

Osservazioni con la tecnica della colorimetria tristimolo sul colore delle soluzioni idroalcoliche di antociani
The tristimulus measurement of the color of hydroalcoholic solutions of anthocyanins

F. Mattivi, H. Rottensteiner, D. Tonon

Istituto Agrario di San Michele, Dipartimento Laboratorio: Analisi e Ricerche, via E. Mach 1 - 36010 San Michele all'Adige (Trento) - Italia (e-mail: fuwro.mattivi@mail.ismaar.it) (ricevuto il 03.04.01, accettato il 02.05.01)

Riassunto

La tecnica della colorimetria tristimolo, si presta ad essere impiegata come metodo rapido per la misura del colore delle soluzioni di antociani. Facendo riferimento allo spazio colore CIELAB, nel lavoro si discutono le variazioni in funzione del pH delle caratteristiche cromatiche L^* , a^* , b^* , C^* ed h delle soluzioni di antociani, dovute agli equilibri di interconversione degli antociani tra le strutture ione flavilio, carbinolo, base chinonica e calcone. Nel range di pH dei vini, una variazione di 0.1 unità di pH causa in una soluzione contenente 100 mg/L di antociani una variazione globale di colore ΔE^* superiore alla soglia di percezione sensoriale. Infatti tra pH 3.0 e 4.0, il ΔE^* per unità di pH è pari mediamente a 3.56, 4.17 e 2.05 rispettivamente per la malvidina-3-glucoside, la cianidina-3-glucoside e per la miscela di antociani polimeri isolata dall'uva Cabernet Sauvignon. Il lavoro descrive inoltre la dipendenza dei parametri L^* , C^* ed h dalla concentrazione degli antociani in soluzione, e discute le condizioni opportune di misurazione per documentare il colore di vini rossi, vini rosati, mosti muti rossi ed enocianine, adottando le appropriate celle di misura e diluizioni in funzione della concentrazione di antociani nelle diverse matrici.

Abstract

The tristimulus colorimetry method is particularly suitable for the quick measurement of the chromatic characteristics of anthocyanins in solution. The CIELAB color space is considered the most suitable for this purpose. The variations of the color co-ordinates L^* , a^* , b^* , C^* and h of solutions of anthocyanins induced by the pH value are described, which are caused by the variation of the equilibria between the chemical structures of the anthocyanins, i.e. flavylum cation, hemiacetal, quinonoidal base and open chalcone. In the pH range of wines, a variation of 0.1 unit of pH in a 100 mg/L solution of anthocyanins induces a color difference ΔE^* higher than the visual perception threshold. Indeed, the color difference ΔE^* for 0.1 unit of pH is in the range of pH 3.0-4.0 equal to 3.56, 4.17 and 2.05 respectively for malvidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside and for a mixture of polymeric pigments isolated from Cabernet Sauvignon grape. The article describes the relationship between the parameters L^* , C^* and h and the concentration of the anthocyanins in the solu-

tions, and suggests appropriate conditions for the measurement of the color of red wines, rosé wines, red musts and anthocyanins, taking into account the difference in pigment concentration in these products.

Parole chiave: antociani, colore, tristimolo, vino rosso, vino rosato, enocianina, mosto muto rosso

Key words: anthocyanin, color, tristimulus, red wine, rosé wine, enocyanin, red must

Introduzione

La colorimetria tristimolo rappresenta una tecnica ormai pienamente evoluta per la valutazione del colore dei prodotti alimentari. Si presta a fornire con precisione dei dati capaci di descrivere con proprietà e completezza le caratteristiche cromatiche degli alimenti, siano essi dei solidi o dei liquidi non trasparenti, analizzati in base alla luce riflessa, o delle bevande limpide, che vengono valutate in base alla percentuale di luce trasmessa. Anche grazie alla disponibilità di strumentazioni dedicate, da banco o portatili, di costo relativamente moderato e di facile e rapido utilizzo, la tecnica della colorimetria tristimolo si è guadagnata una posizione di rilievo in numerosi settori dell'industria alimentare.

Sorprendentemente, si riscontra invece che il settore enologico non è stato finora recettivo a questo sviluppo delle tecniche di misura del colore. Infatti, in questo settore, la ricerca di metodi di riferimento capaci di restituire valori descrittivi rigorosamente corretti ed internazionalmente normati è rimasta relegata da svariati anni nelle discussioni degli organismi internazionali, e nonostante siano apparse nella letteratura tecnico-scientifica diverse ed interessanti proposte applicative [Ayala et al., 1997; Bosso et al., 1999; Cagnasso, 1997; Cruz Ortiz et al., 1995; Heredia, 1995 e 1997; Kreuz, 1998; Neguerela et al., 1995; Piracci, 1994; Soares, 1999], nei laboratori enologici italiani ed esteri si continuano a valutare i prodotti enologici quasi esclusivamente sulla base di metodi semplificati basati su spettrofotometri analitici a trasmissione. I vini rossi vengono solitamente valutati in base alle misurazioni di assorbimento alle lunghezze d'onda di 420, 520 e 620 nm, individuate come descrittori delle componenti percepite dall'osservatore come colorazione "gialla", "rossa" e "blu" rispettivamente, secondo formule diverse proposte da vari autori [Sudraud, 1958; Di Stefano e Cravero, 1989; Glories, 1978 e 1984] mentre per quanto riguarda i bianchi ed i liquorosi si effettua una unica lettura a 420 nm, che viene approssimativamente ricondotta alla intensità della componente "gialla" senza fornire alcuna indicazione sulla tonalità del colore del vino.

La tecnica di colorimetria tristimolo si presta pienamente a sostituire, quale metodo rapido di uso quotidiano, le attuali metodiche semplificate, avendo il vantaggio evidente di fornire, in un tempo minore, una descrizione del colore più completa ed accurata, e di immediata comprensione.

Per una appropriata introduzione di questa tecnica nel settore enologico, è importante discutere alcuni elementi che sono alla base della interpretazione del colore delle soluzioni antocianiche, relativamente a quelle proprietà che hanno

influenza diretta sulle condizioni di misura e sulla interpretazione del dato.

Sarà inoltre di aiuto richiamare brevemente la descrizione della tecnica, non con finalità di ripetere testi ben più completi sotto il profilo teorico, ma per far emergere il parallelismo tra i concetti di intensità colorante e di tinta, di uso corrente in enologia, ed i parametri forniti dalla tecnica colorimetrica, ed evidenziare come una transizione concettuale dalle metodiche correnti a quelle in uso nella colorimetria tristimolo richieda infatti all'enologo uno sforzo modesto.

Verranno infine brevemente discusse delle possibili condizioni applicative della tecnica di misurazione del colore di prodotti enologici quali vini rossi e rosati, enocianine, e mosti muti rossi, in cui la caratteristica cromatica rappresenta uno degli elementi base di valutazione qualitativa e di formazione del prezzo.

Materiali e metodi

1. La misura del colore.

a. La strumentazione.

Le misurazioni del colore sono state effettuate con un colorimetro tristimolo Minolta Chroma Meter CT-310. L'illuminante utilizzato è di tipo C (luce diurna), temperatura di colore equivalente di 6774 °K, con osservatore standard 2° CIE 1931. La sorgente è una lampada Xenon pulsata ad alta intensità che illumina il campione in modo diffuso ed uniforme. Sono state usate due diverse celle di vetro ottico, una di percorso ottico di 2 mm (per la misura diretta di vini rossi) ed una con percorso ottico di 10 mm (per la lettura diretta dei vini rosati e, con opportuna diluizione, per rossissimi ed enocianine).

La luce trasmessa dal liquido contenuto nella cella, viene rivelata da un fotorelevatore prefiltrato, composto da tre elementi al silicio. Dal momento che si tratta di uno strumento a doppio raggio, oltre al raggio principale che attraversa il campione viene monitorata, su un percorso ottico parallelo, la luce emessa dalla sorgente attraverso una seconda batteria di fotorelevatori (raggio di riferimento).

Le fotocellule convertono la luce in corrente elettrica, la cui intensità è proporzionale all'intensità di luce trasmessa dal campione. Questo segnale analogico viene poi convertito in segnale digitale e da esso vengono determinati i valori tristimolo (X, Y, Z) ed eseguite i calcoli necessari per ricavare i dati equivalenti dei vari spazi di colore ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^*$). Questi dati vengono automaticamente salvati in memoria, visualizzati su un schermo LCD e stampati da una stampante termica.

b. Condizioni di misura

Lo strumento è stato calibrato con acqua distillata prima di ogni sessione di misura ed a ogni cambio della cella del campione. Nel caso di prodotti enologici concentrati, si effettua un bianco anche con il tampone utilizzato per le diluizioni. Le celle usate sono state avvindate accuratamente tra un campione e l'altro con una parte del campione successivo, in modo da non avere influenza del campione precedente. Prima di ogni sessione di misura la cella è stata lavata prima con alcool etilico a 96° e poi con acqua distillata per procedere alla calibrazione.

Le misurazioni sono state effettuate immediatamente dopo la preparazione del campione (nel caso di soluzioni sintetiche) o venti minuti dopo la preparazione (nel caso di enocianine).

Campioni torbidi sono stati filtrati con un filtro a cartuccia monouso a 0,45 μm per eliminare ogni tipo di solidi sospesi, che possono disturbare una misura esatta.

c. Espressione dei dati

Gli spazi colorimetrici si basano in genere su tre grandezze derivate definite come segue:

- La lunghezza d'onda dominante della tinta o tonalità definisce una luce o un colore come "rosso", "verde", "azzurro" ecc. L'azzurro qui corrisponde per definizione alla lunghezza d'onda di 400 nm, il verde a 520 nm ed il rosso a 700 nm [Salinas et. al. 1992].
- Purezza (o saturazione, usata quando la purezza non è definibile numericamente) indica, invece, di quanto la tinta pura è diluita col bianco. I colori spettrali o le luci monocromatiche hanno purezza massima (100%), mentre il bianco ha purezza zero. Il colore rosa, ad esempio, è un rosso con una purezza del 50%.
- La brillantezza o luminanza, infine, indica la diversa intensità di luce, ovvero di quanto la tinta è diluita con il nero.

Lo strumento da noi impiegato fornisce il risultato in più spazi di colore diversi quali CIE 1931 Xy , $L^*a^*b^*$, L^*C^*h , e XYZ.

Lo spazio di colore del sistema di misura CIELAB, che oggi rappresenta uno dei modelli più usati, è fondamentalmente basato sul concetto di tre coppie di sensazioni opposte (giallo vs. blu, rosso vs. verde, bianco vs. nero) ed è derivato dall'interpretazione di Hering sul tipo di codificazione del segnale inviato dai fotorecettori al cervello. Secondo questa teoria un colore non può essere contemporaneamente rosso e verde oppure giallo o blu, invece può derivare dalla coesistenza del rosso e del giallo come nell'arancione, o del blu e del rosso come nel porpora. [Cagnasso, 1997].

Le coordinate cromatiche a^* e b^* descrivono ognuna due colori opposti: a^* esprime nei valori positivi il livello di rosso contenuto nel colore, mentre in quelli negativi il livello di verde; analogamente b^* è legata al giallo e al blu. L'attributo acromatico del colore è definito dalla luminanza (L^*), il suo valore varia da zero (nero) a 100 (bianco). L'asse di valori di luminanza è perpendicolare al piano cromatico a^*b^* e passa per l'origine delle assi. [Cagnasso, 1997].

Il modello CIELAB è una buona base per qualsiasi tipo di misura tristimolo. L'indicazione del colore è però lontana dal modo di ragionamento umano. A questo si adegua di più il modello L^*C^*h , il quale, invece delle coordinate a^* e b^* , usa delle coordinate cilindriche: h e C^* . Il sistema di parametri L^*C^*h è quello che concettualmente più si avvicina alla terminologia impiegata dalle metodiche rapide di uso corrente nella maggior parte dei laboratori di enologia. La h definisce la tinta (*hue*) mentre la C^* il *chroma*; esse sono correlate rispettivamente ai termini percettivi tinta e saturazione. [Cagnasso, 1997].

Una grande importanza per i nostri studi ha però anche il sistema $L^*a^*b^*$, che forma la base per il sistema L^*C^*h , che fornisce informazioni equivalenti ed utilizza

bili per il calcolo delle differenze di colore. Per l'espressione di queste differenze sono state usate due grandezze: la ΔE^* esprime la variazione globale del colore, non indicando però la direzione del cambiamento, mentre la Δh^* esprime il cambiamento di tinta. Il segno del Δh^* viene dato arbitrariamente: se la variazione della tinta h è positiva (il campione diventa più giallo), anche il segno del Δh^* sarà positivo. Se, invece, la variazione della tinta è negativa (il campione diventa più blu), allora anche il segno del Δh^* sarà negativo.

2. Esperimenti riguardanti il colore delle soluzioni di antociani

a. Gli antociani studiati.

Sono stati utilizzati quattro tipi di antociani, due standard ultrapuri, malvidina-3-glucoside (Extrasynthese) e cianidina-3-glucoside (Polyphenols Laboratories As) e due miscele complesse, una miscela di antociani monomeri a titolo noto ed una miscela di antociani polimeri, entrambe ottenute da uva della varietà Cabernet Sauvignon ed isolate presso il nostro laboratorio.

Questi ultimi preparati sono stati ottenuti con complesse tecniche preparative. Dopo la estrazione a freddo con metanolo da bucce di uva Cabernet Sauvignon raccolta alla maturazione, gli antociani vengono scambiati in acqua e purificati dalle frazioni apolari mediante estrazioni sequenziali con esano (1 estrazione) e con acetato di etile (3 volte). Quest'ultima estrazione elimina completamente i flavonoli ma anche una parte degli esteri p-cumarici degli antociani. La frazione acquosa priva di solventi, viene quindi assorbita su resina Polyclear SB100 (BDH). La resina viene lavata con H_2O per eliminare il materiale idrofilo, si eluiscono completamente tutti gli antociani monomeri con la miscela etanolo/acqua/acido formico (55:45:1). Questa frazione viene concentrata, neutralizzata e purificata su resina Sephadex LH 20 eluendo gli antociani monomeri con etanolo, e cristallizzandoli con etere etilico (del tipo stabilizzato con garza di rame). Infine, si raccoglie dalla SB 100 la frazione antocianica contenente i cosiddetti "antociani polimeri" per eluzione con acido formico 85%. Una volta eliminato l'acido formico per evaporazione, il deposito di questa ultima frazione viene ripreso con la minima quantità di acido formico concentrato ed etanolo assoluto, e gli antociani polimeri vengono cristallizzati con etere etilico e recuperati per filtrazione su membrana da 0,22 micron.

b. Colore e pH

L'effetto del pH è quello che più macroscopicamente influenza il colore del vino rosso ed in generale delle soluzioni antocianiche. In questo articolo si sono volute descrivere in dettaglio le variazioni di colore dipendenti dal pH su delle soluzioni modello contenenti tre diversi tipi di antociani in una concentrazione di 100 mg/L: cianidina-3-monoglucoside, malvidina-3-monoglucoside, miscela di antociani polimeri dell'uva Cabernet Sauvignon. Per ciascun composto sono state preparate sette soluzioni tampone scaltate di una unità di pH nel range 1.0 — 7.0, utilizzando opportune miscele descritte in tabella 1.

Tab. 1: Preparazione delle soluzioni tampone usate per le misure a pH controllato.
 Tab. 2: Composition of the buffer solutions for the study of the dependence of the color from the pH value.

pH	Composizione, per 100 mL di soluzione tampone Buffer composition (final volume 100 mL)
1,0	25 mL KCl 0,2 M + 67 mL HCl 0,2 M
2,0	25 mL KCl 0,2 M + 6,5 mL HCl 0,2 M
3,0	0,5 g acido tartarico + NaOH 1 M
4,0	0,5 g acido tartarico + NaOH 1 M
5,0	50 mL tritato acido di potassio 0,1 M + 22,6 mL NaOH 0,1 M
6,0	50 mL fosfato di acido di potassio 0,1 M + 5,6 mL NaOH 0,1 M
7,0	50 mL fosfato di acido di potassio 0,1 M + 29,1 mL NaOH 0,1 M

Sono state preparate per pesata delle soluzioni madri con una concentrazione di antociani di 1000 mg/L in alcool etilico 96°. In caso di difficile solubilizzazione, queste soluzioni sono state messe in bagno ultrasoni per tre minuti. Le soluzioni antocianiche e le soluzioni tampone sono state conservate in freezer per una notte. Le soluzioni antocianiche sono state infine portate alle concentrazioni finali diluendo dieci volte con l'apposita soluzione tampone, in modo da ottenere di ognuno dei tre tipi di antociani sette soluzioni con ca. 9,6 % vol etanolo, scalate di una unità di pH. Queste soluzioni sono state lasciate stabilizzare per un'ora al buio, quindi lette al colorimetro in una cella da 10 mm. Di tutti i campioni è stata calcolata sia la ΔE^* che la Δr^* . Subito dopo la misura sono state travasate in boccette da 5 mL e sono state fotografate in luce diurna diffusa, su sfondo bianco, con diapositive Fujichrome Velvia.

c. Colore e concentrazione degli antociani

La comprensione delle relazioni tra quantità dei pigmenti antocianici e colore è alla base della messa a punto dei prodotti, dei tagli e delle correzioni. E' inoltre fondamentale per la definizione delle corrette condizioni di misura.

E' stata preparata una soluzione idroalcolica similare al vino, con il 13% Vol. di etanolo e 5 g/L di acido tartarico, tamponata con NaOH su un valore di pH = 3,5. In questa soluzione sono stati sciolti 1000 mg/L di un mix di antociani puri ottenuti da uva della varietà Cabernet Sauvignon di composizione esattamente nota (prima colonna di tabella 2).

Partendo da questa soluzione madre sono state preparate le soluzioni di misura, per diluizione con la soluzione simili-vino e con concentrazioni di 750, 500, 250, 200, 150, 100, 50, 25 e 10 mg/L. Dopo averle lasciate riposare al buio per un'ora per stabilizzarsi, queste soluzioni sono state misurate con le celle da 2 mm nel range 100-1000 mg/L e da 10 mm nel range 10-250 mg/L.

Tab. 2: Composizione del mix di antociani monomeri purificati da uve di Cabernet Sauvignon usati per lo studio della relazione colore-concentrazione, di un mosto rosso, e di alcuni campioni commerciali di enocianina (area HPLC percentuale a 520 nm).

Tab. 2: Composition of the mixture of monomer anthocyanins isolated from Cabernet Sauvignon grape, which have been used to measure the relationship between color and concentration, of a sample of red must, and of a sampling of enocyanin powder from the market (percentage of the HPLC area 520 nm).

	miscela antociani standard	mosto muto rosso	enocianina in polvere enocyanin, powder									
	standard mixture of free anthocyanins	red must stabilized by SO ₂										
composto - compound												
delfinidina 3-glucoside	11,89	19,14	9,55	8,43	8,34	22,02	17,06	20,96	20,33	19,71	16,41	15,11
cianidina 3-glucoside	1,94	3,36	14,41	1,91	13,27	3,63	2,93	4,13	3,99	2,62	2,84	2,60
petunidina 3-glucoside	13,83	12,83	12,59	11,44	12,45	18,24	18,09	14,50	15,09	18,13	14,96	15,19
peonidina 3-glucoside	9,26	6,34	16,96	7,38	17,94	5,86	6,19	6,08	5,75	4,95	8,53	8,03
malvidina 3-glucoside	47,18	28,09	39,80	40,77	42,57	31,39	42,31	29,13	30,81	38,45	41,85	41,19
delfinidina 3-glucoside acilata	2,15	4,28	0,19	0,32	0,14	1,64	0,11	2,75	2,79	2,88	1,70	1,94
cianidina 3-glucoside acilata	0,24	2,13	0,53	0,36	0,19	0,62	0,87	1,00	0,97	0,45	0,80	0,69
petunidina 3-glucoside acilata	2,21	3,08	0,36	1,32	0,34	3,08	3,59	2,38	2,51	3,05	1,80	2,34
peonidina 3-glucoside acilata	1,24	0,90	0,28	0,41	0,29	0,62	0,60	0,83	0,85	1,00	0,45	0,64
malvidina 3-glucoside acilata	7,49	7,56	1,45	3,14	1,36	4,30	1,68	4,71	4,84	5,27	4,04	5,34
delfinidina 3-glucoside p-cumarata	0,12	2,68	0,31	3,33	0,25	1,64	1,25	3,33	3,02	0,64	1,25	1,33
cianidina 3-glucoside p-cumarata	0,03	0,32	0,49	0,73	0,38	0,47	0,38	1,00	0,74	0,17	0,15	0,20
petunidina 3-glucoside p-cumarata	0,40	1,97	0,36	3,33	0,33	3,08	1,30	2,67	2,16	0,68	0,95	0,92
peonidina 3-glucoside p-cumarata	0,17	1,22	0,73	2,41	0,62	0,74	0,65	1,63	1,31	0,32	0,80	0,72
malvidina 3-glucoside p-cumarata	1,86	6,09	1,99	14,72	1,54	2,66	2,99	4,92	4,84	1,68	3,49	3,76
antociani liberi totali (1)		1,21 (2)	112,41	21,95	101,15	25,61	18,41	24,00	17,56	46,89	20,05	34,62

nota (1) = come malvidina 3-monoglucoside, HPLC, 520 nm, g/kg

note (1) = as malvidin 3-glucoside, HPLC, 520 nm, g/kg

(2) = come sopra, g/L

(2) = as above, g/L

d. Enocianine e mosti nudi rossi.

Sono state campionate dieci enocianine in polvere, sia commerciali che da singoli lotti di lavorazione, ottenute da diverse ditte produttrici e rappresentative sia di prodotti freschi appena preparati che di prodotti sottoposti a stoccaggio, ed inoltre, durante la vendemmia 1999, sono stati ottenuti una serie di 13 mosti nudi rossi del commercio. Questi campioni sono stati utilizzati per valutare i livelli di pigmenti tipici di questi prodotti del settore enologico, attraverso alcune caratterizzazioni analitiche. Le misure spettrofotometriche sono state condotte con uno spettrofotometro Hitachi U-2000, le analisi degli antociani totali sono state effettuate con il metodo di Di Stefano et al. [1989], quantificando il risultato in g/L o g/kg per liquidi e solidi rispettivamente, utilizzando il fattore di estinzione molare medio secondo Glories ($\epsilon=18800$), secondo le condizioni dettagliatamente descritte in Rigo et al. [2000]. Le misure degli antociani liberi per HPLC sono state effettuate mediante separazione su colonna in fase inversa Purospher RP18, 250x4 mm (Merck) e quantificazione a 520 nm con il metodo descritto da Mattivi [1997], esprimendo il dato come malvidina 3-glucoside cloruro, g/L o g/kg per liquidi e solidi rispettivamente. L'identificazione dei picchi è stata fatta come da Castia et al. [1992].

Risultati e discussione

a. Colore e pH.

L'effetto del pH sul colore dei vini rossi è stato studiato misurando in cella da 10 mm, nelle stesse condizioni di misura ritenute ottimali per i vini rosati, soluzioni acquose al 10% circa di etanolo, alla concentrazione di 100 mg/L dei tre tipi di antociani. Questi sono stati scelti in modo da essere rappresentativi di tre diverse classi di coloranti dell'uva: la malvidina 3-glucoside (antociano trisostituito, come la delphinidina 3-glucoside e la petunidina 3-glucoside), la cianidina 3-glucoside (antociano disostituito, come la peonidina 3-glucoside) ed infine una soluzione di antociani polimeri, purificati da uva della varietà Cabernet Sauvignon. Riguardo a quest'ultima frazione, la tecnica di preparazione da noi sviluppata è simile nel frazionamento finale alle metodiche di frazionamento nel vino degli antociani liberi dai pigmenti rossi costituiti da combinazioni tra antociani e tannini [Glories, 1978]. E' stato necessario sostituire l'eluyente per gli antociani liberi con una miscela più forte, rispetto alla miscela di EtOH-H₂O-HCl 70-30-1 proposta da Glories, per ottenere l'eluzione completa di delphinidina e cianidina 3-glucosidi. Quello che importa sottolineare è che la frazione da noi isolata e definita di "antociani polimeri" in quanto assente da antociani monomeri, ed avente caratteristiche cromatografiche analoghe alla frazione di pigmenti combinati tannini-antociani descritti da Glories, è presente come tale nell'uva di Cabernet Sauvignon dove l'abbiamo stimata rappresentare una quota molto elevata, da un terzo a metà degli antociani totali. In questo lavoro si presenta la descrizione delle caratteristiche cromatiche anche di questa frazione, il che permette di stimare quale contributo essa può apportare al colore del vino, qualora dovesse essere estraibile dalle uve durante la vinificazione.

Le soluzioni idroalcoliche sono state tamponate ai diversi valori di pH. Nel range

tra 3 e 4 si è utilizzato un tampone a base di acido tartarico, per ricostruire condizioni similari al vino. La concentrazione di antociani preparata è al livello superiore del campo dei rosati, vicino all'inizio del campo dei vini rossi, per cui le indicazioni qualitative ottenute dovrebbero dare indicazioni valide per entrambi i tipi di vino.

Si è studiato il range di pH da 1 fino a 7, al fine di capire l'andamento complessivo, che è dovuto alla presenza delle diverse forme strutturali delle antociane, presente ciascuna in proporzione variabile in funzione del pH (figura 1). Le misure sono state ottenute su soluzioni preparate di fresco, in quanto per pH superiori a 6 le antociane sono instabili e le relative misure non attendibili. Interessata discutere le variazioni nel range tra pH=3 e pH=4, le sole di interesse enologico.

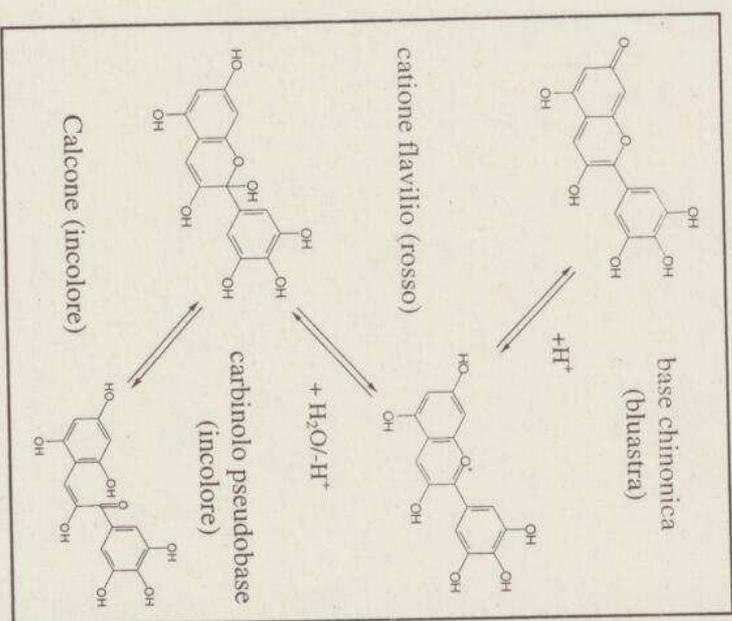


Fig. 1: Principali forme in cui una antocianina (nell'esempio, la delphinidina) è presente, in percentuali dipendenti dal pH (sono omesse per semplificazione le forme ionizzate della base chironica e l'isomeria trans-cis del calcione).

Fig. 1: Main chemical structures of an anthocyanin (in the example, delphinidin), whose concentration are depending on the pH-value. (simplified diagram, ionized quinonoidal bases and cis chalcon are not shown).

Malvidina 3-glucoside.

Le variazioni cromatiche sia della tinta che dell'intensità colorante determinate dal pH sono evidenti nella fotografia descrittiva della prova (figura 2). La correlazione tra la variazione di L^* e quella di C^* per la malvina (figura 3) è lineare nel range di pH tra 1 e 4: all'aumentare del pH aumenta grandemente il valore di L^* mentre diminuisce il valore della C^* , il che corrisponde ad un colore più chiaro e di minor grado di purezza. La variazione di h con L^* è abbastanza lineare tra pH 1 e 4, come pure la variazione di h con C^* . Al diminuire della intensità del colore, la h diminuisce, ossia si sposta da valori positivi nel campo del rosso a valori negativi, per l'aumentare della componente blu. Questi risultati sono in perfetto accordo con la diminuzione all'aumentare del pH della concentrazione della forma colorata in rosso (catone flavilio) per trasformazione nelle forme incolore della malvina (carbino- lo e calcione) ed in parte nella forma colorata in blu (base chironica). La differenza globale di colore ΔE^* tra pH 3 e 4 è di ben 35,6 mentre quella di Δh^* è di -6,8 (tabella 3). Data la buona linearità delle relazioni tra le tre coordinate nel campo di pH dei vini, si può quindi assumere una variazione globale di colore $\Delta E^* = 3,56$ per ogni variazione di pH di 0,1 unità.

Tenendo conto che una variazione di 1 unità di ΔE^* è considerata percepibile dall'occhio umano [Ayala et al., 1996], si può evidenziare come ogni intervento tecnologico sul pH del vino abbia conseguenze estremamente rilevanti per i vini rosati o rossi.

Cianidina 3-glucoside.

Gli andamenti della cianina (figura 2) sono qualitativamente molto simili a quelli della malvina, ma le variazioni sono maggiormente percepibili sia visivamente (figura 4) che numericamente (tabella 3). In questo caso, i valori di L^* e C^* di soluzioni a pari concentrazione di cianina o di malvina sono molto vicini nel range di pH tra 3 e 4, mentre invece si misura una grande differenza dei valori di h , molto più elevati per la cianina. A pH=3, la cianina a 100 mg/L presenta un $h=35,1$ contro $h=9,8$ della malvina, mentre a pH=4 le differenze sono meno marcate, con la cianina che presenta $h=10,5$ e la malvina $h= -1,5$. Si evidenziano quindi un rosso con tonalità più gialla per la cianina, antociano disostituito, e più bluastro per la malvina; antociano trisostituito. Sulla base della similarità di comportamento spettrale degli antociani con lo stesso grado di sostituzione dell'anello B, le differenze di caratteristiche cromatiche tra cianina e malvina sono estendibili qualitativamente agli antociani di- e tri-sostituiti rispettivamente, quindi ad esempio ai vini Nebbiolo, Schiava, Moscato rosa (prevalenza di antociani disostituiti) che hanno un colore con una componente più gialla rispetto a Teroldego, Marzemino, Cabernet e Merlot (prevalenza di antociani trisostituiti) [Mattivi et al., 1989].

Dal punto di vista quantitativo, la differenza globale di colore ΔE^* tra pH 3 e 4 è di ben 41,7 mentre quella di Δh^* è di -14,5 (tabella 3). Data la buona linearità delle relazioni tra le tre coordinate nel campo di pH dei vini, si può quindi assumere una variazione globale di colore $\Delta E^* = 4,17$ per ogni variazione di pH di 0,1 unità.

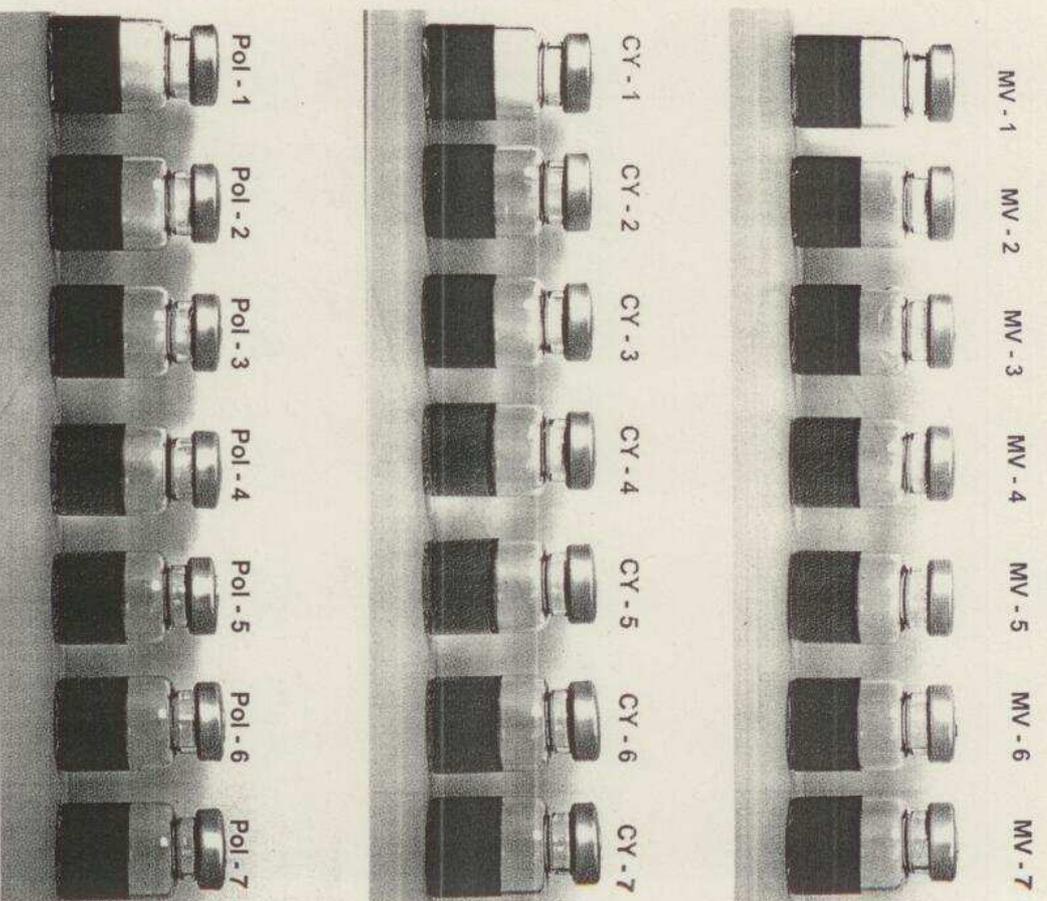


Fig. 2: Variazione del colore degli antociani tra pH=1,0 e pH=7,0. Soluzioni acquose, 100 mg/L, 9,6% alcool, tamponate ai valori di pH come da didascalia. MV=malvidina 3-glucoside, CY=cianidina 3-glucoside, POL=antociani polimeri dell'uva Cabernet Sauvignon.

Fig. 2: Changes in the color induced by the pH value in the range 1,0-7,0. Buffered aqueous solutions, 100 mg/L, 9,6% ethanol, MV=malvidin 3-glucoside, CY=cyanidin 3-glucoside, POL=polymeric pigments of Cabernet Sauvignon grape.

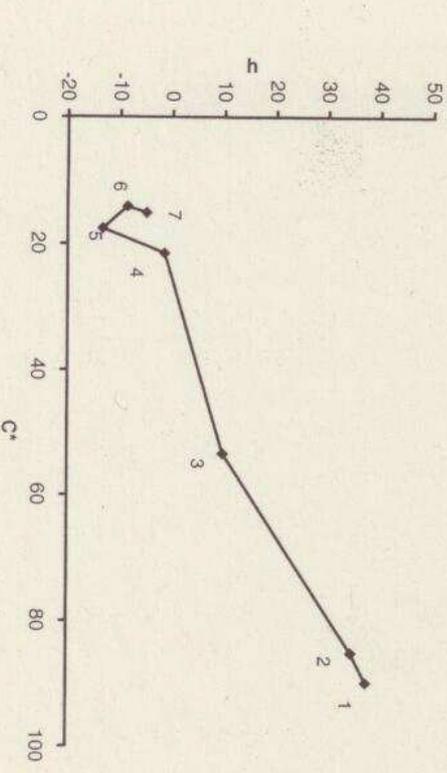
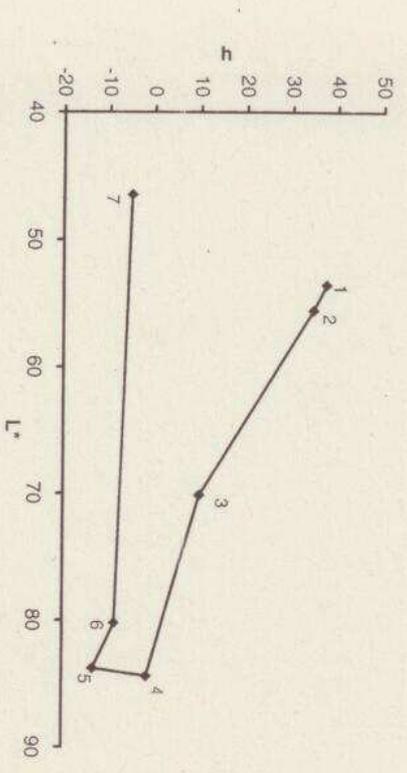
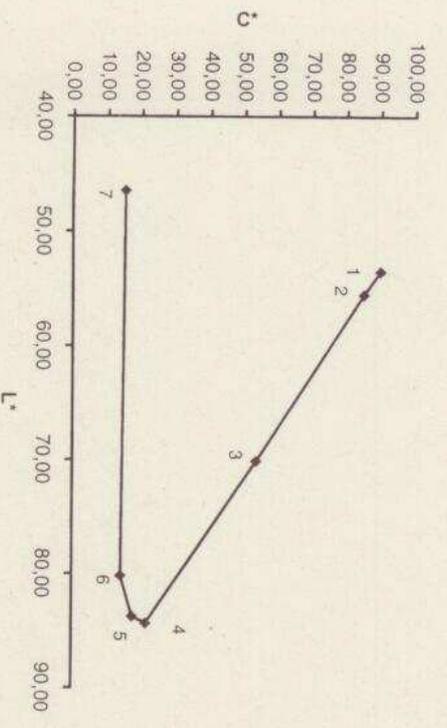


Fig. 3: Spazio L^{*}C^{*}h per soluzioni 100 mg/L della malvidina 3-glucoside a diversi valori di pH.
Fig. 3: L^{*}C^{*}h space for malvidin 3-glucoside solutions, buffered at different pH-values.

Tab. 3: Misura del colore degli antociani tra pH=1.0 e pH=7.0. Soluzioni acquose, 100 mg/L, 9.6% alcool, tamponate ai valori di pH come da didascalia. MV=malvidina 3-glucoside, CY=cianidina 3-glucoside, POL=antociani polimeri dell'uva Cabernet Sauvignon. Cella da 10 mm. Differenze di colore misurate tra ogni intervallo di una unità di pH.
Tab. 3: Measure of the color of anthocyanin solutions, induced by the pH value in the range 1.0-7.0. Buffered aqueous solutions, 100 mg/L, 9.6% ethanol, MV=malvidin 3-glucoside, CY=cyanidin 3-glucoside, POL=Polymeric pigments of Cabernet Sauvignon grape. Optical cell path: 10 mm. Color differences are measured between each pH-value and the previous one.

antociano - anthocyanin	pH - pH-value	valori tristimolo - tristimulus values						
		L*	a*	b*	C*	h	dE*	dH*
malvidina 3- glucoside- malvidin 3- glucoside	1.0	53,48	71,10	54,84	89,79	37,6		
	2.0	55,48	69,85	48,47	85,01	34,7	6,8	-4,4
	3.0	70,11	52,63	9,17	53,42	9,8	45,3	-29,0
	4.0	84,36	21,55	-0,60	21,55	-1,5	35,6	-6,8
	5.0	83,75	17,13	-4,07	17,60	-13,3	5,7	-4,0
	6.0	80,20	13,95	-2,14	14,11	-8,6	5,1	1,3
	7.0	46,45	15,08	-1,34	15,13	-5,0	33,8	0,9
cianidina 3- glucoside- cyanidin 3- glucoside	1.0	65,73	59,49	76,57	96,96	52,2		
	2.0	66,54	57,95	71,35	91,91	51,0	5,5	-2,0
	3.0	73,29	46,83	32,93	57,24	35,1	40,6	-19,9
	4.0	86,63	20,12	3,76	20,46	10,5	41,7	-14,5
	5.0	88,36	15,54	0,59	15,55	2,1	5,8	-2,6
	6.0	87,39	11,35	0,95	11,38	4,7	4,3	0,5
	7.0	55,71	28,53	9,47	30,06	18,3	37,0	4,3
antociani polimeri polymeric pigments	1.0	60,86	61,81	15,96	63,83	14,4		
	2.0	64,49	55,66	10,63	56,66	10,7	8,9	-3,9
	3.0	76,14	32,18	-0,18	32,18	-0,3	28,4	-8,3
	4.0	83,97	13,30	-1,82	13,42	-7,7	20,5	-2,7
	5.0	84,11	9,84	-3,84	10,56	-21,2	4,0	-2,8
	6.0	81,53	6,00	-5,24	7,96	-42,1	4,8	-3,2
	7.0	75,12	2,79	-6,52	7,09	-66,9	7,3	-3,3

Antociani polimeri.

Si è sottoposta alla stessa prova anche una miscela di antociani polimeri, purificati, da uve di Cabernet Sauvignon dove sono presenti in quantità simile a quella degli antociani liberi. Gli antociani polimeri del Cabernet S. hanno caratteristiche cromatiche abbastanza simili, visivamente, a quelle della malvina, con una minore purezza di colore (in particolare, valori minori di C*) e spostati verso tonalità ancora più bluastre, con valori di h inferiori (figura 2). L'andamento nei confronti del pH si differenzia da quello degli antociani liberi nel range tra 5 e 7 (vedi grafico C*h figura 5). Nel campo tra 1 e 4 presentano invece delle variazioni lineari di tutti i parametri cromatici, la differenza globale di colore ΔE* tra pH 3 e 4 è di 20,5 mentre quella di Δh* è di - 2,7 (tabella 3). Data la buona linearità delle relazioni tra le tre coordinate

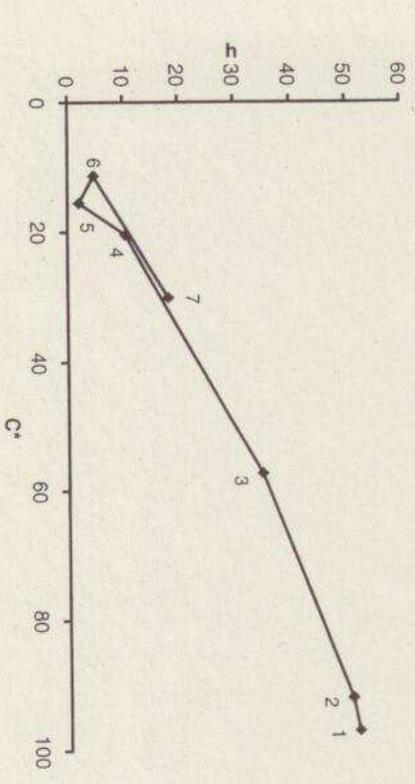
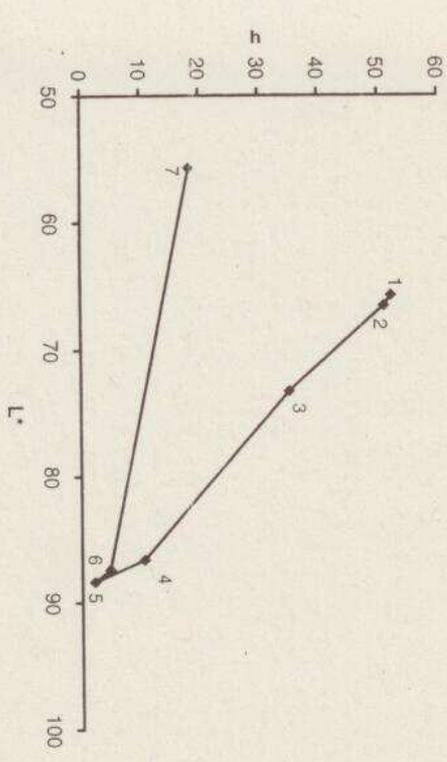
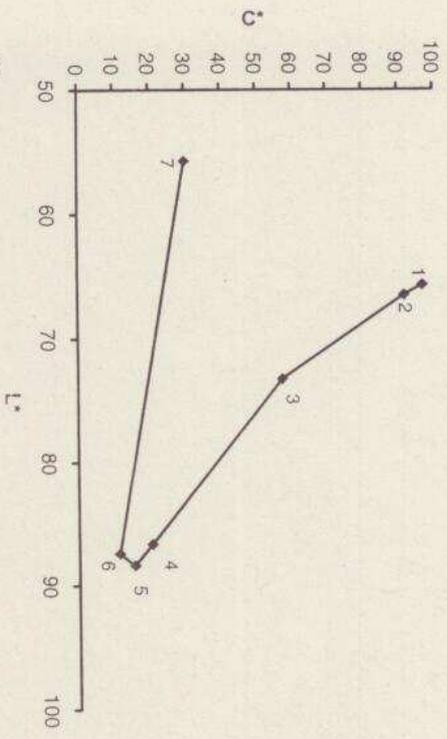


Fig. 4. Spazio L^*C^*h per soluzioni 100 mg/L della cianidina 3-glucoside a diversi valori di pH.
 Fig. 4. L^*C^*h space for cyanidin 3-glucoside solutions, buffered at different pH-values.

nel campo di pH dei vini, si può quindi assumere una variazione globale di colore $\Delta E^* = 2.05$ per ogni variazione di pH di 0.1 unità. Questa variazione indotta dal pH è meno vistosa di quella degli antociani liberi, ma è ancora ben percepibile e probabilmente più simile a quella riscontrabile nei vini, dove la maggior parte degli antociani è in forma combinata, fatta ovviamente eccezione per i vini molto giovani. Sostanzialmente, fatta salva una certa minore reattività, la frazione di pigmenti polimerici si comporta quindi in maniera non molto dissimile da quella dei rispettivi monomeri, indicando che si tratta effettivamente di pigmenti antocianici con una struttura sufficientemente simile a quella dei monomeri da permettere loro di sottostare ad analoghe reazioni di interconversione in funzione del pH.

b. Colore e concentrazione degli antociani.

L'effetto prodotto dal variare della concentrazione degli antociani sul colore del vino è stato studiato in soluzioni idroalcoliche simil-vino di antociani, con 5 g/L di acido tartarico e tamponate a pH=3.5 con NaOH. Si è utilizzato un preparato consistente della miscela di antociani liberi, precedentemente purificata dall'uva Cabernet Sauvignon. Per condurre una misura efficace, la cella ottica deve essere scelta in modo da permettere una lettura di valori di L^* idealmente tra 20 ed 80, comunque lontana dai valori estremi, e per quanto possibile in condizioni tali da avere relazioni (in particolare L^* verso C^*) non troppo lontane dalla linearità.

Si sono studiati due set di osservazioni, uno ottenuto in cella da 2 mm, relativo a soluzioni nel range 100-1000 mg/L, per coprire il campo di concentrazioni dei vini rossi, ed un altro misurato in cella da 10 mm, scelto nel campo delle concentrazioni proprie dei vini rosati, con concentrazioni di antociani variabili nel range 10-250 mg/L.

Campo dei vini rossi.

Le caratteristiche cromatiche variano in maniera tra loro strettamente correlata: all'aumentare della concentrazione diminuisce la L^* ed aumenta la C^* , con un andamento non troppo lontano dalla linearità, descritto perfettamente da una interpolazione polinomiale di 2° grado (fig. 6a). Il campo di misura di L^* è compreso tra 50 e 90 per i valori tipici dei vini rossi, confermando che queste condizioni di misura sono appropriate per una lettura ottimale, situate nel campo di maggiore linearità della curva L^*-C^* descritto dalla letteratura [Van Buren et al., 1974].

I valori della h diminuiscono all'aumentare della L^* , con un andamento ben interpolato da una polinomiale di 2° grado. Anche in questo caso si conferma che il campo di lettura individuato copre tutta la parte centrale (quella maggiormente lineare) della curva L^*-h descritta dalla letteratura [Van Buren et al., 1974].

Dopo avere accertato gli andamenti per i parametri che descrivono la "intensità" del colore, è opportuno verificare anche la variazione delle caratteristiche più strettamente legate alla percezione della tinta, ossia le variazioni nel piano C^*-h . All'aumentare della concentrazione degli antociani, aumenta sia la purezza del colore C^* , che la tinta h . Quest'ultima aumenta in maniera molto più che lineare, interpolabile molto bene con una polinomiale del 3° grado. In accordo con quanto riportato dalla letteratura, si passa da valori più violetti-bluastrì delle soluzioni diluite (con valori

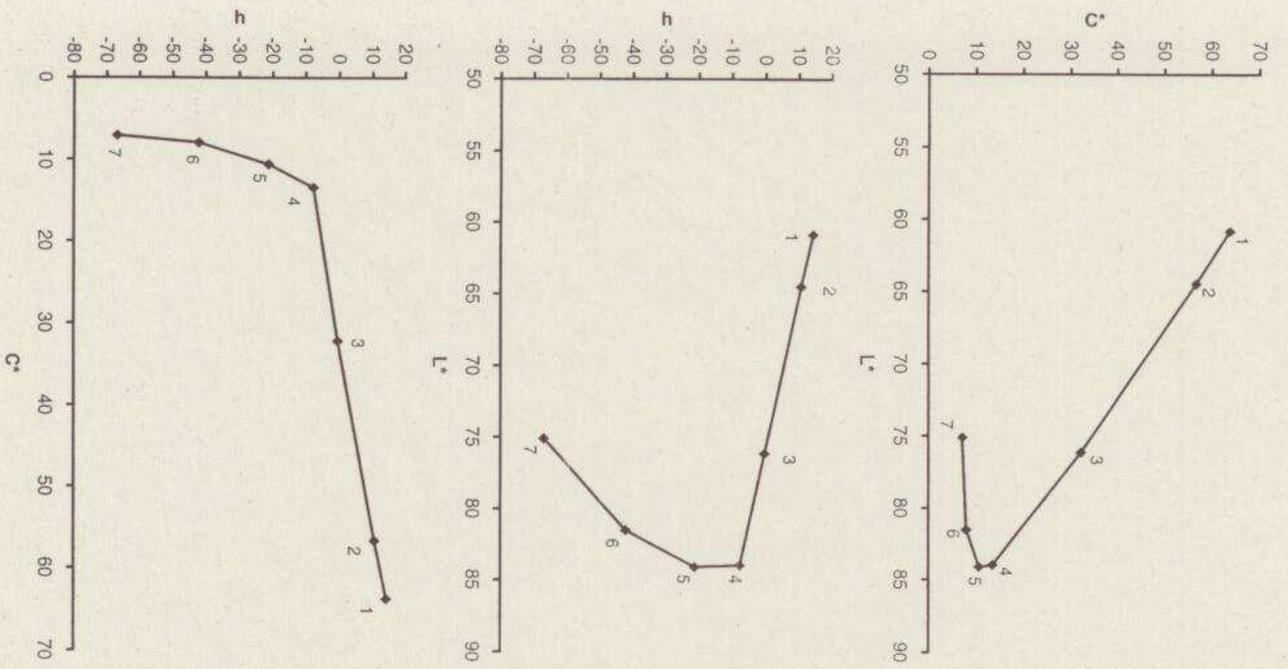


Fig. 5: Spazio L*C*h per soluzioni 100 mg/L di pigmenti polimeri dell'uva Cabernet Sauvignon a diversi valori di pH.

Fig. 5: L*C*h space for solutions of polymeric pigments of Cabernet Sauvignon grape, buffered at different pH-values.

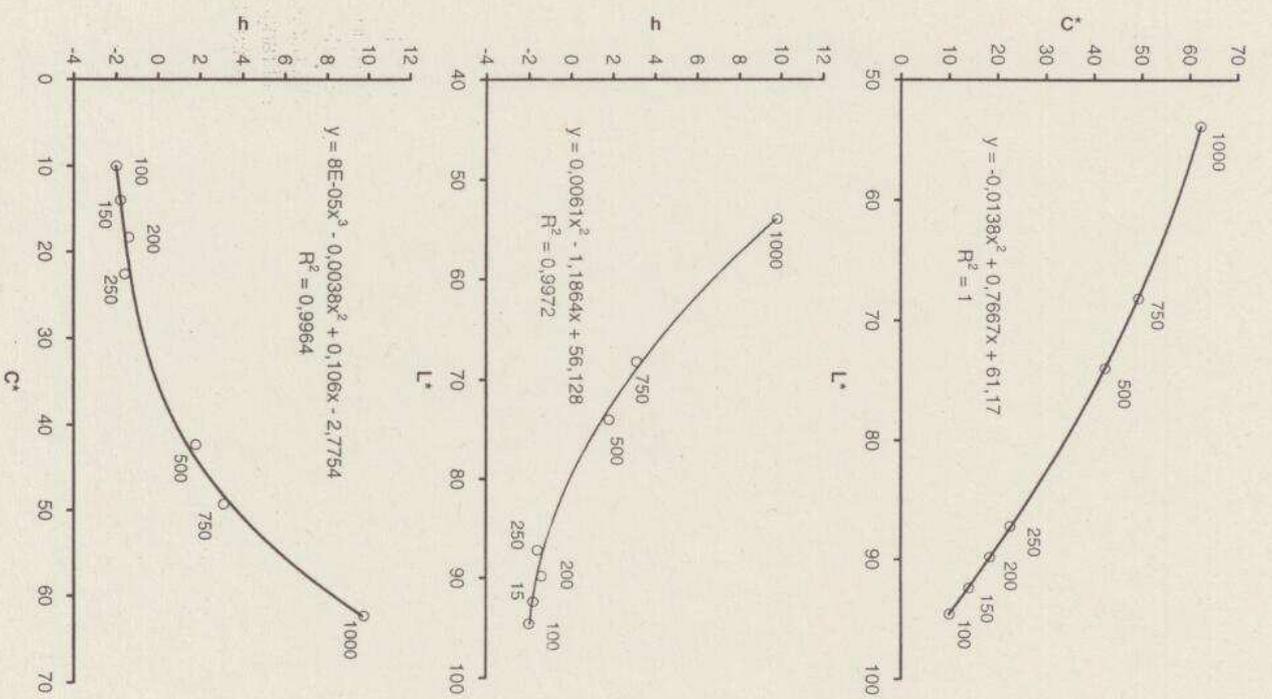


Fig. 6a: Variazioni delle caratteristiche cromatiche nello spazio L*C*h, per diverse concentrazioni di antociani nel campo dei vini rossi (cella da 2 mm).

Fig. 6a: Variation of chromatic values in the L*C*h space, for various concentration of the anthocyanins, in the concentration range typical for the red wines (optical cell path= 2 mm).

di h negativi o prossimi allo zero) verso valori più verso il rosso (con valori di h intorno a 10 per 1 g/L) per le soluzioni molto concentrate di antociani. Questo può essere interpretato come un effetto di copigmentazione, favorito dall'aumentare della concentrazione, degli antociani con se stessi, con un effetto stabilizzante sulla forma ione flavilio rossa a scapito della forma base chinonica, e conseguente aumento della purezza del colore che si sposta verso tonalità più rosse e meno blaste.

Le variazioni tra i parametri cromatici L^*C^*h (figura 6b) e la concentrazione assumono un aspetto particolarmente interessante, per l'utilità che possono avere per la valutazione dei prodotti enologici. In particolare, si osserva che nel range delle concentrazioni antocianiche dei vini rossi, il parametro acromatico L^* , strettamente collegato alla chiarezza o luminosità del colore percepito, ad un aspetto quindi eminentemente quantitativo, è molto ben correlato ed in modo lineare, alla concentrazione degli antociani.

Anche il parametro cromatico C^* è correlabile con la concentrazione, ma in questo caso l'andamento è meno lineare e sostanzialmente ricalca le relazioni sopra descritte: all'aumentare della concentrazione aumenta la purezza C^* in maniera più che lineare. Aumenta parallelamente anche il valore di h , in una maniera impercettibile alle basse concentrazioni, per diventare marcatamente visibile per i prodotti con alta concentrazione di antociani, sopra ai 500 mg/L.

Campo dei vini rossi.

Le misure delle soluzioni simili-vino con concentrazioni antocianiche tipiche dei vini rossi, sono state condotte in cella ottica da 10 mm (figura 7). Le relazioni osservate ricalcano esattamente quelle appena sopra descritte per i vini rossi, con una particolarità: le soluzioni alle concentrazioni più diluite, sotto ai 25 mg/L di antociani, presentano valori di L^* superiori a 95 e cadono quindi nella zona dove i valori di h invertono il loro andamento [Van Buren et al., 1974]. In questo caso, mentre gli andamenti L^* vs. concentrazione e C^* vs. concentrazione risultano ben interpretabili, anche se non esattamente lineari, in tutto il campo di concentrazioni studiato, il grafico h vs. concentrazione presenta un andamento che si inverte a concentrazioni inferiori ai 25 mg/L: al di sopra di tali valori, a differenza di quanto visto per i vini rossi, la relazione appare abbastanza vicina alla linearità. Nel range 100-250 mg/L comunque, si può osservare una variazione pressoché lineare di tutti e tre i parametri L^* , C^* ed h con la concentrazione.

c. La conduzione delle misure del colore dei prodotti enologici.

Le osservazioni condotte nei punti precedenti ci permettono di confermare che sostanzialmente il colorimetro tristimolo può essere utilizzato per la lettura diretta del colore dei vini rossi e rosati, previa solo filtrazione in caso di prodotti non completamente limpidi, ed utilizzando una cella di lettura di 2 mm per i vini rossi e di 10 mm per i vini rosati. Per una interpretazione generale delle variazioni attese per le tre caratteristiche cromatiche L^*C^*h al variare delle concentrazioni, si possono agevolmente estendere le considerazioni a commento delle figure 6 e 7, rispettivamente per i vini rossi e per i vini rosati, mentre una stima delle variazioni dipendenti dal pH si può fare in base ai dati di tabella 3, figg. 3-5, e relativa discussione, in parti-

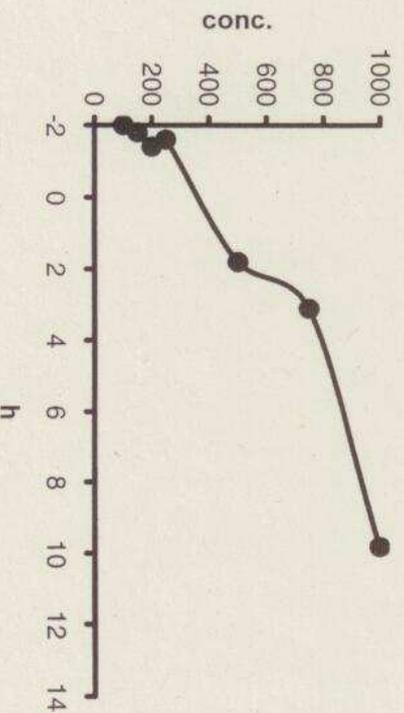
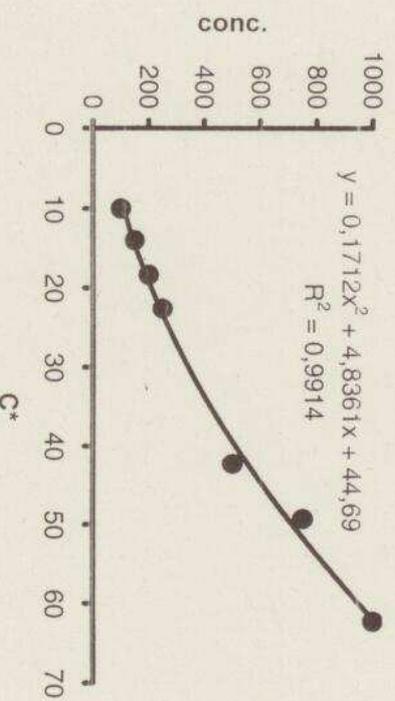
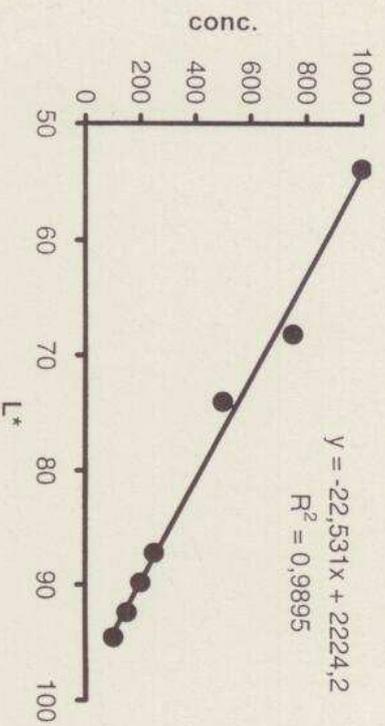


Fig. 6a: Correlazione tra le singole caratteristiche cromatiche L^*C^*h e la concentrazione di antociani, nel campo di concentrazioni tipico dei vini rossi (cella da 2 mm).

Fig. 6b: Dependence of the chromatic values L^*C^*h from the concentration of the anthocyanins, in the concentration range typical for the red wines (optical cell path=2 mm).

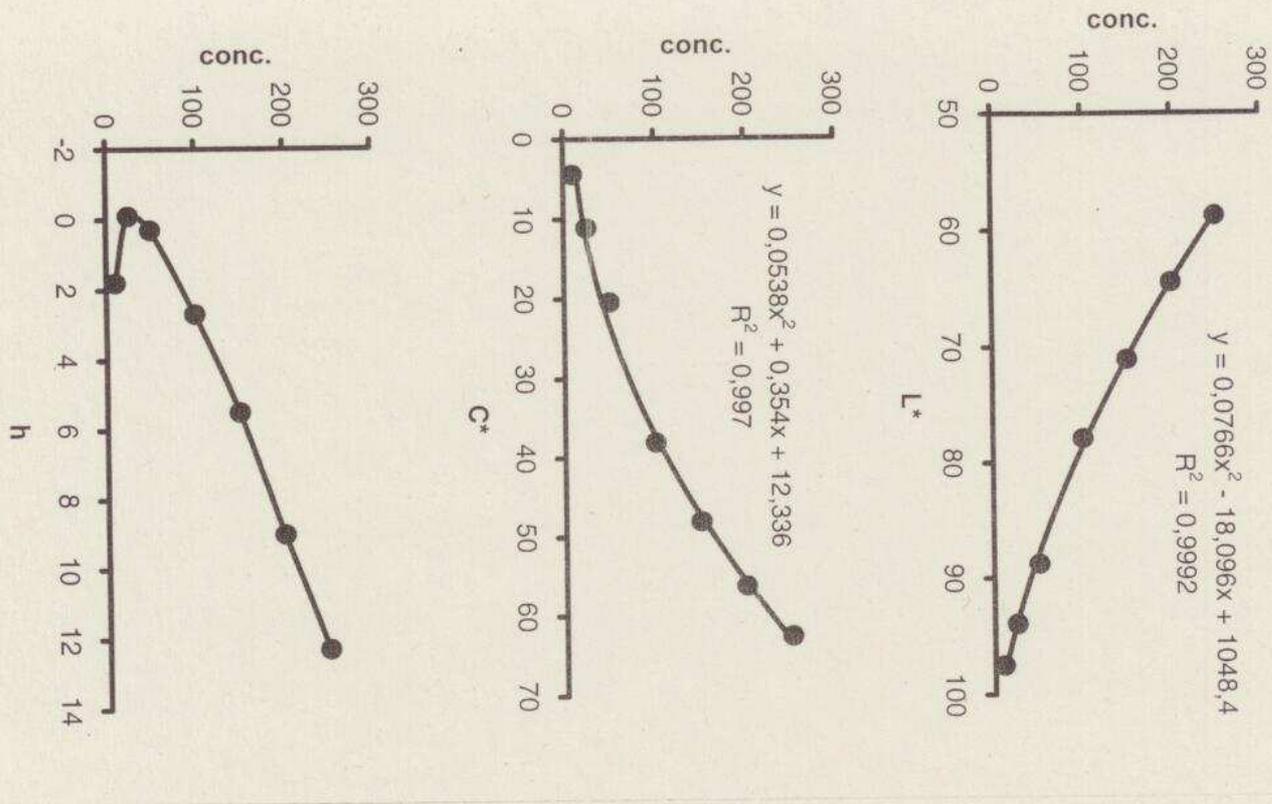


Fig. 7: Correlazione tra le singole caratteristiche cromatiche L^* , C^* , h e la concentrazione di antociani, nel campo di concentrazioni tipico dei vini rosati (cella da 10 mm).
 Fig. 7: Dependence of the chromatic values L^* , C^* , h from the concentration of the anthocyanins, in the concentration range typical for the rosé wines (optical cell path = 10 mm).

colare per i vini giovani. Per i vini invecchiati, dove aumenta la presenza di pigmenti polimerici misti ad elevato peso molecolare, le variazioni con il pH saranno fortemente attenuate.

Per quanto riguarda la lettura degli altri derivati enologici, i mosti neri rossi e l'enocianina, dobbiamo fare riferimento ad alcuni valori su campioni reali ottenuti nel nostro laboratorio, dato che non esistono in letteratura dati compositivi recenti di questi prodotti. In particolare per l'enocianina, un estratto antocianico concentrato prodotto dalle uve rosse e commercializzato in Italia fin dal lontano 1879, per trovare delle descrizioni compositive occorre consultare i dettagliati lavori di Garoglio [1973] e Cappelleri [1981], mentre una breve descrizione delle tecniche di preparazione è riportata nel testo di Mazza e Miniati [1993]. Per quanto riguarda invece i vini rossi, degli utili dati di riferimento sono reperibili da Margheri et al [1977].

Si ritengono maggiormente idonee per la misura le condizioni che permettono di leggere in cella da 10 mm, quindi prima di fare la misura occorre diluire, facendo un paio di misure a diluizioni progressive, per arrivare ad avvicinarsi ad una zona ristretta entro il range di concentrazioni corrispondente a 100-250 mg/L di antociani, ossia valori di L^* 60-80 e di C^* 40-70. In questa zona (figura 7), tutti e tre i parametri cromatici variano in maniera quasi lineare, per cui è abbastanza facile ottenere dei valori interpretabili. Nel caso dei mosti neri rossi abbiamo rilevato nella campagna 1999 valori medi di antociani totali, misurati spettrofotometricamente, variabili tra 1149 e 5863 mg/L, media 2909 mg/L, siamo quindi in un campo che si trova circa un ordine di grandezza sopra a quello dei vini rossi. Si consiglia quindi, prima della lettura, di diluire il campione tra le 10 e le 30 volte con un tampone a pH=3,2, ad esempio preparato dissolvendo 7 g/L di acido tartarico ed aggiustando il pH con NaOH (ca 35 mL, 1 M), largamente in uso presso molte cantine. Centrifugare a 5000 rpm per 5' e fare la lettura dopo circa 20 minuti.

Per le enocianine in polvere, queste hanno una concentrazione di antociani liberi (tabella 2) frequentemente nel range 15-50 g/kg, ma abbiamo avuto modo di misurare, su lotti di alta qualità e di fresca preparazione, valori superiori ai 110 g/kg. Si possono quindi pesare delle quantità pari a 100 mg per le enocianine più concentrate, e 200-500 mg per quelle correnti, da portare a 100 mL con il tempo-ne come sopra, centrifugare per 5' a 5000 rpm e leggere dopo circa 20 minuti. E' conveniente realizzare una serie di ulteriori due diluizioni a scalare (1:2, 1:4 a partire dalla soluzione ottenuta per dissoluzione diretta) in modo da ottenere che almeno uno o due dei tre valori cadano nella zona ottimale di lettura dove la variazione dei valori L^* , C^* ed h con la concentrazione può essere approssimata ad una retta (L^* 60-80, C^* 40-70). Per quanto riguarda infine le enocianine liquide, si possono agevolmente derivare regole di preparazione simili, con diluizioni ridotte rispetto alle antocianine in polvere, tenendo conto del titolo tecnico del preparato liquido.

Ringraziamenti

Si ringraziano vivamente la Minoita Italia S.p.A., ed in particolare il sig. Renato Figini, e la dr.ssa Raffaella Bisconti, per il sostegno e la collaborazione a questa ricerca.

1. AYALA F., ECHAVARRI J. F., NEGUERUELA A. I. (1997). A new Simplified Method for Measuring the Color of Wines. I. Red and Rosé Wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, (3): 357-363.
2. BOSSO A., CRAVERO M. C., UBIGLI M. (1999). Alcune osservazioni sull'influenza del colore sulla valutazione edonistica di vini Chianti Bardolino Doc annata 1996. *Vignevini*, (5): 88-93.
3. CAGNASSO E. (1997). *Quaderni della scuola di specializzazione in scienze viticole ed enologiche*. Dipartimento di Colture arboree, Università di Torino, Grugliasco (TO), (21): 129-153.
4. CAPPELLERI G. (1981). Utilizzazione dei sottoprodotti della vinificazione. *Vini d'Italia*, (23): 213-224.
5. CASTIA T., FRANCO M.A., MATTIVI F., MUGGIOLU G., SFERLAZZO G., VERSINI G. (1992). Characterization of grapes cultivated in Sardinia: chemometric methods applied to the anthocyanin fraction. *Sci. des Alim.*, (2): 239-255.
6. CRUZ ORTIZ M., HERRERO A., SAGRARIO SANCHEZ M., SARABIA L. A., MONTSERRAT I. (1995). Modelling the relation between Cielab parameters and sensory scores for quality control of red-wine colour. *Analyst*, (120): 2793-2798.
7. DI STEFANO R., CRAVERO M.C. (1989). I composti fenolici e la natura del colore dei vini rossi. *L'Enotecnico*, (10): 81-87.
8. DI STEFANO R., CRAVERO M.C., GENTILINI N. (1989). *Metodi per lo studio del pollene dei vini*. *L'Enotecnico*, (5): 83-89.
9. GAROGLIO P.G. (1973). *Enciclopedia Vitivinicola Mondiale*. Ed. Scientifiche UNV, Milano, (3): 82-83 e 427-429, (8): 130-131.
10. GLORES Y. (1978). *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse à l'Université de Bordeaux II.
11. GLORES Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2^{ème} partie. Mesure, origine et interpretation. *Conn. Vigne Vin*, (18): 253-271.
12. HEREDIA F. J., GUZMÁN-CHOZAS M. (1995). Relationships between physico-chemical characteristics and some relevant chromatic parameters in Spanish red wines. *Sci. des Alim.*, (15): 551 - 558.
13. HEREDIA F.J., TRONCOSO A. M., GUZMÁN-CHOZAS M. (1997). Multivariate characterization of aging status in red wines based on chromatic parameters. *Food Chem.*, (1): 103-108.
14. KREUZ S., FLAK W., KERNBAUER E., PITTSCHMANN M., SCHABER R. (1998). Die qualitative Beurteilung der Farbausprägung von Weinen mittels Tristimulusmessung und begleitender Verfahren. *Mittel. Klosterm.*, (48): 25-33.
15. MARGHERI G., TONON D., INAMA S. (1977). Ricerche inerenti alla caratterizzazione del "rossissimo" delle province di Modena e Reggio Emilia. *Vini d'Italia*, (107): 3-4, 113-119.
16. MATTIVI F., SCIENZA A., FALLA O., VILLA P., ANZANI R., TEDESCO G., GIANNAZZA E., RIGHETTI P. (1989). *Vitis vinifera: a chemotaxonomic approach anthocyanins in the skin*. Proc. of the 5th International Symposium on Grape Breeding, St. Martin/Pfalz, FRG, 12-16 settembre, (Vitis, Special Issue): 190-193.
17. MATTIVI F. (1997). I pigmenti antocianici della bacca nella chemiotassonomia della vite. *Atti Convegno "Girolamo Meloni - L'Anepelografia e la Pomologia"*, Milano 8 ottobre - Vicenza, 9 ottobre, O. Falla e L. Magliarella ed., Biblioteca internazionale "La Vigna": 239-269.
18. MAZZA G., MINIATI E. (1993). *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. CRC Press, Boca Raton: 186-190.
19. NEGUERUELA A. I., ECHAVARRI J.F., PÉREZ M. M. (1995). A Study of Correlation Between *Enological Colorimetric Indexes and CIE Colorimetric Parameters in Red Wines*. *Am. J. Enol. Vitic.*, (3): 353-356.
20. PIRACCI A. (1994). *Evaluation instrumental de la couleur*. *J. Intern. Sc. Vigne Vin*, (3): 247-265.
21. PORRETTA S. (1993). *Il colore dei prodotti alimentari - Principi e tecniche di valutazione*. Ed. Tecniche nuove, Milano, 93 pagg.
22. RIGO A., VANNELLO F., CLEMENTI G., ROSSETTO M., SCARPA M., VRHOVSEK U., MATTIVI F. (2000). *Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines*. *J. Agric. Food Chem.*, (48, 6): 1996-2002.
23. SALINAS M. R., ESTEBAN-INFANTES J., ALONSO G. L. (1992). *Discusión sobre la terminología usada en el análisis de color de los vinos*. *Sevi Num.*, (2:385): 1545-1547.
24. SOARES O. D. D., BARROS P. (1999). *Trends in wine spectrophotometry*. *Bull. O.I.V.*, (817-819): 192-226.
25. SUDRAUD P. (1958). *Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges*. *Ann. de Technol.*: 203-208.
26. VAN BUREN J.P., HRADZINA G., ROBINSON W. B. (1974). *Color of Anthocyanin Solutions expressed in Lightness and Chromaticity Terms - Effect of pH and Type of Anthocyanin*. *J. Food Sc.*, (39): 325 - 328.