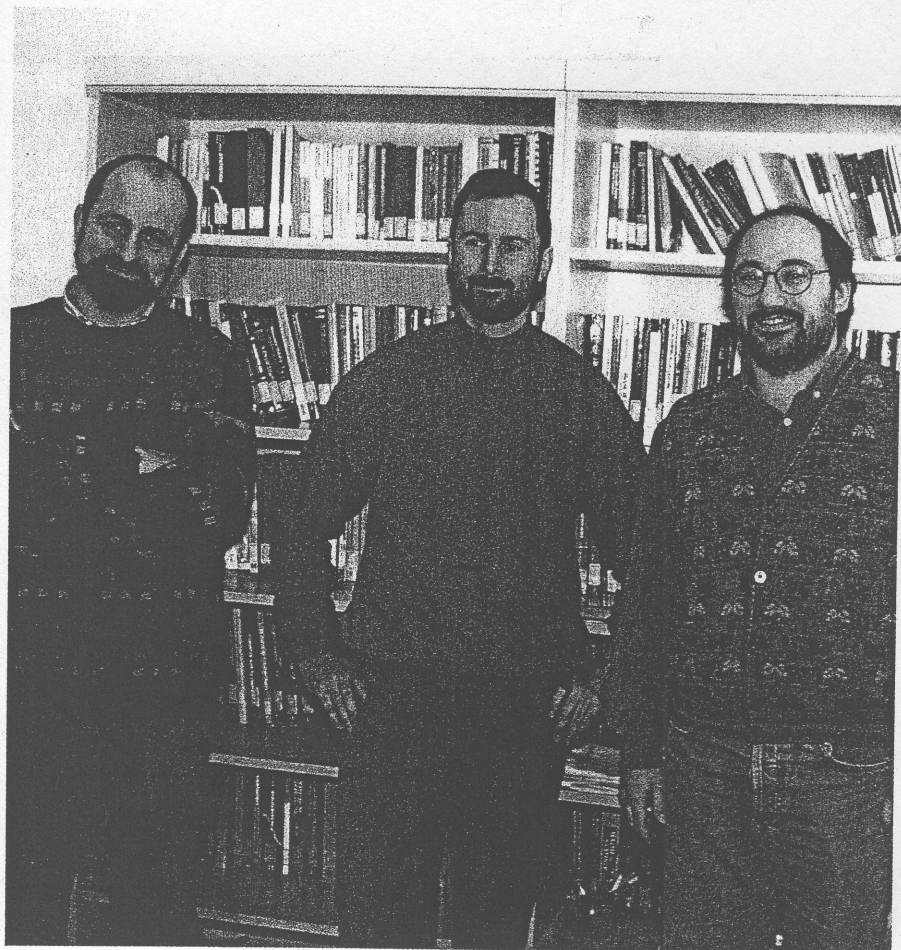


DOCUMENTO
TECNICO

**F. Mattivi
A. Monetti
G. Nicolini**

*Istituto Agrario, Dipartimento
Laboratorio Analisi e Ricerche,
S. Michele all'Adige (TN)*



*A. Monetti
F. Mattivi
G. Nicolini*

COMPOSIZIONE FENOLICA E CARATTERIZZAZIONE DI VINI ROSSI MONOVARIETALI

I vini monovarietali possiedono un profilo caratteristico dei composti fenolici. L'analisi HPLC dei principali fenoli monomeri dei vini (antocianine ed acidi cinnamici), può permettere, in qualche caso, di risalire all'origine varietale, così come accade per le uve. Gli autori hanno preso in esame vini della vendemmia 1993, rigorosamente monovarietali.

Introduzione

Lo sviluppo delle tecniche HPLC ha permesso in questi ultimi anni di mettere a punto metodiche analitiche per la determinazione quantitativa, nelle uve e nei vini, dei principali composti fenolici monomeri ed oligomeri. Lo studio di queste sostanze nelle uve si è dimostrato di grande efficacia discriminante e classificativa, specie in congiunzione con tecniche di elaborazione multivariata dei dati [Mattivi, 1991].

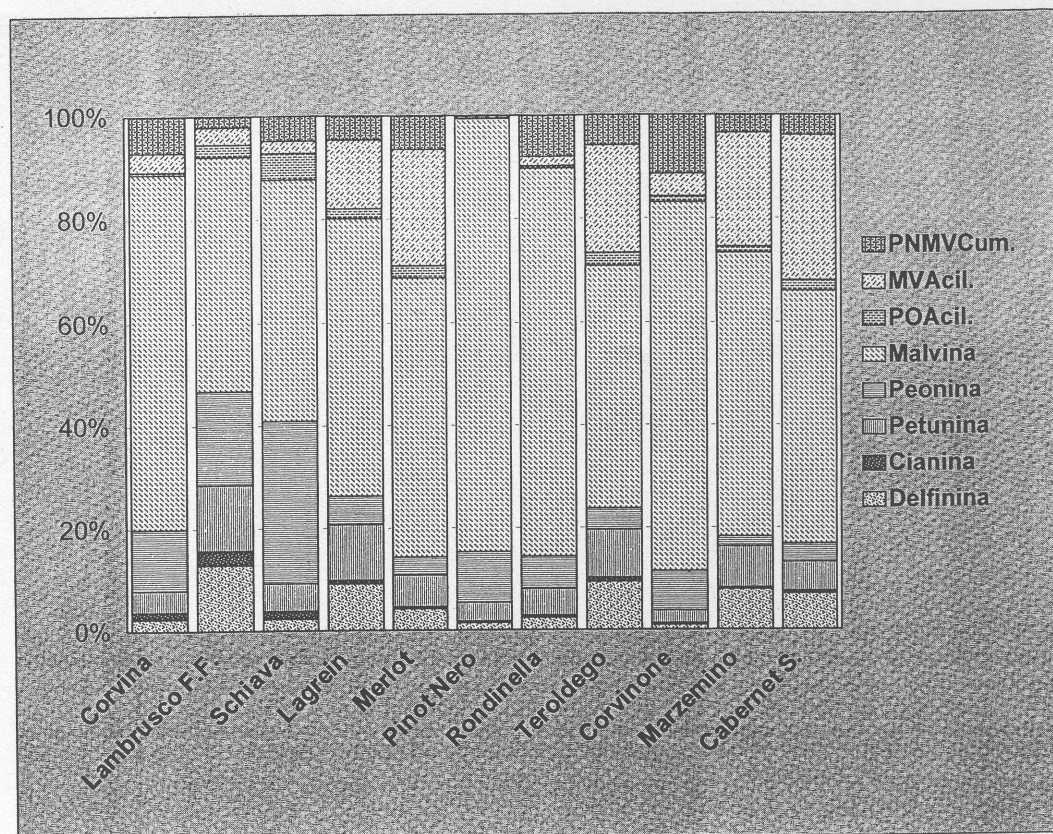
A livello di vini, invece, questi marcatori devono essere impiegati con maggiore cautela, in considerazione del fatto che la composizione del prodotto finito non è più univocamente determinata dalla composizione della materia prima, ma è condizionata anche dal processo tecnologico e microbiologico della vinificazione.

Attorno agli studi tassonomici e classificativi in campo vitienologico c'è ultimamente un interesse che travalica quello accademico e tradizio-

nale. Ai ricercatori ed agli enti di controllo vengono infatti posti sempre più frequentemente quesiti e formulate richieste di certificazione della corrispondenza varietale, sia per questioni di ordine commerciale, che di ordine legale, e più in generale come un aspetto del controllo di qualità.

Anche in quest'ottica quindi, nel presente lavoro si è indagata la composizione fenolica di vini rossi della vendemmia 1993 di certificata origine monovarietale o mo-

Fig. 1
Profilo percentuale degli antociani nei vini (medie per varietà)



noclonale. La maggior parte di queste varietà - limitatamente al corredo antocianico delle uve - era stata oggetto di precedenti studi classificativi [Mattivi et al., 1989a], le risultanze dei quali autorizzavano ad ipotizzare una discriminabilità anche a livello di alcuni dei corrispondenti vini. Per altri, invece, l'estrema similitudine del profilo antocianico delle bacche - come nel caso delle cultivar Cabernet sauvignon, Lagrein, Marzemino, Merlot e Teroldego - costituiva un discreto ostacolo, che si è cercato di superare integrando lo studio degli antociani con quello dei composti cinnamici.

Materiali e metodi

Campioni.

Nel corso della vendemmia 1993 sono stati prodotti 84 vini rossi - con tecnica di vinificazione rigorosamente standardizzata per durata e modalità della macerazione [Mattivi et al., 1991] - delle varietà Cabernet sauvignon (7), Corvina (6), Corvinone (7), Lagrein (10), Lambrusco a foglia frastagliata (6), Marzemino (7), Merlot (4), Pinot nero (21), Rondinella (7), Schiava (2) e Teroldego (7). Tutti i campioni sono stati analizzati allo stesso stadio evolutivo, nel mese di settembre 1994.

Analisi degli antociani.

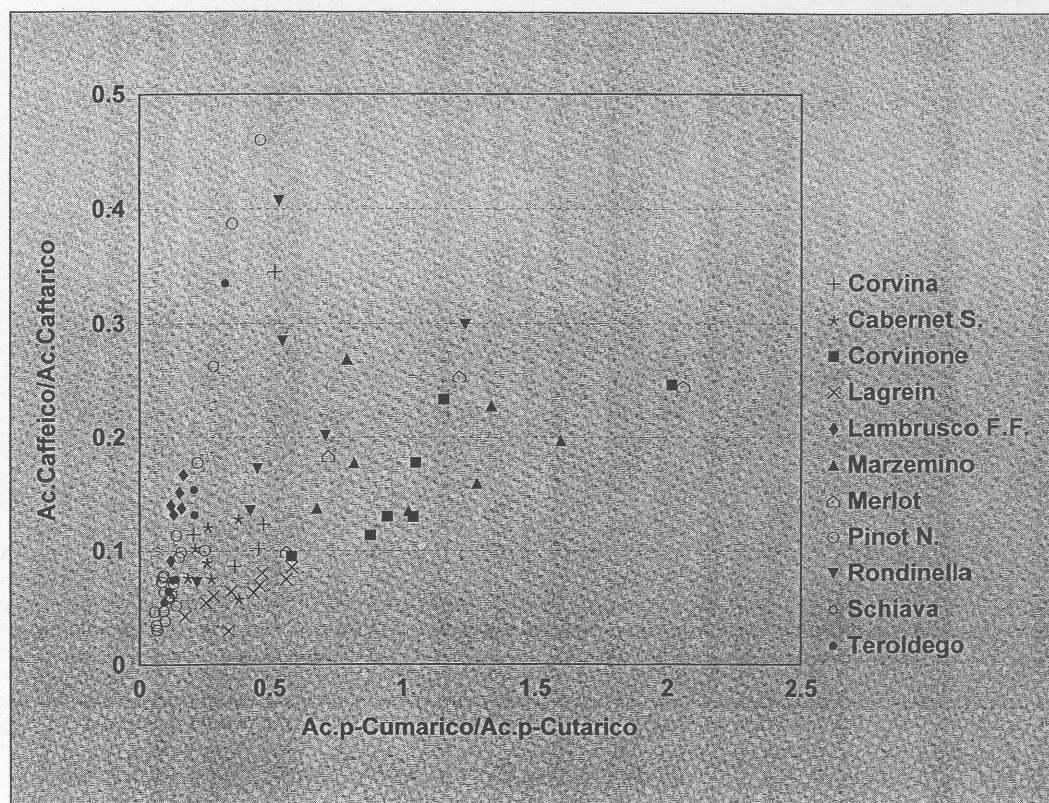
Il vino viene diluito 4 volte con acqua distillata e caricato lentamente (circa 2') su cartuccia Sep-Pak C₁₈ da 1 grammo di adsorbente, precedentemente attivata tramite il passaggio successivo di metanolo (4 mL) ed acqua (10 mL). Il volume di vino diluito che può essere caricato dipende dal tenore di polifenoli nei vini di partenza. È opportuno adattare le quantità di caricamento alla varietà, tenendo conto che è preferibile portare le concentrazioni della malvina, l'antociano più rappresentato, vicine al limite di saturazione del detector per permettere di effettuare una precisa determinazione delle antociane

nine acilate, spesso presenti a concentrazioni di due ordini di grandezza inferiori. A titolo di esempio, sono stati scelti valori fino a 20 mL per i vini meno carichi, quali Rondinella, Corvina, Corvinone e Pinot nero, e valori di 5 mL per vini quali Cabernet sauvignon, Lagrein, Lambrusco a foglia frastagliata.

Si lavano poi i composti idrofili con acqua (6 mL) acidulata con acido perclorico (0.3%). Si eluiscono gli antociani con 10 mL di metanolo per HPLC, raccogliendo in provettina con collo a smeriglio di pari volume. L'estratto metanolicco può essere conservato in freezer per alcuni giorni senza subire alterazioni, permettendo quindi di svincolare la fase di preparazione del campione dalla successiva fase di analisi, fatto che agevola significativamente la conduzione pratica della metodica.

Infine, l'estratto viene portato a secco in evaporatore rotante a 35 °C, ripreso con 0.5 mL di una soluzione di metanolo: HClO₄ 0.3% (30:70),

Fig. 2
Grafico di dispersione dei rapporti tra acidi cinnamici liberi ed esterificati nei vini rossi monovarietali



filtrato a 0.22 μm e iniettato immediatamente in HPLC (10 μL). La separazione ed identificazione dei picchi viene effettuata analogamente a quanto descritto per le uve [Mattivi et al., 1989a; Castia et al., 1992]. La quantificazione viene effettuata a 520 nm, esprimendo i dati come malvidina-3-monoglucoside, mg/L.

Analisi degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici.

L'analisi degli acidi idrossicinnamici ed idrossicinnamiltartarici viene effettuata per iniezione diretta del vino (5 μL) dopo filtrazione a 0.22 μm , secondo il metodo già descritto in precedenza [Nicolini et al., 1991]. Gli acidi liberi sono quantificati come tali, mentre gli esteri sono espressi come acido caffeico, mg/L.

Trattazione statistica.

L'elaborazione statistica dei dati è stata effettuata mediante impiego dell'analisi discriminante canonica dopo verifi-

ca del potere discriminante delle variabili prescelte mediante analisi stepwise. L'elaborazione è avvenuta mediante impiego del pacchetto SAS vers. 6.06 su elaboratore DEC VAX 4000-610 AXP con sistema operativo OpenVMS vers. 1.5.

L'analisi discriminante considera simultaneamente tutte le variabili e massimizza le differenze tra i gruppi per mezzo di una combinazione lineare delle variabili originali. Il risultato è stato valutato esaminando la prestazione del sistema classificativo così costruito nella riattribuzione dei campioni. Per quantificare la dissimilarità tra le varietà e mettere a punto una regola di riclassificazione, sono state impiegate le distanze generalizzate di Mahalanobis.

Criteri di scelta

Gli antociani.

L'esame dei cromatogrammi relativi agli antociani dei vini permette di evidenziare

che, a differenza delle uve, non è sempre agevole l'identificazione certa di tutti i composti presenti. In particolare, il dosaggio degli esteri acetici e p-cumarici non può essere condotto con precisione nei campioni a basso tenore di antociani esterificati, ad eccezione dei derivati della peonina e della malvina, più facilmente dosabili. Sono inoltre presenti derivati antocianici originati nella vinificazione che interferiscono con l'analisi, impedendo talvolta il dosaggio di alcuni picchi minori. Conseguentemente, anche in vista di un successivo impiego della metodica in differenti laboratori, si è deciso di limitare l'indagine a quei composti che possono sempre essere dosati senza incertezze (Tabella 1); il numero dei composti ben identificabili è comunque sufficientemente ampio da permettere di conservare una adeguata informazione sul profilo antocianico complessivo.

Un appunto che si può fare alla separazione è che,

Tab. 1**Concentrazione media e deviazione standard degli antociani nei vini (mg/L)**

	Delfinina	Cianina	Petunina	Peonina	Malvina	POAcil.	MVAcil.	PNMVCum.
Corvina	0.57	0.34	0.97	2.54	15.80	0.14	0.88	1.71
	0.29	0.42	0.56	0.36	5.32	0.11	0.70	0.92
Lambrusco f.f.	17.89	3.88	17.88	24.87	62.68	3.2	4.64	2.94
	4.54	0.83	4.32	3.99	14.26	0.71	0.93	1.30
(Schiava)	0.67	0.38	1.66	10.84	14.94	1.58	0.72	1.74
	0.06	0.28	0.39	7.14	6.21	0.42	0.16	1.47
Lagrein	21.05	1.48	24.87	12.70	121.53	4.56	30.06	11.10
	7.44	0.46	6.76	3.25	22.40	2.29	8.69	4.65
Merlot	5.57	0.51	7.98	4.46	66.46	2.81	26.52	8.00
	4.28	0.32	4.42	1.96	15.80	0.72	2.52	2.51
Pinot nero	0.66	0.13	1.80	4.91	41.65	0.06	0.19	0.05
	0.46	0.06	0.76	1.91	12.98	0.07	0.20	0.05
Rondinella	1.12	0.19	2.42	2.89	33.91	0.23	0.88	3.54
	0.52	0.07	0.77	0.88	6.19	0.15	0.9	0.67
Teroldego	24.74	2.10	24.63	10.90	122.40	6.54	53.58	15.42
	5.78	0.62	5.35	3.14	17.12	1.91	7.02	2.99
Corvinone	0.39	0.11	1.05	3.20	29.27	0.48	1.80	4.63
	0.15	0.04	0.42	1.32	10.20	0.22	0.74	1.46
Marzemino	18.49	0.70	18.75	4.52	129.33	2.58	50.26	8.22
	7.51	0.19	6.86	1.67	48.49	0.76	13.90	5.22
Cabernet s.	16.07	1.06	13.02	8.08	111.79	4.66	63.73	9.05
	4.24	0.30	2.74	1.42	13.85	0.77	11.30	2.63

con la colonna da noi utilizzata, in particolare quando le concentrazioni sono troppo diverse, non è sempre possibile separare gli esteri p-cumarici di peonina e malvina. Per questo abbiamo utilizzato la somma dei due esteri. A nostro avviso per l'analisi dei vini, a differenza che per le uve, potrebbe valere la pena di adottare una diversa colonna in grado di meglio separare questi due composti. Per la classificazione delle uve, infatti, non è importante separare questi due composti, in quanto essi sono presenti nello stesso rapporto dei loro precursori non esterificati [Wenzel et al., 1987; Mattivi et al., 1989b], e quindi il dato individuale non offre alcuna informazione aggiuntiva ai fini classificativi. Nel passaggio da uva a vino, come già segnalato [Scienza et al., 1989], il profilo delle antocianine libere si modifica maggiormente rispetto a quanto non accada per le forme esterificate; la distribuzione di queste ultime nel vino è più simile a quella dell'uva di partenza e quindi potenzialmente più interessante per la classificazione. Un esempio, derivato

dai cromatogrammi di questo studio, è l'osservazione che la perdita di peonina libera durante la vinificazione è sistematicamente maggiore di quanto non accada per la peonina p-cumarata.

Le basi dati prescelte

Scelta della base dati per gli antociani.

E' già stato dimostrato che per quanto riguarda la classificazione delle uve attraverso gli antociani è preferibile lavorare sul "profilo", ossia sulla distribuzione percentuale, anziché sui valori assoluti. Il pattern è infatti una caratteristica varietale (o, in qualche caso, della famiglia di vitigni - ad esempio, i Pinot) principalmente determinata dal genotipo, a meno di una variabilità residua relativamente limitata. L'entità della sintesi degli antociani - e quindi i valori assoluti - è invece fortemente influenzata dall'ambiente, dal clima e dalle caratteristiche colturali nonché da caratteristiche genetiche a livello di clone.

Sui vini l'opportunità di lavorare sulle percentuali (Fi-

gura 1) è ulteriormente rafforzata dal fatto che la quantità di antociani estratti dalle parti solide del grappolo dipende dalla tecnica di vinificazione e che l'invecchiamento porta ad una rapida e progressiva diminuzione della concentrazione delle antocianine libere [Di Stefano e Cravero, 1989]. Il profilo antocianico dei vini, pur nettamente diverso da quello delle uve corrispondenti, sembra essere meno influenzato tanto dalla tecnica di vinificazione, quanto dall'annata e dall'invecchiamento [Mattivi e Versini, 1989]. Per tutte queste considerazioni la scelta di lavorare sui pattern anziché sui livelli assoluti è praticamente obbligatoria.

Tanto i valori assoluti quanto le percentuali non possiedono una distribuzione normale; nel caso delle percentuali, il problema viene risolto applicando ai dati una opportuna trasformazione angolare [Sokal e Rohlf, 1981].

Scelta della base dati per i composti cinnamici.

Per quanto riguarda gli acidi cinnamici (Tabella 2),

Tab. 2
Concentrazione media e deviazione standard dei derivati cinnamici nei vini (mg/L)

	Ac.Caftarico	Ac.p-Cut. Glu.	Ac.p-Cutarico	Ac.Fertarico	Ac.Caffeico	Ac.p-Cumarico	Ac.Ferulico
Corvina	14.51	2.14	5.86	1.78	3.32	2.89	1.32
	5.10	0.63	1.97	0.44	2.53	0.98	0.30
Lambrusco f.f.	68.89	2.52	18.07	2.77	9.44	2.57	1.70
	5.08	0.16	1.56	0.17	2.01	0.23	0.20
(Schiava)	15.16	2.79	15.01	0.61	0.91	1.88	1.11
	2.27	0.36	4.28	0.01	0.17	0.67	0.42
Lagrein	24.41	2.03	8.98	1.02	1.45	3.38	1.80
	4.88	0.21	1.77	0.10	0.25	0.91	0.22
Merlot	13.98	1.88	5.04	1.28	2.48	5.30	1.72
	5.44	0.21	1.66	0.12	0.47	2.34	0.36
Pinot nero	40.09	3.58	13.22	1.38	4.39	1.90	0.64
	13.96	0.93	4.71	0.15	3.49	0.83	0.36
Rondinella	13.22	3.19	7.71	2.29	2.72	3.86	0.93
	3.30	0.68	2.71	0.11	1.12	0.77	0.10
Teroldego	22.72	3.34	17.75	1.41	2.61	2.91	1.47
	4.91	0.55	4.30	0.15	1.64	1.08	0.13
Corvinone	12.12	1.74	3.92	2.09	1.89	4.14	1.86
	1.97	0.32	0.85	0.25	0.55	1.35	0.40
Marzemino	16.00	2.31	6.03	1.31	2.92	6.27	1.27
	2.03	0.27	1.27	0.14	0.66	1.75	0.27
Cabernet s.	37.66	3.75	14.85	1.73	3.47	4.08	2.04
	5.13	0.54	2.16	0.10	0.98	0.81	0.39

è noto che nelle uve essi sono presenti in forma esterificata [Ribereau-Gayon, 1965; Ong e Nagel, 1978; Somers et al., 1987]. Durante la vinificazione essi vanno soggetti a parziale idrolisi, con liberazione dei corrispondenti acidi liberi. Si osserva inoltre la formazione, attraverso sostituzione nucleofila dello zolfo del glutatione sul chinone dell'acido caffeico, di acido 2-S-glutathionil-cafeiltartarico, comunemente denominato "GRP" [Cheynier et al., 1986]. Sui vini rossi di questa indagine il GRP è sempre stato rilevato in quantità molto limitate rispetto a quelle del suo precursore, l'acido caftarico. Si è ritenuto quindi preferibile non utilizzarlo per la classificazione varietale, anche in conseguenza della sua natura di composto legato al decorrenza di reazioni ossidative.

Una ulteriore scelta da affrontare era se includere i dati degli acidi cinnamici liberi tra quelli da impiegare per la classificazione, essendo anch'essi dei derivati dei composti originari dell'uva. In linea di principio, sarebbe possibile utilizzare per la classificazione la somma dei

derivati caffeici, p-cumarici e ferulici, sopprimendo in tal modo l'influenza delle reazioni di idrolisi.

Questa scelta potrebbe aiutare la corretta classificazione di quei campioni (intorno all'8% nel nostro caso) in cui (in maniera apparentemente casuale, forse spiegabile con la sporadica presenza di quantità rilevanti di lieviti indigeni) si rileva una presenza particolarmente elevata di acidi liberi, soprattutto caffeico e p-cumarico.

Non ci è parso opportuno prendere questa strada, in quanto abbiamo trovato evidenza sperimentale dell'esistenza di entità di idrolisi differenziate a livello varietale.

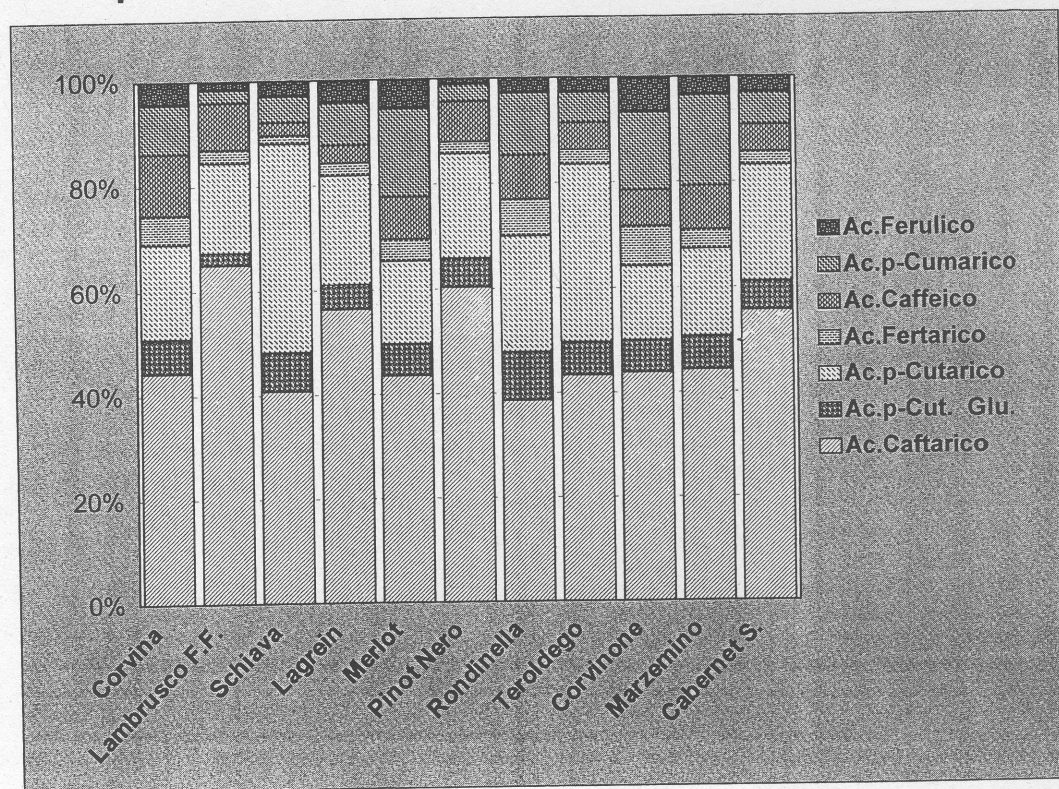
Differenze varietali

Attività esterasica e varietà.

In particolare, sembra esserci un fattore varietale nel determinare l'entità di idrolisi dell'acido p-cutarico, mentre molto meno differenziata è la situazione dell'acido caftarico (Figura 2). Il rapporto acido libero su acido esteri-

ficato presenta una variabilità molto maggiore per l'acido p-cumarico (a concentrazioni anche doppie rispetto al suo estere) che per l'acido caffeico (mai oltre la metà del corrispondente estere). Si riscontra una idrolisi dell'acido p-cutarico particolarmente elevata nei campioni delle varietà Corvinone e Marzemino, e ancora sopra alla media nei vini Rondinella e Merlot e - in maniera meno accentuata - Cabernet sauvignon. Questo fatto potrebbe indicare la presenza di un corredo enzimatico varietale con diversa specificità per l'acido p-cutarico, oppure capace di idrolizzare gli esteri p-cumarici degli antociani, analogamente a quanto segnalato come attività collaterale di enzimi glicosidasi esogeni [Nicolini et al., 1994]. L'esistenza di un fattore varietale nel determinare il livello di idrolisi degli esteri cinnamici - mai riportato nei vini rossi - sarebbe in linea con quanto da noi precedentemente rilevato sui vini bianchi trentini della varietà Traminer aromatico. Questa varietà, benché povera di composti esterificati, dà origine a vini relativamente

Fig. 3
Profilo percentuale dei derivati cinnamici nei vini (medie per varietà)



ricchi di acidi cinnamici liberi dai quali possono derivare facilmente quantità organoletticamente percepibili dei vinil-fenoli volatili [Grando et al., 1993].

Nella vinificazione in rosso, invece, la presenza di frazioni polifenoliche poco polimerizzate inibisce la cinnamato-decarbossilasi dei lieviti. Durante la conservazione e specie durante l'invecchiamento in botte l'eventuale sviluppo di lieviti di contaminazione del genere *Brettanomyces/Dekkera* può causare la formazione di etil-fenoli [Chatonnet et al., 1993].

Come nel caso degli antociani, anche per gli acidi cinnamici le concentrazioni presentano una grande variabilità intravarietale, come mostrato dalle deviazioni standard (Tabella 2). Anche se è evidente che le varietà si situano mediamente su tenori assoluti diversi, ai fini della classificazione dei singoli campioni è comunque preferibile lavorare sulle percentuali (Figura 3), anche in questo caso dopo una opportuna trasformazione angolare.

Classificazione delle varietà

Analisi discriminante sui composti cinnamici.

La classificazione delle varietà mediante analisi discriminante sui composti cinnamici (Figura 4) permette di ottenere un soddisfacente livello di separazione tra i gruppi. Le prime 4 funzioni discriminanti spiegano il 97% della varianza complessiva. Si ottiene la corretta attribuzione di 80 campioni su 84, pari al 95% dei casi. I casi di errata attribuzione sono causati da reciproca sovrapposizione tra campioni della varietà Cabernet sauvignon con Lagrein e di Merlot con Marzemino e Lagrein. Per le altre varietà le attribuzioni risultano tutte corrette.

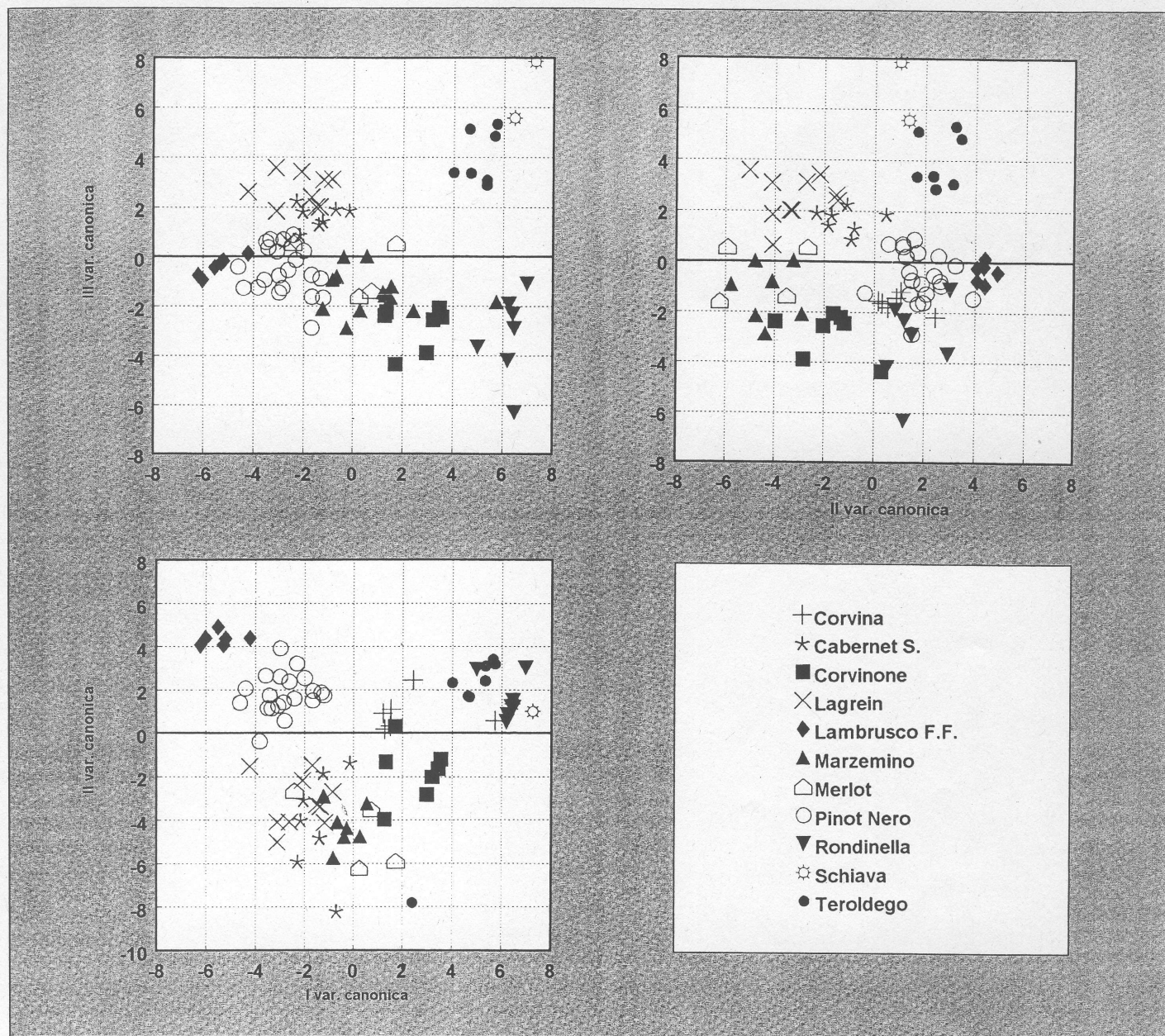
In base ai coefficienti delle variabili canoniche è possibile evidenziare che sulla prima funzione discriminante assumono valori particolarmente negativi le varietà che presentano valori percentuali particolarmente elevati di acido caftarico, quin-

di in primo luogo i vini Lambrusco f.f., Pinot nero e Lagrein. Da queste varietà sono ben distanziati i vini di Schiava, Rondinella e Teroldego, che assumono valori fortemente positivi perché poveri di acido caftarico e/o di acidi cinnamici liberi e ricchi di acido p-cutarico. La seconda funzione discriminante è più complessa da interpretare; assumono comunque i valori più bassi le varietà percentualmente ricche di acido p-cumarico (e ferulico) liberi, che si situano in basso, su valori negativi: sono i campioni di Merlot e Marzemino. Al contrario, Lambrusco f.f., Teroldego e Pinot nero si situano in alto, a valori positivi, principalmente in quanto estremamente poveri di questi due composti.

Si evidenzia che alcune delle varietà che sono molto simili a livello di profilo antocianico, ad esempio Lagrein e Teroldego, presentano al contrario un pattern differenziato per quanto concerne i composti cinnamici. La possibilità di separazione è dovuta principal-

Fig. 4

Classificazione dei vini in base all'analisi discriminante sul profilo dei derivati cinnamici: dispersione dei campioni nello spazio definito dalle prime tre variabili canoniche



mente al fatto che i campioni di Teroldego presentano concentrazioni di acido putarico percentualmente elevate, solo di poco inferiori a quelle dell'acido caftarico, mentre invece i vini di Lagrein sono su valori pari a circa la metà. I vini, in tutto 17 campioni, erano stati ottenuti da cloni diversi, ed una metà dei campioni di ciascuna varietà proveniva dalla vinificazione di uve provenienti dallo stesso vigneto sperimentale, per cui è difficile attribuire a questa differenza una origine ca-

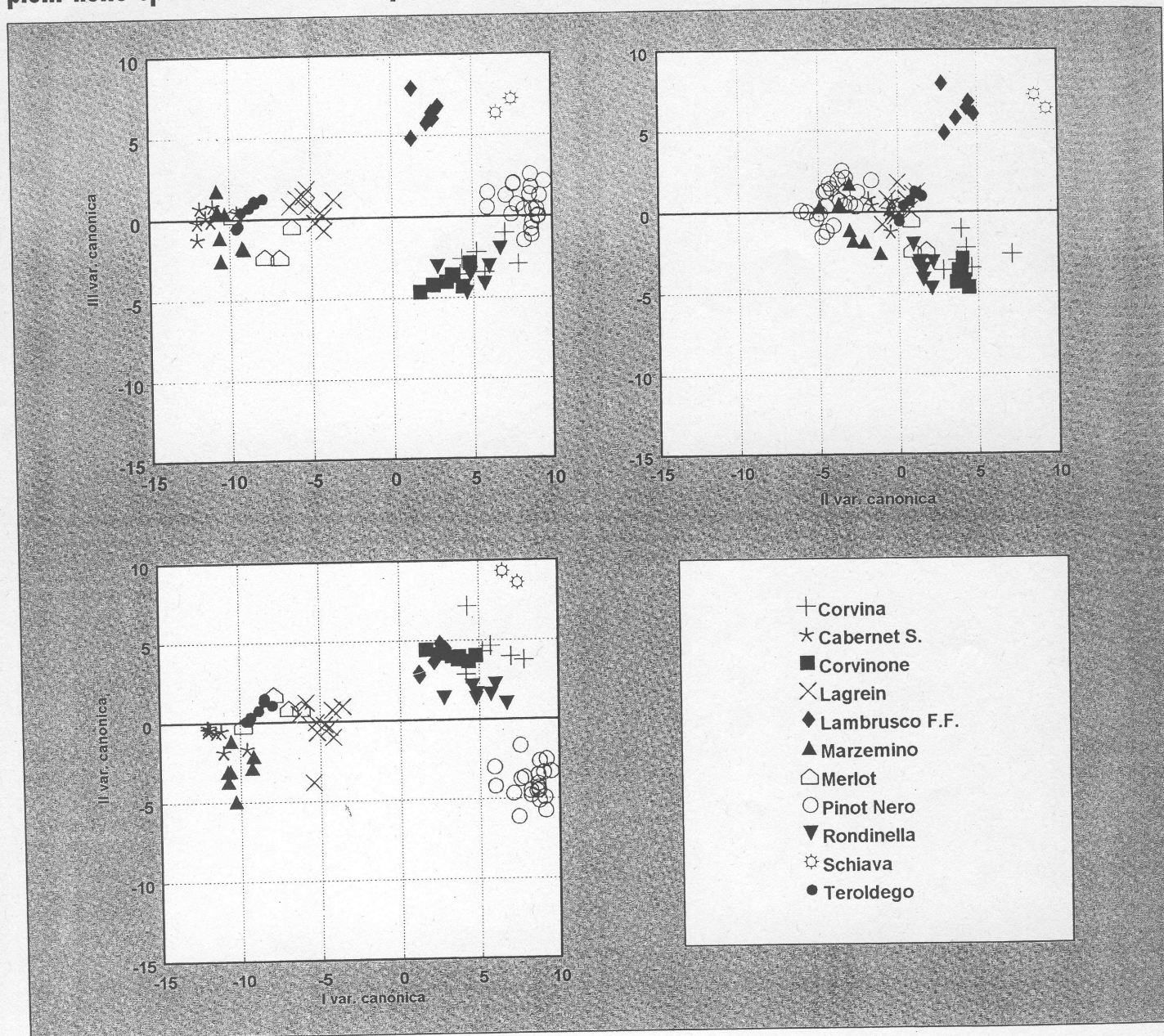
suale o fenotipica. Sarà interessante confermare questo dato su ulteriori campioni dei due vini, in quanto non sono noti a tutt'oggi altri parametri analitici utilizzabili per differenziare queste due varietà, che presentano caratteristiche organolettiche piuttosto vicine e sono prodotte in areali contigui, essendo tipiche la prima della piana Rotaliana, in Trentino, e la seconda dell'Alto Adige.

Analisi discriminante sugli antociani.

L'analisi discriminante su-

gli antociani permette un buon livello di separazione tra i gruppi. Le prime 4 funzioni discriminanti spiegano quasi il 98% della varianza. La classificazione dei vini alle rispettive varietà è corretta oltre il 97%: i due campioni mal classificati sono dovuti a sovrapposizioni Corvina-Rondinella e Marzemino-Lagrein (Figura 5). In base all'esame dei coefficienti della prima funzione discriminante, è possibile dare una interpretazione sommaria della separazione: assumono valori negativi

Fig. 5
Classificazione dei vini in base all'analisi discriminante sul profilo antocianico: dispersione dei campioni nello spazio definito dalle prime tre variabili canoniche



sulla prima funzione discriminante i campioni che presentano tenori significativamente elevati di delfinidina e di esteri acetici della malvina quali Cabernet sauvignon, Marzemino, Teroldego, Merlot e Lagrein. Tutte le altre varietà, povere in questi due composti, assumono valori positivi sulla prima funzione. Sulla seconda funzione discriminante vengono posizionati in alto i campioni con valori percentuali elevati di esteri p-cumarici, cianina e peonina, e moderati di antociani triso-

stituiti, come i vini delle varietà Schiava, Corvina, Lambrusco a foglia frastagliata, Corvinone e Rondinella. I vini Pinot nero assumono valori fortemente negativi sulla seconda funzione discriminante perché particolarmente ricchi di malvina e privi di esteri.

Il risultato ottenuto è incoraggiante, ma probabilmente sovrastima la effettiva capacità di classificazione basata sul profilo antocianico: è probabile che aumentando il numero dei campioni, e soprattutto delle

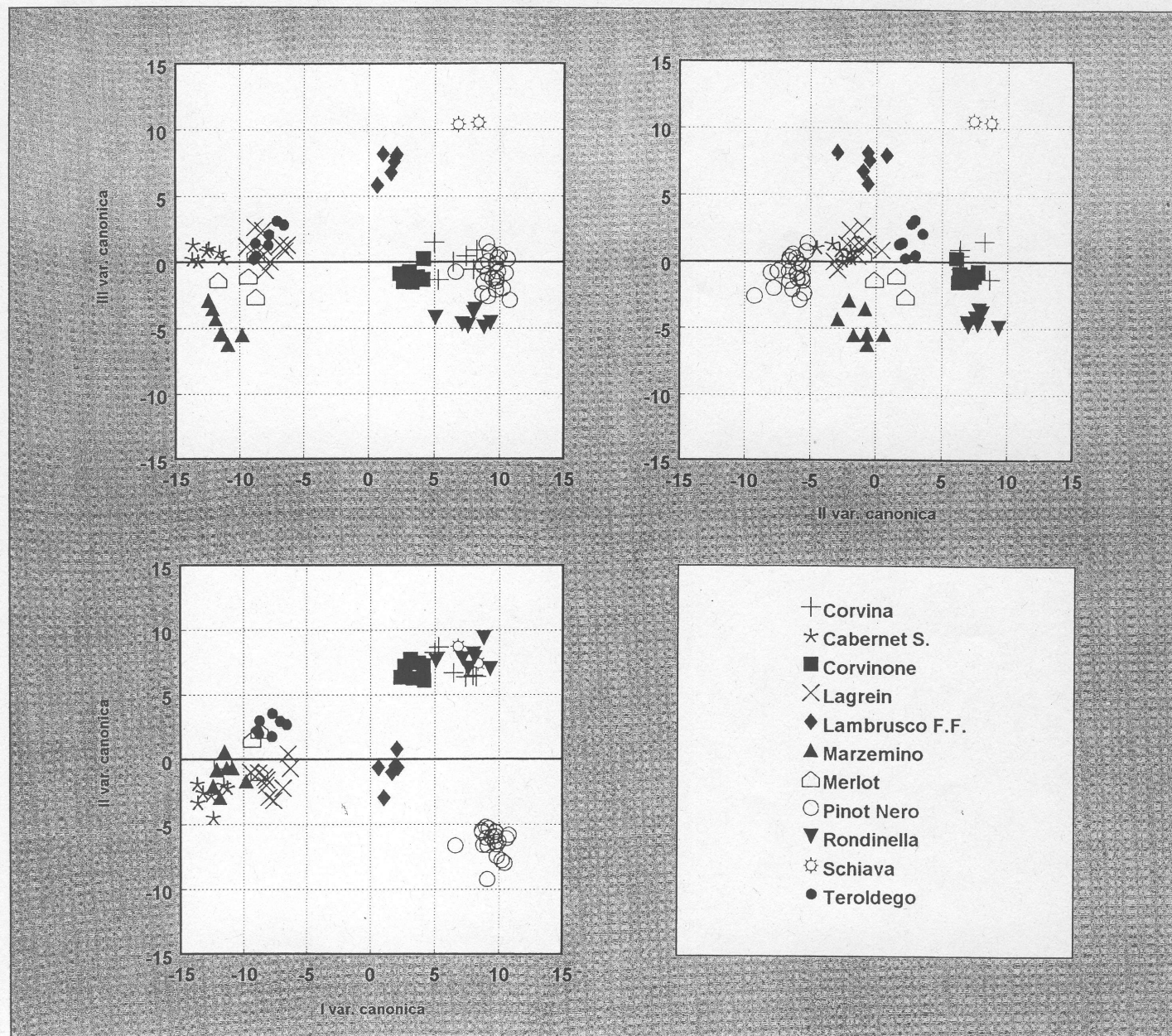
annate, alcune varietà che alla luce della variabilità riscontrata sono già state classificate come simili - quindi attribuite ad uno stesso gruppo - per quanto attiene gli antociani delle uve [Mattivi et al., 1989a] non siano differenziabili nella pratica nemmeno a livello di vini.

Analisi discriminante sull'intera base dati.

L'uso congiunto delle due classi di composti nell'analisi discriminante permette di migliorare ulteriormente la discriminazione. Per mante-

Fig. 6

Classificazione dei vini in base all'analisi discriminante condotta congiuntamente sugli antociani e sui derivati cinnamici: dispersione dei campioni nello spazio definito dalle prime tre variabili canoniche



nere una quota di varianza spiegata sopra al 95% sono necessarie 5 funzioni discriminanti. Vengono correttamente attribuiti 83 degli 84 campioni, rimanendo un certo grado di incertezza tra le varietà Marzemino e Lagrein (Figura 6). La separazione tra i gruppi è migliore, ma di contrasto diventa più difficile interpretare il posizionamento dei campioni.

Da un punto di vista pratico può essere preferibile lavorare separatamente sui due set di dati, in quanto in sede di vinificazione potreb-

bero essere messe in atto delle pratiche che possono apportare modifiche al pattern naturale di una delle due famiglie dei composti in esame. Ad esempio, l'uso dei due sistemi di classificazione in parallelo dovrebbe permettere di evidenziare e di spiegare eventuali classificazioni errate che siano riconducibili per esempio a specifici trattamenti enzimatici od ossidativi [Nicolini et al., 1991 e 1994].

Un risultato classificativo di questo livello - benché ottenuto su un insieme di vini

prodotti con tecniche omogenee, minimizzando quindi la variabilità tecnologica - è decisamente incoraggiante riguardo alla possibilità di impiego della tecnica per la verifica della corrispondenza varietale dei vini, anche se è bene sottolineare che prima di un eventuale trasferimento della metodica ai campioni del commercio è necessario approfondire ulteriormente le eventuali variazioni compositive che possono intervenire in relazione a procedure autorizzate di vinificazione.

Conclusioni

Le metodiche analitiche utilizzate nel presente lavoro si possono ritenere sufficientemente collaudate e tali da garantire una adeguata riproducibilità; sono inoltre relativamente poco onerose e consentono un impiego agevole su numeri abbastanza elevati di campioni.

Si è dimostrato che i profili di distribuzione degli antociani liberi e degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici possono trovare una applicazione come marcatori dell'origine varietale di un vino sulla base del confronto con campioni di riferimento.

Le classificazioni ottenute per mezzo dell'analisi discriminante condotta su ciascuna delle due classi di composti sono di ottimo livello, sono indipendenti e possono essere impiegate singolarmente.

Se impiegate congiuntamente attraverso un unico passaggio classificativo possono fornire un criterio ancora più affidabile, anche se per certi versi può essere preferibile lavorare in parallelo sulle due categorie di composti.

Dopo aver dimostrato la potenziale utilità del metodo, non si deve però mancare di sottolineare come per la messa in pratica dello stesso ai fini legali siano indispensabili studi approfonditi sui fattori che possono modificare i parametri analitici utilizzati come pure è necessaria la predisposizione di ampie ed affidabili banche dati di riferimento. Ciò non esclude comunque che per il controllo di qualità interno a singole aziende o consorzi, come pure per la stesura di specifici capitoli di fornitura, la metodica sia già ora applicativa.

I dati analitici ottenuti trovano inoltre un impiego che va oltre quello puramente classificativo in quanto permettono di evidenziare le peculiarità compositive che tra l'altro sembrano derivare non solo dalla composizione dell'uva, ma anche, in via di

ipotesi, dal patrimonio enzimatico varietale.

Ringraziamenti.

Si ringrazia per il fondamentale supporto analitico il p.c. Giuliano Cova dell'Istituto Agrario di S. Michele all'Adige.

Riassunto

In questo lavoro si evidenzia la possibilità di impiegare i principali composti fenolici monomeri dei vini, dosati quantitativamente attraverso le tecniche HPLC, per la verifica della tipicità compositiva legata all'origine varietale dei vini. Sono descritti e discussi approfonditamente gli aspetti metodologici legati alla scelta delle condizioni analitiche, della base dati, dell'elaborazione dei dati e della interpretazione dei risultati.

Sono stati presi in esame 84 vini monovarietali della vendemmia 1993, appartenenti alle varietà Cabernet sauvignon, Corvina, Corvinone, Lagrein, Lambrusco a foglia frastagliata, Marzemino, Merlot, Pinot nero, Rondinella, Schiava e Teroldego. Su ciascun vino è stata effettuata l'analisi in HPLC degli antociani liberi e degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici. Le metodiche analitiche sviluppate sono relativamente poco onerose e quindi consentono un impiego agevole su numeri abbastanza elevati di campioni.

La classificazione delle varietà è stata prodotta mediante analisi discriminante sui composti cinnamici, sulle antocianine e infine, congiuntamente sull'intera base dati.

Si è dimostrato che sia i composti cinnamici, quanto le antocianine, usati separatamente, permettono di ottenere un buon livello di separazione tra i gruppi, con la corretta attribuzione dei vini rispettivamente del 95 e del 97% dei casi. Si evidenzia che alcuni vini di varietà molto simili a livello di profilo antocianico, ad esempio Lagrein e Teroldego, presentano al contrario un profilo

ben differenziato per quanto concerne i composti cinnamici. L'uso congiunto delle due classi di composti permette di migliorare ulteriormente la discriminazione, come viene confermato dalla analisi discriminante sull'intera base dati capace di attribuire correttamente 83 campioni su 84 alla varietà di appartenenza. Un risultato di questo livello - benché ottenuto su un set di vini prodotti con tecniche omogenee, limitando quindi la variabilità tecnologica - è decisamente incoraggiante riguardo alla possibilità di impiego della tecnica per la verifica della corrispondenza varietale dei vini.

I dati analitici ottenuti trovano un impiego che va oltre quello puramente classificativo, in quanto permettono di evidenziare alcune peculiarità compositive - riconducibili non solo alla composizione dell'uva, ma anche, in via di ipotesi, al patrimonio enzimatico varietale - e possono fornire elementi aggiuntivi utili per una corretta scelta della tecnica di vinificazione.

Abstract

Low molecular weight polyphenols in red wines were used for the recognition of the typical chemical pattern that can be applied to distinguish - by means of the discriminant analysis statistic procedure - the wines belonging to each variety. Some new practical aspects linked to the proper choice of the analytical and computational parameters, and to the interpretation of the results are in depth discussed in this article.

Anthocyanins, hydroxycinnamic acid tartrates and hydroxycinnamic acids were analyzed by means of HPLC techniques in 84 red wines of the vintage 1993. The analytical methods featured direct analysis of the wine or minimum sample preparation. The wines belonged to the varieties Cabernet sauvignon, Corvina, Corvinone, Lagrein, Lambrusco a foglia

frastagliata, Marzemino, Merlot, Pinot nero, Rondinella, Schiava and Teroldego. The chemical data obtained in this study evidenced some typical pattern not only linked to the chemical composition of grape, but also to an hydrolytic release of hydroxycinnamic acids from their tartrate esters, whose amount was closely related to the variety. The presence of different specific hydrolase, especially for p-coumaric acid tartrates, could be - according to our hypothesis - in connection with the stores of enzymes of the varieties. A careful investigation on these compounds could lead us to gain further knowledge useful for a proper choice of the vinification techniques.

The classification of the samples were performed by means of some discriminant analyses, computed either on hydroxycinnamate derivatives or on anthocyanins and, finally, jointly on both. The discriminant analyses carried separately on the two classes of phenolic compounds allowed us to obtain good and independent discriminations between groups, with a correct classification over 95% in both cases. It was noticeable that wines very similar as concerns anthocyanins, as for example those belonging to the varieties Teroldego and Lagrein, could be clearly separated by means of the pattern of hydroxycinnamate derivatives.

The joint use of both chemical classes of compounds in the discriminant analysis allowed us to improve the separation, thus obtaining the right classification of 83 samples out of 84. Nevertheless, it was easier to give an explanation to the discriminant analysis based on a single class of compounds.

These results, although obtained on wine samples produced with the same vinification technique, thus restricting the total variability, showed that this method could be in the future a good tool in order to keep a check on the chemical correspondence of a wine.

Bibliografia

Castia T., Franco M.A., Mattivi F., Muggiolu G., Sferlazzo G., Versini G. (1992). Characterization of grapes cultivated in Sardinia: chemometric methods applied to the anthocyanic fraction. *Sciences des aliments*, 2, 239-255.

Chatonnet P., Boidron J.N., Dubourdieu D. (1993). Influence des conditions d'élevage et de sulfitage des vin rouges en barriques sur leur teneur en acide acétique et en ethyl-phenols. *J. Int. Science Vigne Vin*, 4, 277-298.

Cheyrier V., Trousdale E., Singleton V.L., Salgues M., Wilde R. (1986). Characterization of 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric and its hydrolysis in relation to grape wines. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 217-221.

Di Stefano R., Cravero M.C. (1989). I composti fenolici e la natura del colore dei vini rossi. *L'Enotecnico*, 10, 81-87.

Grando M.S., Versini G., Nicolini G., Mattivi F. (1993). Selective use of wine yeast strains having different volatile phenols production. *Vitis*, 32, 43-50.

Mattivi F., Versini G. (1989). Influenza delle tecnologie di vinificazione sul patrimonio fenolico di vini Teroldego Rotaliano. Convegno "Il Teroldego roitaliano", S. Michele all'Adige, 12 settembre, Supplemento Boll. ISMA 3/90, 83-91.

Mattivi F., Scienza A., Failla O., Villa P., Anzani R., Tedesco G., Gianazza E., Righetti P. (1989a). Vitis vinifera: a chemotaxonomic approach-anthocyanins in the skin. Proc. of the 5th International Symposium on Grape Breeding, St. Martin/Pfalz, FRG, 12-16 settembre, (Vitis, Special Issue 1990, 119-133).

Mattivi F., Romano F., Scienza A., Villa P. (1989b). Approccio chemiotassonomico per la classificazione di 120 cultivars di Vitis vinifera in base al profilo antocianico. Atti Convegno Nazionale di Chemiometria, Vene-

zia, 3-4 novembre.

Mattivi F., Nicolini G., Sanchez C. (1991). Confronto tra il contenuto polifenolico di vini Marzemino, Pinot nero e Sangiovese dell'annata 1989. *Riv. Vitic. Enol.*, 1, 39-52.

Mattivi F. (1991). Utilizzazione dei polifenoli nel riconoscimento varietale. Corso Internazionale di Ampelografia, S. Michele all'Adige, 1-5 luglio.

Nicolini G., Mattivi F., Dalla Serra A. (1991). Iperossigenazione dei mosti: conseguenze analitiche e sensoriali su vini della vendemmia 1989. *Riv. Vitic. Enol.*, 3, 45-56.

Nicolini G., Mattivi F., Versini G. (1994). Uso di glicosidasi esogene in mosti e vini ed attività enzimatiche collaterali. *Riv. Vitic. Enol.*, 1, 45-60.

Ong B.Y., Nagel C.W. (1978). High-pressure liquid chromatographic analysis of hydroxycinnamic acid-tartaric acid esters and their glucose esters in Vitis vinifera. *J. Chromatogr.*, 157, 345-355.

Ribereau-Gayon P. (1965). Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartarique dans les limbes et les baies de Vitis vinifera. *C. R. Séance Acad. Agric. Fr.*, 260, 341.

Scienza A., Versini G., Mattivi F. (1989). Il profilo aromatico ed antocianico dell'uva e del vino di Moscato rosa. Atti Accademia Italiana della Vite e del Vino, Parenzo (Istria), 25-28 maggio, 159-182.

Sokal, R.R.; Rohlf, F.J. (1981). Biometry, W.H. Freeman and C. ed., New York, 859 pp.

Somers T.C., Vérette E., Pocock K.F. (1987). Hydroxycinnamate esters of Vitis vinifera: changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *J. Sci. Food Agric.*, 40, 67-78.

Wenzel K., Dittich H.H., Heimfarth M. (1987). Die Zusammensetzung der Anthocyane in den Beeren verschiedener Rebsorten. *Vitis*, 26, 65-78.