-metile	alcoli	Controllo ↑	ns	ns	ns
alcool amilico+isoamilico	alcoli	ns	ns	ns	ns
isoamil acetato	alcoli	MPF ↓	20°C ↑	ns	ns
etil esanoato	esteri	ns	20°C ↑	ns	ns
decanoato di etile	esteri	ns	ns	ns	ns
dietil succinato	esteri	ns	30°C ↑	ns	ns
dodecanoato di etile	esteri	ns	ns	ns	ns
Esadecanoato di etile	esteri	ns	ns	ns	ns
1-esanolo	Alcoli	CRIO ↑	ns	S ↑	ns
β-damascenone	isoprenoidi	ns	ns	ns	ns
1-Octanolo	alcoli	ns	ns	ns	ns
1-Dodecanol	alcoli	ns	ns	ns	ns
acido acetico	acidi	ns	ns	ns	ns
acido esanoico	acidi	ns	ns	ns	ns
acido ottanoico	acidi	ns	ns	ns	ns
acino n-decanoico	acidi	ns	ns	ns	ns
acido n-dodecanoico	acidi	ns	ns	ns	ns
acido benzoico	acidi	ns	ns	ns	ns
tetradecanoico	acidi	ns	ns	ns	ns
acido esadecanoico	Acidi	ns	ns	ns	ns
geraniolo	isoprenoidi	ns	30°C ↑	ns	ns
linalolo	isoprenoidi	ns	ns	ns	ns
alfa terpineolo	isoprenoidi	ns	ns	ns	ns
benzaldeide	aldeidi	ns	ns	ns	ns
Benzaldeide, 4-etile	aldeidi	ns	ns	ns	ns
benzil alcool	alcoli	ns	ns	ns	ns
fenilettil alcool	alcoli	ns	ns	ns	ns

Tab. 1 - I 34 composti volatili identificati tramite analisi SPME-GCMS.



Electis® MZ

Electis® ZR

LA PROTEZIONE TOTALE DEL TUO RACCOLTO



Electis® MZ:
s.a. Zoxamide 8,3% +
mancozeb 66,7%

Electis® ZR:
s.a. Zoxamide 4,3% +
rame ossicloruro 28,6%

Gowan Italia S.p.A.
Via Morgagni, 68
48018 Faenza (Ra)
Tel. 0546 629911
Fax 0546 623943
gowanitalia@gowanitalia.it
www.gowanitalia.it

AZIENDA LEADER NELLA SODDISFAZIONE DEL CLIENTE

20% di mosto rispetto al volume totale, portando così il rapporto bucce/liquido all'interno della vasca dal normale 30:70 a circa 50:50. Le temperature di fermentazione scelte (20 e 30°C) sono state mantenute per tutto il periodo della fermentazione.

Tutte le tesi e i livelli sono stati incrociati in modo da avere tutte le possibili combinazioni fra i fattori e i livelli in esperimento, come riportato nella figura 1. Ogni tesi è stata eseguita in tre repliche per un totale di 12 tesi e 36 vasche.

COSA EMERGE DALL'ANALISI DEI PROFILI AROMATICI

Oltre alla valutazione delle caratteristiche compositive relative all'estrazione dei composti del profilo fenolico e ai test di analisi sensoriale, i vini sono stati analizzati in diversi momenti della loro elaborazione (2° giorno di fermentazione, metà fermentazione, svinatura, 1 mese dalla svinatura e 3 mesi dalla svinatura) per definirne il profilo aromatico nelle sue componenti volatili.

In questa parte del lavoro di ricerca si è cercato un approccio analitico rapido in grado di fornire informazioni quantitative sulle concentrazioni dei vari composti volatili che si formano durante la vinificazione (vedere box). Queste informazioni sono importanti per poter capire la loro dinamica di formazione/scomparsa e poterla quindi opportunamente gestire mettendo in atto opportune pratiche enologiche.

L'analisi SPME-GCMS permette l'identificazione di un gran numero di composti appartenenti a diverse classi chimiche presenti nella frazione volatile dei vini (grafico 1), 34 dei quali sono stati quantificati mediante curva di calibrazione (tabella 1). Gran parte di questi composti sono di origine secondaria ma non mancano composti provenienti, direttamente o indirettamente, dalle uve. Le concentrazioni dei vari composti sono elaborate mediante approcci statistici diversi a seconda degli aspetti che si vogliono mettere in evidenza. Mediante analisi della varianza (Anova) su classi di composti o sulle concentrazioni dei

L'EVOLUZIONE DELLE CONCENTRAZIONI IN COMPOSTI VOLATILI

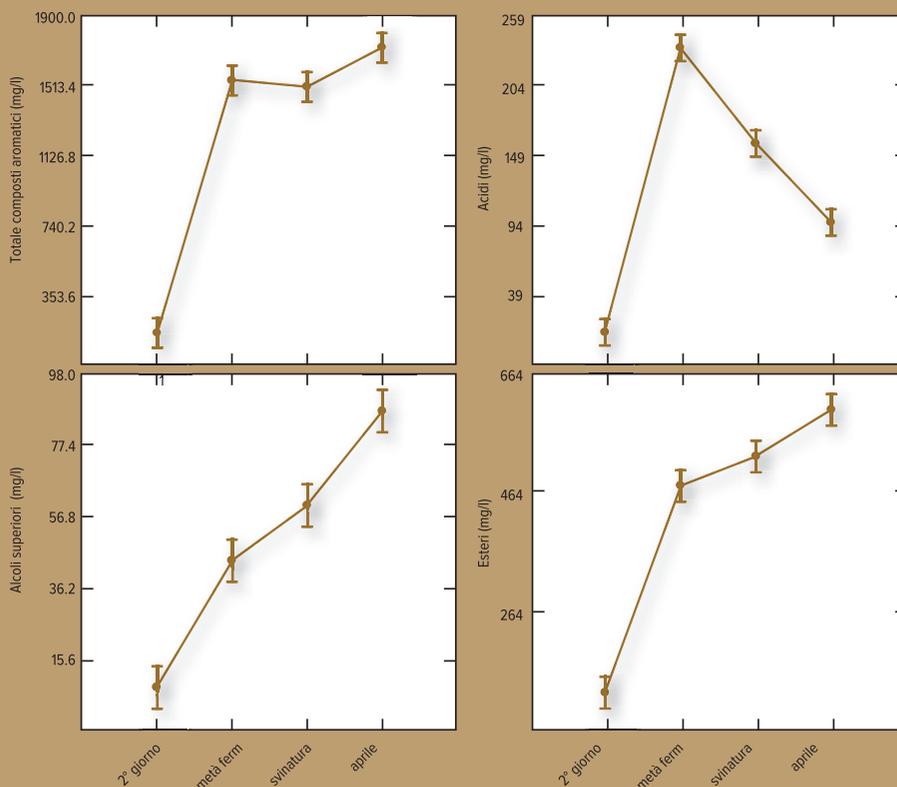


Grafico 2

COMBINAZIONI E LIVELLI DI TRATTAMENTO: ALCUNI ESEMPI

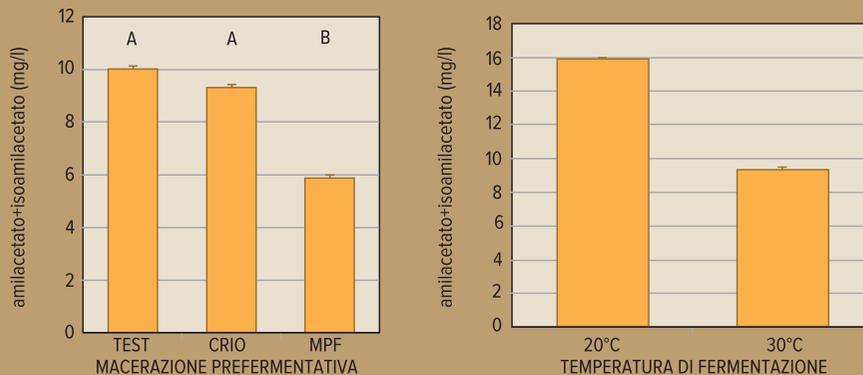


Grafico 3

Analizzare gli aromi sul vino tal quale

singoli componenti viene messo in evidenza, ad esempio, quali composti, o quali classi di composti, sono diversi fra un trattamento e l'altro. Inoltre lo schema sperimentale fattoriale applicato permette di valutare gli effetti semplici di ognuno dei fattori (trattamento prefermentativo, tecnica di macerazione del salasso e temperatura di fermentazione) e contemporaneamente di studiare l'effetto dell'azione congiunta degli stessi.

In linea generale, su tutte le tesi la concentrazione complessiva dei componenti volatili (etanolo escluso) aumenta moltissimo fino alla metà della fermentazione tumultuosa e si osservano successivamente minori variazioni (grafico 2). Per quanto riguarda gli alcoli superiori e gli esteri, la massima concentrazione si verifica ad aprile. Una diminuzione dalla svinatura in poi si osserva anche per gli acidi, mentre si assiste a un andamento contrario del contenuto in esteri dell'etanolo, la cui concentrazione cresce con la fermentazione.

È possibile evidenziare inoltre, a parità di tempo di prelievo (riportiamo in questa sede soltanto i risultati relativi ai vini 2008 al momento della svinatura) alcune differenze in base ai vari trattamenti enologici applicati (tabella 1).

Considerando l'analisi della varianza sui singoli composti quantificati, si osservano differenze significative per alcuni di essi in conseguenza del trattamento o dei livelli del trattamento. Per la tecnica prefermentativa si osservano differenze significative relativamente al diacetile (che risulta maggiore nella tesi MPF), 1-butanolo 3 metile acetato e 1-propanolo 2-metile (più bassi nelle tesi TESTIMONE e MPF, rispettivamente) e 1-esanolo (superiore nella tesi trattata con CRIO).

La temperatura di fermentazione ha invece azione significativa su dietilsuccinato e acetoino, che aumentano alle temperature più alte, e su etil acetato, etil propanoato, isoamil acetato ed etil esanoato, che al contrario sono maggiori nel caso in cui la fermentazione venga condotta a bassa temperatura (20°C). L'applicazione della tecnica del salasso porta a minori differenze a livello aromatico, aumentando soltanto il contenuto in 1-esanolo.

La frazione volatile dei vini viene determinata per gas-cromatografia con rivelazione in spettrometria di massa mediante campionamento con la tecnica della micro-estrazione in fase solida (SPME) nello spazio di testa di piccole vials chiuse in cui il vino si trova in equilibrio con la sua fase di vapore. Per poter campionare anche molecole idrofiliche e poco volatili, si è operato a 40°C e con aggiunta di cloruro di sodio al 40%. Le fibre SPME, costituite da un supporto di silice o metallo rivestito da un film di materiale assorbente, sono assemblate all'interno di un ago dal quale possono essere estroflesse o retratte mediante una opportuna siringa. Sono state utilizzate fibre trifasiche DVB/PDMS/Carboxen capaci di assorbire molecole con ampio spettro di caratteristiche fisico-chimiche. Poiché l'efficienza della fibra decresce con il susseguirsi delle analisi, è necessario normalizzare le aree dei picchi usando molecole *traccianti*, dette standard interni, da aggiungere ai campioni. È stata scelta una miscela di standard interni deuterati (isotopologhi), per essere certi che queste molecole non fossero presenti nei vini. Il riconoscimento dei picchi cromatografici, effettuato mediante il confronto degli spettri di massa con una banca dati di riferimento, è stato ulteriormente confermato per confronto con standard autentici iniettati alle stesse condizioni cromatografiche. Una miscela di tali standard, a concentrazioni opportunamente scelte per coprire il range presente nei vini oggetto di studio, è stata usata per costruire rette di calibrazione in una matrice che simulasse acidità e tenore alcolico del vino (acido tartarico al 5‰ in soluzione idroalcolica al 12%). Basandosi su queste calibrazioni è stato possibile calcolare la concentrazione effettiva degli aromi. La metodica è stata messa a punto presso il Cism dell'Università di Firenze nell'ambito del progetto di studio delle tecniche enologiche coordinato dal Consorzio Toscana.

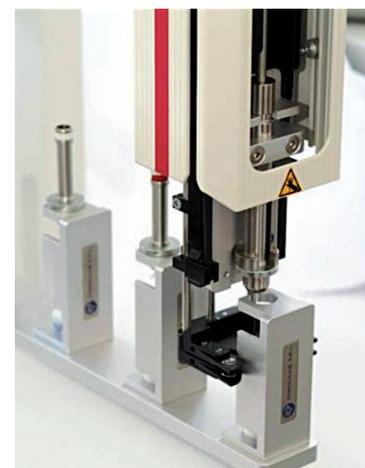
A titolo di esempio si riporta l'Anova per l'estere acetico dell'alcool isoamilico (1-butanolo 3 metile acetato, descritto in letteratura come composto ad aroma fruttato, grafico 3), da cui si evince come i trattamenti prefermentativi e le diverse temperature di fermentazione producano vini a contenuto per questo composto significativamente diverso, mentre con il trattamento del salasso le differenze non risultino significative.

Le interazione fra trattamenti prefermentativi e temperatura di fermentazione risultano in generale non significative (tabella 1).

Per poter usare i dati del profilo aromatico nella loro globalità, è possibile ricorrere all'analisi discriminante, un metodo di analisi multivariata che permette di attribuire degli individui a uno di più gruppi. Per ottenere ciò si utilizzano fattori (funzioni discriminanti) costituiti dalle concentrazioni dei singoli analiti *pesati* in funzione della loro importanza statistica. Se si procede all'analisi discriminante si ottengono separazioni dei gruppi statisticamente valide per i trattamenti di macerazione e temperatura di fermentazione (figura 2). Non sono state trovate invece differenze statisticamente significative dal punto di vista aromatico per il trattamento del salasso, che pure ha mostrato significative differenze per quanto riguarda la componente antocianica e polifenolica (dati non riportati). Dall'analisi della composizione dei fattori usati per la discriminazione si



Spettrometro di Massa con fibra SPME.



Una cantina sperimentale all'avanguardia

Il Consorzio Toscana è una struttura di ricerca applicata nata per iniziativa di alcune importanti aziende del settore vitivinicolo e dedicata interamente alla realizzazione di progetti di ricerca e sperimentazione in campo viticolo ed enologico.

Le sperimentazioni legate alle linee di ricerca enologica si svolgono all'interno di una struttura dedicata che è al tempo stesso Cantina Sperimentale e stabilimento di produzione a



tutti gli effetti, progettata allo scopo di rendere i risultati direttamente trasferibili nelle realtà produttive industriali.

Le uve vengono raccolte in bin da 500 litri, pigiadirasate e inviate alle vasche di vinificazione con un sistema di riempimento dall'alto su rotaia, in modo da eliminare le eventuali interferenze sul disegno sperimentale legate alla movimentazione con pompe e tubazioni. La vinificazione delle prove di tecnica enologica avviene in 76 serbatoi da 10 hl termo-condizionati, con un sistema di controllo e gestione centralizzato di temperature e rimontaggi. La cantina è inoltre dotata di 148 serbatoi da 100 litri per lo stoccaggio dei vini, dotati di un sistema di inertizzazione con azoto o con argon.

L'ANALISI DISCRIMINANTE

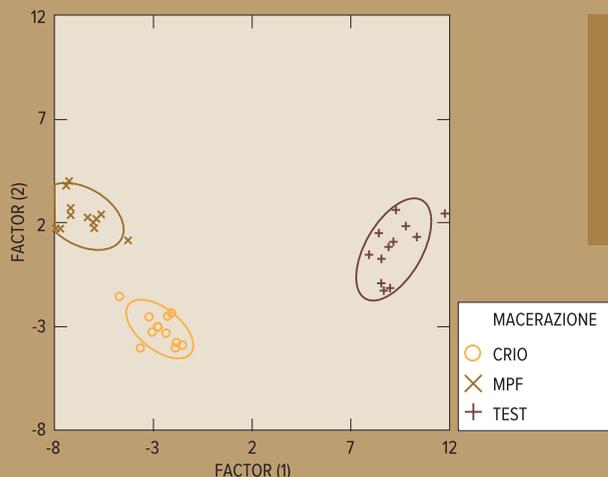


Fig. 2 - Risultati dell'analisi discriminante che evidenziano una separazione in gruppi statisticamente significativa per quel che riguarda i trattamenti di macerazione.

osserva che essa è dovuta principalmente ai prodotti secondari della fermentazione alcolica e ai loro prodotti di reazione con etanolo. Ciò indica che i trattamenti enologici presi in esame, applicati alle diverse fasi del processo produttivo, influiscono sulle caratteristiche aromatiche dei vini in modo indiretto, a seguito di una diversa attività metabolica da parte dei lieviti della fermentazione.

Per quanto riguarda i vini campionati ad aprile, l'analisi discriminante evidenzia gruppi ben separati per quanto riguarda i trattamenti di macerazione, con valori significativi. Risultano altresì significative le tesi fermentate a temperature più elevate, e non si osserva significatività per le tesi sottoposte a salasso, analogamente a quanto già osservato da metà fermentazione in poi.

PROSPETTIVE DI SVILUPPO

La determinazione quantitativa dei profili aromatici dei vini accoppiata all'analisi statistica dei dati si è dimostrata uno strumento utile e suscettibile di futuri sviluppi per un'enologia d'avanguardia.

Mediante Anova sui dati dei profili aromatici dei vini è possibile individuare i composti statisticamente diversi fra i vari trattamenti e le interazioni fra i vari fattori. L'analisi discriminante, d'altra parte, è capace di separare i vini in base ai vari stadi della fermentazione alcolica e durante la maturazione post fermentativa. Inoltre, per ogni prelievo risulta possibile discriminare fra vini ot-

tenuti con diverse tecniche di macerazione prefermentativa e fra vini ottenuti a temperature di fermentazione di 20 e 30 gradi ottenuti con le stesse uve di partenza. Tali discriminazioni fra i trattamenti si sono ottenute principalmente sulla base dei composti di origine secondaria e indicano che le diverse condizioni create con temperature di fermentazione diverse e/o la diversa estrazione di precursori presenti nell'uva portano a un diverso complemento aromatico nei vini. Il trattamento del salasso non ha permesso di discriminare statisticamente dal punto di vista aromatico i vini salassati da quelli ottenuti senza salasso. Questi risultati sperimentali risultano incoraggianti per un futuro sviluppo di questo approccio ai fini diagnostici e prognostici sulla qualità ed evoluzione dei vini. Una volta che saranno disponibili dati su più annate e campionamenti per tempi prolungati, nonché dati di tipo organolettico e qualitativo (il progetto Toscana prevede infatti analisi parallele per la misura dell'evoluzione del colore e dei composti del profilo polifenolico e assaggi periodici dei vini prodotti), sarà possibile ipotizzare la costruzione di un modello per questi scopi. ■

*Dipartimento di Scienza del Suolo e Nutrizione della Pianta Università degli Studi di Firenze

**Centro Interdipartimentale di Spettrometria di Massa (CISM) - Università degli Studi di Firenze

***Consorzio Toscana - Firenze