

Evoluzione delle antocianine nel corso della vinificazione delle uve Nebbiolo

Gerbi Vincenzo, Zeppa Giuseppe, Rolle Luca

Università degli Studi di Torino - Dipartimento Valorizzazione e Protezione delle Risorse agroforestali
- Settore di Industrie agrarie - Via L. da Vinci, 44 - 10095 - Grugliasco (TO) - Italia

Riassunto

In questo studio è stata esaminata la dinamica di estrazione delle antocianine durante la vinificazione di uve Nebbiolo, uno dei principali vitigni italiani. I risultati ottenuti hanno evidenziato che, mentre la delphinidina-3-glucoside e la petunidina-3-glucoside non subiscono, dal punto di vista percentuale, alcuna variazione quantitativa nel passaggio da uva a vino, la cianidina-3-glucoside e la peonidina-3-glucoside subiscono un forte decremento. Tale decremento è più intenso nelle prime fasi del processo, quando maggiore è la presenza di ossigeno nel mezzo. Solo la malvidina-3-glucoside evidenzia un incremento nel corso della macerazione così da risultare l'antocianidina più abbondante nel vino al termine della fermentazione alcolica. I risultati così ottenuti consentono di meglio interpretare alcune risultanze tecnologiche e di suggerire delle modifiche al processo produttivo al fine di aumentare il contenuto antocianico del vino al termine della fermentazione alcolica.

Summary

Anthocyanins evolution during Nebbiolo winemaking

Introduzione

I composti fenolici sono responsabili di alcune delle principali caratteristiche sensoriali dei vini quali il colore e l'astringenza ed il loro studio nell'uva e nel vino così come delle condizioni che ne influenzano la genesi e l'evoluzione è quindi di grande interesse ai fini della caratterizzazione e valorizzazione dei prodotti enologici. Questo spiega il grande numero di lavori pubblicati sull'argomento e di cui si riporta solo un breve elenco (Albach et al., 1959; Bakker e Timberlake, 1985; Darnè, 1988; Hebrero et al., 1988; Lee e Jaworski, 1989; Tamborra e Di Benedetto, 1991; Baldi e Romani, 1992; Cacho et al., 1992; Moriondo e Gentilini, 1992; Roson e Moutonet, 1992; Di Stefano e Maggiorotto, 1995; Hmamouchi et al., 1995; Climent e Pardo, 1997; Lanaridis e Bena-Tzourou, 1997; Morassut e Cecchini, 1999).

La classe più importante fra questi composti è certamente costituita dagli antociani, un gruppo di derivati del flavilio, a cui si deve il colore dei vini rossi.

Queste sostanze sono presenti esclusivamente nella buccia e più precisamente nell'epidermide e nei 4-5 strati sottostanti e la loro distribuzione e concentrazione dipende dalla varietà e dal grado di maturazione il quale a sua volta è funzione delle condizioni climatiche e di quelle colturali e sanitarie del vigneto.

L'estrazione della materia colorante dipende da numerosi fattori fra cui le azioni meccaniche che provocano la rottura dei vacuoli della buccia, la necrosi dei tessuti indotta da sostanze chimiche quali l'alcol o l'anidride solforosa, la temperatura del mezzo ed il tempo di contatto tra le bucce e la massa in fermentazione.

Un ruolo determinante in questa cessione ha anche la cultivar non solo per la diversa composizione antocianica, ma anche per la diversa struttura della buccia (Asselin et al., 1979; Gigliotti e Bucelli, 1992; Di Stefano et al., 1994).

Monitorando la curva di estrazione degli antociani durante una tradizionale fermentazione con macerazione si osserva un rapido incremento iniziale seguito da una decelerazione che raggiunge il picco massimo in 2-4 giorni per poi iniziare una fase di lenta discesa.

È dimostrato quindi che la diffusione non è l'unico fenomeno che interviene durante l'estrazione dei pigmenti perché se così fosse la curva avrebbe un andamento esponenziale e non si spiegherebbe la seconda fase di riduzione della concentrazione. Una possibile interpretazione è che l'inizio della copolimerizzazione con i tannini produca dei composti ad alto peso molecolare suscettibili di precipitare determinando una perdita di colore (Boulton et al., 1996).

In relazione all'importanza che hanno i composti fenolici ed in particolare gli antociani per le caratteristiche dei vini è quindi di primaria importanza conoscerne l'evoluzione durante la fermentazione alcolica ed il successivo affinamento, ma i vari lavori che si sono succeduti negli anni si sono rivolti quasi esclusivamente ad alcuni vitigni internazionali (Mayen et al., 1994; Cheynier et al., 1997; Nagel e Wulf, 1979).

Scarsi invece gli studi sui vitigni italiani (). Obiettivo quindi dello studio è quello di contribuire a colmare questa lacuna cercando di definire per il Nebbiolo, uno dei principali vitigni autoctoni piemontesi e sul cui comportamento nel corso della vinificazione esistono solo alcuni lavori preliminari (Di Stefano et al., 1994; Cagnasso et al., 2001), le modalità di diffusione di alcuni composti fenolici ed in particolare delle antocianine nel corso di una vinificazione con macerazione tradizionale.

Materiali e metodi

Le uve

Per la sperimentazione sono state utilizzate le uve Nebbiolo provenienti da un vigneto in Vezza d'Alba (CN).

Per lo studio dei componenti fenolici sono stati prelevati, a maturità, trecento acini. Da questi sono stati ricavati tre campioni formati ciascuno da 10 acini utilizzati per le successive determinazioni.

I campioni sono stati quindi pesati e gli acini che ne facevano parte suddivisi in buccia, vinaccioli e polpa (Cravero e Di Stefano, loc. cit.).

I vinaccioli, lavati con acqua deionizzata ed asciugati, sono stati quindi immersi in 25 mL di una soluzione tampone a pH 3.20 contenente il 12% di etanolo e 300 mg/L di sodio metabisolfito e posti in termostato a 25 °C per 6 giorni al fine di estrarne le sostanze polifenoliche presenti. Le bucce sono state invece poste nel tampone di cui sopra per 12 ore a 20°C e successivamente omogeneizzate con Ultraturrax T25 (IKA, Danimarca). La polpa infine è stata omogeneizzata in presenza di sodio metabisolfito, acidificata con acido solforico 10N, filtrata ed analizzata.

I vini

Sono state vinificate presso la Cantina Sperimentale del Di.Va.P.R.A. a Grugliasco (TO) quattro masse costituite ciascuna da circa 400 Kg di uva. Le uve sono state pigiadiraspate ed il pigiato è stato solfitato (25 mg/L di anidride solforosa) ed inoculato con lieviti secchi attivi (D254, Lallemand - 25g/HL).

I campioni per le analisi sono stati prelevati al momento della pigiatura, tre volte al giorno nei primi tre giorni e due volte al giorno nel periodo successivo sino alla svinatura effettuata sette giorni dopo la pigiatura.

Le analisi

La determinazione degli antociani, dei flavonoidi e degli acidi idrossicinnamici tartarici sugli estratti delle bucce, dei vinaccioli e delle polpe è stata effettuata utilizzando i metodi spettrofotometrici proposti da Di Stefano e coll. (Di Stefano e Cravero, 1991; Di Stefano e Maggiorotto, loc. cit., Di Stefano et al., 1989).

I polifenoli totali sono stati determinati con il reattivo di Folin-Ciocalteu.

Le antocianine presenti negli estratti delle bucce e nel vino, preventivamente concentrate per eluizione su cartucce SEP-PAK C18 (Waters Associates), sono state determinate mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) (Di Stefano e Cravero, loc. cit.).

Le letture sono state effettuate a 520 nm esprimendo il dato in percentuale di ciascuna antocianina rispetto al valore complessivo.

Il colore è stato studiato valutando l'intensità e la tonalità colorante (Sudraud, 1958) ed i parametri tricromatici (O.I.V., 1990; Piracci, 1994).

Risultati

Le bucce dell'uva Nebbiolo sono caratterizzate da un contenuto medio-basso di antociani e da un contenuto medio di sostanze tanniche e ciò determina un rapporto tannini/antociani molto elevato, superiore a quello riscontrabile in molte altre varietà quali Cabernet-Sauvignon, Merlot, Tempranillo (Cagnasso, 2001). Il colore del vino che ne deriva è quindi molto instabile e tende ad assumere facilmente tonalità aranciate. I vinaccioli risultano inoltre particolarmente ricchi di sostanze polifenoliche, soprattutto proantocianidine a basso grado di polimerizzazione, le quali con una macerazione prolungata passano in soluzione andando ad incrementare ulteriormente il rapporto di cui sopra.

Il profilo antocianico del Nebbiolo è caratterizzato da una prevalenza di antocianine disostituite (peonina e cianina) che rappresentano quasi il 60% del totale. Le antocianine trisostituite sono invece molto scarse e costituiscono il 35% circa del totale.

L'esame del comportamento di queste uve nel corso della macerazione può essere effettuato utilizzando numerosi parametri.

I più semplici ed immediati sono certamente i contenuti in antociani totali e monomeri (Figura ...). Entrambi questi indici evidenziano una concentrazione nel mosto crescente sino a 150 ore dalla pigiatura a cui segue una diminuzione sino alla svinatura. La prima fase, quella di crescita, può essere ulteriormente suddivisa in due sottofasi. Nella prima, corrispondente alle prime 60 ore circa di macerazione, la crescita è più contenuta, mentre successivamente l'incremento, a causa della lisi delle cellule della buccia provocata dall'alcol che si sta formando, è molto più elevato. Dopo circa 150 ore di macerazione si ha però un decremento della concentrazione di antociani nel mosto, più evidente per gli antociani monomeri e dovuto a fenomeni di co-polimerizzazione fra gli antociani e le proantocianidine.

Queste ultime, la cui estrazione inizia peraltro solo dopo circa 60 ore dalla pigiatura in corrispondenza della produzione in quantità sensibili di etanolo, evidenziano anch'esse una diminuzione nelle ultime fasi della macerazione in concomitanza della formazione di polimeri di maggiore peso molecolare la cui precipitazione coinvolge una parte degli antociani presenti (Figura ...).

I flavani poco polimerizzati invece non subiscono alcun fenomeno di separazione e la loro concentrazione nel mosto aumenta quindi costantemente sino alla svinatura a partire da 60 ore dopo la pigiatura (Figura ...). È da rilevare che la contraddizione fra il comportamento delle proantocianidine e quello dei flavani reattivi alla vanillina è solo apparente in quanto l'incremento di questi ultimi è molto piccolo e non sufficiente a compensare la riduzione per polimerizzazione delle prime.

La cessione di antociani e tannini e la formazione di polimeri misti colorati determina nel corso della macerazione un incremento nei valori di intensità colorante ed una diminuzione in quelli della tonalità colorante (Figura ...). Quest'ultima decresce però fortemente solo nelle prime ore di macerazione per poi rimanere praticamente costante. Per meglio comprendere questi due comportamenti si può fare riferimento ai valori dei parametri CIELAB (Figura ...). L'indice del rosso aumenta bruscamente nelle prime 12 ore per poi restare praticamente costante, mentre quello del giallo aumenta durante tutta la macerazione con un brusco incremento anch'egli verso le 60 ore, in corrispondenza dell'aumento di concentrazione nella fase liquida delle sostanze tanniche.

L'evoluzione del profilo antocianico durante la macerazione è riportato nelle figure xx e yy.

La delfinina e le antocianine acilate e cinnamate non evidenziano alcun cambiamento nella loro concentrazione. Non così per le restanti antocianine.

Aumentano infatti le antocianine trisostituite ed in particolare la malvidina mentre decrescono quelle disostituite (cianina e peonina).

Particolarmente rilevante la perdita di peonina che alla svinatura costituisce solo più il 25% delle antocianine presenti. Si tratta di antocianine facilmente diffusibili la cui concentrazione nel mosto risulta particolarmente elevata subito dopo la pigiatura. La presenza nel mezzo di elevate quantità di ossigeno disciolti durante la pigiatura stessa e di acetaldeide prodotta dai lieviti determinano però l'ossidazione delle antocianine presenti e la loro polimerizzazione con le proantocianidine. Le antocianine trisostituite, essendo meno diffusibili, giungono nel mosto in un secondo tempo, quando tutto l'ossigeno presente è già stato consumato e l'acetaldeide metabolizzata.

Molto particolare è il comportamento della cianina la cui concentrazione nel mosto, pur restando sempre inferiore a quella delle uve, aumenta sino alla 50° ora per poi decrescere fortemente. Un comportamento analogo hanno i flavani il cui andamento evidenzia una flessione in corrispondenza della flessione dell'antocianina. Probabilmente si ha in quelle ore la formazione di polimeri antociano-tannino che sottraggono dal mosto entrambi i costituenti.

Conclusioni

Lo studio ha consentito, per la prima volta, di delineare, in una produzione su scala semi-industriale, il comportamento dei principali composti fenolici delle uve Nebbiolo. Le perdite di antociani dovute a fenomeni di ossidazione e polimerizzazione sono risultate ingenti soprattutto in considerazione della loro modesta quantità nelle uve di questo vitigno. Il contenuto in tannini non ha evidenziato invece particolari decrementi e questo porta alla produzione di vini con tonalità aranciate già evidenti poco dopo la svinatura. Conoscendo meglio la dinamica di solubilizzazione di questi composti sarà però possibile intervenire tecnologicamente al fine di ridurre le perdite di antociani e quindi ottenere prodotti dal colore più intenso e più stabile.

Bibliografia

Albach R.F., Kepner R.E., Webb A.D. - Comparison of anthocyan pigments of red vinifera grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 10, 164-172, 1959.

Bakker J., Timberlake C.F. - The distribution of anthocyanins in grape skin extracts of Port Wine cultivars as determined by High Performance Liquid Chromatography. *J. Sci. Food Agric.* 36, 1315-1324, 1985.

Baldi A., Romani A. - Studio su alcuni composti polifenolici in uve, mosti e vini della Toscana. *L'Enotecnico* 28(5), 105-119, 1992.

Bourzeix M., Heredia N., Kovac V. - Richesse de différents cépages en composés phenoliques totaux et en anthocyanes. *Progrès Agricole et Viticole* 17, 421-428, 1983.

Cacho J., Fernandez P., Ferreira V., Castells J.E. - Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of the Tempranillo, morister and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 244-248, 1992.

Cheyrier V., Hidalgo Arellano I., Souquet J.M., Moutounet M. - Estimation of the oxidative changes in phenolic compounds of Carignane during winemaking. *Am. J. Enol. Vitic.* 48, 225-228, 1997.

Climent M.D., Pardo T. - Study of the evolution of the phenolic compounds during the fermentation and maturation of the red wine the Bobal, Granache and Tempranillo grapes. Riv. Vitic. Enol. 50(1), 27-31, 1997.

Cravero M.C., Di Stefano R. - Composizione fenolica di alcune varietà di uve di vite coltivate in Piemonte. Vignevini, 19(5), 47-54, 1992.

Cravero M.C., Guidoni S., et al. - Caratérisation variétale de cépage musqués à raisin coloré au moyenne de paramètres ampelografiques descriptifs et biochimiques Vitis 33, 75-80, 1994.

Dallas C., Ricardo da Silva J.M., Laureano O. - Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine. Vitis 34, 51-56, 1995.

Darné G. - Evolution des differentes anthocyanes des pellicules de Cabernet Sauvignon au cours du developpement des baies. Conn. Vigne Vin 22(3), 225-231, 1988.

Darné G. - Peut-on envisager de distinguer les espèces du genre Vitis au moyen des anthocyanes des feuilles? Conn. Vigne Vin 22(1), 85-87, 1988.

Di Stefano R., Borsa D., Gentilini N. - Estrazione degli antociani dalle bucce dell'uva durante la fermentazione. L'Enotecnico 30(5), 75-83, 1994.

Di Stefano R., Cravero M.C. - Metodi per lo studio dei polifenoli dell'uva. Riv. Vitic. Enol. 44(2), 37-44, 1991.

Di Stefano R., Cravero M.C., Gentilini N. - Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini. L'Enotecnico 25(5), 83-89, 1989.

Di Stefano R., Foti S., Borsa D. - Indagine sulla natura e sul contenuto di alcune classi di polifenoli in uve prodotte nella Sicilia orientale. L'Enotecnico 29(11), 67-83, 1993.

Di Stefano R., Maggiorotto G. - Anthocyanins, hydroxycinnamic acids and flavonols in berries, leaves, stems and shoots of vine Riv. Vitic. Enol. 48(2), 51-65, 1995.

Glories Y. - La couleur des vins rouges. 2^{me} partie. - Mesure, origine et interprétation. Conn. Vigne Vin 18, 253-271, 1984.

Hebrero E., Santos-Buelga C., Rivas Gonzalo J.C. - High performance liquid chromatography diode array spectroscopy identification of anthocyanins of *Vitis vinifera* variety Tempranillo. Am. J. Enol. Vitic. 39, 227-233, 1988.

Hmamouchi M., Es-Safi N., Pellecuer J., Essassi E.M. - Composition anthocyanique des pellicules de raisin de quatre cépages rouges cultivés au Maroc. Bull. O.I.V. 68(777-778), 905-919, 1995.

Jaworski A., Lee C.Y. - Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. J. Agric. Food Chem. 35, 257-259, 1987.

Kovac A. - Diffusion des diverses anthocyanes au cours de la vinification. Vignes et Vins 273(10), 6-9, 1978.

Lanaridis P., Bena-Tzourou I. - Study of anthocyanins' variations during the ripening of five vine red varieties cultivated in Greece. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 31(4), 205-212, 1997.

Lee C.Y., Jaworski A. - Major phenolic compounds in ripening white grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 40, 43-46, 1989.

Lepadatu V., Alexu A., Mujdaba F. - Les anthocyanes. Variation de leur teneur selon le cépage et l'écosystème. *Bull. O.I.V.* 497-498, 650-666, 1972.

Mayen M., Merida J., Medina M. - Free anthocyanins and polymeric pigments during the fermentation and post fermentation. Standing of must from Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 45, 161-166, 1994.

Morassut M., Cecchini F. - Caratterizzazione del profilo fenolico di vitigni coltivati nella Regione Lazio. *L'Enotecnico* 35(5), 73-80, 1999.

Moriondo G., Gentilini N. - Phenolic composition of some grape varieties grown in Valle d'Aosta. *Riv. Vitic. Enol.* 45(3), 59-68, 1992.

Nagel C.W., Wulf L.W. - Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation and aging of Merlot and Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* 30, 111-116, 1979.

O.I.V. - Caractéristiques chromatiques. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts. pp 31-32 (1990).

Piracci A. - Évaluation instrumentale de la couleur. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 28(3), 247-251, 1994.

Ribéreau-Gayon P. - The anthocyanins of grapes and wines. In: *Anthocyanins as food colors*. P. Markakis (Ed.) pp 209-244. Academic Press, New York (1982)

Roson J.P., Moutonet M. - Quantités d'anthocyanes et de tanins des raisins de quelques cépages du Sud-Ouest en 1988 et 1989. *Revue Fr. Oenol.*, 135(3-4), 17-27, 1992.

Schneider A., Gerbi V., Redoglia M. - A rapid HPLC method for separation and determination of major organic acids in grape musts and wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 38(2), 151-155, 1987.

Sudraud P. - Interprétation des courbes d'absorption des vins rouges. *Ann. Technol. Agric.* 7(2), 203-208, 1958.

Tamborra P., Di Benedetto G. - Composizione fenolica di alcune varietà di uve a bacca nera coltivate in Puglia. *L'Enotecnico* 27(10), 89-96, 1991.

Van Buren J.P., Bertino J.J., Einset J., Remaily G.W., Robinson W.B. - A comparative study of the anthocyanin pigment composition in wines derived from hybrid grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 21, 117-130, 1970.