

TECNICHE ANALITICHE COMBinate PER LO STUDIO DELLA STABILITÀ DEI VINI BIANCHI

Celotti Emilio^{1(*)}, Scutaru Yury², Rabacu Ana², Balanuta Anatol², Zgardan Dan², Fiegl Jakob¹, Lazaridis Georgios¹, D'Andrea Marco¹, Malgarin Lara¹, Bellantuono Elisabetta¹

¹Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze Agro-Alimentari, Ambientali e Animali (DI4A) - Gruppo di Ricerca in Viticoltura ed Enologia – Via delle Scienze, 208, 33100 Udine

²Università Tecnica di Moldavia, Chisinau, Repubblica della Moldavia

(*) Emilio.celotti@uniud.it

RIASSUNTO

I vini bianchi sono estremamente sensibili ad alterazioni del colore, spesso accompagnate dalla comparsa di difetti sensoriali.

La ricerca si è concentrata dapprima sulla valutazione delle caratteristiche sensoriali ed eventuali percezioni di *off-flavour* in grado di individuare il trattamento luminoso più invasivo, dopodiché sono stati acquisiti gli spettri UV-Vis con studio della derivata seconda e analizzate diverse combinazioni di stress chimici e luminosi su diverse tipologie di vino bianco. Sono stati testati vini con diversi livelli di stabilizzazione tecnologica allo scopo di individuare il test in grado di stimare al meglio la potenziale instabilità del vino in funzione della sua *shelf-life*.

Sono stati valutati singolarmente e in combinazione: stress chimici con perossido di idrogeno e acido ascorbico, stress luminosi nel visibile e tempistica di esposizione.

Dalle esperienze di laboratorio l'esposizione alle luci bianca e azzurra si è dimostrata la più efficace nei confronti dell'instabilità fenolica. In ogni caso le risposte delle singole luci o loro combinazioni sono correlate alla tecnica di vinificazione/stabilizzazione. Prove successive hanno mostrato che la combinazione di stress luminosi e chimici evidenzia rischi di instabilità non rilevabili con le metodiche tradizionali. Informazioni complementari e interessanti sono state ottenute con l'analisi della derivata seconda degli spettri grazie all'interdipendenza $d^2A/d\lambda^2$.

È stata evidenziata l'utilità dei diversi approcci analitici per la valutazione dell'instabilità dei vini bianchi che dovrà essere studiata in funzione delle tecniche di vinificazione adottate e della futura *shelf-life*.

La finalità della presente ricerca è approfondire gli studi per cercare di elaborare un ulteriore test in grado di stimare con più accuratezza il reale rischio di instabilità del vino bianco.

INTRODUZIONE

Il vino bianco durante la sua *shelf-life* potrebbe andare incontro a modificazioni chimico-fisiche che possono compromettere la qualità del prodotto finito. Pertanto è importante immettere sul mercato un vino stabile che mantenga le sue caratteristiche qualitative fino al consumo. Per ottenere, quindi, un buon prodotto è importante tener conto della composizione della materia prima, le strategie enologiche utilizzate, le fasi di stoccaggio e di imbottigliamento. Il difetto più comune riguarda l'imbrunimento ossidativo che in alcuni casi può portare ad alterazioni organolettiche del prodotto. I fattori scatenanti possono essere molteplici: ossidazioni enzimatiche e chimiche che comportano come carattere negativo un imbrunimento del prodotto. I composti maggiormente coinvolti sono i polifenoli, come catechine, proantocianidine e acidi idrossicinnamiltartarici (Cheyneir, 2006; Cheynier et al., 1991; Rigaud et al., 1990; Vivas, 1999) Nel vino questi meccanismi possono essere accelerati da catalizzatori come ioni metallici (Fe, Cu) (Danilewicz et al., 2008), fenomeni di condensazione con etanale o acido glicosilico (Ribéreau-Gayon et al., 2007) o dalla prolungata esposizione a fonti luminose (Dias et al., 2012). Le azioni di prevenzione sono da attuarsi sia in fase produttiva che in fase di commercializzazione del prodotto, momento in cui si perde il controllo della filiera. La protezione del vino dalla luce è un argomento che è stato studiato sia per i vini rossi (Sisa

et al., 2010) che ampiamente per i vini bianchi (Clark et al., 2011; Fracassetti et al., 2017), poiché risulta essere la matrice più sensibile al fenomeno ossidativo. Negli ultimi anni l'industria enologica sta indirizzando per motivi di *marketing* sempre più i produttori all'utilizzo di bottiglie trasparenti, risultate da studi effettuati da Dias et al. (2012) le meno protettive alla luce sia naturale che artificiale. Una cattiva tecnica di conservazione da parte di qualsiasi punto vendita potrebbe portare all'insorgere di difetti sensoriali, spesso mal interpretati dal consumatore finale. Uno tra tutti lo sviluppo di aromi sgradevoli sintetizzati con il termine "gusto di luce" che in realtà derivano da reazioni fotochimiche tra luce e composti solforati presenti nel vino (Maujean e Seguin, 1983). La degradazione ossidativa di questi ultimi possono anche dar luogo ad altri difetti olfattivi conosciuti come *off-flavour* dell'invecchiamento atipico (Hoenicke et al., 2002; Rapp et al., 1993) o ad altre alterazioni più complesse non sempre spiegabili. Alcuni degli approcci attualmente in uso si orientano sull'analisi dei singoli analiti attraverso metodi elettrochimici (Arribas et al., 2012; Hilgemann et al., 2013), per esempio valutati con la voltammetria ciclica (Comuzzo et al., 2017; Gonzalez et al., 2018; Ugliano, 2016) o attraverso profili metabolomici con l'aiuto di sistemi UHPLC/QTOF-MS (Romanini, 2019). Un altro approccio è rappresentato dall'impiego di test che valutano direttamente gli effetti delle alterazioni dei vini bianchi. Questi, risultano dare informazioni meno dettagliate sul meccanismo di reazione ma stimano un effetto equivalente al difetto percepito dal consumatore. Si tratta di metodi spettrofotometrici che hanno portato inizialmente allo sviluppo del test di maderizzazione a cui si è aggiunta successivamente l'alternativa del POM-Test (Müller-Späth, 1992) ottimizzata e adattata nel tempo (Celotti et al., 2006).

Per soddisfare quindi le esigenze del mercato e allo stesso tempo preservare il prodotto finito garantendo un'alta qualità dello stesso, il produttore dovrebbe poter far affidamento su approcci analitici attendibili, veloci e di facile reperibilità per stimare la stabilità ossidativa del proprio vino e il rischio di *off-flavour*.

Il presente lavoro si è pertanto concentrato su due aspetti importanti quali l'imbrunimento facilmente percepibile dal consumatore e valutazione sensoriale di *off-flavour* di varia origine.

MATERIALI E METODI

Come prima prova è stata condotta un'analisi sensoriale esplorativa su un campione di Pinot Grigio giovane imbottigliato in vetro trasparente e irradiato da 7 luci distinte, per un tempo di trattamento di 4 ore per luce. Il campione è stato esposto alle luci di colore viola (380-450 nm), blu (450-475 nm), azzurra (476-495 nm), verde (495-570 nm), gialla (570-600 nm), rossa (600-780 nm) e bianca. Così facendo è stato possibile testare e valutare quanto è dannosa a livello sensoriale l'esposizione del vino alla luce per intervalli di lunghezza d'onda definiti, in modo comunque da coprire l'intero spettro del visibile. In questo modo si è voluto simulare ciò che potrebbe avvenire in un qualsiasi esercizio commerciale per questioni di marketing e di vendita. La preferenza tra il testimone e il campione trattato è stata valutata da un *panel group* di esperti del settore. La degustazione è stata effettuata alla cieca e si è concentrata sui principali descrittori della vista, del gusto e dell'olfatto. Per ogni descrittore il degustatore ha assegnato un punteggio da 1 a 9.

Dai risultati ottenuti si è proceduto con una seconda analisi sensoriale. In questo caso è stata effettuata un'indagine approfondita sulle modificazioni sensoriali dei descrittori del campione trattato con le luci più invasive definite a seguito delle esperienze preliminari (Margarin, 2012). Le luci su cui si è concentrata l'attenzione sono state le luci azzurra e bianca. Il campione analizzato è stato Pinot Grigio, come nella prima analisi sensoriale e in aggiunta si è voluto inserire un secondo vino bianco (Chardonnay) come controprova. Il tempo di trattamento è stato diminuito ad 1 ora. Le modalità di valutazione dei descrittori sono state le medesime riportate poco sopra.

I trattamenti di esposizione alla luce sono stati eseguiti per tutti i test effettuati in questo lavoro con una valigetta rivestita internamente da una pluralità di sorgenti luminose e dotata di tre interruttori le cui combinazioni permettono l'impiego di sette colori: blu, verde, rosso, viola, azzurro, giallo e bianco. L'interno è predisposto per contenere campioni in bottiglie da 0,75 L (trattamento singolo)

fino a più bottiglie da 40 mL in vetro. Essa, inoltre, è provvista di un sistema di ventilazione per evitare l'aumento di temperatura provocata dal calore della luce. All'interno è possibile collocare un termometro, per controllare la temperatura (Branca, 2013).

Le analisi in laboratorio per valutare lo stato di imbrunimento e le modificazioni chimico-fisiche del vino, sono state effettuate su campioni giovani di Pinot Grigio (PG), Prosecco (Pro), Chardonnay (Ch) e Sauvignon Blanc (S), per poter effettuare un confronto tra qualità di vini bianchi estremamente popolari ma con caratteristiche compositive differenti. Tutti i vini erano di annata antecedente alle analisi e solo nel caso di Chardonnay e Sauvignon Blanc, il mosto aveva subito una macerazione di 2 ore a 14 °C.

I campioni sono stati sottoposti singolarmente e in combinazione a:

- stress luminoso di luce bianca e azzurra per una durata di trattamento compreso tra i 20 e 10 minuti; Per alcuni test è stata usata la luce blu come controllo;
- chiarifica con due prodotti commerciali denominati G e GR, composti entrambi da bentonite, carbone, sol di silice in rapporti diversi;
- stress chimico con aggiunta di perossido di idrogeno 3% e acido ascorbico (100 mg/L);
- aggiunta tarata di tannino d'uva e di galla alle concentrazioni di 50, 200, 500 mg/L
- aggiunta di 4 mg/L di rame (sotto forma di solfato di rame).

Prima e dopo ogni trattamento sono state effettuate a temperatura ambiente le analisi di controllo su tutte le tesi previste. Le misure condotte per monitorare il grado di imbrunimento e la determinazione delle componenti fenoliche sono state effettuate attraverso letture spettrofotometriche, ovvero:

- D.O 280 nm: indice del contenuto in polifenoli totali;
- D.O. 320 nm: indice del contenuto in acidi idrossicinamiltartarici (HCAs);
- D.O. 420 nm: indice relativo alla colorazione gialla dei vini;
- Catechine, metodo con p-dimetilamminocinnamaldeide (Zironi et al., 1992);
- Spettro UV-Vis acquisito in un intervallo di lunghezze d'onda comprese tra 260-400 nm

Il colore dei campioni è stato monitorato anche attraverso la misura dello spazio CIELab, uno spazio tridimensionale definito dalle coordinate L*, a* e b* (C.I.E., 1986). L'asse verticale L* misura la luminosità (0= minima; 100 =massima), mentre l'asse orizzontale misura la componente rossa-verde (+a*, -a*) e la componente giallo-blu (+b*, -b*).

In alcuni casi specificati nel paragrafo "Risultati e discussione" i campioni sono stati sottoposti al POM-Test (Müller-Späth, 1992).

Gli spettri acquisiti nell' UV-Vis sono stati elaborati utilizzando la derivata seconda e lo studio dell'interdipendenza $d^2A/d\lambda^2$.

Tutte le analisi sono state effettuate in triplo al fine di applicare correttamente i metodi statistici di confronto tra campioni. L'elaborazione statistica dei dati è stata effettuata utilizzando ANOVA ad un fattore o a più fattori con interazione, le differenze minime significative sono state calcolate con il test di Tuckey. Il pacchetto statistico utilizzato è stato STATISTICA/W versione 7.0.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I dati di seguito commentati sono estratti da un lavoro più ampio dedicato allo studio della stabilità dei vini e alla valutazione di approcci analitici rapidi e poco distruttivi in grado di stimare il rischio di alterazione dei vini bianchi non solo prima dell'imbottigliamento ma anche durante il processo di vinificazione allo scopo di ottimizzare i trattamenti di stabilizzazione del vino e di ridurre l'impiego di input in enologia.

L'analisi sensoriale condotta su PG, in cui si è esposto il campione a 7 luci diverse, ha voluto essere un test preliminare sull'effetto della luce e sulle alterazioni che essa potrebbe comportare. Il tempo di trattamento è stato inizialmente di 4 ore per poter stressare in maniera rilevante il campione.

L'effetto riscaldante delle sorgenti luminose è stato monitorato e la variazione di temperatura a fine trattamento è risultata trascurabile a fine dell'obiettivo proposto.

Dalla valutazione della Figura 1 si può notare come il campione esposto a tutte le luci abbia ottenuto un punteggio che si discosta notevolmente da quello dato al testimone tranne che per i descrittori sul colore. Questo può essere dovuto al fatto che un tempo di trattamento di 4 ore porti a modifiche chimico-fisiche del prodotto ancora non evidenti ad occhio nudo. Tra tutte le luci utilizzate, quella che ha avuto un effetto maggiormente invasivo sul campione è risultata la luce azzurra. Il panel di giudici ha riconosciuto il campione trattato con questa componente dello spettro visibile come il vino più sgradevole sia a livello gustativo che olfattivo e con una tonalità e intensità del colore che più si è discostata dalle aspettative per un Pinot Grigio.

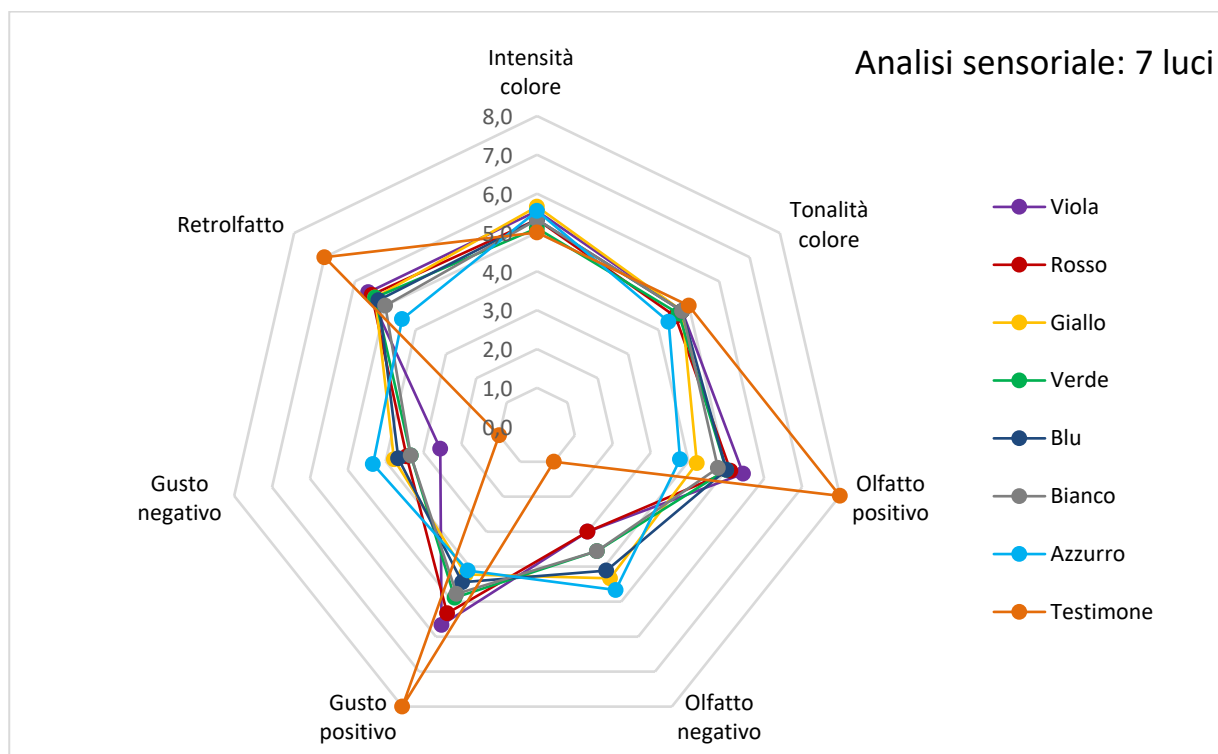


Figura 1: Analisi sensoriale di Pinot Grigio ed effetto dello stress luminoso di 7 luci per un tempo di trattamento di 4 ore.

Nello specifico, si evince dalla Figura 1 quanto il testimone sia stato riconosciuto come differente rispetto le tesi irradiate per i descrittori "gusto negativo", "gusto positivo", "olfatto negativo", "olfatto positivo" e "retrolfatto". Secondo questa analisi sensoriale il *panel group* ha percepito *off-flavour* nelle tesi trattate. Spicca il caso della luce azzurra a cui i giudici hanno assegnato punteggi alti a tutti quei descrittori in cui si chiedeva di trovare note negative, mentre, punteggi bassi quando è stato il momento di giudicare i campioni per i caratteri positivi. Anche per il descrittore "retrolfatto" il testimone ha mostrato avere una persistenza più lunga e gradita rispetto gli altri campioni, prevalendo soprattutto sul vino trattato con luce azzurra.

Dal risultato appena presentato, è stato reputato interessante indagare più a fondo l'azione della luce azzurra sia su PG ma anche su un'altra qualità internazionale e ampiamente consumata, lo Chardonnay. Considerato uno degli obiettivi finali del suddetto lavoro, ovvero l'immediatezza e rapidità dell'analisi per la valutazione del grado di ossidabilità dei vini bianchi, è stato scelto di diminuire il tempo di trattamento ad un'ora.

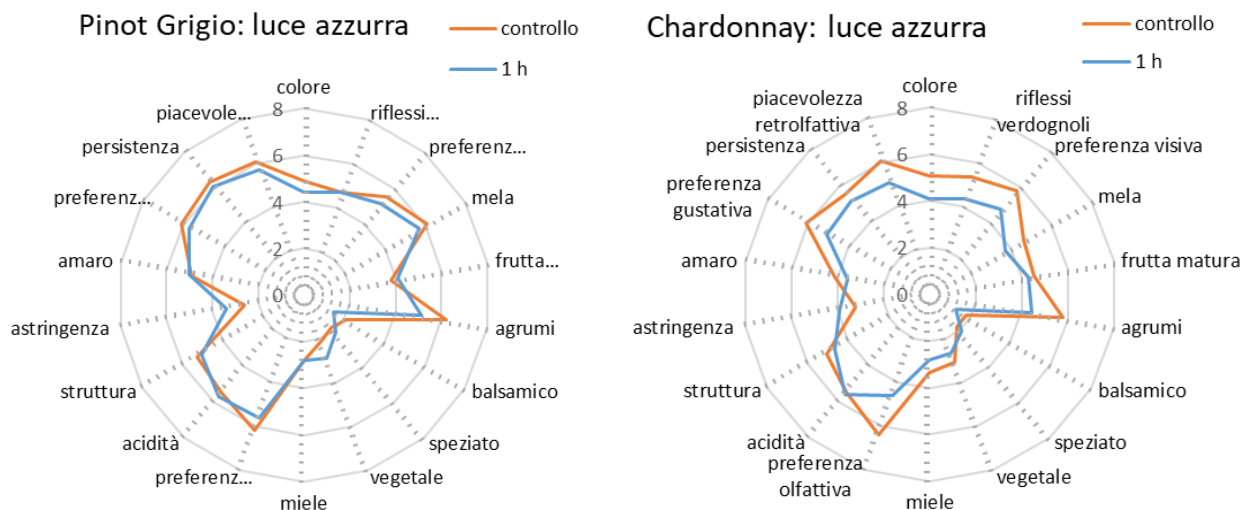


Figura 2: Analisi sensoriale di Pinot Grigio e Chardonnay prima e dopo trattamento di un'ora con luce azzurra.

Da come si evince dalla Figura 2, i giudici hanno assegnato alle tesi irradiate da luce azzurra dei punteggi inferiori rispetto ai controlli per quanto riguarda i descrittori caratteristici. Ciò indica come già un'ora di esposizione luminosa possa modificare sensorialmente il prodotto finito. Nel caso dello Chardonnay, le differenze sono risultate evidenti specialmente per i descrittori "agrumi", "mela" e "miele", per quanto riguarda il senso dell'olfatto, note che sono state percepite più intense nel testimone rispetto al campione trattato. Ciò viene confermato dall'attribuzione di punteggi più alti per la "preferenza olfattiva"; comportamento analogo si ritrova anche per la "preferenza gustativa", "piacevolezza retroolfattiva" e "preferenza visiva". La luce azzurra sembra accentuare note astringenti al vino sia nel caso dello Chardonnay che del Pinot Grigio. In quest'ultimo le differenze con il testimone sono meno evidenti ma la preferenza rispetto al trattato viene confermata. È interessante notare come la nota "vegetale" sia stata percepita più marcata nel PG trattato rispetto al tal quale, riprovando ancora una volta come la luce analizzata apporti modifiche organolettiche sostanziali. Oltre all'indagine sensoriale condotta sui vini Pinot Grigio e Chardonnay irradiati a diverse lunghezze d'onda, sono state fatte anche diverse analisi chimiche. Queste hanno evidenziato l'effetto degli stress luminosi sulla stabilità dei vini e di conseguenza il loro potenziale utilizzo come ulteriore strumento di stima dei rischi di alterazione chimica-organolettica dei vini (Lazaridis, 2017; D'Andrea, 2017).

Per avere indicazioni analitiche ed informazioni sull'ossidazione dei vini e sul loro imbrunimento si è proceduto con il testare su Pinot Grigio e Prosecco, l'effetto causato dal trattamento sia da luce bianca che da luce azzurra, le due luci che da lavori precedenti hanno mostrato maggiore influenza nell'alterazione dei vini bianchi. Per avere un'ulteriore conferma sulle luci maggiormente invasive si è introdotto come controllo anche il trattamento con luce blu. Si è deciso di lavorare ulteriormente sulla diminuzione del tempo di trattamento per avvicinarsi il più possibile a condizioni operative di cantina. Per questo motivo è stata condotta l'analisi statistica a tre fattori introducendo anche la variabile "tempo". I trattamenti sono stati quindi svolti per 20 e 10 minuti. Sul campione PG i fattori "tempo", "luce" e "chiarifica" hanno mostrato una significatività statistica quando combinati tra loro (Tabella 1). La combinazione luce e tempo (Figura 3) ha confermato ancora una volta come le luci azzurra e bianca abbiano un comportamento analogo e invasivo nei confronti del campione e che questo non vari in entrambe le tempistiche testate. Il POM-test effettuato sul vino irradiato da luce blu per 20 minuti ha mostrato una percentuale più alta di ossidabilità rispetto le altre condizioni analizzate. Questo comportamento indica una minor efficacia della luce blu a stressare e a provocare l'imbrunimento del campione per tempistiche superiori ai 10 minuti. Un tempo di irradiazione pari a 10 minuti è risultato, quindi, sufficiente per valutare un'instabilità del campione. Si è voluto riportare a titolo di esempio anche il caso del Prosecco (Tabella 2) per mostrare come per

campioni con caratteristiche compositive differenti non si è osservata una significatività statistica per tutte le interazioni fra fattori per i parametri analitici testati, catechine, assorbanze a 320 nm e 420nm, associati all'imbrunimento del vino.

Tabella 1: Analisi statistica a tre fattori per catechine, D.O. 320 nm e D.O. 420 nm del Pinot Grigio. Valori statisticamente significativi con $p < 0.05$ (*)

Catechine		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	175,8	0,000*
luce	195,0	0,000*
chiarificante	67,3	0,000*
tempo*luce	129,3	0,000*
tempo*chiarificante	128,0	0,000*
luce*chiarificante	264,9	0,000*
tempo*luce*chiarificante	127,5	0,000*
D.O. 320 nm		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	0,0	0,832
luce	204,5	0,000*
chiarificante	325,7	0,000*
tempo*luce	6,4	0,004*
tempo*chiarificante	9,2	0,001*
luce*chiarificante	106,2	0,000*
tempo*luce*chiarificante	6,8	0,000*
D.O. 420 nm		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	47,6	0,000*
luce	151,9	0,000*
chiarificante	18,6	0,000*
tempo*luce	46,8	0,000*
tempo*chiarificante	53,9	0,000*
luce*chiarificante	30,8	0,000*
tempo*luce*chiarificante	50,5	0,000*

Tabella 2: Analisi statistica a tre fattori per catechine, D.O. 320 nm e D.O. 420 nm del Prosecco. Valori statisticamente significativi con $p < 0.05$ (*)

Catechine		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	5,248	0,026*
luce	2,027	0,142
chiarificante	2,721	0,075
tempo*luce	0,284	0,754
tempo*chiarificante	2,420	0,099
luce*chiarificante	9,595	0,000*
tempo*luce*chiarificante	0,358	0,838
D.O. 320 nm		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	8,01	0,007*
luce	21,63	0,000*
chiarificante	7,17	0,002*
tempo*luce	0,72	0,491
tempo*chiarificante	1,00	0,376
luce*chiarificante	32,14	0,000*
tempo*luce*chiarificante	0,23	0,921
D.O. 420 nm		
Fattore sperimentale	F	P
tempo	16,28	0,000*
luce	2,29	0,111
chiarificante	33,92	0,000*
tempo*luce	0,87	0,424
tempo*chiarificante	2,39	0,101
luce*chiarificante	2,26	0,075
tempo*luce*chiarificante	0,12	0,976

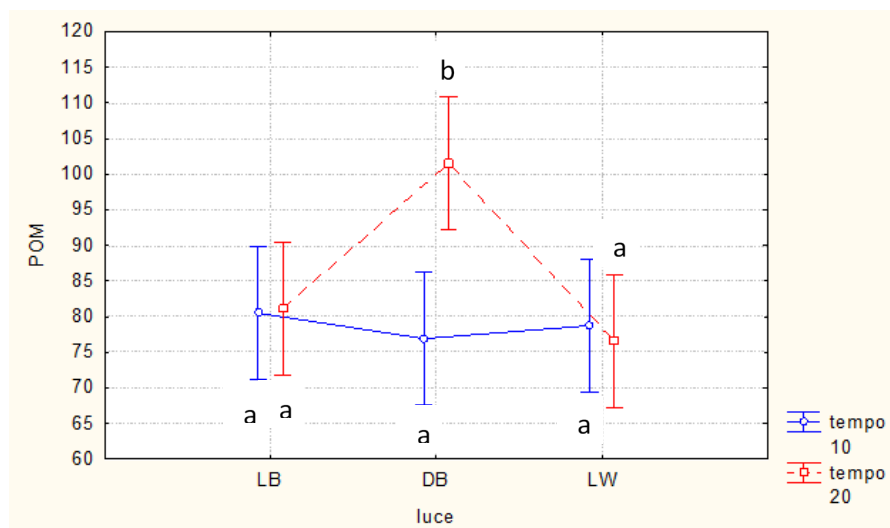


Figura 3: POM-test su Pinot Grigio trattato con luce azzurra (LB), blu (DB) e bianca (LW) per 10 minuti (linea continua) e 20 minuti (linea tratteggiata). Lettere diverse evidenziano differenze significative per $p \leq 0,05$.

L'interazione tra effetto della luce e del chiarificante è stata studiata in maniera più approfondita effettuando un'analisi statistica a due fattori (Tabella 3). Da questo studio è risultato evidente come l'uso delle luci abbia un'influenza sul campione. In particolare, nella Figura 4 si evince come il vino non trattato (T) è risultato avere valori di assorbanza più elevanti quando trattato con luci azzurra e bianca, valori che anche per la statistica differenziano il trattamento con luce blu in maniera significativa. L'effetto dei chiarificanti, invece, non mostra differenze se non nel caso dell'utilizzo della luce blu nel campione chiarificato con GR. Valori bassi misurati a 420 nm in questo caso sono imputabili alla presenza maggiore di carbone nella composizione di questo chiarificante. Le risultanze sperimentali confermano ancora una volta l'importanza degli interventi di chiarifica/stabilizzazione realizzati in vinificazione. Nello specifico si osserva nella Tabella 3, una non significatività dell'effetto principale chiarificante, e invece risulta significativa l'interazione tra luce e chiarificante. Questi risultati, se confermati, potrebbero essere un buon punto di partenza per mettere a punto un test di stabilità dei vini bianchi utilizzando anche stress luminosi ben definiti.

Tabella 3: Parametri dell'analisi statistica a due fattori per la DO 420 del Pinot Grigio. Valori statisticamente significativi con $p \leq 0.05$ (*)

Fattore sperimentale	F	P
luce	14,04	0,000*
chiarificante	1,72	0,191
luce*chiarificante	2,84	0,035*

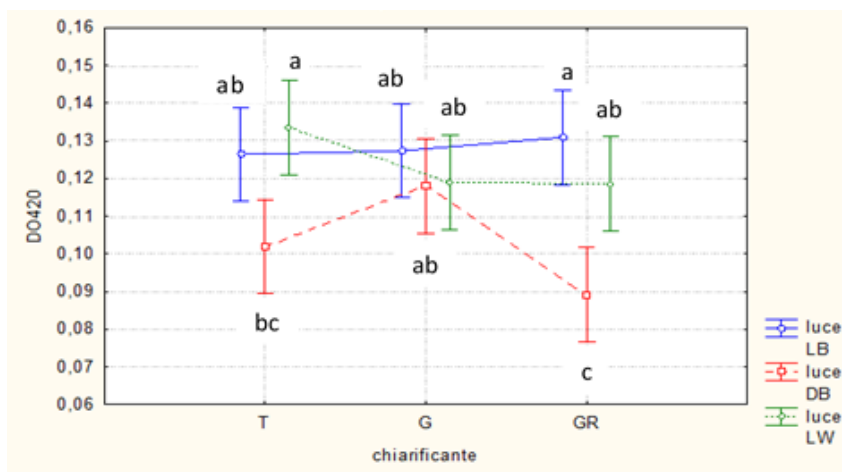
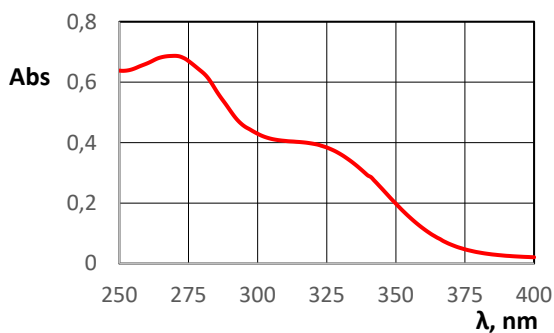


Figura 4: Analisi della varianza applicata alla D.O. 420 nm del Pinot Grigio tal quale (T), chiarificato con il prodotto G e con il prodotto GR; trattamento delle tesi con luci azzurra (LB), blu (DB) e bianca (LW). Lettere diverse evidenziano differenze significative per $p \leq 0,05$.

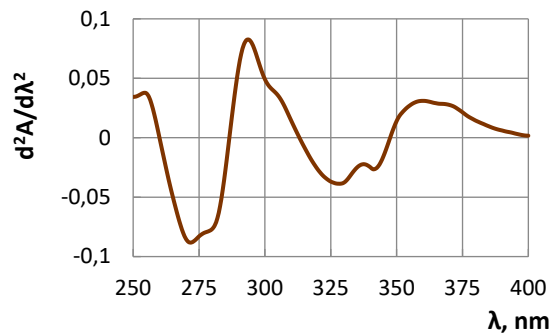
Le analisi ad oggi più utilizzate per verificare lo stato ossidativo di un vino si basano per la maggior parte su tecniche spettrofotometriche. La spettroscopia in alcuni casi potrebbe risultare un approccio poco interessante per avere informazioni dettagliate, invece, in questo studio è stato dimostrato come, se ben gestita, sia in grado di dare informazioni utili. Inoltre, la sua facilità d'uso e disponibilità in laboratori anche di piccola portata, sono da considerare come fattori importanti e da non sottovalutare per lo sviluppo di un nuovo test analitico.

È stato acquisito uno spettro UV-Vis che includesse nell'intero intervallo (250-400 nm) le lunghezze d'onda più d'interesse, ovvero la regione 260-280 nm, come indice di polifenoli totali e 300-350 nm come lunghezze d'onda di assorbimento degli acidi idrossicinnamiltartarici (HCAs). Come si osserva dalla Figura 5, lo spettro risultante (A, B) non mostra delle differenze tra il diverso stato di ossidazione di un vino, bensì si ricavano nel complesso **indicazioni sulla sua quantità in polifenoli**. Uno studio più dettagliato si può invece ottenere con l'analisi della derivata seconda. Nel caso del Sauvignon, nella regione 250-300 nm, si osserva solo un massimo (272 nm) che corrisponde al primo minimo dello studio della derivata di second'ordine; da questo spettro viene messo in luce anche un secondo minimo (280 nm), prima mascherato dal punto di flesso. Per il vino Chardonnay entrambi i minimi studiati dalla derivata seconda hanno valori ravvicinati e la loro sovrapposizione dà un unico segnale (274 nm). Altre differenze vengono percepite nella regione 300-350 nm, dove con lo studio della derivata seconda si mostrano in maniera più dettagliata dei minimi prima latenti. Le significative differenze che vengono evidenziate con questo studio sono ad esempio associabili allo stato di ossidazione dei vini valutato mediante il POM-Test dove i valori del S e Ch sono rispettivamente di 67,7% e 10,1%. I valori di polifenoli totali come IPT a 280 nm (6,59 Sauvignon, 11,47 Chardonnay) e delle catechine (44 mg/L Sauvignon, 299 mg/L Chardonnay) valutati singolarmente non avrebbero dato indicazioni sulla reale ossidabilità. Questo approccio risulta essere una buona premessa per ampliare la casistica e individuare delle correlazioni tra l'interdipendenza $d^2A/d\lambda^2$ e imbrunimento utilizzabili per lo studio della stabilità dei vini bianchi.

SAUVIGNON

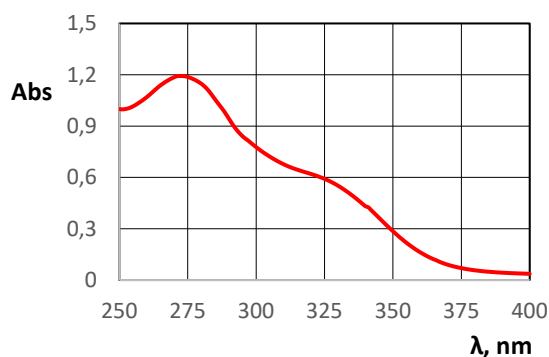


A

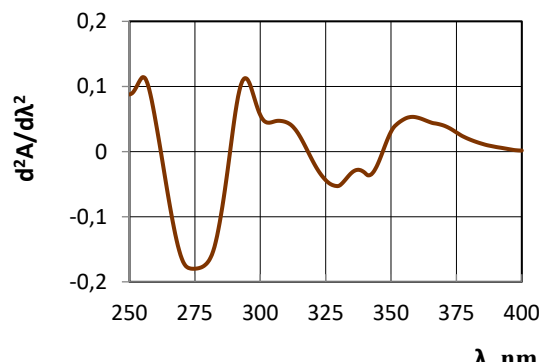


a

CHARDONNAY



B



b

Figura 5: Spettri di assorbimento del vino Sauvignon (A), Chardonnay (B) e il loro rispettivo spettro della derivata seconda (a, b).

Il comportamento che un vino può mostrare quando stressato con agenti chimici oppure quando è attraversato da radiazioni luminose è risultato variare a seconda del proprio contenuto polifenolico e in antiossidanti. Se da una parte si hanno conoscenze specifiche su alcuni fenomeni di alterazione del prodotto, l'associazione di diversi test può essere la soluzione per lo studio della stabilità dei vini che in tante situazioni non può essere valutata con un singolo analita. In questo lavoro è stata valutata anche la combinazione di più agenti promotori di reazioni ossidative e di imbrunimento sia sul campione di controllo che sui campioni in cui è stato simulato un differente contenuto in antiossidanti con l'aggiunta di due tannini di natura diversa. Tra i parametri analitici testati si è ottenuta una correlazione tra la densità ottica valutata a 420 nm e la componente b^* dell'analisi del colore. In Figura 6, si può apprezzare come all'aumentare dell'imbrunimento (A_{420nm}) incrementano anche i valori della coordinata b^* , ovvero aumenta la componente gialla. Questa correlazione è stata ottenuta su tutte le casistiche in cui non vi è stato aggiunto il tannino, escludendo così una sua possibile interferenza nella stima della stabilità ossidativa. La bontà della correlazione è inoltre confermata dall'alto coefficiente di determinazione ($R^2 = 0,877$) che riprova quanto l'associazione tra i due parametri sia forte. Nell'analisi sono comprese anche le esperienze con il solo acido ascorbico che tuttavia non ha evidenziato l'effetto pro-ossidante probabilmente per effetto della presenza di anidride solforosa nel vino, antiossidante che probabilmente ha reso sottostimati alcuni effetti di imbrunimento. Considerata l'informazione sull'imbrunimento verificata con un normale colorimetro si può tranquillamente affermare che tale strumentazione rapida e non distruttiva può diventare un utile supporto per il controllo di qualità dei vini e di processo consentendo di ridurre i costi di analisi.

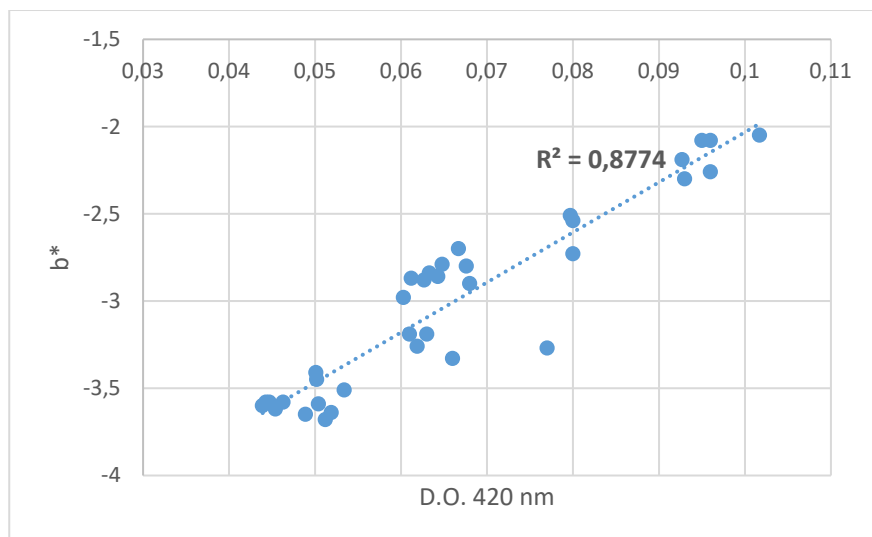


Figura 6: Correlazione tra D.O. 420 nm e coordinata b* del colore (tutta la casistica senza tannino aggiunto).

I dati riportati nella Figura 9 sono riportati come variazione percentuale per rendere più evidente l'effetto dell'imbrunimento delle condizioni analitiche testate. Inoltre i dati riportati assumono un'importanza rilevante in quanto relativi ad un vino tecnicamente stabile secondo il POM-Test. In entrambi i casi in cui è stato utilizzato il tannino, A_{420nm} del campione ha dato valori crescenti rispetto le altre tesi. L'aumento di imbrunimento è dovuto ad un rumore di fondo proprio provocato dall'utilizzo del tannino, componente polifenolica soggetta anch'essa ad ossidazione (Figura 9). Le luci, anche se in modo differenziato, esaltano l'effetto dell'ossidante chimico del vino amplificando la differenza di assorbanza a 420 nm. In particolare dalle Figure 7 e 8 si può notare come le due luci esaltino l'azione del perossido in entrambi i casi. Ciò è avvalorato anche da una differenza significativa nel caso in cui si tenga in considerazione il rumore di fondo della prova con tannino e perossido senza stress luminoso. Una significatività tra campioni irradiati e non si riscontra anche nel caso in cui vengono combinate le luci con perossido e acido ascorbico. In questo caso si osserva come le luci abbiano un effetto evidente sull'imbrunimento dei campioni aggiunti di tannino idrolizzabile; nelle prove addizionate di tannino d'uva, questo effetto combinato è da considerarsi significativo solo quando si espone il campione alla luce bianca. Ciò conferma una variabilità di risposta dei test in funzione della matrice vino, tuttavia si può affermare che la luce bianca risulta essere la sorgente luminosa che più amplifica il potenziale imbrunimento di un vino bianco. Si è anche osservato come le aggiunte tarate di tannino abbiano mostrato un andamento crescente nell'imbrunimento, concorde con l'aumento della concentrazione utilizzata. In particolare questo effetto è molto evidente nel tannino idrolizzabile, di conseguenza la sua aggiunta nelle fasi finali di vinificazione deve essere tenuta da conto. Le aggiunte di tannino idrolizzabile durante le fasi di pre-imbottigliamento potrebbero determinare, se non correttamente eseguite, rischi di ossidabilità dei vini. Le diverse dosi di tannino condensato, invece, non comportano variazioni di imbrunimento significative. L'effetto chiarificante simulato con le diverse concentrazioni di tannino d'uva evidenzia l'importanza del tipo di tannino sull'imbrunimento del vino. A livello pratico, questo potrebbe risolversi ponendo più attenzione all'utilizzo dei diversi agenti chiarificanti in base all'obiettivo tecnologico al fine di ridurre gli input in enologia e ottimizzare la qualità percepita del prodotto finito.

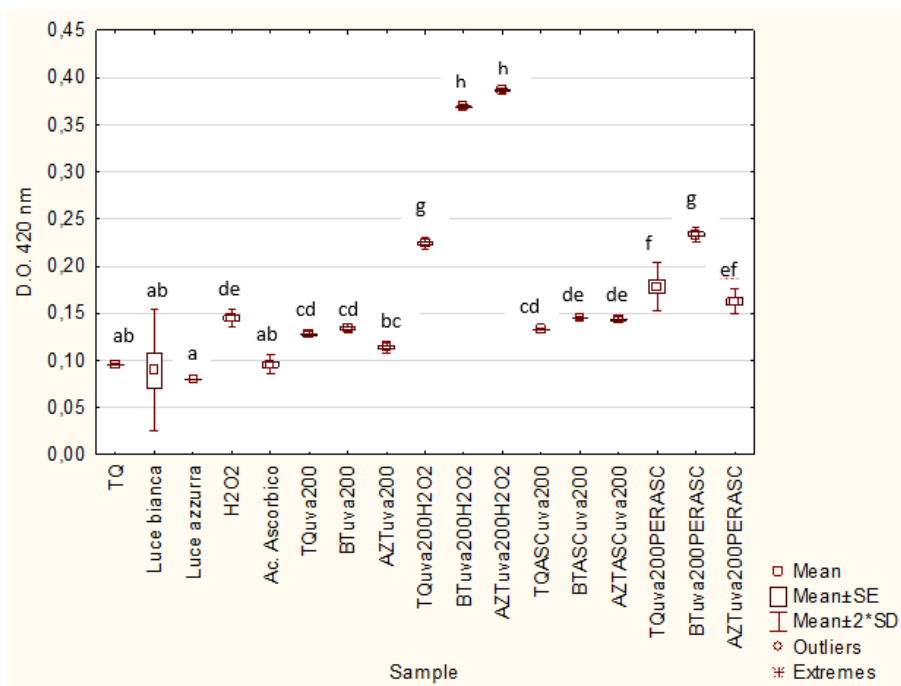


Figura 7: Analisi di varianza applicata a D.O. 420 nm delle tesi del vino addizionato con 200 mg/L di tannino d'uva; le lettere diverse evidenziano differenze significative per $p \leq 0,05$

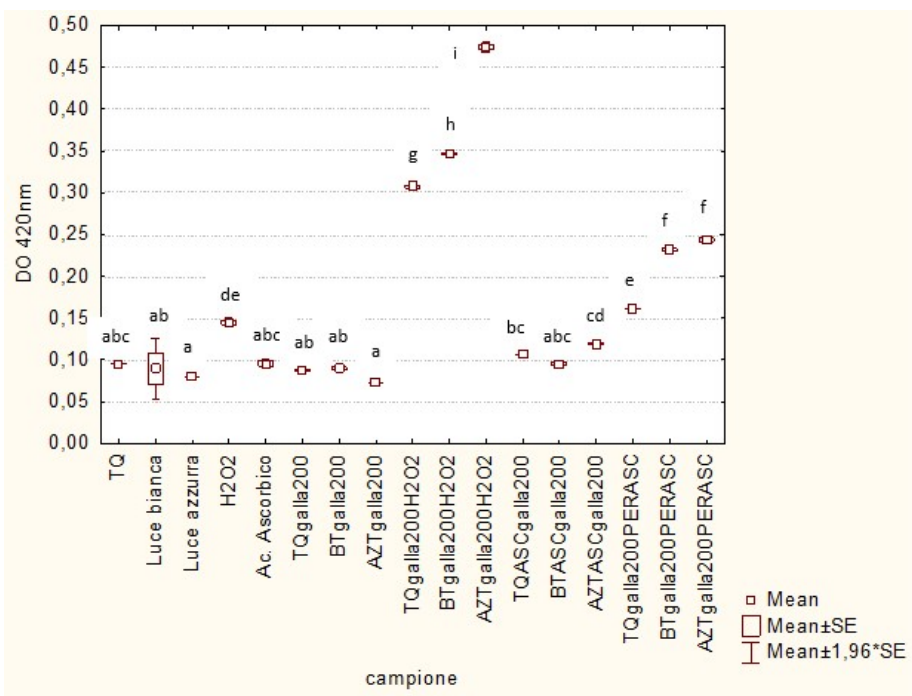


Figura 8: Analisi di varianza applicata a D.O. 420 nm delle tesi del vino addizionato con 200 mg/L di tannino di galla; le lettere diverse evidenziano differenze significative per $p \leq 0,05$

Differenze percentuali di D.O. 420 nm rispetto al testimone

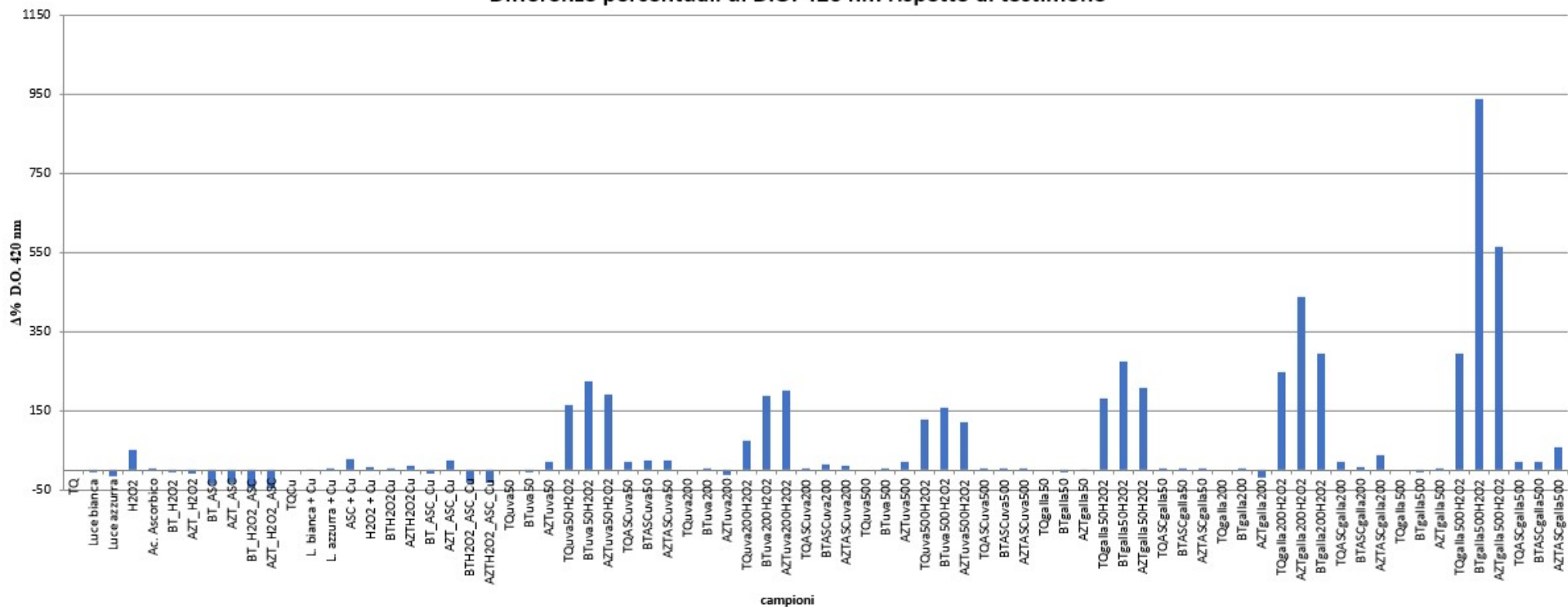


Figura 9: D.O. 420 nm; variazione percentuale dei testimoni di PG (TQ – TQCu – TQuva50 – TQuva200 – TQuva500 – TQgalla50 – TQgalla200 – TQgalla500); PG è stato addizionato di rame (Cu), di tannino d'uva (UVA) e galla (GALLA) a tre diverse concentrazioni (50, 200, 500 mg/L); i campioni hanno subito stress chimici con perossido di idrogeno e acido ascorbico (H2O2 – ASC) e stress luminosi con luce bianca e azzurra (BT – AZT) combinati. I dati sono la media di tre repliche sperimentali.

CONCLUSIONI

Nel presente lavoro, che riporta solo una parte di una ricerca dedicata allo studio della stabilità dei vini, sono emerse utili informazioni sulla gestione del rischio di instabilità dei vini bianchi. La stima mediante test di stabilità non vuole essere la soluzione ai problemi ma un valido complemento alle valutazioni dei singoli analiti che non sempre danno indicazioni sulla reale stabilità dei vini. Dall'analisi dei dati ottenuti dal presente lavoro si possono trarre delle interessanti osservazioni.

Il trattamento con stress luminoso, in particolare con luce bianca, in associazione con perossidi esalta il potenziale imbrunimento del vino bianco.

I dati confermano che la sola valutazione dei polifenoli non è sufficiente a stimare la stabilità dei vini. Gli stress luminosi, singoli o combinati, sono un ottimo strumento per valutare rischi di *off-flavour* nei vini.

Un approccio ragionato delle diverse metodiche potrebbe essere la migliore soluzione ad una stima accurata del rischio di ossidabilità.

Da questo studio risulta verosimile l'ipotesi di realizzare una combinazione ragionata tra stress chimici e luminosi per stimare la stabilità dei vini con sistemi rapidi e utilizzabili direttamente in cantina permettendo anche un controllo durante la filiare di vinificazione.

I dati andranno interpretati in base alla composizione del vino, alla presenza di antiossidanti e comunque alla presenza di interferenti alle metodiche, per questo il lavoro proseguirà al fine di ottenere risultati su base statistica più ampia.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia per la collaborazione l'azienda Ever S.r.l.- Pramaggiore (VE).

BIBLIOGRAFIA

Arribas, A. S., Martiinez-Fernandez, M., Chicharro, M. (2012). The role of electroanalytical techniques in analysis of polyphenols in wine. In: Trends in Analytical Chemistry 34, 78-96

Branca, G. (2013) Brevetto depositato da Ever S.r.l., n. D4-4779/ C4-3021

C.I.E. (1986). Colorimetry 2nd ed. Publication C.I.E. No. 15.2. Central Bureau of the Commission Internationale de L'Eclairage, Vienna.

Celotti E., Ferrarini R., Franceschi D. (2006). The analytical evaluation of wine oxidability. The Australian & New Zealand grapegrower & winemaker 505, 47-52.

Cheyrier, V. (2006). Flavonoids in wine. In Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications; Andersen, Ø. M., Markham, K. R., Eds.; Taylor & Francis: Boca Raton, FL, USA; pp 263–318.

Cheyrier, V., Souquet, J.M., Samson, A., Moutounet, M. (1991). Hyperoxidation: influence of various oxygen supply levels on oxidation kinetics of phenolic compounds and wine quality. *Vitis* 30, 107-115.

Clark, A.C., Dias, D.A., Smith, T.A., Ghiggino, K.P., Scollary, G.R. (2011). Iron(III) tartrate as a potential precursor of light induced oxidative degradation of white wine: studies in a model wine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 3575–3581.

Comuzzo, P., Toniolo, R., Battistutta, F., Lizee, M., Svirgelj, R., Zironi, R. (2017). Oxidative behavior of (+)-catechin in the presence of inactive dry yeasts: a comparison with sulfur dioxide, ascorbic acid and glutathione. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(15), 5158-5167.

- D'Andrea, M. (2017). Light induced stress in white wine from Friuli- Venezia Giulia (FVG). Tesi di laurea. Università degli Studi di Udine.
- Danilewicz, J. C., Seccombe, J. T., Whelan, J. (2008). Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 59(2), 128–136.
- Dias, D.A., Smith, T.A., Ghiggino, K.P. and Scollary, G.R. (2012). The role of light, temperature and wine bottle colour on pigment enhancement in white wine. *Food Chemistry* 135, 2934–2941.
- Fracassetti, D., Gabrielli, M., Encinas, J., Manara, M., Pellegrino, I., Tirelli, A. (2017). Approaches to prevent the light-struck taste in white wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 23, 329-333.
- Gonzalez, A., Vidal, S., Ugliano, M. (2018). Untargeted voltammetric approaches for characterization of oxidation patterns in white wines. *Food Chemistry* 269, 1-8.
- Hilgemann, M., Bassetto, V. C., Kubota, L. T. (2013). Electrochemical approaches employed for sensing the antioxidant capacity exhibited by vegetal extracts: a review. In: *Combinatorial Chemistry & HighThroughput Screen* 16 (2), 98-108.
- Hoenicke, K., Simat, T.J., Steinhart, H., Christoph, N., Geßner, M., Köhler, H.-J. (2002). Untypical aging off-flavor' in wine: Formation of 2-aminoacetophenone and evaluation of its influencing factors. *Analytica Chimica Acta* 458 (1), 29-37.
- Lazaridis, G. (2017). The use of light stress to check the wine stability. Tesi di laurea. Università degli Studi di Udine.
- Malgarin, L. (2012). Stress luminosi per la stabilità dei vini. Tesi di laurea. Università degli Studi di Udine
- Maujean, A. e Seguin, N. (1983). Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne. 3. Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans le vin de Champagne. *Sciences des Aliments* 3, 589–601.
- Müller-Späth H. (1992). Activer et favoriser les réactions naturelles en vinification de Chardonnay à l'aide d'oxygène. *Revue des Oenologues* 65, 39-41.
- Rapp, A., Versini, G., Ullemeyer, H. (1993). 2-Aminoacetophenone—causal component of untypical aging flavor (naphthalene note, hybridnote) of wine. *Vitis* 32, 61–62.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Debordieu D. (2007). Trattato di enologia II – Chimica del vino, Stabilizzazione, Trattamenti. Edagricole, Bologna.
- Rigaud, J., Cheynier, V., Souquet, J.M., Moutounet, M. (1990). Mécanismes d'oxydation des polyphénols dans les mouts blancs. *Revue des Oenologues* 127, 27-31.
- Romanini, E., Colangelo, D., Lucini, L., Lambri, M. (2019). Identifying chemical parameters and discriminant phenolic compounds from metabolomics to gain insight into the oxidation status of bottled white wines. *Food Chemistry* 288, 78-85.
- Sisa, M., Bonnet, S.L., Ferreira, D., Van derWesthuizen, J.H. (2010) Photochemistry of flavonoids. *Molecules* 15, 5196–5245.
- Zironi R., Buiatti S., Celotti E. (1992). Evaluation of a new colourimetric method for the determination of catechins in musts and wines. *Viticultural and Enological Science*, 47, (1), 1-7.