

UN NUOVO POLIMERO AD AZIONE DEMETALLIZZANTE: RISULTATI DI ALCUNE PROVE APPLICATIVE SPERIMENTALI

**F. Mattivi
G. Nicolini
G. Versini**

*Istituto Agrario
Dip. Laboratorio
analisi e ricerche
S. Michele all'Adige (Trento)*

L'ENOTECNICO

Organo ufficiale di stampa dell'Associazione Enologi Enotecnici Italiani
Direzione, redazione, amministrazione e pubblicità: 20149 Milano
Viale Murillo, 17 - Tel. (02) 40072460 - Sped. abb. post. Gr. III - 70%

DOCUMENTO
TECNICO

F. Mattivi
G. Nicolini
G. Versini

*Istituto Agrario
Dip. Laboratorio
analisi e ricerche
S. Michele all'Adige (Trento)*

UN NUOVO POLIMERO AD AZIONE DEMETALLIZZANTE: RISULTATI DI ALCUNE PROVE APPLICATIVE SPERIMENTALI

Si riportano - relativamente a metalli, composti volatili, patrimonio fenolico e caratteristiche del colore - le conseguenze dell'uso di un nuovo polimero vinilimidazolico (PVI) su vini bianchi e rossi, discutendo inoltre alcune nuove ipotesi applicative.

Introduzione

La necessità di intervenire con trattamenti demetallizzanti sui vini - pur indiscutibilmente diminuita negli ultimi anni di pari passo col progredire della tecnica e tecnologia enologica - non è ancora del tutto venuta meno. Il ritorno all'uso di trattamenti rameici in vigneto o gli interventi con solfato di rame sui vini in relazione alla presenza di odori solforati hanno in qualche caso determinato la

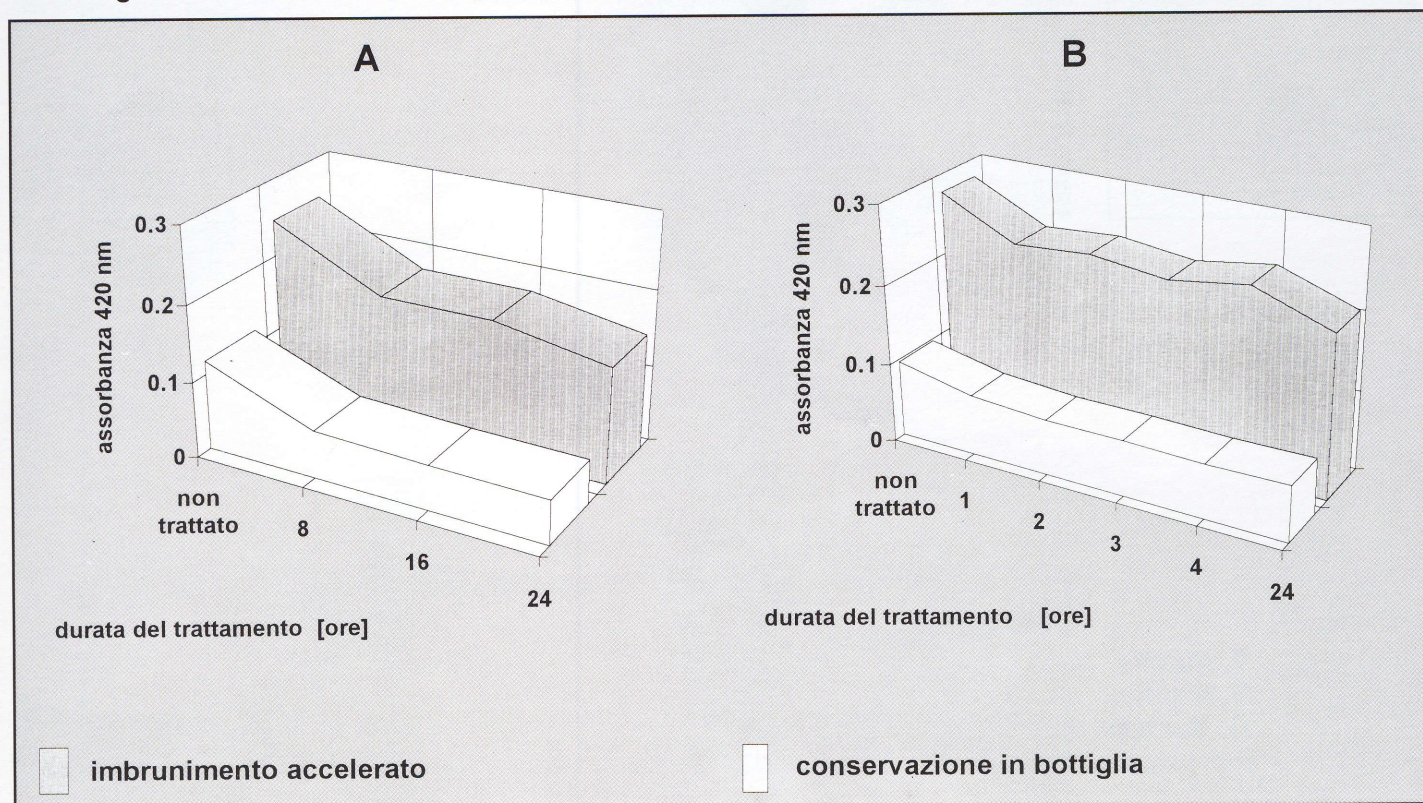
necessità di intervenire con ferrocianuro di potassio. Nei confronti di tale prodotto demetallizzante tuttavia sono state mosse a più riprese critiche ed osservazioni di natura tecnologica, tossicologica, economica ed anche di ordine burocratico molte delle quali sono state recentemente passate in rassegna da Kern e Wucherpfennig [1991]. La necessità di disporre di sostituti del ferrocianuro in effetti è largamente sentita dai tecnici del settore e ad essa la ri-

cerca è venuta incontro proponendo diversi materiali ad attività selettiva chelante nei confronti dei metalli [Kern e Wucherpfennig, 1993; Wucherpfennig, 1992; Bosso e Castino, 1994].

La copolimerizzazione per reazione di poliaddizione di tipo radicalico a schema lineare (cosiddetta "proliferante" o "popcorn") di 1-vinilimidazolo con 1-vinilpirrolidone, condotta in ambiente acquoso ed avviata termicamente, ha fornito uno dei po-

Nella foto da sinistra: G. Versini, F. Mattivi, G. Nicolini

Fig. 1
Variazioni della colorazione (d.o. 420 nm) di due partite di vino bianco trattato per tempi diversi con 30 g/hL di PVI, misurate dopo test di conservazione e di imbrunimento accelerato



Legenda: A = scala industriale (PROVA I); B = scala semi-industriale (BIANCO-TQ)

limeri di più recente sviluppo e sperimentazione (PVI), in grado di svolgere nel vino una selettiva azione complessante nei confronti dei metalli pesanti (Cu, Fe, Pb, Zn, Al). I metalli alcalini ed alcalino terrosi (K, Na, Ca, Mg) non vengono influenzati da questo tipo di trattamento, come pure, di conseguenza, il contenuto in ceneri, mentre invece è stata osservata una contenuta asportazione di acido tartarico [Fussnegger et al., 1992a]. L'azione complessante si manifesta attraverso un meccanismo di associazione donatore-accettore tra il doppietto elettronico dell'azoto eterociclico dell'imidazolo ed il catione metallico [Fussnegger et al., 1992b]. L'efficacia del polimero nella rimozione di metalli è maggiore, a parità di dosaggio, nei vini bianchi rispetto ai vini rossi, in conseguenza del fatto che i metalli in soluzione possono essere diversamente complessati con gli acidi organici e con i composti fenolici del vino.

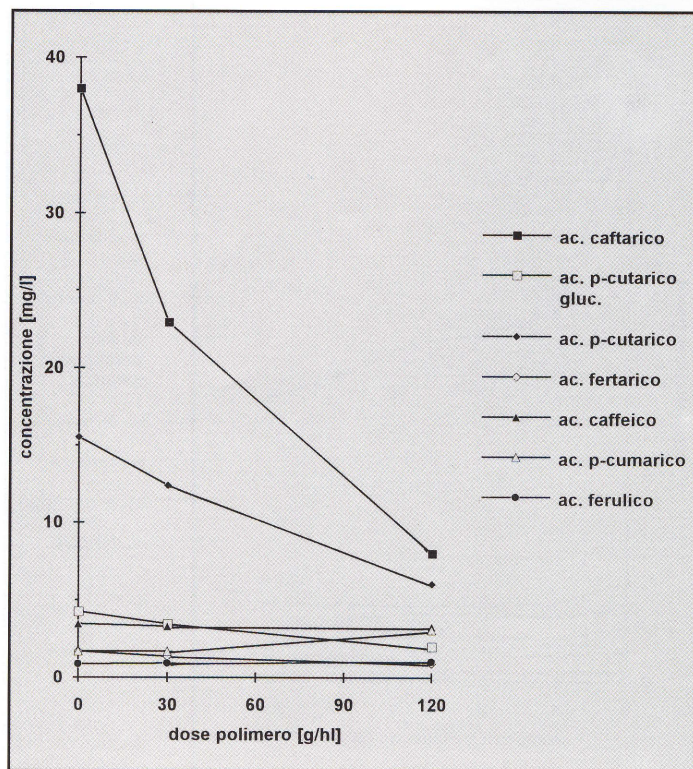
E' stato dimostrato che

l'efficacia della rimozione può essere diversa in funzione della possibilità dei metalli di associarsi in maniera variabile con i composti organici del vino. Ad esempio le rese di asporto degli ioni ferroso e ferrico crescono all'aumentare del pH e, nel caso del Fe(III), è stata evidenziata una certa influenza dell'acido tartarico, capace in soluzioni sintetiche (molto meno nel vino) di associarsi al metallo riducendone l'asportazione [Fussnegger et al., 1992a, 1992b].

In questo lavoro sperimentale, nel contesto di alcune prove in scala semi-industriale ed industriale per verificare l'efficacia del prodotto, si sono approfonditi alcuni aspetti analitici per cercare di stabilire se, parallelamente alla funzione di chelante per i metalli, il PVI avesse anche capacità adsorbenti più o meno selettive nei confronti di altri componenti del vino, in particolare dei composti volatili e dei composti fenolici. Infatti il

PVI contiene al suo interno due tipi di strutture funzionali, quella dominante di tipo imidazolico il cui ruolo nel confronto di queste famiglie di composti del vino non è stato ancora oggetto di approfondite verifiche, e quella minoritaria di tipo pirrolidone, comune ad altri coadiuvanti ad alta capacità di interazione con i composti fenolici, quali in particolare il PVPP che è in grado di interagire con tutti i composti fenolici e presenta una certa specificità verso le catechine e più in generale dei flavani [Glories, 1976; Somers et al., 1987; Cantarelli e Mantovani, 1988; Cantarelli et al., 1989]. Le variazioni di contenuto in polifenoli totali e di densità ottica a 420 nm ottenibili mediante il trattamento di vini bianchi con copolimeri di questa natura segnalati nei lavori di Fussnegger e coll. [1992b] sembrano in effetti dipendere in una certa misura dai rapporti stechiometrici tra unità vinil-imidazolo e vinil-pirrolidone.

Fig. 2
Rimozione degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici in funzione del dosaggio di polimero, su un vino rosso, in scala semi-industriale (ROSSO 2 e ROSSO 3, media di due trattamenti)



Materiali e metodi

1. Prove in scala semi-industriale. Nel mese di giugno 1993, una massa omogenea di 300 litri di vino rosso è stata divisa in tre parti (siglate ROSSO 2, ROSSO 3 e ROSSO 4) su cui si è intervenuti aggiungendo solfato di rame pentaidrato in quantità differenti. Le frazioni ROSSO 2 e ROSSO 3 sono state successivamente divise in due ulteriori frazioni la prima delle quali a costituire il testimone tal quale (TQ) e la seconda (FE) addizionata di ferro sotto forma di cloruro di ferro trivalente.

Si è provveduto quindi all'aggiunta del PVI alla dose di 30 g/hL sulle tesi ROSSO 2-TQ e ROSSO 2-FE e di 120 g/hL sulle tesi ROSSO 3-TQ, ROSSO 3-FE e ROSSO 4. Tutte le tesi, indipendentemente dall'aggiunta o meno del polimero, hanno subito la stessa agitazione della massa di vino per evitare l'insorgere

di differenze imputabili al livello di arieggiamento subito. A distanza di 1-2-3-4 e 24 ore dal trattamento, ogni singolo vino è stato rimescolato e si è provveduto al campionamento ed immediata centrifugazione del campione da sottoporre all'analisi. Un campione non centrifugato è stato prelevato anche alla sfeciatura del vino dopo 2 giorni e mezzo di chiarifica statica, ciò con l'obiettivo di avvicinarsi maggiormente ad una ipotetica modalità di utilizzo del polimero a livello di cantina. Una trafila di utilizzazione del polimero analoga è stata seguita per il vino bianco (siglato BIANCO). Anche per questo esiste una prova in doppio su un testimone tal quale (TQ) ed un campione addizionato di Fe (FE).

2. Prove in scala industriale. Nel mese di febbraio 1993 sono state eseguite due prove di trattamento (PROVA I e II) da una stessa massa di partenza di vino bianco, aggiunta di 2 g/hL di CuSO_4 .

La terza prova (PROVA III) è stata effettuata su una vasca di Pinot nero, anch'essa aggiunta di 2 g/hL di CuSO_4 .

La quarta prova (PROVA IV) è stata eseguita su una massa di 30 hL di vino bianco, nel mese di giugno 1993.

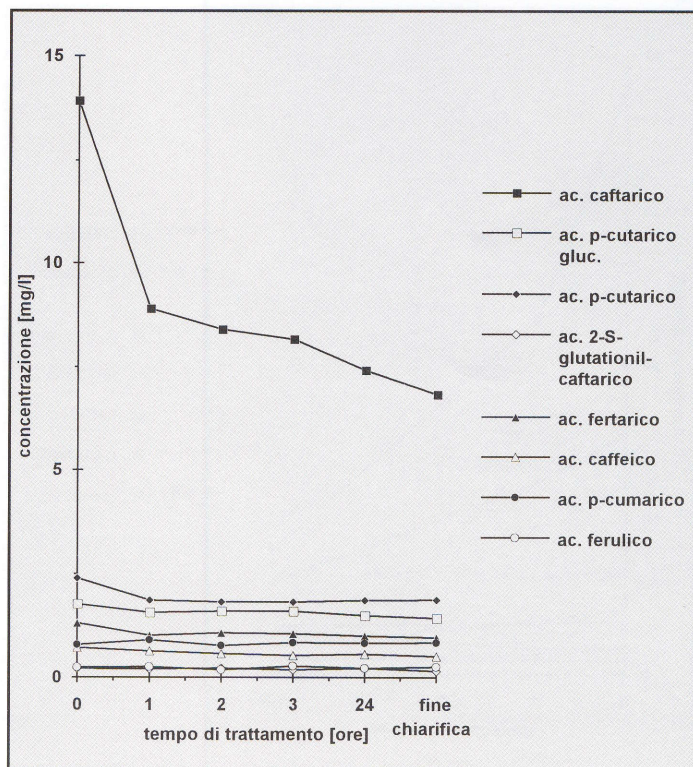
Il livello di PVI è stato di 30 g/hL per ciascuna prova. Il polimero è stato disperso in acqua e immesso dall'alto della vasca con la massa sotto agitazione. Si è mantenuta l'agitazione per circa 30'. Ad intervalli regolari è stata riattivata l'agitazione per 5', subito prima che una parte della massa venisse filtrata su farina fossile rosa.

3. Polimero attivo. Il campione di PVI per la sperimentazione, avente un rapporto di funzioni imidazolo rispetto alle funzioni pirrolidone pari a 9:1, è stato messo a disposizione dalla BASF A.G., Ludwigshafen. Si trattava di un lotto preliminare, chimicamente identico, ma a granulometria meno fine e quindi a potere chelante inferiore, rispetto al prodotto finale ottimizzato che prenderà il nome commerciale di "Divergan HM".

4. Analisi. L'analisi degli antociani liberi per iniezione diretta in HPLC dei vini tal quali, dopo filtrazione, è stata effettuata nelle condizioni strumentali già riportate [Mattivi et al., 1989]. La quantificazione è stata condotta sulle aree a 520 nm, col metodo dello standard esterno, esprimendo i dati come malvidina-3-monoglucoside, mg/L (Extrasynthese).

L'analisi degli acidi idrossicinnamiltartarici e degli acidi idrossicinnamici nel vino è stata condotta per HPLC, iniettando direttamente i campioni filtrati non diluiti nelle condizioni strumentali già riportate [Nicolini et al., 1991]. Le curve di calibrazione per la quantificazione degli acidi liberi, a 320 nm, sono state costruite con i rispettivi composti di sintesi, mentre gli esteri tartarici, di cui non è reperibile lo standard commerciale, sono stati dosati come acido caffeico, mg/L.

Fig. 3
Rimozione degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici in funzione del tempo di contatto con il polimero (30 g/hL), su un vino bianco, in scala semi-industriale (BIANCO-TQ)



Le analisi spettrofotometriche sui polifenoli sono state effettuate secondo le metodiche spettrofotometriche descritte in precedenti lavori [Mattivi et al., 1991].

L'analisi dei composti volatili è stata condotta su alcune partite della sperimentazione, limitatamente ai campioni iniziali e finali di ciascun trattamento. Il campione - 350 mL di vino, aggiunti di 250 µg/L di 1-eptanolo come standard interno - è stato preparato attraverso una estrazione in continuo per 10 ore con pentano/CH₂Cl₂ (2/1 v/v), secondo il metodo riportato da Drawert e Rapp [1968] e dettagliato in Margheri e Versini [1979].

Si è poi proceduto alla quantificazione per via gascromatografica secondo il succitato metodo. Si riportano i dati relativi ad una parte dei composti volatili, scelti in modo da risultare esemplificativi di alcune categorie di sostanze a diverse proprietà chimico-fisiche. Le

prove di imbrunimento accelerato dei vini bianchi sono state condotte per tre settimane a 50°C come descritto da Simpson [1982].

Discussione del lavoro

1. Conseguenze sul contenuto in rame e ferro. I livelli dei metalli presenti nelle diverse partite analizzate ad inizio e fine trattamento sono riscontrabili in Tab. 6. Tutte le prove effettuate hanno condotto ad una sensibile asportazione dei metalli - variabile da prova a prova, ma comunque sempre superiore al 60% per il rame e tra il 30% ed il 90% ca. per il ferro - con rese di asporto migliori nei vini bianchi (Tab. 6a) rispetto ai rossi (Tab. 6b), a parità di dosaggio di polimero e per contenuti metallici equivalenti. Le cinetiche di rimozione (non riportate) sono del tutto analoghe a quelle già riscontrate da altri autori [Fussneger et al, 1992a], con riduzio-

ne dei contenuti in metalli crescente con il tempo di contatto e le modalità di agitazione, mostrando comunque un primo sostanziale abbattimento già nelle fasi iniziali della lavorazione.

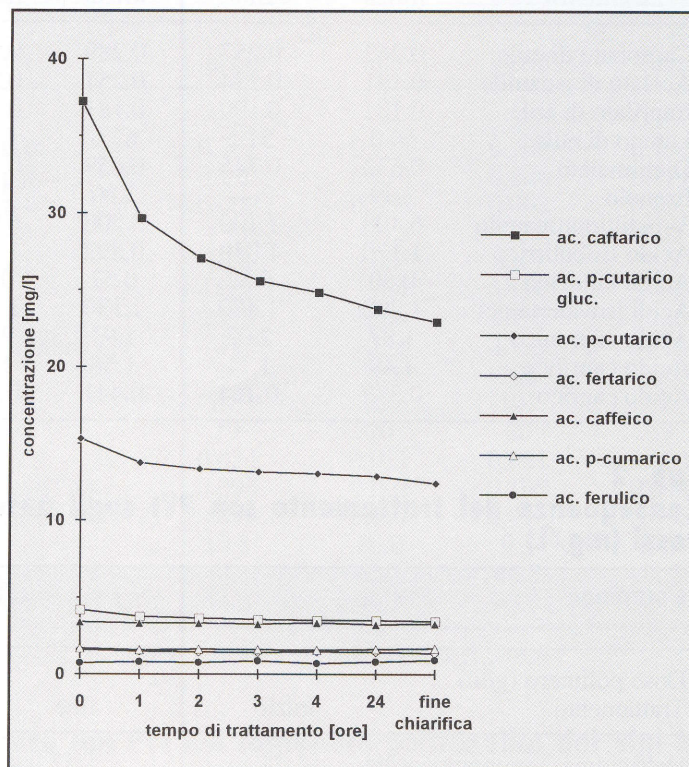
2. Conseguenze sui composti volatili. I risultati analitici relativi alle prove condotte in scala semi-industriale sul vino rosso arricchito con ferro e/o rame e trattato con dosi diverse di PVI (campioni siglati ROSSO 2, ROSSO 3, ROSSO-4) sono riportati esemplificativamente in Tab. 1, limitatamente ad alcune categorie di sostanze scelte in base alle diverse proprietà chimico-fisiche. E' possibile rilevare soltanto una ridottissima differenza fra prove trattate e non trattate, relativamente ai livelli del 3-metilpropanolo e di alcuni degli acidi grassi (isobutirrico, capronico ed acidi isovalerianici). Non si rilevano differenze a carico degli altri composti analizzati, compresi i restanti acidi grassi. Il fatto che l'entità delle variazioni assolute misurate sia estremamente esigua, nell'ordine di grandezza della ripetibilità dell'analisi stessa, supporta l'ipotesi che il polimero, anche in dosi massicce d'impiego, non alteri in modo significativo il quadro analitico delle categorie di composti volatili solitamente dosati nel vino.

L'aroma del vino è tuttavia risultato migliorato, probabilmente per asportazione di complessi del rame aggiunto con composti solforati.

3. Conseguenze sugli antociani e sul colore dei vini rossi. L'insieme delle prove eseguite in scala industriale e semi-industriale, su vini bianchi e rossi, ci permette di trarre una serie di osservazioni.

Gli antociani monomeri (Tab. 2), analizzati su due partite dello stesso vino rosso (ROSSO 2-TQ e FE), subiscono in conseguenza del trattamento con 30 g/hL di PVI un abbattimento complessivamente limitato, dell'ordine del 5-9%. Il profilo antocianico resta sostanzialmente invariato.

Fig. 4
Rimozione degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici in funzione del tempo di contatto con il polimero (30 g/hL), su un vino rosso, in scala semi-industriale (ROSSO 2-TQ)



zialmente immutato nel trattamento, non emergendo dalla prova rimozioni preferenziali a carico delle singole antociane libere.

L'analisi spettrofotometrica degli antociani totali e degli antociani liberi sugli stessi vini segnala una asportazione irrilevante degli antociani totali (entro l'1.4%), mentre gli antociani liberi mostrano una asportazione più elevata (6.5%) in uno dei due vini (Tab. 3).

La densità ottica a 520 nm subisce un decremento dell'ordine del 5% in entrambi i vini, in accordo con la variazione del contenuto antocianico e con il leggero incremento di pH.

Gli indici di Glories sullo stato di combinazione del colore forniscono l'andamento dell'asportazione delle famiglie di antociani e polimeri tannini-antociani in seguito al trattamento. Sembra che vengano asportati in maniera leggermente superiore i pigmenti dati da combinazione tannini-antociani decolorabili dalla

solforosa (dTA, dTA%), ma tale interpretazione va fatta con cautela, dal momento che le variazioni misurate risultano essere estremamente limitate, vicine al limite di riproducibilità intrinseca dei dati, e tali comunque da non rivestire alcuna pratica importanza tecnologica.

I dati analitici riguardanti gli antociani trovano conferma nei dati tradizionali di intensità colorante - ridotta mediamente del 5% nelle due prove - e della nuance, sostanzialmente inalterata.

L'insieme delle conclusioni desunte dai dati spettrofotometrici ora discussi si conferma, con minime variazioni, anche in scala industriale su vino Pinot nero (prova III), trattato con eguale dose di polimero (Tab. 3). Nella prova in oggetto, i dati relativi alla cinetica (non riportata) indicano che l'azione del polimero su questi composti si è compiutamente manifestata già dopo due ore dall'inizio del trattamento.

In conclusione, in associa-

zione con questi livelli di trattamento (30 g/hL) si è riscontrata sui vini rossi una riduzione di intensità colorante di entità limitata e di poca o nessuna rilevanza pratica, mentre il bilancio tra le varie famiglie di pigmenti monomeri e polimeri è rimasto inalterato e non differenziabile tra i vini prima e dopo il trattamento.

4. Conseguenze sul colore dei vini bianchi. Le prove condotte sui vini bianchi, sia in scala semi-industriale che industriale, hanno portato ad una notevole diminuzione della d.o. a 420 nm, tale da poter contribuire a ridurre significativamente l'entità della colorazione dei vini (Tab. 4). Questo effetto sopravanza l'incremento di colorazione che si osserva quando ai vini vengono aggiunte tracce di sali di ferro (permettendo quindi di ottenere una densità ottica finale a 420 nm inferiore a quella della massa iniziale senza metalli aggiunti) e si è rivelato duraturo, trovando piena conferma alla verifica effettuata nel maggio 1994 per tutti i campioni, dopo un periodo di conservazione in bottiglia compreso tra 8 e 15 mesi per le varie prove (Tab. 5). Tale effetto si manifesta pressochè interamente già al primo campionamento, su tutte le prove, come esemplificato nella Fig. 1.

I campioni post-trattamento da una stessa partita di vino si situano all'incirca allo stesso livello di colorazione, indipendentemente dal fatto che provenissero da vini preventivamente aggiunti o meno di ferro.

I dati ottenuti sugli stessi vini sottoposti ad una fase di imbrunimento accelerato (Tab. 5 e Fig. 1) permettono di stimare il massimo grado di colorazione sviluppabile. Questo dato, sebbene non rappresentativo delle reali condizioni di lavorazione e stoccaggio del vino, risulta ben correlato all'imbrunimento ottenibile con la normale conservazione [Simpson, 1982]. Anche dopo questo test estremo i campioni trattati con PVI presentano un grado di imbrunimento variabile da

Tab. 1
Analisi gascromatografica dei composti volatili (mg/L) su vini trattati in scala semi-industriale con PVI (30 e 120 g/hL)

Campione Trattamento	rosso-2		rosso-3		rosso-4	
	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
Capronato di etile	0.262	0.257	0.289	0.254	0.287	0.295
Acetato di isoamile	0.191	0.224	0.257	0.253	0.228	0.232
Caprilato di etile	0.181	0.190	0.181	0.166	0.199	0.188
Lattato di etile	56.0	51.5	62.0	62.5	51.0	59.0
Dietilmalato	0.632	0.745	0.659	0.724	0.680	0.664
Esanolo	2.39	2.44	2.60	2.76	2.44	2.59
3-metiltiopropanololo	6.400	7.100	5.200	6.900	5.600	7.400
Acido isobutirrico	1.170	1.330	0.892	1.430	0.877	1.380
Acido butirrico	0.80	0.82	0.57	0.88	0.62	0.87
Acidi isovalerianici	1.290	1.400	1.130	1.395	1.140	1.450
Acido capronico	1.87	2.02	1.91	2.09	1.99	2.07
Acido caprilico	1.49	1.71	1.58	1.72	1.73	1.68
Acido caprico	0.372	0.464	0.441	0.480	0.572	0.441

Tab. 2
Conseguenze del trattamento con PVI sugli antociani monomeri dei vini rossi (mg/L)

Campione Trattamento	TQ		Rosso 2		FE	
	inizio	30	fine	inizio	30	fine
Dose polimero (g/hl)		30			30	
Delfinidina-3-monoglucoside	1.78		1.52	1.57	1.45	
Cianidina-3-monoglucoside	tracce		tracce	tracce	tracce	
Petunidina-3-monoglucoside	3.35		3.12	3.42	2.72	
Peonidina-3-monoglucoside	11.35		10.75	10.58	10.56	
Malvidina-3-monoglucoside	46.52		42.94	44.79	42.68	
Somma esteri acetici	7.38		6.05	7.00	6.59	
Somma esteri cinnamici	2.39		1.67	1.75	1.99	
Antociani liberi totali	72.77		66.05	69.11	65.99	

vino a vino, ma sempre marcatamente ridotto rispetto ai corrispondenti vini non trattati.

Si è propensi a ritenere, in conclusione, che la riduzione dell'intensità colorante dei vini bianchi sia imputabile ad una sommatoria di effetti quali l'abbattimento dei contenuti in metalli di transizione, notoriamente catalizzatori di ossidazione, abbinata all'asportazione, di cui si discuterà di seguito, di specifici composti fenolici a forte reattività autossidativa.

5. Conseguenze sui polifenoli totali e sui tannini. I polifenoli totali dosati per via spettrofotometrica mostrano, relativamente ai vini rossi ed in conseguenza del trattamento con PVI a 30 g/hL, rimozioni di poco superiori al 3%

nelle prove in scala semi-industriale e dell'ordine dell'8% nella prova in scala industriale (Tab. 3). Nei vini bianchi, eguali livelli di trattamento provocano asportazioni percentualmente maggiori, aggirantisi attorno al 13-15% (Tab. 4).

L'analisi spettrofotometrica delle proantocianidine per trasformazione ad antocianidine a caldo non permette di ricavare indicazioni di tendenza chiare nei vini rossi (Tab. 3), in quanto eventuali variazioni sono contenute entro la riproducibilità del dato analitico. Nei vini bianchi delle nostre prove (Tab. 4), il contenuto di questa classe era già in partenza irrisorio (dell'ordine di 3-4 mg/L) o nullo, per cui la rimozione di questa classe di composti nei vini bianchi dovrà essere chiarita da ulteriori

prove.

Indicazioni più chiare si possono desumere dal dosaggio di catechine e proantocianidine reattive alla vanillina, per le quali emerge una rimozione tendenzialmente più spinta per i vini bianchi. L'asportazione è risultata particolarmente efficace nella prova condotta sul vino bianco a più alto tenore iniziale di catechine (prova IV). Complessivamente, prendendo in considerazione sia i vini rossi che i bianchi, i dati sembrano indicare una tendenza alla asportazione dei composti tannici reattivi alla vanillina maggiore rispetto a quella dei polifenoli totali. Si potrebbe ipotizzare che le catechine - orto difenoli di basso peso molecolare - potrebbero trovare forse dei meccanismi preferenziali di interazione

Tab. 3
Conseguenze del trattamento con PVI sul contenuto polifenolico dei vini rossi

Campione	ROSSO 2				PROVA III	
	TQ		FE		30	
Dose polimero (g/hl)	30		30		30	
Trattamento	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
pH	3.82	3.87	3.82	3.87	3.42	3.47
Assorbanza a 420 nm, 1 mm di p.o.	0.201	0.192	0.204	0.194	0.094	0.084
Assorbanza a 520 nm, 1 mm di p.o.	0.220	0.210	0.224	0.211	0.085	0.080
Assorbanza a 620 nm, 1 mm di p.o.	0.060	0.058	0.062	0.059	0.019	0.015
Intensità colorante (10 mm di p.o.)	4.21	4.02	4.28	4.05	1.79	1.64
Nuance	10.8	10.2	11.3	9.6	-5.1	-2.3
Polifenoli totali (1)	1828	1764	1831	1772	625	575
Proantocianidine (2)	2095	1866	1816	1930	265	306
Proantocianidine, reazione con vanillina (1)	1411	1271	1350	1315	303	234
Antociani totali (3)	208	205	208	207	64	62
Antociani liberi (3)	107	100	101	100	29	25
Anidride solforosa libera (mg/l)	19	20	20	19	8	7
Antociani liberi, (dAL)	0.024	0.021	0.021	0.022	0.010	0.009
Antociani combinati decolorabili, (dTA)	0.098	0.092	0.105	0.094	0.037	0.038
Antociani combinati non decolorabili, (dTAT)	0.099	0.097	0.098	0.096	0.038	0.033
Antociani liberi, (dAL%)	10.8	10.0	9.5	10.3	11.3	10.8
Antociani combinati decolorabili, (dTA%)	44.3	43.7	46.8	44.3	43.7	47.7
Antociani combinati non decolorabili (dTAT%)	44.9	46.3	43.8	45.4	44.9	41.5

Legenda: 1= mg/L (+)-catechina; 2= mg/L cianidina; 3=mg/L malvidina-3-monoglucoside

Tab. 4
Conseguenze del trattamento con PVI sul contenuto polifenolico dei vini bianchi

Campione	BIANCO				PROVA IV	
	TQ		FE		30	
Dose polimero (mg/l)	30		30		30	
Trattamento	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
Assorbanza a 420 nm, 10 mm di p.o.	0.087	0.073	0.106	0.070	0.100	0.050
Polifenoli totali (1)	91	77	93	81	63	53
Proantocianidine (2)	tracce	tracce	tracce	tracce	0	0
Proantocianidine, reazione con vanillina (1)	11	5	6	7	28	17

Legenda: 1= mg/L (+)-catechina; 2= mg/L cianidina

col polimero. I dati però non sono perfettamente concordi tra le diverse prove, per cui tale effetto dovrà essere confermato da ulteriori approfondimenti e verifiche.

6. Conseguenze sui composti cinnamici. L'analisi HPLC per iniezione diretta degli acidi idrossicinnamiltartarici (ICT) sui diversi vini, bianchi e rossi, nelle due scale, mostra un decremento mediamente più elevato di questa famiglia di composti rispetto alle altre sopra viste. Esso risulta tendenzialmente maggiore nelle prove su vino bianco rispetto a quelle su vino rosso e variabile da tesi a tesi - in relazione alla compo-

sizione del vino - dal 20 al 40% circa per i trattamenti con 30 g/hL di PVI (Tab. 6).

Il trattamento dei vini rossi in scala semi-industriale a livelli di 120 g/hL mostra una rimozione complessiva degli ICT vicina al 60%, doppia di quella che si era ottenuta sullo stesso vino trattato con 30 g/hL, indicando che la rimozione dipende dal dosaggio, ma non in misura lineare (fig. 2).

La rimozione interessa essenzialmente gli acidi cinnamici esterificati piuttosto che le forme libere: emerge dai dati un assorbimento nettamente preferenziale dell'acido *trans*-caffeiltartarico rispetto agli altri, acido caffe-

co libero compreso (Figg. 3 e 4). Il fatto è sistematicamente confermato da tutte le prove, ed è quindi considerabile come acclarato e non sembra riconducibile ad un mero effetto di azione di massa. Nelle prove condotte in scala semi-industriale abbiamo assistito ad una asportazione di acido *trans*-caffeiltartarico crescente con il tempo di contatto, come mostrato dalle figure sopra citate, mentre nelle prove in dimensione industriale l'asportazione di ICT era sostanzialmente completa già al primo campionamento.

La selettività di questo materiale polimerico verso l'acido caffeiltartarico deve essere ricondotta alla funzione imi-

Tab. 5
Intensità della colorazione dei vini bianchi (d.o. 420 nm, 10 mm p.o.) dopo conservazione in bottiglia e dopo test di imbrunimento accelerato (livello di trattamento = 30 g/hL)

Campione	BIANCO		FE		PROVA I		PROVA II		PROVA IV	
	TQ									
Trattamento	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
Conservazione in bottiglia	0.097	0.071	–	0.067	0.118	0.058	0.118	0.073	0.087	0.056
Imbrunimento accelerato	0.278	0.206	–	0.235	0.247	0.152	0.247	0.159	0.303	0.238

Tab. 6a
Variazione dei contenuti degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici e dei metalli in conseguenza del trattamento con PVI (30 g/hL) in scala industriale e semi-industriale di vini bianchi

Campione	BIANCO		FE		PROVA IV	
	TQ					
Dose polimero (g/hl)	30		30		30	
Trattamento	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
Rame (mg/l)	1.10	0.13	1.15	0.17	1.30	0.16
Ferro (mg/l)	0.96	0.16	2.46	0.40	2.66	0.26
Assorbanza a 320 nm, 1 mm di p.o.	0.359	0.253	0.361	0.253	0.185	0.137
Ac. transcaffeil tartarico	13.93	6.83	14.20	6.77	2.05	1.13
Ac. p-cumaril tartarico gluc.	1.77	1.43	1.86	1.45	0.90	0.73
Ac. p-cumaril tartarico	2.40	1.87	2.19	1.81	0.78	0.73
Ac. trans-2-S-glutation.-caftar.	0.21	0.15	0.33	0.18	1.08	0.71
Ac. ferulil tartarico	1.31	0.96	1.03	0.95	1.10	1.02
Ac. caffeico	0.72	0.51	0.76	0.55	0.00	0.00
Ac. p-cumarico	0.79	0.84	0.74	0.82	0.25	0.25
Ac. ferulico	0.24	0.25	0.33	0.21	0.15	0.15
ICT totali	21.37	12.84	21.44	12.74	6.31	4.72
Somma caffeici	14.86	7.49	15.29	7.50	3.13	1.84
Somma cumarici	4.96	4.14	4.79	4.08	1.93	1.71
Somma ferulici	1.55	1.21	1.36	1.16	1.25	1.17

Tab. 6b
Variazione dei contenuti degli acidi idrossicinnamiltartarici ed idrossicinnamici e dei metalli in conseguenza del trattamento con PVI (30 g/hL) in scala industriale e semi-industriale di vini rossi

Campione	ROSSO 2		FE		ROSSO 3		FE		PROVA III	
	TQ				TQ					
Dose polimero (g/hl)	30		30		120		120		30	
Trattamento	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine	inizio	fine
Rame (mg/l)	0.94	0.25	0.94	0.28	4.03	0.51	4.29	0.52	4.97	1.96
Ferro (mg/l)	3.35	1.72	4.91	2.64	2.48	0.79	4.71	1.74	2.27	1.64
assorbanza a 320 nm, 1 mm di p.o.	1.528	1.283	1.529	1.290	–	–	–	–	0.781	0.675
Ac. transcaffeil tartarico	37.26	22.91	37.83	22.75	34.93	8.01	–	7.76	10.81	7.20
Ac. p-cumaril tartarico gluc.	4.19	3.45	4.34	3.42	3.60	2.03	–	1.87	2.28	1.94
Ac. p-cumaril tartarico	15.32	12.41	15.52	12.39	12.61	6.03	–	5.94	8.31	6.73
Ac. trans-2-S-glutation.-caftar.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	–	0.00	0.00	0.00
Ac. ferulil tartarico	1.61	1.36	1.64	1.36	1.55	0.93	–	0.93	0.55	0.59
Ac. caffeico	3.41	3.30	3.50	3.24	3.82	3.31	–	3.39	1.03	0.97
Ac. p-cumarico	1.68	1.68	1.73	1.70	1.91	3.09	–	3.04	0.88	1.03
Ac. ferulico	0.74	0.93	0.75	0.89	0.87	1.02	–	0.97	0.54	0.59
ICT totali	64.21	46.04	65.31	45.75	59.29	24.42	–	23.90	24.40	19.05
Somma caffeici	40.67	26.21	41.33	25.99	38.75	11.32	–	11.15	11.84	8.17
Somma cumarici	21.19	17.54	21.59	17.51	18.12	11.15	–	10.85	11.47	9.70
Somma ferulici	2.35	2.29	2.39	2.25	2.42	1.95	–	1.90	1.09	1.18

dazolica, perchè non è stata riscontrata in analoghe prove condotte con il PVPP (Ranconi, 1993). Più difficile è ipotizzare un meccanismo perchè l'acido caffeico è un orto difenolo, e come tale potrebbe trovare meccanismi di interazione preferenziale con l'azoto imidazolico, però in tal caso si potrebbero attendere variazioni concomitanti dell'acido caffeico libero. Invece tale asportazione preferenziale è limitata all'estere tartarico, e quindi va probabilmente ricondotta ad una interazione più complessa, che probabilmente coinvolge più di un azoto imidazolico.

7. Considerazioni applicative. Alla luce di quanto riportato, è opportuno valutare le possibili implicazioni pratiche connesse con le asportazioni di alcune classi di composti nei vini bianchi conseguentemente al trattamento demetallizzante con PVI. In linea di massima si è portati a considerare favorevolmente una parziale rimozione dei composti reattivi alla vanillina in quei vini che presentano contenuti particolarmente elevati. Tali composti possono andare infatti incontro a reazioni ossidative, più intense in presenza di metalli pesanti quali il ferro, che possono far mutare l'iniziale colore paglierino chiaro in un giallo dorato carico, tipico dei vini ossidati [Margheri et al., 1980].

Il legame tra contenuto di catechine ed imbrunimento è ampiamente dimostrato, come pure è stato osservato che sia la sottrazione di catechine, sia il collaggio con ferrocianuro siano in grado di indurre una marcata stabilizzazione del colore nei confronti dell'imbrunimento [Pallotta e Cantarelli, 1979].

Anche i derivati caffeici sono tra i composti ritenuti potenzialmente in grado di giocare un ruolo in alcuni casi di instabilità del colore dei mosti e dei vini bianchi, a causa della loro elevata reattività. L'acido caffeiltartarico è infatti coinvolto ampiamente nelle ossidazioni enzimatiche, dato che risulta essere il sub-

strato fenolico preferenziale della polifenolossidasi dell'uva [Gunata e Moutounet, 1988; Dubernet e Ribereau-Gayon, 1973], ed è ossidabile anche ad opera della laccasi. Lo stesso composto (e suoi analoghi) e le catechine e le proantocianidine si ossidano secondo meccanismi accoppiati, in presenza dell'enzima polifenolossidasi [Cheynier e al., 1988 e 1989; Cheynier e Ricardo da Silva, 1991; Oszmianski e Lee, 1990].

La velocità di formazione di prodotti di ossidazione e di condensazione (polimeri flavanici e/o copolimeri flavanici-cinnamici) da parte delle catechine, e ancora più delle proantocianidine dimere, è notevolmente accelerata in presenza di acido caffeiltartarico, e in misura dipendente dalle concentrazioni di quest'ultimo. I potenziali redox sono infatti nell'ordine: epicatechina gallata < proantocianidina < GRP < epicatechina, catechina < acido caffeiltartarico [Cheynier et al., 1988]. Le reazioni enzimatiche ossidative dell'acido caffeiltartarico possono portare alla formazione di polimeri giallastri mentre in presenza di glutazione sono bruno rossastri [Cheynier e Van Hulst, 1988; Moutounet et al., 1989]. I prodotti di ossidazione delle catechine tendono ad essere bruni, intensamente colorati, e molto meno solubili di quelli derivanti dalla ossidazione dei composti caffeici o della miscela dei due [Oszmianski e Lee, 1990].

Le reazioni che però possono dare le conseguenze più indesiderate - in quanto capaci di decorrere in qualche caso sul prodotto imbottigliato con conseguente rilevante danno economico - sono quelle in grado di causare imbrunimenti dei vini bianchi per via autossidativa. E' infatti dimostrato che l'acido caffeico, a causa del suo gruppo funzionale orto-difenolo e della catena laterale insatura, possiede una elevata capacità di partecipare a reazioni autossidative non enzimatiche dipendenti dal pH. Il meccanismo di reazione porta rapidamente a prodotti bruni, sen-

za bisogno di formare grossi polimeri, in quanto si formano oligomeri (dimeri e trimeri) ancora solubili nel vino e con una coniugazione sufficiente ad estendere l'assorbimento di luce fino alla zona del visibile [Cilliers e Singleton, 1989, 1990, 1991].

Un certo grado di rimozione selettiva di questi composti potrebbe quindi, a nostro avviso, essere desiderabile per quei vini che - per tecnica di vinificazione e/o per caratteristiche intrinseche del vitigno d'origine - tendono a manifestare problemi di instabilità del colore ascrivibili in tutto o in parte a tenori particolarmente elevati di derivati caffeici, catechine e proantocianidine.

Conclusioni

Da un approfondimento analitico condotto su vini in scala sia industriale che semi-industriale si è visto che contestualmente al trattamento demetallizzante con polimero PVI non vengono rilevate variazioni significative nel contenuto di composti volatili.

Questo materiale polimerico mostra invece una marcata selettività di comportamento nei confronti dei composti polifenolici. Al fianco di modifiche trascurabili, di poca o nessuna rilevanza pratica, a carico dei composti responsabili del colore dei vini rossi e delle proantocianidine, si riscontrano modifiche significative a carico degli esteri idrossicinnamici e principalmente dell'acido *trans*-caffeiltartarico nonchè, probabilmente, anche a carico delle catechine o comunque dei composti tannici reattivi alla vanillina.

Questa particolare selettività di comportamento merita un approfondimento in considerazione del fatto che la contestuale riduzione di tenori eccessivi in queste classi di composti ed in metalli pesanti sembra in grado di contribuire a riportare sotto controllo il decorso di alcune reazioni ossidative che possono causare fenomeni di instabilità del colore.

Riassunto

Si riportano i risultati di alcune prove sperimentali di trattamento di vini bianchi e rossi con un nuovo polimero vinilimidazolico, recentemente proposto come possibile sostituto del ferrocianuro di potassio per la rimozione dei metalli pesanti. Il dato dei polifenoli totali non subisce diminuzioni di particolare rilevanza tecnologica nelle prove sui vini rossi, dove il trattamento demetallizzante lascia sostanzialmente inalterato il quadro dei composti volatili ed anche le asportazioni delle proantocianidine e dei pigmenti responsabili della colorazione sono contenute. Solo le concentrazioni degli esteri idrossicinnamici vengono abbattute in maniera rilevante. Sui vini bianchi il polimero esercita una azione più forte, con una alta selettività nei confronti degli esteri idrossicinnamici e delle catechine e proantocianidine reattive alla vanillina. La funzione imidazolica è in grado di combinarsi preferenzialmente con l'acido *trans*-caffeyltartarico. L'asportazione contemporanea di questi composti fenolici ad alta reattività e dei metalli pesanti riduce la colorazione e può esercitare una azione stabilizzante del colore dei vini bianchi nei confronti di fenomeni di imbrunimento ossidativo.

Summary

A new polymeric adsorbent, based on polyvinylimidazole, was used for removing heavy metals from red and white wines both on semi-industrial and industrial scale. A low removal of total polyphenols and anthocyanins was observed on red wines in connection with the treatment, whereas no effect was observed on proanthocyanidins and volatile compounds. A remarkable decrease of hydroxycinnamic esters concentration was noticed.

By using the adsorbent on white wines, a strong and selective removal of hydroxycinnamic esters and of catechins and proanthocyanidins

reacting with vanillin was observed. The imidazole moiety showed the ability to preferentially absorb the *trans*-caffeyltartaric acid. The simultaneous lowering of the levels of heavy metals and of these highly reactive phenolic compounds was able to reduce the colour intensity as well as the susceptibility of white wines to oxidative browning.

Ringraziamenti.

Si ringraziano il Dr. B. Fussnegger della BASF A.G. ed il Dr. E. Viarengo della BASF Italia S.p.A. per la collaborazione al presente lavoro. Si ringraziano inoltre per il contributo analitico e sperimentale il dr. R. Stefani ed il p.c. G. Cova del Dip. Laboratorio analisi e ricerche dell'Istituto Agrario di S. Michele all'Adige nonché gli enotecnici G. Gasperi e C. A. Gasperi.

Riferimenti bibliografici

Bosso A., Castino M. (1994) Prove d'impiego di due prodotti alternativi al ferrocianuro di potassio. *L'Enotecnico*, 3:57-68.

Cantarelli C., Mantovani L. (1988) Sperimentazione di trattamenti innovativi per mosti destinati alla produzione di vini base. *Ind. Bev.*, XVII:337-344.

Cantarelli C., Giovanelli G., Gallizia S. (1989) L'efficacia stabilizzante dei polimeri ad azione proteico-simile nella preparazione di vini bianchi, rosati e novelli. *Ind. Bev.*, XVIII:177-182.

Cheyrier V.F., Van Hulst M.W.J. (1988) Oxidation of *trans*-caftaric acid and 2-S-glutathionylcaftaric acid in model solutions. *J. Agric. Food Chem.*, 36:10-15.

Cheyrier V., Basire N., Rigaud J. (1989) Mechanism of *trans*-caffeyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 37:1069-1071.

Cheyrier V., Ricardo da Silva J.M. (1991) Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing *trans*-caffeyltartaric acid and polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 39:1047-

1049.

Cilliers J.J.L., Singleton V.L. (1989) Nonenzymic autoxidative phenolic browning reactions in a caffeic acid model system. *J. Agric. Food Chem.*, 37:890-896.

Cilliers J.J.L., Singleton V.L. (1990) Nonenzymic autoxidative reactions of caffeic acid in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41(1):84-86.

Cilliers J.J.L., Singleton V.L. (1991) Characterization of the products of nonenzymic autoxidative phenolic reactions in a caffeic acid model system. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1298-1303.

Drawert F., Rapp A. (1968) Gas chromatographic analysis of plant aromas. Enrichment, separation and identification of volatile aroma substances in grape, musts and wines. *Chromatographia*, 1, 446-457.

Dubernet M., Ribereau-Gayon P. (1973) Le polyphénoloxidas des raisin et du raisin parasité par *Botrytis cinerea*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t.277, série D 975-978.

Fussnegger B., Maurer R., Konja G., Clauss E. (1992a) Unlösliche, komplexbildende Polymere als Ersatzprodukte für Kaliumhexacyanoferrat(II). *Atti del terzo Simposio internazionale "Innovationen in der Kellerwirtschaft"*, Stuttgart-Killesberg, 25-27 maggio, 264-279.

Fussnegger B., Maurer R., Detering J. (1992b) Unlösliche, komplexbildende Polymere als potentielle Substitutionsprodukte für Kaliumhexacyanoferrat (II) zur Schwermetallverminderung in Wein. *Wein-Wissenschaft*, 47:8-23.

Glories Y. (1976) Recherches sur la structure et les propriétés des composés phénoliques polymérisés des vin rouges. III. - Fractionnement des composés phénoliques avec la polyvinylpyrrolidone (p.v.p.). *Conn. Vigne Vin.*, 10, 51-71.

Gunata Y.Z., Moutounet M. (1988) Activites de la polyphénoloxydase du raisin et de la laccase de *Botrytis cinerea* sur les dérivés hydroxycinnamiques comparées a d'autres substrats phénoliques. *R.F.Oe.*, 113:42-47.

Kern M., Wucherpfennig K. (1991) Entfernung von Eisen, Kupfer und Zink aus Weinen mit einem Chelatharz - eine Alternative zur Blauschönung. *Wein-Wissenschaft*, 46:69-77.

Kern M.J., Wucherpfennig K. (1993) Anwendung selektiver

Komplexbildner zur Schwermetallentfernung aus Wein. *Wein-Wissenschaft*, 48:20-26.

Margheri G., Versini G. (1979) L'apporto delle tecniche analitiche moderne alla definizione ed al controllo della qualità dei vini. *Vini d'Italia*, XXI, 119, 83-93.

Margheri G., Tonon D., Treppin P. (1980) I polifenoli dei vini bianchi come potenziali di ossidazione. *Vignevini*, VII(9):35-44.

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.*, 44(1):39-52.

Mattivi F., Scienza A., Failla O., Villa P., Anzani R., Tedesco G., Gianazza E., Righetti P. (1989) Vitis vinifera - a chemotaxonomic approach: anthocyanins in the skin. *Atti del Vth Int. Symp. on Grape Breeding, Vitis, Special Issue 1990*:119-133.

Moutounet M., Cheyrier V., Rigaud J., Souquet J.M. (1989) Les mécanismes d'oxydation mis en jeu lors de la préparation des mouts destinés a l'élaboration de vins blancs. *Conséquences technologiques*. *R.F.Oe.*, 117:23-29.

Nicolini G., Mattivi F., Dalla Serra A. (1991) Iperossigenazione dei mosti: conseguenze analitiche e sensoriali su vini della vendemmia 1989. *Riv. Vitic. Enol.* 44(3):45-56.

Oszmianski J., Lee C.Y. (1990) Enzymatic oxidative reaction of catechin and chlorogenic acid in a model system. *J. Agric. Food Chem.*, 38:1202-1204.

Pallotta U., Cantarelli C. (1979) Le catechine: loro importanza sulla qualità dei vini bianchi. *Vignevini*, VI(4):19-46.

Rangoni C. (1993) Stabilizzazione del colore di bevande alcoliche mediante trattamento con adsorbenti. *Tesi di laurea*, Univ. di Bologna.

Simpson R.F. (1982) Factors affecting oxidative browning of white wine. *Vitis*, 21:233-239.

Somers T.C., Vérette E., Pockock 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.

Wucherpfennig K. (1992) Entfernung von Eisen- und Kupferionen aus Getränken durch selektive Komplexbildner. *Wein-Wissenschaft*, 47:344-349.