

# l'Enologo

DAL 1893 LA VOCE DELLA CATEGORIA

MENSILE DELL'ASSOCIAZIONE ENOLOGI ENOTECNICI ITALIANI. ORGANIZZAZIONE NAZIONALE DI CATEGORIA DEI TECNICI DEL SETTORE VITIVINICOLO - N° 1/2 GENNAIO/FEBBRAIO 2018



**ECHI DEL 72° CONGRESSO**  
E DI UNA STORICA DEGUSTAZIONE DI TIGNANELLO E SASSICAIA



**ASOENOLOGI**  
IL VINO PER CULTURA E PROFESSIONE

TRA I CINQUE FINALISTI AL PREMIO ASSOENOLOGI-VERSINI 2017

# UN METODO INNOVATIVO PER IDENTIFICARE L'ANNACQUAMENTO DEL VINO

In questo lavoro è stata testata la potenzialità dell'analisi isotopica del rapporto  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  misurato nell'etanolo (espresso in  $\delta^{18}\text{O}$ ) come strumento per meglio individuare annacquamenti non consentiti nel vino. Lo studio ha dimostrato che l'illecita aggiunta di acqua modifica esclusivamente il rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  nell'acqua del vino, mentre non ha effetti sullo stesso rapporto misurato nell'etanolo del vino stesso. In un prodotto sotto indagine il mancato rispetto della correlazione trovata tra i due parametri ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  nell'acqua vs  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  nell'etanolo) può quindi essere interpretato analiticamente come aggiunta di acqua. Il metodo è risultato inoltre in grado di discriminare tra loro diverse tipologie di alcol (da uva, frutta e cereali).



Di  
**Matteo Perini**  
Centro Trasferimento Tecnologico  
Fondazione E. Mach  
San Michele all'Adige (TN)

## INTRODUZIONE

- Negli ultimi dieci anni la domanda di prodotti alcolici (vino e distillati) è cresciuta dell'8,6% (Statistical report on world vitiviniculture 2012). L'aumento del prezzo e la difficoltà di accesso alla materia prima ha incoraggiato la diffusione di adulterazioni nel campo vitivinicolo (Direzione generale lotta alla contraffazione. Report 2012). Dal 1986 l'unione europea (CE) e l'organizzazione mondiale della vite e del vino (OIV) hanno riconosciuto come metodi ufficiali le analisi isotopiche per l'identificazione di aggiunte zuccherine (OIV MA-AS-311-05, OIV MA-AS-312-06) e l'annacquamento del vino (OIV MA-AS2-12) e per permetterne la tracciabilità geografica.
- L'illecita aggiunta di acqua di fonte al vino può essere determinata tramite l'analisi dei rapporti isotopici  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  (espresso come  $\delta^{18}\text{O}\%$ ) dell'acqua naturalmente presente nel vino e la comparazione del valore ottenuto con i valori di riferimento riportati in banche dati quali

quella ufficiale prevista dal regolamento europeo EU Reg. 555/2008.

- L'aggiunta di acqua causa un abbassamento del valore di  $\delta^{18}\text{O}$  ed è individuabile se il valore si pone al di sotto del limite definito nella banca dati di riferimento. Questo abbassamento è dovuto al fatto che l'acqua vegetale contenuta nel vino presenta un valore isotopico molto più alto di quella di fonte, come conseguenza dell'effetto di evapotraspirazione che avviene nella pianta (Roßmann *et al.* 1999). Se il vino è originariamente caratterizzato da un valore elevato di  $\delta^{18}\text{O}$  la possibilità di identificazione di piccole aggiunte di acqua non è semplice.

- Un nuovo metodo, basato sempre sull'analisi del rapporto isotopico del  $\delta^{18}\text{O}$ , ma in questo caso sull'etanolo ottenuto dopo fermentazione e distillazione, si è dimostrato migliorare in maniera significativa la capacità di identificare l'aggiunta di acqua ai succhi di frutta (Monsallier-Bitea *et al.* 2006). Questo nuovo metodo si basa sulla relazione esistente tra  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua di fermentazione e dell'eta-

nolo ( $r=0,96$ ) (Jamin *et al.* 2003). L'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  può essere eseguita tramite due differenti tecniche analitiche: spettrometro di massa isotopica (isotopic ratio mass spectrometry o IRMS) combinato con un pirolizzatore (high temperature conversion elemental analyser (TC/EA-IRMS) (Calderone, Reniero, and Guillou 2006) o un gas cromatografo dotato di pirolizzatore (gas chromatography high temperature conversion (GC-TC) e campionatore per l'analisi dello spazio di testa (solid phase microextraction SPME) (Aguilar-Cisneros *et al.* 2002; Yamada *et al.* 2007). L'utilizzo della tecnica SPME risulta meno performante in quanto soggetta a fenomeni di frazionamento isotopico difficilmente controllabili (Yamada *et al.* 2007). Per questa ragione l'analisi diretta dell'etanolo disidratato tramite la tecnica isotopica TC/EA-IRMS in pirolisi appare maggiormente affidabile.

- Uno studio inter collaborativo del 2004 ha dimostrato come il punto critico di questo tipo di analisi non è tanto la tecnica ma la disidratazione del campione (Caldero-

ne, Reniero, and Guillou 2006). A causa dell'interferenza dell'ossigeno dell'acqua sull'analisi isotopica, il campione in analisi deve essere etanolo puro al 100%. Per ovviare a questo problema Jamin *et al.* (Jamin *et al.* 2003) disidratano i campioni di distillato ottenuti dai succhi di frutta secondo il metodo AOAC 995.17, utilizzando setacci molecolari.

- Riguardo la possibilità di identificare l'aggiunta di zuccheri esogeni al mosto è bene ricordare che, come riportato nel regolamento europeo EC Reg. 479/2008 (Annesso IV sezioni 1 e 17) e 123/2007 (Annesso XI ter, sezioni 1 e 17), il vino non può contenere etanolo da altra origine se non da uva. Grazie all'analisi ufficiale del deuterio, utilizzando la tecnica di risonanza magnetica 2H-SNIF-NMR (2H-Site-specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic), e del carbonio, utilizzando la tecnica isotopica IRMS (isotopic ratio mass spectrometry), è possibile determinare se l'etanolo deriva dall'uva, zucchero di barbabietola o di canna o è di origine sintetica. Purtroppo i range isotopici di deuterio e carbonio dell'uva tendono a sovrapporsi a quelli di altri frutti e cereali. È quindi importante identificare nuovi parametri isotopici in grado di determinare l'origine botanica dell'etanolo contenuto nel vino.

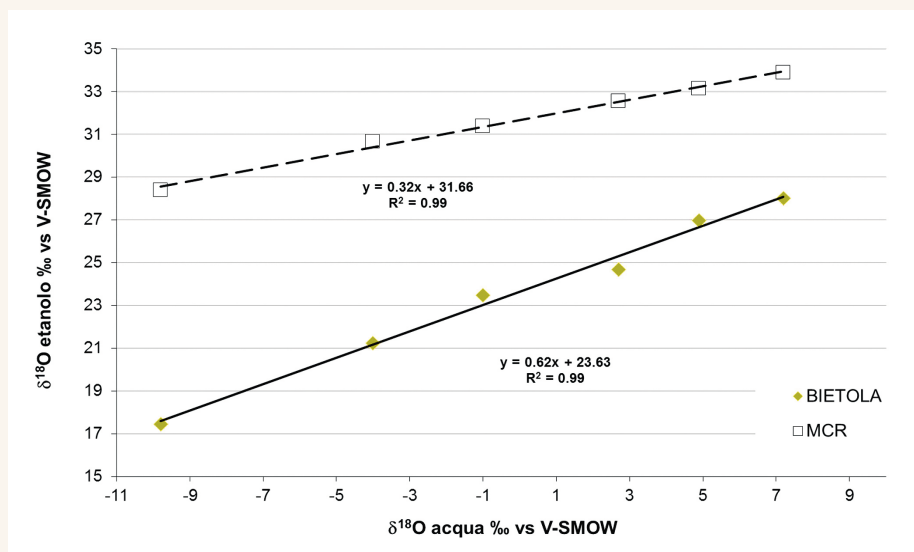
- In questo lavoro vengono presentati e discussi i risultati relativi ai parametri  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo ottenuti da campioni autentici di vino (N=69), cereali e frutta (N=59), zucchero di barbabietola, di canna e di origine sintetica (N=5). L'obiettivo di questo studio era quello di indagare la relazione tra il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo da uva e del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua di fermentazione e di post fermentazione al fine di verificare la capacità di questa analisi di migliorare la capacità di identificazione di annacquamenti del vino. Per la prima volta è stata inoltre indagata la capacità di questa analisi di identificare se l'etanolo deriva da uva, frutta, cereali.

## MATERIALI E METODI

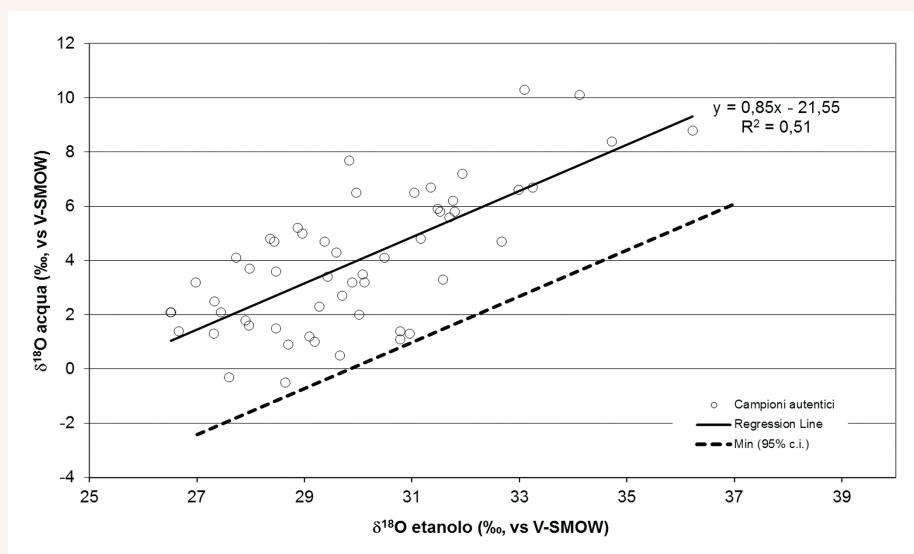
### Campioni

- Sono stati utilizzati per lo studio un totale di 133 fermentati: 69 campioni di autentico vino da diverse regioni italiane (2 o 4 campioni per ognuna delle 20 regioni italiane considerate) e 59 campioni di distillati da frutta, cereali ottenuti in condizioni controllate presso la distilleria della Fonda-

**Fig. 1** - Correlazione tra  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo e dell'acqua di fermentazione aggiunta ad una mosto concentrato rettificato (MCR) e a zucchero di barbabietola (BIETOLA).



**Fig. 2** - Correlazione tra rapporto isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo e dell'acqua di vini italiani autentici.



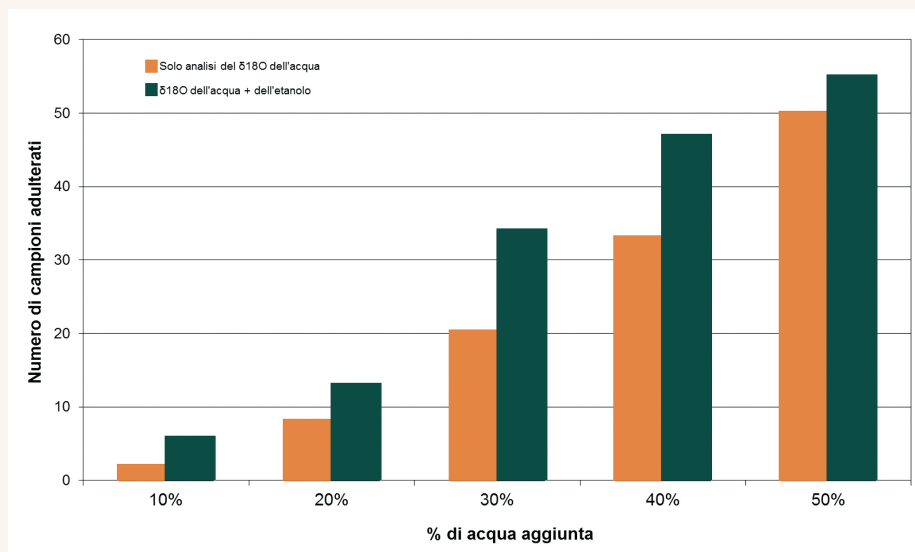
zione Mach di San Michele all'Adige (TN). Sono stato considerati inoltre 5 campioni di alcol di sintesi con purezza del 99,9%.

- Un campione di mosto concentrato rettificato (65°Brix), uno zucchero di bietola cristallino, uno di zucchero di canna cristallino, un mosto fresco (15°Brix), due vini e sei acque con differente tenore isotopico (-9.8‰, -4.0‰, -1.0‰, +2.7‰, +4.9‰, +7.2‰) sono stati utilizzati per studiare l'effetto sul rapporto  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo causato dall'acqua di fermentazione e di postfermentazione. È stata inoltre valutata la variazione del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo in seguito all'aggiunta di zuccheri diversi dall'uva.

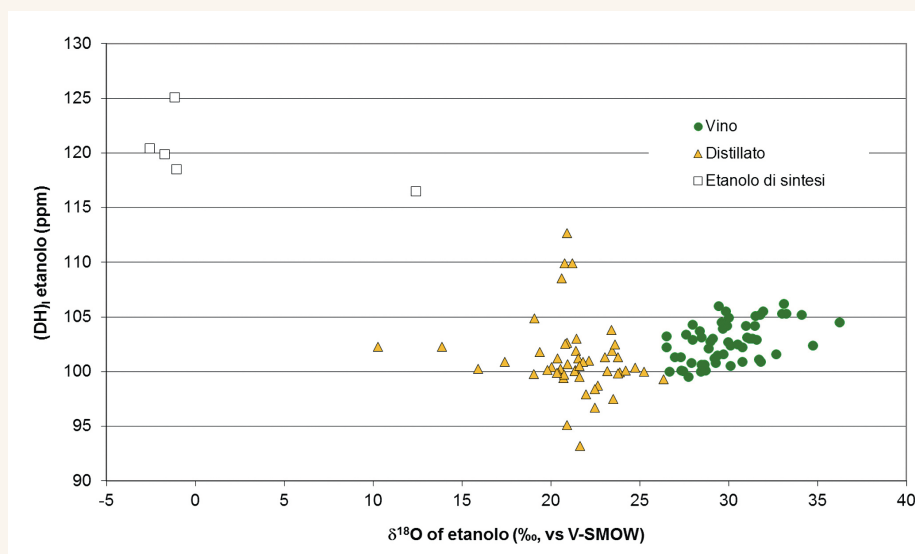
### Preparazione del campione

- L'etanolo è stato estratto dai campioni di vino, distillato e fermentato di mosto e zucchero per distillazione, tramite colonne Cadiot seguendo il metodo ufficiale per vini e distillati (OIV MA-AS-311-05, OIV-MA-BS-23). L'acqua residua è stata eliminata tramite contatto con setacci molecolari (3.2 mm pellets, UOP tipo 3A, Sigma-Aldrich) per 24 ore, seguendo il metodo descritto da Jamin *et al.* (Jamin *et al.* 2003). Per testare la procedura quantità crescenti di acqua sono state aggiunte ad etanolo assoluto confrontando poi il valore di  $\delta^{18}\text{O}$  prima e dopo il passaggio su se-

**Fig. 3** - % di identificazione dell'annacquamento del vino tramite: sola analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua o combinazione dell'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua e dell'etanolo.



**Fig. 4** - Distribuzione dei rapporti isotopici  $\delta^{18}\text{O}$  e del (D/H) dell'etanolo in campioni di diversa origine.



**Tab. 1** - Variazione del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua e dell'etanolo in due vini (A e B) a seguito dell'aggiunta di percentuali crescenti di acqua di falda.

Campione	% di acqua aggiunta	$\delta^{18}\text{O}$ acqua ‰ vs V-SMOW	$\delta^{18}\text{O}$ etanolo ‰ vs V-MOW
A	0	7.1	31.0
A	20	3.7	31.2
A	30	1.6	30.9
A	40	0.0	31.1
B	0	2.8	29.8
B	20	0.3	29.8
B	30	-1.3	29.7
B	40	-2.5	29.8

tacci. La procedura garantisce il risultato atteso se il campione contiene meno del 15% di acqua, in caso contrario è necessario eseguire più passaggi su setacci.

- Un'acqua con tenore isotopico +7,2‰ è stata ottenuta per evaporazione di acqua deionizzata a 100°C per 9 ore. Acque con tenore pari a -4,0‰, -1,0‰, +2,7‰, +4,9‰ sono state ottenute miscelando l'acqua con  $\delta^{18}\text{O}$  di +7,2 con acqua di rubinetto (-9,8‰).

- Il mosto concentrato e rettificato (65°Brix) e lo zucchero di barbabietola sono stati diluiti con sei campioni di acque a tenore crescente (da -9,8‰ a +7,2‰) e poi fermentato ad etanolo tramite lievito *Saccharomyces cerevisiae* (Lallemand Inc., Montreal, Canada) seguendo il metodo ufficiale per succhi di frutta (AOAC 995.17) e per mosti (OIV MA-AS-311-05). Quantità crescenti di zucchero di barbabietola e di canna (7 campioni con concentrazioni crescenti di zucchero da 0 gr/L a 180 gr/L) sono stati aggiunti al mosto fresco (15°Brix) e fermentati. Quantità crescenti di acqua sono state aggiunte a due campioni di vino.

### Analisi isotopica

- Il valore dei rapporti isotopici (D/H) I e  $\delta^{13}\text{C}$  dell'alcol ottenuto dal vino e dai distillati è stato determinato secondo quanto riportato nei metodi ufficiali (OIV-MA-AS-311-05, OIV-MA-BS-23, OIV-MA-AS-312-06, OIV-MA-BS-22) utilizzando la tecnica SNIF-NMR (Site-specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance) (FT-NMR AVANCE III 400, Bruker BioSpin GmbH, Karlsruhe, Germany) e IRMS (SIRA II-VGISOGAS, FISIONS, Rodano, Milano, Italy) interfacciato con un analizzatore elementare (NA 1500, Carlo Erba, Milano, Italy).

- Il rapporto isotopico D/H è stato misurato in modo sito specifico nel sito metilico e metilenico della molecola di etanolo [(D/H)I and (D/H)II] ed è stato corretto per il contenuto in metanolo e alcoli superiori (Bauer-Christoph *et al.* 1997). I valori vengono espressi in parti per milione (ppm). Il rapporto isotopico  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  è stato espresso nella scala ‰ contro lo standard internazionale V-PDB.

- Il rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  dell'acqua del vino è stata analizzata secondo quanto riportato nel metodo ufficiale OIV MA-AS2-12 utilizzando un IRMS (SIRA II VG ISOGAS, Rodano, Milano, Italy) inter-

Tab. 2 - Rapporti isotopici D/H,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo di distillati di frutta, vodka, rum, whisky a di sintesi.

		(D/H), ppm	(D/H), ppm	R	$\delta^{13}\text{C}$ ‰ vs V-PDB	$\delta^{18}\text{O}$ ‰ vs V-SMOW
Albicocca (10)	media	98.9	126.8	2.56	-26.5	21.7
	SD	2.2	3.0	0.03	0.6	1.5
	min	95.1	122.8	2.53	-27.3	19.0
	max	102.7	130.2	2.60	-25.5	23.9
Grano (1)		98.6	126.9	2.58	-26.8	23.6
Ciliegia (5)	media	100.0	128.3	2.6	-27.0	25.5
	SD	0.8	1.4	0.0	0.8	1.7
	min	99.2	126.3	2.5	-27.8	23.8
	max	101.3	129.7	2.6	-25.9	28.1
Corbezzolo (3)	min	101.8	129.5	2.5	-25.0	19.4
	max	103.8	132.4	2.6	-24.5	23.4
Lampone (1)		93.2	127.8	2.74	-28.3	21.7
Mela cotogna (2)	min	102.5	125.3	2.45	-25.1	23.6
	max	102.3	127.3	2.49	-26.7	10.3
Pera (20)	media	100.4	125.4	2.5	-27.7	21.1
	SD	0.8	1.1	0.0	0.6	2.0
	min	98.4	123.6	2.4	-28.8	15.9
	max	101.9	127.8	2.6	-26.3	24.7
Prugna (5)	media	100.7	124.8	2.5	-26.7	19.5
	SD	1.1	1.6	0.1	0.5	3.1
	min	99.5	122.2	2.4	-27.2	13.9
	max	102.3	126.3	2.5	-26.0	21.2
Sorbo (2)	min	108.5	128.2	2.36	-17.7	26.4
	max	112.7	130.2	2.31	-16.5	28.8
Rum (5)	media	110.8	124.2	2.2	-12.1	22.1
	SD	1.1	0.6	0.0	1.3	1.6
	min	109.9	123.6	2.2	-13.0	19.6
	max	112.4	125.0	2.3	-10.3	23.8
Whisky, avena (1)		98.6	124.2	2.52	-26.6	26.7
Vodka (4)	media	94.8	122.0	2.6	-26.0	24.9
	SD	0.5	0.7	0.0	0.2	2.6
	min	94.3	121.4	2.5	-26.2	22.5
	max	95.3	123.0	2.6	-25.8	28.5
Sintesi (5)	media	120.1	139.2	2.3	-30.0	1.2
	SD	3.2	2.7	0.1	1.1	6.3
	min	116.5	137.1	2.3	-31.1	-2.6
	max	125.1	142.9	2.5	-28.4	12.4

facciato con un sistema di equilibrato (Isoprep 18 VG ISOGAS). Il rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  è stato espresso nella scala  $\delta$ ‰ contro lo standard internazionale V-SMOW.

- Uno spettrometro di massa isotopica DeltaPlus-XP interfacciato con un pirolizzatore (TC-EA) (entrambi Thermo Scientific, Bremen, Germany) è stato utilizzato per l'analisi del  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  nei campioni di etanolo.
- I valori sono stati espressi rispetto allo standard internazionale V-SMOW secondo l'equazione:

$$\delta = \frac{R_{\text{campione}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}}$$

dove R è il rapporto tra l'isotopo pesante e quello leggero nel campione analizzato ( $R_{\text{campione}}$ ) o nel materiale di riferimento. Il valore in delta viene moltiplicato per mille ed espresso in unità ‰.

- Il rapporto isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  è stato corretto rispetto due differenti alcoli standard e costruendo una retta di calibrazione lineare. Il  $\delta^{18}\text{O}$  dei due standard era +17.3‰ a +36.9‰ ed era stato validato tramite un circuito interlaboratorio supervisionato da Eurofins Scientific. Un terzo alcol è stato utilizzato quale campione di controllo. Il valore corretto ottenuto per questo terzo alcol è stato riportato in una carta di controllo così da poter monitorare l'intero processo (estrazione, misura strumentale e correzione).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### $\delta^{18}\text{O}$ dell'etanolo del vino e dell'acqua

- È stata inizialmente indagata la relazione tra  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo e dell'acqua di fermentazione tramite fermentazione di un mosto concentrato e rettificato diluito con sei diverse acque con tenore isotopico crescente (Fig. 1). È stata trovata una correlazione significativa ( $r^2=1.00$ ) tra il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo e il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua. Gli atomi di ossigeno dell'etanolo derivano dall'acqua di fermentazione, che viene incorporata negli zuccheri (e quindi nell'etanolo che da essi deriva) quando il saccarosio viene convertito in monosaccaridi

**Tab. 3** - Variazione dei rapporti isotopici D/H,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo in un vino aggiunto di quantità crescenti di zucchero da barbabietola e di canna.

	gr/L zucchero aggiunto	(D/H), ppm <sup>1</sup>	(D/H), ppm <sup>1</sup>	R	$\delta^{13}\text{C}$ ‰ vs V-PDB	$\delta^{18}\text{O}$ ‰ vs V-SMOW
<b>Zucchero di barbabietola</b>	0	99.5	127.2	2.56	-26.8	27.4
	30	98.8	129.3	2.62	-26.8	27.4
	60	97.4	128.3	2.63	-26.9	27.5
	90	96.7	128.5	2.66	-27.1	27.5
	120	96.5	128.6	2.67	-26.9	27.3
	150	95.9	129.2	2.69	-27.2	27.4
	180	95.3	130.3	2.73	-27.0	27.3
<b>Zucchero di canna</b>	0	100.7	129.4	2.57	-28.1	29.1
	30	101.9	129.3	2.54	-25.8	28.2
	60	103.1	129.6	2.51	-24.1	27.0
	90	103.9	131.2	2.52	-22.9	28.4
	120	104.8	131.2	2.50	-21.8	28.3
	150	104.7	131.8	2.52	-21.1	28.3
	180	105.4	131.4	2.49	-20.1	28.4

(glucosio e fruttosio) attraverso idrolisi enzimatica e viene aggiunto al precursore dell'etanolo (acetaldeide) per formare l'intermedio acetaldeide idrato.

● Al fine di indagare questa relazione in vini autentici sono stati analizzati 69 campioni provenienti da diverse aree di produzione italiane. Il valore di  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo del vino varia da +24‰ a +36‰.

● I valori ottenuti sono più alti di quelli riportati in letteratura (Aguilar-Cisneros *et al.* 2002; Calderone, Reniero, and Guillou 2006) probabilmente a causa delle diverse aree di produzione considerate, all'anno e ai problemi già evidenziati per le tecniche utilizzate in passato (SPME e TC/EA). Comparando il valore di  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo con quello dell'acqua si può osservare una buona correlazione lineare ( $P < 0.001$ ). L'equazione ottenuta ( $\delta^{18}\text{O}$  acqua =  $0,88 \cdot \delta^{18}\text{O}$  etanolo - 22,65; **Fig. 2**) è simile a quella riportata per i succhi di frutta (Jamin *et al.* 2003). Questo significa che la correlazione è affidabile e indipendente dal tipo di matrice considerata. Questo risultato risulta particolarmente importante in quanto rende possibile l'uso di questa correlazione per il controllo di autenticità evitando la necessità di analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo di tutti i campioni di banca dati (ad esempio quella prevista dal CE 555/2008).

● È possibile stabilire un valore limite di questa relazione calcolando un intervallo di confidenza del 95% della regressione lineare secondo la seguente formula:

$y = 0,88x - 22,65 - 2 \cdot s$  dove " $y = 0,88x - 22,65$ " è il modello di regressione lineare ottenuto dai 69 campioni autentici, "2" è il t di Student e "s" è la deviazione standard dei residui (calcolati come differenza tra valore calcolato e valore osservato) che in questo caso è pari a 1,9.

● In **Tab. 1** viene dimostrato come l'aggiunta di acqua al vino finito cambi solo il rapporto isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  del vino e non quello dell'etanolo. Il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua del vino non esce dal range di variabilità definito nelle diverse banche dati ma la relazione lineare tra i due parametri non viene più rispettata. Al fine di dimostrare la possibilità di migliorare la capacità di identificazione di annacquamento tramite questa nuova tecnica, abbiamo simulato un'adulterazione dei 69 vini autentici con percentuali crescenti di acqua di fonte (da 10% a 50%) con un valore isotopico di -9‰ e calcolato il numero di campioni identificati come annacquati sulla base del solo rapporto isotopico del  $\delta^{18}\text{O}$  del vino tale quale e sulla base della relazione lineare tra i due  $\delta^{18}\text{O}$  (dell'acqua e dell'etanolo) **Fig. 3**. In tutti i casi sperimentali (da 10% a

50%) il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo migliora la capacità di identificazione dell'annacquamento del vino. Con una aggiunta del 10% di acqua questo nuovo metodo permette di aumentare l'identificazione da 3 a 10 dei 69 campioni considerati.

### $\delta^{18}\text{O}$ dell'etanolo da differenti fonti

● In **Tab. 2** sono mostrati il valore di (D/H) I,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo da distillati di frutta, rum, whisky, e di origine sintetica. Il (D/H) I e il  $\delta^{13}\text{C}$  sono compatibili con l'origine botanica degli zuccheri (ad esempio la canna da zucchero nel rum ha il caratteristico valore elevato delle piante a ciclo fotosintetico C4) (Martin *et al.* 1996). Mentre il valore di  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo tende a sovrapporsi al range di quello da uva, i campioni di frutta (eccetto la ciliegia) tendono ad essere più bassi. Una possibile spiegazione potrebbe trovarsi nel diverso tenore isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua vegetale contenuta in questi campioni. Tutti i frutti considerati mostrano infatti bassi valori di  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua vegetale.

● Considerando i distillati di frutta con valori di (D/H) I e  $\delta^{13}\text{C}$  simili a quelli del vino risulta evidente come l'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo sia in grado di migliorare la discriminazione tra etanolo da uva e da altri frutti (**Fig. 4**).

● L'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo si è dimostrata essere in grado di differenziare con chiarezza l'alcol di origine sintetica, in cui i bassi valori riscontrati possono essere attribuibili alla fase di sintesi durante la quale acqua di fonte viene aggiunta all'etilene (Schmidt, Werner, and Roßmann 2001).

● Tenendo conto della possibilità di distinguere l'origine botanica di alcune specie vegetali, in questo lavoro è stata sondata la capacità dell'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo di determinare la fraudolenta aggiunta di zuccheri esogeni al vino. È stata innanzitutto valutata la possibile relazione tra il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo e quello dell'acqua di fermentazione fermentando un campione di zucchero di barbabietola diluito con sei diverse acque a tenore isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  crescente (**Fig. 1**). Anche in questo caso si rileva una buona relazione lineare ma la pendenza delle due correlazioni lineari risulta diversa. Lo stesso andamento è stato riportato da Monsallier-Bitea *et al.* (Monsallier-Bitea *et al.* 2006) per i succhi di frutta e giustificato dal minor contenuto

di saccarosio nei mosti rispetto allo zucchero di barbabietola. L'acqua viene incorporata nello zucchero (e quindi nell'etanolo) quando il saccarosio viene convertito in monosaccaridi (Monsallier-Bitea *et al.* 2006).

- Un ultimo esperimento ha visto l'aggiunta di quantità crescenti di zucchero di barbabietola e di canna ad un mosto. In questo caso non sono presenti tracce di acqua esogena in quanto lo zucchero è stato disciolto direttamente nel mosto. In entrambi i casi (aggiunta di zucchero di barbabietola vs aggiunta di zucchero di canna) il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo non varia (**Tab. 3**).

## CONCLUSIONI

- Il valore isotopico  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo si è dimostrato essere ben correlato con il  $\delta^{18}\text{O}$  dell'acqua di fermentazione. L'analisi del  $\delta^{18}\text{O}$  dell'etanolo è in grado di migliorare l'identificazione di illecite aggiunte di acqua al vino e in alcuni casi l'origine botanica dell'etanolo (da uva, da altra frutta o di sintesi).

## BIBLIOGRAFIA

- Aguilar-Cisneros, Blanca O., Mercedes G. López, Elke Richling, Frank Heckel, and Peter Schreier. 2002. "Tequila Authenticity Assessment by Headspace SPME-HRGC-IRMS Analysis of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  Ratios of Ethanol." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (26):7520-23.
- Bauer-Christoph, C., Helmut Wachter, Norbert Christoph, Andreas Roßmann, and Ludwig Adam. 1997. "Assignment of Raw Material and Authentication of Spirits by Gas Chromatography, Hydrogen- and Carbon-Isotope Ratio Measurements." *Zeitschrift Fur Lebensmitteluntersuchung Und -Forschung A* 204 (6):445-52.
- Calderone, Giovanni, Fabiano Reniero, and Claude Guillou. 2006. "Isotopic Analysis of Ethanol: Study on  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  Measurement Using a High-Temperature Pyrolysis System Coupled to an Isotope Ratio Mass Spectrometer." *Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM* 20 (5):937-40.
- Jamin, Eric, Régis Guérin, Mélinda Rétif, Michèle Lees, and Gérard J. Martin. 2003. "Improved Detection of Added Water in Orange Juice by Simultaneous Determination of the Oxygen-18/oxygen-16 Isotope Ratios of Water and Ethanol Derived from Sugars." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (18):5202-6.
- Martin, G. G., V. Hanote, M. Lees, and Y. L. Martin. 1996. "Interpretation of Combined  $^2\text{H}$  SNIF/NMR and  $^{13}\text{C}$  SIRA/MS Analyses of Fruit Juices to Detect Added Sugar." *Journal of AOAC International* 79 (1):62-72.
- Monsallier-Bitea, Claudia, Eric Jamin, Michèle Lees, Ben-Li Zhang, and Gérard J. Martin. 2006. "Study of the Influence of Alcoholic Fermentation and Distillation on the Oxygen-18/oxygen-16 Isotope Ratio of Ethanol." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (2):279-84.
- Roßmann, A., F. Reniero, I. Moussa, H-L Schmidt, G. Versini, and M. H. Merle. 1999. "Stable Oxygen Isotope Content of Water of EU Data-Bank Wines from Italy, France and Germany." *Zeitschrift Fur Lebensmitteluntersuchung Und -Forschung A* 208 (5-6):400-407.
- Schmidt, Hanns-Ludwig, Roland A. Werner, and Andreas Roßmann. 2001. " $^{18}\text{O}$  Pattern and Biosynthesis of Natural Plant Products." *Phytochemistry* 58 (1):9-32.
- Statistical report on world vitiviculture 2012. International Organisation of Vine and Wine 2012, [http://www.uibm.gov.it/images/stories/Notizie/sintesi\\_impatto\\_contraf\\_su\\_sistema-paese.pdf](http://www.uibm.gov.it/images/stories/Notizie/sintesi_impatto_contraf_su_sistema-paese.pdf).
- Direzione generale lotta alla contraffazione. Ufficio italiano brevetti e marchi. Report 2012, [http://www.uibm.gov.it/images/stories/Notizie/sintesi\\_impatto\\_contraf\\_su\\_sistema-paese.pdf](http://www.uibm.gov.it/images/stories/Notizie/sintesi_impatto_contraf_su_sistema-paese.pdf).
- Yamada, Keita, Naohiro Yoshida, Giovanni Calderone, and Claude Guillou. 2007. "Determination of Hydrogen, Carbon and Oxygen Isotope Ratios of Ethanol in Aqueous Solution at Millimole Levels." *Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM* 21 (8):1431-37.