SISTEMA RAPIDO E INNOVATIVO PER LA DETERMINAZIONE DEI POLIFENOLI DIRETTAMENTE IN VIGNETO

Emilio CELOTTI [1], Giuseppe CARCERERI DE PRATI [2], Susi SOLDERA [1]
[1] Dipartimento di Scienze degli Alimenti – Università degli Studi di Udine emilio.celotti@uniud.it
[2] Caeleno srl, Calmiero, Verona, Italy, info@caeleno.it

Comunicazione orale a INTERVITIS 2007, VIII simposio Internazionale TECNOLOGIE IN VITICOLTURA, 20-22 APRILE 2007 Stuttgart

Introduzione

La determinazione del contenuto in antociani e tannini dell'uva durante la maturazione, consente di seguire l'evoluzione di queste sostanze e di classificare sia i vigneti sia le parcelle, secondo la loro dotazione fenolica (Cayla et al., 2002 ; Celotti e Carcereri, 2000 ; Dambergs et al., 2006 ; Di Stefano et al., 2000). La maturità fenolica corrisponde all'ottenimento simultaneo di un potenziale importante in pigmenti nell'uva e di una loro buona capacità di diffusione nel vino.

Le metodiche di analisi dei polifenoli delle uve si dividono, a seconda del risultato che si vuole ottenere, in analisi qualitative e quantitative. Si possono inoltre suddividere queste categorie in due classi: i metodi di laboratorio classici, molto laboriosi e che prevedono anche lunghi tempi di analisi, ed i metodi innovativi, il cui obiettivo è quello di fornire risultati in breve tempo.

Tra i metodi tradizionali annoveriamo le metodologie di quantificazione dopo estrazione (Di Stefano et al., 2001 ; Glories et Augustin, 1993 ; Mattivi et al., 2003 ; Peyron, 1998).
La misura dell'assorbanza a 280 nm sembra preferibile rispetto all'indice di Folin-Ciocalteu per la sua rapidità e riproducibilità. Il metodo proposto da Glories consiste nell'estrarre gli antociani dalle bucce, da una parte in condizioni blande (pH simil-vino) e dall'altra in condizioni più drastiche (elevata acidità). La differenza fra i risultati ottenuti con le diverse condizioni di estrazione è un indice della fragilità della cellula, da cui dipende l'estrazione dei pigmenti in macerazione.

Alcuni autori hanno proposto altri metodi per ottenere una stima più affidabile del potenziale antocianico e polifenolico delle uve (Di Stefano *et al*., 2000; Mattivi *et al*., 2003).
Per abbreviare i tempi di analisi e di estrazione, alcuni autori hanno proposto di sottoporre le uve ad un trattamento diretto con microonde (Fiorini *et al.*, 2005). Altre esperienze prevedono una micromacerazione dell'uva in una soluzione idroalcolica-acida per un'ora, a temperatura ambiente, con periodica agitazione. Segue centrifugazione o filtrazione su lana di vetro, sul limpido poi si procede alla determinazione dei polifenoli totali e degli antociani con metodi spettrofotometrici (Cayla *et al*., 2002).

E' disponibile un metodo rapido che fornisce un indice del potenziale polifenolico dell'uva utilizzabile al conferimento. Il sistema consente in pochi secondi di classificare le uve rosse in base al contenuto di polifenoli mediante un sistema di misura della riflettanza diffusa su campione di mosto torbido campionato al momento del conferimento dell'uva in cantina (Celotti et Carcereri, 1999 ; Celotti e Carcereri, 2000 ; Celotti e Carcereri, 2005 ;Celotti et al., 2001).

Recentemente è disponibile un sistema di laboratorio che consente, mediante misura rapida della riflettanza diffusa su acini frullati, di realizzare le curve di maturazione in tempi rapidissimi, escludendo le fasi di estrazione; si ricava solo un indice complessivo di polifenoli utilizzabile per costruire le curve di maturazione (Celotti et al., 2007).

Venencie *et al 1997,* hanno messo a punto un metodo per analizzare i composti fenolici dell'uva che prevede la separazione delle bucce dai vinaccioli e l'estrazione dei polifenoli dalle sole bucce con una soluzione idroalcolica al 12% e una soluzione di acido tartarico 5 g/L a pH 3,6, in modo da simulare le condizioni di estrazione durante la vinificazione.

Diversi autori hanno proposto metodi che prevedono l'estrazione, la purificazione e successiva analisi in HPLC delle diverse componenti fenoliche, con tempi di analisi che vanno da 15 minuti a 70 minuti (Merkem et Beecher, 2000 ; Jawroski et Lee, 1987).

Un approccio più recente prevede di sfruttare le informazioni che si ricavano dallo spettro infrarosso per ottenere in modo rapido le stesse informazioni ottenute con le metodiche di laboratorio più laboriose (Baugmartner et al., 2001 ; Belton et al., 1995 ; Dambergs et al., 2003 ; Desseigne, 2005 ; Desseigne et al., 2003 ; Dubernet et al., 2001 ; Dubernet et al., 2004 ; Grandjean et al., 2004 ; Patz et al., 1999 ; Rousseau et al., 2002).

A partire dall'esperienza acquisita sui vini, l'ICV ha elaborato un metodo di base di analisi sensoriale dell'uva, di facile apprendimento, rapido e utile soprattutto nella fase finale della maturazione in cui l'accumulo degli zuccheri rallenta e il potenziale aromatico e fenolico evolve rapidamente (Rousseau et Delteil, 2000).

Le numerose metodiche di laboratorio che determinano la maturità fenolica sono precise e quantitative, ma hanno lo svantaggio di essere laboriose e non abbastanza rapide da poter utilizzare in tempo reale il dato analitico. Negli ultimi anni si è assistito ad un notevole sviluppo delle metodiche analitiche di laboratorio per l'analisi dei polifenoli nelle uve rosse. Per le valutazioni in linea o in vigneto invece non ci sono stati grandi sviluppi.

Con la presente ricerca è stato sviluppato e realizzato un innovativo sistema spettroscopico portatile per controllare il potenziale fenolico delle uve rosse direttamente in vigneto. L'obiettivo è mettere a disposizione degli operatori vitivinicoli uno strumento di lavoro in grado di fornire in brevissimo tempo informazioni utilizzabili per la gestione della qualità in vigneto, in previsione di ottimizzare la tecnica di macerazione e la gestione della pianta. Scopo del presente lavoro è anche ricercare un parametro qualitativo rapido, a basso costo, che consenta di stimare il potenziale fenolico totale delle uve senza l'ausilio di analisi lunghe e laboriose realizzabili quasi esclusivamente in laboratorio.

Materiali e metodi

Lo strumento di misura utilizzato (International Patent, Caeleno SrL/Verona/Italy) (Caeleno, 2005) è costituito da una pinza dotata di una sorgente luminosa nel VISIBILE che illumina la buccia, ed un fotodiodo situato dal lato opposto, che cattura la luce che attraversa la buccia. La pinza è collegata ad un dispositivo di raccolta ed elaborazione dati che, tramite un display, permette di leggere un valore che esprime il rapporto tra la quantità di luce passante senza buccia (W/cm^2) e quella in presenza del campione (W/cm^2). Tale valore è adimensionale ed è rappresentato dalla percentuale di luce che passa rispetto alla luce incidente sulla buccia.

Unità di controllo e pinza per la misura dell'indice di maturità fenolica (sinistra) e fase di preparazione della buccia da analizzare (destra)

Per lo studio sono state analizzate uve rosse rappresentative del panorama viticolo mondiale, campionate in vigneti del Nord Italia e in Borgogna (Francia). Le uve al momento della raccolta si presentavano in un buono stato sanitario.

Nella prima fase della ricerca, per la messa a punto dello strumento, le uve sono state raccolte a mano e trasportate in laboratorio d'analisi. Le esperienze sono state effettuate nelle vendemmie 2004, 2005 e 2006.

La prima fase del lavoro ha previsto una serie di valutazioni per verificare la validità del sistema a pinza in confronto con i tradizionali sistemi di estrazione e analisi; è stata scelta come riferimento quantitativo e qualitativo la metodica di Glories (Glories et Augustin, 1993), molto diffusa per la valutazione delle uve rosse.

Per ogni varietà campionata sono stati analizzati almeno 10 acini per campionamento. Ogni acino è stato spremuto mediante pressione tra il pollice e l'indice, facendo in modo da non lacerare i tessuti della buccia. La buccia ricavata è stata utilizzata per le analisi. Successivamente la buccia di ogni acino viene aperta e, mediante un foratappi, vi si pratica un'incisione circolare di diametro pari a 0,88 cm, ottenendo un dischetto di buccia di area nota pari a 0,61 cm^2. Questa operazione è servita per porre in estrazione bucce della stessa superficie, al fine di rendere confrontabili le misure sugli estratti. La sezione di buccia di superficie nota è stata analizzata con il misuratore a pinza per valutare la quantità di luce passante, successivamente le stessa buccia è stata posta in estrazione per le successive analisi comparative.

La sezione di buccia viene inserita in una provetta e addizionata di 5 mL di una soluzione acquosa di HCl 0,1N per facilitare l'estrazione dei polifenoli. Il volume di estraente è stato ottimizzato mediante prove preliminari. I campioni così preparati vengono agitati in modo vigoroso ed omogeneo con un vortex due volte al giorno e l'estrazione si protrae per 48 ore. Seguono la determinazione della densità ottica a 520 nm sul campione opportunamente diluito, dell'indice dei polifenoli totali mediante Abs a 280 nm e degli antociani mediante decolorazione con anidride solforosa.

Per le analisi spettrofotometriche sugli estratti dalle bucce è stato utilizzato uno spettrofotometro Jasco V-530 (Jasco, Tokio, Japan). Le misure spettrofotometriche sugli estratti sono state correlate con i dati forniti dallo strumento di misura della quantità di luce passante per la buccia.
Per le misure in vigneto con la pinza, le bacche (da 30 a 50 in funzione della superficie del vigneto) sono state schiacciate con le dita per eliminare il succo, successivamente la buccia doppia viene messa nella pinza per misurare l'indice di maturità fenolica, la misura si realizza in 10 secondi.

Risultati e discussione

Durante la maturazione diminuisce gradualmente il contenuto di clorofilla e si ha un inscurimento delle bucce per accumulo di pigmenti antocianici e tannini. In seguito la buccia diventa visibilmente sempre più scura e lascia passare meno radiazione luminosa. Da questa osservazione è nata l'idea di misurare la quantità di luce che attraversa la buccia.

Raccogliere l'uva nel momento ottimale della maturazione è di fondamentale importanza perché il grado di maturazione influisce sulla qualità del mosto e del prodotto finale vino. In particolare per le varietà a bacca rossa la data di raccolta influenza le caratteristiche aromatiche e cromatiche dei vini. Al fine di determinare la data di vendemmia risulta importante conoscere oltre ai parametri classici zuccheri e acidità, anche il contenuto in polifenoli.

Esistono sistemi analitici che forniscono un dato preciso di antociani e polifenoli, tuttavia sarebbe auspicabile poter avere un dato immediatamente fruibile in tempi rapidi e disponibile già in vigneto.
La pratica di premere tra le dita un acino per valutarne il colore è diffusa ed efficace, sarebbe molto più oggettiva se fosse associata ad un valore numerico.

Durante le prove preliminari della presente ricerca sono state misurate porzioni di buccia di acino in diverse condizioni fino a standardizzare le condizioni di lettura, ricavando dalla buccia di ogni acino una sezione circolare, quindi di area nota, su cui sono state eseguite letture di quantità di luce passante.

In tabella 1 sono riportati la media, la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione percentuale (CV %) di 30 letture eseguite sulla stessa buccia doppia, singola bagnata e singola asciutta al fine di valutare la ripetibilità strumentale.

Modalità dimisura	media	DS	CV %
Buccia doppia	492,1	6,1	1,2
Buccia fresca	429,8	2,5	0,6
Buccia asciutta	438,6	0,8	0,2

Tab. 1: misure con la pinza su bucce in differenti condizioni (30 misure) DS= deviazione standard ; CV %= coefficiente di variazione %

La lettura più ripetibile in assoluto è risultata quella a buccia singola asciutta con un CV % pari a 0,2. Se si misura invece la buccia singola sulla quale siano rimasti residui di polpa si osserva una variabilità pari allo 0,6%, dovuta all'inevitabile schiacciamento della buccia che provoca perdita di liquido dalla polpa, con conseguente asciugatura, assottigliamento e inscurimento del campione. Ciò determina una variabilità del dato fino al completo asciugamento della buccia. La lettura sulla buccia doppia ha evidenziato un CV % maggiore pari a 1,2%. Le letture sono risultate meno stabili perché, in seguito a schiacciamento, fuoriesce liquido, la buccia scivola e le caratteristiche della superficie di misura inevitabilmente cambiano per fenomeni di diffusione della luce. Tuttavia il valore di CV % di 1,2 è ottimo in previsione dell'ottimizzazione di uno strumento da utilizzare in vigneto.

Nella figura 1 sono riportate le curve con le relative equazioni e coefficienti di determinazione (R^2) che si ottengono graficando i valori ottenuti dalla lettura della buccia singola contro l'indice di polifenoli totali. Il valore riportato in ascissa, che è quello direttamente fornito dallo strumento, è dato dal rapporto tra la luce passante senza buccia (misura del bianco) e quella passante in presenza di buccia, espresso in W/cm^2. Questo valore adimensionale è stato chiamato "indice di maturità". Per le varietà testate la lettura sulla buccia singola è risultata ben correlata con l'indice dei polifenoli totali. Nelle misure il valore di quantità di luce diminuisce all'aumentare del livello di maturazione fenolica, corrispondente all' inscurimento della buccia.

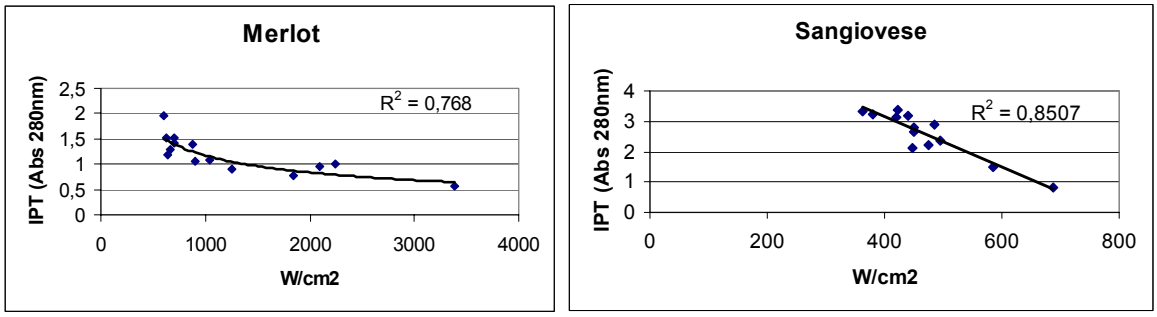

Fig. 1 : misura della quantità di luce che passa per la buccia (pinza) e analisi dei polifenoli totali (IPT) dopo estrazione

Queste prime esperienze hanno permesso di verificare l'esistenza di una variazione costante di quantità di luce in funzione del contenuto in polifenoli della buccia; ciò ha consentito di perfezionare l'apparecchiatura al fine di rendere funzionale lo strumento, vale a dire eliminare variabili come la luce esterna, l'effetto schiacciamento tra la pinza, con conseguente movimento di liquido e possibili effetti di diffusione della luce non misurabili.
Al fine di ottenere numericamente un valore che aumenti all'aumentare della concentrazione di polifenoli, il numero letto direttamente sul display è stato modificato applicando uno specifico algoritmo al dato grezzo.

In questo modo la curva che si ottiene da letture di uva in maturazione avrà l'andamento crescente all'aumentare del contenuto in polifenoli.

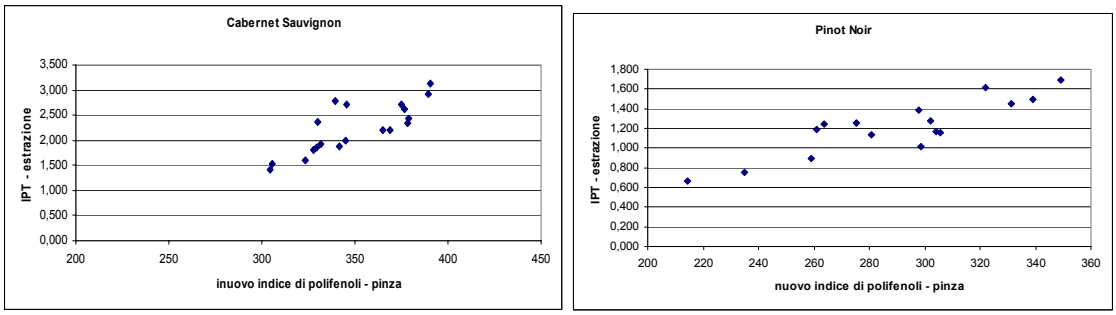

Fig. 2 : relazione tra il nuovo indice di maturità fenolica (pinza) e l'IPT dopo estrazione

La figura 2 evidenzia le relazioni significative tra il valore di quantità di luce elaborato e i polifenoli totali e gli antociani, per alcune varietà tra le più rappresentative coltivate nel mondo. La tabella 2 riporta inoltre i coefficienti di determinazione tra il valore della pinza e il contenuto di polifenoli, antociani e l'Abs 520nm.

varietà / vigneto	pinza *vs* antociani	pinza *vs* Abs 520nm	pinza *vs* IPT (Abs 280nm)
Barbera	0,8199	0,7094	0,8230
Corvina ZVP 21	0,8929	0,8779	0,9223
Corvina ZVP 23	0,8099	0,8486	0,9257
Corvina ZVP 1	0,8932	0,8968	0,9069
Corvina ZVP 6	0,8904	0,9032	0,8959
Montepulciano	0,8304	0,8694	0,8369
Merlot	0,6363	0,4950	0,7840
Oseleta	0,8634	0,8691	0,9068
Rondinella ZVP 1	0,7682	0,7860	0,8345
Rondinella ZVP 18	0,8527	0,8732	0,8451
Rondinella ZVP 23	0,7807	0,7487	0,7999
Rondinella ZVP 6	0,8091	0,8187	0,9074
Raboso Piave	0,8281	0,7451	0,7947

Tab. 2: Coefficienti di correlazione (r) tra l'indice di polifenoli con la pinza e gli antociani, Abs 520 nm, polifenoli totali (IPT) di differenti varietà e vigneti.

I valori sono significativi e permettono di definire un nuovo indice di maturità fenolica utilizzabile direttamente in vigneto per conoscere la potenzialità fenolica dell'uva. Il valore è un indice globale di polifenoli, tuttavia la sua correlazione significativa con antociani e polifenoli totali lo rende utilizzabile come strumento di lavoro per il viticoltore e per l'enologo.
Al fine di rendere più facile la misura in vigneto, utilizzando la buccia doppia, subito dopo aver eliminato con le dita il succo, sono state realizzate alcune esperienze nella vendemmia 2006 misurando direttamente in campo uve in diverse regioni viticole Italiane e uve rosse della Borgogna. Sono risultate significative le relazioni con i polifenoli totali e gli antociani, confermando quindi la validità della misura sulla buccia doppia. Questo risultato è legato alla particolare geometria della cella di misura che permette di alloggiare la buccia in una camera di spessore definito, eliminando quindi l'effetto pressione ed i movimenti del liquido che inficierebbero la stabilità della misura stessa.

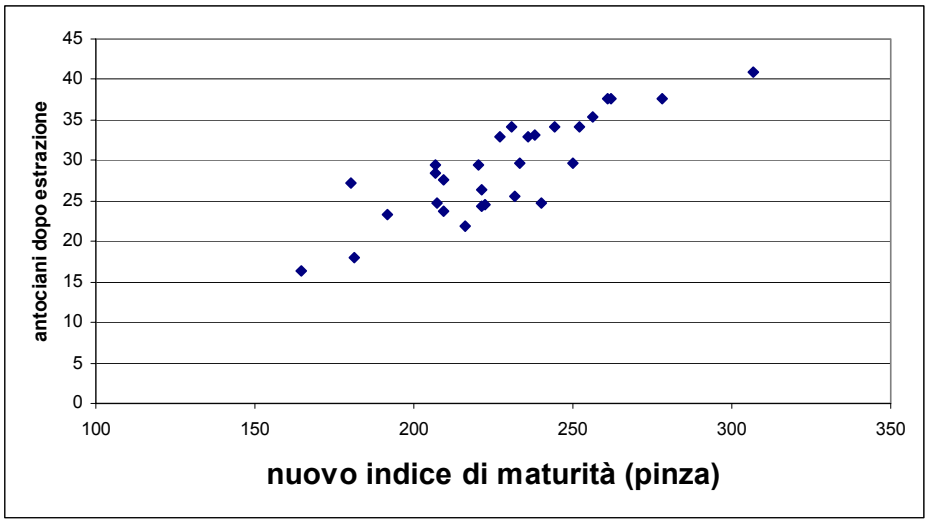

Fig. 3 : relazione tra il nuovo indice di maturità fenolica (pinza) e gli antociani di sezioni di buccia dopo estrazione

La figura 3 è relativa ad analisi di un campione di singole bucce poste in estrazione secondo la metodica di Glories, mentre la figura 4 è relativa ad analisi per estrazione di acini interi frullati ed estratti sempre secondo la metodica di Glories. In entrambi i casi la relazione è significativa e conferma la validità del sistema di misura a pinza direttamente in vigneto.

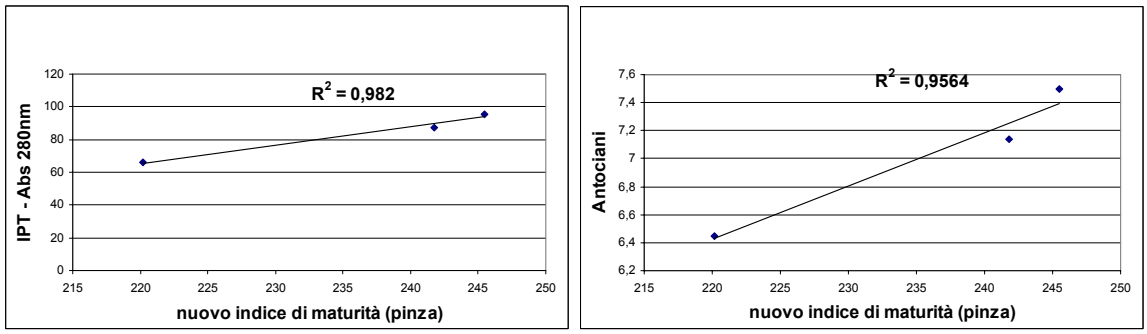

Fig. 4 : relazione tra il valore medio dell'indice mediante pinza, e i polifenoli ed antociani dopo estrazione di acini interi frullati

Nella vendemmia 2006 sono stati realizzati controlli di curve di maturazione presso alcune aziende. La figura 5 riporta le curve di maturazione monitorate utilizzando la pinza, tali andamenti sono stati utilizzati per scegliere il momento ottimale di raccolta.

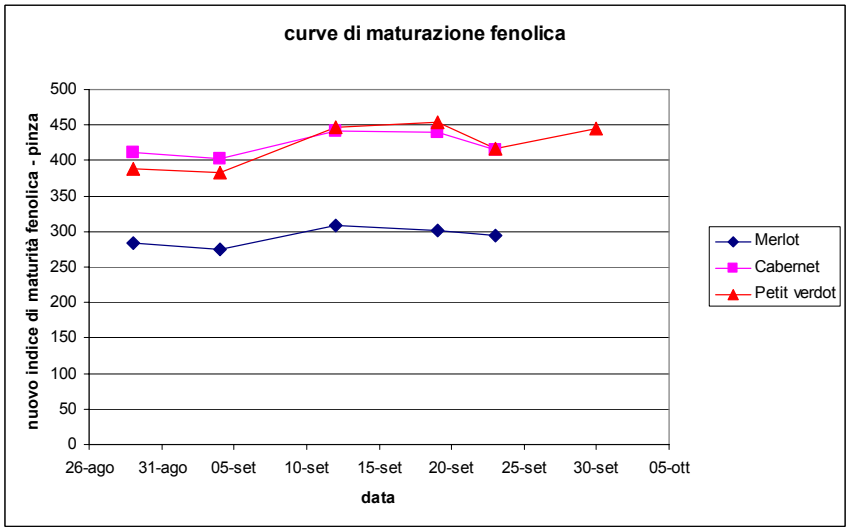

Fig. 5 : esempio di curve di maturazione con il nuovo strumento a pinza – vendemmia 2006

La variabilità delle misure non cambia durante il campionamento, a conferma che se si campionano gli acini rappresentativi si può ridurre il numero di acini campionati per avere un dato medio che rappresenti la reale maturità fenolica dell'uva. La variabilità del dato è funzione delle varietà e della disomogeneità di maturazione degli acini all'interno dei grappoli e nelle diverse parti della vite. Mediamente il tempo di analisi di un vigneto varia tra i 15 e i 30 minuti, in funzione della dimensione della superficie da controllare. In ogni caso in una giornata si possono realizzare parecchi rilievi, senza la necessità di analisi di laboratorio; così facendo a fine campionamento (lo stesso delle analisi di laboratorio) sono completate anche le analisi.
Oltre a questo le esperienze della vendemmia 2006 hanno permesso di verificare a pari data, diversi vigneti della stessa varietà, come riportato nella tabella 3 su campionamenti realizzati in Borgogna su Pinot Nero e in alcune regioni Italiane.

campione / clone	Nuovo indice di maturità fenolica (pinza)
BORGOGNA	
Pinot nero Borgogna A	305
Pinot nero Borgogna B	316
Pinot nero Borgogna C	297
Pinot nero Borgogna D	309
Pinot nero Borgogna E	286
Pinot nero Borgogna F	303
RAUSCEDO / ITALIA	
CABERNET SAUV. VCR 8	375
CABERNET SAUV. VCR 11	386
CABERNET SAUV. VCR 19	358
CARMENERE VCR 22	418
CARMENERE VCR 700	417
CARMENERE VCR 702	416
MERLOT R3	374
MERLOT R12	354
MERLOT R18	343
NEBBIOLO VCR 284	194
NEBBIOLO VCR 372	215
NEBBIOLO VCR 373	216
PINOT NERO VCR 18	271
PINOT NERO VCR 20	250
PINOT NERO SMA 185	287
SYRAH 174	380
SYRAH 470	452
SYRAH 747	423

Tab. 3 : misure di qualità fenolica con la pinza in diversi vigneti alla stessa data (vendemmia 2006)

Altre esperienze hanno permesso invece di controllare l'effetto dell'esposizione dei grappoli, mettendo in evidenza i migliori accumuli di polifenoli nella parte est di un filare rispetto alla parte esposta ad ovest.

Questa possibilità consente pertanto di controllare in campo l'effetto di interventi agronomici come ad esempio, l'inerbimento, l'irrigazione, la sfogliatura ed altri, sull'accumulo di polifenoli.
A livello pratico si riesce a monitorare un vigneto in poco tempo, ricavando un'informazione mediata sul totale degli acini analizzati; inoltre per seguire le curve di maturazione, il campionamento di un acino sempre sulla stessa parte del grappolo (ad esempio ala o parte terminale) consente di accelerare i tempi di analisi riducendo il numero di acini campionati.

L'informazione che si ricava è immediatamente fruibile per la gestione dell'epoca di raccolta e per l'impostazione delle tecniche di macerazione su uve selezionate in modo oggettivo direttamente in vigneto.
Nella vendemmia 2006 sono state realizzate microvinificazioni su diverse parcelle ed è stata verificata, a pari tecnica di vinificazione, una relazione molto significativa tra il nuovo indice ottenuto con la pinza e i polifenoli del vino.

Conclusioni

I risultati della ricerca hanno permesso di realizzare un'apparecchiatura in grado di valutare direttamente in vigneto il reale potenziale fenolico dell'uva rossa. Mediante la semplice misura della quantità di luce che passa attraverso la buccia, separata dalla polpa, si riesce ad effettuare un'analisi rapida in vigna ottenendo direttamente informazioni spettroscopiche significativamente correlate ai polifenoli della buccia. L'analisi è immediata, e prevede l'inserimento della sola buccia in una apparecchiatura a pinza in grado di leggere in pochi secondi un valore di quantità di luce. I dati vengono memorizzati e dopo l'analisi di un campione rappresentativo di acini si utilizza il dato medio per ricavare il valore della potenzialità fenolica relativo alla superficie campionata o al filare.

Le analisi, relative ad ogni varietà, sono ripetibili e consentono di seguire le curve di maturazione con lo scopo di individuare il momento ottimale della raccolta, senza la necessità di effettuare analisi in laboratorio. L'eventuale quantificazione dei polifenoli sarà realizzata una sola volta, nel campionamento più prossimo alla raccolta. Oltre a ciò è possibile confrontare in prossimità della raccolta diversi vigneti al fine di individuare quelli più maturi e quindi per programmare al meglio le raccolte dei singoli appezzamenti. I dati consentono inoltre di valutare in tempo reale l'effetto sui polifenoli di interventi colturali applicati nella vigna.

Con tale sistema è pertanto realizzabile un monitoraggio rapido e su grande scala della potenzialità fenolica delle diverse uve, ciò consentirà un più completo approccio alla zonazione viticola e permetterà di agevolare il lavoro dell'enologo per la selezione delle uve. Sarà pertanto possibile gestire i conferimenti a adattare le tecniche di vinificazione in funzione di una valutazione oggettiva della qualità.

In previsione, il sistema analitico portatile a pinza sarà implementato con rifrattometro e rilevatore GPS al fine di sfruttare al meglio le tecnologie della viticoltura di precisione e di ridurre al minimo le necessità analitiche durante il periodo vendemmiale.

Ringraziamenti: *dott.ssa Sara Martellos, dott. Francesco Anaclerio e prof. Michel Feuillat per la loro collaborazione, le aziende italiane, della Borgogna e i Vivai Cooperativi di Rauscedo, PN (I) per la loro disponibilità.*

Bibliografia

Baugmartner D., Bill R. and Roth I. 2001. Analysis of grape musts by FTIR spectroscopy. Obst-und Weinbau. 137:2, 46.
Belton P. S., Kemsley E. K., McCann M. C., Ttofis S., Wilson R.H. and Delgadillo I. 1995. The identification of vegetable matter using Fourier transform infrared spectroscopy. J. Food Chem. 54:437.
Caeleno srl, 2005. Process for evaluating the degree of phenolic ripeness of a fruit and relevant device. Patent VI2005A000098, international patent PCT/IB2006/000780.
Cayla L.; Cottereau P.; Renard R. 2002. Estimation de la maturité phénolique des raisins rouges par la methode I.T.V. standard. *Revue Française d'Œnologie* , *193*, 10-16.
Celotti E.; Carcereri De prati G. 2005. The phenolic quality of red grapes at delivery: Objective evaluation with colour measurements. *South African Society for Enology and Viticulture*, *26,* 75-82.
Celotti E., Ferrarini R., Della Vedova T., Martinand S. (2007)., The use of reflectance for monitoring phenolic maturity curves in red grapes. Italian Journal of Food Sciences, in press.
Celotti E. and Carcereri G. 1999. Procedimento per la valutazione della qualità delle uve rosse alla consegna in cantina e valutazione del succo in diversi momenti fino al caricamento dei serbatoi, Italian Patent UD 99 A 000086,28/04/99, Università dagli studi di Udine, International Patent PCT/IB00/00514,WO/00/66986, 25/04/2000, EP 1175603 USA Patent.
Celotti E. and Carcereri G. 2000. La qualità fenolica delle uve rosse: valutazione oggettiva mediante misura del colore. Ind. Bev. 29,168:378.

Celotti E. and Carcereri G. 2000. Studio della maturità fenolica delle uve rosse per valorizzare l'area viticola dei Colli Berici. L'Enotecnico. 36:79.
Celotti E., Carcereri G. and Cantoni S. 2001. Rapid evaluation of the phenolic potential of red grapes at winery delivery: application to mechanical harvesting. The Australian Grapegrower & Winemaker. 449a:151.
Dambergs R.G., Cozzolino D., Cynkar W.U., Janik L. and Gishen M. 2006. The determination of red grape quality parameters using the LOCAL algorithm. J. of Near Infrared Spectroscopy 14:71.
Dambergs R.G., Cozzolino D., Esler M.B., Cynkar W.U., Kambouris A., Francis I.L., Hoi P.B.and Gishen M. 2003. The use of infrared spectroscopy for grape quality measurement. Australian & New Zeland Grapegrowers & Winemaker, 473a, 76: 69.
Desseigne J.M. 2005. Determinazione della qualità della vendemmia e spettroscopia ad infrarossi. Infowine, 6/2.
Desseigne J.M., Payan J.C., Crochon M., Roger J.M., Ballester J.F., Boulet J.C., Mazollier J. and Toussaint C. 2003. Spectroscopie proche infra rouge et appréciation de la qualité de la vendange. Cahier Technique 14éme colloque viticole et œnologique EUROVITI, ITV France,26-27 *Nov*, pp. 168-172.
Di Stefano R.; Borsa D.; Bosso A.; Garcia Moruno E. 2000. Documento tecnico sul significato e sui metodi di determinazione dello stato di maturità dei polifenoli. *L'enologo* dicembre, 73-76.
Di Stefano R., Cravero M.C., and Gentilini N. 1991. Metodi per lo studio dei polifenoli dell'uva. Riv. Vitic. Enol. 44:37.
Dubernet M.; Dubernet M.; Dubernet V.; Coulomb S.; Lerch M.; Traineau I. 2004. Analyse objective de la qualité des vendanges par spectrométroe infrarouge à tranformée de Fourier (IRTF) et réseau de neurones. *Revue Française d'Œnologie*, *208*, 18-21.
Dubernet M., Dubernet M., Dubernet V., Coulomb S., Lerch M., and Traneau I. 2001. Analyse objective de la qualité des vendages par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourrier (IRTF) et réseaux de neurones. Bull. O.I.V. 74:15.
Fiorini P.; Carcereri De Prati G.; Celotti E.; Dell'Oste S. 2005. Valutare i polifenoli nelle uve rosse con una nuova metodica. *L'informatore agrario*, *50*, 64-68.
Glories Y. and Augustin M. 1993. Maturitè phenolique du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992. *In:* Actes du colloque: Journée techinque du C.I.V.B. Bordeaux, 21 Janvier 1993. pp56-61.
Grandjean E., Monamy C., Masse L., and Girard F. 2004. Messa a punto di un metodo rapido per stimare la maturità fenolica del Pinot Noir in Borgogna, Vinidea.net. 5:1.
Jaworski A.; Lee C. Y. 1987. Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *35*, 257-259.
Mattivi F., Prast A., Nicolini G., and Valentini L. 2003. Il potenziale polifenolico delle uve rosse e la sua applicazione in enologia, L'Enologo. 39,10:105.
Merken H. M.; Beecher G. R. 2000. Measurement of food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 577-599.
Patz C.D., David A., Thente K., Kürbel P., and Dietrich H. 1999. Wine analysis with FTIR spectroscopy, Die Wein Wiessenschaft. 54:80.
Peyron D. 1998. Le potentiel polyphénolique du Pinot Noir. *Revue Française d'Œnologie* mai/juin, *170*, 42-45.
Rousseau J.; Delteil D. 2000. Présentation d'une méthode d'analyse sensorielle des raisins. Principe, méthode et grille d'interprétation. *Revue Française d'Œnologie*, *183*, 10-13.
Rousseau J., Samirant M., and Granes D.. 2002. Evaluation du functionnement d'un interféromètre à transformée de Fourier (IRTF) pendant les vendages, Rev. Fr. Œnologie. 195:12.
Venencie C.; Uveira M-N.; Guiet S. 1997. Maturité polyphénolique du raisin mise en place d'une méthode d'analyse de routine. *Revue Française d'Œnologie* Novembre/décembre, *167*, 36-41.