



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI
CAMPUS DI CESENA

CORSO DI LAUREA IN VITICOLTURA ED ENOLOGIA

**Effetto di diversi approcci fermentati e affinamento a
vini Cabernet sauvignon, Merlot e Sangiovese**

Relatore
Prof.ssa Giuseppina P. Parpinello

Elaborato finale di
Daniele Vesco
Matricola n 1028325

Sessione unica
Anno Accademico 2023/2024

Indice

Riassunto.....	4
Scopo della tesi.....	5
1) Introduzione.....	7
1 La fermentazione spontanea.....	7
2 La fermentazione sequenziale.....	11
2.1 Torulaspora Delbruekii.....	11
3 L'affinamento in legno.....	12
2) Materiali e Metodi.....	16
1 Uve.....	16
2 Lieviti.....	16
3 Vinificazione.....	17
4 Affinamento in botte.....	17
5 Analisi chimico-fisiche.....	18
6 Analisi sensoriali.....	18

3)	Risultati	19
1	Dinamiche di fermentazione.....	19
2	Caratteristiche chimiche.....	22
2.1	Al termine della fermentazione.....	22
2.2	Dopo nove mesi di affinamento.....	24
2.3	Affinamento in legno.....	25
2.3.1	Analisi chimiche.....	25
2.3.2	Analisi del colore.....	27
3	Caratteristiche organolettiche.....	29
4)	Conclusione	31
	Bibliografia	33

Riassunto

Questa tesi esplora l'influenza di diverse tecniche fermentative e dell'affinamento in legno sulle caratteristiche chimiche e sensoriali di vini prodotti da uve *Cabernet Sauvignon*, *Merlot* e *Sangiovese*. Sono stati confrontati tre metodi di fermentazione: la fermentazione spontanea, l'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae*, e la fermentazione sequenziale con *Torulaspota delbrueckii* seguita da *Saccharomyces cerevisiae*. L'obiettivo principale è stato valutare l'effetto di queste diverse tecniche sul profilo sensoriale aromatico e sulla composizione chimica del vino, oltre a studiare come l'affinamento in legno possa influenzare tali caratteristiche.

La sperimentazione è stata condotta presso la cantina sperimentale di Tebano, utilizzando uve del vigneto sperimentale dell'Università di Bologna. I mosti sono stati sottoposti a diverse tipologie di fermentazione, e i vini ottenuti successivamente affinati in legno o in acciaio, per studiare l'evoluzione delle loro caratteristiche in base alla tecnica fermentativa impiegata. Sono stati monitorati la cinetica fermentativa, la composizione chimica e i profili sensoriali aromatici, attraverso analisi sensoriali condotte da un panel di esperti.

I risultati hanno mostrato che la fermentazione spontanea, pur essendo più lenta, ha conferito al vino un profilo aromatico di maggiore complessità rispetto ai vini fermentati con inoculo. I vini ottenuti con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* hanno mostrato una fermentazione rapida e stabile, con un profilo aromatico meno complesso, ma ben bilanciato. La fermentazione sequenziale ha prodotto vini con un contenuto maggiore di glicerolo e acidità, nonché un minore contenuto alcolico, ma con risultati sensoriali meno positivi.

L'affinamento in legno ha contribuito a migliorare la complessità e la struttura nei vini ottenuti con inoculo diretto di lieviti, mentre ha avuto un impatto negativo sui vini fermentati spontaneamente e con tecnica sequenziale.

Scopo della tesi

L'obiettivo di questa tesi è approfondire l'influenza di diverse tecniche fermentative e del successivo affinamento in legno sulle caratteristiche chimiche e sensoriali dei vini ottenuti da uve di Cabernet Sauvignon, Merlot e Sangiovese. In particolare, la ricerca si concentra sulla comparazione di tre approcci fermentativi: la fermentazione spontanea, l'inoculo diretto di ceppi commerciali di *Saccharomyces cerevisiae*, e la fermentazione sequenziale con *Torulaspota delbrueckii* seguita da *Saccharomyces cerevisiae*. L'analisi si estende anche agli effetti dell'affinamento in legno, al fine di comprendere come le differenze ottenute a seguito dell'impiego di lieviti diversi in vinificazione evolvano durante il periodo di maturazione.

Questa ricerca si inserisce nel contesto di una crescente richiesta da parte dei consumatori e delle istituzioni di ridurre l'uso di prodotti chimici nella vinificazione, promuovendo pratiche più naturali e che rispettino l'identità del vitigno e del *terroir*. Negli ultimi anni, si è assistito a un rinnovato interesse per le fermentazioni spontanee, che utilizzano le popolazioni microbiche indigene presenti sulle uve e nell'ambiente di cantina, poiché offrono una complessità aromatica unica e una maggiore espressione del *terroir*. Tuttavia, tali fermentazioni comportano anche sfide significative, quali il rischio di arresti fermentativi e una maggiore variabilità nei risultati. Al contrario, l'inoculo con ceppi selezionati di *Saccharomyces cerevisiae* garantisce una fermentazione rapida e prevedibile, pur limitando l'espressività aromatica e la variabilità legata alle caratteristiche territoriali. La fermentazione sequenziale rappresenta un tentativo di combinare i vantaggi della fermentazione spontanea con la sicurezza offerta dai ceppi selezionati, utilizzando dapprima un lievito non-*Saccharomyces* come *Torulaspota delbrueckii* per arricchire il profilo aromatico, seguito da *Saccharomyces cerevisiae* per garantire il completamento del processo fermentativo.

Lo scopo specifico di questa tesi è quindi valutare in modo sistematico come ciascuna di queste modalità fermentative incida sulle principali caratteristiche chimiche del vino, inclusi il titolo alcolometrico, l'acidità, l'estratto secco e la concentrazione di composti aromatici, così come sugli aspetti organolettici che influenzano la qualità percepita del prodotto finale. I vini prodotti sono stati analizzati dal punto di vista chimico e sensoriale sia immediatamente dopo la fermentazione sia dopo un periodo di affinamento, per comprendere meglio come la scelta della tecnica fermentativa influenzi non solo il processo iniziale, ma anche l'evoluzione del vino nel tempo.

Un altro obiettivo centrale di questo studio è esaminare l'effetto dell'affinamento in legno sui diversi vini ottenuti. L'affinamento in legno, sebbene spesso utilizzato per migliorare la struttura e la complessità aromatica del vino, può influire in maniera differente a seconda del profilo di partenza del vino stesso. Pertanto, la tesi esplora come l'affinamento interagisca con le diverse caratteristiche sviluppate durante le fasi fermentative, confrontando vini affinati in legno con quelli affinati esclusivamente in acciaio. In questo modo, è possibile comprendere come l'affinamento possa esaltare o attenuare le peculiarità introdotte dai diversi lieviti e dalle diverse tecniche fermentative.

La sperimentazione è stata condotta presso la cantina sperimentale di Tebano dell'Università di Bologna, utilizzando uve provenienti dal vigneto sperimentale di Tebano, gestito dall'Università stessa. Le uve di Cabernet Sauvignon e Merlot sono state raccolte insieme per creare un uvaggio, mentre le uve di Sangiovese sono state vinificate separatamente in purezza. Per ogni tipo di uva, sono state eseguite fermentazioni parallele con tecniche diverse, permettendo di valutare le differenze non solo tra varietà ma anche tra metodi fermentativi e condizioni di affinamento. La vinificazione è stata seguita attentamente, con il monitoraggio della cinetica fermentativa e la raccolta di dati analitici sui parametri chimici principali, seguiti da analisi sensoriali condotte da un panel di degustatori esperti.

1. Introduzione

L'utilizzo di lieviti *Saccharomyces cerevisiae* selezionati per avviare la fermentazione è una pratica comune in enologia, mirata a garantire una fermentazione affidabile e un controllo preciso del profilo aromatico del vino. Sebbene non sia oggetto del presente studio, vengono riportati i principi generali per completezza informativa. Tipicamente, i lieviti selezionati vengono reidratati insieme a un nutrimento specifico, e al mosto viene aggiunta solforosa per il controllo microbico, assicurando così una rapida partenza della fermentazione e minimizzando il rischio di contaminazioni.

1.1. La Fermentazione Spontanea

La fermentazione spontanea è un processo avviato dai lieviti naturalmente presenti nell'uva, nella cantina o nel vigneto, senza interventi di inoculo intenzionale da parte del produttore. Esperimenti indicano che le comunità di lieviti che caratterizzano queste fermentazioni presentano una significativa diversità fenotipica, la quale si traduce in vini con una potenzialmente maggiore complessità organolettica e aromatica (Swiegers e Pretorius, 2005)

In molti casi, le fermentazioni questo tipo di fermentazioni vengono completate da lieviti appartenenti alla specie *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces bayanus*, grazie alla loro capacità di resistere a elevate concentrazioni di etanolo. Tuttavia, nelle prime fasi della fermentazione, quando la concentrazione di questa molecola è ancora bassa, sono le specie non-*Saccharomyces* a dominare il processo. (Medina et al., 2013) Studi mostrano come la composizione delle popolazioni di lieviti vari significativamente in funzione della varietà dell'uva, della posizione del vigneto, di fattori ambientali e delle pratiche viticole adottate, evolvendo ulteriormente con l'avanzare della fermentazione. Inoltre, la diversità microbiologica è presente anche tra annate diverse, perfino in uve provenienti dallo stesso vigneto (Philipp et al., 2021)

Alcune specie di lieviti sono state rilevate nella maggior parte dei vigneti, includendo quelle appartenenti ai generi *Hanseniaspora*, *Metschnikowia*, *Candida*, *Torulaspota* e *Pichia*. (Pretorius, 2000; Zott et al., 2008) Sebbene questi lieviti non siano in grado di completare la fermentazione, la loro presenza è stata riscontrata durante l'intero processo fermentativo (Combina et al., 2005; Jolly et al., 2006). La loro influenza sul processo di fermentazione e sulle caratteristiche finali del vino si deve alla produzione di enzimi e metaboliti extracellulari

di interesse enologico, che contribuiscono alla modifica delle proprietà organolettiche (Ciani e Maccarelli, 1998; Soden et al., 2000).

Durante la fermentazione, la composizione delle popolazioni di lieviti subisce significative variazioni. Nei primi stadi, il mosto può contenere fino a 12 specie diverse di lieviti, ma tale numero diminuisce a metà fermentazione, quando le riserve di azoto si esauriscono e le concentrazioni di etanolo aumentano rapidamente. Alla conclusione della fermentazione, predominano poche specie, in particolare i ceppi etanolo-tolleranti di *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces bayanus* (Díaz et al., 2013).

Osservazioni sperimentali suggeriscono che i mosti ottenuti da uve a bacca bianca spesso incontrano difficoltà nel portare a termine la fermentazione, con conseguente presenza di zuccheri residui. Questo fenomeno potrebbe essere legato al pH tipicamente più basso dei vini bianchi, che crea un ambiente meno favorevole per la crescita dei lieviti (Díaz et al., 2013). Un'altra differenza significativa riguarda la diversità delle popolazioni di lieviti tra la buccia e il mosto, una variabilità che risulta meno accentuata nei vini rossi rispetto a quelli bianchi. Oltre al pH, questa differenza può essere attribuita al diverso processo di vinificazione: nelle uve bianche, le bucce vengono separate dal mosto, a differenza dei vini rossi, dove le bucce restano a contatto durante la fermentazione.

La temperatura delle uve prima della pressatura sembra avere un impatto significativo sul successo della fermentazione. Una fase di lag più prolungata, infatti, favorisce la proliferazione delle specie non-*Saccharomyces* ed altri microrganismi, aumentando così la probabilità di formazione di composti indesiderati come l'acido acetico (Bisson, 1999; Drysdale e Fleet, 1989). La durata di questa fase sembra inoltre essere direttamente correlata al successo della fermentazione stessa. Fermentazioni caratterizzate da una fase di lag più estesa tendono infatti a interrompersi con maggiore frequenza. (Edwards et al., 1998)

In alcuni studi sulle fermentazioni spontanee, sono stati rilevati lieviti commerciali precedentemente utilizzati in cantina, suggerendo la possibilità di persistenza di tali ceppi nell'ambiente di cantina. Tuttavia, la presenza di lieviti *Saccharomyces* nativi è stata osservata anche in fermentazioni inoculate, indicando una possibile convivenza tra ceppi autoctoni e commerciali (Medina et al., 2013).

Le differenze chimiche tra fermentazioni spontanee e fermentazioni inoculate hanno mostrato risultati variabili in diversi studi. In generale, non sono state riscontrate differenze significative nell'acidità totale e nel pH. I vini derivati da fermentazioni spontanee tendono a

mostrare concentrazioni inferiori di acido tartarico, malico e succinico, ma livelli più elevati di acido lattico e acido acetico. (Rosi et al., 2000; Patrignani et al., 2017) Non sono state osservate differenze rilevanti per quanto riguarda l'acido citrico e gli acidi a corta catena, come l'acido butirrico, isobutirrico e isovalerico, noti per i loro aromi sgradevoli (Philipp et al., 2021).

Per quanto riguarda i livelli di anidride solforosa (SO₂), i campioni fermentati spontaneamente, presentano naturalmente quantità più elevate di SO₂ libera e livelli comparabili della totale rispetto ai campioni fermentati con inoculo e addizionati di questo antiossidante (Patrignani et al., 2017). Inoltre, i vini prodotti mediante fermentazione spontanea non mostrano accumuli significativi di ammine biogene, suggerendo che il profilo di sicurezza sia simile a quello dei vini ottenuti con lieviti inoculati (Patrignani et al., 2017).

Per quanto riguarda la produzione di alcoli, esteri e altre sostanze aromatiche, le differenze significative sembrano essere influenzate dalle caratteristiche della matrice di fermentazione. Tuttavia, i panel di degustazione tendono a conferire punteggi di piacevolezza sensoriale significativamente più alti ai vini ottenuti da fermentazione spontanea rispetto a quelli fermentati con inoculo; questo risultato sarebbe riconducibile a un maggiore apprezzamento per il profilo aromatico complesso e distintivo conferito dalla fermentazione spontanea (Medina et al., 2013).

Sono state riscontrate differenze rilevanti nel contenuto totale di esteri, acidi alifatici, esteri aromatici ed esteri metilici (Viana et al., 2008). Inoltre, le differenze tra i vini fermentati spontaneamente risultano essere più marcate sia nei vini rossi che in quelli bianchi, rispetto alle loro controparti fermentate con inoculo. Questo fenomeno suggerisce che l'inoculo con *Saccharomyces cerevisiae* tende a ridurre la variabilità aromatica, anche tra categorie di vino distinte come i rossi e i bianchi (Philipp et al., 2021).

Studi recenti suggeriscono che l'inoculo con *Saccharomyces cerevisiae* limita l'espressione dell'impronta aromatica del vino, risultando in una minore complessità rispetto a quanto osservato con la fermentazione spontanea (Liu et al., 2020). Inoltre, emerge un legame evidente tra l'origine geografica dei campioni e il loro microbiota, in accordo con studi precedenti che evidenziano come il microbiota associato alla fermentazione possa presentare caratteristiche specifiche a livello regionale, che contribuisce a conferire al vino una riconoscibile impronta territoriale, legata alla biodiversità microbica locale (Knight et al., 2021).

1.2. *La Fermentazione Sequenziale*

La fermentazione sequenziale è una tecnica di vinificazione che prevede l'uso di due o più ceppi di lievito distinti, inoculati in fasi successive del processo fermentativo. Generalmente, la fermentazione inizia con l'inoculo di un lievito non-*Saccharomyces*; ciò può avere vari scopi: a) Arricchire il vino di aromi e complessità organolettica; b) Il raggiungimento di specifici parametri chimici come un aumento dell'acidità; c) Il bio-controllo contro microrganismi indesiderati. Successivamente, viene inoculato un lievito del genere *Saccharomyces cerevisiae* per garantire il completamento della fermentazione alcolica.

Questo approccio permette di sfruttare i benefici di diverse specie di lieviti, migliorando il profilo aromatico, la stabilità e le caratteristiche organolettiche del vino, garantendo al contempo un controllo efficace sulla fermentazione. La fermentazione sequenziale è nata dall'esigenza di trovare una soluzione intermedia tra la fermentazione spontanea, che esalta complessità, unicità e legame con il *terroir*, e la fermentazione con solfitazione iniziale e inoculo di *Saccharomyces cerevisiae*, consentendo di ottenere un profilo aromatico ricco e complesso, mitigando l'incertezza associata alle fermentazioni spontanee e garantendo una maggiore stabilità nei risultati (Benito et al., 2019; Ciani e Comitini, 2019).

I lieviti non-*Saccharomyces*, che predominano naturalmente nelle prime fasi delle fermentazioni spontanee, sono considerati candidati ideali per essere utilizzati come inoculi bioprotettivi e sono noti per la loro capacità di produrre componenti aromatici quali esteri, alcoli superiori, acidi e monoterpeni (Romano et al., 1997; Swiegers et al., 2005), contribuendo in maniera significativa alla complessità aromatica del vino.

Questi lieviti provengono da ceppi accuratamente selezionati e rappresentano quindi una risorsa moderna per conferire ai vini profili organolettici e analitici distintivi e unici (Bisson et al., 2017; Morata et al., 2020). L'interesse crescente verso il loro impiego ha portato a un aumento delle pubblicazioni scientifiche sull'argomento, mettendo in luce notevoli differenze a seconda del ceppo utilizzato (Escribano et al., 2017). Gli studi sulle fermentazioni sequenziali evidenziano una significativa variabilità intraspecifica tra i lieviti non-*Saccharomyces* sia in termini di caratteristiche enologiche sia nel loro comportamento in co-cultura. Questa variabilità è attribuibile alla diversità genetica e all'eterogeneità genomica delle diverse popolazioni (Andorra et al., 2011). Con una scelta accurata, è possibile sfruttare tali lieviti per modulare parametri chimici e aromatici del vino, adattando il profilo sensoriale finale in base alle esigenze specifiche della vinificazione.

Studi sull'impatto dei lieviti non-*Saccharomyces* confermano la loro predominanza nelle fasi iniziali della fermentazione, con una influenza sostanziale sulla composizione finale del vino (Romano et al., 1997). Ad esempio, la concentrazione alcolica può essere ridotta fino all'1% vol. a seconda del ceppo utilizzato e delle condizioni di fermentazione adottate (Contreras et al., 2014; Röcker et al., 2016). L'estratto secco totale mostra generalmente un incremento dovuto all'attività di questi lieviti, influenzando positivamente le proprietà organolettiche del vino.

Per quanto riguarda l'acidità, le fermentazioni sequenziali hanno mostrato livelli stabili o superiori di acido tartarico, acido citrico e acido succinico (Chidi et al., 2018). In contrasto, i livelli di acido malico risultano ridotti, mentre quelli di acido lattico sono più elevati, grazie all'attività di *Lachancea thermotolerans*, che è in grado di produrre acido lattico a partire dal glucosio, abbassando così il tenore alcolico e aumentando l'acidità complessiva del vino (Canonico et al., 2022).

Non sono emerse differenze significative nel contenuto di acidi grassi, salvo per una riduzione degli acidi grassi a media catena, che sono noti per essere associati a note aromatiche sgradevoli. Questa riduzione rappresenta un beneficio per il profilo sensoriale del vino (Oliveira et al., 2008).

Studi condotti in climi caldi del sud-est Europa hanno registrato un aumento dell'acidità totale fino a 3 g/L nelle fermentazioni sequenziali (Gobbi et al., 2013; Benito et al., 2016). Anche il valore del pH è risultato significativamente più basso, favorendo un incremento della SO₂ molecolare, che contribuisce a una maggiore protezione del vino da microrganismi indesiderati come *Brettanomyces*.

1.2.1. *Torulaspora Delbrueckii*

Torulaspora delbrueckii è un ceppo di lievito comunemente presente sulla buccia dell'uva, il cui utilizzo come lievito per fermentazioni scalari è stato ampiamente studiato a seguito delle molteplici caratteristiche positive che riesce ad apportare al vino. In primo luogo, il suo inoculo all'inizio del processo di vinificazione si è dimostrato efficace nel limitare la proliferazione di microrganismi deterioranti. Sebbene l'effetto di bio-controllo esercitato da *Torulaspora delbrueckii* sui lieviti indigeni nelle prime fasi della fermentazione sia inferiore rispetto a quello garantito dall'aggiunta di SO₂, la sua presenza riesce comunque a limitare lo sviluppo dei lieviti indigeni, dimostrando un'efficacia nel bilanciare il microbiota del mosto. (Escribano-Viana et al., 2022; Morata et al., 2021; Chacon-Rodriguez et al., 2020).

Torulaspora delbrueckii mostra generalmente una minore attività fermentativa e un tasso di crescita ridotto rispetto a *Saccharomyces cerevisiae*, suggerendo una certa difficoltà a prevalere nel mosto nelle fasi avanzate della fermentazione (Comitini et al., 2011; Ciani et al., 2016). I risultati cinetici delle fermentazioni evidenziano una ridotta produzione di etanolo nei mosti inoculati con *Torulaspora delbrueckii* (Bely et al., 2008; Cabrera et al., 1988). Questo aspetto può essere attribuito anche alla produzione di metaboliti secondari, come il glicerolo. In studi comparativi tra co-inoculi di varie specie di lieviti, infatti, sono stati osservati livelli più elevati di glicerolo nei vini ottenuti tramite co-inoculo con *Torulaspora delbrueckii* (Escribano-Viana et al., 2018; Belda et al., 2015).

L'impatto positivo di *Torulaspora delbrueckii* sulla fermentazione e sull'aroma del vino è stato ampiamente documentato (van Breda et al., 2013), con numerosi studi che ne confermano il contributo alla qualità del vino (Renault et al., 2016; Benito, 2018; Zhang et al., 2022). *Torulaspora delbrueckii* influisce sulla presenza e sulla concentrazione di composti volatili come β -feniletanolo, isoamil acetato, esteri di acidi grassi e vinil-fenoli (Azzolini et al., 2015). Grazie alla sua attività metabolica facilita anche il rilascio di terpeni come alfa-terpineolo e linalolo (Tufariello et al., 2021). Le analisi dei profili aromatici non rilevano difetti nei vini contenenti *Torulaspora delbrueckii*; al contrario, sono spesso osservate differenze positive nei livelli di esteri e alcoli superiori, apportando note di frutta tropicale e agrumi, e conferendo un miglior bilanciamento complessivo al vino.

In sintesi, *Torulaspora delbrueckii* dimostra un'utile capacità multiruolo nella vinificazione, esercitando un bio-controllo efficace nelle fermentazioni sequenziali prive di SO₂ e apportando, al contempo, note aromatiche distintive, corroborate da analisi sensoriali. Questo lievito può inoltre contribuire all'aumento dell'acidità totale, ridurre la concentrazione alcolica, diminuire la quantità di acidi grassi e aumentare il contenuto di mannoproteine e glicerolo, specialmente se utilizzato in fermentazioni sequenziali (Benito et al., 2019).

1.3. *Evoluzione in Legno*

La composizione del legno di quercia è influenzata principalmente dalla specie, dall'origine geografica, dal processo di stagionatura, dal livello di tostatura e dal numero di riutilizzi della barrique. Diversi studi hanno tentato di caratterizzare il legno proveniente da diverse specie di quercia, evidenziando una significativa variabilità compositiva legata alla provenienza geografica (Ancin et al., 1999), alla specie di quercia (Feuillat et al., 1999) e persino alle differenze tra singoli alberi (Doussot et al., 2000). Pertanto, la scelta del legno per la produzione delle barrique dovrebbe considerare attentamente sia la specie che la

provenienza geografica, data l'importanza di questa combinazione per le caratteristiche finali del vino.

Una generalizzazione può essere fatta per quanto riguarda la quercia bianca americana, la quale tende a produrre quantità significativamente maggiori di *cis-whisky* lattone rispetto alle querce europee (Díaz-Plaza et al., 2002). Di conseguenza, il rapporto *cis/trans* dei *whisky* lattoni può essere utilizzato come parametro distintivo tra i vini invecchiati in quercia americana e quelli maturati in rovere francese (Waterhouse e Towey, 1994).

Il processo di tostatura, necessario per modellare le doghe delle barrique, è generalmente suddiviso in tre livelli (leggero, medio e pesante) ed è di fondamentale importanza poiché influenza in maniera significativa la composizione chimica del legno e, di conseguenza, le molecole che verranno trasferite al vino. La degradazione termica dei carboidrati del legno produce composti furanici, la decomposizione della lignina genera fenoli volatili, mentre la deidratazione degli acidi del legno porta alla formazione dei lattoni della quercia (Chatonnet et al., 1989). I principali contributi aromatici del legno al vino sono dunque strettamente legati al livello di tostatura applicato alle barrique.

Composti come la vanillina, il *cis-whisky* lattone e il furfurale giocano un ruolo centrale nell'arricchire il profilo aromatico del vino durante l'affinamento in botte, fungendo da marcatori aromatici caratteristici (Prida e Chatonnet, 2010). Questi composti contribuiscono alla tipica nota vanigliata che distingue molti vini invecchiati in legno e poiché la quantità di composti estraibili da una barrique è limitata, il loro tasso di estrazione tende a diminuire con il riutilizzo delle barrique (Garde-Cerdan et al., 2002).

Il tempo di contatto tra il vino e il legno è cruciale per la quantità e la concentrazione dei composti volatili estratti. Alcuni composti, come i lattoni, la vanillina e il guaiacolo, tendono ad aumentare progressivamente in concentrazione durante l'affinamento (Arfelli et al., 2011), risultando tra i principali composti presenti in quantità rilevabili dopo 12 mesi di maturazione. Altri, come il furfurale, sembrano agire da precursori che si trasformano attraverso reazioni con flavonoli e antociani, contribuendo alla formazione di pigmenti colorati e subendo quindi variazioni di concentrazione nel tempo (Es-Safi et al., 2002).

Durante le fasi iniziali del processo di invecchiamento, l'estrazione dei composti furanici dal legno eccede il tasso delle loro trasformazioni, determinando un accumulo di furfurale nel vino. Le concentrazioni massime di furfurale e 5-metilfurfurale vengono tipicamente raggiunte tra il terzo e il sesto mese di affinamento (Cerdán et al., 2004). Con l'allungarsi del periodo di invecchiamento, tuttavia, le aldeidi furaniche subiscono trasformazioni,

convertendosi nei corrispondenti alcoli o reagendo con altri composti presenti nel vino, portando così a una progressiva diminuzione della loro concentrazione (Chira e Teissedre, 2013).

I vini invecchiati in botti sottoposte a tostatura leggera presentano le concentrazioni più elevate di composti furanici, seguiti da quelli affinati in botti con tostatura media e, infine, da quelli in botti con tostatura pesante. Questo andamento suggerisce una diminuzione della presenza di questi composti nel legno all'aumentare dell'intensità del trattamento termico. Indipendentemente dal livello di tostatura, dopo 12 mesi di affinamento, il contenuto di furfurale risulta generalmente esaurito (Chira e Teissedre, 2013).

Per quanto riguarda i composti fenolici, la vanillina, tra le aldeidi, riveste un'importanza particolare per il suo significativo impatto aromatico. Essa si accumula rapidamente nel vino a causa della differenza di concentrazione tra vino e legno, raggiungendo il picco di concentrazione dopo 9 mesi nelle barrique con tostatura leggera e dopo 12 mesi nelle barrique con tostature più avanzate (Gómez-Plaza et al., 2004). Tra gli alcoli fenolici, il composto più caratteristico è il guaiacolo, noto per le sue note tostate. Anche per il guaiacolo, la concentrazione massima viene raggiunta entro i primi 9-12 mesi di affinamento, con i valori più elevati osservati nelle barrique con tostatura media (Chira e Teissedre, 2013).

I lattoni, sia nella forma *cis*- che *trans*-, mostrano un aumento progressivo durante tutto il periodo di invecchiamento in botte. Tra i 6 e i 9 mesi si osserva un incremento del tasso di estrazione, probabilmente attribuibile a una maggiore penetrazione dell'umidità nel legno, che accelera il rilascio di questi composti (Boidron et al., 1988; Spillmanet et al., 1998). Dopo 12 mesi di affinamento, i vini maturati in barrique con tostatura leggera mostrano le concentrazioni più elevate di *cis* e *trans* lattoni, mentre quelli affinati in legno con tostatura pesante presentano concentrazioni inferiori (Chira e Teissedre, 2013).

Il *cis*-lattone è considerato uno dei composti volatili del legno più rilevanti per il profilo aromatico dei vini invecchiati, essendo solitamente presente a livelli superiori alla soglia di percezione, conferendo al vino caratteristiche distintive legate all'invecchiamento in legno.

La tostatura leggera sembra favorire l'estrazione dei lattoni e dei composti fenolici, probabilmente perché le temperature più elevate raggiunte negli altri trattamenti possono causare la volatilizzazione o la degradazione termica di questi composti sensibili (Singleton, 1995).

La concentrazione di tannini ellagici nel vino presenta un tasso di estrazione più rapido durante i primi tre mesi di contatto con il legno (Michel et al., 2011). Per la maggior parte dei vini, la massima estrazione di queste molecole si osserva tra il secondo e il terzo mese. Nel caso del vino rosso invecchiato con legno a tostatura leggera, la massima concentrazione di tannini ellagici è stata raggiunta già dopo un mese. Tuttavia, dopo un periodo di 9-12 mesi di affinamento, è stata riscontrata una diminuzione della concentrazione. Dopo un anno, la riduzione dei tannini ellagici è risultata rispettivamente del 10-20% per i vini in botti con tostatura leggera, del 50-60% per quelli con tostatura media, e del 70% per quelli con tostatura pesante (Chira e Teissedre, 2013).

Nelle botti a tostatura leggera, i vini non solo hanno estratto più tannini ellagici, ma lo hanno fatto anche con maggiore rapidità, evidenziando una tendenza a una decrescita lineare con l'incremento della temperatura di tostatura. La diminuzione dei tannini ellagici durante l'affinamento può essere attribuita all'elevata reattività di questi composti con altri componenti presenti nel vino (Jordao et al., 2008). Nel primo mese, l'estrazione degli ellagitannini nel vino rosso ha avuto un tasso superiore rispetto al loro processo di condensazione con altri componenti nucleofili, come catechine, epicatechine ed etanolo. Successivamente, quando molti degli ellagitannini presenti nei primi strati del legno sono stati esauriti, la soluzione ha iniziato a penetrare più in profondità nel legno per estrarne ulteriori quantità, ma con un tasso di estrazione inferiore (Chira e Teissedre, 2013).

Dal punto di vista sensoriale, i vini affinati in botti con tostatura media sono stati percepiti come più legnosi e hanno mostrato livelli di guaiacolo superiori alla soglia di percezione. Sia i vini invecchiati in botti con tostatura leggera sia quelli con tostatura media sono stati descritti come maggiormente speziati, con i vini affinati in legno leggero che mostrano i livelli più elevati di eugenolo. La tostatura leggera ha conferito ai vini un carattere più astringente e amaro, mentre la tostatura pesante ha attenuato queste sensazioni (Chira e Teissedre, 2013).

Le note speziate e di vaniglia si intensificano durante l'affinamento, con un incremento maggiore nei vini affinati in legno a tostatura leggera (60%), seguiti da quelli a tostatura media (40%) e infine da quelli a tostatura pesante (20%) al termine dei 12 mesi di affinamento. La tendenza osservata suggerisce che i lattoni contribuiscono alla percezione della dolcezza, mentre guaiacolo e furani sono associati a sensazioni di amarezza e astringenza. Le note speziate e di vaniglia risultano significativamente correlate alla presenza di eugenolo, siringaldeide e vanillina, conferendo complessità e profondità al profilo aromatico del vino (Chira e Teissedre, 2013).

2. Materiali e Metodi

2.1. Uve: Sangiovese, Cabernet Sauvignon e Merlot

Tutte le uve utilizzate in questo studio provenivano dal vigneto sperimentale di Tebano (Faenza, Ravenna). La raccolta è stata effettuata manualmente in cassette, con una selezione accurata delle uve al fine di ottenere un campione uniforme in termini di stato sanitario e grado di maturazione. Le varietà *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* sono state raccolte nella stessa giornata, ottenendo un totale di 60 kg di uva, di cui 42 kg di *Cabernet Sauvignon* (70%) e 18 kg di *Merlot* (30%), mentre le uve di *Sangiovese* (totale 43 kg) sono state raccolte a distanza di 7 giorni per garantire un livello ottimale di maturazione.

Il vigneto, gestito con un sistema di allevamento a cordone speronato, è disposto a rittochino, con una pendenza verso nord-ovest. Al momento della raccolta, il grado zuccherino è stato misurato utilizzando un densimetro: l'uvaggio di uve *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* presentava un valore di 19,5 °Babo, mentre le uve *Sangiovese* di 25 °Babo ad una temperatura di 23 °C.

2.2. Fermentazioni: Caratteristiche dei lieviti

Per le fermentazioni con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* è stato utilizzato un lievito commerciale specifico (20 g/hL di *S. cerevisiae*, F15, Laffort, Francia). Questo lievito si caratterizza per l'elevata produzione di glicerolo e per la predisposizione a sostenere un lungo affinamento. Il ceppo F15 mostra anche un'elevata resistenza all'alcol, fino al 16% vol.

Per la fermentazione sequenziale è stato utilizzato un lievito commerciale di *Torulaspora delbrueckii* (25 g/hL di *T. delbrueckii*, Nymphéa, Lallemand, Francia). Questo lievito è in grado di colonizzare efficacemente il mosto, limitando la capacità di sviluppo di microrganismi contaminanti (es. batteri). Inoltre, favorisce una maggiore produzione di composti aromatici caratteristici a partire dai precursori aromatici, come l'acetato di fenil-etanolo. Una particolarità di questo ceppo è la sua capacità di consumare 30 mg/L di APA (Azoto Prontamente Assimilabile) al giorno, con un consumo minimo di 80 mg/L durante i primi 15 punti di calo di densità del mosto.

2.3. *Le Vinificazioni*

L'uva diraspata (diraspa-pigiatrice Vega 7, Puleo, Marsala, Trapani) non pigiata è stata trasferita all'interno di serbatoi in acciaio inox. Le uve di *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* sono state poste in due serbatoi distinti (CM-c e CM-s, rispettivamente), mentre le uve di *Sangiovese* sono state messe in altri due serbatoi, denominati S-c e S-tc.

Il campione MC-c e il campione S-c sono stati inoculati con il lievito *Saccharomyces cerevisiae* F15, mentre al campione S-tc è stato inoculato prima il lievito *Torulasporea delbrueckii* Nymphéa e, dopo due giorni, il lievito *Saccharomyces cerevisiae* F15. Il campione CM-s, invece, non ha ricevuto alcun inoculo di lievito, lasciando quindi che la fermentazione procedesse spontaneamente.

Ai campioni CM-c, CM-s e S-c sono stati aggiunti 10 g/hL di nutrienti complessi (Nutriscart, Laffort, Francia), mentre al campione S-tc ne sono stati aggiunti 20 g/hL. Inoltre, ai campioni CM-c, S-c e S-tc sono stati aggiunti 10 g/hL di metabisolfito di potassio (MBK) per la protezione del mosto e il controllo dei microrganismi indesiderati.

2.4. *Affinamento in botte*

Al termine della fermentazione, il vino è stato travasato per rimuovere le fecce grossolane e successivamente è stato aggiunto metabisolfito di potassio per ottenere una concentrazione di anidride solforosa totale pari a 75 mg/L. Il vino è stato quindi trasferito in una botte di rovere di fattura albanese, già utilizzata per 6 mesi, con una capacità di 20 litri. Il campione CM-c è stato trasferito in botte dopo 80 giorni dalla fine della fermentazione, dove ha sostato per 35 giorni, per poi essere collocato in un contenitore in acciaio (keg) da 18 litri per ulteriori 161 giorni. Il campione CM-s è stato messo in botte dopo 115 giorni, con una permanenza di 28 giorni, e successivamente trasferito in un keg per altri 133 giorni. Il campione S-c, dopo 143 giorni, è stato fatto sostare in botte per 32 giorni, seguito dal trasferimento in un keg per ulteriori 101 giorni. Infine, il campione S-tc è stato collocato in botte dopo 175 giorni, dove è rimasto per 30 giorni, prima di essere trasferito in un keg per ulteriori 71 giorni.

2.5. *Analisi chimico-fisiche*

L'andamento della fermentazione è stato monitorato mediante la variazione della densità del mosto, utilizzando un densimetro Babo dotato di termometro per la misurazione simultanea della temperatura. Le analisi chimiche sono state effettuate utilizzando l'analizzatore enologico Bacchus 3 (Steroglass, Perugia) che sfrutta la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR), come indicato dalla risoluzione OIV/OENO 390/2010 (Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino, 2010). Questo strumento ha permesso di determinare diversi parametri, tra cui: il titolo alcolometrico volumetrico (vol%), il rapporto glucosio/fruttosio (g/L), gli zuccheri riducenti (g/L), l'estratto secco (g/L), l'acidità totale (g/L), il pH, l'acidità volatile (g/L), l'acido malico (g/L), l'acido lattico (g/L), l'acido tartarico (g/L), l'acido citrico (g/L), l'acido succinico (g/L), e il glicerolo (g/L). Inoltre, le concentrazioni di anidride solforosa libera e totale (SO₂, mg/L) sono state determinate utilizzando il metodo Ripper-Schmitt (Ripper, M., & Schmitt, E. (1896). Zeitschrift f.a.ch., 232). L'assorbanza (UA) a 420, 520 e 620 nm, l'intensità colorante (IC: 420 + 520 + 620 nm, UA), la tonalità (Hue: 420/520, UA) e il contenuto di polifenoli totali (mg/L ac. gallico equivalente) (Castellari, Sartini, Fabiani, Arfelli, & Amati, 2002) sono stati determinati mediante analisi spettrofotometrica (Cary® 60, Agilent Technologies, Milano).

2.6. *Analisi Sensoriale*

Le analisi sensoriali sono state condotte da un panel di cinque enologi esperti, che hanno valutato il colore, l'intensità e la complessità olfattiva dei campioni. Sono stati inoltre analizzate le caratteristiche gustative (corpo, acidità e astringenza percepiti al palato), nonché la coerenza tra le sensazioni olfattive e quelle gustative. Ogni campione è stato valutato da ogni singolo enologo e a seguito di un confronto tra tutti i partecipanti all'assaggio si è provveduto alla stesura di un profilo condiviso. Inizialmente, sono stati messi a confronto i campioni appartenenti allo stesso uvaggio ma sottoposti a diverse lavorazioni. Successivamente, sono stati confrontati i campioni con o senza affinamento in legno, valutando le differenze rispetto alla versione affinata esclusivamente in acciaio.

3. Risultati e Discussione

3.1. Cinetiche di fermentazione

Lo studio comparativo del consumo degli zuccheri nei vari campioni, in relazione ai diversi metodi di fermentazione adottati, ha evidenziato differenze significative sin dalle prime fasi. In Figura 1 sono illustrati gli andamenti fermentativi dei mosti ottenuti da uvaggio di *Cabernet Sauvignon* e *Merlot*, inoculati con *Saccharomyces cerevisiae* + solfitazione (CM-c) o senza inoculo, quindi fermentati spontaneamente da microrganismi naturalmente presenti nelle uve e senza solfitazione (CM-s).

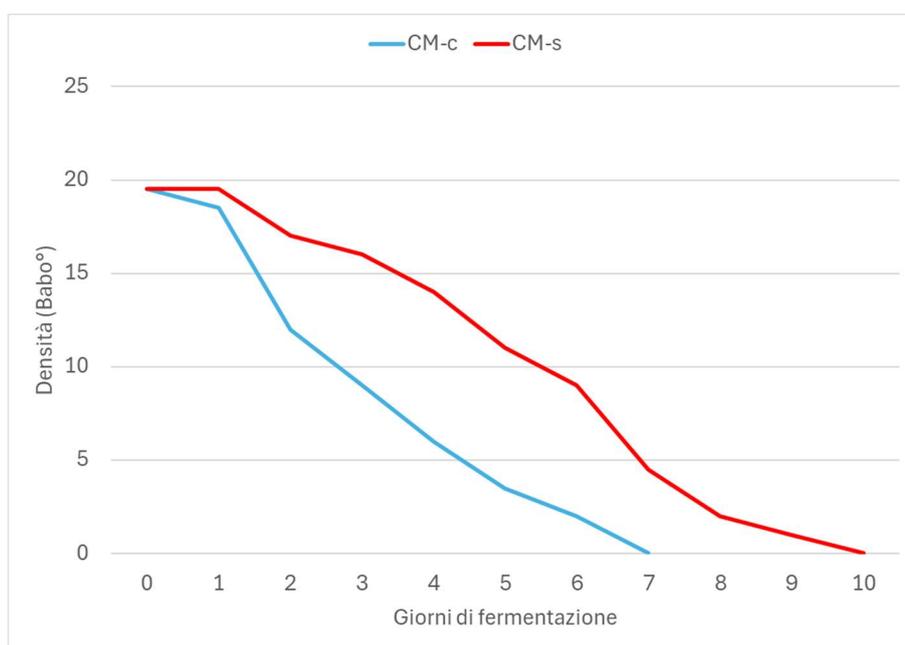


Figura 1. Evoluzione della densità durante la fermentazione alcolica nelle diverse strategie fermentative dell'uvaggio di *Cabernet Sauvignon* (70%) e *Merlot* (30%). **CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂

Nel campione inoculato con *Saccharomyces cerevisiae* (CM-c), la fermentazione inizia lentamente nelle prime 24 ore, per poi accelerare significativamente dopo 48 ore. In questa fase, il mosto entra in una fermentazione più rapida, riuscendo a consumare oltre il 30% degli zuccheri. Il processo continua a una velocità tipica delle fermentazioni condotte con lieviti aggiunti selezionati, arrivando a termine in sette giorni.

Nel caso della fermentazione spontanea (CM-s), non si registrano variazioni di °Babo nelle prime 24 ore, e la fermentazione inizia a 48 ore dalla ammostatura. Inoltre, l'intera fermentazione procede a una velocità molto più lenta rispetto al campione inoculato (CM-c). Nonostante ciò, il mosto riesce comunque a completare il consumo degli zuccheri

concludendo il processo fermentativo in dieci giorni. Il processo fermentativo risulta più lento rispetto agli altri campioni, suggerendo la coesistenza e l'interazione di diverse specie di lieviti naturalmente presenti sull'uva o nell'ambiente di cantina. Questo andamento indica una ridotta dominanza di *Saccharomyces cerevisiae*, anche nelle fasi avanzate della fermentazione, come evidenziato da altri studi (Díaz et al., 2013) che riportano la persistenza di lieviti indigeni non-*Saccharomyces* fino alle fasi finali del processo fermentativo in fermentazioni spontanee senza aggiunta di solfiti.

In Figura 2 sono illustrate le cinetiche di consumo degli zuccheri nei mosti di *Sangiovese*, mettendo a confronto la fermentazione con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* (S-c) con quella sequenziale di *Torulaspota delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae* (S-tc).

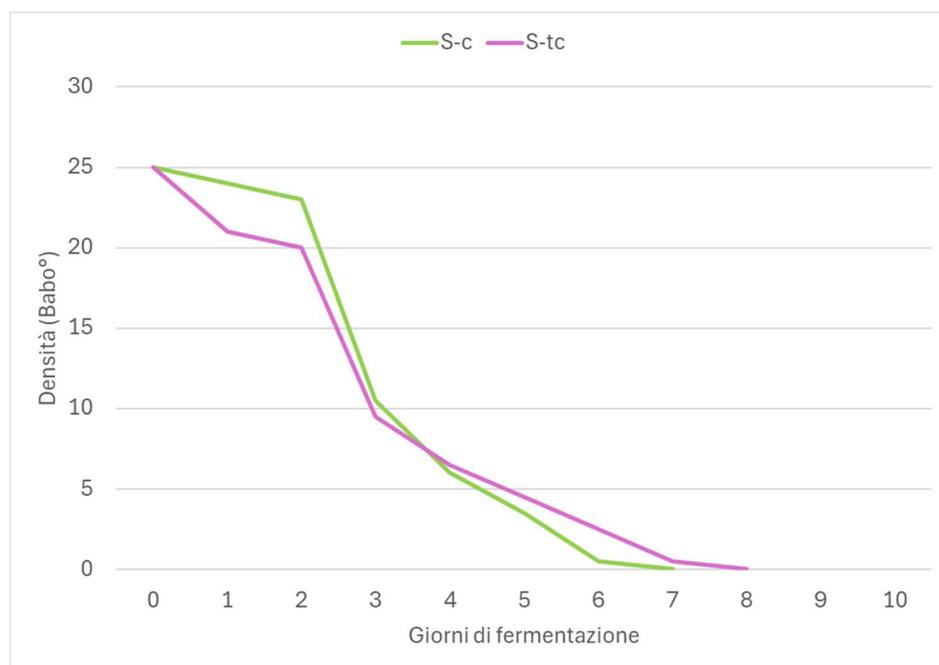


Figura 2. Evoluzione della densità durante la fermentazione alcolica nelle diverse strategie fermentative delle uve *Sangiovese*. **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-tc**: Sangiovese inoculato sequenzialmente con *Torulaspota delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Nel mosto inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, la fermentazione inizia lentamente, accelerando solo dopo 48 ore. Al contrario, nel mosto inoculato con *Torulaspota delbrueckii* si osserva un rapido calo della densità fin dal primo giorno. Tuttavia, tra il primo e il secondo giorno, la velocità di decrescita della densità subisce un rallentamento, suggerendo difficoltà nel proseguire il processo fermentativo. A fronte di queste evidenze, 48 ore dopo il primo inoculo con *Torulaspota delbrueckii*, nel campione predisposto per la fermentazione sequenziale, è stato inoculato *Saccharomyces cerevisiae*. Da quel momento, le fermentazioni proseguono parallelamente, mostrando un andamento molto simile e

terminando rispettivamente il settimo (S-c) e l'ottavo giorno (S-tc), con la fermentazione sequenziale che ha mostrato una velocità leggermente inferiore rispetto alla fermentazione con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae*.

La rapida diminuzione della densità osservata sin dal primo giorno nel campione inoculato con *Torulaspota delbrueckii* suggerisce una veloce moltiplicazione di questo lievito, fenomeno che potrebbe agire come bio-controllo nei confronti delle specie di lieviti e batteri autoctoni, come riportato da studi precedenti (Simonin et al., 2018). Il successivo rallentamento della fermentazione sembra essere attribuibile alla tossicità dell'etanolo che è in grado di ostacolare *Torulaspota delbrueckii* nel completamento del processo fermentativo (Catrileto et al., 2020). Tuttavia, questo rallentamento, combinato con la presenza di etanolo, facilita una colonizzazione e predominanza più rapida da parte di *Saccharomyces cerevisiae*. Quest'ultimo è stato infatti in grado di portare a termine la fermentazione con una dinamica estremamente simile a quella del campione inoculato con *Saccharomyces cerevisiae* fin dalle fasi iniziali.

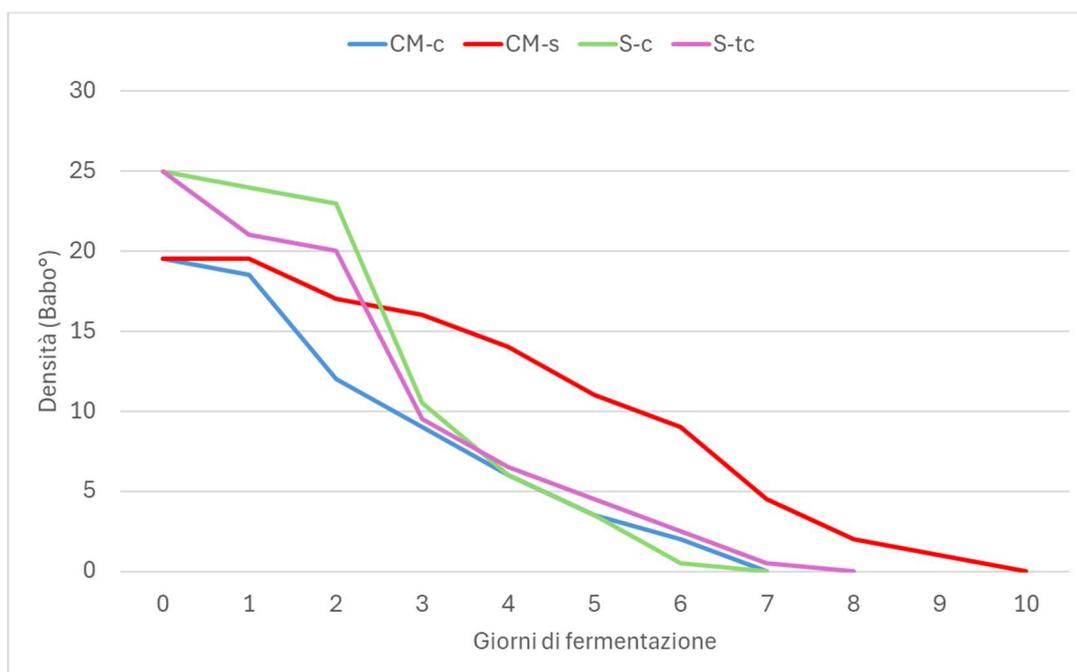


Figura 3. Evoluzione della densità durante la fermentazione alcolica nelle diverse strategie fermentative di tutti i campioni. (**CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂, **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-tc**: Sangiovese inoculato sequenziale con *Torulaspota delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*)

3.2. Caratteristiche chimiche

3.2.1. Parametri analitici al termine della fermentazione

Lo studio sulle differenze dei metodi di fermentazione ha evidenziato delle differenze significative anche riguardanti i parametri chimici dei vini che ne sono derivati. La Tabella 1 fa riferimento a tutti i parametri studiati dai campioni al termine della fermentazione.

Tabella 1. Parametri chimici dei vini a fine fermentazione.

Composto	Trattamento			
	CM-c	CM-s	S-c	S-tc
Alcol (Vol%)	13,4	13,6	14,9	14,7
Gluc/Frut	0,07 ± 0,13	0,50 ± 0,00	1,30 ± 0,30	1,93 ± 0,53
Estratto Secco (g/L)	32	33	32	36
Acidità tot.* (g/L)	6,67 ± 0,03	6,52 ± 0,02	6,68 ± 0,03	6,80 ± 0,03
pH (Unità)	3,65 ± 0,01	3,56 ± 0,01	3,65 ± 0,02	3,53 ± 0,00
Acidità vol.** (g/L)	0,30 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,00
Ac. Malico (g/L)	1,41 ± 0,03	0,76 ± 0,02	1,50 ± 0,04	1,41 ± 0,03
Ac. Lattico (g/L)	0,00 ± 0,00	0,39 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Glucosio (g/L)	2,28 ± 0,06	2,22 ± 0,06	1,74 ± 0,11	1,90 ± 0,05
Fruttosio (g/L)	0,42 ± 0,19	0,41 ± 0,07	1,23 ± 0,18	1,97 ± 0,13
Ac. Tartarico (g/L)	3,69 ± 0,02	4,09 ± 0,03	3,58 ± 0,05	3,68 ± 0,09
Ac. Citrico (g/L)	0,45 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,60 ± 0,02
Ac. Succinico (g/L)	1,31 ± 0,06	1,32 ± 0,03	1,17 ± 0,02	1,57 ± 0,09
Glicerolo (g/L)	7,74 ± 0,06	8,06 ± 0,14	8,45 ± 0,06	9,57 ± 0,12
Catechine (mg/L)	146 ± 2	140 ± 3	103 ± 9	80 ± 1
SO ₂ Libera (mg/L)	18	20	18	18
SO ₂ Totale (mg/L)	46	38	49	45

Valori espressi in equivalenti di *acido tartarico e **acido acetico. Le concentrazioni sono espresse come media ± SD (ottenute dal 3 analisi effettuate sulla stessa vinificazione). **CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂, **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-tc**: Sangiovese inoculato sequenziale con *Torulasporea delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Analizzando le differenze tra la fermentazione spontanea senza aggiunta di SO₂ in uve *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* e quella con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* (aggiunta di 50 mg/L di SO₂ al momento dell'inoculo), emergono differenze, a partire dall'acidità totale, dove il trattamento CM-s presenta 0,15 g/L in meno, una differenza del 2,2%, presumibilmente a causa di una fermentazione malolattica da parte di batteri lattici durante le prime fasi della fermentazione, causata dalla scarsa capacità di bio-controllo da parte dei lieviti autoctoni, che ha determinato una diminuzione dell'acido malico e un aumento dell'acido lattico, rendendo il trattamento CM-s l'unico, tra i quattro, a presentare questo acido. Il livello di acido tartarico, invece, nel trattamento CM-s risulta superiore di 0,4g/L, il 10,8% in più, il che potrebbe spiegare il pH più basso del campione CM-s rispetto al

campione CM-c, rispettivamente di 3,65 (CM-c) e 3,56 (CM-s). Nel campione CM-s, il contenuto di estratto secco risulta superiore di 1,06 g/L rispetto al campione CM-c, rappresentando una differenza del 3,3%. Questo incremento potrebbe essere attribuito anche al quantitativo maggiore di glicerolo rilevato nel campione CM-s, che supera di 0,32 g/L la concentrazione in CM-c, corrispondente a un aumento del 4,1%.

Nonostante non sia stata aggiunta anidride solforosa in vinificazione, il campione CM-s mostra livelli di SO₂ totale inferiori, ma comparabili con quelli degli altri campioni, mentre il livello di SO₂ libera è addirittura superiore a tutti gli altri. Questo fenomeno, osservato anche in altri studi (Canonico et al., 2022), suggerisce la capacità di alcuni ceppi di lieviti indigeni di produrre autonomamente questo composto.

Per quanto riguarda le differenze tra la fermentazione con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* e quella con inoculo sequenziale di *Torulaspora delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae* su uva *Sangiovese*, le prime differenze emergono già nel tenore alcolico, con il campione S-tc che mostra un valore inferiore di 0,19% vol. (-1,3%). Inoltre, l'estratto secco del campione S-tc si distingue per una concentrazione superiore di 3,36 g/L, pari a un incremento dell'11,2% rispetto al campione S-c. Questo dato sembra correlato alla maggiore concentrazione di glicerolo nel campione S-tc, che risulta superiore di 1,12 g/L, corrispondente a un aumento del 13,3% rispetto al campione S-c.

Per quanto riguarda l'acidità, il campione S-tc mostra concentrazioni più elevate di acidità totale (0,12 g/L; +1,8%), acido tartarico (0,1 g/L; +2,8%), acido citrico (0,06 g/L; +11%) e acido succinico (0,4 g/L; +34%), portando a una riduzione del valore del pH, che risulta di 3,65 nel campione S-c e di 3,53 nel campione S-tc.

Rispetto alle controparti inoculate con *Saccharomyces cerevisiae*, i campioni sottoposti a fermentazione spontanea e a inoculo sequenziale hanno generalmente mostrato un estratto secco superiore, una maggiore concentrazione di glicerolo, un'acidità volatile più elevata, livelli superiori di acido tartarico e una concentrazione inferiore di acido malico.

Nonostante il substrato fosse differente in termini di varietà e stato di maturazione, con l'uvaggio di *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* caratterizzato da una densità iniziale di 19,5 °Babo e l'uva *Sangiovese* con un valore di 25 °Babo, le fermentazioni inoculate con *Saccharomyces cerevisiae* e con l'aggiunta di SO₂ hanno evidenziato parametri di acidità totale, pH e acidità volatile sorprendentemente simili.

3.2.2. Affinamento di nove mesi

È stata monitorata l'evoluzione dei parametri nel tempo per comprendere come le differenze sviluppate durante la fermentazione potessero evolvere. La Tabella 2 riporta i risultati delle analisi effettuate sugli stessi campioni, eseguite a nove mesi di distanza dalle prime, durante un periodo di affinamento condotto nello stesso tipo di serbatoio (acciaio), alla medesima temperatura, e con un livello di anidride solforosa totale stabilizzato a 65 mg/L per ciascun campione.

Tabella 2. Parametri chimico-analitici a 15 e 280 giorni dal termine della fermentazione.

Composto	Giorni affinamento	Trattamento			
		CM-c	CM-s	S-c	S-tc
Alcol (Vol%)	15	13,4	13,6	14,9	14,8
	280	13,4	13,6	14,9	14,7
Estratto Secco (g/L)	15	32	33	32	36
	280	29	31	32	35
Acidità tot.* (g/L)	15	6,67	6,52	6,68	6,80
	280	6,14	6,07	6,26	6,35
pH (Unità)	15	3,65	3,56	3,65	3,53
	280	3,61	6,64	3,69	3,62
Acidità vol.** (g/L)	15	0,30	0,35	0,27	0,33
	280	0,41	0,49	0,39	0,40
Ac. Tartarico (g/L)	15	3,69	4,09	3,58	3,68
	280	2,58	2,92	2,17	2,23
Glicerolo (g/L)	15	7,74	8,06	8,45	9,57
	280	8,91	9,32	9,60	10,35

Valori espressi in equivalenti di *acido tartarico e **acido acetico. Le concentrazioni sono espresse come media. **CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂, **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-tc**: Sangiovese inoculato sequenziale con *Torulasporea delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*.

I risultati mostrano che il titolo alcolometrico volumico non ha subito variazioni significative. L'estratto secco, invece, è diminuito tendenzialmente in ogni campione (CM-c: -10%, CM-s: -7,8%, S-c: -1,2%, S-tc -3,6%) indipendentemente dalla tipologia di fermentazione. Tuttavia, sembra che l'uvaggio di *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* abbia subito un calo più marcato rispetto ai vini di *Sangiovese*. Questo comportamento potrebbe essere legato alla stabilizzazione tartarica, infatti, anche l'acidità totale è diminuita in tutti i campioni in concentrazioni simili, senza evidenziare particolari differenze (CM-c: -7,6%, CM-s: -6,7%, S-c: -6,3%, S-tc: -6,6%). Risultato attribuibile ad una evidente e significativa riduzione della concentrazione di acido tartarico in tutti i campioni (CM-c: -30%, CM-s: -28,6%, S-c: -39,4%, S-tc: -39,4%), un comportamento tipico della stabilizzazione tartarica che sembra essere stata di simile intensità in tutti i campioni. È però evidente che i campioni che avevano il valore più alto di acidità totale e di acido tartarico alla fine della fermentazione sono quelli

che hanno mantenuto questa caratteristica anche dopo nove mesi, suggerendo un vantaggio nella produzione aggiuntiva di acidi durante la fermentazione.

L'acidità volatile è aumentata in tutti i campioni; sebbene questa variazione fosse attesa, si deve evidenziare che nel campione sottoposto a fermentazione spontanea si è registrato un livello superiore di circa il 25% rispetto agli altri. Anche il glicerolo è aumentato uniformemente in tutti i campioni (CM-c: +15,1%, CM-s: +15,6%, S-c: +13,6%, S-tc: +8,1%), mantenendosi a una concentrazione maggiore nel campione con inoculo sequenziale di *Torulasporea delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*, come già osservato al termine della fermentazione.

3.2.3. Affinamento in legno

3.2.3.1. Analisi Chimiche

Sono state studiate anche le possibili differenze e sensibilità dei cambiamenti avvenuti durante le diverse fermentazioni in seguito a un passaggio in legno. I risultati del confronto tra i vini affinati per nove mesi in acciaio e quelli affinati per otto mesi in acciaio più un mese in legno sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3. Parametri chimici tra affinamento in acciaio e con passaggio in legno.

Composto	Passaggio in legno	Trattamento			
		CM-c	CM-s	S-c	S-tc
Alcol (Vol%)	No	13,4	13,6	14,9	14,7
	Si	13,4	13,6	14,9	14,7
Estratto Secco (g/L)	No	29	31	32	35
	Si	29	30	32	34
Acidità tot.* (g/L)	No	6,14	6,07	6,28	6,35
	Si	6,17	6,03	6,26	6,35
pH (Unità)	No	3,61	3,61	3,69	3,62
	Si	3,59	3,64	3,67	3,57
Acidità vol.** (g/L)	No	0,41	0,49	0,39	0,40
	Si	0,48	0,48	0,41	0,43
Ac. Tartarico (g/L)	No	2,58	2,92	2,17	2,23
	Si	2,31	2,76	2,15	2,11
Glicerolo (g/L)	No	8,91	9,32	9,60	10,35
	Si	8,93	9,64	9,69	10,55
SO ₂ totale (mg/L)	No	60	64	64	64
	Si	59	58	56	54
SO ₂ libera (mg/L)	No	23	28	30	28
	Si	23	24	24	24

Valori espressi in equivalenti di *acido tartarico e **acido acetico. Le concentrazioni sono espresse come media. **CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂, **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-tc**: Sangiovese inoculato sequenziale con *Torulasporea delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*.

L'estratto secco dei vini ottenuti da fermentazione spontanea e da fermentazione sequenziale si è dimostrato più sensibile al passaggio in legno, registrando una diminuzione della concentrazione pur mantenendo un contenuto di estratto secco più elevato rispetto agli altri campioni. In particolare, il campione da fermentazione spontanea ha subito una riduzione di 0,33 g/L (-1%), mentre il campione da fermentazione sequenziale ha registrato una diminuzione di 0,64 g/L (-1,8%). I campioni fermentati con *Saccharomyces cerevisiae*, invece, non hanno mostrato variazioni significative. I vini ottenuti con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* sono invece risultati particolarmente stabili. L'acidità totale e il pH non hanno mostrato differenze significative, mentre la concentrazione di acido tartarico è risultata inferiore nei vini affinati in legno (CM-c: -10,5%, CM-s: -5,5%, S-c: -1%, S-tc: -5,4%). L'acidità volatile, invece, è leggermente aumentata in tre dei quattro campioni dopo l'affinamento in legno.

Per quanto riguarda la SO₂ totale, tutti i campioni hanno mostrato una diminuzione a seguito del passaggio in legno, e in modo analogo, anche la SO₂ libera ha evidenziato una diminuzione costante nella concentrazione. Queste variazioni, tuttavia, non sembrano essere influenzate dal metodo di fermentazione.

La concentrazione di glicerolo, a seguito del passaggio in legno, ha registrato un incremento soprattutto nel vino sottoposto a fermentazione spontanea dove è aumentato di 0,32g/L (+3,4%) ed in quello sottoposto a fermentazione sequenziale dove è aumentato di 0,20g/L (+2%). Anche i campioni inoculati con *Saccharomyces Cerevisiae* hanno registrato un aumento nella concentrazione di questa molecola, ma più contenuto (CM-c: +0,2%, S-c: +0,9%).

3.2.3.2. Analisi del colore

Il colore (IC: intensità; Hue: tonalità) e il contenuto di polifenoli totali (PT) sono stati analizzati in tutti i vini a 13 mesi dalla fine della fermentazione per valutare differenze dovute all'affinamento in botte (Tabella 4).

Tabella 4. Valori di Polifenoli, Assorbanza e Tonalità del Vino

Campione	PT	DO 420 nm	DO 520 nm	DO 620 nm	Hue	IC
CM-c	1343 ± 104	3,05 ± 0,16	4,23 ± 0,13	1,50 ± 0,07	0,72 ± 0,02	8,78 ± 0,31
CM-cL	1411 ± 100	3,23 ± 0,14	4,50 ± 0,09	1,55 ± 0,05	0,72 ± 0,02	9,28 ± 0,29
CM-s	1688 ± 101	4,56 ± 0,13	6,61 ± 0,09	2,07 ± 0,05	0,69 ± 0,01	13,23 ± 0,30
CM-sL	1876 ± 107	4,25 ± 0,13	6,18 ± 0,09	1,94 ± 0,05	0,69 ± 0,02	12,37 ± 0,21
S-c	1453 ± 103	3,01 ± 0,17	3,25 ± 0,14	0,85 ± 0,07	0,92 ± 0,01	7,10 ± 0,28
S-cL	1385 ± 102	3,09 ± 0,14	3,25 ± 0,10	1,00 ± 0,05	0,88 ± 0,01	7,61 ± 0,28
S-tc	1391 ± 100	2,79 ± 0,15	3,12 ± 0,10	0,98 ± 0,06	0,89 ± 0,02	6,89 ± 0,30
S-tcL	1292 ± 99	2,23 ± 0,13	2,41 ± 0,08	0,77 ± 0,05	0,93 ± 0,01	5,41 ± 0,25

I valori sono espressi come media ± SD, **CM-c**: Uvaggio (CS+M) inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **CM-s**: Uvaggio (CS+M) con fermentazione spontanea senza SO₂, **S-c**: Sangiovese inoculato con *Saccharomyces cerevisiae*, **S-ct**: Sangiovese inoculato sequenziale con *Torulaspora delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*. Il suffisso "L" indica i campioni sottoposti a un passaggio di 30 giorni in legno.

In generale, la concentrazione di PT presenta differenze sensibili in relazione all'uvaggio impiegato. Inoltre, i campioni CM-c e CM-s, ottenuti da *Cabernet Sauvignon* e *Merlot*, presentano un incremento dei PT a seguito dell'affinamento in legno, rispetto ai campioni affinati esclusivamente in acciaio. Il campione fermentato con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* (CM-c) evidenzia un aumento del 5%, mentre il campione fermentato spontaneamente (CM-s) mostra un incremento dell'11%. Al contrario, i campioni derivati da uva *Sangiovese* mostrano una diminuzione dei PT sia nel campione fermentato con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* (S-c), che registra una riduzione del 4,7%, sia nel campione sottoposto a fermentazione sequenziale (S-tc), dove i PT diminuiscono del 7,1%. Le differenze ottenute nelle due prove potrebbero essere dovute alla diversa composizione fenolica di partenza dei vitigni, che influenza la capacità di estrazione e stabilizzazione dei polifenoli durante il processo di affinamento. Un'altra differenza attribuibile all'uvaggio di partenza riguarda il valore di tonalità (Hue): il vino ottenuto da uva *Sangiovese* mostra generalmente un valore superiore rispetto ai vini derivati dall'uvaggio di *Cabernet Sauvignon* e *Merlot*.

Per quanto riguarda l'intensità colorante (IC) i vini affinati esclusivamente in acciaio (CM-c, CM-s, S-c, S-tc) mostrano alcune differenze. In particolare, è stata osservata una maggiore

IC nei vini ottenuti da *Cabernet Sauvignon* e *Merlot* (CM-c, CM-s), rispetto a quelli derivati da *Sangiovese* (S-c, S-tc). Altre differenze, invece, possono essere attribuite alla durata della fermentazione. Il campione CM-s, infatti, presenta un livello di PT sensibilmente superiore agli altri campioni; questa differenza si registra anche nella IC, che in CM-s risulta superiore del 51% rispetto al campione CM-c, ottenuto dallo stesso uvaggio. Nel campione fermentato spontaneamente (CM-s), il contatto delle bucce con il mosto durante la fermentazione si è protratto più a lungo (10 vs 7 giorni) e ciò può avere favorito una maggiore estrazione dei polifenoli dalle bucce, grazie all'effetto estraente dell'alcol.

Analizzando le densità ottiche (DO) dei vari campioni, si osserva una tendenza comune nei vini ottenuti mediante fermentazione con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae*: le loro intensità coloranti (IC) mostrano un incremento successivo all'affinamento in legno. In particolare, il campione CM-cL presenta un aumento del 5,7% rispetto al campione CM-c, mentre il campione S-cL evidenzia un incremento del 7% rispetto al campione S-c. Al contrario, i campioni derivati da fermentazione spontanea mostrano una riduzione del valore di IC del 6,5% nel campione CM-sL rispetto al campione CM-s, mentre i campioni da fermentazione sequenziale subiscono una riduzione ancora più marcata, con il campione S-tcL che registra un valore inferiore del 21,5% rispetto al campione S-tc.

Questi risultati suggeriscono che l'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* abbia contribuito a una maggiore stabilità del vino durante l'affinamento in legno rispetto agli altri metodi fermentativi. La maggiore stabilità potrebbe essere dovuta alla capacità di *Saccharomyces cerevisiae* di produrre durante la fermentazione composti chiave, come acetaldeide e acido piruvico, che favoriscono la formazione di piranoantocianidine stabili come la Vitisina A e B, le quali possono essere precursori di altre molecole come la Portisina A e B, l'Oxovitisina o la Vinilpirano-malvidina-3-o-glucoside-fenolo, sviluppatesi in fase di affinamento (Marquez et al., 2013). Inoltre, i vini fermentati con *Saccharomyces cerevisiae* sembrano aver beneficiato maggiormente dei fenomeni di copigmentazione tra tannini ellagici apportati dalla botte e antociani, come evidenziato dall'aumento dell'assorbanza alle lunghezze d'onda di 420, 520 e 620 nm. Le fermentazioni spontanea e sequenziale potrebbero non aver prodotto questo tipo di precursore stabile, permettendo una condensazione diretta tra antociani e tannini ellagici, la quale può anche dar vita a molecole incolore (Rybèreau-Gayon et al., 2018).

3.3. *Caratteristiche organolettiche*

Dopo 13 mesi dalla fine delle fermentazioni, i vini sono stati analizzati da un panel di esperti che ha valutato inizialmente il colore, poi le sensazioni olfattive e, infine, il gusto e le sensazioni al palato. Sono stati esaminati i campioni provenienti dall'uvaggio di *Merlot* e *Cabernet Sauvignon* (CM-c, CM-cL, CM-s, CM-sL), e i campioni derivanti dalla vinificazione di uve *Sangiovese* in purezza (S-c, S-cL, S-tc, S-tcL). Il suffisso "L" indica i campioni sottoposti a un passaggio in legno.

Campione CM-c: presenta un colore violaceo intenso e acceso. Al naso non presenta difetti, mostrando note tipiche del vitigno, lievemente vegetali, con poca complessità ma grande intensità. Anche in bocca risulta privo di difetti, con una tannicità ben bilanciata dall'acidità e una ben integrata/piacevole astringenza finale.

Campione CM-s: mostra le stesse tonalità di colore violaceo, ma con un'intensità leggermente superiore rispetto al campione CM-c. Al naso si distingue per una piacevole complessità di aromi fruttati, ricchi di note varietali, sebbene l'intensità sia leggermente inferiore rispetto al campione CM-c. In bocca risulta meno strutturato, con meno corpo e minore acidità, che non riesce a bilanciare l'astringenza, rendendola più evidente.

Campione CM-cL: non mostra differenze evidenti nel colore rispetto al campione MC-c. Al naso risulta più rotondo, con note di frutta più matura e una leggera maggiore complessità. L'aroma in bocca appare migliorato, con una struttura più levigata; tuttavia, si nota una diminuzione dell'acidità e dei tannini. Nel complesso, risulta quindi più evoluto, ma con alcune criticità.

Campione CM-sL: non mostra differenze evidenti nel colore rispetto al campione MC-c. Al naso ha perso la piacevole complessità fruttata, esprimendo un aroma più maturo ma meno definito e meno piacevole, con sentori di uva cotta. In bocca presenta una marcata astringenza, risultando aspro, privo di corpo e con un aroma che svanisce rapidamente, senza lasciare note positive.

Campione S-c: il colore è meno violaceo, tendente a un rubino poco intenso, tipico dell'uva *Sangiovese*. Al naso risulta semplice ma pulito, con una buona intensità. In bocca presenta una buona struttura, con un bilanciamento ottimale tra acidità e tannicità, che riescono a mascherare bene la presenza alcolica.

Campione S-tc: presenta note di colore più giovani rispetto al campione S-c. Al naso risulta confuso, con profumi non definiti ma intensi, e sentori di uva cotta. Risulta più evoluto

rispetto al campione S-c, ma non in modo positivo. In bocca appare piatto, tuttavia l'aroma percepito è migliore di quello rilevato al naso, risultando più rotondo.

Campione S-cL: il colore appare più maturato e più intenso rispetto al campione S-c. Al naso risulta ben bilanciato e complesso, con note di legno e frutta più matura. In bocca la struttura è molto buona, superiore rispetto ai campioni precedenti, con un aroma più persistente e maturo che conferma le note rilevate al naso. Nel complesso, risulta un vino ben equilibrato.

Campione S-tcL: conserva le sfumature leggermente più violacee osservate nel campione S-tc rispetto al campione S-c. Al naso risulta sgradevole, con un aroma difficile da definire, accompagnato da tracce di acetaldeide. In bocca presenta un'acidità quasi inesistente, risulta piatto e tende a svanire rapidamente, lasciando una leggera astringenza.

I vini ottenuti dai mosti fermentati con *Saccharomyces cerevisiae* risultano complessivamente più semplici dal punto di vista del profilo olfattivo, ma puliti, piacevoli e privi di difetti. Si distinguono anche per un miglioramento sia olfattivo che gustativo a seguito dell'affinamento in legno. Tra i campioni affinati esclusivamente in acciaio, quello proveniente da fermentazione spontanea ha mostrato una migliore complessità e piacevolezza al naso; tuttavia, in bocca risultava meno strutturato, e l'affinamento in legno ha peggiorato tutte le sue caratteristiche. Il campione inoculato con *Torulaspota delbrueckii* si è rivelato il peggiore nel complesso, sia nella versione affinata in acciaio che in quella con passaggio in legno, risultando poco piacevole sia all'assaggio che all'olfatto.

4. Conclusioni

Le fermentazioni con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* si sono dimostrate simili tra loro sotto diversi aspetti. La cinetica fermentativa è stata caratterizzata da una partenza lenta, seguita da un'accelerazione significativa a partire dal terzo giorno, fino al completamento della fermentazione. Dal punto di vista chimico, i campioni, pur essendo ottenuti da uve differenti, hanno mostrato alla fine della fermentazione valori molto simili in termini di acidità totale, acido tartarico e pH. Tuttavia, queste caratteristiche si sono differenziate durante l'affinamento, sia in acciaio che in legno, evidenziando quindi delle differenze varietali. Nei vini affinati esclusivamente in acciaio si è riscontrata una sensazione olfattiva semplice ma pulita e piacevole, sebbene priva di complessità, in linea con quanto riportato in studi precedenti (Philipp et al., 2021). Il passaggio in legno ha conferito a entrambi i campioni una maggiore struttura, intensità e complessità, risultando un intervento positivo per migliorare le caratteristiche organolettiche del vino.

La fermentazione spontanea ha mostrato una cinetica più lenta rispetto alle fermentazioni con inoculo, suggerendo la coesistenza di diversi microrganismi, come evidenziato da una fase lag più prolungata. Nonostante questa lentezza, la fermentazione è stata completata con una produzione di acido acetico superiore, ma comunque non eccessiva, come osservato in altri studi (Bisson, 1999). La fermentazione più prolungata ha inoltre permesso di estrarre un maggior numero di polifenoli dalle bucce, contribuendo ad un valore di estratto secco più elevato. L'acidità totale è risultata inferiore, probabilmente a causa del consumo di acido malico e della produzione di acido lattico ad opera dei batteri lattici nelle prime fasi della fermentazione. Tuttavia, il contenuto di acido tartarico è risultato superiore, in contrasto con altri studi (Rosi et al., 2000), contribuendo a mantenere un pH inferiore. Dal punto di vista olfattivo, il profilo aromatico del vino fermentato spontaneamente e affinato in acciaio è risultato particolarmente complesso, confermando la capacità di questo approccio di esprimere al meglio le peculiarità territoriali. Tuttavia, tale complessità non si è tradotta in un miglioramento sensoriale a livello gustativo, in contrasto con alcune ricerche precedenti (Medina et al., 2013). Inoltre, l'affinamento in legno non ha apportato benefici al profilo organolettico, peggiorando alcune caratteristiche del vino e suggerendo che questo trattamento non sia ideale per la tipologia di fermentazione spontanea.

La fermentazione sequenziale con *Torulaspota delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae* ha mostrato una cinetica interessante, caratterizzata da una rapida moltiplicazione del lievito nei primi giorni, comportamento che ha consentito un efficace bio-controllo delle popolazioni indigene, grazie alla produzione di etanolo e all'occupazione dello spazio, come riportato in

studi precedenti (Morata et al., 2021). Tuttavia, la difficoltà di *Torulasporea delbrueckii* a prevalere nelle fasi avanzate della fermentazione, dovuta all'aumento della concentrazione di etanolo, ha causato un rallentamento della fermentazione, come osservato in studi analoghi (Ciani et al., 2016). Successivamente, l'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* ha permesso a quest'ultimo di riprendere il controllo del processo e completare la fermentazione in tempi rapidi. Dal punto di vista chimico, questa fermentazione è risultata particolarmente interessante, poiché ha prodotto una quantità inferiore di alcol e una maggiore quantità di acidità totale, oltre a una concentrazione superiore di acido tartarico, citrico e succinico, contribuendo così a un abbassamento del pH, come descritto in letteratura (Benito et al., 2013). Inoltre, è stato rilevato un contenuto superiore di estratto secco e glicerolo, come evidenziato in studi precedenti (Contreras et al., 2014; Escribano-Viana et al., 2018). Tuttavia, le analisi organolettiche non hanno mostrato miglioramenti corrispondenti ai cambiamenti chimici: il vino risultava infatti confuso all'olfatto e generalmente poco piacevole al gusto, sia nella versione affinata in acciaio che in quella sottoposta a passaggio in legno, contrariamente a quanto riportato in alcuni studi (Renault et al., 2016).

L'affinamento in legno ha avuto un impatto significativo sia sulle caratteristiche organolettiche sia sulla composizione chimica del vino, con risultati diversi a seconda della tecnica fermentativa adottata. Nei campioni fermentati con inoculo di *Saccharomyces cerevisiae*, il legno ha contribuito a migliorare la complessità, la struttura e la piacevolezza aromatica, arricchendo il profilo con note speziate e vanigliate, ha inoltre permesso di migliorare il colore stabilizzando gli antociani grazie all'apporto di tannini ellagici. Al contrario, nei vini fermentati spontaneamente e con tecnica sequenziale, l'affinamento in legno ha determinato un peggioramento del colore e del profilo aromatico, accompagnato da una perdita di acidità totale e di estratto secco, nonché da un aumento dell'acidità volatile. Questi risultati suggeriscono che l'affinamento in legno sia più adatto ai vini ottenuti da fermentazioni controllate, mentre quelli fermentati spontaneamente potrebbero trarre maggior beneficio da affinamenti alternativi che preservino la complessità senza introdurre alterazioni negative.

Bibliografía

- Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I., & Dubourdieu, D. (2008). Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*–*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 312–320.
- Benito, Á., Calderón, F., & Benito, S. (2016). Combined use of *S. pombe* and *L. thermotolerans* in winemaking. Beneficial effects determined through the study of wines' analytical characteristics. *Molecules*, 21, 1744.
- Benito, Á., Calderón, F., & Benito, S. (2019). The influence of non-*Saccharomyces* species on wine fermentation quality parameters. *Fermentation*, 5, 54.
- Bisson, L. F. (1999). Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(1), 107–119.
- Bisson, L. F., Joseph, C. L., & Domizio, P. (2017). Yeasts. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 65–101). Springer, Cham, Switzerland.
- Boidron, J.-N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins (effects of wood on aroma compounds of wine). *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 275–294.
- Cabrera, M. J., Moreno, J., Ortega, J. M., & Medina, M. (1988). Formation of ethanol, higher alcohols, esters, and terpenes by five yeast strains in musts from Pedro Ximénez grapes in various degrees of ripeness. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39, 283–287.
- Canonico, L., Agarbati, A., Comitini, F., & Ciani, M. (2022). Assessment of spontaneous fermentation and non-*Saccharomyces* sequential fermentation in Verdicchio wine at winery scale. *Beverages*, 8(3), 49.
- Castellari, M., Sartini, E., Fabiani, A., Arfelli, G., & Amati, A. (2002). Analysis of wine phenolics by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. *Journal of Chromatography A*, 973, 221–227.
- Catrileo, D., Acuña-Fontecilla, A., & Godoy, L. (2020). Adaptive laboratory evolution of native *Torulaspora delbrueckii* YCPUC10 with enhanced ethanol resistance and evaluation in co-inoculated fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 595023.
- Chacon-Rodriguez, L., Joseph, C. M. L., Nazaris, B., Coulon, J., Richardson, S., & Dycus, D. A. (2020). Innovative use of non-*Saccharomyces* in bio-protection: *T. delbrueckii* and *M. pulcherrima* applied to a machine harvester. *Catalysis Discovery Into Practice*, 4, 82–90.
- Chidi, B. S., Bauer, F. F., & Rossouw, D. (2018). Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39, 1–15.
- Chira, K., & Teissedre, P. L. (2013). Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. *Food Chemistry*, 140(1-2), 168–177.
- Ciani, M., & Comitini, F. (2019). Use of non-*Saccharomyces* yeasts in red winemaking. In *Red Wine Technology* (pp. 51–68). Academic Press, Cambridge, MA, USA.

- Ciani, M., & Maccarelli, F. (1998). Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *14*(2), 199–203.
- Ciani, M., Morales, P., Comitini, F., Tronchoni, J., Canonico, L., Curiel, J. A., Oro, L., Rodrigues, A. J., & Gonzalez, R. (2016). Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 642.
- Combina, M., Elfa, A., Mercado, L., Catania, C., Ganga, A., & Martinez, C. (2005). Dynamics of indigenous yeast populations during spontaneous fermentation of wines from Mendoza, Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, *99*(3), 237–243.
- Contreras, A., Hidalgo, C., Henschke, P. A., Chambers, P. J., Curtin, C., & Varela, C. (2014). Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*, 1670–1678.
- Díaz, C., Molina, A. M., Nähring, J., & Fischer, R. (2013). Characterization and dynamic behavior of wild yeast during spontaneous wine fermentation in steel tanks and amphorae. *Biomed Research International*, *2013*, 540465.
- Díaz-Plaza, E. M., Reyero, J. R., Pardo, F., & Salinas, M. R. (2002). Comparison of wine aromas with different tannic content aged in French oak barrels. *Analytica Chimica Acta*, *458*(1), 139–145.
- Drysdale, G. S., & Fleet, G. H. (1989). The growth and survival of acetic acid bacteria in wines at different concentrations of oxygen. *American Journal of Enology and Viticulture*, *40*(2), 99–105.
- Edwards, C. G., Haag, K. M., & Collins, M. D. (1998). Identification and characterization of two lactic acid bacteria associated with sluggish/stuck fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, *49*(4), 445–448.
- Escribano-Viana, R., González-Arenzana, L., Garijo, P., Fernández, L., López, R., Santamaría, P., & Gutiérrez, A. R. (2022). Bioprotective effect of a *Torulaspora delbrueckii*/*Lachancea thermotolerans*-mixed inoculum in red winemaking. *Fermentation*, *8*(4), 337.
- Feuillat, F., Keller, R., Sauvageot, F., & Puech, J.-L. (1999). Characterization of French oak cooperage (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Research of the study group on barrel-ageing Burgundy wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, *50*(4), 513–518.
- Gobbi, M., Comitini, F., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I., & Ciani, M. (2013). *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiology*, *33*, 271–278.
- Jolly, N. P., Augustyn, O. P. H., & Pretorius, I. S. (2006). The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *27*(1), 15–38.
- Knight, S., Klaere, S., Fedrizzi, B., & Goddard, M. R. (2015). Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: Evidence for a microbial aspect to terroir. *Scientific Reports*, *5*, 14233.

- Liu, D., Chen, Q., Zhang, P., Chen, D., & Howell, K. S. (2020). The fungal microbiome is an important component of vineyard ecosystems and correlates with regional distinctiveness of wine. *mSphere*, 5(5), e00534-20.
- Marquez, A., Serratosa, M., & Merida, J. (2013). Pyranoanthocyanin derived pigments in wine: Structure and formation during winemaking. *E-Journal of Chemistry*.
- Medina, K., Boido, E., Fariña, L., Gioia, O., Gomez, M. E., Barquet, M., Gaggero, C., Dellacassa, E., & Carrau, F. (2013). Increased flavour diversity of Chardonnay wines by spontaneous fermentation and co-fermentation with *Hanseniaspora vineae*. *Food Chemistry*, 141(3), 2513-2521.
- Morata, A., Loira, I., González, C., & Escott, C. (2021). Non-*Saccharomyces* as biotools to control the production of off-flavors in wines. *Molecules*, 26(15), 4571.
- Patrignani, F., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., et al. (2017). Characterisation of yeast microbiota, chemical and sensory properties of organic and biodynamic Sangiovese red wines. *Annals of Microbiology*, 67, 99–109.
- Philipp, C., Bagheri, B., Horacek, M., Eder, P., Bauer, F. F., & Setati, M. E. (2021). Inoculation of grape musts with single strains of *Saccharomyces cerevisiae* yeast reduces the diversity of chemical profiles of wines. *PLOS ONE*, 16(7), e0254780.
- Pretorius, I. S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: Novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*, 16(7), 675–729.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2018). *Trattato di enologia 2: Chimica del vino, stabilizzazione e trattamenti* (4a ed., Vol. 2). Milano: Edagricole.
- Romano, P., Suzzi, G., Domizio, P., & Fatichenti, F. (1997). Secondary products formation as a tool for discriminating non-*Saccharomyces* wine strains. Strain diversity in non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 71, 239–242.
- Rosi, I., Domizio, P., Fia, G., & Agnoletto, R. (2000). Biodiversità della popolazione di lieviti presente nel corso della fermentazione di mosti di uve Sangiovese. Dissertation, *Simposio Internazionale Il Sangiovese*.
- Simonin, S., Alexandre, H., Nikolantonaki, M., Coelho, C., & Tourdot-Maréchal, R. (2018). Inoculation of *Torulaspota delbrueckii* as a bio-protection agent in winemaking. *Food Research International*, 107, 451–461.
- Singleton, V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: Comparisons, facts, and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 98–115.
- Soden, A., Francis, I. L., Oakey, H., & Henschke, P. A. (2000). Effects of co-fermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(1), 21–30.
- Swiegers, J. H., & Pretorius, I. S. (2005). Yeast modulation of wine flavor. *Advances in Applied Microbiology*, 57, 131–175.
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., & Pretorius, I. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 139–173.

Viana, F., Gil, J. V., Genovés, S., Vallés, S., & Manzanares, P. (2008). Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits. *Food Microbiology*, 25, 778–785.

Zhang, B., Liu, H., Xue, J., Tang, C., Duan, C., & Yan, G. (2022). Use of *Torulaspota delbrueckii* and *Hanseniaspora vineae* co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* to improve aroma profiles and safety quality of Petit Manseng wines. *LWT - Food Science and Technology*, 161, 113360.

Zott, K., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Lonvaud-Funel, A., & Masneuf-Pomarede, I. (2008). Dynamics and diversity of non-*Saccharomyces* yeasts during the early stages in winemaking. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 197–203.