

2nd MS Wine Day

Mass Spectrometry
Grapes, Wines, Spirits

GC-MS for detection of wine aging by chips or barrel

Maurizio Petrozziello

CREA - Centro di Ricerca per la Viticoltura e l'Enologia – Asti

May 9-10, 2017,

Conegliano

Strumenti di supporto per la valutazione del rischio di frodi nel sistema agroalimentare

Supports for the fraud risk evaluation in the Italian agrifood system.

Funded by Italian Ministry of Agriculture and Forestry.

Obiettivo del lavoro:

- La messa a punto di una **metodica GC-MS** di facile utilizzo e facilmente applicabile per l'identificazione degli xilovolatili.
- La costituzione di un database finalizzato a **discriminare**, mediante tecniche di analisi multivariata, vini affinati con chips da quelli affinati in legno
- Approfondire, completare e **contestualizzare al panorama enologico italiano** alcuni risultati ottenuti da gruppi di ricerca stranieri su questo argomento

Analytical and Multivariate Statistical Methods for Differentiation of Wines Produced with Oak Chips and Barriques. Magdalena Müller, Norbert Christoph, Helmut Wachter, Hans-Juergen Koehler, and Peter Winterhalter. *Progress in Authentication of Food and Wine*. January 2011, 151-163.

Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments. Purificación Hernández-Orte, Ernesto Franco, Carlos González Huerta, Juana Martínez García, Mariano Cabellos, Julián Suberviola, Ignacio Orriols, Juan Cacho. *Food Research International*, Volume 57, March 2014. 234-241.

- Alcuni documenti ne riportano l'uso al XIX secolo ... In Piemonte
- Ma solo nei primi anni '60, per la prima volta si è iniziato a parlare seriamente dell'utilizzo dei trucioli di legno tostati in enologia (Singleton et Draper 1961; Singleton et Ough 1962). L'introduzione di questa pratica aveva finalità quasi esclusivamente economiche.
- A partire dagli anni '70 l'aumento della richiesta da parte del mercato di vini affinati in legno e il costo diretto e di gestione delle barriques, ha spinto molti produttori all'impiego di prodotti alternativi

In Europa l'impiego dei chips o di altri prodotti analoghi è sottoposto a restrizioni.

- L'impiego delle chips è stato regolamentato dall'unione Europea nel 2006.
- Attualmente il regolamento 606/2009 appendice IX e il regolamento 606/2009 appendice XVI normano le regole e le specifiche per l'uso del legno di quercia in enologia e le dichiarazioni relative al suo impiego.

- L'utilizzo è da indicare sia nei registri del vino che nei documenti accompagnatori.
- Non possono essere indicata la maturazione in barrique per i vini che siano stati preparati in contenitori di legno di rovere con l'utilizzo dei trucioli.
- Ogni stato membro ha il diritto di limitare i permessi dell'UE sul proprio territorio nazionale. In Italia chips e staves sono ammessi su vini comuni e IGT, non sui vini DOP con menzione DOCG o DOC

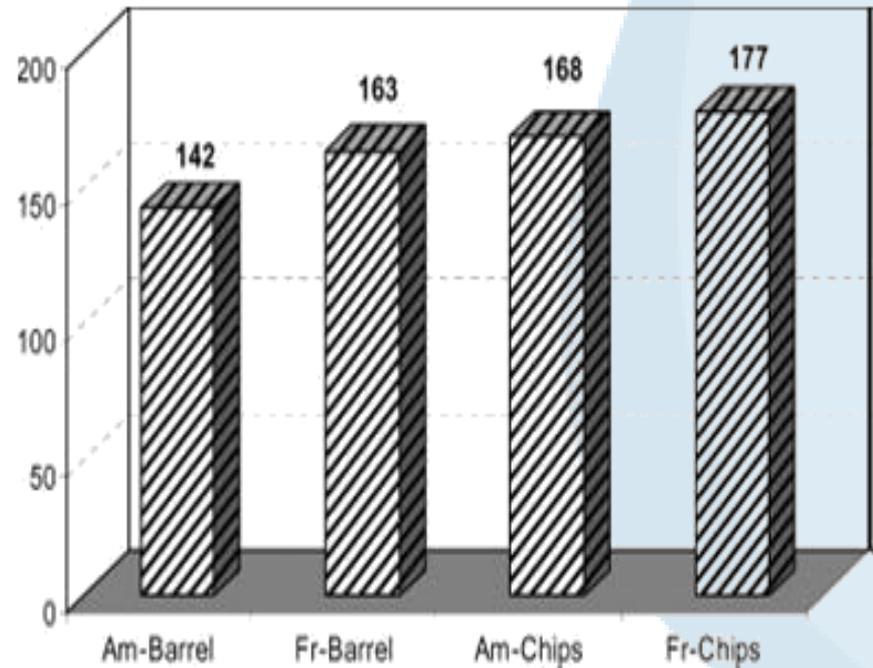
Caratteristiche dei trucioli

- Utilizzo nell'uva pigiata preparata per la fermentazione, nel mosto d'uva e nel vino.
- Produzione dei trucioli di legno solo dal genere Quercus.
- La tostatura non deve portare alla carbonizzazione.
- Non sono consentite aggiunte di additivi di nessun tipo.
- La grandezza dei trucioli deve essere > 2 mm.
- Nessun rilascio di sostanze dannose per la salute.

Possibili impieghi

- rilascio nel mezzo di composti polifenolici (tannini)
- Azione stabilizzante per precipitazione delle sostanze colloidali instabili nel vino
- apporto di un importante quantitativo di sostanze aromatiche che caratterizzano i vini affinati in legno.

Sulla base dei risultati dell'analisi sensoriale, non esistono differenze nella preferenza del consumatore tra i vini affinati in botte e vini affinati con chips. Questo risultato non tiene conto di eventuali differenze potenziali tra i due prodotti



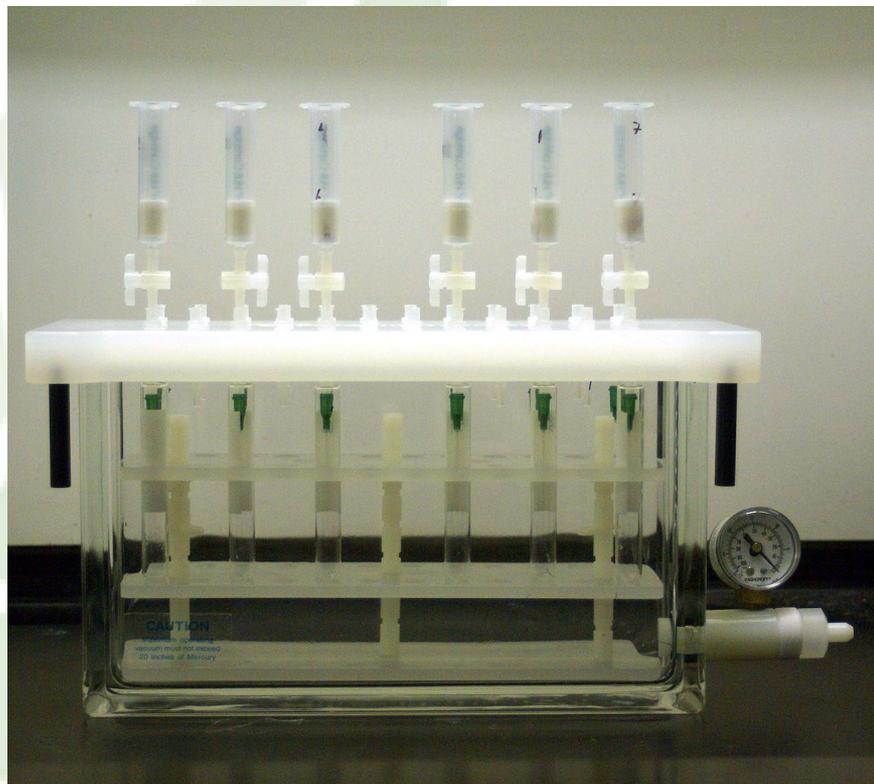
Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., and González-Sanjosé, M.L. 2011. Wine consumption habits and consumer preferences between wines aged in barrels or with chips. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91: 943-949.

Miriam Ortega-Heras, Silvia Pérez-Magariño, Estela Cano-Mozo, M Luisa González-San José, Differences in the phenolic composition and sensory profile between red wines aged in oak barrels and wines aged with oak chips, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 43, Issue 10, December 2010, Pages 1533-1541

- Esistono differenze compositive tra i vini affinati con chips e quelli affinati con barriques?
- Se si, da cosa dipendono e come possono essere evidenziate?

Il metodo analitico

La preparazione del campione



- La fase preparativa è stata realizzata mediante SPE a fase polimerica caratterizzate da un'alta capacità di carico e meccanismi di ritenzione multipli che permettono di analizzare un grande numero di composti con caratteristiche chimico fisiche diverse.
- Facilità e rapidità di utilizzo

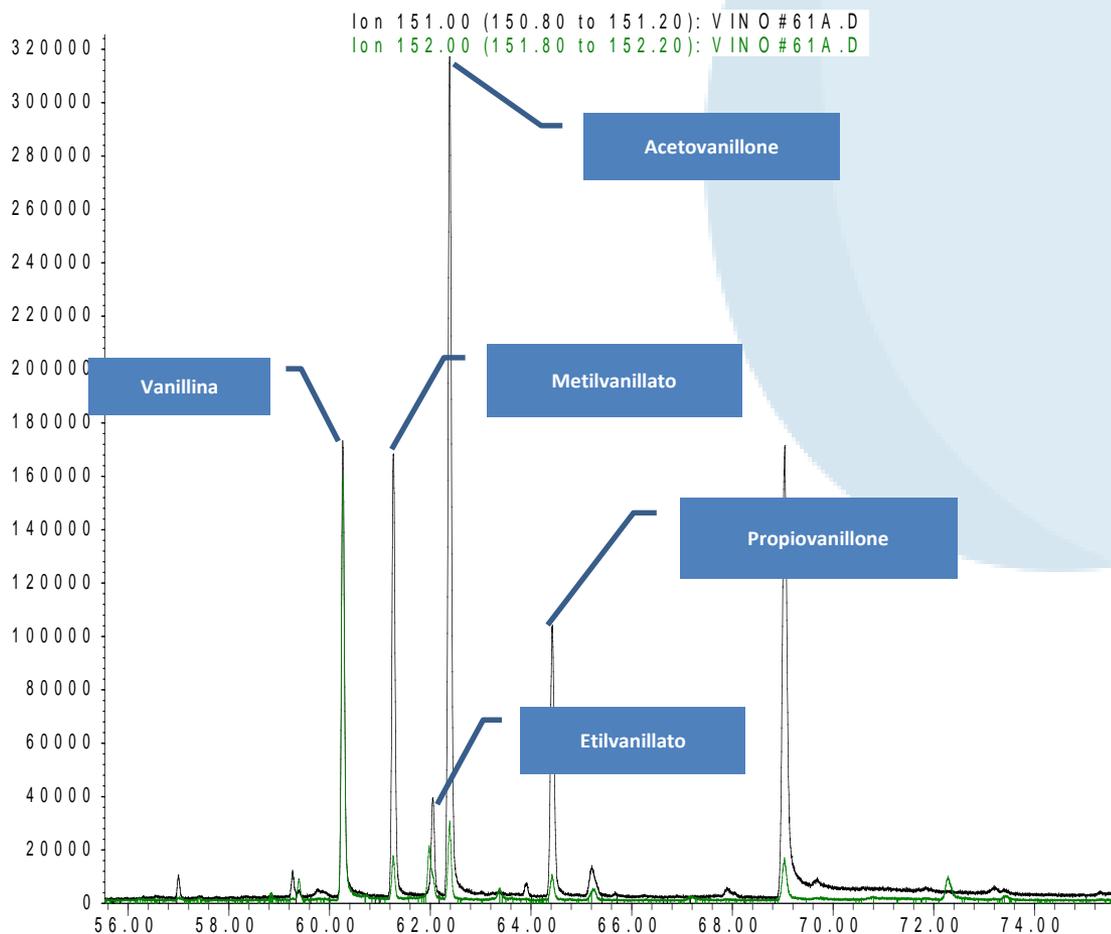
L'analisi GC-MS

- I campioni sono stati quindi analizzati utilizzando uno GC-MS Agilent 7890/5975C singolo quadrupolo
- Iniezione: modalità splitless, T iniettore 230°C
- La colonna impiegata: ZB-WAX (Phenomenex) 60 m; 0,25 mm; 0,25 µm.
- Il gas di trasporto: elio, con un flusso in colonna pari a 1 mL min⁻¹.
- La temperatura del forno è mantenuta a 45 ° C per 2 minuti, poi aumentata a 80 ° C, con un incremento di 30°C min⁻¹, da 80 a 230 ° C, con una rampa di 5°C min⁻¹ e infine tenuta a 230°C per 17 min. La temperatura della transfert line è stata fissata a 240 °C.
- L'energia di ionizzazione è fissata a 70 eV
- Temperatura del quadrupolo a 150 °C
- Temperatura sorgente a 230 °C.
- L'acquisizione del segnale e le successive integrazioni e quantificazioni sono state effettuate in modalità GC-(TIC/EIC)-MS
- Le quantificazioni dei composti sono state effettuate col metodo dello standard interno.

Identificazione dei composti

- I composti sono stati identificati valutando la **corrispondenza dello spettro di massa** con uno di riferimento memorizzato nella library del sistema.
- Confrontando l'**Indice di Ritenzione Lineare (LRI)** calcolato con l'impiego di una serie di alcani lineari con quello riportato in letteratura.
- Per **confronto con uno standard puro** iniettato nelle medesime condizioni, quando disponibile.

Abundance



Time-->

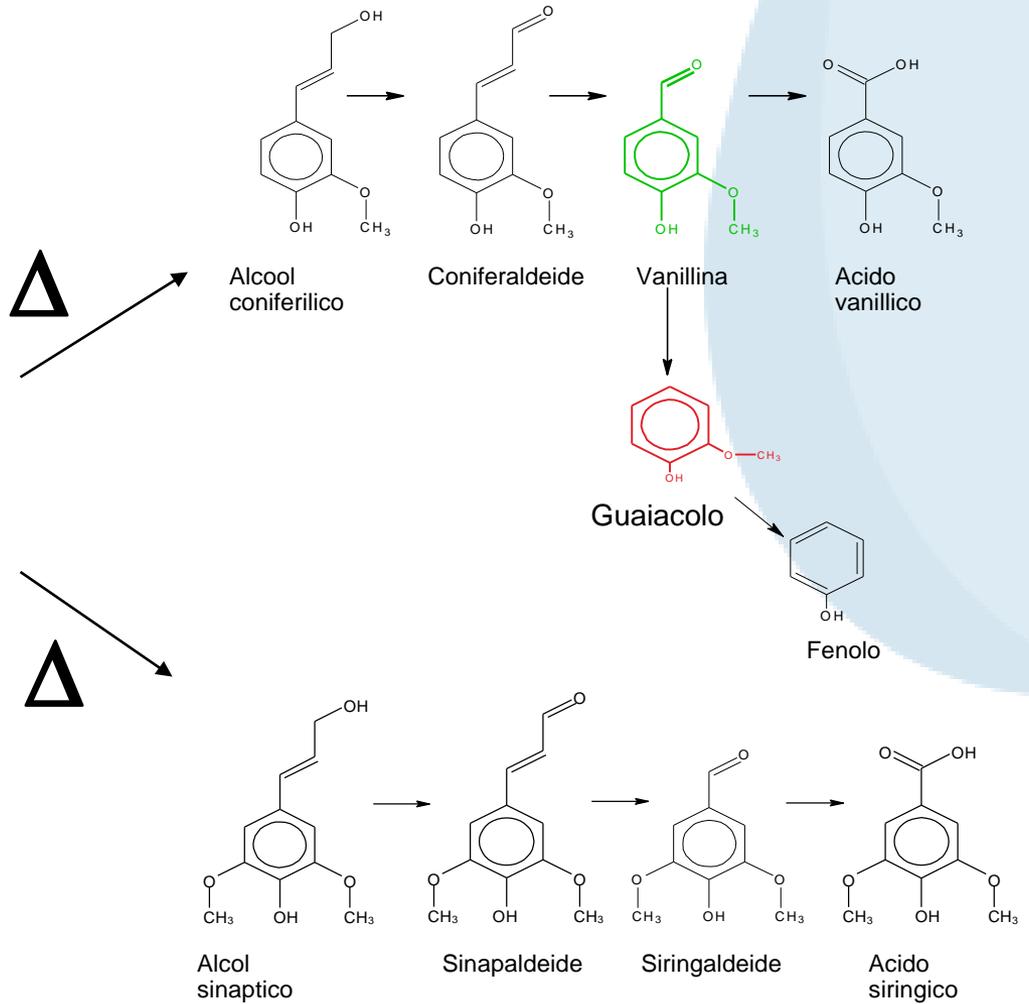
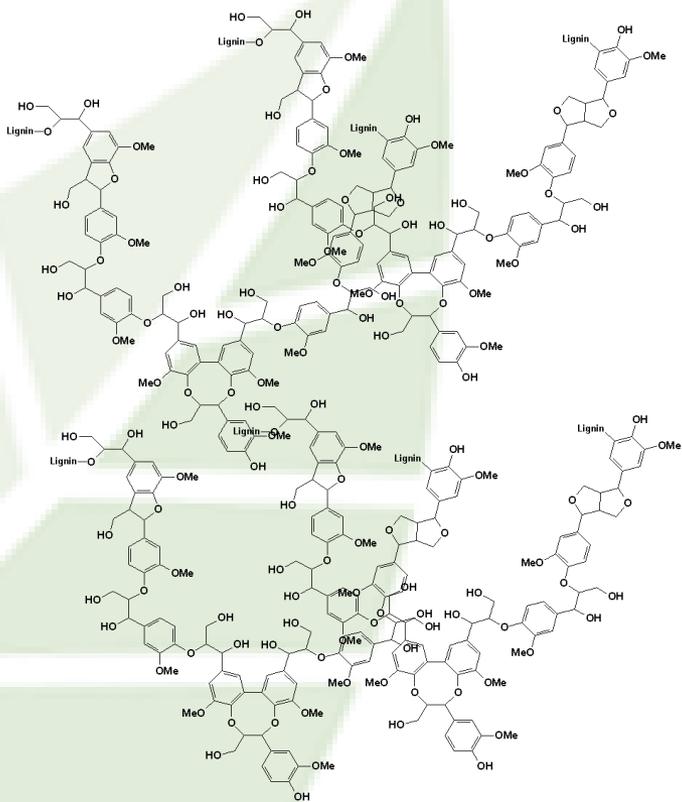
Dei 63 composti inizialmente identificati, nel corso di prove **preliminari in estratti idroalcolici**, 50 sono stati individuati nel vino ed impiegati per le analisi statistiche.

I composti appartengono alle seguenti classi

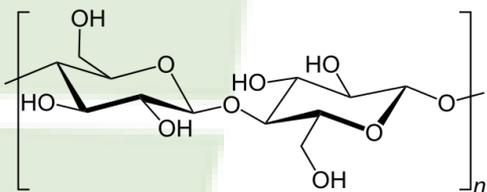
Fenoli volatili
Fenilchetoni
Aldeidi benzoiche e cinnamiche
Lattoni

La formazione di composti aromatici

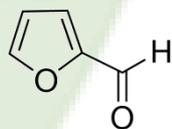
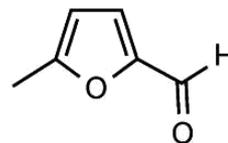
Come gli interventi tecnologici, ed in particolare la tostatura, condizionano la composizione chimica del legno e il rilascio di sostanze aromatiche al vino.



La degradazione termica dei poliosidi porta alla produzione di aldeidi furaniche, composti pentaciclici e chetoni esaciclici.

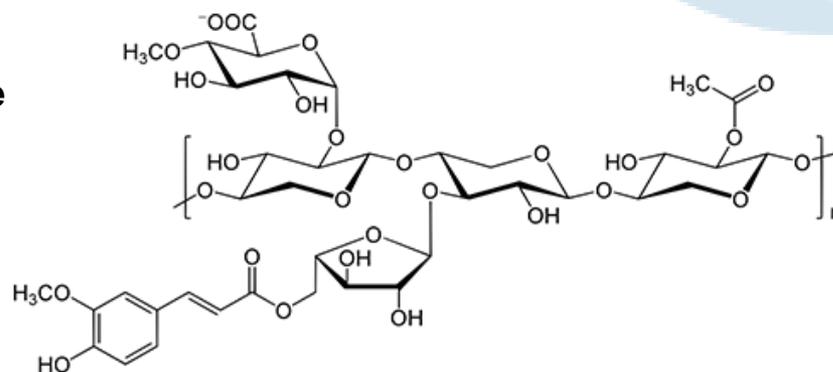
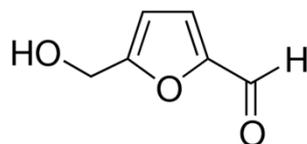


5-metilfurfurale



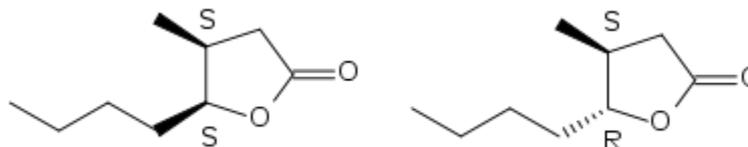
Furfurale

5-idrossimetilfurfurale

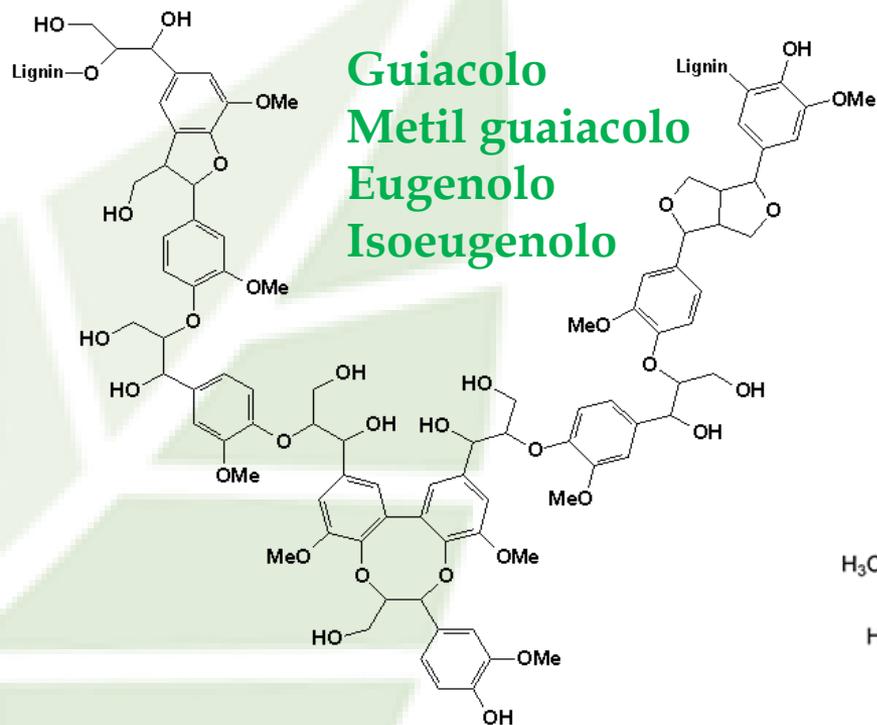


Altri composti

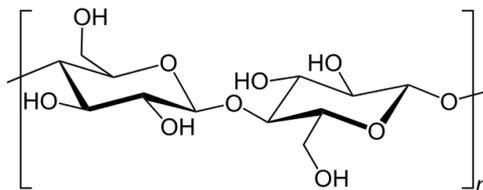
- I lattoni, formati da lipidi di legno, aumentano la loro concentrazione all'inizio del tostatura, anche se possono essere distrutti da un lungo processo di tostatura (Giménez-Martínez et al., 1996; Chatonnet et al., 1999; Cadahía et al., 2003) .
- La produzione di **oak lattone** avviene per degradazione di un acido naturalmente presente nel legno di quercia (l'acido (3S,4S)-3-metil-4-idrossiottanoico) sia nel corso della stagionatura delle doghe che nelle prime fasi di tostatura.



Guaiacolo
Metil guaiacolo
Eugenolo
Isoeugenolo

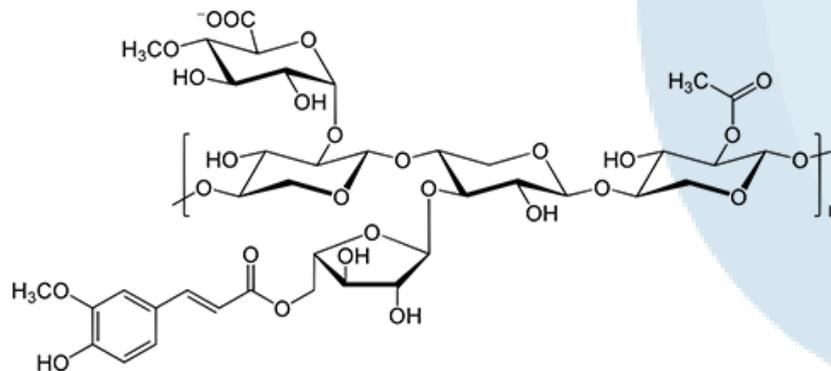


Vanillina



4-etilfenolo
4-etilguaiacolo

Cis oak lattone
Trans oak lattone



Furfurale
5-Metilfurfurale
Alcol furfurilico
Idrossimetilfurfurale

Ciclotene
Maltolo

Il piano sperimentale e risultati



Tipologia

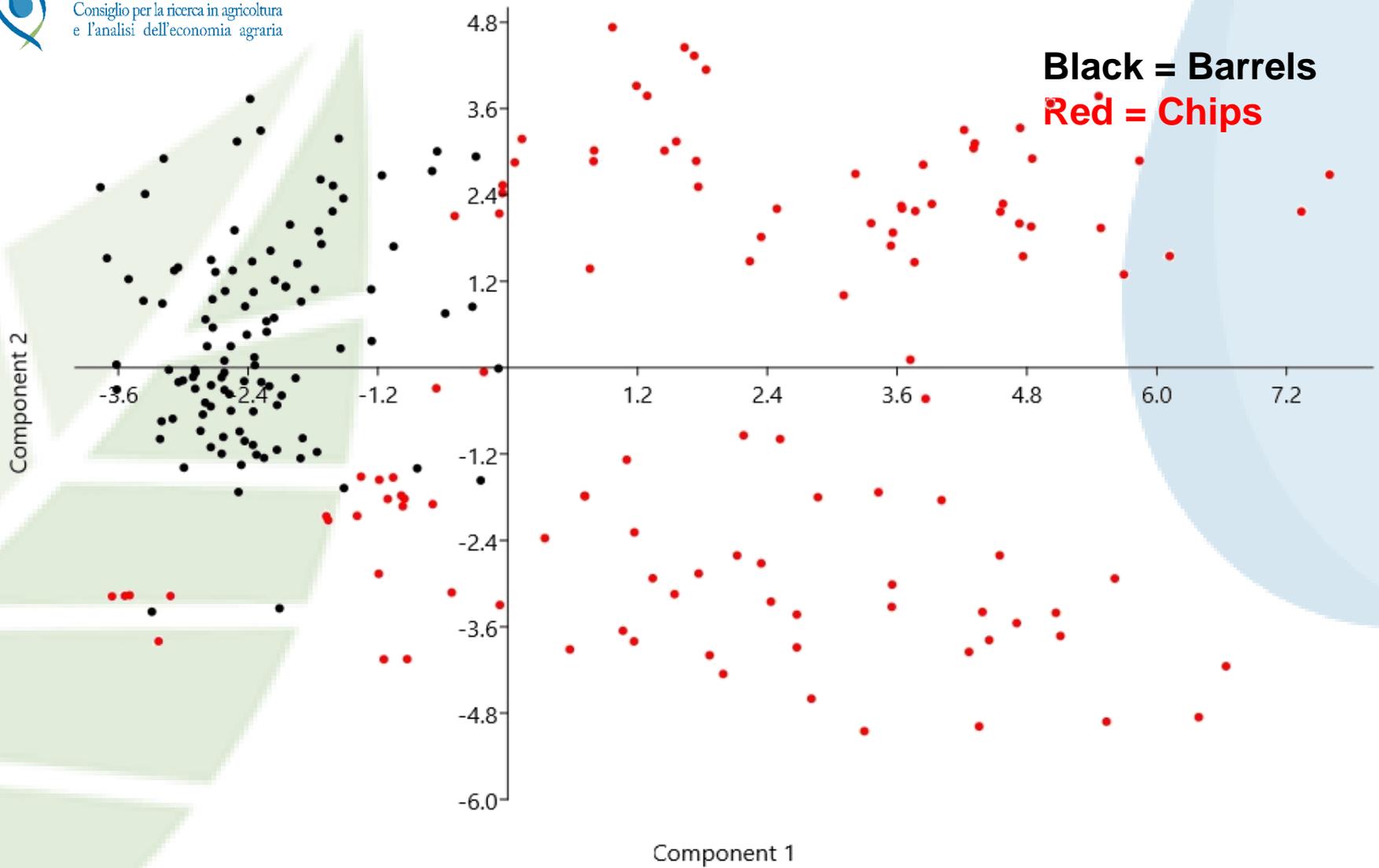
ROVERE FRANCESE NON TOSTATO
 ROVERE FRANCESE MT +
 ROVERE AMERICANO MT +
 ROVERE FRANCESE TOSTATURA MEDIA 1
 ROVERE FRANCESE TOSTATURA MEDIA 2
 ROVERE FRANCESE TOSTATURA MEDIA 3
 LEGNO ROVERE AMERICANO TOSTATURA MEDIA
 NOBILE FRESH : QUERCIA FRANCESE DI ALTA QUALITA'
 NOBILE FRESH GRANULAR THERMO T R D : QUERCIA
 FRANCESE DI ALTA QUALITA'
 NOBILE INTENSE : QUERCIA FRANCESE DI ALTA
 QUALITA'
 NOBILE INTENSE GRANULAR : QUERCIA FRANCESE DI
 ALTA QUALITA'
 NOBILE tm BASE : QUERCIA FRANCESE DI ALTA QUALITA'
 GARANTITA
 NOBILE tm AMERICAN BLEND QUERCIA FRANCESE DI
 ALTA QUALITA' GARANTITA
 NOBILE tm AMERICAN BLEND GRANULAR : QUERCIA
 FRANCESE DI ALTA QUALITA' GARANTITA
 NOBILE tm AMERICAN FRESH GRANULAR : QUERCIA
 FRANCESE DI ALTA QUALITA' GARANTITA
 NOBILE SWEET : QUERCIA FRANCESE DI ALTA QUALITA'
 NOBILE SWEET GRANULAR : QUERCIA FRANCESE DI ALTA
 QUALITA'
 NOBILE STAVES SENSATION
 NOBILE STAVE AMERICAN REVELATION

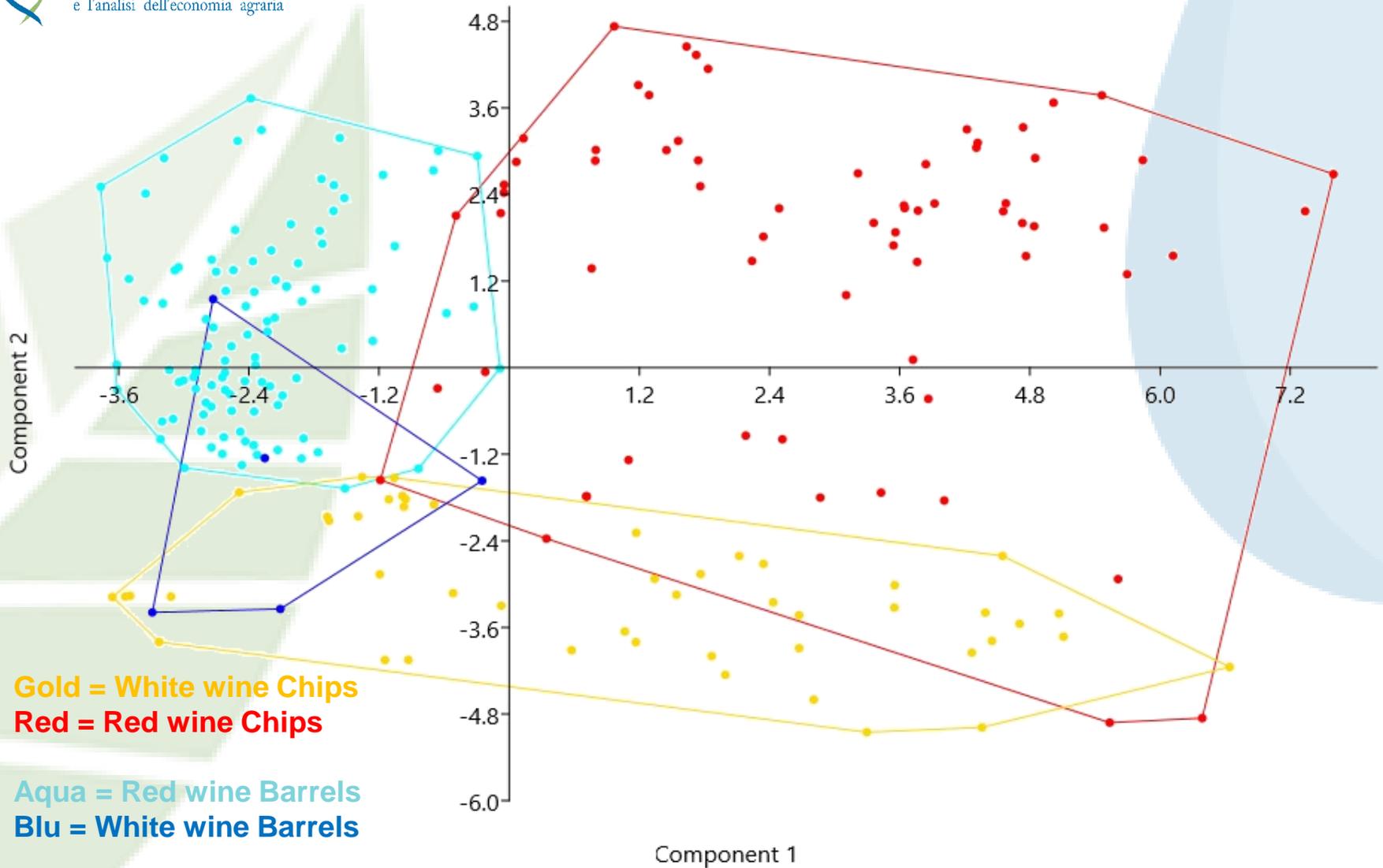
- 250 analisi effettuate su almeno 10 diverse tipologie di vino di certa origine.
- 19 prodotti enologici differenti
- Allestimento prove di affinamento con chips in vini bianchi e in vini rossi: Barbera/Albarossa, Valpolicella e Cortese
- Allestimento di prove sperimentali di vinificazione utilizzando chips in fermentazione impiegando uve Cortese/Incrocio Manzoni .



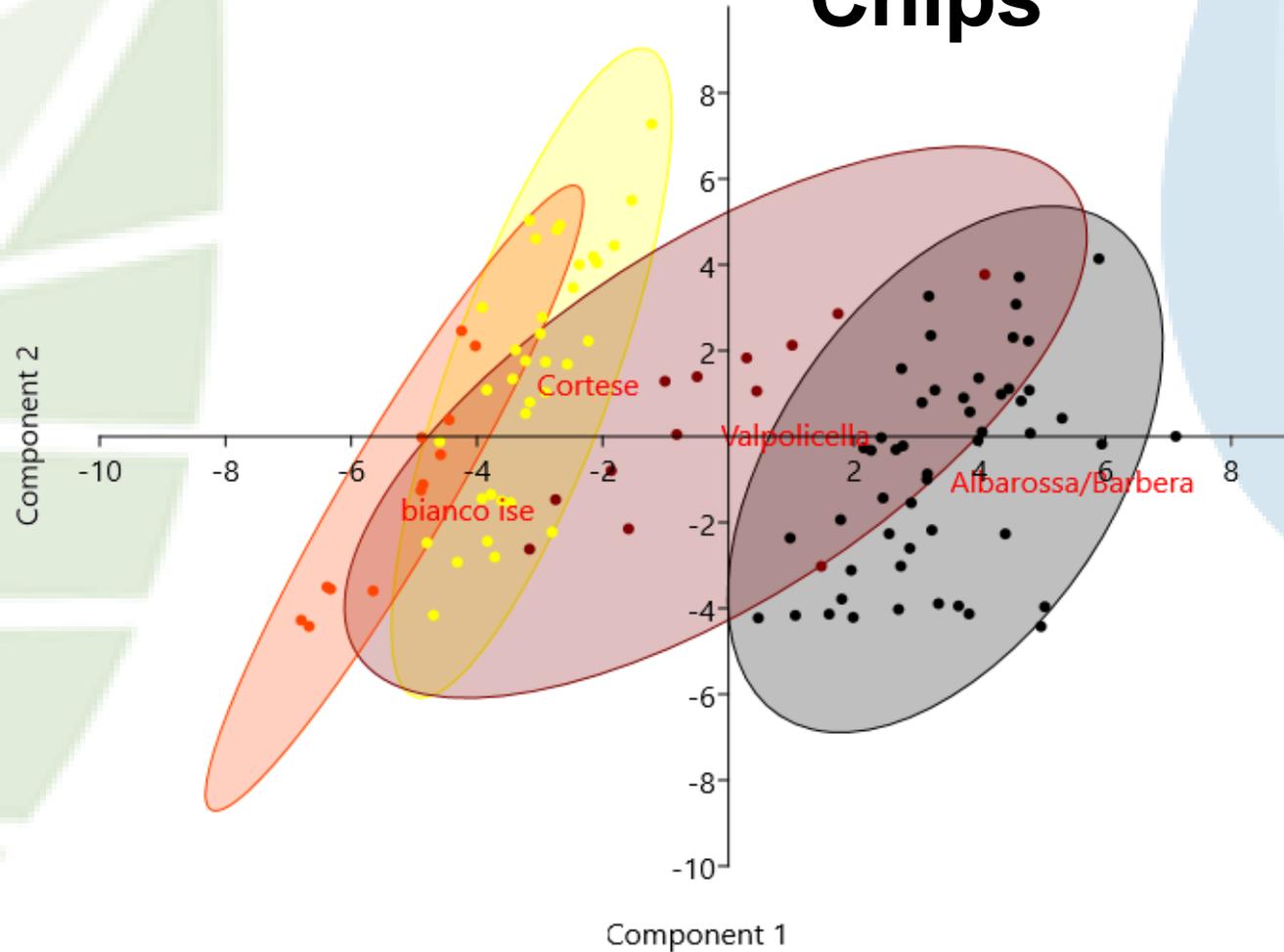
Piranderivati	Furanderivati	Fenoli	Vanillina correlati	Lattoni
Maltolo	idrossimetil-5-furfurale	4-metilguaiacolo	vanillina	t-whisky-lattone
	metil-5-furfurale	4-etilguaiacolo	siringaldeide	c-whisky-lattone
	furfurale	eugenolo	metilvanillato	g-nonalattone
	solerone	isoeugenolo	etilvanillato	
	2-furanoato di metile	4-metilsiringolo	acido vanillico	
	etil-2-furoato	2-feniletanolo	acetovanillone	
	furilidrossimetilchetone	metossieugenolo	butirovanillone	
		4-etilfenolo	acetofenone	
			zingerone	

L' ANOVA univariata ha evidenziato come differenze altamente significative siano evidenziabili tra tesi affinate in botte e quelle affinate con i chips per i composti elencati in tabella

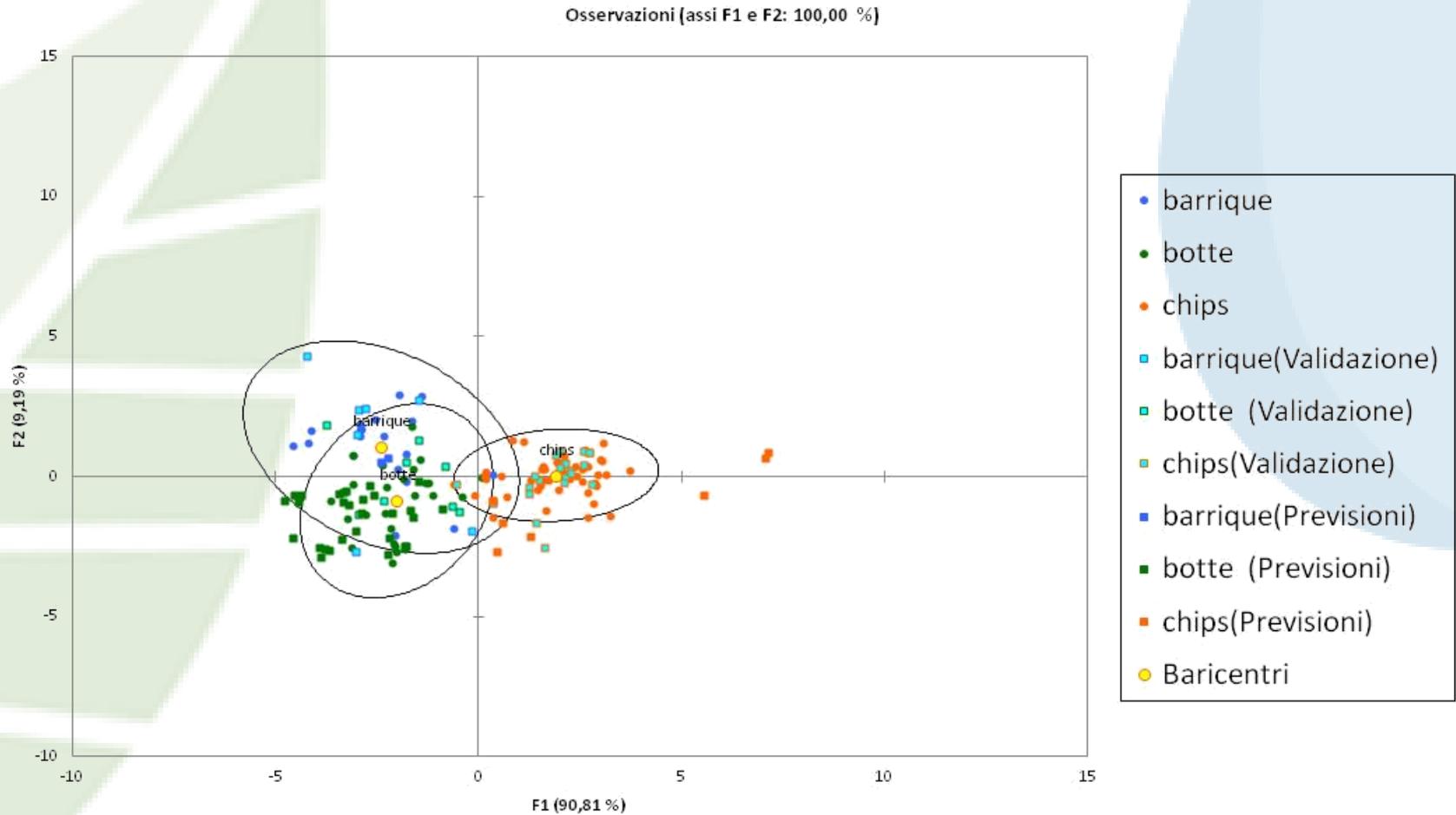




Chips



Analisi Fattoriale Discriminante



Matrice di confusione per i risultati della validazione incrociata:

da \ a	barrique	botte	chips	Totale	% corretto
barrique	14	4	1	19	73,68%
botte	5	19	1	25	76,00%
chips	0	2	48	50	96,00%
Totale	19	25	50	94	86,17%

Matrice di confusione per i risultati della validazione incrociata:

da \ a	barrique	botte	chips	Totale	% corretto
B + b	19	23	1	43	97,67
chips	0	2	48	50	96,00
Totale	19	25	50	94	96,80

- L'analisi eseguita su un gruppo di campioni indipendenti costituito da 31 vini rossi DOCG e 6 vini affinati con chips del commercio ha dato i seguenti risultati:
- 1) 30/31 vini sono stati assegnati alla categoria botte/barrique
- 2) tutti i 6 vini con chips sono stati correttamente classificati.

I fattori che possono influenzare l'estrazione dei composti aromatici dai chips e dalle barriques sono molteplici e sono all'origine della grande variabilità compositiva dei campioni.

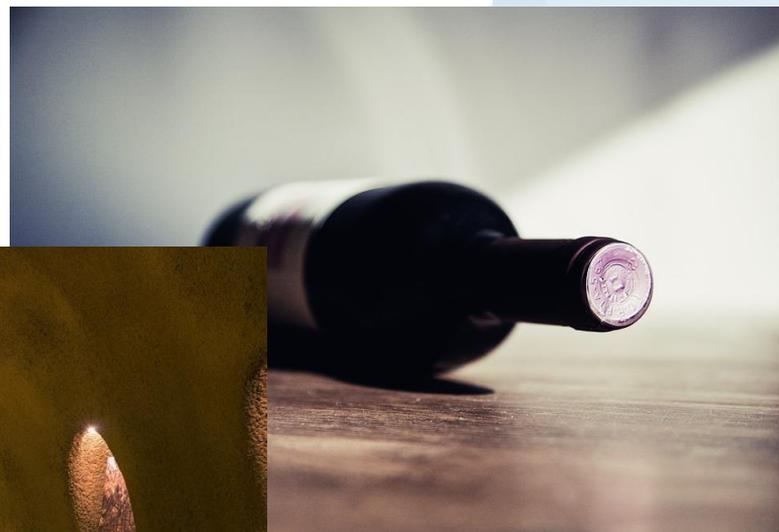
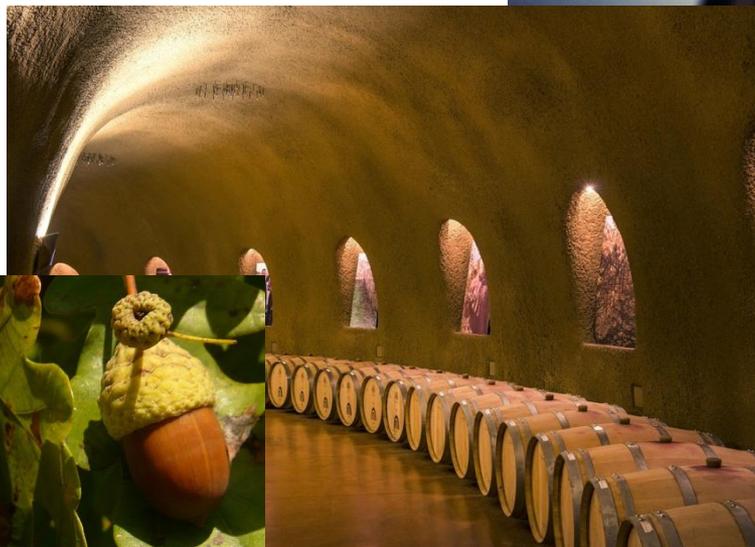
Questo rende complicato sviluppare un modello statistico da usare a scopo predittivo che descriva il sistema vino - chips/barrique.

Si è osservato che l'accumulo dei composti dipende fortemente dall'effetto matrice e questo fenomeno è causa di ulteriore «confusione» se si intende effettuare una predizione basandosi su metodi statistici.

Scegliendo con cura le variabili usate a scopo predittivo e sviluppando una metodica riservata ai vini rossi si migliorano sensibilmente i risultati.

CREA-Centro di ricerca per la Viticoltura e l'Enologia – Asti

Federica Bonello
Andriani Asproudi
Christo Tsolakis
Antonella Bosso



Laboratori ICQRF

Michele Fugaro, Raffaele Antonio Mazzei, Conegliano/Susegana
Vincenzo Di Martino, Roma