



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dipartimento di Territorio e Sistemi Agro-Forestali

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Viticole ed Enologiche

**Affinamento del vino in bottiglia.
Principali aspetti chimici.**

Relatore
Prof. Paolo Ruzza
Co-relatrice
Dott.ssa Claudia Honisch

Laureando
Martino Baiocco
Matricola n.
1140646

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Sommario

Riassunto	5
Abstract.....	6
1. INTRODUZIONE.....	7
2. PRINCIPALI GRUPPI DI MOLECOLE INTERESSATI DALL'INVECCHIAMENTO IN BOTTIGLIA.....	8
2.1 Pigmenti:	8
2.2 Tannini.....	15
2.3 Aldeidi.....	16
2.4 Terpenoli	17
2.5 Norisoprenoidi	18
2.6 Tioli.....	20
3. RUOLO DEL'OSSIGENO	21
3.1 Modificazioni molecolari in ambiente ossidativo	21
3.2 Modificazioni molecolari in ambiente riduttivo	24
4. CARATTERISTICHE DELLE CHIUSURE E LA LORO EFFICACIA	28
4.1 Tipologie di chiusure	29
4.2 Ruolo del tappo durante l'invecchiamento	30
5. CONSERVAZIONE DELLA BOTTIGLIA	34
5.1 Temperatura.....	34
5.2 Esposizione alla luce.....	35
5.3 Umidità.....	36
5.4 Posizione della bottiglia	37
6. RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE NMR E SPETTROMETRIA DI MASSA PER L'ANALISI DELL'AFFINAMENTO DEL VINO.....	37

6.1 Principi base della spettrometria di massa	38
6.2 Principi base della risonanza magnetica nucleare.....	39
6.3 Applicazione della risonanza magnetica durante l'affinamento in bottiglia	40
7. CONCLUSIONI.....	44
8. BIBLIOGRAFIA.....	45

Riassunto

La bottiglia in vetro è il principale contenitore ultimo dove il vino viene conservato prima della sua mescita. Durante questo periodo di latenza, il vino è soggetto a cambiamenti chimici che influenzano parametri cruciali quali l'aspetto, il gusto e l'aroma. Infatti, a seguito dell'invecchiamento il vino subisce delle modifiche al colore e si verifica un calo di amaro ed astringenza, "arrotondandosi".

Un corretto affinamento in bottiglia necessita della conoscenza delle variabili intrinseche ed estrinseche che possono influenzare il processo. Composizione chimica del vino, ruolo dell'ossigeno, tipologia di chiusura e conservazione della bottiglia sono i parametri fondamentali.

Infine, a supporto dell'enologo, tecniche analitiche quali spettrometria di massa e risonanza magnetica $^1\text{H-NMR}$ permettono di valutare anno dopo anno l'andamento qualitativo che subisce il vino in bottiglia.

Abstract

The glass bottle is the main final container where the wine is stored before being poured. During this latency period it is subjected to chemical changes that determine crucial aspects in its appearance, taste and aroma. Indeed, as a result of aging, the wine changes color and there is a decrease in bitterness and astringency, "rounding up".

Correct refinement in the bottle requires knowledge of the intrinsic and extrinsic variables that can influence the process. Chemical composition of the wine, the role of oxygen, the type of closure and storage of the bottle are the fundamental parameters.

Finally, to support the winemaker, analytical techniques such as mass spectrometry and $^1\text{H-NMR}$ magnetic resonance allow to evaluate year by year the qualitative trend that the wine undergoes in the bottle.

1. INTRODUZIONE

Il vino è interazione tra natura ed artificio. La continua ricerca, al fine di capirne e migliorarne i processi che dalla terra lo portano al calice, si protrae da millenni, e così anche le pratiche del suo lento affinamento nel tempo. L'invecchiamento è uno degli aspetti più affascinanti del suo decorso produttivo, poiché stabilisce un ponte tra l'oggi e il domani, dove l'azione dell'uomo è pressoché marginale, in quanto il vero fattore determinante è il passare del tempo.

Il vino in bottiglia matura costantemente durante tutto l'arco della sua permanenza, incrementando valore e qualità. Sebbene non ci siano studi che determinano rigorosamente quale sia il periodo giusto di affinamento per ogni singolo vino, ci sono dei parametri comuni da tener in considerazione e giuste precauzioni da prendere.

La buona riuscita dell'invecchiamento in bottiglia, infatti, dipende innanzitutto dalle caratteristiche del vino di partenza, ma soprattutto richiede il giusto contatto con l'ossigeno, reso possibile da una corretta scelta del tappo, e delle buone condizioni di conservazione, quali una temperatura moderata, una discreta umidità ed una limitata esposizione alla luce.

Il vino, essendo per sua natura una miscela di composti organici, inevitabilmente col passare del tempo tende a degradare e a modificarsi. Queste modifiche, a carico principalmente dell'azione dell'ossigeno, però, non sono uguali per tutti i vini, poiché questi hanno composizioni e concentrazioni diverse l'uno dall'altro.

Nei criteri di catalogazione dei vini viene compresa anche la loro capacità di mantenere le proprie caratteristiche inalterate nel tempo. Infatti, quando si parla di "pronta beva" s'intendono quei vini solitamente poco strutturati che mal sopportano lunghi periodi in bottiglia, mentre quando si parla di "riserva" ci si riferisce a vini di grande struttura, vinificati appositamente per permettere al vino di riposare in vetro molti anni. I vini rossi, molto alcolici e con lunghi periodi di macerazione durante la fase di vinificazione, sono considerati i migliori da questo punto di vista poiché ricchi in polifenoli e sostanze antiossidanti.

Dunque, il rapporto tra vino ed il suo affinamento in bottiglia varia di molto in base alla sua composizione, parametro che dipende dalla natura stessa del vino e dalle scelte produttive: agronomiche e di cantina.

2. PRINCIPALI GRUPPI DI MOLECOLE INTERESSATI DALL'INVECCHIAMENTO IN BOTTIGLIA

A seguire sono analizzati i principali gruppi di molecole che sono coinvolti maggiormente nelle dinamiche dell'affinamento in bottiglia e che contribuiscono in modo significativo ai cambiamenti organolettici.

2.1 Pigmenti:

La maggior parte dei pigmenti presenti nell'uva e successivamente responsabili della colorazione del vino, sono rappresentati dagli antociani.

Gli antociani sono classi di molecole derivate dalle catechine ed epicatechine, flavonoidi composti da due anelli benzenici legati ad un anello eterociclico ossigenato insaturo a carattere cationico. Principalmente sono molecole che si trovano sotto forma glicosidata, questo perché il legame con una molecola di glucosio in posizione 3 rende la struttura molto più stabile (Figura 1).

La colorazione che gli antociani impartiscono al vino è determinata dalla loro quantità, dal pH e dalla loro struttura molecolare. Infatti, a seconda del pH varia il grado di protonazione e, di conseguenza, si determinano colorazioni diverse. Valori di pH più acidi corrispondono a colorazioni più rosse, mentre all'aumentare del valore di pH si manifestano perdite di colore fino ad ottenere, in ambienti basici, pigmenti di colorazione blu.

La struttura molecolare, invece, cambia la natura del pigmento poiché, a livello dell'anello benzenico più esterno (B) possono avvenire delle sostituzioni in posizione R1 e R2 (Figura 1). In base alle sostituzioni gli antociani vengono raggruppati nelle seguenti famiglie: cianine, malvine, delphinine, petunine e peonine.

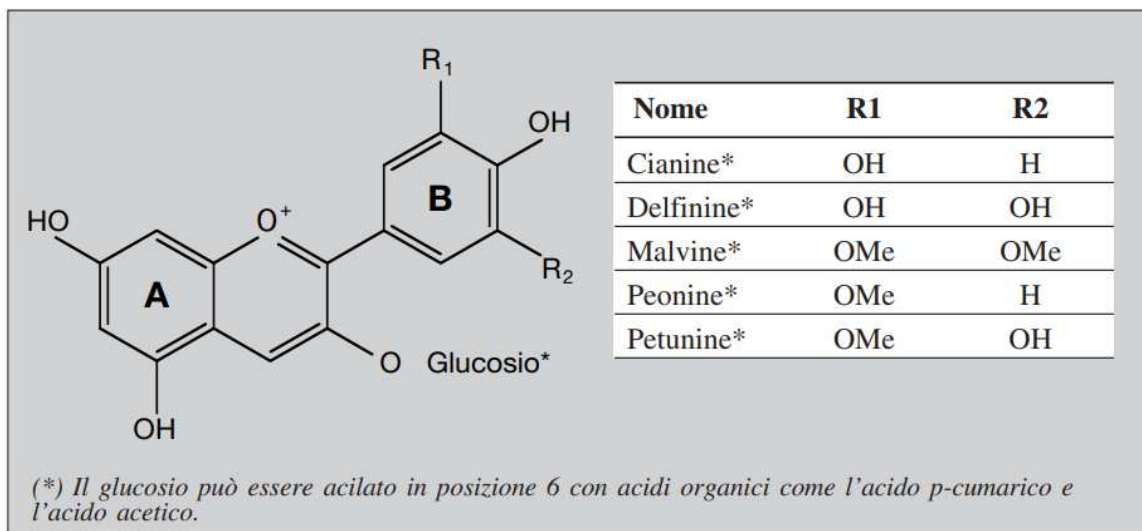


Figura 1: Rappresentazione dei principali antociani presenti nel vino [1].

Nel vino le malvine sono gli antociani predominanti e i più rappresentativi per la formazione di nuovi pigmenti durante l'invecchiamento in bottiglia [2]. Questo perché gli antociani possono interagire con diversi gruppi di molecole come tannini, aldeidi, acetaldeidi o acido piruvico.

Queste interazioni portano alla formazione di pigmenti maggiormente stabili ai cambiamenti chimici, alle variazioni di pH e a possibili alterazioni. I prodotti delle interazioni degli antociani che si formano durante il periodo di affinamento in bottiglia sono rappresentati maggiormente dalle vitisine e dai loro successivi derivati.

Le vitisine (Figura 2) sono dei piranoantociani, ovvero il prodotto della reazione tra gli antociani e dei sottoprodotti del lievito, quali acido piruvico, acetaldeide e vinifenoli [3,4]. Le classi di vitisine più rappresentate nei vini sono (i) la vitisina A, formata da malvidina e acido piruvico, e (ii) la vitisina B, formata da malvidina ed acetaldeide (Figura 2).

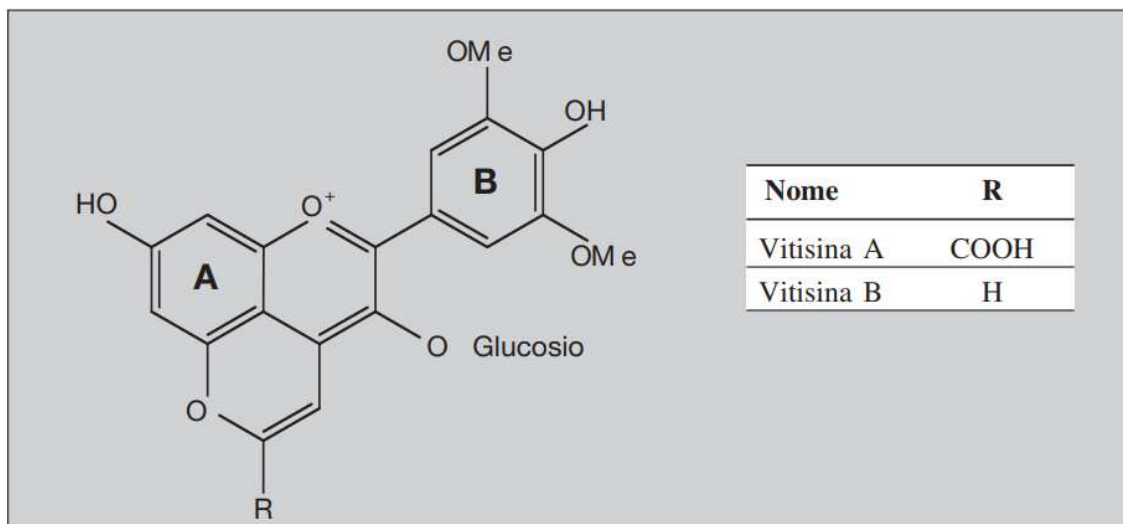


Figura 2: *Rappresentazione della struttura delle vitisine [1].*

Queste molecole sono pigmenti che presentano colorazioni che vanno dal rosso all'arancione e sono considerate molecole stabili, anche se possono subire ulteriori modifiche. Dalla vitisina A, infatti, possono derivare diversi altri piranoantociani quali la portisina A e la oxovitisina.

La portisina A (Figura 3) è un pigmento di colore blu/viola dato dalla condensazione della vitisina A con composti vinilfenolici, dei composti ottenuti dalla scissione di oligomeri flavonoidi [5].

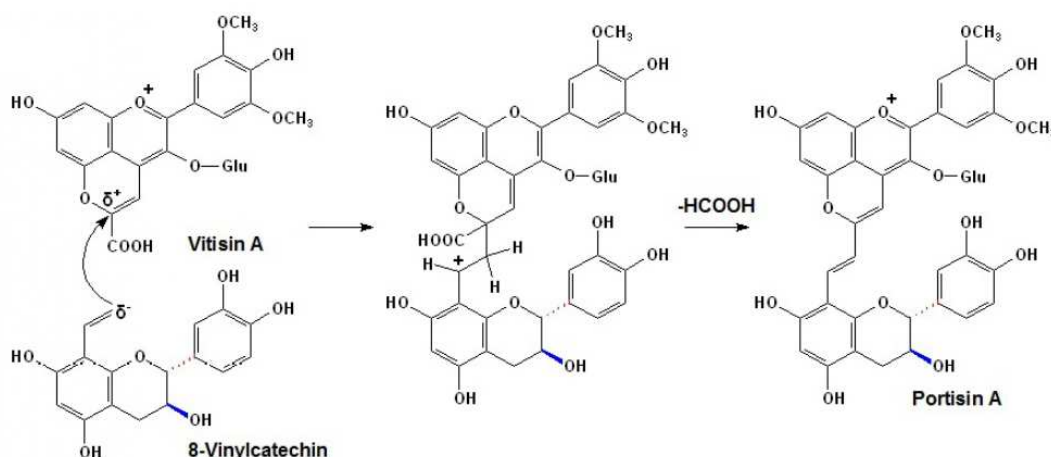


Figura 3: *Formazione della portisina A a seguito della condensazione della Vitisina A con la 8-vinicatechina [5].*

La oxovitisina (Figura 4), invece, è un pigmento di colore giallo che si forma dall'aggiunta di una molecola d'acqua alla vitisina A in posizione C10 con formazione di emiacetale e successiva reazione di decarbossilazione [6].

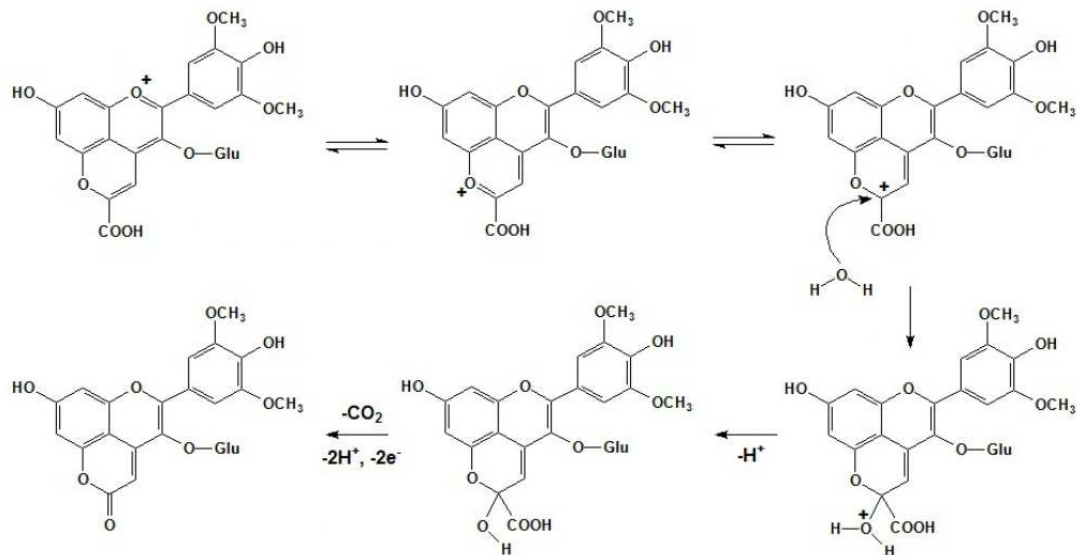


Figura 4: Meccanismo di formazione della oxovitisina a partire da una molecola di vitisina A [6].

Inoltre, dalla vitisina A si possono formare altri gruppi di piranoantociani di colore variabile dall'azzurro al turchese. Questi prodotti sono dati dalla condensazione di una molecola di vitisina A e il metil-piranoantociano, anche se il meccanismo di reazione non è ancora ben definito [5].

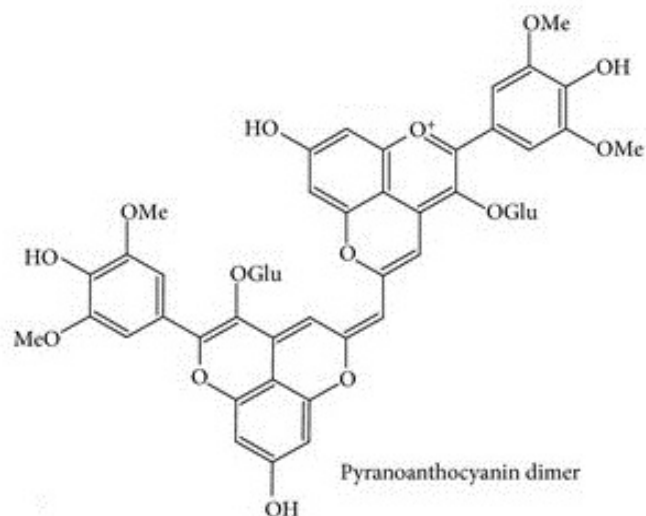


Figura 5: Struttura di un piranoantociano dimero.

Vi sono altri gruppi di piranoantociani oltre alle vitisine e ai loro derivati che contribuiscono in modo rilevante a determinare il colore del vino; in particolare: le pinotine, i flavanil-piranoantociani e gli alchil-favanol-antociani.

Le pinotine sono dei pigmenti di colore arancione che si formano dalla malvina che reagisce con acidi idrossicinnamici o 4-vinilfenoli. La molecola di pinotina più rilevante nel vino è la Pinotina A (Figura 6), una molecola ottenuta dalla reazione della malvina con l'acido caffeico, quest'ultimo presente nel vino come sottoprodotto del metabolismo del lievito in fase di fermentazione.

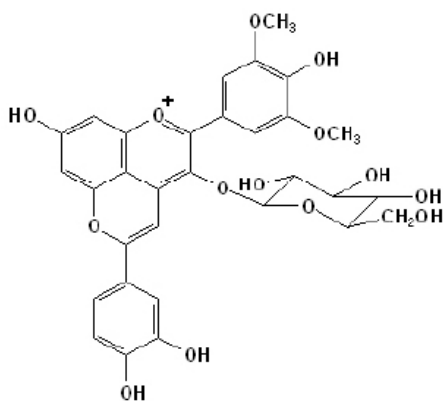


Figura 6: Struttura di una pinotina A.

I flavanil-piranoantociani (Figura 7) sono un gruppo di pigmenti dati dalla reazione tra un piranoantociano con un flavonolo. Questi pigmenti presentano una colorazione arancione/rossa con buona stabilità al variare dei valori di pH [7].

Infine, gli alchil-favanol-antociani sono gruppi di pigmenti formati da addotti degli alchil-antociani, che tramite l'acetaldeide, si legano a dimeri di antociani-tannini. [8] Sono pigmenti che contribuiscono molto all'evoluzione complessiva del colore del vino poiché si presentano di colore viola/malva.

Dunque, durante l'invecchiamento in bottiglia, i vini rossi risulteranno avere colori più chiari tendenti all'arancione per la presenza delle vitisine con sfumature più scure date da portisine, pinotine e derivati.

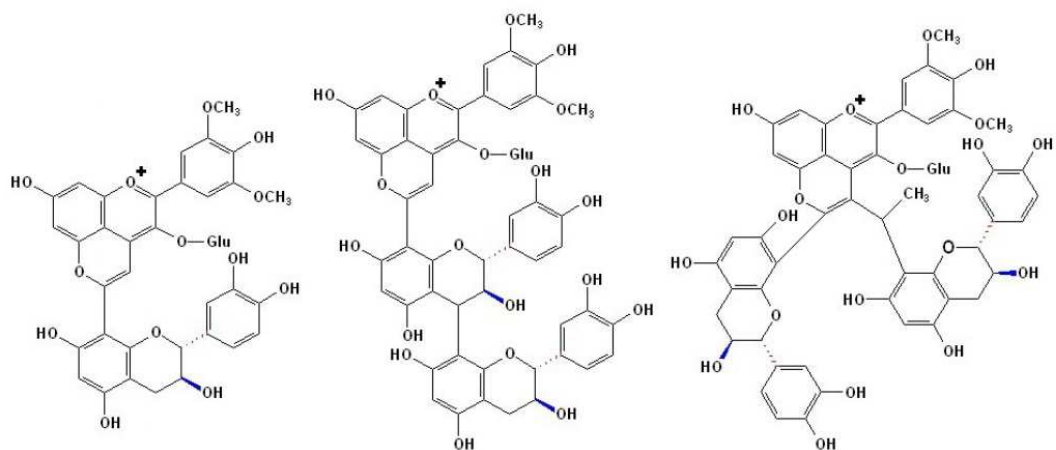


Figura 7: *Struttura dei flavanil-piranoantociani, derivati rispettivamente da malvina, 8-vinilcatechina e 8-vinilprocianidina.*

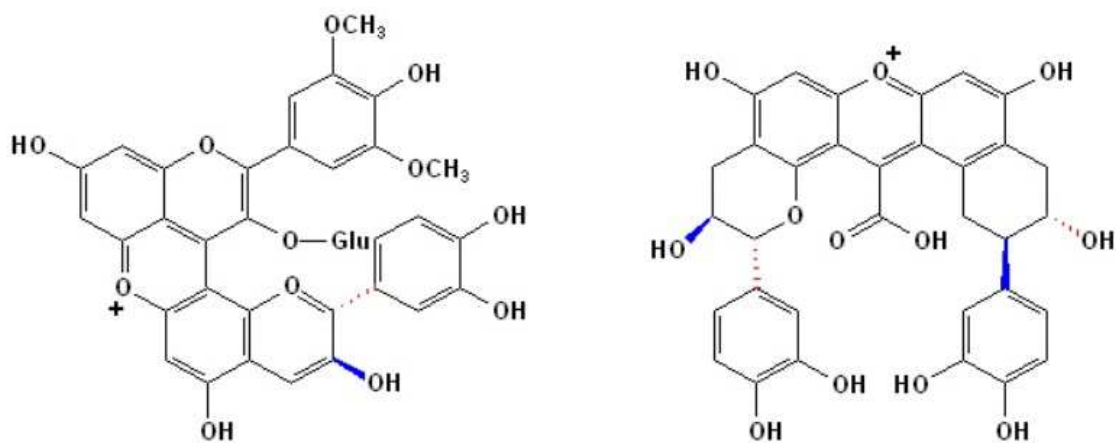


Figura 8: *Struttura di sali derivati dallo xantilio.*

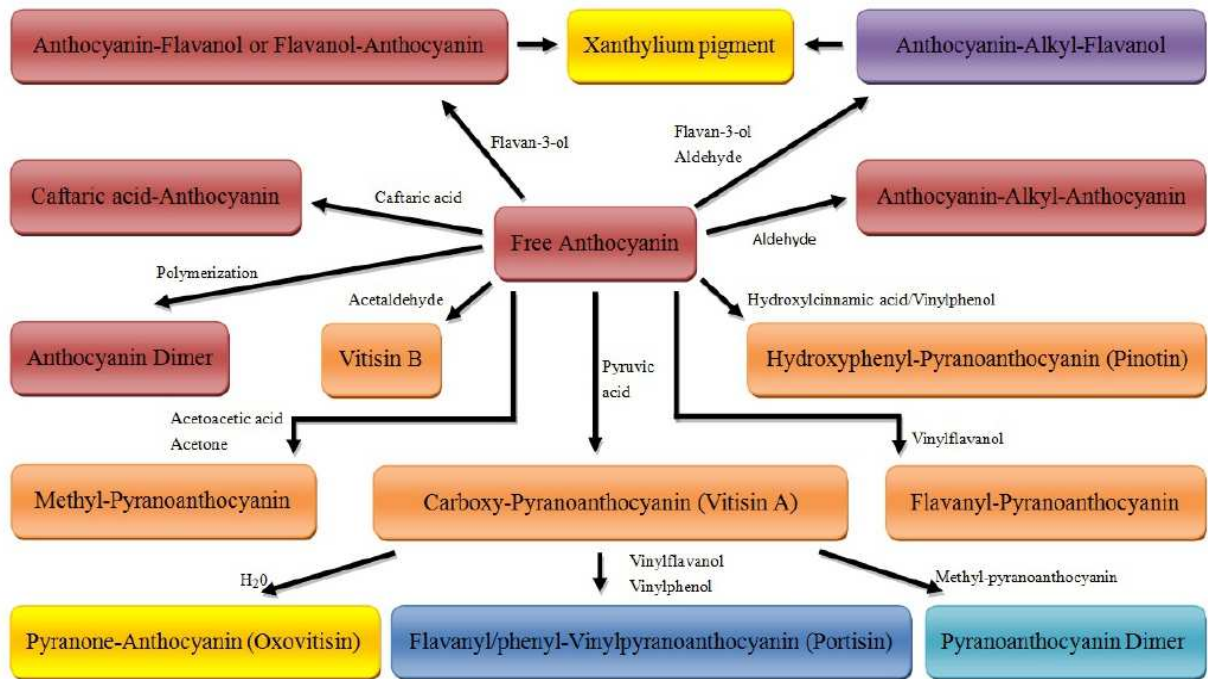


Figura 9: Schema riassuntivo delle principali modificazioni degli antociani durante l'invecchiamento in bottiglia [10-12].

2.2 Tannini

I tannini sono definiti come molecole in grado di combinarsi in maniera stabile a proteine e polisaccaridi.

Chimicamente sono sostanze fenoliche polimerizzate, dove la loro capacità di combinazione con le proteine varia al variare del grado di polimerizzazione.

I tannini sono i diretti responsabili dell'astringenza del vino e sono di fondamentale importanza per la stabilità del colore; vengono suddivisi in due grandi gruppi: (i) tannini idrolizzabili, dati dalla polimerizzazione dell'acido gallico (Figura 10a) e dall'acido ellagico (Figura 10b), e (ii) tannini condensati, polimeri complessi delle catechine e dei flavan-3-oli. [13]

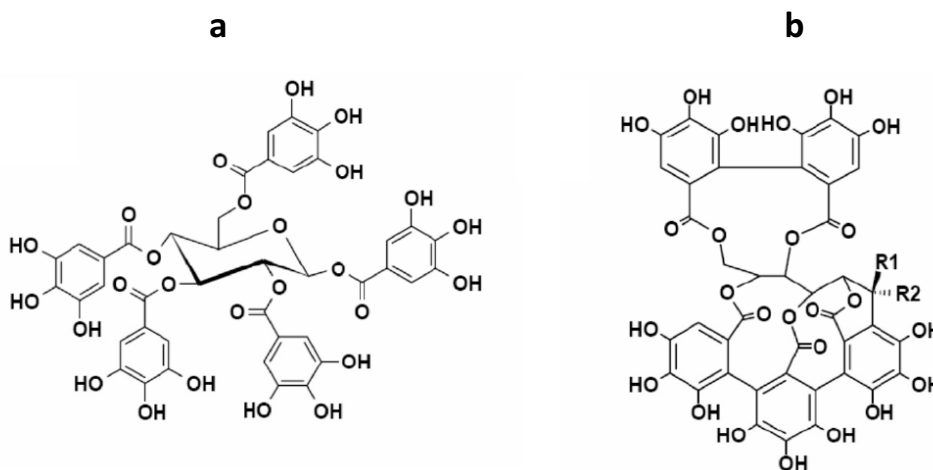


Figura 10: Strutture dei tannini idrolizzabili: **a)** tannini derivati dall'acido gallico; **b)** tannini derivati dall'acido ellagico.

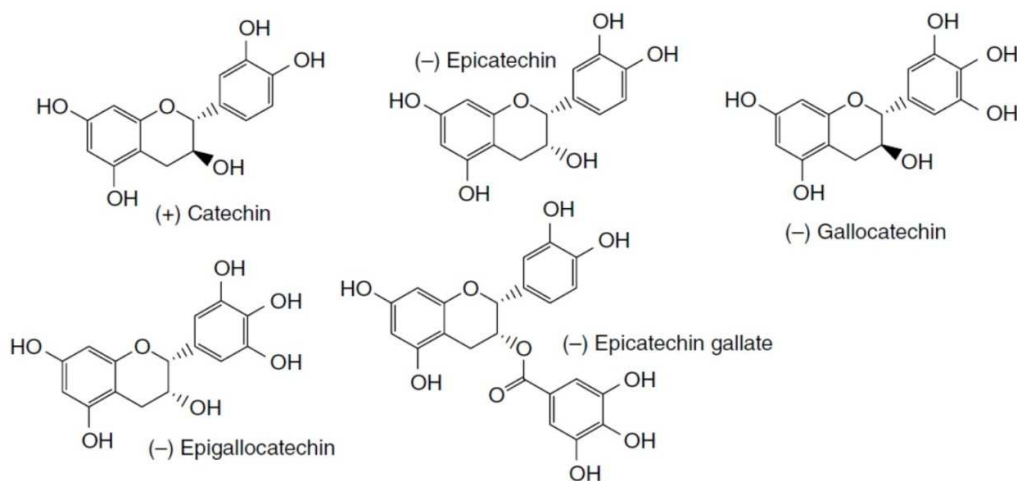


Figura 11: Struttura delle principali catechine, le unità monomeriche dei tannini condensati.

I più importanti nel vino sono i tannini condensati perché sono in grado di reagire con gli antociani portando una stabilizzazione del colore attraverso i complessi tannini-antociani.

Durante l'affinamento in bottiglia, i tannini possono essere soggetti a idrolisi, rilasciando la subunità flavonolica. Questo rilascio permette al flavonolo di reagire con aldeidi ed antociani formando piranoantociani, contribuendo all'evoluzione del colore del vino a discapito dell'astringenza [14].

Inoltre, i tannini possono ripolimerizzare a seguito dell'ossidazione con perossido di idrogeno, dando luogo alla formazione di molecole sempre più grandi, con calo di astringenza e possibilità di sedimento a fondo bottiglia [15].

2.3 Aldeidi

Le aldeidi sono composti carbonilici noti soprattutto per il loro apporto aromatico.

L'aldeide principale all'interno del vino è l'acetaldeide, prodotta a seguito dell'ossidazione dell'alcol etilico. Il suo apporto aromatico varia al variare della sua concentrazione, dando aromi fruttati se presente in quantità limitata e aromi sgradevoli e pungenti se presente in larga quantità [16]. Poiché durante l'affinamento in bottiglia prende parte a molte reazioni parallele, la sua presenza viene individuata come parametro di controllo per evitare un eccessivo degradamento ossidativo.

L'acetaldeide, infatti, è molto presente nelle reazioni ossidative dei polifenoli ed è molto reattiva nei confronti dello ione bisolfito HSO_3^- , al quale si lega dando origine ad un addotto con scarsa proprietà aromatica [17].

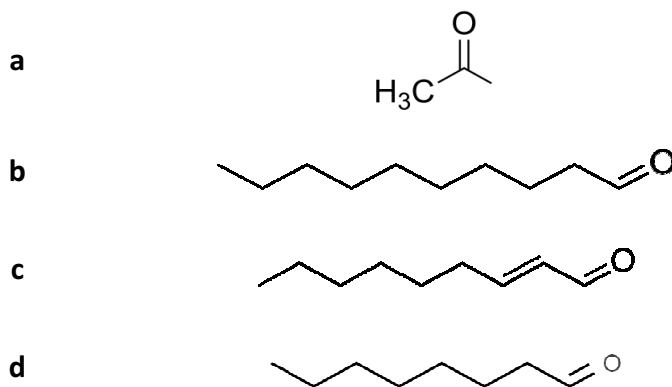


Figura 12: Struttura chimica di: **a)** acetaldeide, **b)** decanale, **c)** 2-nonale, **d)** ottanale.

Altre aldeidi presenti nel vino sono correlate allo stato di ossidazione di quest'ultimo e possono dare contributi variabili, in base alla loro concentrazione e alla diversa soglia di percezione [17].

Infatti, tra le varie aldeidi che si formano durante l'invecchiamento del vino, composti come l'ottanale, il 2-nonale e il decanale (Figura 12), sono di per sé positivi perché possono contribuire positivamente all'aroma del vino se a basse concentrazioni. Se però lo stato di ossidazione è troppo avanzato e la loro formazione supera di molto la soglia di percezione, essi risultano sgradevoli, dando al vino dei chiari sentori di "ossidato" [18].

Inoltre, vini che hanno subito un processo di maturazione in botte prima dell'imbottigliamento presentano aldeidi, quali 5-metil-furfurale e 2-acetil-furano (Figura 13), che apportano aromaticità particolari conferite dalla degradazione di carboidrati a seguito della tostatura del legno e al processo di micro ossigenazione [19]. Queste aldeidi, però, durante l'invecchiamento in bottiglia tendono a degradare e a reagire con gli altri composti presenti nel vino, portando alla formazione di sali di xantilio, responsabili dell'imbrunimento del colore, e di tioli aromatici (vedi paragrafo 2.6) [20, 21].



Figura 13: Strutture chimiche di **a)** 5-metil-furfurale, e **b)** 2-acetil-furano.

2.4 Terpenoli

I terpenoli sono alcoli terpenici derivati dai monoterpeni. Con monoterpeni si intendono quei composti terpenici a 10 atomi di carbonio, ovvero formati da 2 unità isopreniche, unità base che identifica chimicamente i terpeni. I terpenoli rientrano tra quelle molecole responsabili degli aromi varietali del vino poiché la maggior parte di essi sono estratti dalle bucce dell'uva. I principali, elencati per quantità presente nel vino, sono il geraniolo, il linalolo e il α -terpenolo (Figura 14) [22].

Sono composti molto importanti nel processo di affinamento del vino perché la loro concentrazione cambia notevolmente con il passare del tempo. Infatti, sebbene la quasi totalità dei terpenoli venga estratta dalle bucce dell'uva, possono formarsene di nuovi durante l'affinamento in bottiglia tramite idrolisi acida del geraniolo, con formazione di linanolo e di α -terpenolo. Nello specifico linanolo e α -terpenolo vedono un incremento costante durante i primi 18 mesi di affinamento in bottiglia, aumentando in maniera significativa gli aromi floreali del vino.

Questo aumento, però, viene fortemente limitato dopo i 24 mesi di affinamento, quando si nota un costante calo dovuto all'esaurimento delle sostanze antiossidanti e alle variazioni di pH che limitano la possibilità di reazioni di idrolisi acida del geraniolo [23].

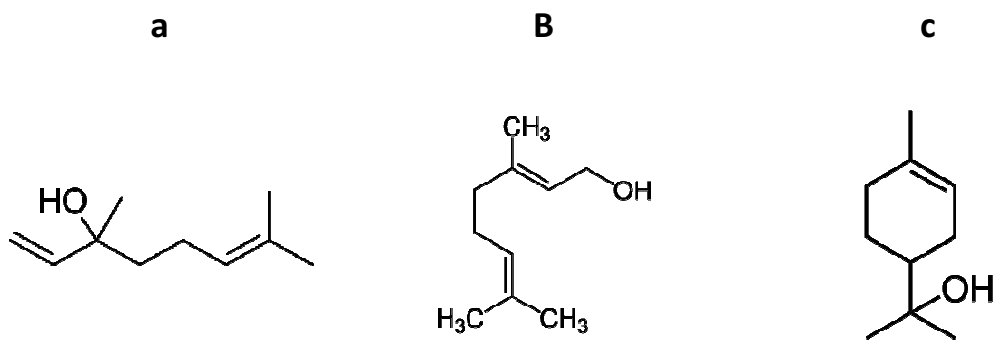


Figura 14: Strutture chimiche di **a)** linanolo, **b)** geraniolo e **c)** α -terpenolo

2.5 Norisoprenoidi

I norisoprenoidi sono gruppi di composti aromatici varietali derivati dalla degradazione ossidativa dei carotenoidi. Vengono classificati in due famiglie; i megastigmani, composti da un anello benzenico e 4 atomi di carbonio alifatico in posizione 6C, e i non megastigmani, che comprendono tutte le altre strutture.

I principali norisoprenoidi megastigmani nel vino sono rappresentati dal β -damascenone (Figura 15a), che presenta distinti aromi di frutta tropicale, e dal β -ionone (Figura 15b), che apporta aromi floreali di violetta.

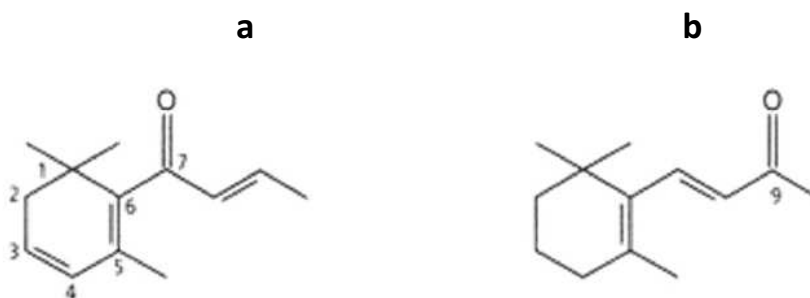


Figura 15: Strutture chimiche di a) β -damascenone e b) β -ionone.

Per quanto riguarda i non megastigmani, i più rappresentativi sono il trimetil-diidronaftalene (TDN), con il caratteristico sentore di kerosene, il vitispirano e l'actinidolo (Figura 16), che presentano aromi di canfora [24].

Questi aromi, però, non sono presenti in egual modo in tutti i vini. Infatti, in particolar modo il TDN è un composto che si forma maggiormente in determinati vini, primo tra tutti la varietà Riesling.

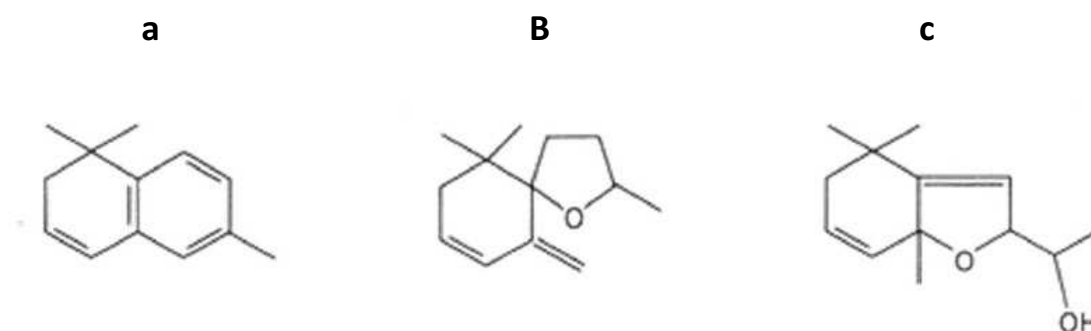


Figura 16: Strutture chimiche di a) TDN (trimetil-diidronaftalene), b) vitispirano, e c) actinidolo.

Dunque, in vini quali il Riesling la presenza di TDN è una componente che determina il grado di invecchiamento del vino, poiché è un composto che si forma quasi esclusivamente durante l'affinamento, a seguito di reazioni di idrolisi di precursori aromatici glicosilati.

Per quanto riguarda, invece, il β -damascenone e il β -ionone, la loro concentrazione durante l'affinamento in bottiglia tende ad aumentare a seguito della diretta ossidazione dei carotenoidi [25].

2.6 Tioli

I tioli sono composti solforati che si originano nel vino prevalentemente durante il processo di fermentazione tramite un'azione enzimatica, poiché sono presenti nel mosto in forma coniugata alla cisteina [26]. I composti tiolici presentano una bassissima soglia di percezione e sono per lo più associati ad aromi sgradevoli, soprattutto nelle loro forme più basilari come l'acido solfidrico e il metilmercaptano, ma sono fondamentali per formare l'aroma caratteristico di determinati vini, infatti i tioli polifunzionali, come il mercapto-4-metil-pentan-2-one (4MMP), il 3-mercaptoesano-1-olo (3HM) e il 3-mercaptoesi-acetato (A3MH) presentano intensi aromi agrumati, floreali e fruttati (Figura 17) [27].

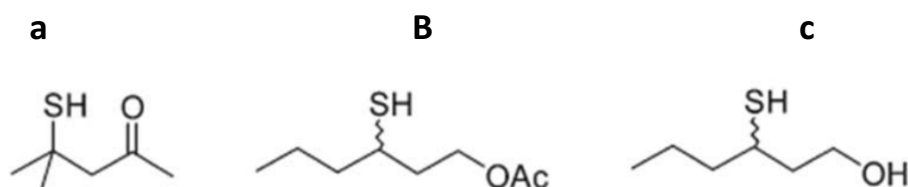


Figura 17: Strutture chimiche di **a**) mercapto-4-metil-pentan-2-one (4MMP), **b**) 3-mercaptoesi-acetato (A3MH), e **c**) 3-mercaptoesano-1-olo (3HM).

Durante l'affinamento in bottiglia, questi composti tendono a diminuire per ossidazione da parte dei polifenoli ossidati a chinoni. Si è visto però, che, durante l'invecchiamento c'è la possibilità che alcuni composti tiolici possano formarsi, contribuendo in modo significativo all'aroma complessivo del vino.

Tra questi, i principali individuati sono il benzene metantiolo (Figura 18a) e il 2-furanmetantiolo (Figura 18b). Il benzene metantiolo, si forma a partire dalla benzaldeide che reagisce con l'acido solfidrico e presenta aromi di pietra focaia, mentre per il 2-furanmetantiolo, al giorno d'oggi, non sono ancora chiari i processi di formazione, ma è responsabile di aromi che ricordano la tostatura ed il caffè. [28]



Figura 18: Strutture chimiche di **a**) benzene metantiolo, e **b**) 2-furanmetantiolo.

Infine, se durante l'affinamento in bottiglia, il vino risulta essere a scarso contatto con l'ossigeno, possono svilupparsi reazioni riduttive con formazione di acido solfidrico e metilmercaptano, i principali responsabili degli "aromi di ridotto", con i distintivi odori di uova e cavolo marcio (Figura 19).



Figura 19: Strutture chimiche di **a)** acido solfidrico, e **b)** metilmercaptano.

3. RUOLO DELL'OSSIGENO

Il vino, una volta riposto all'interno della bottiglia, va incontro ad una serie di modificazioni molecolari che dipendono prevalentemente dalla presenza o meno dell'ossigeno. L'ossigeno, infatti, è il primo responsabile delle modificazioni del vino nel tempo ed è il fattore determinante per un corretto affinamento. Sebbene sia indispensabile per far sì che l'evoluzione in bottiglia avvenga nei migliori dei modi, esso può anche essere estremamente deleterio se presente in quantità elevate, andando a creare un ambiente ossidativo con relativa formazione di composti sgradevoli che vanno a deprezzare le caratteristiche del prodotto.

D'altro canto, se in un vino si verifica una forte carenza di ossigeno si crea invece un ambiente riduttivo con formazione di composti fortemente indesiderati che anche in questo caso ne danneggiano il profilo organolettico.

3.1 Modificazioni molecolari in ambiente ossidativo

L'ossigeno è presente nel vino subito dopo l'imbottigliamento, in parte in soluzione nel vino stesso ed in parte nella zona di testa tra il contenuto della bottiglia ed il tappo. Se durante il periodo di affinamento il vino rimane a contatto con quantità di ossigeno eccessive, le modificazioni molecolari avranno un peso rilevante nel suo profilo

organolettico, nella perdita di colore e di aromi varietali e nella comparsa dei tipici sentori ossidativi.

La sua presenza può dare origine ad una serie di reazioni a scapito dei composti polifenolici attraverso l'azione catalizzatrice di ioni metallici quali il rame, il manganese e, principalmente, il ferro (naturalmente presente nel vino nelle sue forme Fe^{2+} e Fe^{3+}) [29, 30].

Infatti, il ciclo redox dello ione ferro, prima da $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ e successivamente da $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, catalizza l'azione dell'ossigeno (O_2), portando alla formazione di radicale idroperossido (HO_2^\bullet) e successivamente al perossido d'ossigeno (H_2O_2) che a sua volta dà luogo al radicale ossidrilico attraverso la reazione nota come reazione di Fenton [31, 32].

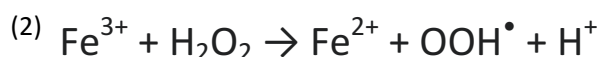
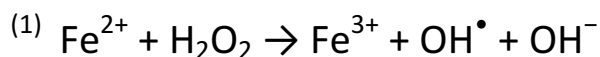


Figura 20: Reazioni di Fenton.

Il radicale idrossilico (HO^\bullet) è noto per ossidare quasi tutte le molecole organiche presenti nel vino [31], tra cui l'etanolo con formazione di acetaldeide, il principale composto che identifica l'aroma di ossidato in un vino in bottiglia [33].

L'acetaldeide può ulteriormente ossidarsi portando alla formazione di acido acetico, con la conseguente comparsa di sentori pungenti, e successiva formazione di acetato di etile: l'estere dell'etanolo e dell'acido acetico che apporta decisi odori di smalto e solvente (Figura 21).

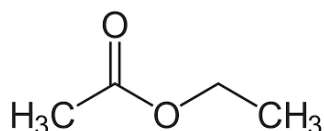


Figura 21: Struttura chimica dell'acetato di etile.

L'ossidazione delle sostanze polifenoliche inizia dalla subunità di catecolo, presente nei principali polifenoli del vino quali flavonoidi, flavan-3-oli e antociani. Il catecolo

viene ossidato dalla riduzione dello ione ferrico (Fe^{3+}) a ione ferroso (Fe^{2+}), dando origine ad una molecola di semichinone radicale che reagisce con l'ossigeno originando una molecola di *orto*-chinone e perossido d'ossigeno (H_2O_2) [34]. Mentre il perossido d'ossigeno (H_2O_2) contribuisce alla reazione di Fenton o alla formazione di acido solforico H_2SO_4 (Figura 22), l'*orto*-chinone, essendo una molecola altamente elettrofila, lega le molecole nucleofile presenti nel vino. L'*orto*-chinone può quindi andare a legarsi con i tioli, volatili e non, contribuendo ad una perdita di aromi, che per quanto siano presenti in quantità variabile in base alla tipologia di vino, incidono significativamente sulla qualità finale del vino stesso.

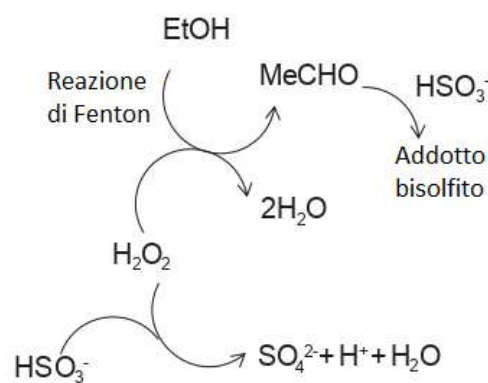


Figura 22: Le possibili reazioni nel vino che coinvolgono il perossido di idrogeno [32, adattato].

L'*orto* chinone può, inoltre, polimerizzare con altri polifenoli quali gli antociani, alterando il colore del vino, e può partecipare alla reazione di Strecker. La reazione di Strecker dà luogo alla formazione di diverse aldeidi tramite la degradazione degli aminoacidi (Figura 23) [35].

La presenza di queste aldeidi può dare contributi aromatici diversi: infatti, a basse concentrazioni, le aldeidi, possono conferire aromi dolci e floreali, mentre in caso di eccessiva concentrazione riportano aromi erbacei, di patata bollita o muschio [36].

Per quanto riguarda il colore del vino, l'effetto dell'ossigeno agisce sulla perdita di efficacia dei pigmenti e sulla comparsa di pigmenti gialli/bruni a seguito di una maggior concentrazione di sali di xantilio. Questo perché gli antociani polimerizzano con l'*orto*-chinone in strutture più complesse, diminuendo l'intensità della colorazione e virando da colori accessi a colori bruni [34].

Questi due aspetti portano dunque il vino ad assumere una colorazione spenta e sempre più tendente al colore marrone/giallo.

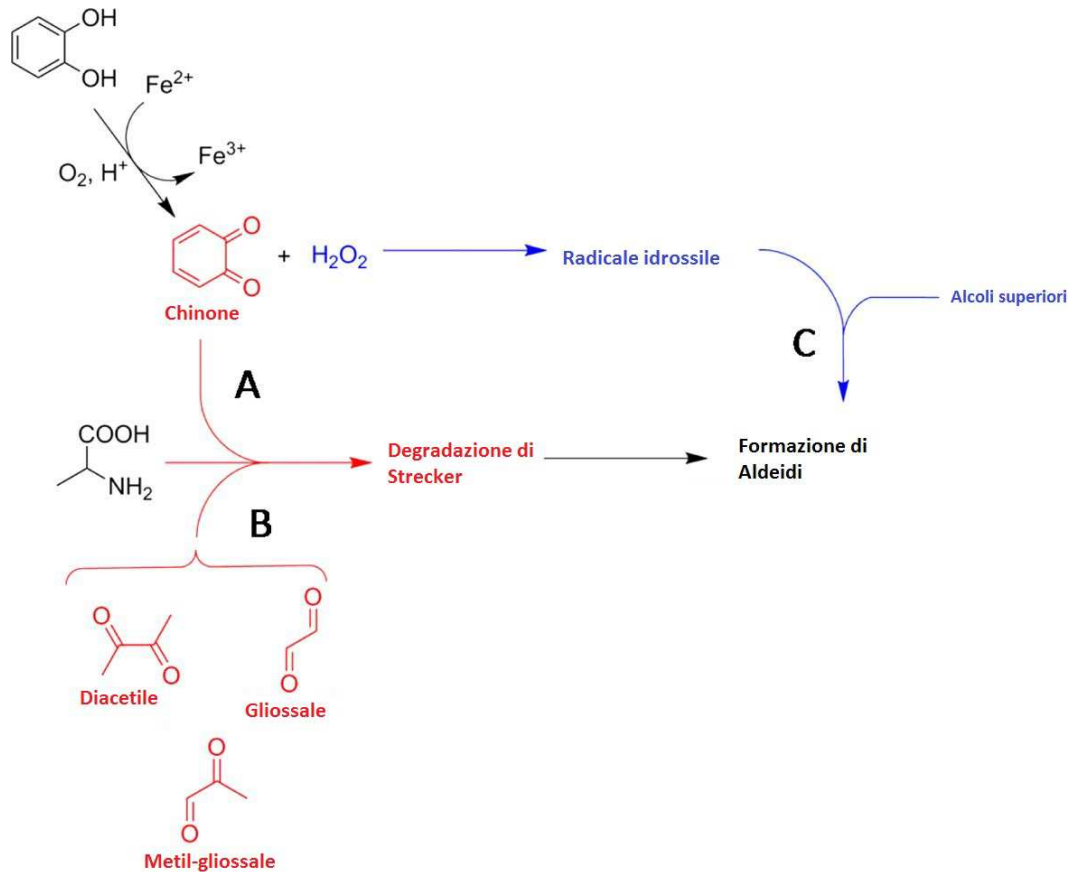


Figura 23: Meccanismi di formazione delle aldeidi tramite **A)** reazione di degradazione di Strecker di un amminoacido tramite il chinone, **B)** reazione di degradazione di Strecker di un amminoacido tramite composti di carbonilici, **C)** ossidazione di alcoli superiori a seguito dell'azione dei radicali idrossili [18, adattato].

3.2 Modificazioni molecolari in ambiente riduttivo

Se un eccesso di ossigeno va a peggiorare notevolmente le caratteristiche organolettiche di un vino, anche la totale mancanza ne pregiudica la qualità. Infatti, se durante il periodo di affinamento la chiusura della bottiglia risulta talmente ermetica da limitare fortemente il passaggio dell'ossigeno, all'interno di questa avverranno delle modificazioni molecolari con conseguente formazione dei cosiddetti "aromi di ridotto".

Dunque, un vino che nel tempo abbia una scarsa o nulla interazione con l'ossigeno, può sviluppare, all'interno della bottiglia, un ambiente riduttivo. Quando si parla di vino ridotto, si fa riferimento in particolare alle molecole di acido solfidrico (H_2S) (Figura 19a), di etilmercaptano (CH_3CH_2SH , EtSH, fig.24a), di metilmercaptano (CH_3SH , MeSH, Figura 19b) e di dimetilsolfuro (DMS, Figura 24b) [37, 38].



Figura 24: Strutture chimiche di **a**) etilmercaptano, e **b**) dimetilsolfuro (DMS).

Nello specifico, l'acido solfidrico e il metilmercaptano sono i principali composti che vengono individuati a seguito di una carenza di ossigeno, questo per il fatto che la soglia di percezione è molto bassa, con odori che ricordano le uova marce e il cavolo marcio [30].

Sebbene non vi siano studi che identificano con chiarezza i precursori responsabili della formazione di suddette molecole, si è visto possano avere origini diverse [18]. Infatti, tramite l'azione di catalisi dello ione rame Cu^{2+}/Cu^+ , l'acido solfidrico può formarsi per diretta riduzione dell'anidride solforosa nelle sue forme libere o dall'interazione di un α -dicarbonile (come diacetile e gliosale) con la cisteina, un amminoacido solforato (Figura 25) [39].

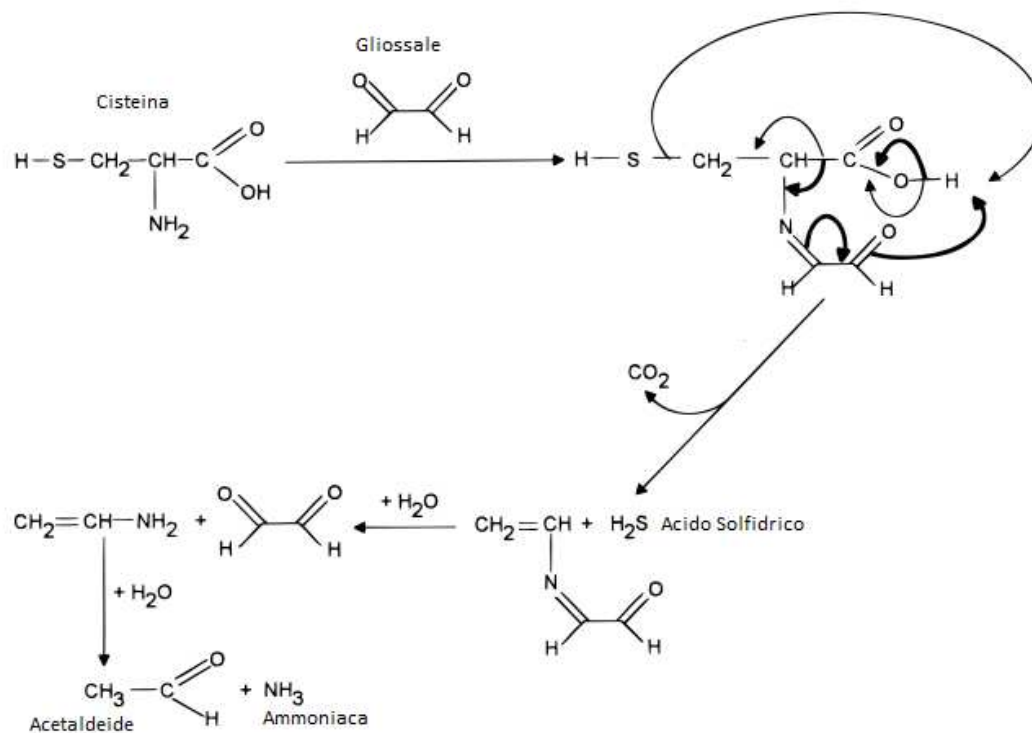


Figura 25: Schema della formazione di acido solfidrico, acetaldeide e ammoniaca a seguito dell'azione del gliossale (α -dicarbonile) sulla molecola di cisteina.

L'accumulo di metilmercaptano si attribuisce anch'esso all'azione di catalisi dello ione rame a scapito dalle molecole di metionale e metionina, anche se il meccanismo esatto della sua formazione resta da chiarire [40, 41].

A seguire, questi composti solforati possono interagire tra di loro per dare luogo a disolfuri e trisolfuri, molecole volatili caratterizzati da aromi quali cipolla, aglio e cavolfiore [42].

Inoltre, essi possono interagire con composti carbonilici e dar luogo a molecole quali (i) il furfuriltiolo, ottenuto dalla reazione con il furarale, che presenta un forte aroma di caffè tostato, e (ii) il benzenemetantiolo, dato dalla reazione con la benzaldeide, che presenta odori affumicati e bruciati [43]. Altri aromi tostati sono dati, invece, dal tiazolo: in questo caso l'acido solfidrico risulta essere un intermedio delle reazioni di sintesi (Figura 26) [44,35].

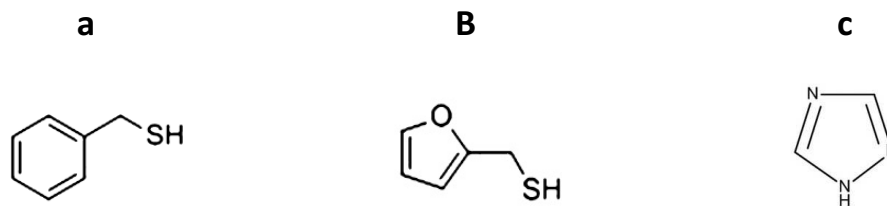


Figura 26: Strutture chimiche di a) benzilmercaptano, b) furfuriltiolo e c) tiazolo.

Complessivamente, la presenza di “aromi di ridotto” varia molto in base alla tipologia di vino, all’uso o meno di trattamenti fitosanitari a base di zolfo e al metabolismo dei lieviti in fase di fermentazione e durante tutti i processi produttivi pre-imbottigliamento. In generale, però, durante l’invecchiamento, si nota un aumento di concentrazione di composti solforati tra i 6 e i 12 mesi, questo in seguito del totale consumo di ossigeno all’interno della bottiglia da parte dei polifenoli [40].

Dunque, poichè sia un ambiente eccessivamente ossidativo che uno eccessivamente riduttivo comportano l’insorgenza di difetti e un drastico calo qualitativo del vino, un corretto affinamento deve prevedere un trasferimento moderato dell’ossigeno al vino. Per questo motivo, la tipologia di chiusura della bottiglia gioca un ruolo fondamentale.

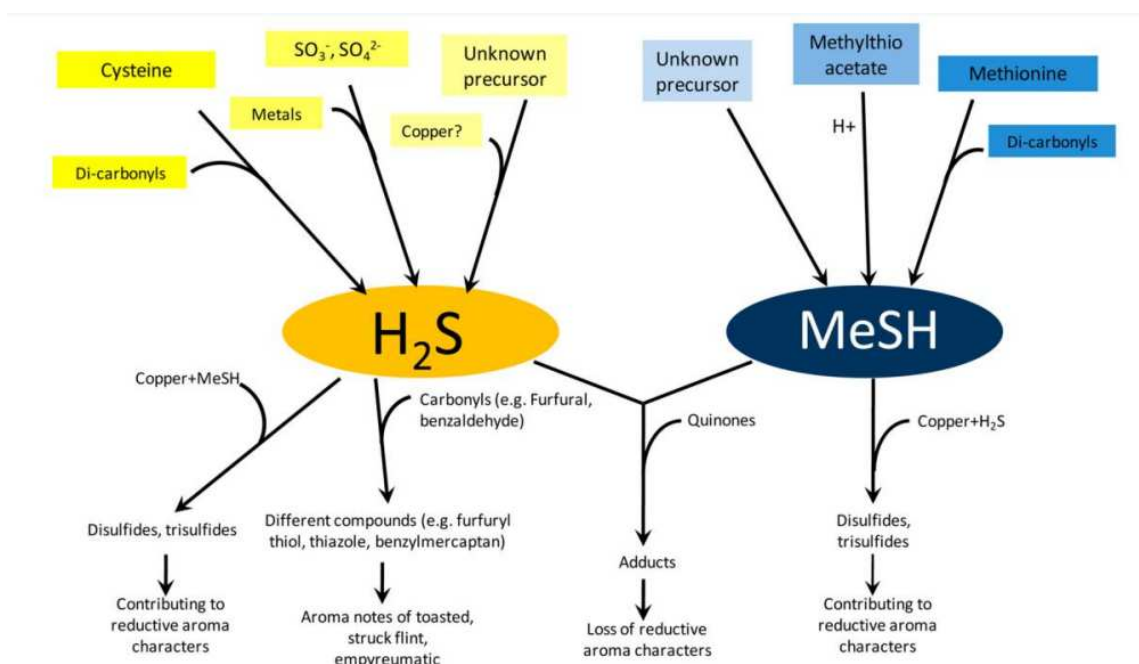


Figura 27: Schema generale delle possibili formazioni e degradazioni di H₂S e MeSH durante l’affinamento in bottiglia. [18]

4. CARATTERISTICHE DELLE CHIUSURE E LA LORO EFFICACIA

La tipologia di chiusura di una bottiglia è un parametro fondamentale per l'affinamento del vino. Questo perché, salvo casi atipici, le bottiglie essendo in vetro si presentano completamente ermetiche e quindi l'unico possibile passaggio di ossigeno può avvenire esclusivamente attraverso il tappo.

Questo rende la scelta del tappo una variabile determinante per l'evoluzione del vino durante il suo periodo di affinamento in bottiglia. Infatti, poiché la maggior parte dei tappi è di materiale poroso, si instaura un sistema di scambio costante tra l'ambiente esterno con l'ingresso di ossigeno a scapito di sostanze volatili quali l'alcol ed il vapore acqueo che vengono dissipate. Tappi più o meno porosi, quindi, determinano più o meno scambi gassosi tra l'interno e l'esterno.

Altra considerazione fondamentale, legata alla chiusura della bottiglia, è la quantità di ossigeno già presente e disciolto nel vino appena imbottigliato e la quantità di ossigeno presente nello spazio di testa tra il liquido ed il tappo o l'eventuale pre-saturazione della bottiglia con un gas inerte quale l'azoto o la CO₂. Questi parametri andranno a determinare equilibri di scambi diversi e di conseguenza affinamenti differenti nel tempo.

Solitamente, quando il vino in questione è un vino con grande struttura ed attitudine all'invecchiamento, si prediligono tappi di pregio, in sughero naturale, in grado di degradare il meno possibile e che sappiano apportare il corretto sistema di scambio.

Quando invece si parla di vini pensati per essere serviti giovani, la scelta della chiusura è meno determinante ma non scontata. Infatti, sebbene non vi sia la necessità di lunghi periodi di evoluzione in vetro, la tipologia di tappo può comunque incidere sulla qualità finale, ma soprattutto sull'immagine che il vino vuole presentare al consumatore.

Il tappo svolge, al di fuori del suo ruolo di carattere tecnico, una funzione di vettore d'immagine che va ad aumentare o diminuire l'apprezzamento da parte del cliente. Tappi sintetici o meccanici solitamente sono percepiti come dozzinali e di poco pregio,

in quanto, vengono considerati economici e non all'altezza per l'ideale di vino di qualità, sebbene possano essere molto validi e all'altezza del compito.

Infine, la scelta della chiusura deve rispondere anche ad un'esigenza di tenuta nei casi di vini frizzanti o spumanti.

Anche in questo caso, l'attenzione da riservare a questa tipologia di tappi varia al variare delle caratteristiche del vino in questione. Mentre per i vini spumanti di qualità viene quasi sempre prediletto il tappo a fungo in sughero naturale o agglomerato, i vini frizzanti possono invece avere una maggior varietà di scelta, a patto che la tenuta sia stagna e costante.

4.1 Tipologie di chiusure

Con tipologie di chiusure si vanno ad identificare i differenti tappi che possono essere utilizzati al momento dell'imbottigliamento. Al giorno d'oggi il tappo che vede ancora la sua più grande diffusione è il tappo di sughero.

Il tappo in sughero è composto da macromolecole quali la suberina, la lignina, la cellulosa e l'emicellulosa con eventuali tracce di cere e tannini. Il sughero è ottenuto dal rivestimento secondario del fusto della sughera (*Quercus suber*) che viene sottoposto a diversi trattamenti che ne modificano struttura e granulometria, portandolo ad avere diversa porosità e permeabilità [45].

I tappi in sughero più comuni sono formati da un unico pezzo lavorato, ma esistono diverse tipologie di tappi composti da agglomerati di sughero che, a differenza dei tappi più tradizionali, sono composti da particelle legate tra loro tramite poliuretani o isocianati [45].

I tappi in sughero agglomerati vengono definiti come macroagglomerati se le particelle presentano diametri che variano dai 2 agli 8 millimetri, e microagglomerati se le particelle presentano diametro inferiori ai 2 millimetri.

Altre tipologie di tappo sono, invece, i tappi formati da vari composti sintetici e i tappi a vite in alluminio con membrana termoplastica.

I tappi sintetici sono solitamente composti a partire dal polietilene a bassa densità e vengono prodotti per stampaggio, il che ne rende molto economico il costo finale ma

la loro elevata porosità li rende poco adatti per vini destinati a lunghi periodi di affinamento.

I tappi a vite, invece, sono tappi sempre più diffusi poiché consentono una chiusura di grande ergonomia e quasi totalmente ermetica. Sono formati da una capsula in alluminio che va ad avvitarsi direttamente alla parte superiore del collo della bottiglia e presentano, sul fondo, una membrana in termoplastica dove risiede una piccola quantità di gas inerte [46].

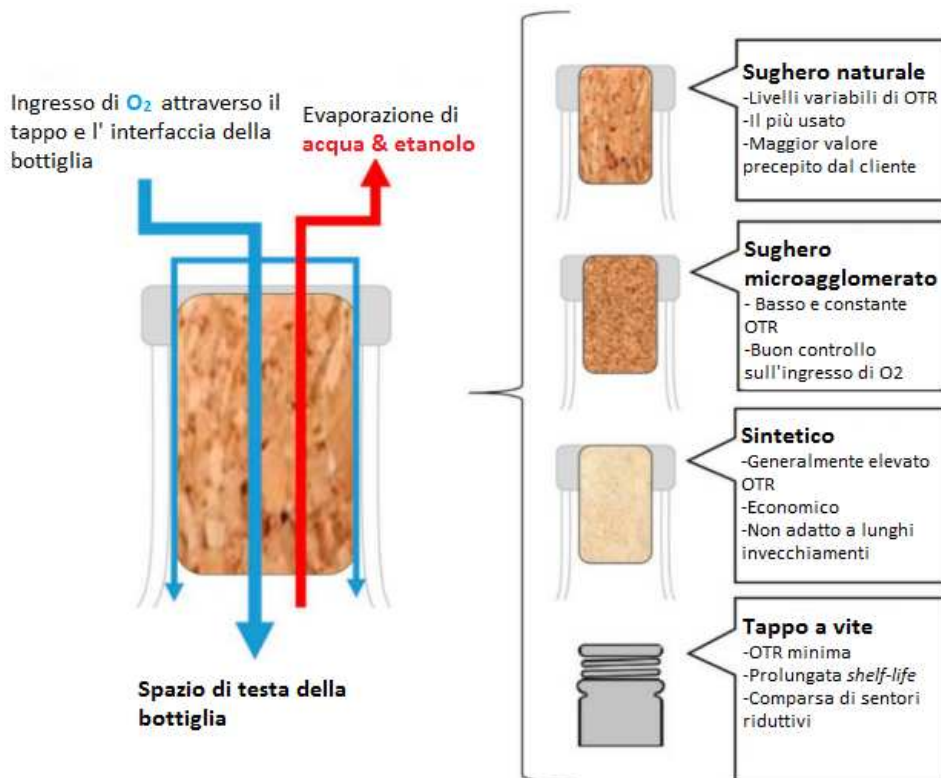


Figura 28: Ingresso dell'ossigeno tramite il tappo principali tipologie di chiusure [34,adattato].

4.2 Ruolo del tappo durante l'invecchiamento

Poiché l'ingresso dell'ossigeno nel lungo periodo è un fattore inevitabile, durante l'invecchiamento il tappo svolge un ruolo, in maniera più o meno incisiva, di barriera permeabile per gli scambi tra l'interno e l'esterno della bottiglia. Infatti, durante l'affinamento si nota un ingresso costante di ossigeno a scapito di composti gassosi come vapore acqueo e alcoli.

Il sistema più utilizzato per la misurazione dell'ossigeno in bottiglia è espresso dal valore OTR (Oxygen Transfer Rate), ovvero il tasso di trasmissione dell'ossigeno per unità di tempo [47]. Il valore OTR viene utilizzato, per quantificare quanto ossigeno sia entrato nell'arco di un determinato periodo, al fine di prevedere come il vino si modificherà col passare degli anni.

Analizzando le varie tipologie di tappo, il sughero naturale risulta avere i valori OTR più variabili in assoluto perché la permeabilità e la porosità cambiano in base alla lavorazione della materia prima.

Per quanto riguarda i tappi in sughero agglomerato, invece, i valori OTR dipendono dalla dimensione delle particelle agglomerate. I tappi macroagglomerati sono più porosi rispetto ai microagglomerati, con valori di OTR notevolmente maggiori [48].

I tappi sintetici sono i tappi più porosi in assoluto con i valori di OTR più alti [45]. I tappi sintetici sono, dunque, i tappi meno indicati per lunghi affinamenti in bottiglia perché l'ingresso di quantità modeste di ossigeno velocizza in maniera decisiva la degradazione dei composti alterando il vino prima del dovuto. Un'altra considerazione riguardo i sintetici è che il tappo col tempo tende ad indurirsi perdendo aderenza con le pareti del collo della bottiglia, causando premature ossidazioni.

Va inoltre detto che, al di là del materiale del tappo, sono rilevanti anche lunghezza e diametro, poiché il diametro identifica la superficie disponibile per lo scambio e la lunghezza lo spessore del filtro.

I tappi a vite risultano essere i tappi con il minor valore di OTR, tale da essere considerati quasi ermetici. Di contro, il tappo a vite, permettendo in modo limitato l'ingresso di ossigeno, porta a creare, nel lungo periodo, un ambiente riduttivo con sviluppo di difetti aromatici sulfurei [49]. È quindi, un tappo con poca affinità ai lunghi invecchiamenti. Durante l'affinamento in bottiglia il tappo, o meglio, la scelta della tipologia di tappo svolge un ruolo decisivo per garantire la miglior evoluzione in termini qualitativi del vino. Per quanto i tappi sintetici abbiano i pregi dell'economicità e dell'assenza di possibili difetti (es. aroma tappo), i tappi porosi in sughero naturale rimangono la scelta migliore per l'affinamento nel medio e lungo periodo. Per quanto riguarda, invece, il medio e breve periodo, attualmente i tappi a vite sono qualitativamente la scelta più indicata.

Tipologia	Dimensioni (lunghezza x diametro) (mm)	Oxygen Transfert Rate (mg/anno)
Sughero Naturale	49 × 24	5.5
	45 × 24	6.37
	44.7 × 24	2.03
	45 × 24	14.25
	45 × 24	3.65
Sughero Agglomerato	45 × 24	2.62
	45 × 24	1.8
	Non definito	0.78
	45 × 24	1.68
	45 × 24	2.68
Sughero Microagglomerato	43.6 × 23.7	2.03
	44 × 24	1.8
	44 × 24	1.9
	49 × 24.2	0.61
	49 × 24.2	0.38
Sintetico Stampato	44.6 × 21	6.8
	44.7 × 21	20.8
	43 × 22	6.5
	Non citato	22.25
	Non citato	6.95
Sintetico Estruso	43 × 22	13.65
	23 × 38	3.28
	23 × 38	6.57
	38 × 24	9.38
	38 (lunghezza)	4.34
Tappo a Vite	31.5 (diametro)	2.52
	31.5 (diametro)	1.82
	Non citato	0.23
	60 × 30	0.5
	Non citato	0.31

Figura 29: Valori di OTR per diverse tipologie di tappo [34].

A conferma dell'importanza del tipo di chiusura è stato condotto un esperimento sul vino australiano *Clare Valley Semillon*, dove sono identificati in due pannelli differenti le note aromatiche del vino con chiusure differenti (due tappi in sughero naturale, due tappi sintetici, due tappi in sughero agglomerato e un tappo a vite) a distanza di 6 e 12 mesi [50, 51].

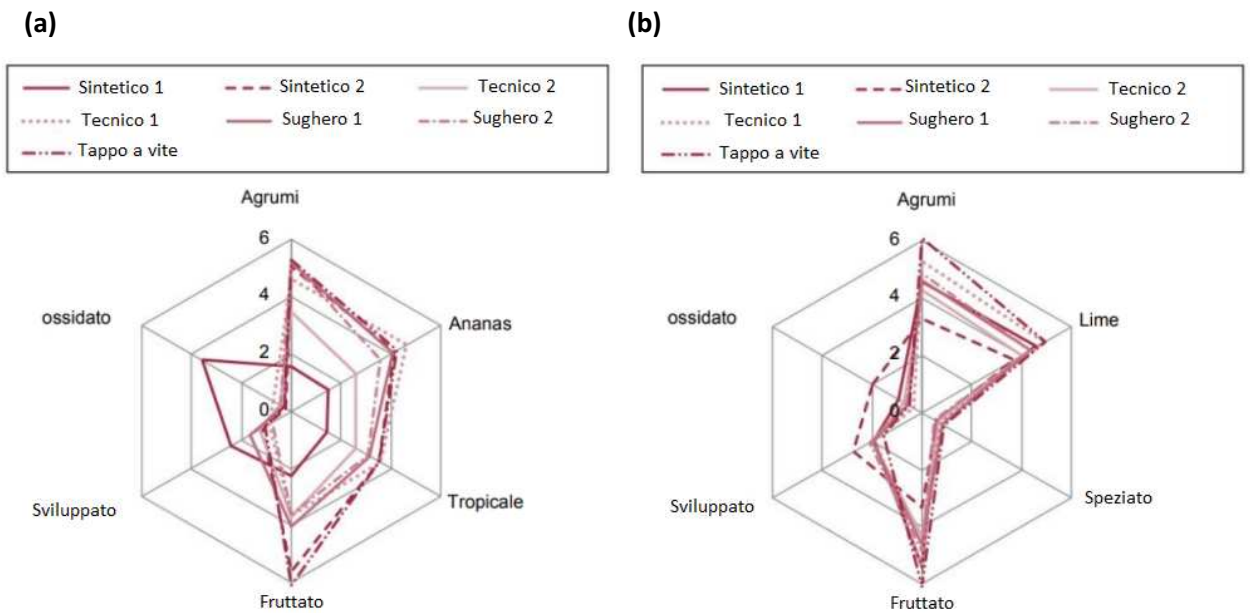


Figura 30: *Figura rappresentante i due pannelli sensoriali del vino Clare Valley Simillon con i relativi tappi. (a) pannello di analisi dopo 6 mesi; (b) pannello di analisi dopo 12 mesi [50,51, tradotto].*

In entrambi i pannelli si nota come il tappo a vite, in entrambi questi periodi di tempo non eccessivamente lunghi, svolga la funzione migliore come chiusura della bottiglia, in quanto evita maggiormente il passaggio di ossigeno all'interno, limitando fortemente gli aromi ossidati e garantendo la maggior conservazione degli aromi fruttati. Per quanto riguarda le altre tipologie di tappo non si evincono differenze di rilievo tra il sughero naturale e il sughero agglomerato (tecnico), mentre per i tappi sintetici si nota una sostanziale differenza aromatica dopo 6 mesi nel sintetico 1 e la comparsa di aromi ossidati dopo 12 mesi nel sintetico 2.

Questa breve panoramica evidenzia il fatto che il tappo sintetico si presenta come la scelta meno indicata per l'invecchiamento e soggetta a variabili costruttive che possono dare risultati diversi a seconda del modello preso in esame, mentre il tappo a vite rimane la scelta migliore per vini da beva relativamente giovani.

È da sottolineare come un periodo di 6 e 12 mesi non sia un periodo significativo per il confronto di tutte le tipologie di tappo, in particolar modo per i tappi in sughero naturale; questo perché le reazioni di ossidazione che si sviluppano in bottiglia avvengono molto lentamente e i cambiamenti organolettici in vini ricchi di polifenoli necessitano di intervalli di tempo nella misura di anni.

5. CONSERVAZIONE DELLA BOTTIGLIA

La conservazione della bottiglia è un parametro rilevante per un corretto mantenimento della qualità e una corretta evoluzione del vino. Il vino che riposa per lunghi periodi di tempo necessita di un luogo consono e ben ideato, infatti, l'ambiente dove vengono conservate le bottiglie può giocare un ruolo fondamentale per la maturazione, in quanto devono essere rispettate delle condizioni che, se ignorate, potrebbero compromettere il giusto affinamento. Per poter, quindi, definire il corretto ambiente di conservazione delle bottiglie è necessario aver presente quali siano i "nemici" del vino in bottiglia e le variabili che influiscono in maniera più o meno diretta nella sua conservazione.

I diretti antagonisti del vino sono rappresentati da una temperatura scorretta, da escursioni termiche e dall'esposizione della bottiglia alla luce. Inoltre, contribuiscono in maniera significativa la percentuale di umidità presente nell'aria e la posizione che la bottiglia mantiene nel tempo.

5.1 Temperatura

La temperatura è un parametro che influisce molto durante tutto il processo produttivo del vino e non di meno durante la sua maturazione in bottiglia. La temperatura gioca un ruolo fondamentale, poiché temperature più basse tendono a rallentare il processo di invecchiamento mentre temperature più elevate ne velocizzano le reazioni ossidative causando un invecchiamento precoce.

Durante il suo periodo in bottiglia, il vino necessita di temperature stabili all'incirca tra i 15 ed i 17°C, e soprattutto non deve subire escursioni o shock termici.

Se il vino subisce sbalzi di temperatura o viene mantenuto a temperature troppo elevate i principali effetti che si verificano sono quelli di degradazione prematura dei pigmenti e formazione di sali di xantilio che portano ad imbrunimenti e perdite di colore, denaturazione delle proteine che possono creare velature e torbidità, e degradazione di componenti aromatici quali i tioli, le aldeidi e gli esteri. Inoltre, in particolar modo per i vini bianchi, temperature più elevate, oltre a penalizzare gli aromi varietali e fruttati, favoriscono lo sviluppo di aromi ossidativi come le aldeidi e il TDN, peggiorandone significativamente la qualità.

A seguire è presentata un'analisi sensoriale condotta su Chardonnay dopo 3 mesi di invecchiamento e su Cabernet Sauvignon dopo 6 mesi di invecchiamento, entrambi con campioni che hanno maturato in bottiglia a 10°C, 20°C e 40°C [49,52].

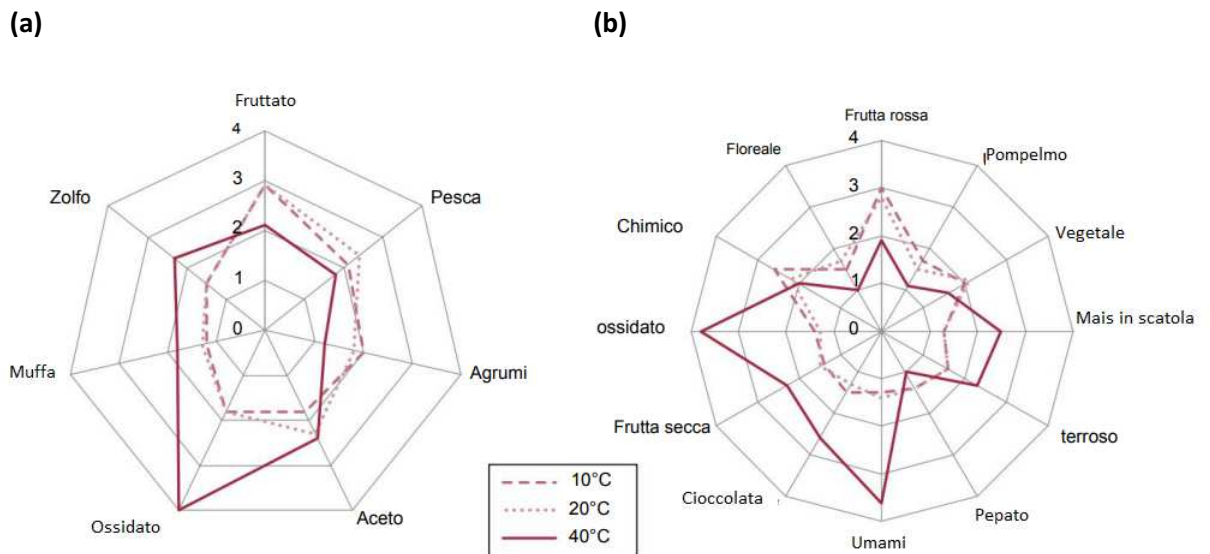


Figura 31: Diagramma a radar che rappresenta l'intensità dei vari aromi (indicati) alle temperature di 10° (linea tratteggiata), 20° (linea punteggiata) o 40° (linea continua) [49,52, tradotto].

Nei due pannelli si può notare come nell'arco di questi brevi periodi di invecchiamento i campioni a 10°C e a 20°C non presentino differenze rilevanti. Per quanto riguarda i campioni che hanno sostato a 40°C si nota invece un calo deciso degli aromi fruttati, floreali e agrumati con drastico aumento di aromi ossidativi, acetici e solfurei.

5.2 Esposizione alla luce

La luce ed in particolare i raggi UV agiscono promuovendo, nel vino in bottiglia, le reazioni ossidative. In generale, il principale promotore delle reazioni ossidative dovute alla luce è il ferro che viene ionizzato, soprattutto nelle sue forme complessate come il tartrato di ferro. Questo innesco di reazioni ossidative porta ad imbrunimenti del colore, perdita di aroma e comparsa di aromi ossidativi come aldeidi, sotolone e acido acetico [53].

Oltre alle reazioni ossidative, la luce è complice di gravi difetti aromatici quali il cosiddetto "gusto luce". Il "gusto luce" è un off-flavour che si manifesta durante l'affinamento in bottiglia quando quest'ultima rimane esposta alla luce. La riboflavina

(vitamina B2) subisce una foto-riduzione (Figura 32), acquisendo due elettroni dalla metionina che si converte in metionale [54]. Anche la molecola di metionale è instabile, degradandosi in acroleina e metantiolo. Il metantiolo può, quindi, reagire con un'altra molecola di metantiolo portando alla formazione di dimetildisolfuro, che assieme al metantiolo sono la causa di aromi sgraditi, quali cavolo e uova marce (Figura 33) [55].

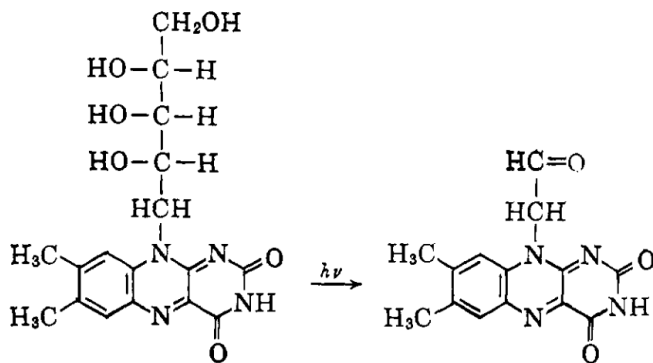


Figura 32: Conversione dalla riboflavina dallo stato ossidato allo stato ridotto da parte della luce ($h\nu$).

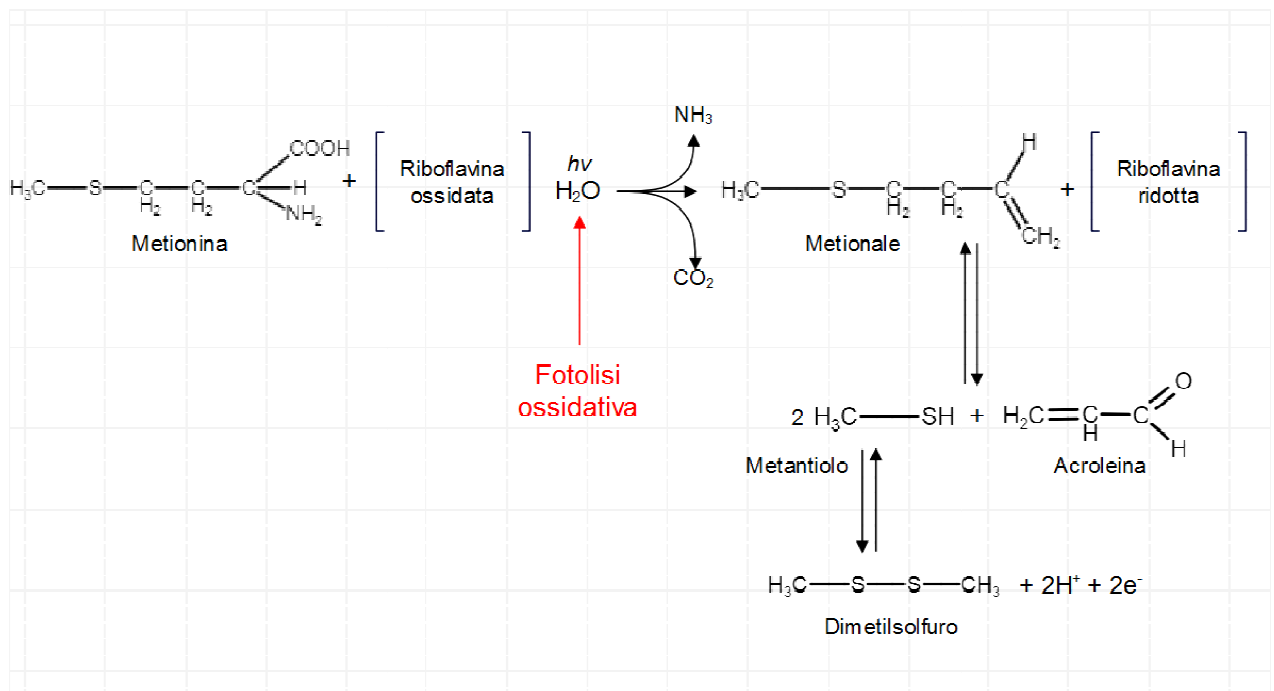


Figura 33: Sequenza delle reazioni responsabili della formazione del gusto luce.

5.3 Umidità

L'umidità è un parametro che, durante l'invecchiamento in bottiglia, agisce indirettamente nel vino. Infatti, un buon livello di umidità agisce sul tappo garantendo

che il sughero si mantenga umido, elastico e quindi ermetico, situazione ideale per evitare il suo deterioramento nel tempo.

Risulta inoltre fondamentale un ambiente umido poiché abbassa la permeabilità del tappo, permettendo quindi di limitare il più possibile l'ingresso dell'ossigeno nel corso del tempo. Una percentuale di umidità del 50% è da considerarsi deleteria per la conservazione delle bottiglie, dato che i tappi in questione potrebbero seccare ed essere soggetti a fessurazioni, velocizzando gli scambi gassosi tra la bottiglia e l'ambiente esterno, causando una rapida ossidazione al vino. Se invece l'ambiente di conservazione registra tassi di umidità superiori al 80%, questo andrà a favorire lo sviluppo di muffe ed altri microrganismi potenzialmente nocivi per il sughero e per i sentori del vino stesso. Viene quindi definito un valore d'umidità del 70% come parametro ideale per una buona maturazione [56].

5.4 Posizione della bottiglia

La posizione della bottiglia durante l'affinamento è un parametro che incide sulla permeabilità del tappo e sull'efficienza di diffusione dell'ossigeno nel vino. Da un punto di vista teorico, il trasferimento dell'ossigeno dal tappo al vino è agevolato se il tappo è a contatto con una parte gassosa anziché con un liquido. Se la bottiglia è disposta orizzontalmente, invece, il trasferimento ne risulterà più limitato. Inoltre, il tappo a contatto con il vino mantiene nel tempo umidità ed elasticità che garantiscono una chiusura ottimale.

La posizione orizzontale è dunque la posizione migliore per la conservazione del vino in cantina, poiché risulta essere quella che più limita i fattori ossidativi [57].

6. RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE NMR E SPETTROMETRIA DI MASSA PER L'ANALISI DELL'AFFINAMENTO DEL VINO

Nello studio dell'evoluzione che il vino intraprende in bottiglia con le sue variazioni molecolari, l'enologo oggi giorno può far riferimento a diverse strumentazioni e

tecniche analitiche. Tra queste spiccano la spettrometria di massa e la risonanza magnetica nucleare $^1\text{H-NMR}$.

Entrambe le tecniche permettono, infatti, di determinare quantità e composizione delle molecole presenti nel vino per poter comprendere con maggior precisione gli aspetti più determinanti che avvengono a seguito dell'invecchiamento.

6.1 Principi base della spettrometria di massa

In enologia la spettrometria di massa è una tecnica analitica usata per identificare e determinare nel vino la quantità di composti noti e per chiarire le proprietà strutturali e chimiche delle molecole tramite la ionizzazione delle stesse, ovvero impartendo loro carica elettrica [58].

Lo strumento utilizzato per questa tecnica è lo spettrometro di massa (Figura 34), che è possibile suddividere in tre parti: sorgente ionica, analizzatore e rivelatore, a cui segue poi un sistema di elaborazione in grado di convertire i segnali elettrici in uno spettro di massa.

La sorgente ionica impartisce carica elettrica alle molecole elettricamente neutre del campione, originando di fatto degli ioni che successivamente, tramite gli analizzatori vengono suddivisi in base al loro rapporto massa/carica. A seguire, nel rivelatore gli ioni generano un segnale elettrico proporzionale al loro numero. Questo segnale elettrico viene infine elaborato da un software e convertito in uno spettro di massa, ovvero un grafico in cui viene riportata la quantità e la tipologia di molecole presenti nel campione [58].



Figura 34: Schema dello spettrometro di massa.

6.2 Principi base della risonanza magnetica nucleare

La Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) è una tecnica analitica strumentale, non distruttiva, che fornisce informazioni sulla struttura molecolare del campione sulla base delle proprietà magnetiche dei nuclei di alcuni atomi (Figura 35).

L'atomo che viene sfruttato generalmente è quello di idrogeno (^1H -NMR). Ogni atomo naturalmente ruota su sé stesso, attorno ad un asse di rotazione, generando un campo magnetico ed un momento magnetico μ , la cui direzione per ciascun atomo è casuale, e la somma vettoriale di tutti i momenti magnetici degli atomi che compongono materiali diamagnetici si annulla. Tuttavia, quando il campione viene esposto ad un campo magnetico esterno (B_0) il momento magnetico di ogni protone tenderà ad allinearsi con il campo esterno applicato.

Se in aggiunta il campione viene investito da una radiofrequenza (rf) pari alla frequenza di Larmor, i nuclei assorbiranno questa energia e modificheranno il loro spin. Nel momento in cui viene rimosso l'impulso rf, i nuclei tenderanno a rilassarsi. Questo fenomeno permette di registrare un segnale oscillante che si attenua nel tempo, il cosiddetto FID (Free Induction Decay). L'elaborazione matematica di questo segnale, che rappresenta una frequenza nel tempo, attraverso la trasformata di Fourier permette di ottenere un grafico dell'intensità in funzione delle frequenze. Considerando che l'intorno chimico di ciascun atomo ne determina una certa schermatura rispetto al campo esterno B_0 , si genera un determinato spostamento chimico rispetto alla frequenza di risonanza.

Si definisce quindi lo spostamento chimico relativo δ , misurato in ppm, che è indipendente dal campo B_0 applicato. In funzione della schermatura determinata dall'intorno chimico, protoni diversi della stessa molecola risuoneranno a ppm diversi, si distinguono ad esempio protoni alifatici nella regione 0-3 ppm e protoni aromatici nella regione 6-9 ppm rispetto allo 0 della scala, attribuito per convenzione all'assorbimento del tetrametilsilano ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$).

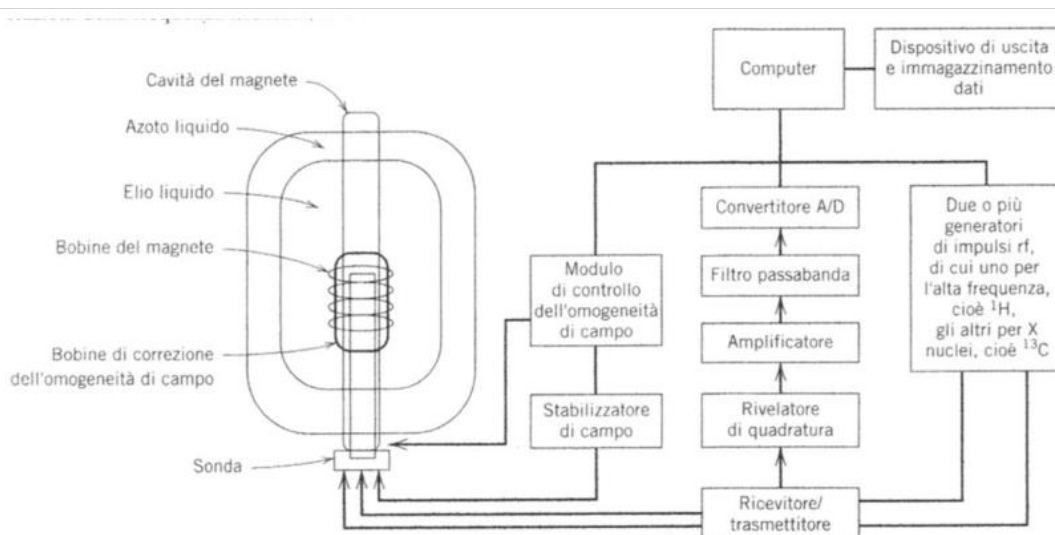


Figura 35: Schema a blocchi di uno spettrometro NMR [59].

6.3 Applicazione della risonanza magnetica durante l'affinamento in bottiglia

La Risonanza Magnetica Nucleare permette di analizzare il vino dal punto di vista molecolare al fine di comprenderne meglio l'andamento e le modificazioni nel tempo. In particolare, questa tecnica permette un'analisi completa con un dispendio minimo di campione (circa 500 μ l) e con la possibilità di ripetere l'analisi a distanza nel tempo.

Un'interessante applicazione della spettroscopia NMR è stata proposta da C. Cassino *et al.*, nell'analisi di due vini bianchi, dopo 3 e dopo 24 mesi dall'imbottigliamento, e dieci vini rossi dopo 3 e dopo 48 mesi dall'imbottigliamento, tutti conservati in cella alla temperatura di 12°C costanti [60].

I dati ottenuti sono stati, poi, raggruppati statisticamente tramite un grafico delle componenti principali (PCA, Figura 36), ottenendo successivamente una tabella riportante la variazione che hanno subito i principali metaboliti durante l'affinamento (Figura 37).

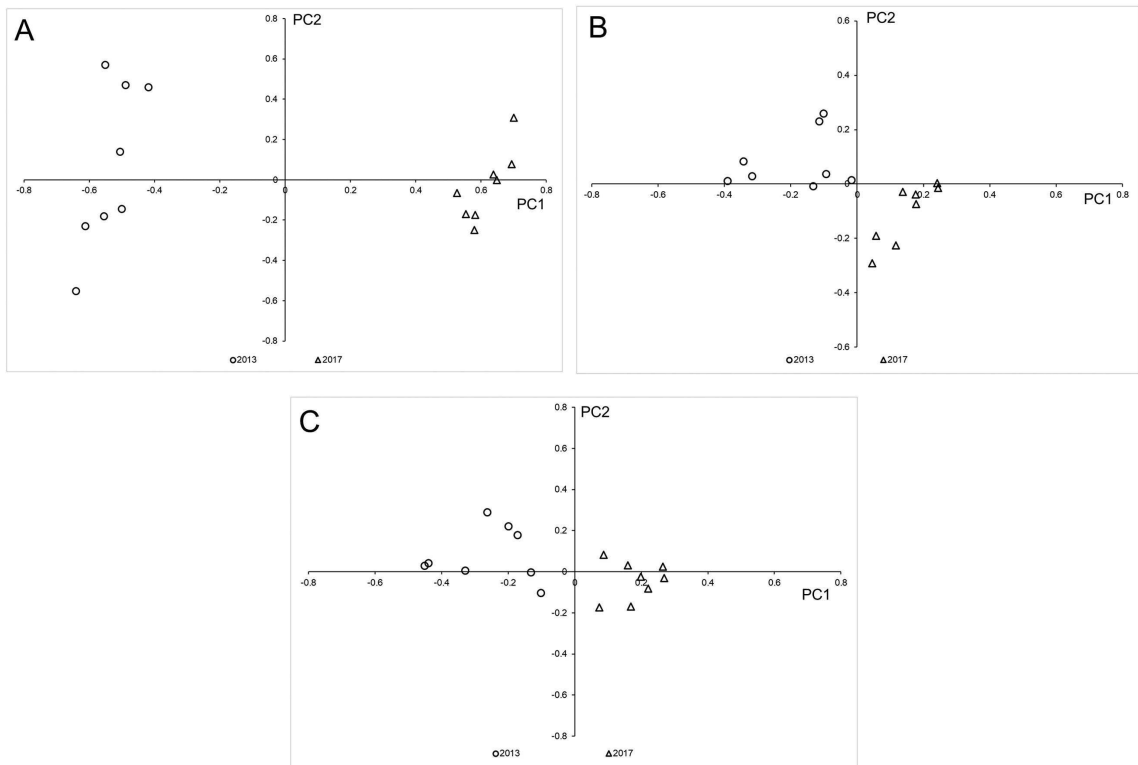


Figura 36: Esempio di risultati PCA, in questo caso i risultati PCA dei vini Barbera della zona di Asti. **A)** area 10-5.5 ppm, PC1 mostra il 52,9% della varianza totale; **B)** area 5.5-3.7 ppm, PC1 mostra il 44.9% della varianza totale; **C)** area 3.6-0.5 ppm, PC1 mostra il 50,8% della varianza totale [60].

Wines	Metabolites increasing with aging	Metabolites decreasing with aging
Barbera from Asti	2,3-Butanediol (1.13 ppm) Acetic acid (2.07 ppm) Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm) Gallic acid (7.15 ppm) Syringic acid (7.38 ppm)	Acetoin (1.36, 2.21, 4.40 ppm) Caffeic acid (6.35, 6.93, 7.12, 7.19, 7.60 ppm) Catechin (2.55, 2.85, 4.23, 6.00, 6.10, 6.85, 6.91, 6.93 ppm) Choline chloride (3.18, 4.05 ppm) Epicatechin (2.75, 2.92, 4.32, 4.98, 6.07, 6.10, 6.93, 7.03 ppm) Galacturonic acid (3.92, 4.24, 4.30, 4.31, 4.64, 5.19, 5.24, 5.30 ppm) Histidine (3.34, 4.04, 7.38, 8.65 ppm) Kaempferol (6.32, 6.55, 7.02, 8.08 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) Leucine (0.94, 0.96, 1.71 ppm) p-Coumaric acid (6.38, 6.93, 7.58, 7.70 ppm) Succinic acid (2.65 ppm)
Barbera from Alessandria	2,3-Butanediol (1.13 ppm) Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm) Furfural (6.75, 7.57, 7.91, 9.49 ppm) Gallic acid (7.15 ppm) Syringic acid (7.38 ppm)	Acetaldehyde (2.23, 9.66 ppm) Acetoin (1.36, 2.21, 4.40 ppm) Caffeic acid (6.35, 6.93, 7.12, 7.19, 7.60 ppm) Catechin (2.55, 2.85, 4.23, 6.00, 6.10, 6.85, 6.91, 6.93 ppm) Choline chloride (3.18, 4.05 ppm) D-(+)-glucose (3.22, 3.40, 3.88, 4.62, 5.21 ppm) Epicatechin (2.75, 2.92, 4.32, 4.98, 6.07, 6.10, 6.93, 7.03 ppm) Galacturonic acid (3.92, 4.24, 4.30, 4.31, 4.64, 5.19, 5.24, 5.30 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) p-Coumaric acid (6.38, 6.93, 7.58, 7.70 ppm) Tartaric acid (4.60 ppm) <i>trans</i> - ferulic acid (3.90, 6.41, 6.94, 7.19, 7.30, 7.66 ppm) 2-Phenyl ethanol (2.85, 3.82, 7.30, 7.37 ppm) Acetoin (3-hydroxybutanone) (1.36, 2.21, 4.40 ppm) Aspartic acid (2.94, 3.00, 4.05 ppm) Catechin (2.55, 2.85, 4.23, 6.00, 6.10, 6.85, 6.91, 6.93 ppm) Choline chloride (3.18, 4.05 ppm) D-(+)-xylose (3.20, 3.29, 3.41, 3.90, 4.55, 5.17 ppm) Epicatechin (2.75, 2.92, 4.32, 4.98, 6.07, 6.10, 6.93, 7.03 ppm) Isoamyl alcohol (3-methyl-1-butanol) (0.88, 1.42, 1.64 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) Leucine (0.94, 0.96, 1.71 ppm) Proline (2.00, 2.07, 2.34, 3.67, 4.13 ppm) Succinic acid (2.65 ppm) Tartaric acid (4.60 ppm) <i>Trans</i> - ferulic acid (3.90, 6.41, 6.94, 7.19, 7.30, 7.66 ppm) Catechin (2.55, 2.85, 4.23, 6.00, 6.10, 6.85, 6.91, 6.93 ppm) Choline chloride (3.18, 4.05 ppm) D(-)-ribose (3.82, 4.08, 4.19, 4.92, 5.22, 5.36 ppm) epicatechin (2.75, 2.92, 4.32, 4.98, 6.07, 6.10, 6.93, 7.03 ppm) Histidine (3.34, 4.04, 7.38, 8.65 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) Succinic acid (2.65 ppm) <i>trans</i> - ferulic acid (3.90, 6.41, 6.94, 7.19, 7.30, 7.66 ppm) Catechin (2.55, 2.85, 4.23, 6.00, 6.10, 6.85, 6.91, 6.93 ppm) Choline chloride (3.18, 4.05 ppm) Epicatechin (2.75, 2.92, 4.32, 4.98, 6.07, 6.10, 6.93, 7.03 ppm) Histidine (3.34, 4.04, 7.38, 8.65 ppm) Isobutanol, (2-methylpropan-1-ol) (0.86, 1.73, 3.36 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) Succinic acid (2.65 ppm) <i>Trans</i> - ferulic acid (3.90, 6.41, 6.94, 7.19, 7.30, 7.66 ppm) Xylose (3.20, 3.29, 3.41, 3.90, 4.55, 5.17 ppm) D(-)-ribose (3.82, 4.08, 4.19, 4.92, 5.22, 5.36 ppm) Lactic acid (1.40, 4.34 ppm) Leucine (0.94, 0.96, 1.71 ppm) Malic acid (2.79, 2.88, 4.53 ppm) Succinic acid (2.65 ppm) Tartaric acid (4.60 ppm)
Ruché	2,3-Butanediol (1.13 ppm) Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm) Gallic acid (7.15 ppm)	
Nebbiolo	2,3-Butanediol (1.13 ppm) Acetoin (1.36, 2.21, 4.40 ppm) Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm)	
Grignolino	2,3-butanediol (1.13 ppm) Acetic acid (2.07 ppm) D(-)-ribose (3.82, 4.08, 4.19, 4.92, 5.22, 5.36 ppm) D-(+)-glucose (3.22, 3.40, 3.88, 4.62, 5.21 ppm) Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm) Gallic acid (7.15 ppm)	
Cortese	Ethyl acetate (1.24, 2.07, 4.13 ppm) Ethyl lactate (1.39, 4.21, 4.37 ppm)	

Figura 37: Lista della variazione di metaboliti riscontrati dall'analisi H NMR elaborati tramite PCA [60].

Questo esempio mostra come sia possibile ottenere informazioni sensibili che permettono all'enologo una valutazione concreta del processo di affinamento. Inoltre, è possibile ripetere a distanza di tempo l'analisi, andando a creare una storicità che permette una miglior comprensione delle modificazioni chimiche nel tempo.

Un altro interessante utilizzo della spettroscopia NMR è stato proposto da *Al Weekley et al.* in cui dimostrano come sia possibile effettuare delle analisi NMR

direttamente sulla bottiglia in cui è contenuto il vino (Figura 38), in questo su vino Cabernet Sauvignon di annate diverse. Questo aspetto è di particolare rilievo in quanto permette di svolgere l'analisi anche a bottiglie di pregio molto costose senza andare ad intaccarne il valore [61].

Gli autori dimostrano che nonostante il vino rappresenti una matrice complessa ricca di molecole, lo spettro $^1\text{H-NMR}$, in opportune condizioni di misura, risulta dominato dai segnali generati dall'acqua e dall'etanolo. La comparsa di un segnale generato dall'acido acetico diventa sintomo del deterioramento del vino.

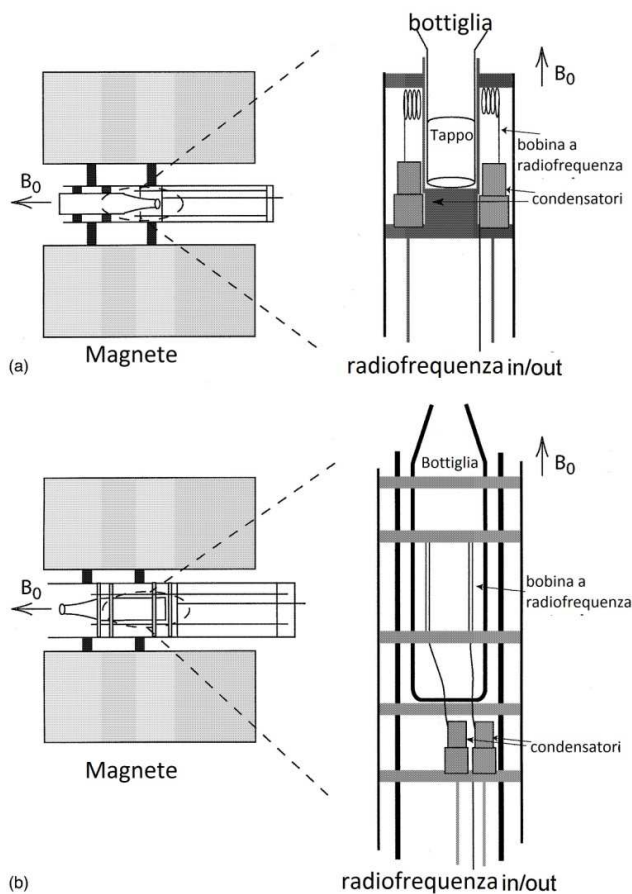


Figura 38: Configurazione sperimentale utilizzata per ottenere lo spettro NMR di bottiglie di vino completamente intatte in un magnete di risonanza magnetica a foro orizzontale. Le viste esplose mostrate in (a) e (b) mostrano le teste della sonda NMR utilizzate per misurare gli spettri $^1\text{H-NMR}$ in bottiglie di vino piene [61, tradotta].

La risonanza magnetica $^1\text{H-NMR}$ è dunque una tecnica analitica molto preziosa per comprendere il comportamento del vino in tutte le sue fasi. Di contro, al giorno d'oggi questa tecnologia richiede personale specializzato e costi elevati per l'attrezzatura,

tant'è che nell'ambito enologico tali misurazioni vengono effettuate quasi sempre da laboratori chimici esterni alla cantina.

7. CONCLUSIONI

A seguito delle ricerche eseguite, l'invecchiamento in bottiglia si rivela essere un processo complesso e sensibile che influenza notevolmente il profilo organolettico del vino. Durante l'affinamento, il cambiamento del colore, del gusto e dell'aroma ne definiscono la qualità finale e giocano un ruolo fondamentale per favorire e garantire un miglior apprezzamento da parte del consumatore.

Sebbene il primo parametro fondamentale per un adeguato affinamento del vino riguardi le sue caratteristiche, intese come un corretto processo produttivo pre-imbottigliamento, la composizione in sostanze polifenoliche e la stabilità ossidativa, di fondamentale importanza risultano essere la scelta del giusto tappo e delle giuste condizioni ambientali della cantina.

È importante, inoltre, che i produttori controllino man mano lo stato ossidativo del vino e il suo grado di ossidazione durante tutto il processo, per evitare la comparsa di off flavours indesiderati e per poter individuare eventuali migliorie da apportare per le future annate.

Infine, una volta comprese le dinamiche chimiche coinvolte nell'affinamento del vino imbottigliato, il periodo migliore per il suo consumo rimane comunque non del tutto individuabile. Questo perché il vino di qualità, di per sé, è soggetto a innumerevoli variabili da un'annata all'altra, da una fermentazione all'altra, ma anche solo dall'affinamento di una o l'altra botte. Dunque, data la sua variabilità e complessità, ulteriori studi e applicazioni potrebbero far luce su processi e modificazioni ad oggi ancora sconosciuti e consentire un ulteriore miglioramento generale del prodotto.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Silvia Mangani, Chiara Favilli, Giacomo Buscioni, Massimo Vincenzini, Gli antociani dei vini rossi: indicatori varietali in pasto ai microrganismi, *L'Enologo*, 2008, pp. 95-97.
2. Mateus, N.; Silva, A.M.S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J.C.; De Freitas, V. Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 7, pp. 2110 - 2115.
3. De Freitas, V.; Mateus, N. Formation of pyranoanthocyanins in red wines: A new and diverse class of anthocyanin derivatives. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, 401, 5, pp. 1463-1473.
4. Rentzsch, M.; Schwarz, M.; Winterhalter, P. Pyranoanthocyanins—An overview on structures, occurrence, and pathways of formation. *Trends Food Sci. Technol.* 2007, 18, 10, pp. 526-534.
5. Fei He, Na-Na Liang, Lin Mu, Qiu-Hong Pan , Jun Wang, Malcolm J. Reeves and ChangQing Duan, Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution, *molecules*, 2012, 17, 2, pp. 1483-1519
6. He, J.; Oliveira, J.; Silva, A.M.S.; Mateus, N.; De Freitas, V. Oxovitisins: A new class of neutral pyranone-anthocyanin derivatives in red wines. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 15, pp. 8814–8819.
7. Francia-Aricha, E.M.; Guerra, M.T.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Santos-Buelga, C. New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, pp. 2262–2266.
8. Oliveira, J.; de Freitas, V.; Mateus, N. Polymeric Pigments in Red Wines. *Red Wine Technol.* 2018.
9. Kanavouras, A.; Coutelieris, F.; Karanika, E.; Kotseridis, Y.; Kallithraka, S. Colour change of bottled white wines as a quality indicator. *OENO One* 2020, 54, 3, pp. 543-551.
10. Monagas, M.; Bartolomé, B. Anthocyanins and anthocyanin-derived compounds. In *Wine Chemistry and Biochemistry*, 1st ed.; Victoria Moreno-Arribas, M., Carmen Polo, M., Eds.; Springer Science+Business Media, LLC: 233 Spring Street, New York, NY, USA, 2009.

11. Jackson, R.S. *Wine Science: Principle and Applications*, 3rd ed.; Elsevier-Academic Press: Oxford, UK, 2008.
12. Vivar-Quintana, A.M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E.; Rivas-Gonzalo, J.C. Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Sci. Tech. Int.* 1999, 458, pp. 147-155.
13. Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* 1994, 36, 3, pp. 871-874.
14. Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Quideau, S. C-glycosidic ellagitannins and their influence on wine chemistry. In *Chemistry and Biology of Ellagitannins: An Underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols*; Quideau, S., Ed.; World Scientific Publishing: Singapore, 2009, 11, 22, pp. 6503-6513.
15. Smith, P.A.; Mcrae, J.M.; Bindon, K.A. Impact of winemaking practices on the concentration and composition of tannins in red wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2015, 21, S1, pp. 601-614.
16. Silva, M.A.; Julien, M.; Jourdes, M.; Teissedre, P.-L. Impact of closures on wine post-bottling development: A review. *Eur. Food Res. Technol.* 2011, 233, pp. 905-914.
17. Bueno, M.; Marrufo-Curtido, A.; Carrascón, V.; Fernández-Zurbano, P.; Escudero, A.; Ferreira, V. Formation and Accumulation of Acetaldehyde and Strecker Aldehydes during Red Wine Oxidation. *Front. Chem.* 2018, 6, art.20.
18. Ugliano, M. Oxygen Contribution to Wine Aroma Evolution during Bottle Aging. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 26, pp. 6125-6136.
19. Dick Cantwell, Peter Bouckaert; *Wood & Beer | A Brewer's Guide*, Brewers Publication, 2016.
20. Kanavouras, A.; Coutelieris, F.; Karanika, E.; Kotseridis, Y.; Kallithraka, S. Colour change of bottled white wines as a quality indicator. *OENO One* 2020, 54, 3, pp. 543-551.
21. Bührle, F.; Gohl, A.; Weber, F. Impact of Xanthylum Derivatives on the Color of White Wine. *Molecules* 2017, 22, 8, p. 1376.
22. Sáenz-Navajas, M.P.; Avizcuri, J.M.; Ballester, J.; Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Peyron, D.; Valentin, D. Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *LWT-Food Sci. Technol.* 2015, 60, 1, pp. 400-411.

23. Vázquez-Pateiro, I.; Arias-González, U.; Mirás-Avalos, J.M.; Falqué, E. Evolution of the aroma of treixadura wines during bottle aging. *Foods* 2020, 9, 10, p. 1419.
24. Cejudo-Bastante, M.J.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Pérez-Coello, M.S. Accelerated Aging against Conventional Storage: Effects on the Volatile Composition of Chardonnay White Wines. *J. Food Sci.* 2013, 78, pp. 507-513.
25. Collin, S.; Nizet, S.; Claeys Bouuaert, T.; Despatures, P.M. Main odorants in Jura flor-sherry wines. Relative contributions of sotolon, abhexon, and theaspirane-derived compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 1, pp. 380-387.
26. Roland, A.; Schneider, R.; Razungles, A.; Cavelier, F. Varietal thiols in wine: Discovery, analysis and applications. *Chem. Rev.* 2011, 111, 11, pp. 7355-7376.
27. Tominaga T, Furrer A, Henry R & Dubourdiou D, Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L var Sauvignon blanc wine. *Flavour Fragr J.*, 1998, 13, 3, pp. 159-162.
28. Tominaga, T.; Guimbertau, G.; Dubourdiou, D. Role of certain volatile thiols in the bouquet of aged Champagne wines. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 4, 1016-1020.
29. Danilewicz, J.C. Mechanism of Autoxidation of Polyphenols and Participation of Sulfite in Wine: Key Role of Iron. *Am. J. Enol. Vitic.* 2011, 62, 3, pp. 319-328.
30. Viviers, M.Z.; Smith, M.E.; Wilkes, E.; Smith, P. Effects of five metals on the evolution of hydrogen sulfide, methanethiol, and dimethyl sulfide during anaerobic storage of chardonnay and shiraz wines, *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 50, pp. 12385-12396.
31. Waterhouse, A.L.; Laurie, V.F. Oxidation of Wine Phenolics: A Critical Evaluation and Hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.* 2006, 57, pp. 306-313.
32. Carla Maria Oliveira, António César Silva Ferreira , Victor De Freitas , Artur M. S. Silva, Oxidation mechanisms occurring in wines, *Food Res. Int.*, 2011, 45, 4, pp. 1115-1126.
33. Danilewicz, J.C. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* 2007, 58, 1, pp. 53-60.
34. Javier Echave , Marta Barral , Maria Fraga-Corral , Miguel A. Prieto and Jesus Simal-Gandara, Bottle Aging and Storage of Wines: A Review, *Molecules* 2021, 26, 3, p. 713.

35. Tominaga, T.; Guimbertau, G.; Dubourdieu, D. Role of certain volatile thiols in the bouquet of aged Champagne wines. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 4, pp. 1016-1020.
36. Mayr, C.M.; Capone, D.L.; Pardon, K.H.; Black, C.A.; Pomeroy, D.; Francis, I.L. Quantitative Analysis by GC-MS/MS of 18 Aroma Compounds Related to Oxidative Off-Flavor in Wines. *J. Agric. Food Chem.* 2015, 63, 13, pp. 3394-3401.
37. Grainger, K. *Wine Faults and Flaws.* Wine Qual. 2009.
38. Smith, M.E.; Bekker, M.Z.; Smith, P.A.; Wilkes, E.N. Sources of volatile sulfur compounds in wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2015, 21, pp. 705-712.
39. Pripis-Nicolau, L.; de Revel, G.; Bertrand, A.; Maujean, A. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 9, pp. 3761-3766.
40. Ugliano, M.; Dieval, J. B.; Siebert, T. E.; Kwiatkowski, M.; Aagaard, O.; Vidal, S.; Waters, E. J. Oxygen consumption and development of volatile sulfur compounds during bottle aging of two Shiraz wines. Influence of pre- and postbottling controlled oxygen exposure. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 35, pp. 8561-8570.
41. Fedrizzi, B.; Zapparoli, G.; Finato, F.; Tosi, E.; Turri, A.; Azzolini, M.; Versini, G. Model aging and oxidation effects on varietal, fermentative, and sulfur compounds in a dry botrytized red wine. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 5, pp. 1804-1813.
42. Nedjma, M.; Hoffman, N. Hydrogen sulfide reactivity with thiols in the presence of copper(II) on hydroalcoholic solutions or Cognac brandies: formation of symmetrical and unsymmetrical dialkyl trisulfides. *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44, 12, pp. 3935-3938.
43. Banchard, L.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D. Formation of furfurylthiol exhibiting a strong coffee aroma during oak barrel fermentation from furfural released by toasted staves. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 49, 10, 4833-4835.
44. Tominaga, T. Contribution of benzenemethanethiol to the smoky aromas of certain *Vitis vinifera* wines. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51,5, 1373-1376.
45. Crouvisier-Urien, K.; Bellat, J.P.; Gougeon, R.D.; Karbowiak, T. Gas transfer through wine closures: A critical review. *Trends Food Sci. Technol.* 2018, 78, pp. 255-269.

46. Rives, J.; Fernández-Rodríguez, I.; Rieradevall, J.; Gabarrell, X. Environmental analysis of the production of champagne cork stoppers. *J. Clean. Prod.* 2012, 19, 2, pp. 259-271.
47. Fonseca, A.L.; Brazinha, C.; Pereira, H.; Crespo, J.G.; Teodoro, O.M.N.D. Permeability of cork for water and ethanol. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 40, pp. 9672-9679.
48. Crouvisier-Urien, K.; Bellat, J.P.; Gougeon, R.D.; Karbowski, T. Gas transfer through wine closures: A critical review. *Trends Food Sci. Technol.* 2018, 78, pp. 255-269.
49. Hopfer, H.; Ebeler, S.E.; Heymann, H. The combined effects of storage temperature and packaging type on the sensory and chemical properties of chardonnay. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 43, pp. 10743-10754.
50. Ghidossi, R., Poupot, C., Thibon, C., et al. The influence of packaging on wine conservation. *Food Control*, 2012, 23, 2, pp. 302-311.
51. Revi, M., Badeka, A., Kontakos, S., Kontominas, M.G. Effect of packaging material on enological parameters and volatile compounds of dry white wine. *J. Agric. Food Chem.* 2014, 152, pp. 331-339.
52. Hopfer, H., Buffon, P.A., Ebeler, S.E., Heymann, H., The combined effects of storage temperature and packaging on the sensory, chemical, and physical properties of a Cabernet Sauvignon wine. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 13, pp. 3320-3334.
53. Grant-Preece, P.; Barril, C.; Schmidtke, L.M.; Scollary, G.R.; Clark, A.C. Light-induced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017, 57, 4, pp. 743-754.
54. Maujean A., Haye M., Feuillat M., Contribution a l'étude des "goûts de lumière" dans le vin de Champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Correlation avec la teneur en thiols du vin, *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 1978.
55. Maujean A., Seguin N. Contribution a l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne. 3. Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans le vin de Champagne. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 1983.

56. Arapitsas, P.; Speri, G.; Angeli, A.; Perenzoni, D.; Mattivi, F. The influence of storage on the “chemical age” of red wines. *Metabolomics* 2014, 10, pp. 816-832.
57. Mas, A.; Puig, J.; Lladoa, N.; Zamora, F. Sealing and storage position effects on wine evolution. *J. Food Sci.* 2002, 67, pp. 1374-1378.
58. A.V. What is the Mass Spectrometry, ASMS, 2002.
59. Sito Web: <https://www.slideserve.com/aradia/schema-a-blocchi-di-un-apparato-nmr>
60. Cassinoa M., Tsolakisa C., Bonello F., Gianottia V., Osella D., Wine evolution during bottle aging, studied by H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis, *Food Res. Int.* 2018, 116, pp. 566-577.
61. Weekley AJ, Bruins P., Sisto M. , Augustine MP, Using NMR to atudy full intact wine bottle, *J. Magn. Reson*, 2003, 161, 1, pp. 91-98.
62. Waterhouse A.L., Sacks G.L., Jeffery D.W., *Understanding Wine Chemistry, 25 Topics Related to Aging*, John Wiley & Sons Inc., 2016, pp. 294-317.
63. Cheynier V., Il colore dei vini rossi, *VINIDEA.NET – RIVISTA INTERNET TECNICA DEL VINO*, 2003, 4.
64. Amargianitaki M., Spyros A., NMR- based metabolomics in wine quality control and authentication, *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 2017, 4, 9.