

# INDUSTRIE DELLE BEVANDE



DIAMO FORMA AI TUOI CONTENUTI

ALKAM 

BLOW MOULDING SYSTEM

Via Strada Maestra d'Italia, 91 - 31016 Cordignano, Treviso (Italy)

Tel. +39 0438 992343 - Fax +39 0438 992436 - e-mail: sales.dept@alkam.it

Website: [www.alkam.it](http://www.alkam.it)

## SUMMARY

Traditional Balsamic Vinegar is produced on ageing concentrated must in sets of 5 barrels for 12 years at least. The casks are of different capacity and wood. Acidity, product concentration, and furanic compounds amounts in seven different traditionally managed sets were studied. Furanic compounds arise during must concentration process. Moreover, they tend to rise on ageing as a consequence of the water loss during the process. However, due to the great reactivity of these substances, which rapidly evolve into other compounds, differences in the accumulation kinetics are likely. The results are irregular trends, with occasional decrease. The main compound is hydroxymethylfurfural, quantified by HPLC, along with furoic acid, furfural, 2-methylfurfural, and 5-acetoxymethylfurfural.

## SOMMARIO

L'Aceto Balsamico Tradizionale (ABT) di Reggio Emilia deriva da mosto concentrato, che subisce un invecchiamento di almeno 12 anni in batterie costituite da 5 botti, diverse per capacità ed essenza legnosa. Sono stati studiati gli andamenti dell'acidità, della concentrazione e del contenuto di composti furanici, in sette differenti batterie, condotte secondo il metodo tradizionale di elaborazione dell'ABT. I derivati furanici si originano durante la concentrazione del mosto, e il loro contenuto tende ad aumentare nel corso dell'invecchiamento, a causa della graduale perdita d'acqua che caratterizza il processo. Tuttavia le cinetiche d'accumulo sono diverse poiché i composti furanici, molecole piuttosto reattive, subiscono, verosimilmente, una rapida evoluzione in questa matrice. Ne risulta una cinetica di accumulo non sempre regolare, che in alcuni casi mostra una flessione, probabilmente a causa di fenomeni di polimerizzazione. Il composto più importante, dal punto di vista quantitativo, è l'idrossimetilfurfurale (HMF), dosato, mediante tecnica HPLC, insieme ad acido furoico (AF), furfurale (Fa), 2-metilfurfurale e 5-acetossimetilfurfurale (AMFA).

## F. MASINO - A. ANTONELLI

Dip. Interdisc. Scienze Agrarie - Via J.F. Kennedy 17 - 42100 Reggio Emilia - Italia

## F. CHINNICI

Dip. Scienze degli Alimenti - Via Fanin 40 - 40127 Bologna - Italia

# Andamento dei composti furanici in batterie per Aceto Balsamico Tradizionale

## *Furanic compound profiles in set of casks for the Traditional Balsamic Vinegar of Reggio Emilia production*

## INTRODUZIONE

L'Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia (ABT) è un prodotto tipico dell'Emilia Romagna e si ottiene sottoponendo ad un lento invecchiamento (minimo 12 anni), in batterie di botti diverse per capacità e per tipo di legno, il mosto cotto. Questo deriva da diverse uve locali e per legge (G.U., 1986) deve subire una concentrazione a fuoco diretto in recipienti aperti. La cottura si protrae per circa venti ore, durante le quali si porta rapidamente il mosto all'ebollizione, per poi mantenerlo ad una temperatura di 80°-90°C. In queste condizioni si assiste ad un'intensa evaporazione dell'acqua, protratta sino a raggiungere livelli di concentrazione del mosto pari a 2-3 volte, al volume iniziale. Il calore e l'ambiente decisamente acido del mosto provocano una degradazione piuttosto spinta degli zuccheri, che subiscono ripetute disidratazioni trasformandosi in composti furanici di varia natura, il più noto ed il più abbondante dei quali è l'HMF (Antonelli *et al.*, 2004).

Il processo produttivo dell'ABT continua con l'invecchiamento in botte che, in una batteria avviata, avviene con una procedura caratteristica, detta rinalzo: si preleva dalla botte più piccola il prodotto finito e la si rabocca, avendo cura di mantenerla scolma, con il prodotto della botte precedente, e così via fino ad arrivare alla prima dove si aggiunge il mosto cotto. Durante l'invecchiamento, il prodotto subisce l'azione di lieviti e batteri acetici, che provocano una leggera fermentazione alcolica ed una successiva ossidazione dell'etanolo prodotto ad acido acetico. Contestualmente avviene anche la produzione di acido gluconico a partire dagli zuccheri e si assiste alla lenta concentrazione del prodotto.

Queste azioni concomitanti provocano modificazioni anche a carico della componente furanica, in continua evoluzione a causa dell'elevata reattività che la contraddistingue.

Spesso il contenuto di HMF è giustamente associato al danno termico degli alimenti. Determinazioni in questo

senso sono state eseguite da molti Autori (Lee e Nagy, 1990; Maijares, *et al.*, 1986; Morales *et al.*, 1992; Salinas *et al.*, 1991; Williams *et al.*, 1983) e in alcuni alimenti è la legge a porre dei limiti (G.U., 1982; Reg. CE, 1999). Recentemente è stato pubblicato uno studio sul contenuto di HMF in vari aceti tra i quali era compreso anche l'ABT di Modena, prodotto affine a quello di Reggio Emilia (Theobald *et al.*, 1998). Nonostante ci siano indicazioni che l'HMF sia potenzialmente pericoloso per la salute, nel caso specifico dell'ABT, resta ancora completamente da dimostrare che la presenza di composti furanici sia negativa, anche perché il consumo di questo condimento è sempre molto modesto. Non si deve inoltre trascurare l'importanza di queste sostanze sull'aroma degli alimenti in generale, anche questo un argomento poco studiato nel caso dell'ABT.

Scopo del presente lavoro è stato quello di seguire l'evoluzione dei parametri acidi e della composizione in composti furanici, di 7 batterie (ciascuna costituita da 5 barili), condotte secondo il metodo classico e di indagare circa le possibili correlazioni esistenti fra i parametri stessi.

## MATERIALI E METODI

I campioni provengono da 7 diverse acetate, situate in provincia di Reggio Emilia, condotte secondo il metodo classico previsto dal disciplinare di produzione dell'ABT.

La determinazione di pH, °Brix ed acidità totale è stata effettuata con i metodi normalmente utilizzati in campo enologico.

I composti furanici sono stati determinati mediante HPLC con un metodo già pubblicato (Chinnici *et al.*, 2003).

Il trattamento statistico dei dati ottenuti è stato effettuato mediante l'utilizzo del programma "STATISTICA, versione 6 (2001)" della StatSoft Italia srl.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

I valori delle determinazioni eseguite sui campioni sono riportati in **tab. 1**. I °Brix variano tra 21,3 della prima botte della batteria 1 e 72,5 dell'ultima botte della batteria 6. In generale, questa grandezza varia con una certa regolarità all'interno delle batterie, con l'eccezione della seconda e terza serie che mostrano un andamento più difforme.

I parametri legati all'acidità, pH ed acidità totale, non sono altrettanto regolari. Infatti, con l'eccezione della batteria 1 nella quale si registra una buona correlazione tra questi due parametri ( $y = -22x + 60$ ;  $R^2 = 0,961$ ;  $p = 0,01$ ) non solo la tendenza non è sempre crescente, come sarebbe lecito attendersi, ma vi sono anche numerosi casi dove quest'andamento s'inverte. Riguardo al pH, la spiegazione deriva dal fatto che le concentrazioni dei soluti sono molto superiori a quelle ideali, per cui non valgono le relazioni tra concentrazione degli acidi e concentrazione idrogenionica. È lecito supporre, inoltre, che sia stata sorpassata la soglia di saturazione per alcune sostanze, come il tartrato acido di K, per il quale sono necessari ben 162 mL d'acqua per solubilizzarne solo 1 g e quindi, nonostante abbia ancora una funzione libera (titolabile), di fatto non contribuisce in alcun modo al pH. Nel caso dell'acidità totale ci sono situazioni molto diversificate per cui, accanto ad andamenti caratterizzati da un aumento regolare del valore, passando da una botte all'altra (batteria 1 e 4), vi sono situazioni dove il contenuto di acidi parrebbe essere praticamente costante (batteria 3 e 6) oppure aumentare per poi tornare a calare (batteria 2 e 5).

Questa molteplicità di comportamenti è spiegabile principalmente con la pratica del rinalzo, che perturba periodicamente la composizione all'interno delle diverse botti della batteria apportando

nuovo prodotto di composizione differente rispetto a quello già presente. Solo la batteria 1, caratterizzata da un valore di °Brix iniziali molto prossimo al mosto tal quale, mostra un andamento regolare dei parametri acidi, giungendo fino a valori di concentrazione finale quasi triplicati.

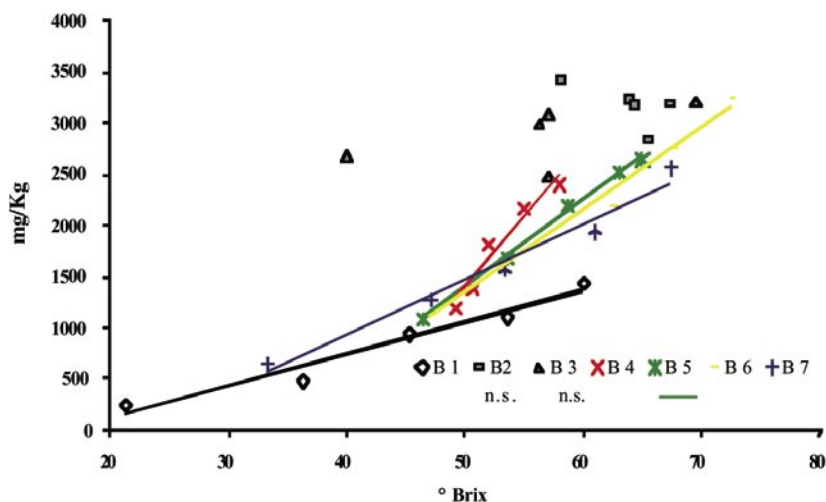
Il composto furanico più abbondante è l'HMF che in molti casi oltrepassa i 3 g/kg di ABT. Mentre in alcune batterie si concentra 5,8 volte, passando da 246 a 1.441 g/kg (batteria 1), o quasi 4 volte (batteria 7), in altre resta pressoché costante (batteria 2 e 3). Al contrario, il 2-metilfurfurale, pur evidenziando una tendenza all'accumulo nelle botti contenenti l'aceto più giovane, compare, nella maggior parte dei casi, in concentrazioni inferiori al limite di rilevanza. Per questo motivo non è stato preso ulteriormente in considerazione.

A parte queste situazioni, in linea generale i composti furanici tendono ad aumentare lungo la batteria, logica risposta al processo di concentrazione. Tuttavia, anche nell'ambito di una stessa serie di botti, gli incrementi di concentrazione possono essere molto differenti. Valutando se esistesse una correlazione di tipo lineare tra la concentrazione dell'ABT, espressa dai °Brix, e la quantità dei vari furani, si evidenzia in generale una buona correlazione nell'ambito delle varie batterie. Solo la n. 2 non ha mai fornito dati significativi per nessuna delle sostanze quantificate. Al contrario, la correlazione è massima per HMF, con una significatività superiore al 99% (**fig. 1**). D'altra parte è la sostanza più abbondante che deriva dalla degradazione di glucosio e fruttosio, gli zuccheri principali del mosto, e quella per la quale, proprio a causa dell'elevata concentrazione, l'errore analitico è minimo. Merita un certo rilievo il comportamento della batteria 4 che mostra il coefficiente angolare della retta che si distacca da quello delle altre batterie ad indicare variazioni del contenuto in furani piuttosto marcate, nonostante una concentrazione zuccherina che aumen-

**Tabella 1 - Valori delle determinazioni eseguite sui campioni. I valori sono espressi in mg/kg di ABT, eccetto per acidità totale (g/100 g di ABT), pH e °Brix. Codifica dei campioni: il primo numero identifica la botte (5 la più grande, 1 la più piccola), il secondo la batteria. AF: acido furoico, HMF: 5-idrossimetilfurfurale, AMFA: acetossimetilfurfurale, Fal: furfurale.**

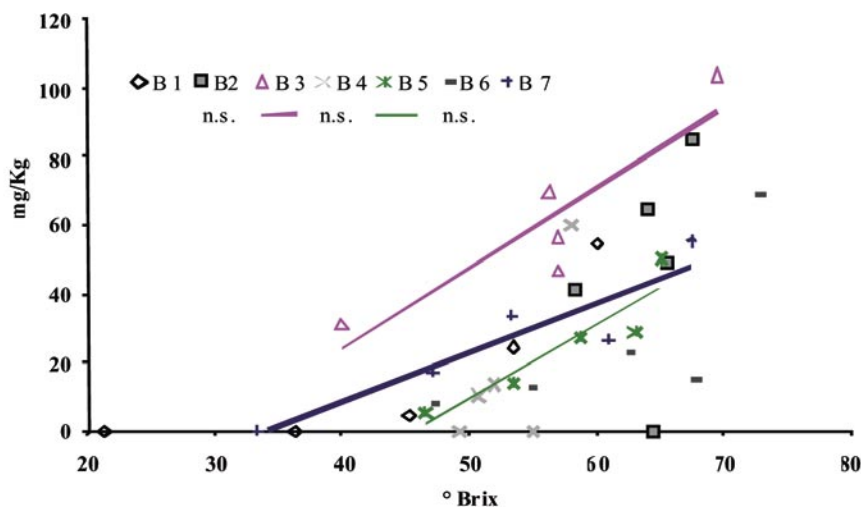
	pH	Ac. totale	° Brix	AF	HMF	AMFA	Fal
B5-1	2,58	1,76	21,3	6	246	n.r. <sup>a</sup>	n.r.
B4-1	2,55	2,68	36,3	7	471	n.r.	n.r.
B3-1	2,48	4,24	45,3	18	933	5	7
B2-1	2,48	4,95	53,5	30	1.091	24	10
B1-1	2,36	6,72	60,0	49	1.441	55	16
B5-2	2,64	2,65	58,2	10	3.420	41	7
B4-2	2,84	2,84	65,5	13	2.840	49	8
B3-2	2,52	4,23	64,0	27	3.221	65	12
B2-2	2,45	3,81	64,4	30	3.173	70	12
B1-2	2,68	3,92	67,4	27	3.181	85	9
B5-3	2,77	4,11	40,0	12	2.684	31	5
B4-3	2,46	4,94	57,0	31	2.485	56	12
B3-3	2,78	4,26	57,0	25	3.083	46	15
B2-3	2,46	4,35	56,3	25	3.000	70	13
B1-3	2,43	4,71	69,5	34	3.213	104	15
B5-4	2,94	1,81	49,2	8	1.189	10	5
B4-4	2,71	3,38	50,7	18	1.382	10	11
B3-4	2,82	4,76	52,0	21	1.814	14	16
B2-4	2,61	5,62	55,0	25	2.160	36	17
B1-4	2,67	5,50	58,0	27	2.398	60	20
B5-5	2,88	2,11	46,5	16	1.081	5	8
B4-5	2,84	5,23	53,5	21	1.688	14	13
B3-5	2,56	4,03	58,7	21	2.186	27	13
B2-5	2,95	4,08	63,0	21	2.517	29	14
B1-5	2,40	3,78	65,0	23	2.644	50	14
B5-6	3,11	3,41	47,0	14	1.140	8	2
B4-6	2,93	3,42	54,7	22	1.737	13	17
B3-6	3,50	3,11	62,4	14	2.182	23	20
B2-6	2,84	3,07	67,5	19	2.747	15	22
B1-6	2,02	3,92	72,5	32	3.249	69	28
B5-7	2,66	2,42	33,3	9	645	n.r.	5
B4-7	2,79	5,32	47,0	32	1.265	17	7
B3-7	2,58	5,32	53,3	28	1.559	33	11
B2-7	2,60	4,97	61,0	31	1.936	26	9
B1-7	2,67	4,10	67,5	37	2.563	56	10

<sup>a</sup> n.r.: non rilevato.



Legenda	equazione	R <sup>2</sup>
B 1 Batteria 1	y = 31x - 498	0,953
B 2 Batteria 2	-	-
B 3 Batteria 3	-	-
B 4 Batteria 4	y = 140x - 5645	0,946
B 5 Batteria 5	y = 86x - 2893	0,998
B 6 Batteria 6	y = 81x - 2713	0,987
B 7 Batteria 7	y = 54x - 1218	0,974

Fig. 1 - Andamento dell'idrossimetilfurfurale nelle diverse batterie.



Legenda	equazione	R <sup>2</sup>
B 1 Batteria 1	-	0,808
B 2 Batteria 2	-	-
B 3 Batteria 3	y = 2x - 70	0,808
B 4 Batteria 4	-	-
B 5 Batteria 5	y = 2x - 96	0,858
B 6 Batteria 6	-	-
B 7 Batteria 7	y = x - 49	0,852

Fig. 2 - Andamento dell'acetossimetilfurfurale nelle varie batterie.

ta meno di 9°Brix. Il fenomeno si ripete, e in modo simile, per tutte le altre sostanze che danno rette significative. Tra queste, l'AMFA (fig. 2), che mostra un'estrema variabilità nei tenori riscontrati in ciascuna batteria. Recentemente, Giacco e Del Signore (1997) hanno indicato questa sostanza come indice di qualità per l'ABT ed i dati a nostra disposizione sembrerebbero confermare la sua buona correlazione con l'invecchiamento del prodotto (fig. 2). A causa dell'eterogeneità delle diverse batterie, è molto difficile fare considerazioni di più ampio respiro. Nel tentativo di perseguire questo fine, sono

stati correlati tra loro tutti i dati ottenuti dalle determinazioni effettuate, senza considerare le diverse batterie di provenienza. I risultati di questa elaborazione sono riassunti nella matrice di correlazione riportata in tab. 2, dalla quale si evidenzia come molte variabili siano effettivamente correlate tra loro, anche grazie al numero di dati utilizzati per questa elaborazione. A causa di ciò si è pensato di scartare quelle correlazioni che presentassero un valore di  $p > 0,0001$  ( $r > 0,578$ ). In questo modo si evidenziano solamente sette correlazioni degne di nota, dalle quali si evince che l'acidità totale è direttamente proporzionale al

contenuto di AF, mentre la concentrazione progressiva del prodotto, espressa dai °Brix, lo è con tutti i composti furanici. Per quanto concerne i composti furanici, la tab. 2 indica una stretta correlazione fra HMF ed AMFA, sebbene la via biochimica di formazione di quest'ultimo composto dipenda non solo da quella di HMF, suo diretto precursore, ma anche dall'attività batterica, indispensabile per la produzione di acido acetico. Statisticamente significativa è anche la correlazione fra AMFA ed AF. Secondo alcuni Autori (Sawamura *et al.*, 1994), quest'ultimo composto deriverebbe dalla degradazione dell'acido ascorbico, i cui

**Tabella 2 - Matrice di correlazione tra le diverse variabili. Le correlazioni significative al livello di  $p < 0,0500$  sono indicate in grassetto, mentre quelle al livello di  $p < 0,0001$  sono evidenziate da un doppio riquadro.**

	pH	Ac. totale	°Brix	AF	HMF	AMFA	FAL
pH	1,0000						
Ac. totale	-0,3313 <i>p=0,560</i>	1,0000					
°Brix	-0,1270 <i>p=0,474</i>	<b>0,3526</b> <b><i>p=0,041</i></b>	1,0000				
AF	<b>-0,4565</b> <b><i>p=0,007</i></b>	<b>0,8112</b> <b><i>p=0,000</i></b>	<b>0,5810</b> <b><i>p=0,000</i></b>	1,0000			
HMF	-0,1583 <i>p=0,371</i>	0,2049 <i>p=0,245</i>	<b>0,7912</b> <b><i>p=0,000</i></b>	0,3201 <i>p=0,065</i>	1,0000		
AMFA	<b>-0,4453</b> <b><i>p=0,008</i></b>	<b>0,4145</b> <b><i>p=0,015</i></b>	<b>0,7069</b> <b><i>p=0,000</i></b>	<b>0,6091</b> <b><i>p=0,000</i></b>	<b>0,7963</b> <b><i>p=0,000</i></b>	1,0000	
FAL	-0,1236 <i>p=0,486</i>	<b>0,4025</b> <b><i>p=0,018</i></b>	<b>0,6969</b> <b><i>p=0,000</i></b>	<b>0,4860</b> <b><i>p=0,004</i></b>	<b>0,5330</b> <b><i>p=0,001</i></b>	<b>0,4188</b> <b><i>p=0,014</i></b>	1,0000

tenori nel mosto, così come in altri prodotti d'origine viticola, non sono però tali da giustificare i livelli di AF riscontrati nei campioni saggiati. Tuttavia il meccanismo proposto dagli Autori è tale che l'intermedio L-xilosone è plausibile possa originarsi anche attraverso altre vie, che coinvolgono pentosi ed esosi, decisamente più abbondanti rispetto all'acido ascorbico. In ogni caso, l'origine diversa da quella degli altri composti furanici dosati, potrebbe giustificare la sua elevata correlazione mostrata nei confronti dell'acidità totale, che manca completamente nel caso dell'HMF, il principale prodotto della degradazione degli zuccheri.

L'analisi delle componenti principali (dati non mostrati), conferma la relazione fra i parametri acidità totale ed AF. Relativamente ai campioni oggetto di studio, tale analisi non ha, però, fornito ulteriori spunti di approfondimento, poiché i casi, corrispondenti alle singole botti delle batterie sono disposte in modo casuale sul piano. Solo la batteria 1 e secondariamente la 7 sembrano caratterizzarsi, rispetto alle altre tesi, per una più alta incidenza dell'acidità totale e dell'AF.

La grande variabilità di comportamenti, sia per quanto riguarda i parametri legati all'acidità ed al contenuto di zuccheri, sia per quanto concerne i composti furanici

rende assai difficile la definizione di conclusioni a carattere generale. Giova ricordare, infatti, l'enorme incostanza di tutti i parametri che caratterizzano un'acetaia: età, modo di conduzione, concentrazione e tipo del mosto utilizzato per i rinalzi, ecc. a cui si somma la "normale" variabilità tra le differenti annate.

I risultati da noi ottenuti, comunque, supportano l'ipotesi di una complessiva correlazione fra livello d'invecchiamento raggiunto dall'ABT ed il tenore in composti furanici. Fra questi ultimi, HMF e AMFA appaiono i parametri che più direttamente siano indicatori di aceti balsamici tradizionali di qualità. Non si può tuttavia escludere che si possano ottenere risultati definitivi in futuro, quando saranno effettuate ulteriori verifiche.

*Relazione presentata al 6° Ciseta - Cernobbio  
Atti Chiriotti Editori*

## BIBLIOGRAFIA

- A. Antonelli, F. Chinnici, F. Masino. "Heat-Induced Chemical Modification of Grape Must as Related to its Concentration During the Production of Traditional Balsamic Vinegar. A Preliminary Approach", in corso di pubblicazione su Food Chem.
- F. Chinnici, F. Masino, A. Antonelli, "Determination of Furanic Compounds in Traditional Balsamic Vinegars by Ion-Exclusion Liquid Chromatography and Diode Array Detection", J. Chromat. Sci., 26, 2161-2171 (2003).
- M. Giacco, A. Del Signore, "Il contenuto di 5-acetossimetil-2-furaldeide nell'aceto balsamico tradizione di Modena e di Reggio Emilia". Riv. Merceol., 36, 91-97 (1997).
- G. U. n. 288, 19.X.1982, legge n. 753.
- G.U. n. 82, 9.IV.1986, legge n. 93.
- H.S. Lee, S. Nagy, "Relative reactivity of sugars in the formation of 5-hydroxymethylfurfural in sugar-catalyst model system", J. Food Process. Preserv., 14, 171-178 (1990).
- R.M. Maijares, G.L. Park, D.B. Nelson, R.C. McIver, "HPLC analysis of HMF in orange juice", J. Food Sci., 51, 843-844 (1986).
- F.J. Morales, C. Romero, S. Jimenez-Pérez, "An enhanced liquid chromatography method for 5-hydroxymethylfurfural determination in UHT milk", Chromatographia, 33, 45-48 (1992).
- Reg. CE n. 1493/99, 17.V.1999.
- F. Salinas, A.E. Mansilla, J.J.B. Nevado, "Flow-injection determination of HMF in honey by the Winkler method", Fresenius J. Anal. Chem., 340, 250-252 (1991).
- M. Sawamura, K. Takemoto, H. Uked, H. Kusunose. Identification of two degradation products from aqueous dehydroascorbic acid. J. Agric. Food Chem., 42, 1200-1203 (1994).
- A. Theobald, A. Müller, E. Anklam, "Determination of 5-hydroxymethylfurfural in vinegar samples by HPLC", J. Agric. Food Chem., 46, 1850-1854 (1998).
- M.A. Williams, R.C. Humphreys, H.P. Reader, "The analysis of 5-hydroxymethylfurfural in Port by high performance liquid chromatography", Am. J. Enol. Vitic., 34, 57-60 (1983).