

ESTRATTI DA UVE IMMATURE: PRODUZIONE, CARATTERIZZAZIONE E UTILIZZO NEL VINO ED ALTRE MATRICI ALIMENTARI COME ANTIOSSIDANTI E FORTIFICANTI

Giovanna Fia, Ginevra Bucalossi, Lucrezia Chiti, Alessandra De Toffoli, Caterina Dinnella, Erminio Monteleone, Bruno Zanoni

Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI),
Via Donizetti, 6-50144-Firenze

e-mail: giovanna.fia@unifi.it

Abstract

La produzione di estratti da uve immature tramite estrazione solido-liquido è stata condotta nel corso di tre annate a partire da uve Sangiovese, Merlot e Viognier. Estratti essiccati sono stati ottenuti per liofilizzazione e atomizzazione utilizzando gomma arabica come supporto. Gli estratti sono stati caratterizzati per potere antiossidante, fenoli totali, profilo fenolico, antociani totali, vitamine idrosolubili e glutazione. Gli estratti sono stati utilizzati: a) come ingredienti funzionali in tre differenti alimenti modello di origine vegetale: purea di barbabietole (zuccheri/pH basso/sapore dolce), purea di piselli (proteine/pH neutro/sapore dolce) e purea di patate (carboidrati/pH neutro/sapore neutro); b) come antiossidanti in vini bianchi e rossi nel test di ossidabilità (POM e IOA) in comparazione con solforosa, tannino enologico e acido ascorbico. Negli estratti essiccati, i fenoli totali variavano da 8,7 a 20,4 mg di CAT eq/g di polvere e l'attività antiossidante da 24,4 a 33,8 $\mu\text{mol TEAC/g}$ di polvere. Sono stati identificati acidi fenolici, flavonoli, flavanoli, procianidine, resveratrolo, glutazione e le vitamine idrosolubili piridossina, niacina, colina e acido pantotenico. Il recupero dei fenoli dagli alimenti funzionalizzati, l'attività antiossidante e il profilo sensoriale variava in funzione della loro composizione e della concentrazione fenolica. Il recupero dei fenoli variava dal 45,7 al 90,4% e l'attività antiossidante da 3244 a 9282 $\mu\text{mol TEAC eq/kg}$ di alimento, indicando una buona estraibilità e il mantenimento dell'attività biologica dei fenoli d'uva acerba dopo la funzionalizzazione. Nel vino bianco, l'effetto protettivo degli estratti era simile a quello della SO_2 e migliore rispetto a quello del tannino commerciale. Nei vini rossi, l'effetto antiossidante degli estratti era simile a quello del tannino enologico, migliore rispetto a quello dell'acido ascorbico ma inferiore alla solforosa.

Introduzione

La vite è una delle colture più diffuse nel mondo e l'uva è utilizzata principalmente per la produzione di vino. La filiera viti-enologica genera una grande quantità di sottoprodotti e rifiuti che attualmente costituiscono un problema di sostenibilità ambientale ed economica per le aziende del settore. Per tale motivo, la ricerca e l'industria enologica stanno esplorando soluzioni per lo sviluppo di nuovi

prodotti ad elevato valore aggiunto derivanti dalla valorizzazione degli scarti di filiera. Le proprietà biologiche, le tecniche di estrazione e le potenziali applicazioni nel sistema alimentare dei fenoli estratti dalle vinacce, principale sottoprodotto dell'industria vinicola sono descritte da Beres et al., (2017).

Le uve immature derivanti da operazioni di diradamento in vigna non possiedono le caratteristiche idonee alla vinificazione e, dopo l'asportazione, sono normalmente abbandonate in campo. Il diradamento è una pratica di potatura verde che consiste nell'asportazione selettiva di specifici grappoli con lo scopo di garantire l'equilibrio vegeto-produttivo della pianta ed è realizzata soprattutto per la produzione di vini rossi di qualità elevata. Le uve immature ed il loro potenziale utilizzo come fonte di composti biologicamente attivi ha ricevuto scarsa attenzione scientifica. Le uve acerbe di bassa qualità sono tradizionalmente utilizzate per la produzione di salse acidule che mostrano elevata attività antiossidante (Dupas de Matos et al. (2018); Öncül & Karabiyikli, 2015) Kontoudakis, Esteruelas, Fort, Canals, & Zamora (2011) hanno proposto l'utilizzo di uve immature per ridurre il contenuto in alcol e pH di vini sperimentali Cabernet Sauvignon e Merlot. Tinello & Lante, (2017) hanno studiato l'utilizzo di uve immature Barbera e Merlot come additivo per controllare l'imbrunimento enzimatico di alcuni prodotti vegetali. Recentemente, Fia, Gori, Bucalossi, Borghini, & Zanoni (2018) hanno utilizzato estratti da uva immatura Sangiovese come antiossidanti nel vino bianco.

L'uva è ricca di composti ad elevata attività antiossidante come i polifenoli (antociani, flavonoli, flavan-3-oli, procianidine) gli acidi fenolici, il resveratrolo e il glutathione (Kedage, V. V, Tilak, J. C., Dixit, G. B., Devasagayam, T. P. A., & Mhatre, M. 2007). La biosintesi di molti di questi composti inizia prima dell'invasatura e prosegue nel corso della maturazione (Adams, 2006). Fra i composti biologicamente attivi dell'uva, le vitamine idrosolubili sono state scarsamente studiate poiché rivestono un ruolo enologico marginale e la loro concentrazione è relativamente bassa (Andrade et al. 2019).

Grazie alle loro proprietà antiossidanti, i composti fenolici dell'uva sono potenzialmente interessanti sia come ingredienti funzionali, utili ad elevare la qualità nutrizionale di cibi e bevande sia come alternativi agli antiossidanti inorganici abitualmente utilizzati negli alimenti e nel vino. La prestazione di alimenti funzionali arricchiti in composti fenolici dipende alcuni fattori come la stabilità dei fenoli dopo l'aggiunta al sistema alimentare, l'intensità delle sensazioni indotte dai fenoli aggiunti (astringenza, amaro e acido) che possono compromettere l'accettabilità del prodotto da parte dei consumatori e la biodisponibilità dei fenoli stessi (De Toffoli et al., 2019; Świeca, Gawlik-Dziki, Sęczyk, Dziki, & Sikora, 2018).

I fenoli d'uva sono stati utilizzati in differenti modelli alimentari per la protezione dall'ossidazione. Nel vino la protezione nei confronti dell'ossidazione è uno degli obiettivi principali della vinificazione. L'additivo tradizionalmente utilizzato a tale scopo è l'anidride solforosa, potenziale allergenico, che potrebbe essere integrato o addirittura sostituito con antiossidanti naturali.

Lo scopo del presente studio è stato quello di ottenere estratti a partire da uve immature con una lavorazione industriale, valutarne la composizione e la capacità antiossidante. Inoltre, le proprietà funzionali e sensoriali degli estratti, utilizzati come ingredienti funzionali, sono state studiate e ottimizzate in differenti alimenti vegetali. Infine, l'effetto protettivo degli estratti nei confronti dell'ossidazione è stato valutato su vini bianchi e rossi in comparazione con diversi antiossidanti commerciali.

1. Materiali e metodi

1.1 Produzione di estratti da uva acerba

Il diagramma delle operazioni eseguite per la produzione degli estratti da uva acerba è mostrato nella Figura 1. Sono state utilizzate uve immature delle cultivar Merlot, Viognier e Sangiovese nel corso di tre annate. Dopo la raccolta, le uve sono state trasportate in piccole cassette e scaricate su un nastro trasportatore che alimentava la pigio-diraspatrice. E' stato utilizzato un estrattore industriale dotato di termo-condizionamento e di organi interni di movimentazione molto efficienti sia nel disgregare e rimescolare le parti solide dell'uva sia nell'omogeneizzare il criogeno aggiunto durante la fase di estrazione solido-liquido (Fia et al., 2018). Dopo la pressatura delle vinacce, tutto l'estratto liquido ottenuto è stato decantato a freddo e quindi sgrossato utilizzando un filtro in acciaio inox (\emptyset 1mm). Campioni di estratto prelevati durante il processo sono stati conservati a -20°C per le successive analisi. Gli estratti liquidi possono essere trattati per eliminare lo zucchero tramite ultrafiltrazione. L'essiccamento è stato realizzato per liofilizzazione o atomizzazione, utilizzando gomma arabica come supporto. Gli estratti sono stati conservati a temperatura ambiente, sottovuoto in sacchetti di polietilene, in essiccatori contenenti silice, al riparo fonti luminose.

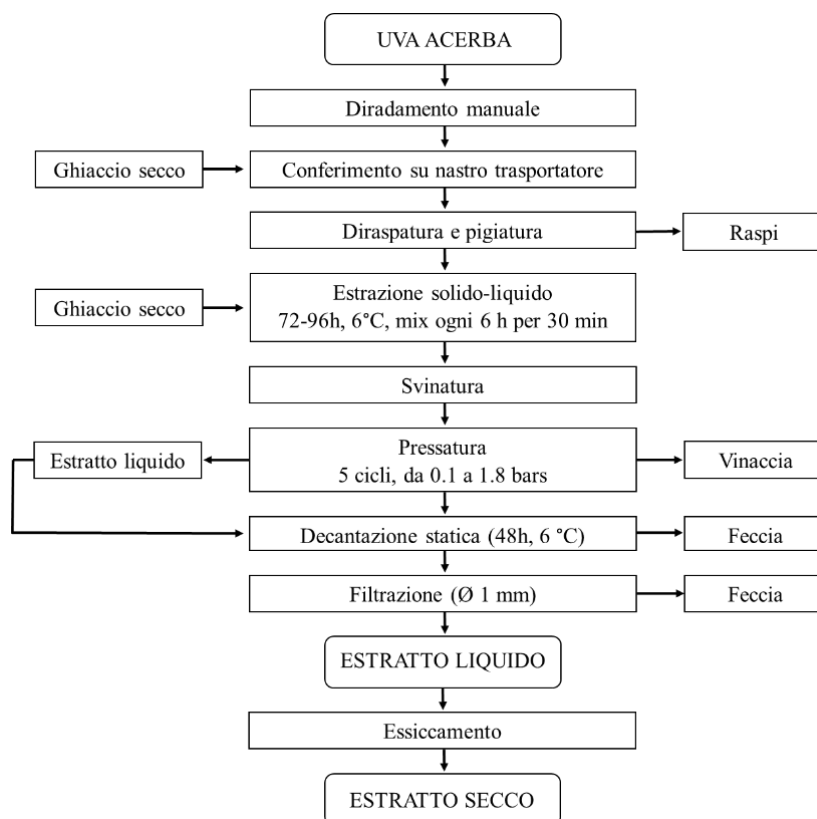


Figura 1. Diagramma di flusso per la produzione industriale di estratti da uva immatura.

1.2 Funzionalizzazione di alimenti a base vegetale

Le caratteristiche dei fenoli d'uva acerba sono state studiate preliminarmente in soluzione acquosa. Tre matrici vegetali (MV) sono state selezionate per la loro diversa composizione: purea di barbabietola (BP), zuccheri/pH acido/sapore dolce; purea di pisellini (PeP), proteine/pH neutro/sapore dolce; pure di patate (PoP), amido/pH neutro/sapore neutro. Differenti concentrazioni di fenoli d'uva acerba (0,21 - 0,44 - 1,11 e 1,93 g/kg di cibo, peso fresco) sono state scelte per la loro capacità di indurre variazioni significative delle sensazioni di amaro, salato, acido e astringente (Figura 2).

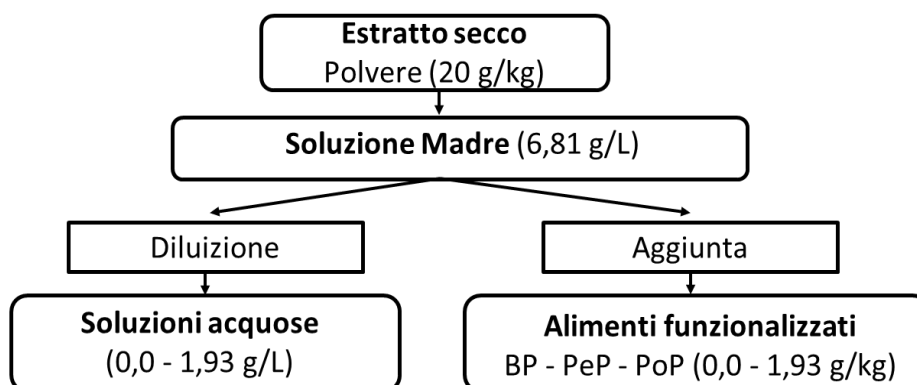


Figura 2. Disegno sperimentale. Fra parentesi le concentrazioni fenoliche dell'estratto, delle soluzioni e delle MV funzionalizzate.

1.3 Vini

Le prove sono state condotte su 5 vini bianchi e su 11 vini rossi di tipologia e annata diversa. In particolare, sono stati utilizzati i seguenti prodotti: 3 vini bianchi biologici in corso di elaborazione (2018) delle varietà Chardonnay, Malvasia e Vermentino; 2 vini bianchi da tavola reperibili dalla GDO; 2 vini rossi Sangiovese tradizionali (2016); 3 vini rossi Sangiovese biologici, di cui 2 vini finiti (2016) e 1 in corso di elaborazione (2018); 3 vini rossi Sangiovese biodinamici (2016); 3 vini rossi da tavola reperibili dalla GDO.

1.4 Estratti da uva immatura e antiossidanti enologici

Come antiossidanti da uva acerba sono stati utilizzati un estratto da uve immature Sangiovese atomizzato con aggiunta gomma arabica (16%) e due diversi estratti da uve immature Merlot e Viognier, senza zucchero, liofilizzati con aggiunta di gomma arabica (2%). Anidride solforosa, acido ascorbico e tannino commerciale sono stati utilizzati come antiossidanti tradizionali.

1.5 Estrazione da uve

Le uve sono state estratte secondo il metodo descritto da (Guerrero et al., 2009). Le uve (200 bacche) sono state omogeneizzate per 30s con un omogeneizzatore Ultra-turrax (VWR International, Milano, Italia). Per l'estrazione, 10 g di campione sono stati aggiunti con 10 ml di metano-cloridrico (1:1 v/v) e posti in agitazione, per 60 min. I campioni sono stati centrifugati per 5 min, 2800 g, temperatura ambiente. Il surnatante limpido è stato utilizzato per le analisi.

1.6 Estrazione da matrici alimentari

Dopo la preparazione, le puree vegetali (PV) tal quali e funzionalizzate con l'estratto da uva acerba sono state sottoposte ad una estrazione secondo il metodo descritto da Turkmen, Sari, & Velioglu, (2005). Una quantità pari ad 1 g di purea è stata estratta 2 volte con 4,5 mL di soluzione acquosa di metanolo all'80%, in agitazione costante a T ambiente, per 2 h. La soluzione è stata centrifugata a 13440 g, per 15 minuti. Gli estratti sono stati filtrati con filtro di carta Whatman N1 e sottoposti ad analisi.

1.7 Polifenoli totali

Il contenuto in polifenoli totali (PT) è stato determinato secondo il saggio Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). La curva di calibrazione è stata ottenuta con soluzioni standard di (+)-catechina a concentrazione da 5 a 500 mg/L. Il contenuto in PT è stato espresso come mg di (+)-catechina equivalenti/g di polvere o L di estratto.

1.8 Attività antiossidante

Il potere antiossidante è stato determinato mediante il test del DPPH (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995). Una soluzione madre di DPPH• (6×10^{-5} M) è stata preparata in metanolo. Per la reazione, 0.1 mL di campione sono stati addizionati a 3.9 mL della soluzione madre di DPPH; per il bianco, 0.1 mL di campione sono stati addizionati a 3.9 mL di metanolo. Tutti i campioni sono stati incubati al buio, a 30°C per 30 minuti. Dopo incubazione, il decremento dell'assorbanza a 515 nm è stato determinato utilizzando uno spettrofotometro Lambda 10, Perkin Elmer (Waltham, MA, USA). I risultati sono stati espressi come $\mu\text{mol Trolox equivalenti (TEAC)}/\text{g}$ di polvere o L di estratto. Per la retta di taratura, soluzioni di Trolox da 10 a 600 $\mu\text{mol}/\text{L}$ sono state preparate giornalmente in etanolo puro.

1.9 Profilo fenolico via LC-HRMS

Il profilo fenolico e il glutatione sono stati determinati per cromatografia liquida ad alta risoluzione accoppiata alla spettrofotometria di massa (LC-HRMS) (Fia et al., 2018).

1.10 Vitamine idrosolubili via LC-HRMS

Le vitamine idrosolubili sono state determinate per cromatografia liquida ad alta risoluzione accoppiata alla spettrofotometria di massa (LC-HRMS) (Owen, Lee, & Grissom, 2011).

1.11 Test di ossidabilità (POM-Test e IOA-test)

La stabilità di un vino nei confronti dell'ossidazione è stata valutata tramite POM-Test (Muller-Spath, 1992) per i vini bianchi e IOA-Test (Comuzzo et al., 1997) per i vini rossi. Il metodo prevede l'aggiunta di 0,2 mL di H_2O_2 al 3% (v/v) a 50 mL di vino e incubazione del campione a 60°C per 60 minuti. Il livello di ossidazione del vino bianco è stato determinato misurando l'incremento di assorbanza a 420 nm e calcolato mediante la seguente formula:

$$\text{Vini Bianchi : ox \%} = \left[\frac{(A_{420nm\ ox} - A_{420\ tq})}{A_{420\ nm\ tq}} \right] * 100$$

Il livello di ossidazione del vino rosso è stato determinato misurando la diminuzione di assorbanza a 520 nm e calcolato mediante la seguente formula:

$$\text{Vini Rossi : ox \%} = \left[\frac{(A_{520nm\ tq} - A_{520\ ox})}{A_{520\ nm\ tq}} \right] * 100$$

1.12 Analisi sensoriale

Sono stati reclutati 29 soggetti (età 21-51 anni; età media 29 ± 7 ; femmine 55%); unico criterio di inclusione: assenza di allergie ed intolleranze alimentari. I soggetti hanno firmato un consenso informato dopo aver ricevuto informazioni sulle finalità dello studio e l'esatta natura dei campioni da assaggiare in accordo con i principi stabiliti dalla Dichiarazione di Helsinki. I soggetti hanno familiarizzato con i gusti amaro, acido, salato e l'astringenza e sono stati istruiti all'uso della gLMS (generalized Labelled Magnitude Scale). Gli standard sono stati preparati ad una concentrazione

tale da indurre un'intensità compresa fra moderato e forte sulla gLMS (Monteleone et al., 2017). Le valutazioni sono state eseguite in cabina, luce rossa e "nose clips", in due sessioni. L'ordine di valutazione dei campioni è stato randomizzato e bilanciato all'interno della serie e l'ordine delle serie bilanciato.

2. Risultati e Discussioni

2.1 Caratterizzazione chimico-fisica delle uve

Nel corso della vendemmia 2017, le uve Sangiovese sono state prelevate a 3 differenti stadi di sviluppo della bacca (26 Luglio, 21 Agosto e 22 settembre) ed analizzate. L'analisi delle componenti principali (PCA) è mostrata in figura 3. PC 1 e PC 2 spiegano oltre il 90% della variabilità totale tra i campioni. Le uve immature, raccolte il 26 Luglio, mostravano un maggiore contenuto di flavanoli, acidi idrossicinnamici, vitamine B5, B3, J, glutazione ossidato (GSSG) e una maggiore acidità totale rispetto agli altri campioni. Le uve raccolte il 21 Agosto, all'inviatura, mostravano una concentrazione maggiore in flavonoli e piridossina (Vit. B6) rispetto ai campioni G1 e G3.

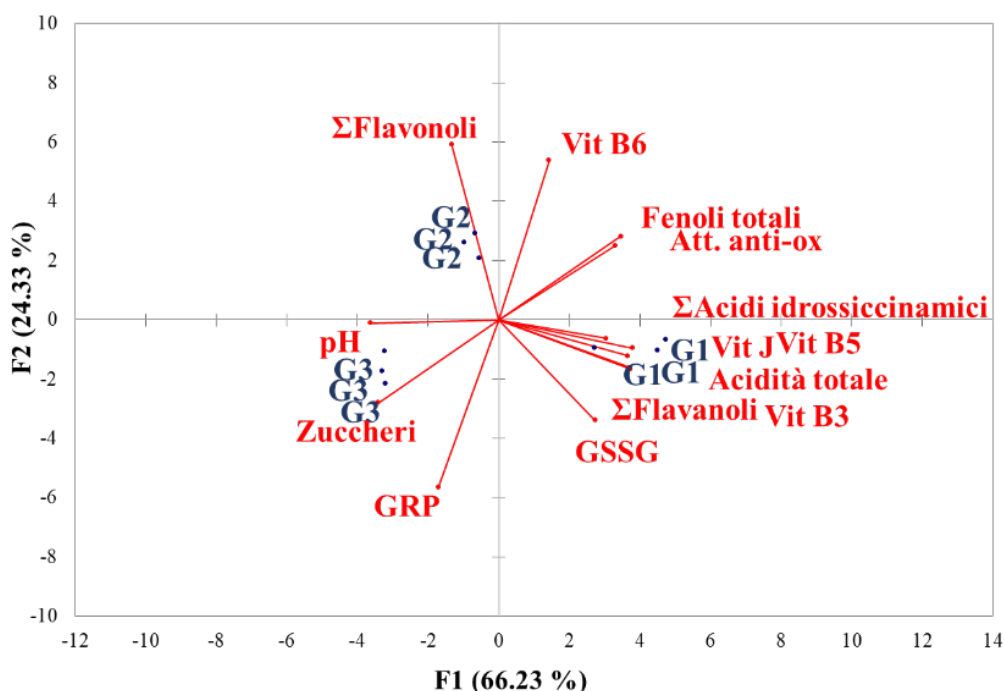


Figura 3. PCA delle uve Sangiovese a diversi stadi di sviluppo della bacca (G1 = 26 Luglio, G2 = 21 Agosto, G3 = 22 Settembre).

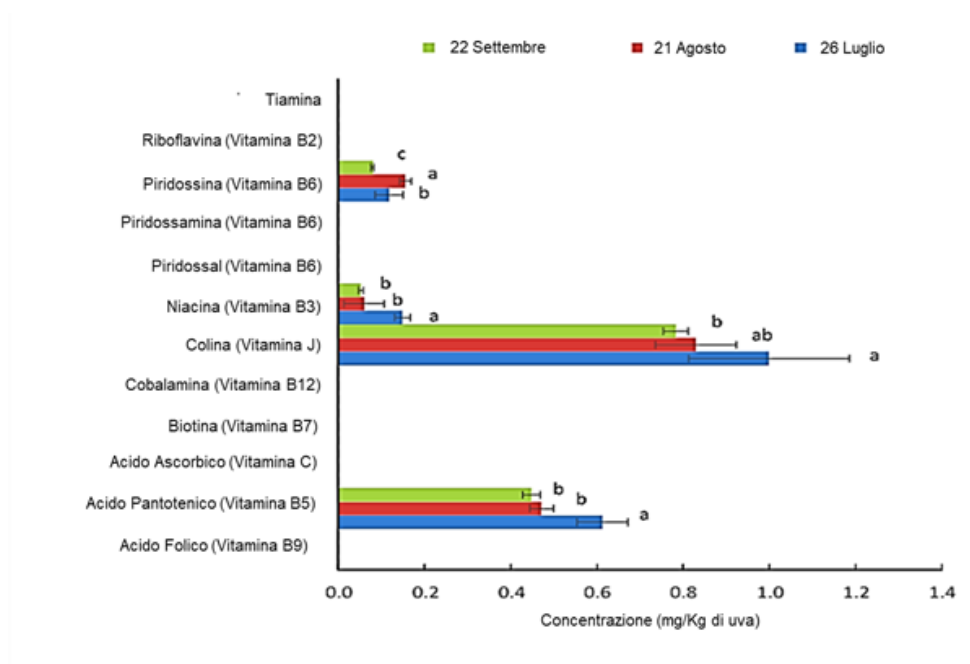


Figura 4. Vitamine idrosolubili dell'uva Sangiovese a tre differenti stadi di sviluppo della bacca. I valori sono la media di tre determinazioni \pm DS. Le barre rappresentano l'errore standard. Lettere differenti indicano valori significativamente differenti.

Il profilo delle vitamine idrosolubili delle uve Sangiovese è mostrato in Figura 4. Le vitamine idrosolubili niacina (B3) e acido pantotenico (B5) diminuivano significativamente al secondo prelievo (21 Agosto) mentre la colina (J) mostrava una diminuzione significativa al terzo prelievo (22 settembre). La piridossina (B6) mostrava la massima concentrazione al secondo prelievo, corrispondente alla fase di invaiatura. La colina, una vitamina essenziale coinvolta nella costituzione delle membrane e nella sintesi dei neurotrasmettitori, è stata identificata per la prima volta nelle uve Sangiovese e la sua concentrazione era più elevata rispetto a quella delle altre vitamine. I risultati ottenuti indicano che l'uva immatura contiene numerosi composti biologicamente attivi in quantità più elevata rispetto all'uva matura.

2.2 Produzione e caratterizzazione degli estratti

Le uve Sangiovese diradate all'invaiatura (21 Agosto) sono state utilizzate per la produzione industriale di un estratto, secondo lo schema mostrato in Figura 1. Durante il processo, campioni di estratto sono stati prelevati ed analizzati. Il contenuto in polifenoli totali e l'attività antiossidante aumentava nel corso dell'estrazione, attestandosi, dopo 96h, a 1991 mg/L e 4738 μ mol TEAC/L, rispettivamente. Al termine delle operazione, il contenuto in polifenoli totali raggiungeva 2520 mg/L e l'attività antiossidante 8277 μ mol TEAC/L (Figura 5).

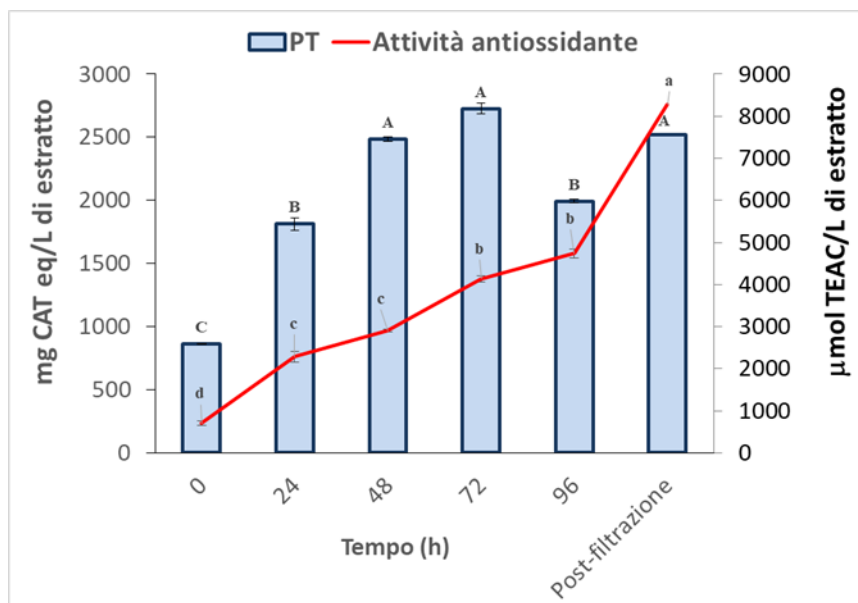


Figura 5. Fenoli totali e attività antiossidante durante la produzione dell'estratto da uva Sangiovese acerba. I valori sono la media di tre determinazioni \pm DS. Le barre rappresentano l'errore standard. Lettere differenti indicano valori significativamente differenti.

Le vitamine idrosolubili durante la produzione sono mostrate in Figura 6. Le vitamine B5 e J risultavano più abbondanti rispetto alla vitamina B3 e B6. La concentrazione totale delle vitamine aumentava fino al raggiungimento di un plateau dopo 96 ore circa, attestandosi a 14397 μ g/L alla fine delle operazioni. Dopo filtrazione, il contenuto totale in vitamine rimaneva stabile.

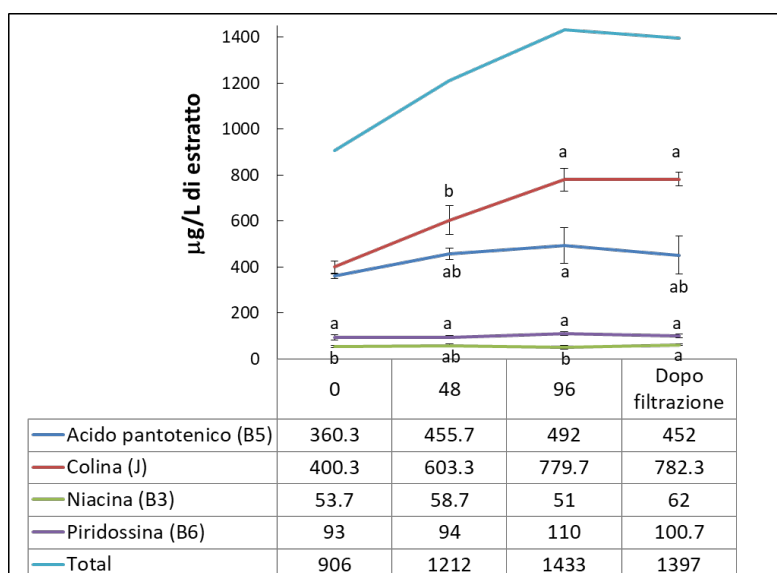


Figura 6. Vitamine idrosolubili durante la produzione dell'estratto da uve Sangiovese immature. I valori sono la media di tre determinazioni \pm DS. Le barre rappresentano l'errore standard. Lettere differenti indicano valori significativamente differenti

Negli estratti essiccati di Merlot, Viognier e Sangiovese il contenuto in polifenoli totali era pari a 20,4 - 12,9 - 8,7 mg CAT eq/g di estratto e l'attività antiossidante 33,8 - 16,0 - 24,4 $\mu\text{mol TEAC/g}$ di estratto, rispettivamente. I profili fenolici degli estratti essiccati ottenuti da uve immature Merlot, Viognier e Sangiovese sono mostrati in Figura 7. In tutti i campioni, gli acidi fenolici erano più concentrati rispetto agli altri composti fenolici (Figura 7A). L'estratto d'uva Sangiovese era più ricco in acido caftarico, epicatechina, catechina e quercetina-3-O-esoside mentre l'estratto Merlot era più ricco in resveratrolo (Figura 7B).

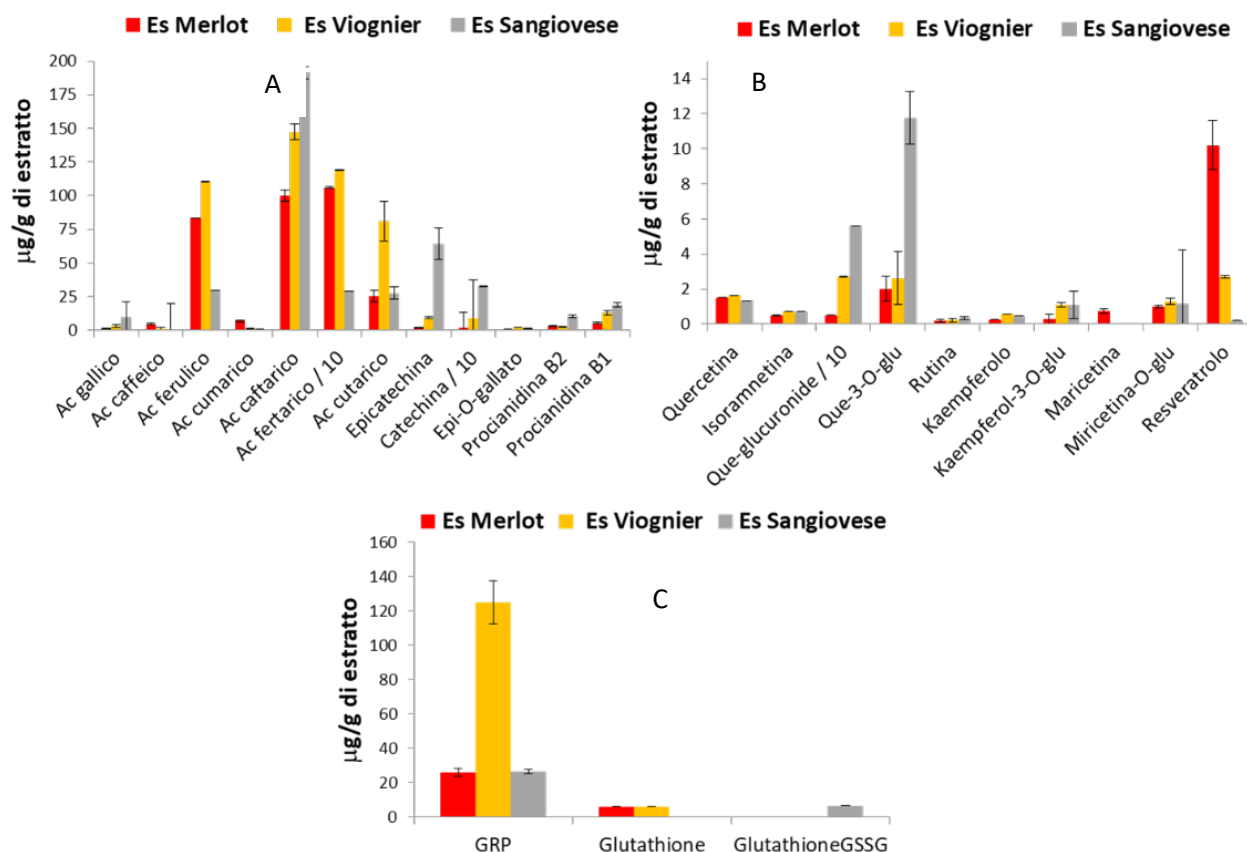


Figura 7. Profilo degli acidi fenolici, flavanoli e procianidine (A), flavonoli e stilbeni (B) e glutazione (C) degli estratti secchi ottenuti da uve immature Merlot, Viognier e Sangiovese.

Quercetina-3-O-gluconoride e quercetina-3-O-esoside erano i flavonoli presenti in concentrazione maggiore in tutti gli estratti. Gli estratti Merlot e Viognier mostravano una maggior concentrazione di glutazione libero rispetto all'estratto Sangiovese (Figura 7C). Il metodo di produzione proposto permette di estrarre i composti biologicamente attivi da uve acerbe e di proteggere questi ultimi da fenomeni di degradazione.

2.4 Funzionalizzazione delle matrici alimentari

Le caratteristiche dei fenoli d'uva acerba sono state studiate preliminarmente in soluzione acquosa (dati non mostrati). Per le prove di funzionalizzazione, le puree di barbabietola (BP), di pisellini (PeP) e di patate (PoP) addizionati con quantità crescenti (0,21 - 0,44 - 1,11 - 1,93 g/Kg di cibo, peso fresco) di fenoli da uva acerba Merlot (estratto dezuccherato) sono stati valutati per quanto riguarda il recupero dei fenoli, l'attività antiossidante e le caratteristiche sensoriali.

Il recupero medio percentuale dei fenoli aggiunti alle matrici vegetali (MV) ed il valore medio della attività antiossidante delle MV funzionalizzate sono mostrati in Figura 8. Il recupero medio percentuale più elevato è stato osservato nella purea di patate (68,7 %) mentre quello più basso è stato osservato nella purea di piselli (43,3 %). La purea di barbabietola ha mostrato un recupero intermedio fra gli altri due, pari al 57,8 %. La purea di barbabietola ha mostrato un valore di attività antiossidante medio maggiore rispetto a quello misurato nelle puree PeP e PoP.

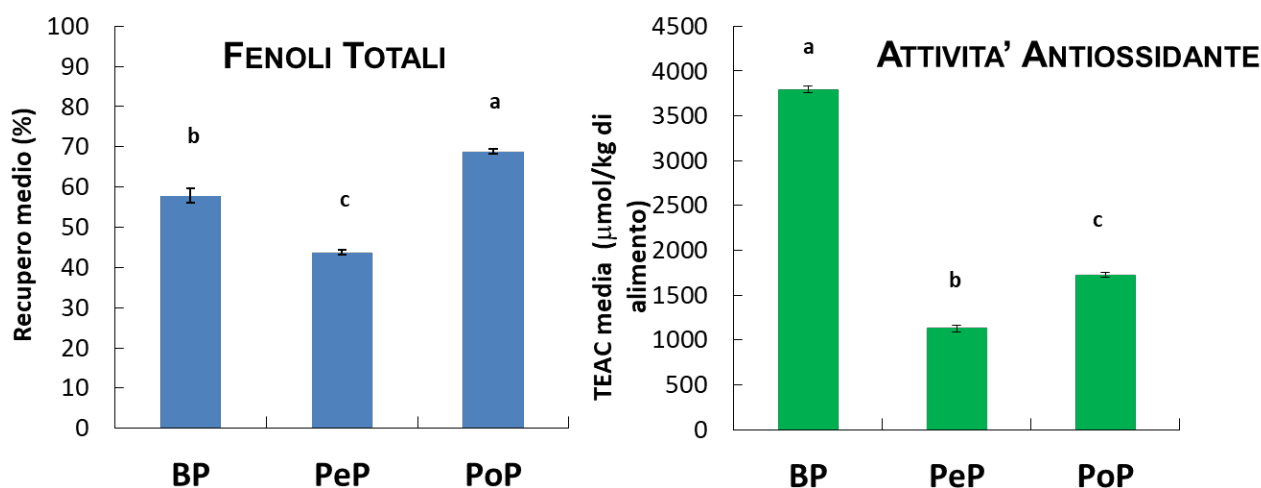


Figura 8. Recupero medio (%) dei fenoli e attività antiossidante media dalle puree di barbabietola (BP), di piselli (PeP) e di patate (PoP) funzionalizzati con dosi crescenti (0,21 - 0,44 - 1,11 e 1,93 g/kg di cibo, peso fresco) di fenoli d'uva acerba. Le barre rappresentano la deviazione standard. Lettere differenti indicano valori significativamente differenti ($p \leq 0.001$).

Il recupero dei fenoli aggiunti era significativamente influenzato dalla composizione delle MV. Nella purea di pisellini, matrice particolarmente ricca in proteine è stato osservato il recupero di fenoli più basso rispetto alle altre MV. Il miglior recupero percentuale dei fenoli riscontrato nelle puree di barbabietola e patate, indicava una debole interazione tra gli zuccheri e l'amido di questi alimenti e i fenoli aggiunti. La formazione di aggregati fenoli/proteine influenzava sia l'estrainibilità che la capacità antiossidante dei fenoli d'uva acerba (Ozidal, Capanoglu, & Altay, 2013). Infatti, anche l'attività antiossidante media nelle MV variava in funzione della composizione e il valore più basso è stato osservato nella purea di piselli.

L'intensità media delle sensazioni target (amaro, acido, salato) e della sensazione dolce delle MV funzionalizzate è mostrata in Figura 9. L'intensità delle sensazioni di amaro, acido e salato aumentavano significativamente all'aumentare della concentrazione fenolica in BP e PeP mentre in PoP solamente la sensazione di acido aumentava all'aumentare della concentrazione fenolica. Le sensazioni di amaro e salato erano percepite ad un livello debole mentre la sensazione di acido aumentava da debole a medio in tutte le MV. Nella purea di barbabietola e di piselli si osservava una diminuzione del naturale gusto dolce di questi alimenti all'aumentare della concentrazione fenolica. Tale fenomeno è riconducibile ad un effetto di soppressione del gusto dolce all'aumentare della intensità dell'acido e dell'amaro indotta dai fenoli.

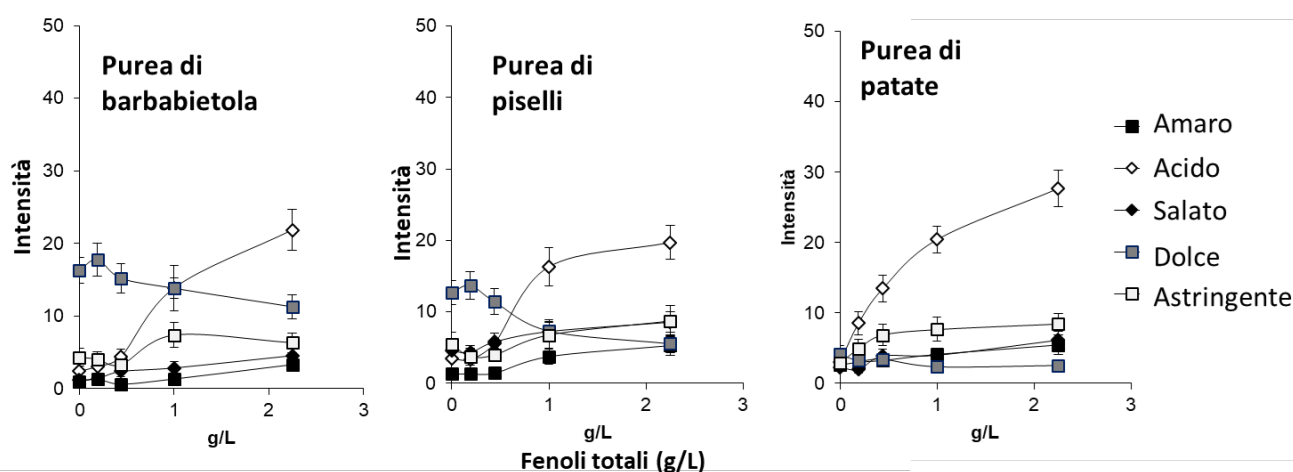


Figura 9. Intensità media delle sensazioni target e della sensazione dolce nelle puree di barbabietola, di pisellini e di patate. Le barre rappresentano la deviazione standard.

I risultati ottenuti hanno permesso di valutare l'effetto delle interazioni fra fenoli da uva immatura e costituenti dei diversi alimenti vegetali sul recupero dei fenoli, sull'attività antiossidante e sulle caratteristiche sensoriali degli alimenti stessi. In generale, la miglior prestazione in termini funzionali e sensoriali è stata osservata nella purea di barbabietola che ha mostrato un ottimo equilibrio gustativo e la più elevata attività antiossidante.

2.4 Azione antiossidante su vini

L'azione antiossidante degli estratti disidratati ottenuti da uva acerba Sangiovese, Merlot e Viognier è stata valutata su vini con caratteristiche diverse in comparazione con antiossidanti commerciali in test di ossidabilità per aggiunta di perossido di idrogeno (POM e IOA test).

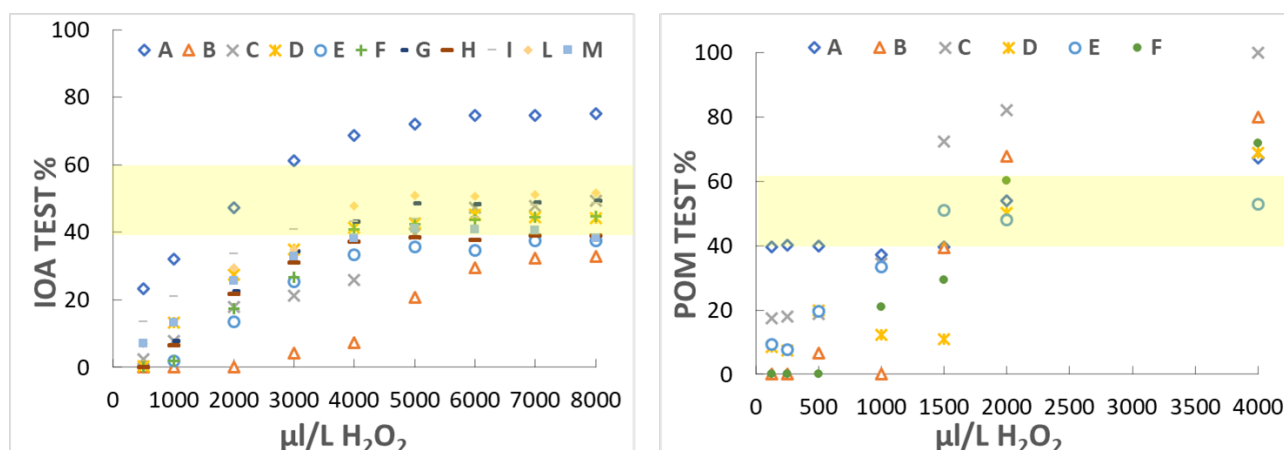


Figura 10. Livello di ossidazione dei vini rossi e bianchi in funzione della quantità di perossido di idrogeno aggiunto. Campioni di vino rosso: lettere da A a M; campioni di vino bianco: lettere da A a F.

Vista l'elevata variabilità della propensione all'ossidazione riscontrata nel test POM e IOA eseguito su differenti tipologie di vino, preliminarmente è determinata la quantità di H₂O₂ necessaria per produrre un livello di ossidazione del colore simile in tutti i vini e compreso fra il 40 e 60% (Figura 10). Tale standardizzazione ha permesso di rendere confrontabili i risultati dei test eseguiti con l'aggiunta di antiossidanti da uva acerba e prodotti commerciali.

I risultati dello IOA test sono mostrati nella Figura 11. L'aggiunta di acido ascorbico determinava un aumento dell'ossidazione del campione rispetto al Tq. Si può ipotizzare che, in presenza di catalizzatori metallici del vino, l'ossidazione dell'acido ascorbico possa aver dato origine alla produzione di un'ulteriore quantità di perossido di idrogeno, contribuendo in questo modo all'ossidazione del colore (Bradshaw, Cheynier, Scollary, & Prenzler, 2003). Gli estratti da uva acerba Merlot, Viognier e Sangiovese, hanno mostrato una capacità antiossidante migliore dell'acido ascorbico e simile a quella del tannino commerciale, portando i campioni di vino rosso ad una percentuale di ossidazione simile a quella del tal quale. In tutti i campioni l'aggiunta di anidride solforosa riduceva l'ossidazione a livelli inferiori rispetto al Tq e ai campioni aggiunti con gli altri antiossidanti, dimostrandosi più efficace nel proteggere il vino dall'aggiunta diretta di perossido di idrogeno. Facevano eccezione il campione 9R ed, in maniera meno marcata per il campione 11R, nei quali la capacità antiossidante degli estratti da uva immatura portava ad una ossidazione del vino minore rispetto ai campioni Tq e aggiunti di tannino commerciale. I campioni 9 R e 11 R, ottenuti dalla cultivar Sangiovese senza l'aggiunta di solforosa, presentavano caratteristiche diverse in termini di pH, acidità totale, contenuto in polifenoli totali e capacità antiossidante (dati non mostrati).

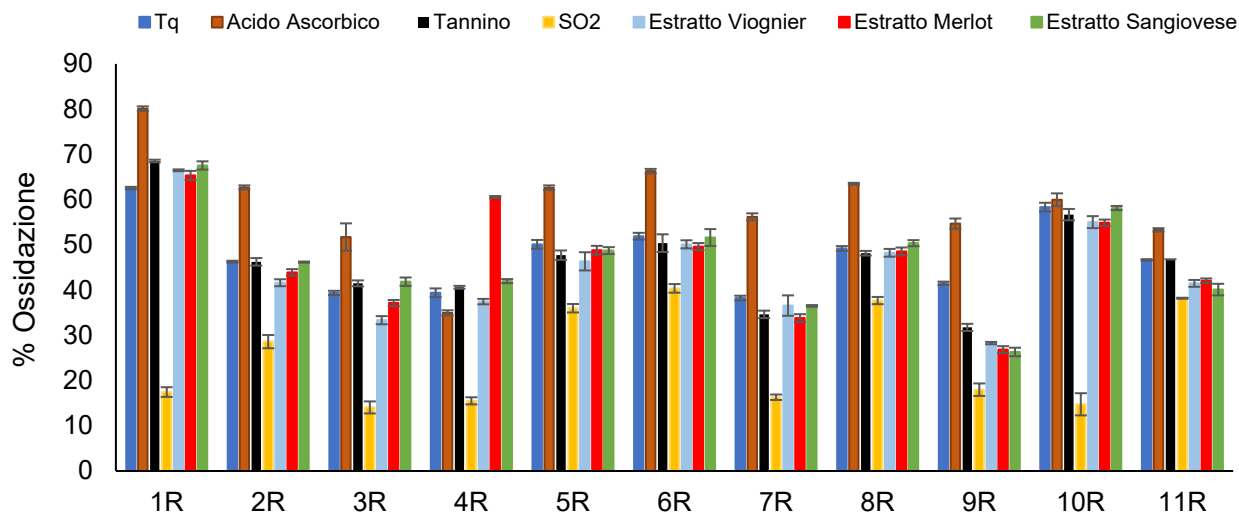


Figura 11. IOA test eseguito sui vini rossi tal quali e con aggiunta di estratti d'uva acerba Merlot, Viognier, Sangiovese, acido ascorbico, anidride solforosa e tannino commerciale. Le barre rappresentano la deviazione standard.

I risultati del POM test sono mostrati nella Figura 12. E' possibile osservare che tutti gli additivi utilizzati, ad eccezione dell'anidride solforosa, esercitavano un'azione antiossidante sui vini bianchi diversa da quella osservata per i vini rossi. Infatti, tutti gli antiossidanti mostravano un'azione protettiva riducendo la percentuale di ossidazione del colore dei vini rispetto al Tq, con la sola eccezione del campione 2B aggiunto di tannino. Il tannino commerciale era poco efficace mentre l'acido ascorbico, la solforosa e gli estratti d'uva avevano un effetto protettivo migliore e variabile in funzione della tipologia di vino. Nel caso dei vini bianchi, la solforosa presente nei vini potrebbe aver contribuito a ridurre il perossido di idrogeno formatosi in seguito all'ossidazione dell'acido ascorbico, sinergia utile a proteggere il colore di questa tipologia di vini. A seguito dell'aggiunta degli estratti da uva acerba Merlot, Viognier e Sangiovese, tutti i vini mostravano un'ossidabilità minore rispetto al tal quale e ai campioni aggiunti di tannino e l'effetto antiossidante degli estratti era simile a quello ottenuto aggiungendo anidride solforosa. Risultati analoghi erano stati ottenuti da Fia et al., (2018), studiando il potenziale effetto antiossidante di un estratto ottenuto da uve acerbe Sangiovese su vini bianchi Bellone, Chardonnay e Viognier. I risultati ottenuti indicano come gli estratti da uva acerba siano in grado di aumentare la capacità antiossidante di un vino bianco e suggeriscono un loro potenziale utilizzo in aggiunta o in sostituzione ai consueti antiossidanti enologici.

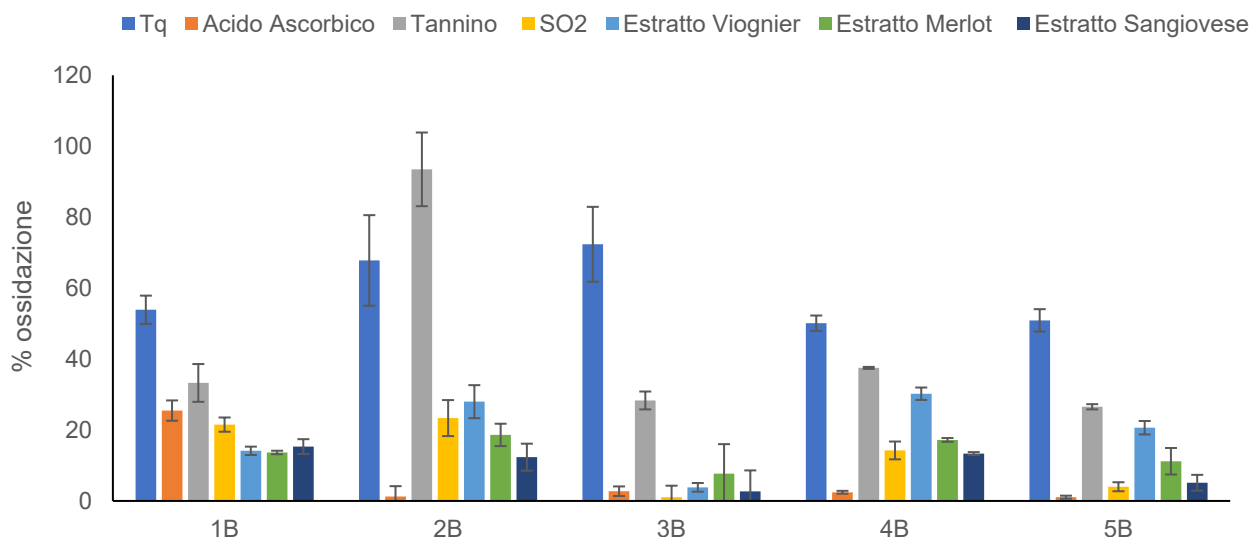


Figura 12. POM test eseguito sui vini bianchi tal quali e con aggiunta di estratti d'uva acerba Merlot, Viognier, Sangiovese, acido ascorbico, anidride solforosa e tannino commerciale. Le barre rappresentano la deviazione standard.

2.5 Conclusioni

La composizione delle uve immature, ricche in composti antiossidanti e vitamine, indica che tali uve sono idonee alla produzione di estratti ad elevato valore aggiunto. Il metodo di produzione industriale proposto in questo studio è efficiente ed ecosostenibile in quanto si avvale di normali attrezzature presenti in cantina, non necessita di solventi e stabilizzanti e la CO₂ utilizzata può essere recuperata tramite dispositivi attualmente presenti sul mercato. Lo studio ha permesso di individuare una matrice alimentare, la purea di barbabietola, adeguata a ad esaltare il valore nutrizionale dei fenoli aggiunti e controllare l'impatto sensoriale negativo dei fenoli utilizzati come ingredienti funzionali. Per quanto riguarda i vini, l'aggiunta di perossido di idrogeno è tollerata meglio nei vini bianchi con l'aggiunta di antiossidanti naturali mentre nei vini rossi il test di ossidabilità ha evidenziato la maggior efficacia della solforosa. In conclusione, lo studio ha permesso di individuare strategie idonee per la valorizzazione dell'uva immatura da diradamento sia attraverso la messa a punto di prototipi funzionali ad elevata prestazione sia fornendo indicazioni preliminari sulla efficacia antiossidante nel vino.

Ringraziamenti

Una parte di questo studio ha ricevuto il supporto del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR) – Progetto di ricerca : 20158YJW3W Programmi di Ricerca Scientifica di Rilevante Interesse Nazionale – PRIN 2015: "Individual differences in the acceptability of health foods: focus on phenol and fat content.

Inoltre, si ringraziano le Aziende Agricole Dello Scompiglio (Lucca) e La Torre (Velletri) per aver ospitato una parte delle attività della ricerca e l'enologo Claudio Gori

Bibliografia

- Adams, D. O. (2006). Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 249–256.
- Andrade, M. A., Lima, V., Sanches, A., Vilarinho, F., Conceição, M., Khwaldia, K., & Ramos, F. (2019). Trends in Food Science & Technology Pomegranate and grape by-products and their active compounds : Are they a valuable source for food applications ? *Trends in Food Science & Technology*, 86(February), 68–84. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.010>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., ... Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.07.017>
- Bradshaw, M. P., Cheynier, V., Scollary, G. R., & Prenzler, P. D. (2003). Defining the Ascorbic Acid Crossover from Anti-Oxidant to Pro-Oxidant in A Model Wine Matrix Containing (+)-Catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 4126–4132. <https://doi.org/10.1021/jf034139f>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- De Toffoli, A., Monteleone, E., Bucalossi, G., Veneziani, G., Fia, G., Servili, M., ... Dinnella, C. (2019). Sensory and chemical profile of a phenolic extract from olive mill waste waters in plant-based food with varied macro-composition. *Food Research International*, 119, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.005>
- Dupas de Matos, A., Magli, M., Marangon, M., Curioni, A., Pasini, G., Vincenzi, S. (2018). Use of verjuice as an acidic salad seasoning ingredient: evaluation by consumers' liking and Check-All-That-Apply. *European Food research and Technology*, 224, 2117-2125.
- Fia, G., Gori, C., Bucalossi, G., Borghini, F., & Zanoni, B. (2018). A Naturally Occurring Antioxidant Complex from Unripe Grapes: The Case of Sangiovese (v. *Vitis vinifera*). *Antioxidants*, 7(2), 27. <https://doi.org/10.3390/antiox7020027>
- Guerrero, R. F., Liqid, A., Palma, M., Puertas, B., González-Barrio, R., Gil-Izquierdo, Á., ... Cantos-Villar, E. (2009). Phenolic characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. *Food Chemistry*, 112(4), 949–955. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.014>
- Kedage, V. V., Tilak, J. C., Dixit, G. B., Devasagayam, T. P. A., & Mhatre, M. (2007). A Study of Antioxidant Properties of Some Varieties of Grapes (*Vitis vinifera* L.). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(2), 175–185. <https://doi.org/10.1080/10408390600634598>
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2011). Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 230–238. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1755-0238.2011.00142.x>
- Monteleone, E., Spinelli, S., Dinnella, C., Endrizzi, I., Laureati, M., Pagliarini, E., ... Tesini, F. (2017). Exploring influences on food choice in a large population sample: The Italian Taste project. *Food Quality and Preference*, 59, 123–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.02.013>
- Öncül, N., & Karabiyikli, Ş. (2015). Factors Affecting the Quality Attributes of Unripe Grape Functional Food

- Products. *Journal of Food Biochemistry*, 39(6), 689–695. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12175>
- Owen, S. C., Lee, M., & Grissom, C. B. (2011). Ultra-performance liquid chromatographic separation and mass spectrometric quantitation of physiologic cobalamins. *Journal of Chromatographic Science*, 49(3), 228–233. <https://doi.org/10.1093/chrsci/49.3.228>
- Ozdal, T., Capanoglu, E., & Altay, F. (2013). A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954–970. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.009>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5>
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Sęczyk, Ł., Dziki, D., & Sikora, M. (2018). Interactions of green coffee bean phenolics with wheat bread matrix in a model of simulated in vitro digestion. *Food Chemistry*, 258(March), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.081>
- Tinello, F., & Lante, A. (2017). Evaluation of antibrowning and antioxidant activities in unripe grapes recovered during bunch thinning. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(1), 33–41. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12256>
- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713–718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>