

## Profilo aromatico dell'uva e del vino *Sagrantino*

### *Aromatic profile of Sagrantino grape and wine*

R. Di Stefano<sup>1</sup>, F. Mattivi<sup>2</sup>, M. Caburazzi<sup>3</sup>, L. Bonifazi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento ITAF, Facoltà di Agraria, Università di Palermo, viale delle Scienze 13, 90128 Palermo, Italia.

<sup>2</sup>Fondazione Edmondo Mach, Istituto Agrario di San Michele all'Adige (IASMA), Centro Sperimentale, Dipartimento Qualità Agro-Alimentare, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN), Italia.

<sup>3</sup>Azienda Antonelli San Marco, loc. San Marco 60 - 06036 Montefalco (PG), Italia.

<sup>4</sup>Consorzio per la tutela dei vini di Montefalco, Piazza del Comune 16, 06036 Moltefalcone (PG), Italia.

e-mail: roccodistefano@unipa.it

(ricevuto il 04.12.08; accettato il 22.01.09).

### Riassunto

La caratterizzazione aromatica dell'uva *Sagrantino* è stata effettuata attraverso la determinazione degli aromi varietali sotto forma glicosilata, estratti con un metodo messo a punto in precedenti lavori. L'influenza del processo di vinificazione (fermentazione, maturazione, conservazione) è stata valutata attraverso l'analisi degli stessi composti sotto forma libera e glicosilata. Si è osservato che l'uva *Sagrantino* è caratterizzata da contenuti rilevanti di composti terpenici sotto forma glicosilata, fra i quali prevalgono l'acido trans-geranico, l' $\alpha$ -terpineolo, gli ossidi furanici del linalolo, il linalolo, il geraniolo, il nerolo, e i due isomeri dell'8-idrossi linalolo. Nei vini si riscontra una forte diminuzione del linalolo, mentre l' $\alpha$ -terpineolo, gli ossidi furanici del linalolo, l'acido trans-geranico, i due isomeri dell'8-idrossi linalolo, il geraniolo, il nerolo confermano la loro prevalenza quantitativa ed emergono il p-ment-1-ene-7,8-diolo e l'acido 2,6-dimetil-6-idrossi-2,7-octadienoico di modesta importanza nell'uva. Alcuni composti, fra cui i norisoprenoidi, di importanza marginale nell'uva, diventano prioritari nei vini. Ipotesi sono state formulate per spiegare questi risultati.

### Summary

The characterization of *Sagrantino* was made through the determination of glycoconjugated varietal volatiles, extracted from the berries by a method developed in earlier work. The influence of vinification process (fermentation, maturation, aging) was evaluated by analysis of the same free and glycoconjugated compound. It was noted that the *Sagrantino* grapes are characterized by a significant content of glycoconjugated terpene compounds, among which trans-geranic acid,  $\alpha$ -terpineol, furan linalool oxides, linalool, geraniol, nerol, and the two isomers of 8-hydroxy linalool prevail. In wine there is a strong decrease of linalool, while  $\alpha$ -terpineol, furan linalool oxides, trans-geranic acid, the two isomers of 8-hydroxy linalool, geraniol, and nerol confirm their quantitative importance. Some compounds, including norisoprenoids, of marginal importance in grapes become relevant in wine. Hypothesis have been made to explain these results.

Parole chiave: terpenoli, norisoprenoidi, benzenoidi, aromi glicosilati, aromi fermentativi, Sagrantino.

Key words: terpenols, norisoprenoids, benzenoids, glycoconjugated aromas, fermentative aromas, Sagrantino.

## Introduzione

La varietà *Sagrantino*, autoctona della zona di Montefalco (Pg), si distingue dalle altre a frutto colorato per l'elevato contenuto in flavanoli delle sue uve (Nicolini e Valenti, 2001; Mattivi *et al.*, 2002; Di Stefano *et al.*, 2008). Queste sostanze, presenti nelle bucce e nei semi, sono estraibili in quantità elevata durante la vinificazione. Il contenuto particolarmente alto in tannini dei vini Sagrantino dipende, oltre che dalla particolare composizione delle uve, dal rapporto parti solide/succo, superiore a quello delle comuni varietà autoctone a frutto colorato (Di Stefano *et al.*, 2008). Gli antociani sono del tipo trisostituito all'anello laterale, con prevalenza di malvidina-3-glucoside, mentre la quercetina, composto disostituito all'anello laterale, nelle sue forme glucuronide e glucoside, è il flavonolo principale. A differenza degli antociani, il contenuto in flavonoli della buccia è piuttosto basso; inoltre, l'acido caffeil tartarico è il più rappresentato fra gli acidi idrossicinnamici legati all'acido tartarico della buccia. Mentre i lavori sopra citati hanno definito nelle loro linee essenziali il contenuto e i profili fenolici delle uve e dei vini Sagrantino, mancano studi sui profili aromatici di questi prodotti e sulla loro caratterizzazione attraverso l'analisi dei descrittori sensoriali. Il presente lavoro costituisce un primo contributo a tale riguardo. Alcuni composti, fra cui i norisoprenoidi, di importanza marginale nell'uva, diventano prioritari nei vini.

## Materiali e metodi

Il profilo aromatico del Sagrantino è stato determinato su uve della vendemmia 2003 e su un vino di questa annata, alla fine della maturazione in legno sur lies, durante la conservazione in bottiglia (2006). La determinazione degli aromi liberi e legati è stata ripetuta su vini di prove del 2007 (da vendemmia anticipata e da vendemmia a maturazione presunta), nell'inverno successivo alla vendemmia.

### Determinazione degli aromi varietali liberi e glicosilati dell'uva Sagrantino

Da un campionamento di circa 400 acini, raccolti con il pedicello, due per ogni grappolo, nella zona centrale, dalla parte esposta al sole e dalla parte all'ombra sono stati selezionati 100 acini, di cui si è determinato il peso complessivo. Ogni acino è stato diviso in due parti con un coltellino affilato e, dopo aver asportato con lo stesso attrezzo i semi, che sono stati eliminati, si è staccata la polpa dalla buccia lasciandola cadere nel bicchiere di un omogeneizzatore, in cui si trovavano 50 mg di sodio metabisolfito, mentre le bucce sono state poste in una beuta, a collo smerigliato da 300 mL, contenente 20 mL di metanolo. Nel corso di circa un'ora,

la beuta è stata sottoposta ad agitazione manuale per rendere possibile, attraverso il contatto bucce - metanolo, la disorganizzazione delle membrane delle cellule delle bucce e l'inattivazione degli enzimi glicosidasici. Il metanolo e le bucce sono state poi trasportate quantitativamente, lavando con acqua, nel bicchiere dell'omogeneizzatore in cui si trovavano le polpe. Dopo omogeneizzazione e centrifugazione, la fase liquida è stata posta in un matraccio tarato da 500 mL, il pellet è stato risospeso in acqua e dopo un'ora ricentrifugato. Le fasi liquide riunite sono state portate a 500 mL con acqua. L'estratto ottenuto è stato reso perfettamente limpido per enzimaggio con 100 mg di enzima pectolitico privo di attività glicosidica secondaria e centrifugazione dopo 1 - 2 ore.

400 mL di estratto sono stati addizionati di 0,2 mL di standard interno (1-eptanolo a 40 mg/L in etanolo 20%) e passati attraverso una cartuccia C<sub>18</sub> da 5 g (Isolute, part no. 221-0500-E), previamente attivata con 20 mL di metanolo seguiti da 50 mL di acqua. Dopo lavaggio con 100 mL di acqua per eliminare i composti idrofili, la fase C<sub>18</sub> è stata disidratata per aspirazione sotto vuoto, i composti varietali liberi sono stati eluiti con 50 mL di diclorometano che è stato raccolto in imbuto separatore da 100 mL. La fase organica è stata separata dallo strato superiore di acqua eventualmente presente, disidratata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, posta in un pallone da distillazione da 100 mL a collo smerigliato e, dopo concentrazione a piccolo volume sotto debole vuoto, a temperatura ambiente, analizzata per GC-MS.

I composti glicosilati rimasti assorbiti sulla cartuccia sono stati eluiti con 30 mL di metanolo che è stato raccolto in un pallone da distillazione da 100 mL a collo smerigliato. Dopo evaporazione del solvente sotto vuoto, il residuo è stato ripreso con 10 mL di tampone citrato - fosfato a pH = 5,0, addizionato di 0,2 mL di enzima pectolitico ad alta attività glicosidica (Pectinase CLX 150, Ferrari, Verona), di 1 g di PVPP e posto in termostato a 40°C per 24 ore. Al termine sono stati aggiunti al prodotto di reazione enzimatica 0,2 mL di soluzione di standard interno 1-eptanolo (la stessa utilizzata per i liberi) e, dopo centrifugazione la fase liquida è stata passata su cartuccia C<sub>18</sub> (Isolute, part no. 221-0100-C) da 1 g previamente attivata con 3 mL di metanolo seguiti da 5 mL di acqua. Dopo lavaggio con 5 mL di acqua e disidratazione della cartuccia per aspirazione sotto vuoto, i composti liberati per idrolisi enzimatica sono stati eluiti con 12 mL di diclorometano che sono stati raccolti in imbuto separatore da 50 mL e che dopo trattamento come riportato per la frazione dei liberi, sono stati sottoposti ad analisi per GC-FID e per GC-MS.

Registrato il cromatogramma, l'estratto CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dei composti liberati per idrolisi enzimatica è stato addizionato, nello stesso pallone da distillazione da 100 mL in cui è stato concentrato, di 10 mL di tampone tartarico a pH 3,0, di 1 g di sodio cloruro e scaldato a bagnomaria a 100°C per un'ora, a riflusso. Al termine, il prodotto di reazione è stato passato su cartuccia C<sub>18</sub> da 500 mg (Isolute, part no. 221-0050-B) previamente attivata con 2 mL di metanolo seguiti da 3 mL di acqua e, dopo lavaggio con 5 mL di acqua e disidratazione della fase C<sub>18</sub> per aspirazione sotto vuoto, i composti prodotti per idrolisi chimica degli agliconi liberati per idrolisi enzimatica sono stati eluiti con 12 mL di diclorometano che è stato disidratato, concentrato a temperatura e pressione ambiente e analizzato per GC-FID e per GC-MS.

La determinazione quantitativa dei composti varietali liberi, degli agliconi prodotti per idrolisi enzimatica dei precursori glicosilati e dei prodotti di idrolisi

chimica è stata effettuata utilizzando curve di calibrazione costruite sottoponendo al procedimento sopra descritto soluzioni standard dei composti reperibili in commercio (alcoli terpenici monoidrossilati); i composti di cui non erano disponibili gli standard sono stati determinati come 1-eptanolo (segnati con asterisco nelle tabelle).

#### *Determinazione degli aromi varietali glicosilati del vino Sagrantino*

La preconcentrazione degli aromi varietali glicosilati del vino Sagrantino è stata effettuata con la stessa procedura sopra riportata per le uve, su 100 mL di vino diluiti con acqua fino ad un contenuto in alcol inferiore a 4%.

#### *Determinazione degli aromi varietali liberi e degli aromi prefermentativi, fermentativi, postfermentativi ed esogeni del vino Sagrantino*

Per la determinazione degli aromi varietali e degli aromi prefermentativi, fermentativi, postfermentativi ed esogeni 30 mL di vino diluito 1:4 o 1:5, a seconda del tenore in alcol, sono stati addizionati di 0,3 mL di una soluzione di standard interno 1-eptanolo a 40 mg/L in etanolo 20%, passati su cartuccia C<sub>18</sub> da 1g (Isolute, part no. 221-0100-C) previamente attivata con 3 mL di metanolo seguiti da 5 mL di acqua. Dopo lavaggio con 30 mL di acqua per rimuovere i composti più polari, i composti volatili meno polari sono stati recuperati con 12 mL di diclorometano che sono stati posti in imbuto separatore da 50 mL. Dopo trattamento come sopra descritto, la fase organica è stata analizzata per GC-FID e per GC-MS.

Il vino diluito non assorbito dalla fase C<sub>18</sub> e l'acqua di lavaggio sono stati raccolti in beuta da 250-300 mL a collo smerigliato, addizionati del 10% di NaCl, di 0,3 mL di una soluzione di 1-pentanolo a 80 mg/L, di 30 mL di diclorometano, di ancorotta magnetica e, dopo aver tappato la beuta, sottoposti a lenta agitazione, per evitare la formazione di emulsioni, per un'ora in agitatore magnetico. Dopo separazione dalla fase acquosa, in imbuto separatore da 250 mL, la fase organica è stata sottoposta al trattamento sopra descritto e analizzata per GC-MS.

#### *Condizioni cromatografiche*

- Gascromatografo Agilent 5980 accoppiato ad un rivelatore a selezione di massa MSD 5970;
- Colonna capillare HP-Innovax in silice fusa di 30 m di lunghezza, di 0,25 mm di diametro interno e 0,25 µm film thickness;
- Gas di trasporto: elio a 1 mL/min;
- Iniezione splitless con tempo di iniezione 2 min;
- Temperatura dell'iniettore: 250°C;
- Temperatura dell'interfaccia: 230°C;
- Temperatura della colonna: da 30 a 60°C a 30°C al min., isoterma a 60°C per 2 min., programmata da 60°C a 190°C a 2°C/min e da 190°C a 230°C a 5°C/min con 15 min di isoterma finale;
- Elettromoltiplicatore: 70 eV
- Acquisizione: total ion

## Risultati e discussione

Le figura 1 mostra che l'uva Sagrantino è particolarmente ricca di composti terpenici sotto forma legata agli zuccheri (confronto dell'altezza dei picchi dei composti riportati in figura con quella dello standard interno 1-eptanolo). Fra le molecole monoidrossilate prevale l' $\alpha$ -terpineolo seguito dal linalolo, dal geraniolo e dal nerolo in ordine di importanza quantitativa. Il terpinen-4-olo è presente in quantità sensibilmente minore. Lo stesso vale per le aldeidi terpeniche nerale e geraniale. Fra i cosiddetti ossidi del linalolo sono più rappresentate le forme

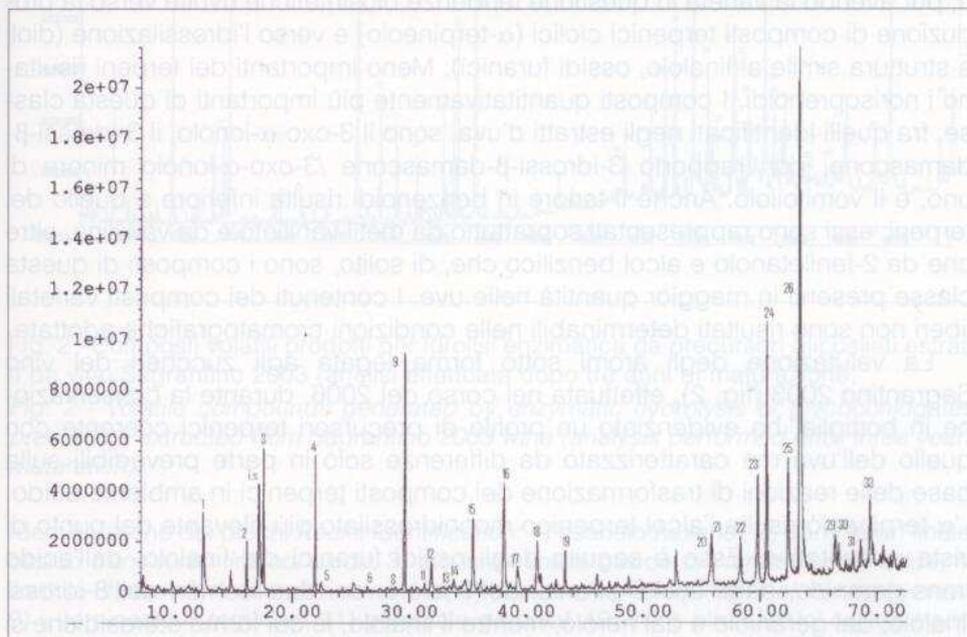


Fig.1 - Composti volatili prodotti per idrolisi enzimatica da precursori glicosilati estratti da uve Sagrantino (2003).

Fig. 1 - Volatile compounds generated by enzymatic hydrolysis of glycoconjugated precursors extracted from Sagrantino grapes (2003).

Identificazione dei picchi *Peaks identification*: 1) esanolo *hexanol*, 2) trans furan linalol ossido *trans furan linalool oxide*, 3) cis furan linalol ossido *cis furan linalool oxide*, 4) linalolo *linalool*, 5) 1-ottanolo *octan-1-ol*, 6) terpinen-4-olo *terpinen-4-ol*, 8) nerale *neral*, 9)  $\alpha$ -terpineolo  *$\alpha$ -terpineol*, 11) geraniale *geranial*, 12) trans piran linalol ossido *trans-piran linalool oxide*, 13) cis piran linalol ossido *cis piran linalool oxide*, 14) citronellolo *citronellol*, 15) nerolo *nerol*, 16) geraniolo *geraniol*, 17) benzil alcol *benzyl alcohol*, 18) 2-fenil etanolo *fenetil alcohol*, 19) 2,6-dimetil-3,7-octadien-2,6-diolo *2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol*, 20) idrossi citronello *hydroxy-citronellol* 21) 8-idrossi diidrolinalolo *8-OH-dihydrolinalool*, 22) trans-8-idrossi linalolo *trans-8-hydroxy-linalool*, 23) cis-8-idrossi linalolo + idrossi geraniolo *cis-8-hydroxy-linalool + hydroxy-geraniol*, 24) acido trans geranico *trans-geranic acid*, 25) 4-vinil fenolo *4-vinil phenol*, 26) acido benzoico *benzoic acid*, 29) p-ment-1-ene-7,8-diolo *p-menth-1-ene-7,8-diol*, 30) 3-idrossi- $\beta$ -damascone *3-hydroxy- $\beta$ -damascone*, 31) vanillina *vanillin*, 33) 3-oxo- $\alpha$ -ionolo *3-oxo- $\alpha$ -ionol*.

furaniche. I rapporti fra le forme trans e cis degli ossidi furanici e piranici sono, rispettivamente, minore e maggiore di uno. Risulta sensibile anche la presenza dei dioli terpenici, soprattutto i due isomeri dell'8-idrossi linalolo (2,6-dimetil-2,7-octadien-1,6-diolo), con rapporto isomero 1/isomero 2 minore di uno, ma sono anche di rilievo il diolo 1 (2,6-dimetil-3,7-octadien-2,6-diolo), e l'8-idrossi diidrolinalolo. L'idrossi citronellolo, coeluito con l'8-idrossi diidrolinalolo, risulta di minore importanza quantitativa. Notevole è la presenza dell'acido trans-geranico che risulta il composto terpenico contenuto in quantità più elevata nell'uva. Si deve segnalare, inoltre, che il p-ment-1-ene-7,8-diolo è uno dei dioli minoritari, pur avendo la varietà in questione tendenze biosintetiche rivolte verso la produzione di composti terpenici ciclici ( $\alpha$ -terpineolo) e verso l'idrossilazione (dioli a struttura simile al linalolo, ossidi furanici). Meno importanti dei terpeni risultano i norisoprenoidi. I composti quantitativamente più importanti di questa classe, fra quelli identificati negli estratti d'uva, sono il 3-oxo- $\alpha$ -ionolo, il 3-idrossi- $\beta$ -damascone, con rapporto 3-idrossi- $\beta$ -damascone /3-oxo- $\alpha$ -ionolo minore di uno, e il vomifoliolo. Anche il tenore in benzenoidi risulta inferiore a quello dei terpeni; essi sono rappresentati soprattutto da metil vanillato e da vanillina, oltre che da 2-feniletanolo e alcol benzilico che, di solito, sono i composti di questa classe presenti in maggior quantità nelle uve. I contenuti dei composti varietali liberi non sono risultati determinabili nelle condizioni cromatografiche adottate.

La valutazione degli aromi sotto forma legata agli zuccheri del vino Sagrantino 2003 (fig. 2), effettuata nel corso del 2006, durante la conservazione in bottiglia, ha evidenziato un profilo di precursori terpenici coerente con quello dell'uva ma caratterizzato da differenze solo in parte prevedibili sulla base delle reazioni di trasformazione dei composti terpenici in ambiente acido. L' $\alpha$ -terpineolo risulta l'alcol terpenico monoidrossilato più rilevante dal punto di vista quantitativo. Esso è seguito dagli ossidi furanici del linalolo, dall'acido trans-geranico, dagli ossidi piranici del linalolo, dai due isomeri dell'8-idrossi linalolo, dal geraniolo e dal nerolo, mentre il linalolo, le cui forme eterosidiche si idrolizzano più rapidamente di quelle degli altri alcoli terpenici monoidrossilati e che, sotto forma di aglicone, si trasforma altrettanto rapidamente in ambiente acido, è diventato un composto minoritario (Di Stefano, 1987). Ci si sarebbe aspettati una maggior resistenza delle forme glicosilate e dell'aglicone del linalolo, in un vino dotato di un pH compreso fra 3,8 e 3,9; evidentemente, la temperatura di fermentazione, la durata della macerazione e i lunghi tempi di maturazione e di conservazione hanno consentito il completamento delle suddette reazioni. Poco rappresentati sono anche il citronellolo, il terpinen-4-olo, il 2-idrossi-1,8-cineolo e le aldeidi nerale e geraniale. Come nell'uva, i rapporti fra le forme trans e cis dei cosiddetti ossidi furanici e piranici sono, rispettivamente, minore e maggiore di uno. I due isomeri dell'8-idrossi linalolo prevalgono sugli altri dioli terpenici, compresi l'8-idrossi diidrolinalolo e l'idrossi citronellolo. Questi ultimi, a loro volta, prevalgono sulla trans terpina, sul diolo 1 e sull'idrossi geraniolo. Nel vino, a differenza dell'uva, i tenori in p-ment-1-ene-7,8-diolo e in ossidi piranici del linalolo sono simili a quelli degli isomeri dell'8-idrossi linalolo. Un altro composto terpenico, che non era stato determinato nell'uva è l'acido 2,6-dimetil-6-idrossi-2,7 octadienoico, presente, però, in quantità inferiore

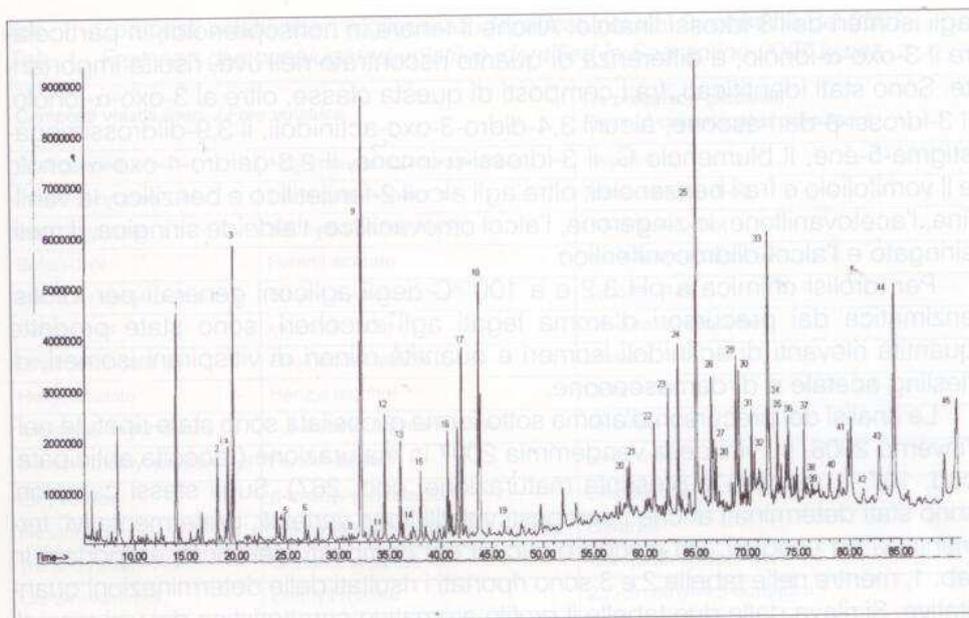


Fig. 2 - Composti volatili prodotti per idrolisi enzimatica da precursori glicosilati estratti da vino Sagrantino 2003 (analisi effettuata dopo tre anni di maturazione).

Fig. 2 - Volatile compounds generated by enzymatic hydrolysis of glycoconjugated precursors extracted from Sagrantino 2003 wine (analysis performed after three years maturation).

Identificazione dei picchi *Peaks identification*: 1) esanolo *hexanol*, 2) trans furan linalol ossido *trans furan linalool oxide*, 3) cis furan linalol ossido *cis furan linalool oxide*, 4) linalolo *linalool*, 5) 1-ottanolo *octan-1-ol*, 6) terpinen-4-olo *terpinen-4-ol*, 8) nerale *neral*, 9)  $\alpha$ -terpineolo  *$\alpha$ -terpineol*, 11) geraniale *geranial*, 12) trans piran linalol ossido *trans-piran linalool oxide*, 13) cis piran linalol ossido *cis piran linalool oxide*, 14) citronello *citronellol*, 15) nerolo *nerol*, 16) geraniolo *geraniol*, 17) benzil alcol *benzyl alcohol*, 18) 2-fenil etanolo *fenetil alcohol*, 19) 2,6-dimetil-3,7-octadien-2,6-diolo *2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol*, 20) idrossi citronello *hydroxy-citronellol* 21) 8-idrossi diidrolinalolo *8-OH-dihydrolinalool*, 22) trans-8-idrossi linalolo *trans-8-hydroxy-linalool*, 23) cis-8-idrossi linalolo + idrossi geraniolo *cis-8-hydroxy-linalool + hydroxy-geraniol*, 24) acido trans geranico *trans-geranic acid*, 25) 4-vinil fenolo *4-vinil phenol*, 26) acido benzoico *benzoic acid*, 27) 3,4-diidro-3-oxo actinidolo isomero 2 *3,4-dihydro-3-oxo actinidol isomer 2*, 28) 3,4-diidro-3-oxo actinidolo isomero 3 *3,4-dihydro-3-oxo actinidol isomer 3*, 29) p-ment-1-ene-7,8-diolo *p-menth-1-ene-7,8-diol*, 30) 3-idrossi- $\beta$ -damascone *3-hydroxy- $\beta$ -damascone*, 31) vanillina *vanillin*, 32) un norisoprenoide *a norisoprenoid*, 33) 3-oxo- $\alpha$ -ionolo *3-oxo- $\alpha$ -ionol*, 34) 4-oxo- $\beta$ -ionolo + acetovanillone *4-oxo- $\beta$ -ionol + acetovanillone*, 35) 3,9-diidrossi-megastigma-5-ene *3,9-dihydroxy-megastigma-5-ene*, 36) blumenolo C *blumenol C*, 37) 3-idrossi- $\alpha$ -ionone *3-hydroxy- $\alpha$ -ionon*, 38) 2,3-deidro-4-oxo- $\alpha$ -ionolo *2,3-dehydro-4-oxo- $\alpha$ -ionol*, 39) zingerone *zingerone*, 40) alcol omovanillico *omovanillic alcohol*, 41) acido 2,6-dimetil-6-idrossi-2,7-octadienoico *2,6-dimethyl-6-hydroxy-2,7-octadienoic acid*, 42) aldeide siringica *siringaldehyde*, 43) alcol diidroconiferilico *dihydroconiferil alcohol*, 44) tirosolo *tyrosol*, 45) vomifoliolo + grassopper chetone *vamifoliol + grassopper chetone*.

agli isomeri dell'8-idrossi linalolo. Anche il tenore in norisoprenoidi, in particolare il 3-oxo- $\alpha$ -ionolo, a differenza di quanto riscontrato nell'uva, risulta importante. Sono stati identificati, fra i composti di questa classe, oltre al 3-oxo- $\alpha$ -ionolo, il 3-idrossi- $\beta$ -damascone, alcuni 3,4-didro-3-oxo-actinidoli, il 3,9-diidrossimegastigma-5-ene, il blumenolo C, il 3-idrossi- $\alpha$ -ionone, il 2,3-deidro-4-oxo- $\alpha$ -ionolo e il vomifoliolo e fra i benzenoidi, oltre agli alcoli 2-feniletilico e benzilico, la vanillina, l'acetovanillone, lo zingerone, l'alcol omovanillico, l'aldeide siringica, il metil siringato e l'alcol diidroconiferilico.

Per idrolisi chimica a pH 3,2 e a 100 °C degli agliconi generati per idrolisi enzimatica dai precursori d'aroma legati agli zuccheri, sono state prodotte quantità rilevanti di actinidoli isomeri e quantità minori di vitispirani isomeri, di riesling acetale e di damascenone.

Le analisi dei precursori d'aroma sotto forma glicosilata sono state ripetute nell'inverno 2008, su vini della vendemmia 2007 in maturazione (raccolta anticipata, cod. 107, e raccolta a presunta maturazione, cod. 267). Sugli stessi campioni sono stati determinati anche i composti volatili liberi varietali, prefermentativi, fermentativi ed esogeni. Un elenco di alcuni dei composti identificati è riportato in tab. 1, mentre nelle tabelle 2 e 3 sono riportati i risultati delle determinazioni quantitative. Si rileva dalle due tabelle il profilo aromatico caratteristico dei vini rossi di età chimica piuttosto sensibile, conservati in legno. È modesto, infatti, il contenuto in esteri etilici degli acidi grassi a media catena, ma non in acidi grassi a media catena, mentre è elevato quello in esteri degli acidi fissi di fermentazione (mono e dietil succinato, mono e dietil-2-idrossi glutarato, indicatori di età chimica). Il contatto col legno è indicato dalla presenza del  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octalattone e dalle aldeidi furfurale e 5-metil furfurale, oltre che dalla vanillina e dall'aldeide siringica. In legno, i vini hanno subito anche un processo fermentativo che ha contribuito alla trasformazione dell'aldeide furfurale in alcol furfurilico. A parte i composti estratti dal legno, fra quelli di fermentazione, le differenze più importanti fra i due campioni riguardano i tenori in acetoino, in  $\gamma$ -butirrolattone, in etil-4-idrossi butirrato e in 2-feniletanolo. Gli alti contenuti di quest'ultimo composto indicano che le fermentazioni potrebbero essere state condotte in tutto o in parte da *Saccharomyces bayanus*. Interessante risulta il basso tenore in esanolo che potrebbe essere una caratteristica varietale, trattandosi di vinificazioni senza la protezione del mosto dalle ossidazioni. Rispetto al vino da uve da raccolta a maturazione, quello da raccolta anticipata presenta un contenuto più elevato di composti terpenici liberi, fra i quali prevale l'acido trans-geranico, seguito dall' $\alpha$ -terpineolo. Come dedotto dai dati dei precursori d'aroma glicosilati del vino del 2003 (fig. 2), i vini del 2007 presentano un profilo terpenico simile a quello dell'uva (fig. 1), a parte la diminuzione del linalolo (trasformazioni acido catalizzate). Il composto terpenico quantitativamente più importante è l' $\alpha$ -terpineolo, seguito dall'acido trans-geranico, dal geraniolo, dall'insieme degli ossidi furanici del linalolo, dal nerolo, dai due isomeri dell'8-idrossi linalolo, dell'acido 2,6-dimetil-6-idrossi-2,6-octadienoico e dal pment-1-ene-7,8-diolo. A differenza di quanto rilevato per i composti terpenici liberi, è il vino da raccolta a presunta maturazione a presentare i tenori più elevati in alcoli terpenici sotto forma glicosilata. Infine, anche nei vini del 2007, in accordo con quanto riscontrato nell'uva del 2003, i tenori in norisoprenoidi sono modesti.

Tab. 1 - Composti volatili liberi e glicosilati identificati nei vini Sagrantino del 2007  
 Tab. 1 - Free and glycoconjugated volatiles identified in Sagrantino 2007 wines

Composti volatili liberi / Free volatiles		Da precursori glicosilati From glycoconjugated precursors
Ethil butirate	1,3-Propanediol monoacetate	Hexan-1-ol
2-methyl-propan-1-ol	Trans-piran-linalool ox	Trans-3-hexen-1-ol
Isoamil acetate	3-Ethyltio-propan-1-ol	Cis-3-hexen-1-ol
Butan-1-ol	Fenetil acetate	Trans-furan-linalool ox
2 and 3-methyl-butan-1-ol	Ethyl-4-hydroxybutirate	1-Octen-3-ol
Pentan-1-ol	Hexanoic acid	Cis-furan-linalool-ox
Ethyl hexanoate	Ethyl dodecanoate	Linalool
Hexyl acetate	Benzyl alcohol	Octan-1-ol
3-hydroxy-butan-2-one	1,4-Butanediol monoacetate	Terpinen-4-ol
3 and 4-methyl-pentan-1-ol	Fenetil alcohol	$\alpha$ -terpineol
Ethyl lactate	$\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone	Lilac alcohol 1
Hexan-1-ol	2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol	Geranial
Trans-3-hexen-1-ol	Crotonic anidride	Tran-piran-linalool-ox
Cis-3-hexen-1-ol	Diethyl malate	2,7-dimethyl-4,5-octandioli ?
3-ethoxy-propan-1-ol	Isoamil-4-hydroxy-butirate	Lilac alcohol 2
Trans-2-hexen-1-ol	Octanoic acid	Cis-piran-linalool-ox
Ethyl octanoate	Diethyl-2-chetoglutarate	Citronello
Acetic acid	Diethyl-2-hydroxy-glutarate	Lilac alcohol 3
Furfural	Monoethyl-2-hydroxy-glutarate	Nerol
Methyl-furil chetone	3-Hydroxy-4-fenil-butan-2-one	Geraniol
Ethyl-3-hydroxy-butirate	Ethyl-2-hydroxy-3-fenil-propionate	Benzyl alcohol
2-Methyltio-ethanol	Decanoic acid	Fenetil alcohol
2,3-Butanediol levo	Fenetil hexanoate	an actinidol
Linalool	Ethyl hexadecanoate	2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol
Octan-1-ol	Sherry lactone	Eugenol
Isoamil lactate	8-Hydroxy linalool	4-Vinil guaiacol
5-Methyl-furfural	Trans-geranic acid	Hydroxy citronello
Isobutiric acid	Monoethyl succinic acid	8-Hydroxy-dihidrolinalool
2,3-Butanediol meso	Dodecanoic acid	Trans-8-hydroxy linalool isomer 1
1,2-Propanediol	Vanilline	Cis-8-hydroxy linalool isomer 2
$\gamma$ -butirolactone	Ethyl piroglutamate	Trans geranic acid
Butiric acid	Methyl vanillate	2,6-Dimethyl-3-octen-2,3,6-triol?
Methyl-ethyl succinate	Ethyl octadecanoate	p-menth-1-ene-7,8-diol
2-Furan methanol	Monoisoamil succinic acid	Methyl vanillate
Ethyl decanoate	Fenetil otanoate	3-Oxo- $\alpha$ -ionol
Isopentanoic acids	Tetradecanoic acid	3-Oxo-7,8-dihydro- $\alpha$ -ionol
Diethyl succinate	Siringaldehide	Zingerone
$\alpha$ -terpineol	Dihydroconiferil alcohol	2,6-dimethyl-6-hydroxy-2,7-octadienoic acid
3-Methyltio-propan-1-ol	Tyrosol	Methyl siringate
		Tyrosol
		Vomifoliol

Tab. 2 - Composti volatili liberi dei vini Sagrantino 2007 da raccolta anticipata (107) e a maturazione (267) (mg/L).

Tab. 2 - Free varietal aromas identified in Sagrantino 2007 wines from early and technological ripening harvest (mg/L).

Composti/Compounds	107	267
Ethyl hexanoate	178	149
3-hydroxy-butan-2-one	767	2884
4-Methyl-pentan-1-ol*	69	42
3-Methyl-pentan-1-ol*	163	91
Hexan-1-ol	863	567
Trans-3-hexen-1-ol	17	nd
Ethyl octanoate	358	338
Furfural*	2541	2230
Ethyl-3-OH-butyrate*	841	817
Linalool	14	7
5-Methyl-furfural*	151	50
Isobutyric acid*	353	260
$\gamma$ -butyrolactone	4054	5370
Butyric acid*	290	300
Ethyl decanoate	170	155
2-furan methanol*	4091	5085
$\alpha$ -terpineol	29	16
Isopentanoic acids*	1221	1260
Diethyl succinate	4650	5112
3-Methyltio-propan-1-ol*	2156	2635
Ethyl-4-OH-butyrate*	14214	38539
Ethyl dodecanoate	76	74
Hesanoic acid	1762	1756
Benzyl alcohol	449	592
Fenil alcohol	90603	161133
Cis- $\beta$ -CH <sub>3</sub> - $\gamma$ -octalactone*	148	70
Diethyl malate*	494	452
Octanoic acid	2011	1794
Diethyl 2-OH-glutarate*	428	505
4-Vinil-guaiacol*	78	24
Monoethyl-2-OH-glutarate*	1669	1209
Ethyl-2-OH-3-fenil-propanoate*	353	436
Decanoic acid	853	735
Isoeugenol*+ trans-geranic acid*	49	76
Dodecanoic acid	63	113
Sherry lactone isomer 1*	142	608
Monoethylsuccinic acid*	60118	103166
Ethyl linoleate*	218	125
Vanilline	578	1429
Methyl-vanillate*	24	26
Acetovanillone*	145	123
Tetradecanoic acid*	25	44
Hexadecanoic acid*	1026	1650
Siringaldehyde*	622	1415
Dihydroconiferil alcohol*	66	101
Tyrosol *	5202	6547
Octadecanoic acid*	294	545
Linoleic acid*	132	116

\* determined as Heptan-1-ol

Tab. 3 - Precursori d'aroma sotto forma glicosilata dei vini Sagrantino 2007 da raccolta anticipata (107) e a maturazione (267) (mg/L).

Tab. 3 - Glicoconjugated varietal aromas identified in Sagrantino 2007 wines from early and technological ripening harvest (mg/L).

Composti/Compounds	107	267
Hexan-1-ol	28	43
Cis-3-hexen-1-ol	1	1
Trans-2-hexen-1-ol	4	6
Trans furan linalool ox*	9	11
Cis furan linalool ox*	41	51
Benzaldehyde	1	nd
Linalool	6	8
Terpinen-4-ol*	2	4
$\alpha$ -terpineol	199	252
Trans piran linalool ox*	12	18
Cis piran linalool ox*	1	2
Citronellol	4	6
Nerol	24	39
Geraniol	56	94
Benzy alcohol	17	25
Fenetil alcohol	39	64
2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol*	8	12
4-Vinil guaiacol*	4	5
8-OH-dihydrolinalool* + OH-citronellol*	13	20
Trans-8-OH-linalool*	15	27
Cis-8-OH-linalool*	19	35
Trans-geranic acid*	76	118
3,4-dihydro-3-oxo-actinidol isomer 2*	7	9
3,4-dihydro-3-oxo-actinidol isomer 3*	5	11
p-menth-1-ene-7,8-diol*	11	17
Vanilline	nd	13
Methyl vanillate*	nd	12
3-oxo- $\alpha$ -ionol*	45	79
4-oxo- $\beta$ -ionol*	8	nd
Blumenol C*	10	26
2,6-dimethyl-6-OH-2,7-octadienoic acid*	18	24
Methyl siringate*	9	nd
Dihydroconiferil alcohol*	17	nd
Vomifoliol*	11	25

\* determinati come 1-eptanolo *determined as heptan-1-ol*

## Conclusioni

I risultati sopra esposti indicano che l'uva Sagrantino presenta un profilo dei precursori terpenici glicosilati del tutto particolare, per gli elevati tenori in acido trans-geranico,  $\alpha$ -terpineolo, ossidi furanici del linalolo, linalolo, geraniolo, nerolo, e isomeri dell'8-idrossi linalolo. Malgrado la sensibile presenza dell' $\alpha$ -terpineolo, la scarsa rilevanza quantitativa del p-ment-1-ene-7,8-diolo, un suo derivato, indica una scarsa attività idrossilasica a carico del precursore monoidrosilato. A differenza di quanto osservato per i composti terpenici, il tenore in norisoprenoidi determinabili e in benzenoidi delle uve è basso.

Rispetto all'uva, nei vini si riscontra una forte diminuzione del linalolo per reazioni di trasformazione acido catalizzate, mentre l' $\alpha$ -terpineolo, gli ossidi furanici del linalolo, l'acido trans-geranico, i due isomeri dell'8-idrossi linalolo, il geraniolo, il nerolo confermano la loro prevalenza quantitativa ed emergono il p-ment-1-ene-7,8-diolo e l'acido 2,6-dimetil-6-idrossi-2,7-octadienoico di modesta importanza nell'uva. Tale risultato può essere attribuito o ad una maggior resistenza di questi ultimi due composti alle reazioni di trasformazione e di degradazione, rispetto agli altri terpenoli, o ad una loro più difficile estrazione dall'uva nelle condizioni di preparazione del campione adottate. Alcuni composti, fra cui i norisoprenoidi, di importanza marginale nell'uva, possono diventare prioritari nei vini. Anche questo risultato può essere spiegato attraverso l'ipotesi che il loro tenore possa subire decrementi inferiori a quelli degli alcoli terpenici mono e diidrossilati o ad una loro più difficile estrazione dall'uva.

I composti volatili di fermentazione e postfermentativi non indicano particolari differenze rispetto ai profili riscontrati comunemente nei vini rossi, a parte i contenuti di etil-4-idrossi butirrato alti in modo anomalo e gli indicatori del tipo di lievito che ha condotto la fermentazione e del contatto col legno. Interessante risulta il basso tenore in esanolo, alcol prefermentativo, che potrebbe essere un carattere varietale. Il profilo degli alcoli terpenici liberi rispecchia quello dell'uva con la prevalenza dell' $\alpha$ -terpineolo. Si conferma anche nell'uva Sagrantino che il raggiungimento del massimo contenuto in composti terpenici liberi, a differenza di quelli glicosilati, precede il massimo tenore in zuccheri. Infine, in questo lavoro non è stato possibile spiegare dal punto di vista analitico i descrittori "frutti di bosco", "drupe", "frutta essiccata - prugna" che comunemente si riscontrano nella degustazione dei vini Sagrantino, ma il descrittore "fiorente" attribuibile alla presenza di composti terpenici liberi e i descrittori "speziato", "caramellizzato", "vegetale secco", "legno", al contatto col legno.

#### Ringraziamenti.

Si ringrazia la dr.ssa Silvia Carlin per la lettura critica del manoscritto.

#### Bibliografia

1. DI STEFANO R. (1987). *Evoluzione dei composti responsabili dell'aroma di Moscato durante la maturazione dell'uva, la fermentazione dei mosti e la conservazione dei vini*. Atti Acc. It. Vite Vino, (38): 233-244.
2. R. DI STEFANO, F. MATTIVI, M. CABURAZZI, GIUSTINI E., BONIFAZI L. (2008). *Evoluzione della composizione fenolica dell'uva Sagrantino durante la maturazione*. Riv. Vitic. Enol., (62, 1):39-61.
3. MATTIVI F., ZULIAN C., NICOLINI G., VALENTI L. (2002). *Wine, biodiversity, technology, and antioxidants*. Ann. N.Y. Acad. Sci., (957): 37-56.
4. NICOLINI G., VALENTI L. (2001). *Indagine sul corredo polifenolico di vini Sagrantino con metodi applicabili ai controlli di processo*. Riv. Vitic. Enol., (55, 1): 49-66