

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE

R.A.I.S.A.

Ricerche Avanzate per Innovazioni nel Sistema Agricolo

Sottoprogetto 4

AGROBIOTECNOLOGIE NEI PROCESSI DI
VALORIZZAZIONE DEI PRODOTTI E SOTTOPRODOTTI
AGRICOLI

Vol. II

ZEPPA GIUSEPPE
PUBB.

Spineto Di Sarteano (SI) 1994

Tematica: 4.4.4. Modelli analitici per la caratterizzazione dei prodotti alimentari trasformati.

Unità di ricerca 4.21 - Coordinatore Carlo Pompei

Responsabile N. M. - Alberta Carnacini

Titolo relazione: Evoluzione dei costituenti principali del vino e del sidro nel corso della acetificazione.

Gerbi V.¹, Antonelli A.², Zeppa G.¹, Natali N.², Carnacini A.²

(1) - Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali - Settore di Microbiologia e Industrie agrarie, Università di Torino, Via P. Giuria 15, 10126 TORINO

(2) - Istituto di Industrie agrarie, Università di Bologna, Via S. Giacomo 7, 40126 BOLOGNA

INTRODUZIONE

L'acetificazione di materie prime alcoliche di origine agricola comporta essenzialmente la biossidazione dell'alcol etilico in acido acetico.

Tale trasformazione principale è accompagnata dall'ossidazione di altri composti dei vini quantitativamente meno importanti, ma qualitativamente degni di nota per il loro valore organolettico e per la loro importanza ai fini della determinazione dell'origine e del livello qualitativo del prodotto.

Nel corso della ricerca per la identificazione degli indici di qualità dell'aceto è stata messa in luce l'importanza di composti non attaccati, o trasformati solo in parte, dai batteri e di alcuni di quelli di neoformazione per la caratterizzazione degli aceti di diversa origine e qualità.

Tra i composti fissi ricordiamo ad esempio la glicerina, i polialcoli e l'acido tartarico, limitatamente ai vini di uva, e, tra quelli volatili, gli alcoli superiori residui e i prodotti di neoformazione come l'acetoino.

Nel corso della ricerca suddetta sono stati esaminati circa ottanta campioni di aceto italiani e stranieri di origine e qualità diverse. Il numero di composti che rivestono il maggiore peso nella discriminazione degli aceti è risultato limitato da una notevole variabilità della loro concentrazione, anche all'interno di categorie commerciali affini.

In particolare gli aceti di vino di uva e quelli di sidro, le due categorie più interessanti e commercialmente più importanti, hanno evidenziato variazioni difficilmente spiegabili con la sola differente diluizione o con la tecnica di conservazione, stante che l'acetificazione vede l'impiego praticamente totale della colture sommerse aerate.

Allo scopo di poter osservare le trasformazioni chimiche nel corso della biossidazione acetica, sono state intraprese una serie di acetificazioni in impianto pilota utilizzando come materia prima vino di uva e sidro.

MATERIALI E METODI

La partita di vino utilizzata, di sicura origine, si presentava esente da alterazioni con una gradazione alcolica di circa il 10% in vol. .

Il sidro di mele è più difficilmente reperibile presso produttori italiani. Per avere un prodotto di sicura genuinità è stato prelevato del sidro destinato ad acetificazione presso una azienda di prodotti biologici che non pratica interventi di correzione né fa ricorso a tecniche di conservazione con mezzi chimici e fisici.

Il sidro, senz'altro genuino e con una gradazione del 7% in vol. circa, non era completamente esente da alterazioni batteriche avendo già all'origine una acidità volatile di

2,8 g/L. Nella produzione di sidri, se non si ricorre ad interventi di controllo della microflora, è assai frequente l'insediamento di batteri acetici (Fernandez *et al.*, 1994).

Le acetificazioni sono state condotte in un impianto pilota da 11 L di capacità massima, arieggiato mediante una turbina sommersa di geometria simile a quella degli acetificatori industriali di Frings.

Il volume di aria insufflato era pari a 5 L/h/L di substrato e la temperatura mantenuta a 28 °C mediante un sistema termostatico.

Nella fermentazione acetica del vino di uva si è fatto ricorso ad uno *starter* batterico industriale prelevato in un acetificatore Frings adibito alla produzione di aceto di vino, verosimilmente costituito da una miscela di ceppi adattati alla elevata acidità totale.

Nel caso del sidro si è ritenuto opportuno far ricorso all'inoculo di una coltura pura anziché ad uno *starter* industriale in quanto questi batteri, adattati alla peculiare composizione del vino d'uva, avrebbero potuto influenzare la produzione dei metaboliti osservati.

In ciascuna prova venivano effettuati quattro cicli di acetificazione, ricaricando il fermentatore con 1/3 del suo volume di substrato fresco ogniqualvolta il tenore alcolico scendeva all'1% in vol.. L'adozione di una tecnica di graduale regimazione del processo, con arricchimento della carica batterica, si rende indispensabile a causa della estrema sensibilità della microflora acetificante. Carenze anche temporanee di alcol o di ossigeno portano immediatamente ad una forte perdita di vitalità degli acetobatteri soprattutto se la concentrazione totale (alcol % + acido %) è elevata. E' nota inoltre la capacità di adattamento degli acetobatteri a crescenti concentrazioni di etanolo e acido acetico che possono condurre all'isolamento di stipti con caratteri fisiologici diversi rispetto alla coltura di partenza (Ebner e Folmann, 1983).

I campionamenti hanno riguardato la fase iniziale (materia prima), una fase intermedia dopo il consumo di circa metà dell'alcol di partenza e la fase finale in cui l'alcol residuo era intorno all'1%.

Nel caso del vino il confronto è stato esteso ad un campione di aceto prodotto con la stessa materia prima in un acetificatore industriale.

Le determinazioni analitiche principali (densità, acidità totale, volatile, fissa, estratto secco, ceneri e loro alcalinità, pH) sono stati determinati secondo i metodi ufficiali italiani (MAF, 1965).

Il titolo alcolometrico è stato determinato per via gascromatografica dopo neutralizzazione del campione con Na_2CO_3 (Antonelli, 1994).

Il quadro acido e la glicerina sono stati determinati per H.P.L.C. (Gerbi e Tortia, 1991). I polifenoli totali sono stati determinati spettrofotometricamente (Singleton e Rossi, 1965). Il frazionamento dei fenoli tannici e non tannici è stato eseguito secondo Peri e Pompei (1980). Leucoantociani e catechine sono stati determinati secondo Margheri e Falcieri (1972).

I metalli principali sono stati determinati mediante spettrofotometria di assorbimento atomico.

I composti volatili principali sono stati determinati in gascromatografia con colonna impaccata secondo il metodo indicato da Antonelli *et al.*, in un'altra relazione presentata nel corso dei lavori di questa giornata.

La determinazione dei polialcoli è stata effettuata con una metodica messa a punto da Antonelli *et al.* (1994).

Gli amminoacidi liberi sono stati purificati secondo Adams (1974) e determinati nelle medesime condizioni indicate da Pirini *et al.*, (1992).

RISULTATI

I dati riportati nelle tabelle che seguono si riferiscono al ciclo di acetificazione finale su ciascuno dei due substrati; non sono stati considerati i cicli iniziali ed intermedi in quanto il conteggio della carica batterica ha dimostrato che la microflora non aveva ancora raggiunto la massima concentrazione con cui normalmente si opera nella produzione industriale. La carica batterica totale nelle fermentazioni industriali è dell'ordine di 10^{10} cell./ml e la carica vivente di circa $10^7 - 10^8$ UFC/ml.

Solo quando si raggiungono tali concentrazioni in prove sperimentali si possono ipotizzare conseguenze sulla composizione paragonabili a quelle ottenute industrialmente.

In tabella 1 sono riportate le concentrazioni dei principali componenti fissi esaminati nei sette campioni.

Accanto agli ovvii cambiamenti a carico dei parametri fondamentali, come l'alcol e l'acidità ed alla sostanziale stabilità di altri parametri, come le ceneri, vanno sottolineate alcune variazioni di interesse.

	S1	S2	S3	VB1	VB2	VB3	VBF
Densità	1.0026	1.0086	1.0149	0.9957	1.0109	1.0224	1.0189
Alcol (% vol)	6.90	5.20	1.54	9.88	5.47	0.15	1.00
Acidità totale (g/100 ml)	1.06	3.06	5.46	0.52	5.94	10.26	9.42
Acidità volatile (g/100 ml)	0.28	1.98	4.80	0.15	5.57	9.88	9.04
Acidità fissa (g/100 ml)	0.97	0.13	0.08	0.46	0.46	0.48	0.47
Estratto secco (g/L)	18.91	18.47	17.69	24.95	22.05	19.18	21.09
Ceneri (g/L)	2.69	2.84	2.73	2.32	2.28	2.28	2.25
Alcalinità delle ceneri (moeq/L)	27.60	31.80	28.80	17.20	18.80	18.00	17.20
Glicerina (g/L)	3.92	3.91	3.71	4.72	3.80	3.80	3.71
pH	3.32	3.13	2.95	3.14	2.68	2.45	2.50
Ac. tartarico (g/L)	0	0	0	4.77	4.61	4.67	4.50
Ac. malico (g/L)	0.73	0.76	0.78	0.51	0.30	0.28	0.31
Ac. lattico (g/L)	4.45	2.39	0.92	1.52	0.82	0.26	0.48
Ac. citrico (g/L)	0	0	0	0.51	0.81	0.81	0.81
Ac. succinico (g/L)	0.47	0.46	0.42	0.73	0.67	0.61	0.61
Polifenoli totali (mg/L)	155	160	165	291	293	292	268
Polifenoli tannici (mg/L)	89	117	122	167	115	94	176
Polifenoli non tannici (mg/L)	66	43	43	124	178	198	92
Catechine (mg/L)	18	17	21	39	17	23	33
Leucoantociani (mg/L)	60	36	51	160	139	121	101
Ac. caftarico (mg/L)	0	0	0	6.9	6.4	5.7	6.8
Ac. 2-S-Glutationil caftarico (mg/L)	0	0	0	2.10	2.00	2.00	2.00
D.O. 420 nm	0.264	1.024	1.12	0.335	0.277	0.233	0.361

Tab. 1 - Evoluzione dei principali componenti fissi di un sidro e di un vino nel corso della acetificazione (S1-Sidro; S2-Sidro-aceto; S3-Aceto di sidro; VB1-Vino bianco; VB2-Vino bianco-aceto; VB3- Aceto di vino bianco; VBF-Aceto di vino bianco da Frings)

La glicerina, tabella 1, diminuisce costantemente nel corso dell'acetificazione, ma il suo tenore si riduce di non oltre 1/4 rispetto al valore iniziale e ciò conferma le osservazioni di altri Autori (Asai, 1968; Colagrande e Morelli, 1979). L'entità del calo è proporzionale alla quantità di alcol trasformato, pertanto è superiore nel vino. Il livello di partenza nel caso del sidro era inferiore come conseguenza del minor grado alcolico.

Alcune delle differenze osservate, non essendo imputabili alle condizioni di acetificazione, identiche per i due substrati, vanno attribuite alla popolazione batterica operante nella biossidazione nei due casi.

L'acido malico non è stato attaccato dallo stipite che ha operato nel sidro, mentre è stato parzialmente degradato dalla popolazione che ha operato sul vino. Ciò potrebbe confermare l'esistenza di una malato deidrogenasi in alcuni stipiti del gen. *Acetobacter* (Asai, *loc cit.*). La stessa spiegazione può essere adottata per la leggera produzione di acido citrico

reperito nell'aceto di vino che potrebbe essere attribuita ad una citrato-sintetasi. Una indiretta conferma deriva dal fatto che il campione prodotto industrialmente con lo stesso starter (VBF; tabella 1), presenta una composizione analoga al campione VB3.

Una caratteristica comune ai batteri del gen. *Acetobacter* è quella di ossidare l'acido lattico. Nelle prove condotte è stato ridotto dell'80% circa sia nell'aceto di sidro che in quello di vino. In valore assoluto la demolizione è stata molto più importante nell'aceto di sidro che ne era molto dotato (4.45 g/L). Questa osservazione può contribuire a spiegare l'abbondante formazione di 3-OH-2-butanone (acetoino) registrata nell'aceto di sidro (Tab. 2). Infatti l'acetoino può derivare dall'ossidazione del 2,3 butandiolo e dalla decarbossilazione dell' α -acetolattato (formato a sua volta dalla condensazione del piruvato con l'acetaldeide), ma anche dalla ossidazione del lattato (Asai, *loc. cit.*; Gandini e Gerbi, 1990).

Il notevole aumento della D.O.₄₂₀ nm nell'aceto di mele testimonia un forte imbrunimento del colore che non trova un riscontro in consistenti variazioni del quadro polifenolico. Il fenomeno potrebbe trovare spiegazione in quanto osservato da altri Autori relativamente ai derivati delle mele (Mastrocola e Lericci, 1991; Piva *et al.*, 1986). Essi infatti suppongono che in determinate condizioni l'imbrunimento sia la conseguenza di fenomeni riconducibili alle reazioni di Maillard. Nel caso dell'aceto di vino non c'è stato imbrunimento, al contrario l'ossidazione spinta ha condotto ad una riduzione delle frazioni fenoliche più ossidabili (catechine e leucoantociani).

Nel complesso la concentrazione dei metalli non ha subito sostanziali variazioni, fatta eccezione per un aumento del contenuto in ferro negli aceti ottenuti nell'impianto pilota imputabile alla cessione da parte di qualche particolare dell'impianto medesimo.

Il sidro e l'aceto derivato risultavano contenere un discreto tenore in metanolo (tab.2), motivato dalla ricchezza di pectine della materia prima e dalla tecnica di preparazione adottata per il sidro che prevede un lungo contatto con le parti solide. Si conferma che il metanolo non è interessato dai processi ossidativi e la sua presenza, entro i limiti consentiti, può essere quindi considerata un parametro di genuinità per gli aceti di frutta.

	S1	S2	S3	VB1	VB2	VB3	VBF
Acetaldeide	12	10	10	6	70	15	22
Acetato etile	520	1508	223	19	2962	100	566
Metanolo	386	375	377	52	51	42	42
1-Propanolo	13	9	3	30	15	0	5
2-Metil-1-propanolo	48	47	36	48	39	14	27
2-Metil + 3-Metil-1-butanolo	164	146	109	215	114	33	73
3-Ildrossi-2-butanone	249	758	1026	20	143	276	155
2,3-Butandiolo	65	16	56	20	13	34	17

Tab. 2 - Evoluzione dei principali componenti volatili determinabili per analisi gascromatografica diretta di un sidro e di un vino nel corso della acetificazione. Valori espressi in mg/L. (S1-Sidro; S2-Sidro-aceto; S3-Aceto di sidro; VB1-Vino bianco; VB2-Vino bianco-aceto; VB3- Aceto di vino bianco; VBF-Aceto di vino bianco da Frings)

L'acetaldeide è un intermedio della bioossidazione acetica; l'incremento registrato nel campione VB2 (Tab.2) può essere imputato ad una temporanea carenza di ossigeno o ad un carattere metabolico specifico dei ceppi che hanno operato nel vino. Nel corso di prove di acetificazione con stipiti diversi su soluzioni di etanolo abbiamo registrato accumuli fino a 200 mg/L di acetaldeide all'inizio del processo, che regredivano fino a livelli normali quando la bioossidazione assumeva una velocità superiore.

Interessante l'andamento dell'acetato di etile (Tab.2). Nella fase intermedia si osserva un forte accumulo di estere in accordo con quanto osservato da Nieto *et al.* (1993). Questi

Autori indicano l'accumulo di acetato di etile come funzione della crescita cellulare, e che l'accumulo cesserebbe dal momento in cui la popolazione batterica raggiunge una stabilizzazione.

Nelle nostre prove i prelievi erano effettuati circa a metà del ciclo di acetificazione, quando la carica batterica si trovava in una fase stazionaria di crescita.

La formazione di acetato di etile è dovuta all'attività di una esterasi endocellulare degli *Acetobacter*. L'accumulo nel mezzo sfugge quindi alla legge di azione di massa e può portare rapidamente alla formazione di quantità anche superiori a quelle previste dall'equilibrio di esterificazione (Usseglio-Tomasset, 1985). Si può ipotizzare pertanto che la produzione di acetato di etile continui oltre la fase logaritmica di crescita cellulare e che il contenuto finale di questo estere sia conseguente a fenomeni idrolitici che tendano alla concentrazione prevista dell'equilibrio di esterificazione. La presenza di un maggiore residuo alcolico nel campione industriale (VBF) può spiegare la maggiore concentrazione di acetato di etile rispetto al campione ottenuto nell'impianto pilota (VB3; tabella 2).

Il contenuto in diacetile, in entrambi i substrati, subisce una flessione nel corso del processo, probabilmente imputabile alle mutate condizioni di pH e concentrazione di etanolo (Gresser, 1991), per tornare ad aumentare al termine del processo fino a valori prossimi o di poco superiori a quelli del prodotto di partenza. A spiegare la neoformazione possono contribuire sia l'ossidazione dell'acetoino che la produzione specifica da parte dei batteri. Il diacetile, sulla base di questa esperienza, si conferma un composto che fornisce indicazioni più sulla qualità e sul grado di sanità del vino base, piuttosto che sull'andamento dell'acetificazione.

La quantità di alcoli superiori che vengono ossidati è proporzionale a quella dell'alcol etilico ed è quindi risultata maggiore nell'aceto di vino. Gli alcoli superiori vengono ossidati con velocità decrescente all'aumentare del numero di atomi di carbonio se la catena è lineare, mentre fanno eccezione a questa regola quelli con catena ramificata.

Risulta così quasi completamente ossidato il *n*-propanolo, mentre l'alcol *iso*-amilico diminuisce percentualmente più dell'*iso*-butanolo. Ciò conferma le indicazioni di Asai, *loc cit.*, e le esperienze di Nieto et al., *loc. cit.*

Nel corso della acetificazione anche i polialcoli hanno subito l'ossidazione con un decremento della loro concentrazione variabile da un composto all'altro, normalmente contenuto tra il 5 e il 45% del valore iniziale (Tab.3).

	S1	S2	S3	VB1	VB2	VB3	VBF
Glicerina	3920	3910	3710	4720	3800	3600	3710
Eritritolo	35	33	30	122	93	98	90
Xilitolo	248	248	224	9	9	13	20
Arabitolo	62	40	37	267	244	341	469
Mannitolo	200	185	170	186	169	134	136
Sorbitolo	2387	2289	1967	67	129	43	27
scillo-Inositolo	268	152	145	80	70	48	50
mio-Inositolo	381	378	334	301	236	266	247

Tab. 3 - Evoluzione dei polialcoli di un sidro e di un vino nel corso della acetificazione. Valori espressi in mg/L. (S1-Sidro; S2-Sidro-aceto; S3-Aceto di sidro; VB1-Vino bianco; VB2-Vino bianco-aceto; VB3- Aceto di vino bianco; VBF-Aceto di vino bianco da Frings)

Considerato che la maggior parte dei polialcoli origina dalla materia prima agricola (inositolo, sorbitolo, xilitolo) o in parte dalla materia prima e in parte dai processi

fermentativi (mannitolo), si conferma la possibilità di utilizzare i polialcoli come indici di valutazione dell'origine degli aceti, ad esempio il sorbitolo per quelli di mele.

Nel caso del sidro utilizzato nella prova il contenuto di alcuni polialcoli era particolarmente elevato a causa dei processi di macerazione subiti nel corso della preparazione del sidro.

Per l'aceto di vino si è registrato un incremento dell'arabitolio anziché una diminuzione, sia nell'impianto pilota che in quello industriale. Probabilmente la presenza di lieviti a metabolismo ossidativo nello *starter* utilizzato può essere la causa dell'incremento segnalato.

L'esame dell'andamento delle concentrazioni degli amminoacidi permette di osservare come nelle condizioni sperimentali adottate, la loro metabolizzazione o l'ossidazione da parte dei batteri acetici sia limitata sia nel sidro che nel vino. In effetti gli *Acetobacter* non necessitano di particolari amminoacidi essendo in grado di utilizzare i sali di ammonio come fonte di azoto se contemporaneamente è presente una fonte di carbonio organico (Gandini e Gerbi, *loc cit.*). Il fatto che nel prodotto industriale (VBF) la concentrazione di tutti gli amminoacidi sia inferiore conferma le osservazioni degli Autori spagnoli (Llaguno, 1986) i quali hanno dimostrato che con l'aerazione più energica si verifica un consumo di amminoacidi maggiore. I valori riscontrati per gli amminoacidi sono in accordo con quelli di alcuni Autori stranieri (Nieto *et al.*, *loc. cit.*; Bourgeois, 1957), mentre risultano più elevati rispetto a quelli riscontrati da Seppi e Sperandio (1980). Va osservato in proposito che i nostri rilievi sono stati condotti su aceti non diluiti e non sottoposti a trattamento di chiarifica e stabilizzazione.

La prolina è risultata ancora una volta l'amminoacido più abbondante nel vino e nell'aceto di vino. Rimane confermata pertanto la sua importanza come indicatore dell'origine e dalla qualità degli aceti di vino.

	S1	S2	S3	VB1	VB2	VB3	VBF
Alanina	4	2	2	75	70	63	32
Valina	2	2	1	31	31	23	12
Glicina	3	2	1	57	50	47	27
Treonina	4	3	2	45	45	41	17
iso-Leucina	3	3	1	23	23	23	11
Leucina	20	13	28	47	51	44	26
Serina	7	5	6	52	52	56	26
Prolina	12	15	18	714	779	724	519
Ac. γ -Aminobutirrico	8	8	11	19	19	23	16
Idrossiprolina	19	13	31	13	13	16	7
Metionina	0	0	0	19	19	13	0
Acido aspartico/Asparagina	16	25	23	85	98	75	43
Fenilalanina	3	3	5	35	39	30	22
Acido glutammico/Glutammina	11	8	12	103	103	81	55
Tirosina	12	9	15	33	36	33	30
Lisina	5	5	4	85	85	88	33

Tab. 4 - Evoluzione degli amminoacidi di un sidro e di un vino nel corso della acetificazione. Valori espressi in mg/L. (S1-Sidro; S2-Sidro-aceto; S3-Aceto di sidro; VB1-Vino bianco; VB2-Vino bianco-aceto; VB3-Aceto di vino bianco; VBF-Aceto di vino bianco da Frings)

CONCLUSIONI

Pur con i limiti imposti dalle limitate dimensioni dell'esperimento, è stato possibile evidenziare l'evoluzione dei principali parametri analitici nel corso della acetificazione del sidro e del vino.

Alcuni parametri come l'acido tartarico, la prolina, i polialcoli, il metanolo, gli alcoli superiori subiscono nulle o limitate trasformazioni nel corso della bioossidazione. Pertanto le loro concentrazioni, pur con ampie variazioni in funzione della materia prima, possono essere utilizzate con una certa sicurezza nei modelli matematici destinati di caratterizzazione degli aceti di diversa origine.

Viceversa le concentrazioni di altri composti più direttamente influenzati dal metabolismo batterico, come l'acetoino, il diacetile e l'acetato di etile sono più adatti per valutare il grado di pregio del prodotto o per la caratterizzazione dal punto di vista biochimico di ceppi batteri selezionati, in quanto la variabilità della loro concentrazione è molto elevata.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS R.F. (1974) - Determination of amino acids profiles in biological samples by gas chromatography. *J. Chromat.*, 95, 189-212.

ANTONELLI A. (1994) - Ethanol determination by packed glc: a quick method with small sample amount and high sensitivity. *Wien Wissen*, 49, 4, 165-167.

ANTONELLI A., VERSARI A., CARNACINI A. (1994) - Liquid-liquid extraction of silylated polyalcohols from vinegar and their determination by capillary GC. *J. High Resol. Chromat.*, 17, 553-555.

ASAI T. (1968) - *Acetic acid bacteria* - University of Tokio Press, Tokio & University Park Press, Baltimora, pp. 343.

BOURGEOIS J. (1957) - Détermination chromatographique et microbiologique des acides aminés de différents vinaigres. *Trav. Chimie alim. Hygiène*, 48, 217-223.

COLAGRANDE O., MORELLI R. (1979) - Nuova tecnologia di produzione in continuo dell'aceto di vino. *Atti Accad. Ital. Vite e Vino*, 31, 193-202.

EBNER H., FOLLMANN H. (1983) - *Biotechnology* (H.J. Rehm and G. Reed ed.), vol. 3, pp 389-407, Verlag Chemie, Weinheim.

FERNANDEZ K., IRASTORZA A., DUENÁS M., BILBAO A. (1994) - Evolution de la population des bactéries acétiques au cours de l'élaboration du cidre au Pays basque (Espagne). *Sciences des aliments*, 14, 235-241.

GANDINI A., GERBI V. (1990) - Stato attuale delle conoscenze sui batteri acetici. *Quad. Vitic. Enol. Univ. Torino*, 14, 35-48.

GERBI V., TORTIA C. (1991) - Monitoraggio di zuccheri, etanolo, glicerolo e acidi principali nel corso di fermentazioni alcoliche mediante HPLC. Atti Simposio "La tecnica HPLC come strumento di studio e di controllo di qualità in enologia", Piacenza, 1 Marzo.

GRESSER A. (1991) - Il diacetile. Un problema tutt'ora di attualità. *Birra e malto*, 36, 40-45.

LLAGUNO C. (1986) - Le vinaigre de vin dans l'alimentation humaine. *Ind. Bevande*, 15, 209-217.

MARGHERI G., FALCIERI E. (1972) - Importanza dell'evoluzione delle sostanze polifenoliche nei vini rossi di qualità durante l'invecchiamento. *Vini d'Italia*, 81, 501-511.

MASTROCOLA D., LERICI C.R. (1991) - Colorimetric measurements of enzymatic browning in apple purees. *Ital. J. Food Sci.*, 3, 219-228.

Ministero Agricoltura e Foreste (1965) - *Metodi ufficiali di analisi per i mosti, i vini e gli aceti*. Istituto Poligrafico dello Stato, Roma.

NIETO J., GONZÁLEZ-VINÁS, BARBA P., MARTÍN ALVAREZ P.J., ALDAVE L., GARCIA ROMERO E., CABEZUDO M.D. (1993) - Recent progress in wine vinegar R&D and some indicators for the future - In "Food Flavors, Ingredient and Composition" (Charalambans G. Ed.), Elsevier Science Publishers B.V., New York.

PERI C., POMPEI C. (1980) - Fractionnement des composés phénoliques present dans le vins. F. V. O.I.V., n°726.

PIRINI A., CONTE L.S., FRANCIOSO O., LERCKER G. (1992) - Capillary gas chromatographic determination of free amino acids in honey as a means of discrimination between different botanical sources. *J. High Resol. Chromat.*, 15, 165-170.

PIVA M., LERICI C.R., DALLA ROSA M. (1986) - Non enzymatic browning (NER) in stored fruits derivatives. *Industrie alimentari*, 25, 277-283.

SEPPI A., SPERANDIO S. (1980) - Studio sulla composizione in aminoacidi liberi degli aceti. *Riv. Ital. Sci. Alim*, 9, 315-324.

SINGLETON V.L., ROSSI J.A. (1965) - Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic*, 16, 144-158.

USSEGLIO TOMASSET L. (1985) - *Chimica enologica* Ed. AEB, Brescia.