



RIVISTA
DI VITICOLTURA
E DI ENOLOGIA

2/3

2002

RIVISTA

DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA

Trimestrale Scientifico a cura dell'Istituto
Sperimentale per la Viticoltura e
dell'Istituto Sperimentale per l'Enologia

Direzione scientifica

A. Calò
R. Di Stefano

Comitato scientifico

A. Amati
M. Bertuccioli
R. Bessis
M. Borgo
A. Carbonneau
M. Castino
A. Costacurta
V. Cotea
C. Delfini
E. Egger
M. Feuillat
M. Fregoni
A. Gandini
A. Garcia De Lujan
F. Iacono
C. Intriери
C.S. Liuni
C. Lorenzoni
F. Mattivi
C.P. Meredith
C. Miconi
A. Quacquarelli
E. Refatti
K. Schaller
A. Scienza
M. Ubigli
G. Versini
C. Zambonelli

Direzione Editoriale

G. Cappelleri

Direzione e Amministrazione

Via XXVIII Aprile, 26

31015 CONEGLIANO (TV)

Redazione: F. Giacomazzi

Tel. 0438.456711 - Fax 0438.64779

Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia.

Validation of a new method for the measure of the polyphenolic potential of red grape and discussion of its use in enology.

Mattivi F., Prast A., Nicolini G., Valenti L.⁽¹⁾

Istituto Agrario di San Michele, Dipartimento Laboratorio Analisi e Ricerche, Via E. Mach 2, 38010 San Michele all'Adige (TN), Italia

¹ Di.Pro.Ve., Università di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italia

(ricevuto il 02.05.02, accettato il 17.06.02)

Riassunto

Nella bacca dell'uva, gli antociani sono localizzati nella buccia, mentre le catechine e le proantocianidine sono distribuite tra la buccia ed i vinaccioli. Durante la vinificazione, soltanto una frazione dei flavonoidi presenti nella bacca viene selettivamente estratta nel vino, con una cinetica ed una resa estrattiva fortemente dipendente dalla varietà dell'uva. La conoscenza della quantità di antociani e di proantocianidine estraibili presenti nella bacca è importante per il corretto disegno del processo di vinificazione.

Per mezzo di un metodo di estrazione disegnato specificamente per mimare la vinificazione, associato alla realizzazione di alcuni saggi spettrofotometrici sull'estratto così ottenuto, è possibile analizzare il "potenziale polifenolico dell'uva", ottenendo in tal modo una informazione quantitativa sia sulla quantità che sulla localizzazione dei flavonoidi estraibili nell'uva. Questo articolo descrive la validazione del metodo, che è basata sulla conoscenza delle cinetiche di estrazione dei polifenoli dalle bucce e dai vinaccioli, sulla valutazione del grado di precisione della misura, e sulla dimostrazione di una soddisfacente correlazione tra la quantità di polifenoli estraibili misurati nell'uva e la rispettiva concentrazione nel vino. Una valutazione dei pro e dei contro del metodo ha permesso di suggerire i principali campi di applicazione in enologia.

Summary

In the grape berry, the anthocyanins are localised in the skins, while the catechins and the proanthocyanidins are contained both in the skins and seeds. During the winemaking, only a fraction of the grape flavonoids is selectively extracted into the wine, with a time course and a final yield strongly depending on the grape variety. The knowledge of the amount of extractable anthocyanins and proanthocyanidins present in grape is important for the appropriate design of the winemaking process.

By means of a selective extraction method specifically designed to mimic the wine-making process, associated to the spectrophotometric assay of the polyphenols in the extract, it is possible to analyse the “polyphenolic potential of the grape”, thus obtaining quantitative information about the amount and localization of the extractable flavonoids in the grape. This article reports the validation of the method, which is based on the knowledge of the kinetics of extraction of the phenolics from the grape skins and seeds, the evaluation of the precision of the measure, and on the demonstration of a satisfactory correlation between the amount of extractable polyphenols measured in grape and the concentration of the polyphenols obtained in wine. An appraisal of the pros and cons of the method allowed to suggest its main fields of application in enology.

Parole chiave: bacca, bucce, vinaccioli, polifenoli, antociani, proantocianidine, estrazione

Key words: grape berry, skins, seeds, polyphenols, anthocyanins, proanthocyanidins, extraction

Introduzione

La valutazione del contenuto polifenolico delle uve rosse è da lunghissimo tempo oggetto di intenso studio. E' nota infatti la importanza fondamentale dei composti fenolici per la produzione di vini rossi di qualità, dal momento che essi ne determinano il colore, oltre a contribuire alla struttura gustativa e a regolare la resistenza del vino nei confronti delle ossidazioni. Infine, in tempi più recenti, il contenuto del vino nelle diverse classi di polifenoli è diventato un importante indice della qualità nutrizionale del prodotto, dal momento che si è evidenziato come il vino rappresenti una tra le più rilevanti fonti di antiossidanti polifenolici nella dieta occidentale, ed in particolare nella dieta mediterranea.

Numerosi gruppi di ricerca hanno elaborato delle metodiche originali per lo studio di questa classe di composti dell'uva. Una sintesi delle caratteristiche proposte in una selezione dei lavori più significativi è riportata in Tabella 1. Gli obiettivi che si volevano conseguire con questi lavori erano abbastanza diversificati. Singleton e Draper (1964), Aubert e Poux (1969), Ribéreau-Gayon (1971), Margheri e Tonon (1977), Margheri et al. (1985) e Amrani Joutei e Glories (1994) hanno focalizzato la loro attenzione allo studio di un modello per valutare la estraibilità dei composti fenolici dalle bucce e dai vinaccioli, mentre gli studi di Bourzeix et al. (1975) e Di Stefano e Cravero (1991) erano volti più in generale allo studio dei polifenoli delle uve. Le metodiche di Iland (1987) e Mancini e Bonaccorsi (1990) erano indirizzate ad ottenere una valutazione della qualità delle uve basata sul contenuto in polifenoli. Il lavoro di Gunata et al. (1987) era invece rivolto a svolgere una ampia comparazione tra le diverse metodiche della letteratura, al fine di mettere a punto una metodica di analisi del contenuto polifenolico delle uve che avesse una capacità predittiva rispetto alla vinificazione.

I ricercatori della Università di Bordeaux (Glories ed Augustin, 1993) hanno introdotto il concetto di “maturazione fenolica”, coniugando gli aspetti di estraibilità a

Tab. 1: Lo studio della composizione polifenolica delle uve nella letteratura scientifica. Legenda: App = prove di applicazione su uve; Rip = dati di ripetibilità della misura; Cin = descrizione della cinetica; Corr.uv = verifica della correlazione tra composizione dell'uva e del vino.

Tab. 1: *The study of grape polyphenols in the scientific literature. Legend: App = application trials on grape; Rip = data of repeatability of the measure; Cin = description of the time-course of the extraction; Corr.uv = trials of correlation between the composition of grape and wine.*

riferimento	estratto da	preparazione	n° bacche/n°	estrante	macerazione in soluzione acquosa con 12% v/v etanolo e 5g/l di ac.tartarico (pH 3.2-3.4)	modalità di conduzione	validazione
Amrani Joutei & Glories, 1994	bucce / vinaccioli	tal quale	100			Macerazione con un agitatore a "ping-pong" con una velocità di 75 RPM	App, Cin
Di Stefano & Cravero, 1991	bucce	bucce pulite senza polpa	10	estrate A: etanolo cloridrico (alcol etilico/acqua/HCl 70/30/1) estrate B: soluzione tampone a pH=3,2 : 500 ml acqua+ 5 g NaOH + 600 mg Solfato di Na+ 500 mg enzimi pectolitici+ 50 mg di NaN3+ 120 ml di etanolo+ 1 l di acqua q.b.		Pollfenoli totali: 12 ore in estrate A. Pollfenoli estraibili: 50 ml di estrate B, a 25° C per una settimana	Rip
Mancini & Bonaccorsi, 1990	bucce	bucce immerse in azoto liquido per 5', poi macinate finemente mediante un Ultra Turrax	50	estrate A: soluzione idroalcolica acida (80% di etanolo, 0,1 % HCl) estrate B: HCl 2 N		Prima estrazione a 30°C per ca. 30', con 200 ml di estrate A, in matraccio da 500 ml. Dopo centrifugazione si effettua una 2° estrazione sul residuo con analoghe modalità ma a 50°C, ed infine si estrae ancora 2 volte con estrate B, a 70°C. L'estratto alcolico viene portato a volume in matraccio da 200ml: si prelevano aliquote (1,2,5 ml) che vengono portate a volume in matraccio da 100ml con una soluzione acqua/etanolo/HCl (50/50/2).	App
	bucce, succo e polpa	vedi descrizione successiva	50	Etanolo acidificato (etanolo 50%,portato a pH 2,8 con 1M HCl)		Macerare con barnix blender le bacche intere in 100 ml di etanolo acidificato. Filtrare il liquido. Col solido vengono fatte altre 2 estrazioni con 50 ml di alcol acidificato per 10 min. a temperatura ambiente. Alla fine vengono riuniti i tre liquidi, si fa una centrifugazione e si porta a volume di 250ml.	App
lland, 1987	polpa, bucce e vinaccioli	omogeneizzato	50	Etanolo acidificato (etanolo 50%,portato a pH 2,8 con 1M HCl)		Soluzione omogeneizzata, portata a 100ml con acqua distillata -1ml di soluzione si trasferisce in una provetta da centrifuga con 10ml di etanolo acidificato, attendere 10 minuti. Centrifugare a 3000 RPM per 5 minuti. Mettere il liquido in una beuta da 50ml. Ripetere per 2 volte la estrazione del residuo con 10 ml di etanolo acidificato, aggiungendo il liquido centrifugato sempre nella stessa beuta.	App

Tabella 1 (continua)

referimento /reference	estratto da /extracted from	preparazione /preparation	n° bacche/n° of berries	estrante /extractant	modalità di conduzione /description	validazione /validation
Gurata et al., 1987	Metodo Dewandiel modificato (bacca intera)	macinatura sotto azoto con mixer, a velocità tale da non rompere i semi	200	nessuno	L'estratto viene diviso in provette e messo in bagno maria a 70 °C per 30 minuti. Si riuniscono le frazioni, centrifugazione a 10000 RPM per 10 minuti a 5°C.	Rip (per la sola estrazione dallo stesso omogenato Pol.tot. 12,8%; Ant.tot. 12,6%; Corr.uv., App
Margheri et al., 1985	bacca privata dei vinaccioli, vinaccioli	macinatura in mortaio con sabbia silicea	50	200 mL di metanolo 90% con HCl 0,1%	L'estratto viene messo su agitatore a movimento orizzontale, per 2 ore, sotto azoto; ripetere due volte con 125 mL di estraente.	App. Corr.uv
Bourzeix et al., 1975	bacca	Macinatura con mixer Turmix	100	etanolo, metanolo e acqua	Prima estrazione a -24°C con etanolo 95%. Estrazione successiva a temperatura ambiente e poi per 2-4 ore in ambiente saturo di CO2. Con centrifugazione si separa il liquido. Si ripete questa operazione per 6 volte, prendendo sempre un nuovo solvente. Si riuniscono i 6 estratti.	Cin.
Ribéreau-Gayon et al., 1971	bucce, vinaccioli	tal quali	200	soluzione alcolica 15% a pH= 2,45 : (alcol a 95° 3L, soluzione di ac. Tartarico 10% 1L, NaOH 10N 20mL, acqua distillata 16 L)	3 estrazioni diverse a freddo: 1) 5 ore con agitazione, 2) 15 ore senza agitazione, 3) 24 ore senza agitazione, seguita da due estrazioni a 100°C. Le 5 soluzioni sono analizzate separatamente	App., Cin.
Aubert & Poux, 1969	bucce, vinaccioli	tal quali	100	a) etanolo +acido cloridrico (2%), giudicato ottimale; b)acqua +HCl (2%) c) vino sintetico (10% alcol, 5g/L ac tartarico, 2 g/L bitartrato di potassio) d) acqua pura o etanolo 96%	5-7 giorni per la buccia; 6-7 giorni per i vinaccioli	No
Singleton & Draper, 1964	vinaccioli	tal quali	12 grammi	0, 2, 4, 8, 11 o 14% Vol etanolo,acido tartarico (59g/l) e bitartrato di potassio (1,5 g/l)	Temperature: 11, 27°C, 20°C, 30°C; Tempi: 12, 24, 48, 84, 168, 300 o 421 ore	Cin.

quelli connessi allo stato di maturazione della bacca. Hanno quindi codificato un approccio specifico, rispetto ad un problema che era stato oggetto di studio anche in tempi precedenti nello stesso centro (Ribéreau-Gayon, 1971). Dietro a questo obiettivo, condivisibile ed intrigante, si è visto però che le metodiche proposte da Glories ed Augustin (1993) contengono ancora pesanti limitazioni sia di ordine teorico che pratico, che inficiano la utilità e mettono in dubbio il significato reale del dato ottenuto, carenze queste ampiamente messe in evidenza da Di Stefano (2001), che ha anche proposto dei correttivi per ovviare ad alcune delle lacune più importanti.

Parallelamente a questi studi, sono state inoltre elaborate nei diversi istituti di ricerca numerosissime varianti che hanno trovato applicazione locale (Prast, 2001), che non sono state oggetto di divulgazione su riviste specializzate, ed altre che si basano sull'analisi sensoriale sulla bacca (Lanati e Marchi, 2001) e che non vengono qui riportate.

Un aspetto metodologico importante, purtroppo spesso sottovalutato da gran parte degli autori, nel proporre e rendere disponibile una nuova metodica analitica, risiede nella precisa definizione degli obiettivi della stessa, e nella sua validazione. Oltre ad una dettagliata descrizione della procedura di campionamento ed analisi, si ritiene infatti che sia indispensabile disporre di una precisa valutazione della incertezza della misura ottenuta. Se la metodica vuole essere applicata alla valutazione del risultato enologico o della qualità dell'uva ai fini enologici, non può prescindere da una stima della correlazione tra il dato dell'uva e del vino. Infine, è utile disporre di alcuni esempi applicativi, al fine di provare sul campo la bontà della metodica proposta. E' chiaro che quando uno o più di questi elementi sono carenti, si rischia di proporre ad un più vasto pubblico di utilizzatori dei metodi non sufficientemente robusti, e spesso di applicazione incerta tanto nelle modalità esecutive quanto nel settore di applicazione.

L'esperienza degli autori, suffragata dai risultati di precedenti autorevoli studi (Gunata et al., 1987; Ribéreau-Gayon et al., 1975) è che il punto più difficile da ottenere è quello della correlazione tra il dato dell'uva e quello del vino. Se infatti, dal punto di vista della riproducibilità del dato, la maggior parte delle metodiche di estrazione proposte in letteratura sono appropriate per ottenere una stima del contenuto polifenolico delle uve, a patto di definire delle condizioni di campionamento adeguate, lo stesso non si può dire per quanto riguarda la capacità di stima della quota di polifenoli estraibili in vinificazione. Va rilevato però che, fatti salvi i due autori ultimi citati, che hanno rilevato una insufficiente capacità di stima, gli altri metodi non sono stati validati per questo specifico obiettivo della vinificazione, e dunque il loro utilizzo per predire la qualità delle uve ai fini della trasformazione a vino è quantomeno incerto.

Si deve tenere presente infatti che solo una frazione relativamente modesta dei polifenoli totali è disponibile per la estrazione durante la vinificazione, che è un processo selettivo che dipende, oltre che dalle modalità di conduzione e dalla durata della vinificazione, anche dallo stato fisico-meccanico delle parti solide della bacca, bucce e vinaccioli in particolare. Se questo è generalmente vero per gli antociani, che sono composti fenolici altamente idrosolubili presenti allo stato libero nel succo vacuolare, nella buccia; è ancora più evidente per i flavanoli (Bourzeix et al., 1986).

Questi ultimi infatti sono localizzati sia nei vinaccioli, dove sono presenti anche negli strati interni e sono poco estraibili anche a causa della completa o parziale lignificazione degli stessi e della presenza di una cuticola altamente resistente, sia nella buccia, dove sono presenti in diverse forme insolubili, sia libere come aggregati molecolari che legate con legame covalente a polisaccaridi parietali ed a proteine di membrana (Amrani Joutei, 1993; Amrani Joutei e Glories, 1994). La loro selettiva estrazione in vinificazione, in particolare per i flavanoli, non è facilmente prevedibile ed è lecito dubitare che il dato ottenuto nelle metodiche che prevedono la macinazione fine del campione, con distruzione completa della integrità fisica cellulare, possa in qualche modo ricostruirla. Per la stessa ragione è improbabile che si possa ottenere una eguale selettività modificando in maniera radicale, rispetto alla vinificazione, la natura chimica dell'estraente, oppure la durata e la temperatura della estrazione. Infatti la chiave della capacità previsionale risiede nel ricostruire e preservare, per quanto possibile, la "selettività" che presiede alla estrazione in vinificazione.

Questo articolo è volto a descrivere una nuova metodica per la stima del potenziale polifenolico delle uve, e la sua validazione. Obiettivo della metodica è stimare nelle uve rosse il contenuto di polifenoli estraibili durante la vinificazione in rosso, valutato separatamente per le bucce e per i vinaccioli, al fine di fornire anche una informazione quantitativa sulla localizzazione. Alla fine di un ciclo pluriennale in cui la metodica è stata progressivamente affinata e testata, si è ritenuto infatti che essa sia giunta ad un sufficiente grado di sviluppo da poter essere proposta quale metodo di riferimento per un più ampio impiego.

Materiali e metodi

a. Campionamento delle uve

Il campionamento delle uve in campagna viene effettuato con i dovuti accorgimenti per assicurare la rappresentatività. I grappoli sono raccolti da non meno di 10 viti rappresentative delle diverse parti del campo, devono essere almeno 3 kg in peso, e raccolti da diverse parti della vite: in alto, centrale ed in basso rispetto alla chioma.

Nel caso di appezzamenti che presentino delle pronunciate disomogeneità, o per il campionamento delle uve in cantina anziché in campagna, può essere opportuno aumentare le dimensioni del campione, ovvero campionare a racimoli da un numero maggiore di grappoli. Il campione viene chiuso in buste di polietilene, sigillato, e portato immediatamente al laboratorio, in condizioni tali da assicurarne la integrità e da evitarne un eccessivo riscaldamento. Al ricevimento, viene conservato in frigorifero a 4°C, fino all'estrazione, che deve essere avviata entro le 48 ore dalla raccolta.

La riduzione del campione viene effettuata subito prima della estrazione, nel seguente modo: in proporzione al peso relativo delle tre zone superiore, centrale e delle punte del grappolo, si prelevano complessivamente 15 bacche dalle tre parti, avendo cura di campionare da tutte le direzioni radiali. Questa operazione può

essere modificata nel numero e nella posizione, in funzione della forma del grappolo (ad esempio per grappoli di grandi dimensioni oppure alati). Le bacche così separate dal rachide vengono mescolate, e viene scelto a caso un lotto di 200 grammi di acini, pesati su bilancia tecnica e contati (segnare numero acini), che vengono utilizzati per la estrazione.

Il campione rimanente viene ammostato per le analisi routinarie sul mosto (pH, acidità titolabile, °Brix).

b. Estrazione delle uve

Preparare una soluzione idroalcolica acida, contenente alcol buongusto (aggiunto in volume corrispondente al 12% di alcol), acido tartarico 5 g/L (neutralizzato per 1/3 con NaOH fino a pH 3,2), solforosa 100 mg/L. Tenere conto del titolo dell'alcol e dei volumi, in modo da avere 12% di alcol effettivo.

Separare manualmente le bucce ed i vinaccioli, aiutandosi con delle piccole spatole da laboratorio in modo da separare il più possibile i residui grossolani di polpa dalle bucce e dai vinaccioli. Cercare di lavorare in modo regolare, evitando sia di lasciare eccessivi residui di polpa, sia di danneggiare le bucce che dovrebbero rimanere ragionevolmente integre.

Le bucce, mano a mano che vengono preparate sono messe in una beuta contenente 250 mL di soluzione idroalcolica di cui è stata fatta la pesata (bottiglia + soluzione) su bilancia tecnica.

In questo modo le bucce non rimangono all'aria per troppo tempo, evitando così fenomeni di ossidazione dei polifenoli. A fine operazione, si ripesa la beuta su bilancia tecnica in modo da calcolare per differenza il peso delle bucce. Successivamente alla pesata si mettono nella beuta alcune gocce di azoto liquido tappando immediatamente con del cotone, dopo qualche secondo si chiude la beuta con del parafilm. Alternativamente, si può inertizzare insufflando CO₂. L'immissione di azoto (o anidride carbonica) permette di eliminare l'ossigeno dallo spazio di testa limitando in parte le ossidazioni.

I vinaccioli vengono lavati con acqua fredda per eliminare il più possibile i residui di polpa, poi asciugati con carta da laboratorio e quindi pesati con una bilancia tecnica. I vinaccioli vengono messi in una beuta con 250ml di soluzione idroalcolica, inertizzata e tappata analogamente a quanto già descritto per le bucce.

Le beute vengono messe per 5 giorni in una stufa termostata alla temperatura di 30°C ed agitate manualmente una volta al giorno. L'agitazione non è una operazione critica, in quanto il rapporto liquido/solido è più favorevole rispetto a quello che si realizza nella vinificazione, mentre è critica la durata dell'estrazione, che non deve essere inferiore a 5 giorni.

A fine estrazione si estraggono le beute dalla stufa e si lasciano raffreddare per almeno 30 minuti. A questo punto si procede alla svinatura. L'estratto dei vinaccioli viene messo, con l'aiuto di un passino a maglie fine e di un imbuto, in un cilindro dove viene se necessario portato a 250 mL con la soluzione idroalcolica, poi viene trasferito in bottiglie da 250 mL riempite completamente e tappate con tappo corona. Nel caso delle bucce, se possibile, pressare leggermente (una pressatura leggera può essere effettuata direttamente nel passino esercitando con il pugno della mano una pressione sufficiente a far asciugare le bucce) e raccogliere l'estratto.

L'estratto viene centrifugato a 5000 giri per 8 minuti per eliminare le fecce più grosse. Il liquido centrifugato è portato a volume di 300 mL con soluzione idroalcolica e poi trasferito dentro una bottiglia da 250 ml, riempita completamente. Si chiudono anche queste bottiglie con tappo corona.

Tutti i campioni devono essere conservati al buio in frigorifero, fino all'analisi. Per aumentare la conservabilità nel caso i campioni non vengano analizzati subito, si può considerare di aggiungere altri 30 mg/L di anidride solforosa al momento dell'imbottigliamento.

c. Metodi di analisi

Le analisi sugli estratti e sui vini sono state condotte tutte sul campione dopo isolamento delle appropriate frazioni su cartuccia SPE Sep-Pak C18, secondo le metodiche spettrofotometriche proposte da Di Stefano e coll (Di Stefano et al., 1989), eseguite nelle condizioni ottimizzate descritte da Rigo et al. (2000).

In particolare, sono stati dosati i seguenti parametri riferiti agli estratti di uva:

- i) gli antociani totali in etanolo cloridrico, espressi come malvidina 3-glucoside cloruro, mg/kg di bacche. Il coefficiente di estinzione molare della malvidina 3-glucoside sul massimo di assorbimento nel visibile, in queste condizioni è $\epsilon=30100$ a 542 nm;
- ii) i polifenoli totali reattivi al Folin-Ciocalteu, espressi come equivalenti di (+)-catechina, mg/kg di bacche;
- iii) le proantocianidine, per trasformazione secondo reazione di Bate-Smith, in etanolo acido, espresse come equivalenti di cianidina, mg/kg di bacche;
- iv) le catechine e proantocianidine reattive alla vanillina, per reazione in HCl a caldo, espresse come equivalenti di (+)-catechina, mg/kg di bacche.

Il dato dei vini e degli estratti è stato ottenuto in maniera analoga ed espresso in mg/L. La concentrazione nell'uva viene convertita da mg/L a mg/kg tenendo conto che nel caso dei vinaccioli, nelle condizioni proposte, da 200 g di bacche si producono 250 mL di estratto da vinaccioli (fattore moltiplicativo 1,25), e 300 mL di estratto da bucce (fattore moltiplicativo 1,5). Per una discussione più approfondita del significato di questi indici per la valutazione dei polifenoli nel vino si rimanda alla recente letteratura (Vrhovsek et al, 2001).

d. Cinetica della estrazione

Per descrivere la cinetica di estrazione nelle condizioni del metodo, è stato realizzato un campionamento di 10 kg di uve della varietà Pinot nero, da un vigneto monoclone (cl. 114 su SO4) di otto anni, situato in località Maso Cento Finestre, in data 28 agosto 2000. Il vigneto era a pergola semplice, con filari orientati nord-sud, esposizione ovest, densità di impianto 3873 viti/9000 mq. Le uve conferite avevano i seguenti dati compositivi del mosto: °Brix=18,8, acidità titolabile=10,1 g/L, pH=3,09.

Da questo unico campione di uve sono stati ottenuti, con le modalità sopra descritte al punto a), due serie di 7 campioni, che sono stati estratti come descritto al precedente punto b), ma svinando un campione per ciascuna serie a cadenza giornaliera. La prima serie è stata effettuata lo stesso giorno del campionamento, e

la seconda il giorno seguente. Le analisi sono state condotte come descritto al punto c).

e. Grado di incertezza delle misure

La prova di ripetibilità del dato è stata disegnata in accordo alla definizione ISO (AA.VV, 1989). Al fine di valutare l'intera procedura, dal campionamento fino all'ottenimento del dato analitico, sono stati realizzati con le modalità descritte al precedente punto a), 10 campionamenti singoli, nello stesso vigneto utilizzato anche per mettere a punto la cinetica di estrazione. L'uva è stata raccolta alla maturità tecnologica, in data 30 agosto 2000.

Da ciascun campione sono stati ottenuti due lotti di 200 g di bacche, sottoposti separatamente ad estrazione ed analisi come descritto ai precedenti punti b) e c).

f. Correlazione tra composizione delle uve e dei vini sperimentali

Nella vendemmia 1998, sono state realizzate tre tesi agronomiche diverse in un unico vigneto di Cabernet Sauvignon (INRA 337 su Gravesac cl. 264, età di sei anni), in zona collinare del Trentino (loc. Sorni, 300 m.s.l.m.), con esposizione nord-ovest, sistema di allevamento a cordone speronato ($h=0,8$ m, 5800 ceppi/ha). Le tesi a confronto, ognuna replicata due volte, erano un testimone dove è stata realizzata solo una sfogliatura nella zona dei grappoli, una tesi ombreggiata tramite rete ombreggiante sui grappoli, ed una tesi solarizzata tramite telo pacciamante riflettente (Vitexol). Non è obiettivo di questo lavoro discutere le singole tesi (si rimanda a Zangelmi, 1999), per la discussione della correlazione tra uve e vino esse possono essere considerate come sei partite diversificate di uva della stessa varietà.

Sono stati selezionati sei filari di circa 25 m, all'interno dei quali alla vendemmia (il 12 ottobre) è stato prelevato alla maturazione un campione di almeno un grappolo per pianta, che è stato estratto ed analizzato come sopra descritto ai punti b) e c).

L'uva raccolta dalle stesse piante, in quantità variabile tra 15,5 e 29,5 kg ed in stato sanitario non ottimale per attacco botritico a seguito di piogge prolungate, è stata microvinificata in rosso in condizioni standardizzate, con pigiadiraspatura, solfitazione (50 mg/L SO_2), inoculo (Fermivin Cryo, Gist Brocades, 40 g/hL), macerazione di otto giorni con una follatura manuale al giorno. Le vinificazioni sono state ulteriormente completate (travaso, inoculo batteri lattici Viniflora Oenos, Christian Hansen), solfitazione (15 mg/L SO_2), secondo travaso dopo fml, solfitazione finale (60 mg/L SO_2), filtrazione ed imbottigliamento. I vini finiti sono stati sottoposti ad analisi nel mese di marzo del 1999, a circa cinque mesi dalla vinificazione, al fine di comparare i dati ottenuti con quelli delle rispettive uve.

g. Correlazione tra composizione delle uve e dei vini industriali

La correlazione tra uve e vino è stata indagata anche su vinificazioni condotte in scala reale. L'obiettivo delle vinificazioni industriali, realizzate presso la cantina aziendale dell'Istituto Agrario di San Michele, era la produzione di vino rosso DOC di qualità, quindi l'elemento unificante era la finalità della vinificazione, come solita-

mente accade in condizioni reali, e non certo una “artificiale” omogeneità della conduzione delle vinificazioni.

Alcune partite delle uve della varietà Cabernet (4 Sauvignon ed 1 Franc*) provenienti ciascuna da diversi vigneti del Trentino, situati in località Navicello, Sorni, Weizacher, Sega e Tomasi*, sono state vinificate separatamente in purezza in scala industriale (4,6-6,2 t), in condizioni sufficientemente paragonabili tra loro da permettere di fare una verifica della correlazione tra i dati delle uve e dei vini. Tutte le uve sono state pigiadiraspate, aggiunte di metabisolfito (60-80 g/t), ed inoculate con lo stesso ceppo di lievito (GAR 26). Quattro delle cinque partite sono state vinificate con macerazione in tank tradizionale per 8-10 giorni. Sono stati effettuati tre rimontaggi al giorno per i primi tre giorni, poi due al giorno fino alla svinatura, ed un delestage nel 4° o nel 5° giorno. Una partita di Cabernet Sauvignon è stata invece vinificata in condizioni analoghe per durata ed entità delle operazioni meccaniche, ma per mezzo di un vinificatore rotativo.

Poco prima della vendemmia, tra il 26 settembre ed il 4 ottobre 2000, sono state campionate, estratte ed analizzate le uve dai vigneti corrispondenti alle cinque vinificazioni sopra descritte. A metà novembre del 2000, quindi almeno un mese dopo il termine della vinificazione, sono stati prelevati i vini in vasca, e sono stati sottoposti ad analisi dei composti polifenolici al fine di paragonare le composizioni delle uve alla vendemmia con quelle dei rispettivi vini.

Risultati e discussione

a. Cinetica della estrazione

La cinetica di estrazione degli antociani dalle bucce è molto veloce (figura 1, in alto). La concentrazione massima è ottenuta dopo uno-due giorni di estrazione, dopo i quali il prolungamento del tempo di estrazione porta ad una significativa riduzione della concentrazione di antociani, parallelamente a quanto è stato osservato avvenire anche nel normale processo di vinificazione. La concentrazione di proantocianidine presenta invece una estrazione leggermente ritardata, e raggiunge i valori massimi intorno al quarto/quinto giorno, per poi stabilizzarsi (figura 1, in alto). Nel caso del Pinot nero, il tenore complessivo dei polifenoli estraibili rimane grosso modo stabile per tutta la durata della estrazione, mentre il rapporto tra antociani e proantocianidine cambia in relazione a quanto sopra descritto.

La cinetica di estrazione dai vinaccioli è invece molto lenta (figura 1, in basso). Pur in presenza di una soluzione estraente con contenuto di etanolo simile a quello di un vino, nei primi due giorni l'estrazione è minima e variabile, per crescere poi rapidamente fino al quarto giorno e quindi rallentare fino ad arrivare grosso modo a stabilizzarsi sui valori massimi intorno al sesto-settimo giorno.

Questa cinetica di estrazione molto diversa per le bucce rispetto ai vinaccioli implica che, se da un lato è possibile ottenere una stima accettabile del contenuto di polifenoli estraibili dalle bucce in uno-due giorni, è però impossibile avere in tempi brevi un dato significativo del contenuto estraibile dai vinaccioli. Ciò a meno di non macinarli, ma in tal caso scostandosi significativamente dalle condizioni enologiche reali dove i vinaccioli rimangono perfettamente integri.

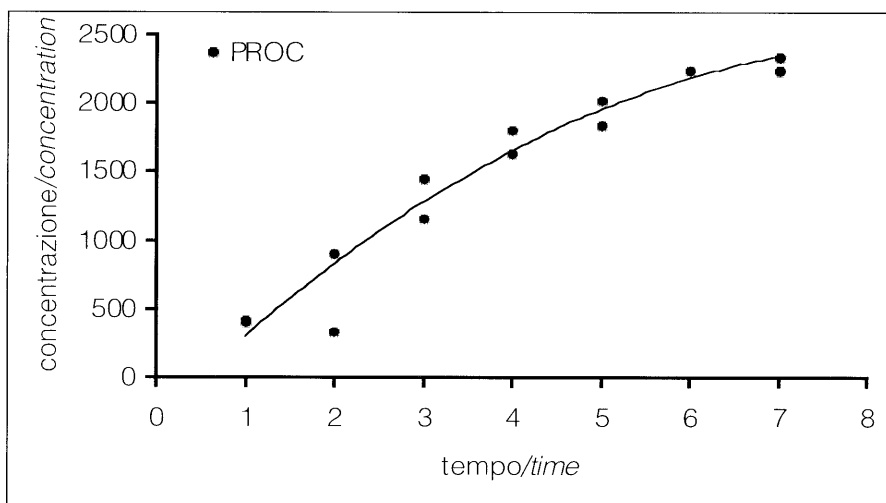
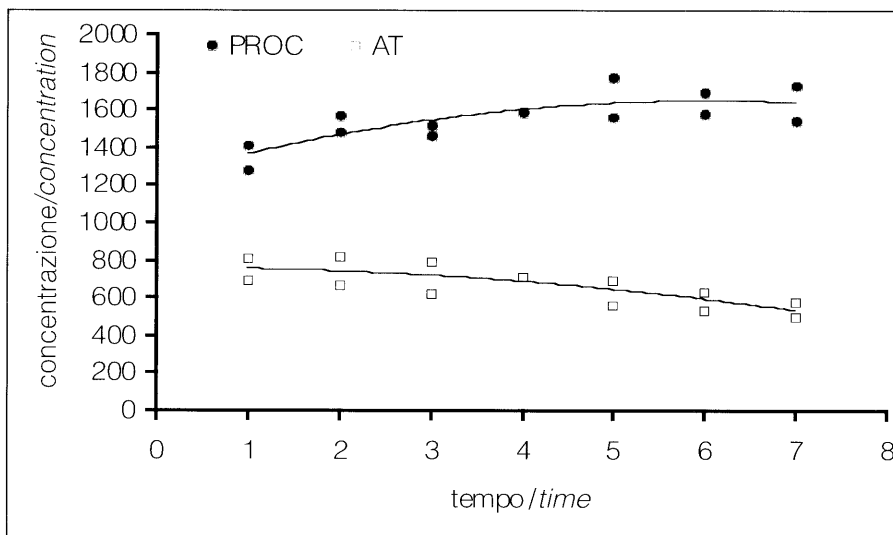


Fig. 1: Cinetica di estrazione degli antociani e delle proantocianidine dalle bucce (in alto, mg/kg di bacche) e delle proantocianidine dai vinaccioli (in basso, mg/kg di bacche).

Fig. 1: Time-course of the extraction of anthocyanins and proanthocyanidins from grape skins (top, mg/kg of berries) and of the proanthocyanidins from grape seeds (bottom, mg/kg of berries).

La scelta di un tempo di macerazione di 5 giorni trova giustificazione nel fatto che a tale tempo si sono completate le estrazioni dalle bucce e quelle dei semi hanno conseguito almeno l'80% del valore massimo. Dal punto di vista enologico, dato che l'alcol è presente fin dalle fasi iniziali nelle condizioni di estrazione, questa scelta temporale dovrebbe simulare una vinificazione dove la fase di macerazione

viene proseguita per circa cinque giorni dopo il completamento della fase tumultuosa della fermentazione, che si può considerare una durata abbastanza tipica di una vinificazione in rosso.

b. Grado di incertezza delle misure

La dispersione della distribuzione dei risultati analitici ottenuti in condizioni di ripetibilità (come definite in AA.VV., 1989) è stata stimata per tutti i parametri ottenibili con la procedura descritta. La ripetibilità delle analisi è stata testata in doppio su una singola serie di 10 diversi campionamenti da uno stesso vigneto monoclonale di Pinot nero (114 su SO4), a pergola semplice, di 8 anni. La tabella 2 riassume le prestazioni del metodo per tutti i parametri nelle due ripetizioni, e per la media delle due. In questo modo è stato possibile stimare l'aumento di precisione ottenibile effettuando una preparazione in doppio del campione.

La precisione del metodo è buona, considerando tutti i fattori dal campionamento fino alle analisi, infatti per ciascuna delle due serie di 10 ripetizioni la deviazione standard percentuale (CV) per i parametri AT, FC, PR e VAN è risultata essere eguale o inferiore a 8,1% per le bucce ed a 13,9% per i vinaccioli. I valori medi ottenuti nella prima e nella seconda serie di misure sono sempre in accordo, alla luce delle ripetibilità stimate.

Per i dati accessori ottenuti sulle stesse bacche, la RSD è eguale od inferiore al 2,9% per il peso della bacca, al 4,2% per il peso dei vinaccioli, all'11,0% per peso buccia. Per confronto, i dati routinari sul mosto ottenuto dallo stesso campione (di oltre 3 kg di uva) hanno CV pari a 7,4% sul peso grappolo, 6,1% sui solidi solubili, 3,3% su acidità titolabile e 0,9 % sul valore di pH. Quindi i dati meccanici del peso medio della bacca e del peso percentuale dei vinaccioli sono molto precisi, con un CV simile a quello della stima della acidità titolabile del mosto. La metodica permette di ricavare anche una stima del peso delle bucce, ma questo dato va preso con cautela in quanto la separazione manuale della buccia comporta un minor grado di precisione.

La precisione della misura del potenziale polifenolico delle uve è in conclusione molto buona, in particolare per il contenuto di polifenoli ed antociani estraibili. Infatti il CV di queste misure, eccetto la seconda ripetizione dei polifenoli nei vinaccioli, risulta essere simile o addirittura migliore di quello ottenuto sul grado Brix del mosto (tabella 2). Inoltre, una analisi della correlazione tra i dati compositivi medi delle due prove ed il contenuto di solidi solubili, evidenzia che sicuramente i polifenoli estraibili dai vinaccioli (figura 2, $R=0,790$, $p<0,01$) e forse anche gli antociani estraibili dalle bucce ($R=0,400$, n.s.) sono correlati in maniera positiva al grado di maturazione delle bacche. Questo dato indica che una quota non trascurabile della incertezza della misura non è data da un errore casuale, ma rispecchia la naturale disomogeneità di maturazione tra diversi campioni di grappoli nello stesso vigneto. In questo vigneto di Pinot nero, le correlazioni individuate stimano un aumento di antociani estraibili pari a 9 mg/kg e di polifenoli estraibili dai vinaccioli pari a 75 mg/kg per aumento unitario del grado Brix. Tale aumento può essere dovuto sia ad un maggiore accumulo di questi composti con la maturazione sia, più probabilmente, ad una maggiore estraibilità degli stessi.

Tab. 2: Ripetibilità sperimentale del metodo, valutata su due serie di 10 misure, e per l'analisi in doppio. Legenda: CV= deviazione standard percentuale.
 Tab. 2: Experimental repeatability of the method, evaluated on two series of 10 measures, or for the analysis in double. Legend: CV = % standard deviation; media=mean

prova/trial	bucce./skins					vinaccioli./seeds					bacca./berry					grappolo./cluster					mosto./must
	campionamento/sample	pollenoli estrabili/extractable polyphenols	antociani estrabili/extractable anthocyanins	estrabili/extractable proanthocyanidins	indice di vanillina/Vanillin assay	pollenoli estrabili/extractable polyphenols	estrabili/extractable proanthocyanidine	estrabili/extractable proanthocyanidins	indice di vanillina/Vanillin assay	peso medio bacca/average berry weight (g)	peso medio bucce/skins weight (%)	peso medio vinaccioli/seeds weight (%)	peso medio grappolo/average cluster weight (g)	solidi solubili/soluble solids (°Brix)	acidità titolabile/titratable acidity	pH/pH value					
A	1	1175	696	1857	872	1725	1722	2108	155	18,1	5,1	206	20,5	7,69	3,17						
	2	1189	661	1726	990	1744	1795	1963	152	19,5	5,4	195	19,4	7,90	3,09						
	3	1099	635	1838	870	1832	1838	2272	152	20,6	5,2	189	20,3	7,53	3,15						
	4	1116	757	1866	802	1884	2071	2290	157	21,4	5,0	168	20,8	7,81	3,12						
	5	1225	696	2119	949	1620	1766	1927	154	20,0	5,1	192	18,4	7,12	3,12						
	6	1046	651	1648	785	1793	2071	2108	149	19,5	5,0	160	19,2	7,67							
	7	1158	603	1779	976	1767	2020	2027	157	25,2	5,3	188	18,2	7,74	3,10						
	8	1055	648	1674	823	1553	1722	1799	163	21,0	5,3	180	17,8	7,55	3,11						
	9	1111	667	1927	870	1581	1867	1872	153	21,0	5,6	190	18,2	7,57	3,14						
	10	1130	643	1927	924	1776	2071	2072	160	21,3	5,6	198	17,7	8,08	3,08						
media	1130	666	1836	886	1727	1894	2044	155	20,7	5,3	187	19,0	7,67	3,12							
C.V.	5,1	6,4	8,1	8,1	6,3	7,9	7,8	2,7	9,0	4,2	5,3	7,4	6,1	3,3	0,9						
B	1	1060	613	1587	821	1865	1991	2272	159	24,9	5,0	249	24,9	7,69	3,17						
	2	1108	605	1630	905	1758	1824	2208	155	18,7	5,4	195	19,4	7,90	3,09						
	3	1085	595	1770	889	1525	1766	1718	152	16,2	5,1	189	20,3	7,53	3,15						
	4	1024	616	1657	785	1553	1744	1790	156	19,6	5,0	168	20,8	7,81	3,12						
	5	1195	651	1840	891	1776	1889	2072	143	19,2	4,9	192	18,4	7,12	3,12						
	6	1013	613	1604	766	1595	1657	1818	152	20,6	5,3	188	18,2	7,67							
	7	1083	624	1787	919	1373	1460	1599	151	20,0	5,2	160	19,2	7,67							
	8	976	571	1718	804	1581	1671	1981	153	20,3	5,1	153	17,8	7,55	3,11						
	9	1021	621	1805	821	1436	1613	1799	148	21,2	5,3	180	18,2	7,57	3,14						
	10	1097	627	1909	935	1151	1293	1454	155	19,3	5,2	198	17,7	8,08	3,08						
media	1066	614	1731	854	1561	1691	1871	152	20,0	5,2	187	19,0	7,67	3,12							
C.V.	5,8	3,4	6,3	7,1	13,5	12,1	13,9	2,9	11,0	3,1	5,0	7,4	6,1	3,3	0,9						
media A+B	1	1118	655	1722	847	1795	1867	2190	157	21,5	5,1	206	20,5	7,69	3,17						
	2	1148	633	1678	948	1758	1824	2208	155	18,7	5,4	195	19,4	7,90	3,09						
	3	1092	615	1770	879	1679	1802	1995	152	18,4	5,1	189	20,3	7,53	3,15						
	4	1070	687	1762	793	1718	1908	2000	156	20,5	5,1	168	20,8	7,81	3,12						
	5	1210	674	1980	920	1699	1828	2000	149	19,6	5,0	192	18,4	7,12	3,12						
	6	1029	632	1626	776	1692	1864	1963	151	20,1	5,2	160	19,2	7,67							
	7	1120	614	1783	947	1570	1740	2000	157	25,2	5,3	188	18,2	7,74	3,10						
	8	1015	610	1696	814	1567	1697	1890	158	20,4	5,3	180	17,8	7,55	3,11						
	9	1066	644	1866	846	1509	1740	1836	151	21,1	5,5	190	18,2	7,57	3,14						
	10	1113	635	1918	930	1464	1682	1763	158	20,3	5,4	198	17,7	8,08	3,08						
media	1098	640	1780	870	1644	1793	1957	154	20,3	5,2	187	19,0	7,67	3,12							
C.V.	5,2	4,0	6,2	7,4	6,7	4,2	6,8	2,2	5,9	3,2	5,3	7,4	6,1	3,3	0,9						

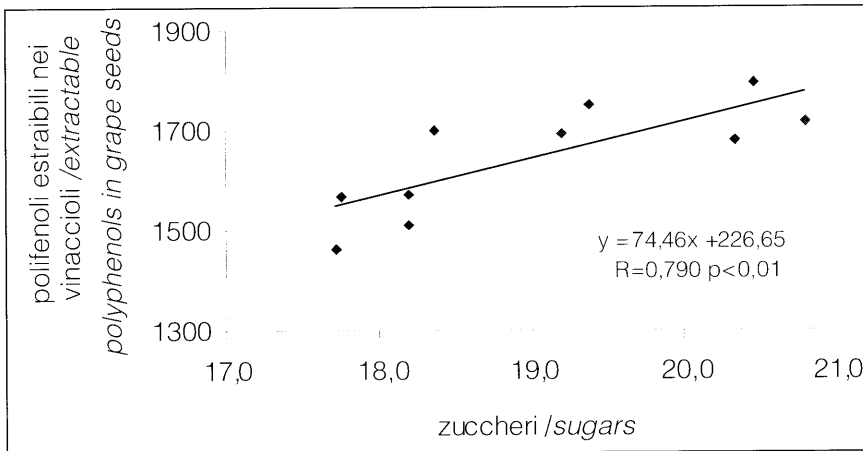


Fig. 2: Correlazione tra il contenuto di polifenoli estraibili dei vinaccioli (mg/kg di bacche) ed il livello di maturazione dell'uva (contenuto del mosto in solidi solubili, ° Brix, in ascissa).

Fig. 2: Correlation between the content of extractable polyphenols of the grape seeds (mg/kg of berries) and the grape maturity (soluble solids in the must, °Brix, x axis).

Per le finalità di stima del potenziale polifenolico utile ai fini enologici è sufficiente poter evidenziare differenze compositive di significato tecnologico, per cui la precisione ottenuta con le dimensioni di campionamento proposte, ossia 200 grammi di bacche, rappresentativi di 10 grappoli, è da considerare comunque adeguata. Qualora ci fosse l'esigenza di una maggiore accuratezza del valore stimato – come può essere il caso, ad esempio, di sperimentazioni e ricerche in campo agronomico - è invece consigliabile aumentare la dimensione del campione. La eventuale esecuzione in doppio (tabella 2) riduce il CV a valori eguali od inferiori a 7,4% per tutti gli indici di polifenoli delle bucce ed eguali od inferiori al 6,8% per i semi.

c. Correlazione tra composizione delle uve e dei vini sperimentali

Il confronto realizzato tra la composizione delle uve e dei rispettivi vini sperimentali analizzati 5 mesi dopo la vendemmia è particolarmente interessante e probante: Questo perché la materia prima era molto diversa a causa delle differenti condizioni agronomiche e sanitarie originarie, ma in particolare perché le correlazioni studiate, e quindi l'eventuale predittività ricavabile, sono fatte rispetto a vini che avevano superato i primi mesi di rapida evoluzione ed erano pertanto ragionevolmente stabilizzati avendo subito sia la fermentazione malolattica che fasi di conservazione a bassa temperatura, filtrazione ed imbottigliamento.

Le regressioni tra la composizione dell'uva alla vendemmia ed il corrispondente vino dopo stabilizzazione sono risultate significative sia per gli antociani (Fig 3, in alto, $R=0,848$, $p<0,05$) che per le proantocianidine (Fig 3, in basso, $R= 0,832$, $p<0,05$). Questi risultati confermano quindi sperimentalmente un ragionevole pote-

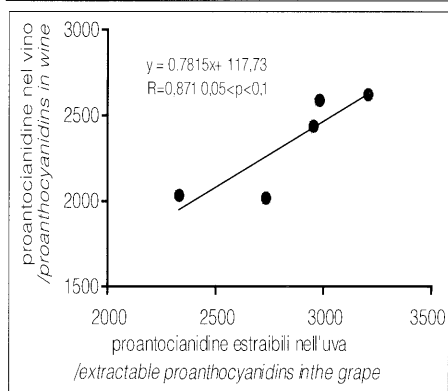
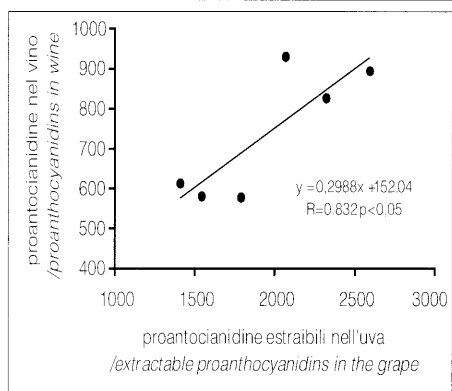
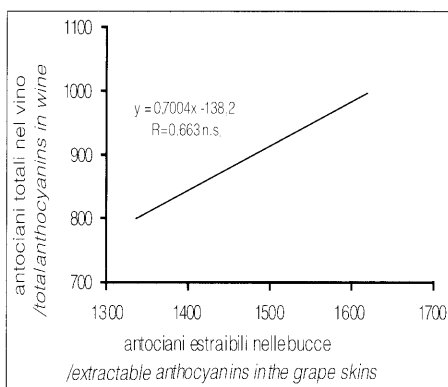
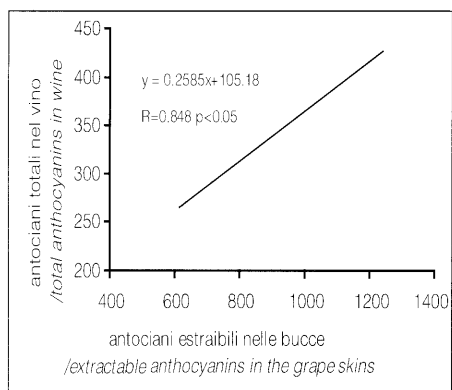


Fig. 3: Correlazione tra il contenuto di antociani estraibili della buccia (in alto, mg/kg di bacche) e di proantocianidine estraibili della bacca (bucce+vinaccioli, in basso, mg/kg di bacche) ed il contenuto del vino sperimentale da essa prodotto (mg/L). Il vino è stato analizzato circa 5 mesi dopo la vinificazione.

Fig. 3: Correlation between the content in extractable anthocyanins in the grape skin (top, mg/kg of berries) and of extractable proanthocyanidins in the berry (bottom, mg/kg of berries) and the concentration in the relevant experimental wine (y-axis, mg/L). The wine was analysed 5 months ca. after the winemaking.

Fig. 4: Correlazione tra il contenuto di antociani estraibili della buccia (in alto, mg/kg di bacche) e di proantocianidine estraibili della bacca (bucce+vinaccioli, in basso, mg/kg di bacche) e la concentrazione nel vino da essa prodotto in scala industriale (in ordinata, mg/L). Il vino è stato analizzato circa 1 mese dopo la vinificazione.

Fig. 4: Correlation between the content in extractable anthocyanins in the grape skin (top, mg/kg of berries) and of extractable proanthocyanidins in the berry (bottom, mg/kg of berries) and the concentration in the relevant wine, produced at the industrial scale (y-axis, mg/L). The wine was analysed one month ca. after the winemaking.

re previsionale in termini di corrispondenza uva-vino, tanto per gli antociani della buccia che per i tannini complessivi della bacca.

d. Correlazione tra composizione delle uve e dei vini industriali

Il confronto in oggetto voleva verificare l'applicabilità del metodo in un contesto di normale produzione industriale, ossia in condizioni di vinificazione non rigorosamente standardizzate seppur abbastanza comparabili in termini di durata della macerazione e modalità della gestione del contatto solido-liquido. I vini sono stati analizzati in questa prova dopo circa un mese dalla produzione. Come si vede dalla figura 4, emerge una certa correlazione tra i valori delle uve e dei vini ottenuti. I valori del coefficiente di correlazione sono rispettivamente pari a 0,671 per i polifenoli estraibili e 0,663 per gli antociani (figura 4, in alto). Sono valori statisticamente non significativi, anche a causa del basso numero di campioni disponibili, dato che è richiesto $R=0,878$ per $p<0,05$ con soli tre gradi di libertà, ma dal punto di vista pratico possiamo vedere che ad esempio le tre uve meno ricche di antociani hanno prodotto i tre vini meno dotati, ed analogamente il risultato ha buona corrispondenza pratica per i polifenoli totali (dato non riportato). La correlazione migliore si ha per il contenuto in tannini (figura 4, in basso), infatti per le proantocianidine la correlazione tra uve e vini è pari a 0,871 ($0,05<p<0,1$). Questi risultati sono in buon accordo con la correlazione sopra discussa tra le uve ed i vini microvinificati, ed in particolare confermano un ottimo potere predittivo della metodica di analisi delle uve per la stima delle proantocianidine estraibili nel vino.

e. Campo di applicazione del metodo

In considerazione dei risultati riportati, e di una pluriennale esperienza applicativa, si possono suggerire diversi settori di applicazione del metodo proposto che si ritiene ora adeguatamente validato. In particolare i campi di applicazione più interessanti appaiono essere:

- i) lo studio del potenziale fenolico delle diverse varietà di uve rosse da vino, al fine di acquisire dati di riferimento sulla loro dotazione in polifenoli estraibili in vinificazione, del bilancio tra contenuto di antociani e di proantocianidine, e della distribuzione dei tannini tra buccia e vinaccioli, che sono caratteristiche varietali. Questo tipo di lavoro è stato già avviato con ottimi risultati, permettendo di classificare 25 varietà italiane ed internazionali, mettendo in evidenza gli aspetti tecnologicamente importanti (Mattivi et al., 2002).
- ii) L'interpretazione delle cinetiche di estrazione dei polifenoli. E' stato chiaramente dimostrato infatti come la conoscenza della localizzazione dei tannini nella bacca e della cinetica di estrazione di questi dalle bucce e dai vinaccioli, permetta di descrivere un modello generale di estrazione, stimando anche l'importanza relativa delle estrazioni precoci dalle bucce, in fase prefermentativa e fermentativa, rispetto alle estrazioni dai vinaccioli, situate in fase più tardiva (Mattivi et al., 2002).
- iii) La valutazione del potenziale polifenolico dei vigneti. La possibilità di stimare il potenziale polifenolico delle uve rosse utile ai fini enologici permette di impostare studi pluriennali mirati alla zonazione. La predittività mostrata dalla

metodica permette di abbattere drasticamente i costi ed i tempi rispetto all'approccio tradizionale basato sulla realizzazione di vinificazioni sperimentali, dato che in questo caso la valutazione viene fatta direttamente sull'uva. Il risultato atteso di questo tipo di studi è quello di identificare le condizioni di interazione vitigno-territorio più idonee alla produzione di vini rossi di qualità, ed a scegliere la destinazione enologica più appropriata per uve a diversa caratteristica compositiva. I risultati acquisiti nei primi anni di applicazione della metodica con questo scopo sono particolarmente incoraggianti (Prast, 2001, Thieme, 2002).

- iv) La valutazione della efficienza dei processi estrattivi in cantina (paragone quantitativo uva-vino). La valutazione della efficienza del processo di vinificazione in scala industriale è molto complessa. In particolare è molto difficile realizzare un disegno sperimentale con le replicazioni, per la impossibilità di disporre di più partite di uva eguali, e perché spesso non sono disponibili più vasche di fermentazione identiche utilizzabili contemporaneamente. A patto di fare un capillare campionamento sulle uve in ingresso in cantina, è invece possibile valutare la efficienza assoluta delle estrazioni, stimando per i diversi indici di polifenoli (antociani, proantocianidine, etc) la resa da uva a vino con la formula di seguito riportata.

$$R_{\text{estr}} = C_w * R_w / C_g$$

Dove:

R_{estr} = Resa percentuale della estrazione

C_w = Concentrazione nel vino alla svinatura (mg/L)

C_g = Concentrazione nell'uva (mg/kg di bacche)

R_w = Resa percentuale della vinificazione (L di vino per 100 kg di pigiadiraspato, circa 70 L/100kg)

- v) Lo studio della variazione del potenziale polifenolico delle uve rispetto a variabili agronomiche quali la tecnica colturale, all'annata, lo stadio di maturazione raggiunto, etc. Anche per questo tipo di lavoro sono già state effettuate diverse sperimentazioni che ne dimostrano l'utilità e la fattibilità (Clauser, 1999; Zangelmi, 1999; Zulian, 1999; Festi, 2001). Se da un lato risulta piuttosto laborioso, e non sempre giustificato dai risultati, seguire l'intera curva di maturazione, può invece essere utile fare una analisi preventiva su un campione prelevato con circa una settimana di anticipo rispetto alla vendemmia, al fine di ottenere una stima preventiva del contenuto in polifenoli delle uve. Dato che le variazioni indotte dall'annata sono molto forti, ma si ripercuotono in maniera simile sui vigneti di una stessa zona (Mattivi et al., 1997), con alcune misure preventive su vigneti rappresentativi è possibile produrre una valutazione mirata a focalizzare le caratteristiche peculiari dell'annata, utile per impostare le vinificazioni.

Conclusioni

La metodica "ideale" per la valutazione del potenziale polifenolico delle uve rosse dovrebbe auspicabilmente possedere i seguenti requisiti: i) capacità di produrre un dato ben correlato al risultato ottenibile con una vinificazione in rosso in condizioni tipiche; ii) capacità di individuare differenze compositive di importanza tecnologica (precisione); iii) limitata durata e complessità (e di conseguenza, costo) della misura.

Le prime due caratteristiche sono indispensabili per avere un metodo di riferimento che sia applicabile per lavori di studio (zonazione, comparazione di biotipi/cloni, studi agronomici, studio della maturazione fenolica, etc). La terza caratteristica è necessaria per produrre informazioni appena prima della vinificazione, e quindi per una applicazione estensiva in enologia, a patto sempre che le informazioni prodotte siano effettivamente predittive e quindi soddisfino i requisiti i) e ii). La metodica IASMA per la valutazione del potenziale polifenolico delle uve rosse soddisfa i requisiti di accuratezza, precisione e potere predittivo, in particolare per i tannini che sono i più problematici da stimare, ed inoltre fornisce anche informazioni accessorie sulla localizzazione dei tannini e sulle caratteristiche meccaniche del grappolo. Infine, va sottolineato che può essere realizzata con una strumentazione estremamente semplice ed economica.

Non sono invece completamente soddisfatti dal metodo i requisiti relativi al punto iii) in quanto la preparazione del campione fino alla messa in stufa è molto laboriosa (60-90 min per campione) e richiede una certa manualità per separare bene ed in modo costante le bucce senza danneggiarle. Inoltre, la necessità di lavorare uve fresche (<48 h) limita il numero di campioni lavorabili e la durata complessiva (minimo di 6 giorni o superiore) non permette di fornire tempestivamente indicazioni prima della vinificazione per ciascuna partita di uve, in particolare in contesti nei quali la evoluzione di alcuni composti, quali ad esempio gli antociani, possa essere molto rapida in prossimità della data di raccolta.

In conclusione, si può dire che si ritiene pienamente conseguito l'obiettivo di disporre di una metodica di riferimento per la valutazione del potenziale polifenolico delle uve, proponibile in un vasto campo di applicazioni e come termine di confronto per l'ulteriore sviluppo di metodi alternativi, mentre rimane obiettivo importante per la ricerca sviluppare un metodo rapido per la valutazione routinaria, ma sempre accurata, del potenziale polifenolico delle uve rosse da vino.

Ringraziamenti

Si ringraziano vivamente Umberto Pichler e Mauro Varner (Cantine MezzaCorona) per il fondamentale contributo alla realizzazione delle prove di validazione del metodo.

Si ringraziano inoltre Enrico Paternoster, Massimo Bertamini e Daniele Zangelmi per la collaborazione alla realizzazione delle prove di correlazione tra uve e vino.

Si ringraziano infine Giuliano Cova e Carla Sanchez per la valida assistenza tecnica alla conduzione delle misure.

Riferimenti bibliografici

1. AA.VV. (1989). *Statistical methods. ISO Standard Handbook 3*. Genève, Swiss.
2. AMRANI JOUTE K. (1993). *Localisation des anthocyanes et des tanines dans le raisin étude de leur extractibilité*. - Thèse n°238 pour le doctorat de l'Université de Bordeaux II, UFR d'oenologie, Bordeaux, France.
3. AMRANI JOUTE K., GLORIES Y. (1994). *Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges*. J. Int. Vigne et Vin, (28, 4): 303-317.
4. AUBERT S., POUX C. (1968). *Corrélation entre la constitution en composés phénoliques des vins, la température de vinification et les caractéristiques générales de l'année*. Ann. Technol. Agric. 1968, (17, 4): 299-313.
5. AUBERT S., POUX C. (1969). *Extraction des composés phénoliques du raisin*. Ann. Technol. Agric., 1969, (18, 2): 93-127.
6. BOURZEIX M., DUBERNET M.O., HEREDIA N. (1975). *Sur l'extraction de divers constituants phénoliques des raisins et de leurs rafles*. Industries alimentaires et agricoles, (9-10): 1057-1064.
7. BOURZEIX M., WEYLAND D., HEREDIA N. (1986). *Étude des catéchines et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne*. Bulletin de L'O.I.V., (669-670): 1171-1254.
8. CLAUSER E. (1999). *Influenza della peronospora (Plasmopara viticola) sulla composizione fenolica della bacca*. Tesi di Diploma Corso di Studi Superiori in Viticoltura ed Enologia, San Michele all'Adige, Italia.
9. DI STEFANO R., CRAVERO M.C., GENTILINI N. (1989). *Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini*. L'Enotecnico, (5): 83-89.
10. DI STEFANO R., CRAVERO M.C. (1991). *Metodi per lo studio dei polifenoli dell'uva*. Riv. Vitic. Enol., (44, 2): 37-45.
11. DI STEFANO R. (2001). *Significato e metodi di determinazione dello stato di maturità dei polifenoli dell'uva*. Atti Seminario, Maturità fenolica : significato, metodi di determinazione, risultati pratici sperimentali. Milano, A.E.E.I. ed., Milano, Italia.
12. FESTI A. (2001). *Evoluzione durante la maturazione dei polifenoli nelle bucce e nei vinaccioli delle varietà Marzemino e Lagrein in Vallagarina (Trentino)*. Tesi di Diploma Corso di Studi Superiori in Viticoltura ed Enologia, San Michele all'Adige, Italia.
13. GLORIES Y., AUGUSTIN M. (1993). *Maturité phenolique du raisin, conséquences technologiques : application aux millésimes 1991 et 1992*. Actes du colloque: Journée technique du C.I.V.B. , 21 Janvier 1993, Bordeaux: 56-61.
14. GLORIES Y. (1998). *Maturation du raisin, controle de la maceration et de l'élevage des vins rouges*. Atti di seminario, 30 Gennaio, Università di Udine.
15. GUNATA Z., PINAU J., CORDONNIER R. (1987). *Determination de la qualité de la vendange par sa richesse en composés phénoliques. Applications à la vinification*. R.F.OE. (107) : 7-13.
16. ILAND P.G. (1987). *Predicting red wine colour from grape analysis*. The Australian Grapegrower and Winemaker, The Roseworthy Report, 29.
17. MANCINI P., BONACCORSI R. (1990). *Valutazione qualitativa delle uve rosse in Toscana in relazione al tenore dei composti polifenolici*. L'Enotecnico, (3): 81-86.
18. MARGHERI G., TONON D. (1977). *Le sostanze polifenoliche dell'uva, del vino e dei sottoprodotti della vinificazione in rosso*. Riv. Vitic. Enol., (9): 3-13.
19. MARGHERI G., TONON D., PELLEGRINI R., SARTORI G. (1985). *Correlazione tra la composizione biochimica dell'uva, le tecniche di vinificazione e la qualità dei vini*. L'Enotecnico, (21, 11): 1129-1134.
20. MATTIVI F., NICOLINI G., FALCETTI M. (1997). *La composizione polifenolica del vino Marzemino trentino*. In: Il Marzemino Trentino D.O.C. L'ambiente, la vite, il vino. Falcetti M e Campostriani F. ed., Consorzio Tutela del Marzemino Trentino: 135-150.
21. MATTIVI F., ZULIAN C., NICOLINI G., VALENTI L. (2002). *Wine, biodiversity, technology and antioxidants*. In: Alcohol and Wine in Health and Disease, Annales NYAS, (957): 37-56.
22. PRAST A (2001). *Valutazione del contenuto in polifenoli estraibili nelle uve rosse della vendemmia 2000 in Trentino*. Tesi di Diploma Corso di Studi Superiori in Viticoltura ed Enologia, San Michele all'Adige, Italia.

23. RIBEREAU-GAYON P. (1968). *Les composés phenolics des vegetaux*. Dunod, Paris.
24. RIBEREAU-GAYON P. (1971). *Évolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin. I. Expérimentation 1969*. *Connaiss. Vigne Vin*: 247-261.
25. RIGO A., VIANELLO F., CLEMENTI G., ROSSETTO M., SCARPA M., VRHOVSEK U., MATTIVI F. (2000). *Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines*. *J. Agric. Food Chem.*, (48, 6): 1996-2002.
26. SINGLETON V.L., DRAPER E.D. (1964). *The transfer of polyphenolics compounds from grape seeds into wines*. *Am. J. Enol. Vitic.*, (14): 34-40.
27. VRHOVSEK U. MATTIVI F., WATERHOUSE A.L. (2001). *Analysis of red wine phenolics: comparison of HPLC and spectrophotometric methods*. *Vitis* (40, 2): 87-91.
28. THIEME A. (2002). *Lagenbewertung von Teroldego- und Cabernet Sauvignon- Weinbergen anhand der extrahierbaren Polyphenole*. Diplomarbeit, Fachhochschule Wiesbaden, Fachbereich Weinbau und Getraenketechnologie. Wiesbaden, Germania.
29. ZANGELMI D. (1999). *Effetto del microclima dei grappoli sull'accumulo dei polifenoli nelle uve della varietà Cabernet Sauvignon*. Tesi di Diploma Corso di Studi Superiori in Viticoltura ed Enologia, San Michele all'Adige, Italia.
30. ZULIAN C. (1999). *Influenza esercitata dalla forma di allevamento della vite sull'ecofisiologia della pianta, sulla produttività, la composizione dei mosti e sul contenuto fenolico dei vini*. Tesi di Laurea in Scienze Agrarie, Università degli Studi di Padova, Italia.