

**CONVEGNO 5**

**I CONTROLLI  
DI QUALITÀ  
DEI PRODOTTI VINICOLI**

**Lab2000Food**

Como, 15 Giugno 1998  
Collegio Gallio



## DISCRIMINAZIONE ZONALE E DELLE ANNATE DI PRODUZIONE CON METODI DI RICONOSCIMENTO ISOTOPICO E CON ANALISI CHIMICHE DI BASE PER CREAZIONE DI BANCHE DATI

Daniela Depentori, Roberto Larcher, Ambrogio Monetti e Giuseppe Versini  
Istituto Agrario di San Michele all'Adige (TN)

### Introduzione

L'origine geografica continua ad esercitare un'indubbia attrattiva commerciale tanto da determinare tipologie di prodotto che la richiamano esplicitamente quali i vini da tavola ad indicazione geografica tipica o i vini di qualità prodotti in regioni determinate.

Un significativo progresso nel controllo dell'origine dei vini così come di eventuali sofisticazioni (per es. zuccheraggio e annacquamento) è stato ottenuto con l'applicazione dell'analisi del contenuto in alcuni isotopi stabili [1-15].

Metodi strumentali sempre più accessibili, precisi ed accurati hanno consentito di misurare variazioni assai contenute del rapporto tra gli isotopi minoritari e quelli più abbondanti.

L'attenzione si è concentrata principalmente sui rapporti degli elementi coinvolti nei processi biosintetici quali idrogeno (D/H), carbonio ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), ossigeno ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) e azoto ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ).

Le variazioni osservate vengono espresse o in parti per milione (ppm), come nel caso del D/H misurato mediante spettroscopia di risonanza magnetica nucleare in diverse posizioni della molecola (SNIF- $^2\text{H}$  NMR) o come differenza fra il valore riscontrato nel campione rispetto ad uno standard internazionale. In questo secondo caso (ad esempio i parametri analizzati mediante spettrometria di massa isotopica IRMS), la differenza viene rapportata allo standard e moltiplicata per mille e le variazioni si esprimono quindi come ‰.

Queste variazioni possono essere imputabili a fenomeni fisici (termodinamici) - che determinano le caratteristiche isotopiche, per la zona di coltivazione, dell'acqua sia di superficie che di falda, e dell'anidride carbonica atmosferica, tutti elementi coinvolti nella fotosintesi -, ed a fenomeni fisici e chimico-cinetici (reattività) che controllano rispettivamente l'evotraspirazione e la biosintesi [16].

I rapporti isotopici dell'idrogeno e dell'ossigeno dipendono dal ciclo dell'acqua a livello planetario [17]: l'evaporazione, particolarmente intensa all'equatore, impoverisce la fase vapore degli isotopi più pesanti i quali vengono ulteriormente frazionati nel corso delle precipitazioni, che sono invece più ricche in isotopi più pesanti.

Un frazionamento grossolano di tipo geografico, dovuto alla rotazione terrestre, influenza particolarmente il rapporto D/H in quanto il deuterio ha un peso doppio rispetto all'idrogeno, differenza che non si riscontra per gli altri elementi. Nel ghiaccio dell'Antartide si ha un contenuto di deuterio pari a 89 ppm mentre all'equatore, con 175 ppm, la situazione è esattamente opposta; vi è pertanto un impoverimento progressivo incrementando la latitudine.

Sono state anche derivate relazioni generali che interconnettono i valori di D/H con quelli di  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  nell'acqua dalle quali emerge come l'arricchimento isotopico dell'ossigeno sia mediamente pari a circa 1/8 di quello dell'idrogeno.

Il rapporto  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  dell'anidride carbonica utilizzata nella fotosintesi è tendenzialmente più omogeneo a livello planetario in quanto si tratta di un gas. Il valore medio è di circa -8‰ e le variazioni sono connesse a fenomeni localizzati quali vicinanza a centri urbani e industriali, contenuto in sostanza organica nei suoli, prossimità di boschi estesi, nonché a fenomeni che determinano l'intensità del rimescolamento atmosferico quali la ventosità. Fondamentale invece

è la selezione cinetico-chimica esercitata dai due cicli fotosintetici dominanti [18], quello a  $C_3$  o di Calvin, tipico delle piante delle zone temperate quali vite e molte piante da frutto, e quello a  $C_4$  o di Hatch-Slack, peculiare invece delle piante tropicali quali canna e mais, e tale da far separare nettamente i valori di  $^{13}C/^{12}C$  dei due gruppi.

### Utilizzo delle tecniche isotopiche

Le caratteristiche isotopiche dello zucchero ottenuto dalla fotosintesi vengono trasferite all'alcool e su esso potranno essere valutate in toto o, come per il deuterio nel metodo Martin, anche su parti della molecola quali la posizione metilica ( $D/H_1$ ) e metilenica ( $D/H_2$ ). Questo metodo è stato riconosciuto nel 1987 dall'O.I.V. [19] e nel 1990 dalla Comunità Europea (Reg. CEE n. 2676/90) [20] quale metodo ufficiale per determinare l'arricchimento dei mosti e derivati con zucchero di bietola e ha trovato anche applicazione nella conferma dell'aggiunta di zuccheri da piante  $C_4$ . Quest'ultima è peraltro determinabile mediante spettrometria di massa del rapporto  $^{13}C/^{12}C$  sull'intera molecola di etanolo [21-24].

Nel metodo SNIF  $^2H$ -NMR la variazione del rapporto  $D/H$  sul metile ( $D/H_1$ ) dell'etanolo relativa all'isotopomero  $CH_2D-CH_2-OH$  è la più utile riguardo l'origine botanica e geografica dello zucchero, mentre quella del metilene ( $D/H_2$ ), relativa all'isotopomero  $CH-CHD-OH$ , è più influenzata dal contenuto in deuterio del mezzo di fermentazione.

L'annacquamento, spesso combinato con lo zuccheraggio, può essere scoperto con l'analisi del contenuto in deuterio dell'acqua ( $D/H_w$ ) o, più comunemente, dal rapporto isotopico  $^{18}O/^{16}O$  dell'acqua stessa.

Questo metodo è stato riconosciuto nel 1997 dalla Comunità Europea (Reg. CEE n. 822/97).

### Le banche dati nazionali

La variazione delle caratteristiche isotopiche, in particolare del deuterio inclusa l'acqua di vegetazione, ha consentito una separazione fra aree viticole geograficamente differenziate, in particolare fra stati e regioni climaticamente diversi [25].

In ogni caso, per l'impiego pratico di questi metodi è indispensabile la disponibilità di adeguate banche dati di riferimento, così come stabilito, ad esempio per il deuterio (Reg. CEE n. 2347/91) [26].

Nel caso italiano le banche dati per  $D/H$  e  $^{13}C/^{12}C$  sono state costituite a partire dalla vendemmia 1987 mentre dal 1991 si dispone di quella anche per il rapporto  $^{18}O/^{16}O$ .

Queste banche dati, con oltre 500 campioni per anno, sono state formalmente validate, per quanto riguarda  $D/H$ , da una specifica commissione della Comunità Europea a partire dalla vendemmia 1991 (Reg. CEE n. 2348/91) [27].

In quella sede sono stati effettuati test di confronto di misure su parte dei campioni, avendo come riferimento il Centro Comunitario di Ricerca di Ispra. Le banche dati così riconosciute sono a disposizione dei centri ufficiali di controllo CEE.

La variabilità del  $D/H_1$  oscilla, nel caso dei vini italiani, fra 98 e 107 ppm mentre  $D/H_2$  è compreso fra 122 e 137 ppm [29]. La valutazione dei parametri non può essere disgiunta dalle finalità antisofisticative; è opportuno ricordare che il rapporto  $D/H_1$  medio della bietola è intorno a 92 ppm mentre quello della canna e dei masi è prossimo a 110 ppm [20].

Ne consegue che, se è relativamente semplice ricostruire frodi anche limitate qualora esista un riferimento con il quale confrontarsi [30], la verifica diventa molto più complessa qualora non si

disponga di campioni di riferimento e le alterazioni dei parametri isotopici rimangano all'interno della variabilità naturale di uno specifico contesto. In questo secondo caso è raccomandabile controllare sempre il livello di  $^{13}\text{C}$  dell'etanolo che potrebbe esser stato aggiunto di zucchero di piante  $\text{C}_4$ . Questa misura non è sensibile ad altre sofisticazioni in quanto la bietola non differisce dalla vite e dalle altre piante  $\text{C}_3$  per il suo contenuto in  $^{13}\text{C}$  nell'etanolo.

Nel caso del  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  vi è una variabilità sia nazionale sia regionale piuttosto ampia in quanto si passa da valori di -23‰ nelle regioni meridionali per arrivare a -28‰ in quelle settentrionali. Anche in questo caso, per gli aspetti antisofisticativi, se si considera un valore medio pari a -10‰ per l'alcool delle piante  $\text{C}_3$ , l'arricchimento potenziale con questo tipo di zuccheri può essere stimato in rapporto alla variabilità di una determinata area.

Anche il rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  varia entro limiti piuttosto grandi fra -3‰ circa del Nord e 9‰ del Sud (il rapporto isotopico dell'acqua di fonte varia tra -10 e -6‰ fra Nord e Sud). Questo rapporto, a differenza degli altri, può essere pesantemente influenzato da fattori climatici, anche di breve durata, quali le precipitazioni durante l'epoca di raccolta.

## Materiali e metodi

Le analisi sono state eseguite interamente presso il Laboratorio dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige su campioni appartenenti alle banche dati ufficiali italiane.

Il campionamento delle uve è stato effettuato in vigneto da funzionari dei vari Uffici periferici dell'Ispettorato Centrale Repressione Frodi secondo le disposizioni CEE, registrando i dati catastali, agronomici e di maturazione delle uve.

Il campionamento è sufficientemente numeroso per la maggior parte delle regioni (in media sono stati raccolti fra i 20 e i 50 campioni per anno) in funzione della produzione e rappresentativo delle varietà più diffuse.

Quest'ultime sono state vinificate in laboratorio secondo le indicazioni comunitarie (riducendo al minimo i trattamenti tecnologici, salvo l'aggiunta del bisolfito di potassio).

Un'aliquota dei vini così ottenuti viene sottoposta a distillazione esaustiva dell'alcool (resa superiore al 95%) con il distillatore Bullio.

L'analisi sitospecifica del deuterio sull'alcool è stata effettuata con uno strumento NMR Bruker AMX 400 dotato di auto campionatore.

Il rapporto  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  dell'etanolo e il  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  dell'acqua del vino sono stati misurati con uno spettrometro di massa isotopica SIRA II VG, anch'esso dotato per analisi seriali.

Per la determinazione del magnesio nel vino si è utilizzato uno spettrometro di assorbimento atomico in fiamma Varian SpectrAA - 10 plus secondo il metodo CEE (Reg. CEE 2676/90).

La determinazione del sodio è stata effettuata mediante fotometro a fiamma 410 Corning [31].

Le misure dei cloruri sono state condotte mediante cromatografo ionico Dionex DX100, con utilizzo della colonna PAX 100.

Le diluizioni sono state eseguite con acqua di resistività superiore a  $15\text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ .

L'analisi statistica dei dati è stata condotta con SAS 6.09 [28] su un elaboratore Digital/1000-333A con sistema operativo Digital Unix.

## Discriminazione zonale

Nella tabella 1 sono riportati i valori medi e le deviazioni standard dei parametri  $\text{DH}_1$ ,  $\text{DH}_2$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  per le diverse regioni nelle annate 1994-1996.

Dalla lettura dei dati si può verificare che i rapporti D/H e per il  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  per ogni regione si mantengono relativamente costanti nelle varie annate, mentre questo non si verifica per  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ , in alcune regioni, a causa di certe peculiarità climatiche.

I confronti a coppie (test di Tukey) fra le medie dei parametri isotopici delle diverse regioni per le vendemmie 1994-1997 (tabelle 2a e 2b) confermano [32] la diversa capacità di discriminare la regione d'origine dei differenti rapporti isotopici.

In quest'ottica D/H<sub>i</sub> e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  sono i più significativi in quanto originano un numero elevato di gruppi tra loro poco sovrapposti, mentre  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e D/H<sub>e</sub> formano gruppi molto ampi e sovrapposti, e confermano il loro scarso potere discriminante.

Si è cercato in questi ultimi anni di incrementare la capacità di discriminazione circa l'origine geografica integrando i parametri ottenuti dalle tecniche isotopiche e dalle tecniche analitiche "classiche".

Questa strada, così come risulta da lavori sulla caratterizzazione di mosti e vini provenienti da varie regioni francesi [33, 34], ha permesso di migliorare significativamente la discriminazione tra le regioni di produzione dei mosti e dei vini.

In questo lavoro si è cercato di migliorare la capacità di discriminazione geografica dei vini, anziché dei mosti, tramite l'utilizzo della tecnica dell'analisi statistica multivariata basata sia sui parametri isotopici che su quelli minerali.

### **Determinazione dei componenti minerali**

La determinazione del contenuto dei componenti minerali può, solitamente, essere considerato un valido strumento per la valutazione delle origine di un vino [35] da soli o in abbinamento con altri parametri chimici, non escludendo un possibile effetto annata [36].

Tali componenti non sono infatti soggetti a processi di metabolizzazione e per alcuni di essi, fra cui i cationi Na e Mg e l'anione cloruro, non sono significative le variazioni durante i processi tecnologici di elaborazione [37].

Vari studi sono stati inoltre condotti al fine di investigare se la distribuzione dei suddetti componenti fosse significativamente diversa tra i tessuti dell'acino, epicarpo e mesocarpo, così da indurre a seconda della tecnica di pigiatura una differenza nella composizione stessa del mosto e quindi del vino [38, 39].

E' stata inoltre documentata la correlazione tra il contenuto di sodio e di cloruro nei vini in funzione dell'altitudine, della localizzazione costiera o meno dei vigneti, nonché dell'origine vulcanica dei suoli [40].

Quindi, poiché la natura di un vino è legata alla particolare composizione pedologica, l'utilizzo dei dati di composizione minerale dei vini in relazione alla determinazione della loro origine geografica è largamente riportata in letteratura. A questo fine in particolare è risultato efficace l'utilizzo dell'analisi multivariata di tali dati nella determinazione dell'origine geografica di differenti vini spagnoli [41-43].

### **Risultati**

Nella tabella 3 sono riportati i valori medi e le deviazioni standard dei parametri Mg, Na e Cl per le diverse regioni nelle annate 1994-1997 (per le annate 1994 e 1995 sono disponibili solo i dati di Mg).

Il confronto dei valori in una regione in annate diverse evidenzia che c'è una costanza per il valore di Na nelle due annate 1996 e 1997 (figura 1a).

Dalla fig. 1b si può osservare l'andamento per i cloruri e nella fig. 1c quello del magnesio nelle annate 1994-1997.

Per mettere in evidenza l'importanza o meno dei parametri minerali nella discriminazione regionale, sono state condotte analisi multivariate parallele con e senza tali valori.

In tabella 4a è riportata la riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1996 tenendo conto dei soli parametri isotopici ( $D/H$ ,  $D/H$ ,  $^{13}C/^{12}C$  e  $^{18}O/^{16}O$ ).

In tabella 4b è invece riportata la stessa riclassificazione tenendo però conto anche dei parametri minerali (Na, Mg, Cl).

Si può osservare che, fatta eccezione per le Marche, si ha un generale e sostanziale miglioramento delle riattribuzioni tenendo conto anche dei parametri minerali. In particolare per la Calabria si passa dal 40 al 87%, per la Lombardia dal 21 al 52% e per la Toscana dal 2 al 38%.

L'errore medio della riclassificazione si riduce significativamente dal 48 al 28%.

Nelle tabelle 5a e 5b sono riportate le analoghe riclassificazioni per l'annata 1997.

Anche in questo caso si può osservare un generale miglioramento, come già osservato per il 1996, nelle riattribuzioni, con una sensibile diminuzione dell'errore medio dal 56 al 33%.

Dall'analisi discriminante stepwise per le annate 1996 e 1997 si può evidenziare che per entrambe le annate il  $^{18}O/^{16}O$  risulta la variabile più significativa, seguita dal ( $D/H$ ).

I parametri minerali, pur risultando sempre tutti significativi, si presentano, nelle due annate con un diverso ordine di importanza, in particolare nel 1996 i cloruri risultano più significativi di sodio e magnesio, invece nel 1997 il sodio è il parametro minerale più significativo.

Il  $\delta^{13}C$  conferma, per entrambe le annate, la sua scarsa importanza nella discriminazione zonale.

I confronti a coppie (test di Tukey) fra le medie dei parametri minerali delle diverse regioni per le vendemmie 1996-1997 (tabella 6) confermano la bassa capacità di discriminare la regione d'origine dei differenti parametri minerali considerati singolarmente (si formano infatti gruppi ampi e parzialmente sovrapposti).

In realtà, in Italia, la coltivazione della vite è un continuum e una separazione su base regionale o climatica (quali, ad esempio, le macrozone CEE C1b per il Nord, C1Ib per il Sud, CII per le altre regioni) è in qualche misura artificiosa.

Può risultare quindi interessante una riclassificazione per macrozone (regione + regioni confinanti).

Nelle tabelle 7a,b e 8a,b sono riportate le riclassificazioni mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane per gli anni 1996 e 1997 considerando tali macrozone.

Ovviamente, per entrambe le annate, si ha un notevole miglioramento della riclassificazione mediante i parametri isotopici (gli errori medi passano dal 48 al 25% per il 1996 e dal 56 al 38% per il 1997).

Con l'apporto dei parametri minerali si scende ad un errore del 14% per il 1996 e del 21% per il 1997.

## Conclusioni

Dai risultati emerge che l'estensione della banca dati anche ad altri parametri (quali ad esempio quelli minerali) migliora la determinazione della regione di origine dei campioni di vino.

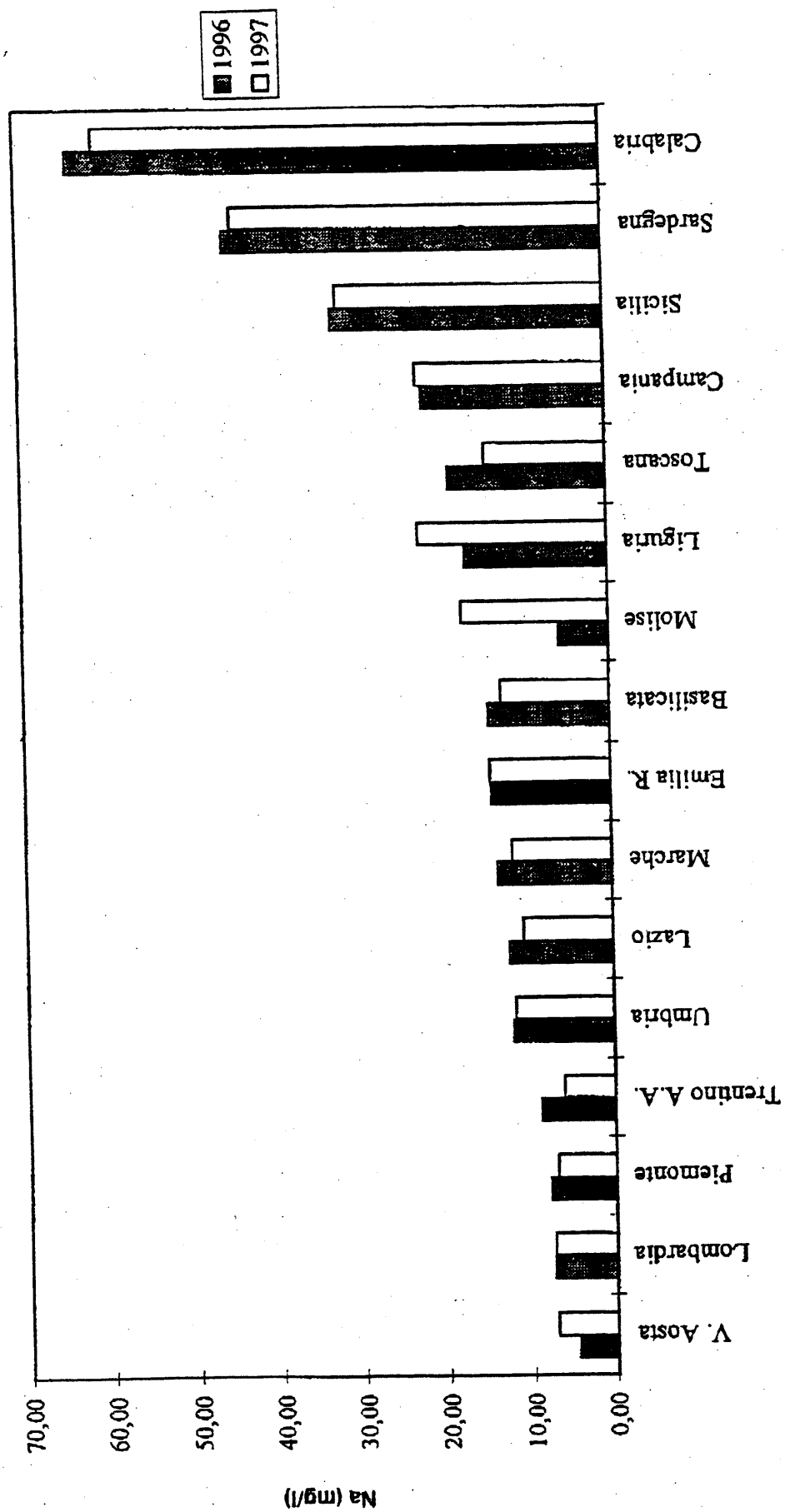
## Bibliografia

1. Epstein S., Mayed T., *Geochim. Cosmochim. Acta* 1953, 4, 213-224
2. Bender M., *Phytochemistry* 1971, 10, 1239-1244
3. Smith B.N., Epstein S. *Plant Physiol.* 1971, 47, 380-384
4. Smith B.N. *Naturwissenschaften* 1975, 47, 380-384
5. Bricout J. *Ass. Anal. Chem.* 1973, 56, 739-742
6. Schmidt E.R., Fogy I., Schwarz P.Z. *Lebensm. Unters.-Forsch* 1978, 34c, 1-4
7. Rauschenbach P., Simon H., Stichler W., Moser H.Z. *Naturforsch* 1979, 34c, 1-4
8. Bricout J. In *stable isotopes*: Schmidt H.L., Förstel H., Keinzinger K., Eds. Elsevier, Amsterdam 1982, 483-493
9. Dunbar J. In *stable isotopes*: Schmidt H.L., Förstel H., Keinzinger K., Eds. Elsevier, Amsterdam, 1982, 495-501
10. Martin G.J., Martin M.L., Mabon F., *Anal. Chem.* 1982, 54, 2380-2382
11. Dunbar J., Schmidt H.L., Woller R., *Vitis* 1983, 22, 375-386
12. Förstel H., Hützen H., *Weinwirtschaft-Technik* 1984, 120/3, 71-76
13. Roßmann A., Schmidt H.-L., *Lebensm. Unters.-Forsch* 1989, 188, 434-438
14. Förstel H., *Naturwissenschaften* 1985, 72, 449-455
15. Förstel H., *Weinwirtschaft-Technik* 1986, 122/5, 202-208
16. Galimov E.M., *The biological fractionation of isotopes*; Accademic Press, New York 1985
17. IAEA/UNESCO *Stable isotope hydrology. Deuterium and oxygen-18 in the water cycle*; Gat J.R. and Gonfiantini R. Eds; International Atomic Agency, Vienna 1981
18. Rundel P.W., Ehleringer J.R.; Nagy K.A. *Stable isotopes in ecological research*; Springer Verlag, New York 1988
19. Martin G.J., Brun S. *Bull. OIV* 1987, 671-672, 131-145
20. EC Regulation n° 2676/90, *Official Jurnal of the European Communities* 1990, L272, 64-73
21. Bricout J., Fontes J.C., Merlivat L. *Ind. Alim. Agric.* 1975, 92, 375-378
22. Bricout J., Koziat J. In *D.G.R.S.T. Compte-rendu de fin de contrat N° 75-70-370*, 1979
23. Roßmann A., Schmidt H.-L., Reniero F., Versini G. *Lebensm. Unters.-Forsch* 1996
24. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, Serie Generale* n°95, 24 aprile 1993, Decreto del 16 febbraio 1993, 18-19
25. Martin G.J., Guillou C., Martin M.L., Cabanis M.T., *Agric. Food Chem.* 1988, 36, 316-322
26. EC Regulation n°2347/91, *Official Jurnal of the European Communities* 1991, L214, 32-38
27. EC Regulation n°2348/91, *Official Jurnal of the European Communities* 1991, L214, 39-43
28. SAS Institute Inc. *SAS/STAT User's Guide, Version 6*; SAS Institute Inc. Cary NC 1989
29. Monetti A., Reniero F., Versini G., *Lebensm. Unters.-Forsch* 1994, 199, 311-316;  
Monetti A., Versini G., Reniero F., *Food Flavors Generation, Analysis and Process Influence*, 1995, 1723-1730 Ed. Charalambous
30. Martin G.J., Guillou C., Naulet N., *Sci. Aliments* 1986, 6, 385-405
31. Riberau-Gayon J., *Sciences et techniques du vin - Tome 1* 1982 Ed. Dunod
32. Versini G., Monetti A., Reniero F., *ACS Symposium Series* 661, Cap.10, 113-130
33. Martin P. D., Zhang B., Martin G., *Am. J. Enol. Vitic.* 1994, 45, 79-85
34. Martin P. D., Zhang B., Martin G., *J. Sci. Food Agric.* 1995, 67, 113-123
35. Moret I., Di Leo F., Giromini V., Scraponi G. *J. Agric. Food Chem.* 1991, 39, 1764-1769
36. Seeber R., Sferlazzo G., Lcardi R., Dalla Serra A. And Versini G., *J. Agric. Food Chem.* 1984, 32, 329-333
37. Etievant P., Schlich P., Bouvier J.C., Symonds P., Bertrand A., *J. Sci. Food Agric.* 1988,

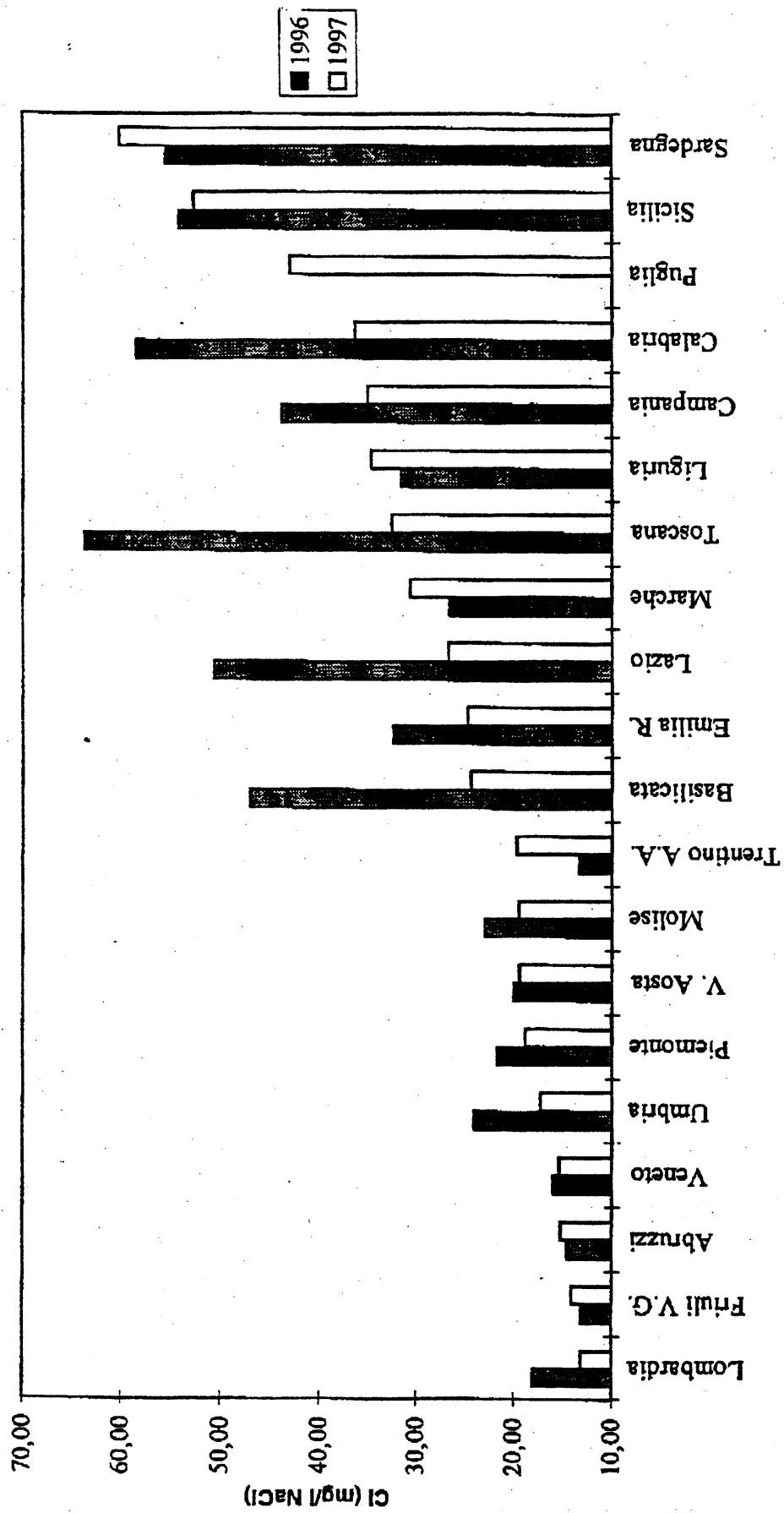
45, 25-41

38. Iland P.G., Coombe B.G., Am. J. Enol. Vitic, 1988, 39, 71-76
39. Possner D.R.E., Kliwer W.M., Vitis 1985, 24, 229-240
40. Salaha-Moutsopoulou M.J., Voudouri-Tsoukala M., Bull. De l' O.I.V., 1991, 723-724, 362-388
41. Herrero-Latorre C., Medina B. J. Int. Sciences de la Vigne et du Vin 1990, 4, 147-156
42. Latorre M., Herrero C., Medina B., J. Int. Sci. Vigne Vin 1992, 3, 185-193
43. Latorre M., Garcia-Jares C., Medina B., Herrero C., J. Agric. Food Chem 1994, 42, 1451-1455

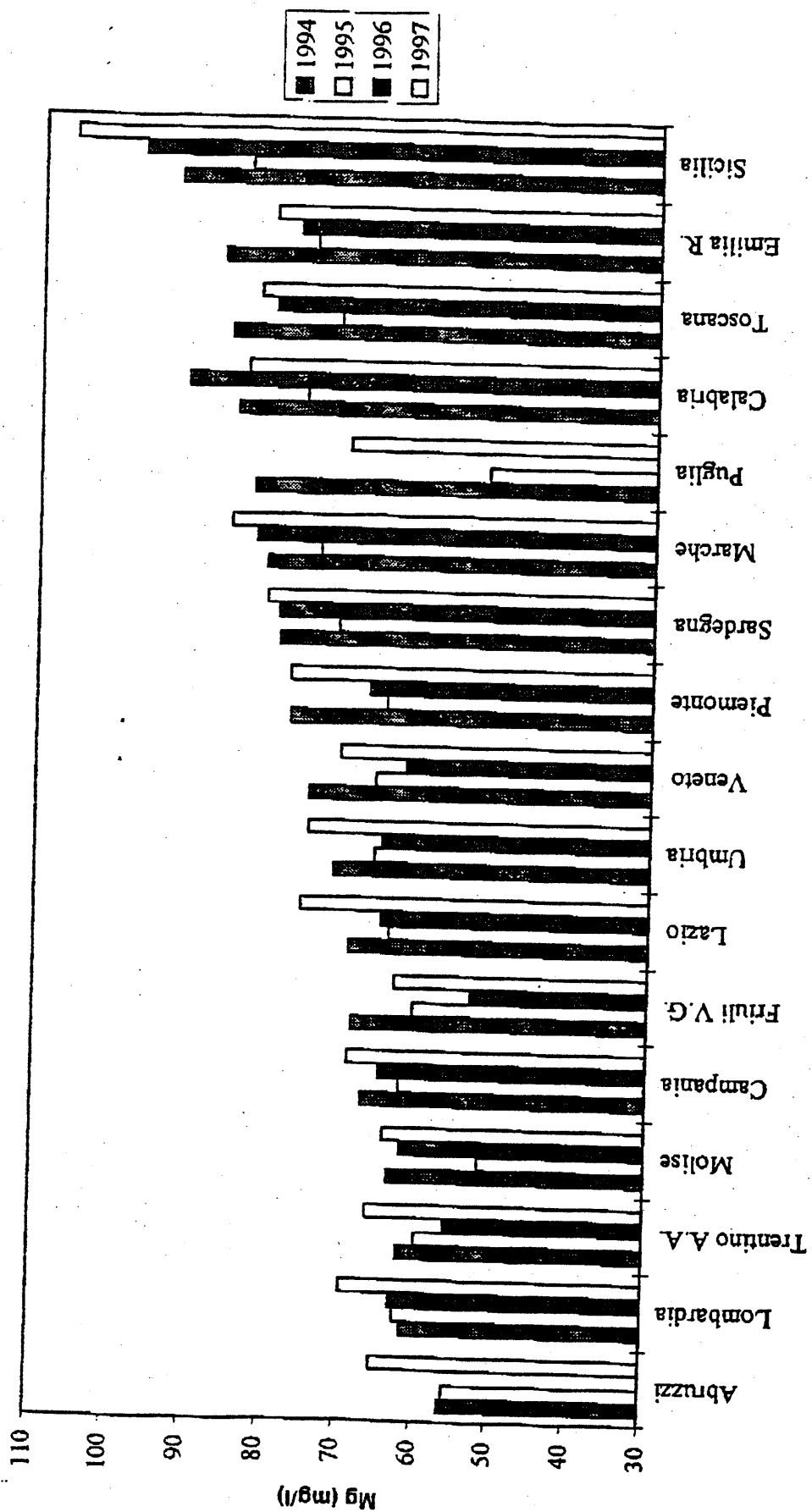
Fig. 1a  
Variazione del sodio nelle annate 1996 e 1997



**Fig. 1b**  
**Variazione dei cloruri nelle annate 1996 e 1997**



**Fig. 1c**  
**Variazione del magnesio nelle annate 1994-1997**



Tab. 1

Medie e deviazioni standard dei rapporti isotopici dell'idrogeno D/H e del carbonio nell'etanolo e dell'ossigeno sull'acqua per le diverse regioni nelle diverse annate

| Regioni        | DH <sub>1</sub> (ppm) |        |        | DH <sub>2</sub> (ppm) |        |        | <sup>13</sup> C (‰ V-PDB) |        |        | <sup>18</sup> O (‰ V-SMOW) |       |       |
|----------------|-----------------------|--------|--------|-----------------------|--------|--------|---------------------------|--------|--------|----------------------------|-------|-------|
|                | 1994                  | 1995   | 1996   | 1994                  | 1995   | 1996   | 1994                      | 1995   | 1996   | 1994                       | 1995  | 1996  |
| ABRUZZI        | 103.36                | 101.87 | 101.64 | 129.11                | 128.13 | 127.22 | -24.87                    | -26.22 | -26.25 | 5.48                       | 0.86  | 0.72  |
|                | 1.03                  | 0.81   | 1.00   | 1.86                  | 1.86   | 3.42   | 0.68                      | 0.85   | 1.00   | 1.72                       | 0.76  | 1.01  |
| BASILICATA     | 104.52                | 103.70 | 103.63 | 130.90                | 125.28 | 123.57 | -25.39                    | -27.60 | -26.80 | 5.43                       | 3.24  | 1.57  |
|                | 0.67                  | 0.78   | 0.63   | 1.42                  | 3.04   | 2.33   | 1.22                      | 0.95   | 1.05   | 1.87                       | 1.15  | 1.33  |
| CALABRIA       | 104.59                | 103.29 | 103.59 | 131.86                | 129.93 | 129.53 | -26.61                    | -26.79 | -27.01 | 6.67                       | 3.42  | 2.83  |
|                | 1.14                  | 0.98   | 1.12   | 0.88                  | 2.26   | 2.47   | 0.99                      | 0.99   | 1.05   | 0.95                       | 0.90  | 1.29  |
| CAMPANIA       | 102.98                | 102.71 | 102.06 | 129.42                | 131.15 | 129.82 | -26.37                    | -27.39 | -27.11 | 3.34                       | 2.49  | 1.11  |
|                | 0.77                  | 1.19   | 1.06   | 2.50                  | 2.97   | 1.07   | 1.13                      | 0.73   | 1.10   | 1.48                       | 0.95  | 1.31  |
| EMILIA         | 101.54                | 99.75  | 99.20  | 128.57                | 129.40 | 127.45 | -26.89                    | -27.79 | -27.91 | 1.72                       | 0.00  | -0.84 |
|                | 1.11                  | 0.88   | 1.14   | 2.15                  | 0.96   | 1.31   | 0.68                      | 0.49   | 0.62   | 1.50                       | 0.54  | 0.98  |
| FRIULI V. G.   | 102.37                | 100.59 | 101.37 | 130.53                | 129.68 | 126.79 | -25.81                    | -27.10 | -27.52 | 1.43                       | -0.53 | 0.57  |
|                | 1.18                  | 1.28   | 1.36   | 1.70                  | 1.77   | 1.28   | 0.99                      | 0.73   | 0.49   | 1.03                       | 0.73  | 1.36  |
| LAZIO          | 103.50                | 102.11 | 102.76 | 132.23                | 129.30 | 128.39 | -25.77                    | -27.09 | -26.85 | 4.80                       | 1.98  | 1.64  |
|                | 1.32                  | 1.65   | 1.08   | 1.68                  | 2.76   | 2.58   | 0.84                      | 0.87   | 1.02   | 1.01                       | 1.06  | 1.50  |
| LIGURIA        | 101.60                | 101.53 | 102.21 | 129.28                | 128.57 | 127.62 | -26.04                    | -26.95 | -26.66 | 2.02                       | 0.77  | 2.34  |
|                | 1.03                  | 0.94   | 1.37   | 0.97                  | 1.49   | 2.73   | 0.95                      | 1.25   | 1.04   | 0.79                       | 1.04  | 1.11  |
| LOMBARDIA      | 100.79                | 99.98  | 99.42  | 128.22                | 127.36 | 126.83 | -26.50                    | -27.37 | -27.86 | 1.12                       | -0.05 | -0.27 |
|                | 0.96                  | 0.81   | 1.02   | 1.30                  | 0.96   | 1.42   | 1.42                      | 0.97   | 0.84   | 1.90                       | 1.22  | 1.15  |
| MARCHE         | 101.86                | 101.62 | 101.04 | 129.77                | 129.36 | 127.88 | -26.43                    | -27.54 | -27.61 | 2.61                       | 1.07  | -0.57 |
|                | 0.97                  | 1.31   | 1.17   | 1.53                  | 1.59   | 1.63   | 1.01                      | 0.79   | 0.82   | 1.34                       | 0.64  | 1.19  |
| MOLISE         | 103.47                | 103.26 | 102.19 | 129.86                | 128.47 | 128.64 | -25.63                    | -26.54 | -26.88 | 4.63                       | 1.75  | 1.19  |
|                | 0.89                  | 1.75   | 1.27   | 1.01                  | 1.13   | 1.61   | 1.12                      | 0.64   | 0.90   | 1.13                       | 1.56  | 0.72  |
| PIEMONTE       | 100.36                | 100.00 | 99.51  | 128.68                | 127.49 | 127.34 | -26.50                    | -27.37 | -27.75 | 0.70                       | -0.74 | -0.47 |
|                | 1.13                  | 1.04   | 1.06   | 1.88                  | 1.40   | 1.84   | 1.07                      | 0.95   | 0.81   | 1.45                       | 0.99  | 1.33  |
| PUGLIA         | 104.00                | 102.75 | 102.82 | 129.37                | 127.45 | 128.76 | -24.87                    | -26.09 | -26.08 | 6.75                       | 1.83  | 2.38  |
|                | 1.06                  | 1.13   | 1.15   | 2.43                  | 2.14   | 2.11   | 1.00                      | 0.99   | 0.83   | 1.05                       | 1.03  | 1.65  |
| SARDEGNA       | 103.54                | 102.77 | 103.27 | 130.74                | 129.47 | 129.29 | -25.51                    | -25.54 | -25.77 | 6.33                       | 4.22  | 3.92  |
|                | 1.13                  | 1.57   | 1.74   | 2.46                  | 2.18   | 1.79   | 1.09                      | 1.11   | 1.09   | 1.71                       | 1.37  | 1.18  |
| SICILIA        | 104.64                | 104.11 | 103.93 | 131.90                | 129.63 | 131.12 | -25.32                    | -25.75 | -26.31 | 7.55                       | 3.90  | 4.76  |
|                | 1.47                  | 1.48   | 1.16   | 2.62                  | 2.89   | 2.50   | 0.79                      | 1.03   | 0.75   | 1.55                       | 1.72  | 1.32  |
| TOSCANA        | 102.17                | 101.04 | 101.48 | 130.10                | 129.48 | 128.37 | -25.91                    | -27.19 | -27.02 | 4.16                       | 1.49  | 1.32  |
|                | 1.45                  | 1.09   | 1.20   | 1.98                  | 1.50   | 1.81   | 1.15                      | 1.22   | 0.91   | 1.01                       | 0.94  | 1.29  |
| TRENTINO A. A. | 100.90                | 99.15  | 100.19 | 127.02                | 125.83 | 125.95 | -26.96                    | -27.33 | -27.74 | 0.52                       | -1.33 | 0.03  |
|                | 0.60                  | 1.10   | 0.85   | 1.71                  | 1.75   | 1.21   | 0.80                      | 0.75   | 0.61   | 1.16                       | 0.70  | 1.07  |
| UMBRIA         | 102.14                | 100.86 | 100.99 | 132.02                | 132.70 | 129.39 | -26.79                    | -27.92 | -27.87 | 3.65                       | 1.69  | 1.03  |
|                | 1.31                  | 0.89   | 0.94   | 2.20                  | 1.43   | 1.28   | 0.89                      | 1.00   | 0.96   | 1.36                       | 0.68  | 1.05  |
| VALLE D'AOSTA  | 100.98                | 99.97  | 100.78 | 126.01                | 126.78 | 126.69 | -27.02                    | -26.70 | -26.53 | 1.21                       | -0.23 | 2.21  |
|                | 0.14                  | 0.63   | 0.76   | 0.16                  | 0.88   | 2.19   | 0.17                      | 1.00   | 0.52   | 0.69                       | 0.77  | 2.15  |
| VENETO         | 102.27                | 100.64 | 100.71 | 129.58                | 129.18 | 126.11 | -26.06                    | -27.14 | -27.42 | 1.00                       | -0.24 | 0.02  |
|                | 1.26                  | 1.21   | 1.26   | 2.58                  | 1.51   | 1.87   | 1.08                      | 0.71   | 0.90   | 1.14                       | 0.81  | 1.25  |

**Tab. 2a**

**Confronti a coppie (test di Tukey) fra le medie dei parametri isotopici delle diverse regioni sulle annate 1994-1997**

| $(D/H)_I$ |               | $(D/H)_{II}$ |               |
|-----------|---------------|--------------|---------------|
|           | Sicilia       |              | Umbria        |
|           | Calabria      |              | Sicilia       |
|           | Puglia        |              | Campania      |
|           | Basilicata    |              | Calabria      |
|           | Sardegna      |              | Sardegna      |
|           | Molise        |              | Lazio         |
|           | Lazio         |              | Toscana       |
|           | Campania      |              | Marche        |
|           | Liguria       |              | Emilia R.     |
|           | Abruzzi       |              | Molise        |
|           | Toscana       |              | Liguria       |
|           | Friuli V.G.   |              | Friuli V.G.   |
|           | Marche        |              | Puglia        |
|           | Umbria        |              | Piemonte      |
|           | Veneto        |              | Abruzzi       |
|           | V. Aosta      |              | Veneto        |
|           | Trentino A.A. |              | Lombardia     |
|           | Piemonte      |              | V. Aosta      |
|           | Emilia R.     |              | Trentino A.A. |
|           | Lombardia     |              | Basilicata    |

*Quelle unite dallo stesso segmento non sono significativamente diverse;  $\alpha = 5\%$*

**Tab. 2b**

**Confronti a coppie (test di Tukey) fra le medie dei parametri isotopici delle diverse regioni sulle annate 1994-1997**

| $\delta^{13}\text{C}$ |               | $\delta^{18}\text{O}$ |               |
|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|
|                       | Molise        |                       | Sicilia       |
|                       | Puglia        |                       | Sardegna      |
|                       | Sardegna      |                       | Calabria      |
|                       | Sicilia       |                       | Puglia        |
|                       | Abruzzi       |                       | Toscana       |
|                       | Liguria       |                       | Basilicata    |
|                       | Toscana       |                       | Lazio         |
|                       | V. Aosta      |                       | Umbria        |
|                       | Lazio         |                       | Liguria       |
|                       | Calabria      |                       | Campania      |
|                       | Friuli V.G.   |                       | Molise        |
|                       | Campania      |                       | Abruzzi       |
|                       | Basilicata    |                       | V. Aosta      |
|                       | Veneto        |                       | Marche        |
|                       | Marche        |                       | Friuli V.G.   |
|                       | Piemonte      |                       | Emilia R.     |
|                       | Lombardia     |                       | Lombardia     |
|                       | Trentino A.A. |                       | Veneto        |
|                       | Umbria        |                       | Piemonte      |
|                       | Emilia R.     |                       | Trentino A.A. |

*Quelle unite dello stesso segmento non sono significativamente diverse;  $\alpha = 5\%$*

**Tab. 3**  
**Medie e deviazioni standard di magnesio, sodio e cloruri per le diverse regioni nelle diverse annate**

| Regioni        | Mg (mg/l) |      |      |      | Na (mg/l) |       | Cl (mg/l di NaCl) |       |
|----------------|-----------|------|------|------|-----------|-------|-------------------|-------|
|                | 1994      | 1995 | 1996 | 1997 | 1996      | 1997  | 1996              | 1997  |
| ABRUZZI        | 56        | 56   | -    | 65   | -         | 7.15  | 14.60             | 15.27 |
|                | 12        | 11   | -    | 9    | -         | 1.31  | 5.89              | 10.72 |
| BASILICATA     | 100       | 72   | 57   | 74   | 14.58     | 13.04 | 46.99             | 24.35 |
|                | 32        | 11   | 6    | 8    | 3.21      | 9.78  | 9.79              | 10.05 |
| CALABRIA       | 85        | 76   | 91   | 83   | 63.75     | 60.66 | 58.49             | 36.27 |
|                | 12        | 14   | 17   | 15   | 35.31     | 17.15 | 14.85             | 13.68 |
| CAMPANIA       | 67        | 62   | 65   | 69   | 21.86     | 22.50 | 43.83             | 34.95 |
|                | 19        | 16   | 20   | 21   | 10.24     | 21.19 | 26.59             | 22.01 |
| EMILIA ROMAGNA | 87        | 75   | 77   | 80   | 14.34     | 14.47 | 32.34             | 24.70 |
|                | 21        | 15   | 19   | 17   | 8.05      | 7.51  | 13.63             | 6.22  |
| FRIULI VENEZIA | 69        | 61   | 53   | 63   | -         | -     | 13.13             | 14.12 |
|                | 10        | 9    | 12   | 12   | -         | -     | 4.85              | 7.64  |
| LAZIO          | 69        | 64   | 65   | 76   | 12.45     | 10.76 | 50.67             | 26.70 |
|                | 13        | 11   | 8    | 16   | 1.66      | 7.27  | 14.84             | 25.80 |
| LIGURIA        | 55        | 61   | 73   | 84   | 17.00     | 22.49 | 31.59             | 34.58 |
|                | 10        | 13   | 24   | 29   | 9.92      | 31.31 | 18.06             | 19.94 |
| LOMBARDIA      | 61        | 62   | 63   | 70   | 7.49      | 7.36  | 18.02             | 13.15 |
|                | 10        | 12   | 11   | 15   | 3.08      | 2.76  | 8.96              | 7.83  |
| MARCHE         | 81        | 74   | 82   | 85   | 13.79     | 12.00 | 26.62             | 30.57 |
|                | 16        | 14   | 18   | 27   | 13.77     | 5.86  | 12.72             | 14.11 |
| MOLISE         | 64        | 52   | 62   | 64   | 6.02      | 17.51 | 22.95             | 19.46 |
|                | 9         | 9    | 7    | 11   | 0.03      | 12.77 | 16.83             | 10.99 |
| PIEMONTE       | 77        | 65   | 67   | 77   | 7.89      | 6.93  | 21.69             | 18.84 |
|                | 14        | 12   | 10   | 14   | 2.36      | 1.95  | 9.94              | 6.74  |
| PUGLIA         | 82        | 52   | -    | 70   | -         | 25.26 | -                 | 42.96 |
|                | 21        | 11   | -    | 19   | -         | 35.36 | -                 | 56.46 |
| SARDEGNA       | 79        | 71   | 79   | 81   | 45.52     | 44.52 | 55.51             | 60.17 |
|                | 17        | 15   | 21   | 21   | 43.42     | 42.73 | 30.81             | 64.31 |
| SICILIA        | 92        | 83   | 97   | 106  | 32.57     | 31.97 | 54.21             | 52.68 |
|                | 22        | 18   | 29   | 35   | 18.35     | 32.40 | 31.14             | 48.81 |
| TOSCANA        | 86        | 72   | 80   | 82   | 18.84     | 14.52 | 63.73             | 32.47 |
|                | 20        | 15   | 19   | 20   | 9.90      | 7.40  | 31.65             | 15.42 |
| TRENTINO ALTO  | 62        | 60   | 56   | 66   | 8.83      | 6.06  | 13.33             | 19.67 |
|                | 12        | 9    | 11   | 12   | 4.07      | 2.08  | 6.14              | 9.04  |
| UMBRIA         | 71        | 66   | 65   | 75   | 12.12     | 11.80 | 24.08             | 17.23 |
|                | 10        | 8    | 9    | 10   | 3.17      | 3.91  | 7.95              | 5.74  |
| VALLE D'AOSTA  | 59        | 62   | 68   | 80   | 4.60      | 7.10  | 19.98             | 19.42 |
|                | 20        | 15   | 21   | 17   | 0.70      | 1.21  | 4.93              | 4.21  |
| VENETO         | 75        | 66   | 62   | 71   | -         | -     | 15.98             | 15.39 |
|                | 15        | 10   | 12   | 13   | -         | -     | 8.80              | 7.51  |

Tab. 4a

**Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1996 (dati isotopici)**

| dalla regione | nella regione |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % IS |
|---------------|---------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Bas           | Cal | Cam | Em | La | Li | Lo | Ma | Mo | Pi | Sa | Si | To | Tr | Um |    |        |      |
| Basilicata    | 4             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4      | 100  |
| Calabria      | 0             | 6   | 1   | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 3  | 0  | 0  | 2  | 0  | 15     | 40   |
| Campania      | 0             | 1   | 17  | 0  | 1  | 1  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 6  | 0  | 30     | 57   |
| Emilia R.     | 0             | 0   | 0   | 16 | 0  | 0  | 5  | 3  | 0  | 9  | 0  | 0  | 0  | 2  | 1  | 0  | 36     | 44   |
| Lazio         | 0             | 1   | 2   | 0  | 9  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 14     | 64   |
| Liguria       | 0             | 2   | 1   | 0  | 1  | 4  | 0  | 0  | 0  | 2  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 13     | 31   |
| Lombardia     | 0             | 0   | 0   | 7  | 0  | 0  | 6  | 1  | 0  | 6  | 0  | 0  | 0  | 8  | 1  | 0  | 29     | 21   |
| Marche        | 0             | 0   | 1   | 4  | 2  | 1  | 0  | 16 | 0  | 4  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 30     | 53   |
| Molise        | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2      | 100  |
| Piemonte      | 0             | 0   | 1   | 9  | 0  | 0  | 2  | 5  | 0  | 24 | 0  | 0  | 0  | 6  | 1  | 0  | 48     | 50   |
| Sardegna      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 16 | 8  | 0  | 1  | 0  | 0  | 27     | 59   |
| Sicilia       | 0             | 2   | 2   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 37 | 0  | 0  | 0  | 0  | 47     | 79   |
| Toscana       | 0             | 1   | 7   | 2  | 1  | 4  | 0  | 5  | 0  | 2  | 4  | 0  | 1  | 0  | 15 | 0  | 42     | 2    |
| Trentino A.A. | 0             | 0   | 0   | 1  | 1  | 0  | 3  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 1  | 26 | 1  | 0  | 36     | 72   |
| Umbria        | 0             | 0   | 4   | 0  | 2  | 0  | 1  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 26 | 0  | 36     | 72   |
| V. Aosta      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 5      | 100  |

**Errore medio della riclassificazione 48%**

*I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale della riga - riattribuiti alla regione d'origine*

Tab. 4b

**Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1996 (dati isotopici + Na, Mg, Cl)**

| dalla regione | nella regione |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % TOT |
|---------------|---------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|-------|
|               | Bas           | Cal | Cam | Em | La | Li | Lo | Ma | Mo | Pi | Sa | Si | To | Tr | Um |    |        |       |
| Basilicata    | 4             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4      | 100   |
| Calabria      | 0             | 13  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 15     | 87    |
| Campania      | 0             | 1   | 26  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 30     | 87    |
| Emilia R.     | 0             | 0   | 0   | 21 | 0  | 0  | 4  | 2  | 0  | 8  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 36     | 58    |
| Lazio         | 0             | 0   | 0   | 0  | 13 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 14     | 93    |
| Liguria       | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 11 | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 13     | 85    |
| Lombardia     | 0             | 0   | 0   | 2  | 0  | 0  | 15 | 0  | 0  | 9  | 0  | 0  | 0  | 3  | 0  | 0  | 29     | 52    |
| Marche        | 0             | 0   | 0   | 4  | 0  | 1  | 2  | 14 | 0  | 4  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 0  | 30     | 47    |
| Molise        | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2      | 100   |
| Piemonte      | 0             | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 4  | 2  | 0  | 35 | 0  | 0  | 1  | 4  | 1  | 0  | 48     | 73    |
| Sardegna      | 0             | 0   | 1   | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 18 | 6  | 0  | 0  | 0  | 0  | 27     | 67    |
| Sicilia       | 0             | 0   | 1   | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 3  | 41 | 0  | 0  | 0  | 0  | 47     | 87    |
| Toscana       | 0             | 0   | 9   | 5  | 1  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 3  | 1  | 16 | 0  | 4  | 0  | 42     | 38    |
| Trentino A.A. | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 30 | 2  | 0  | 36     | 83    |
| Umbria        | 0             | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32 | 0  | 36     | 89    |
| V. Aosta      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 5      | 100   |

**Errore medio della riclassificazione 28%**

*I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale della riga - riattribuiti alla regione d'origine*

Tab. 5a

**Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1997 (dati isotopici)**

| dalla regione | nella regione |    |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % IS |
|---------------|---------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Ab            | Ba | Cal | Cam | Em | La | Li | Lo | Ma | Mo | PI | Pu | Sa | Si | To | Tr | Um |    |        |      |
| Abruzzi       | 7             | 3  | 0   | 1   | 1  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 3  | 2  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 21     | 33   |
| Basilicata    | 0             | 10 | 0   | 0   | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 4  | 0  | 0  | 19     | 53   |
| Calabria      | 0             | 0  | 2   | 0   | 1  | 2  | 0  | 0  | 2  | 0  | 3  | 2  | 2  | 0  | 2  | 0  | 3  | 0  | 19     | 11   |
| Campania      | 1             | 0  | 0   | 11  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 3  | 1  | 2  | 0  | 27     | 41   |
| Emilia R.     | 0             | 0  | 0   | 1   | 25 | 1  | 0  | 2  | 4  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 2  | 1  | 0  | 0  | 39     | 64   |
| Lazio         | 0             | 1  | 1   | 3   | 7  | 5  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 4  | 2  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 30     | 17   |
| Liguria       | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 1  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 2  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 11     | 9    |
| Lombardia     | 1             | 0  | 0   | 0   | 7  | 0  | 0  | 14 | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 4  | 0  | 1  | 30     | 47   |
| Marche        | 1             | 0  | 0   | 2   | 5  | 1  | 0  | 4  | 9  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 26     | 35   |
| Molise        | 1             | 2  | 0   | 1   | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 6  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 14     | 7    |
| Piemonte      | 1             | 1  | 0   | 3   | 6  | 0  | 0  | 4  | 7  | 0  | 21 | 2  | 0  | 1  | 2  | 5  | 0  | 1  | 54     | 39   |
| Puglia        | 3             | 4  | 0   | 0   | 1  | 2  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 20 | 2  | 0  | 5  | 0  | 0  | 0  | 39     | 51   |
| Sardegna      | 0             | 0  | 1   | 4   | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 12 | 0  | 2  | 0  | 2  | 0  | 28     | 43   |
| Sicilia       | 2             | 5  | 0   | 5   | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 12 | 1  | 8  | 0  | 0  | 0  | 0  | 36     | 22   |
| Toscana       | 0             | 2  | 0   | 2   | 7  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 23 | 0  | 5  | 0  | 42     | 55   |
| Trentino A.A. | 1             | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 2  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 30 | 0  | 0  | 37     | 81   |
| Umbria        | 0             | 0  | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 9  | 0  | 24 | 0  | 38     | 63   |
| V. Aosta      | 0             | 0  | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 2  | 6      | 33   |

**Errore medio della riclassificazione 56%**

*I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale della riga - riattribuiti alla regione d'origine*

Tab. 5b

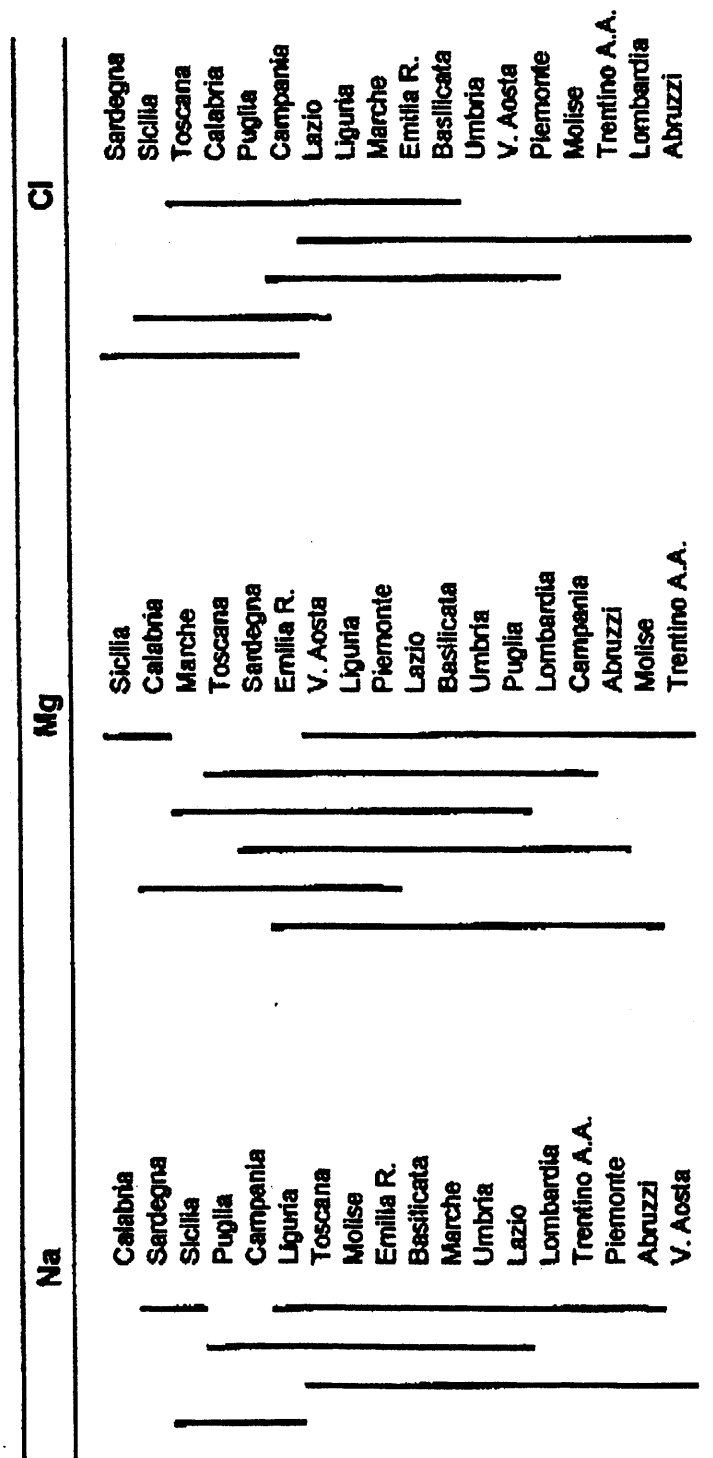
**Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1997 (dati isotopici + Na, Mg, Cl)**

| dalla regione | nella regione |    |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % IS |
|---------------|---------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Ab            | Ba | Cal | Cam | Em | La | Li | Lo | Ma | Mo | PI | Pu | Sa | Si | To | Tr | Um |    |        |      |
| Abruzzi       | 16            | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 21     | 76   |
| Basilicata    | 0             | 15 | 0   | 0   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 19     | 79   |
| Calabria      | 0             | 0  | 18  | 0   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 19     | 95   |
| Campania      | 1             | 0  | 1   | 15  | 4  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 27     | 56   |
| Emilia R.     | 0             | 0  | 0   | 0   | 28 | 1  | 0  | 6  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 39     | 72   |
| Lazio         | 2             | 1  | 0   | 0   | 2  | 11 | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0  | 2  | 0  | 7  | 0  | 30     | 37   |
| Liguria       | 0             | 0  | 0   | 0   | 1  | 2  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 11     | 27   |
| Lombardia     | 2             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 20 | 1  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 1  | 3  | 0  | 0  | 30     | 67   |
| Marche        | 1             | 0  | 0   | 0   | 2  | 0  | 0  | 1  | 18 | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 26     | 69   |
| Molise        | 0             | 3  | 0   | 2   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 7  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 14     | 50   |
| Piemonte      | 2             | 0  | 0   | 1   | 1  | 0  | 0  | 6  | 5  | 0  | 36 | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 1  | 0  | 54     | 65   |
| Puglia        | 1             | 0  | 0   | 2   | 1  | 4  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 21 | 1  | 1  | 6  | 0  | 0  | 0  | 39     | 54   |
| Sardegna      | 0             | 0  | 2   | 3   | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 3  | 13 | 0  | 2  | 0  | 1  | 0  | 28     | 46   |
| Sicilia       | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 2  | 3  | 1  | 25 | 2  | 0  | 1  | 0  | 36     | 69   |
| Toscana       | 0             | 1  | 0   | 0   | 8  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 24 | 0  | 3  | 0  | 42     | 57   |
| Trentino A.A. | 1             | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32 | 0  | 0  | 37     | 86   |
| Umbria        | 1             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 37 | 0  | 38     | 97   |
| V. Aosta      | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 6  | 6      | 100  |

**Errore medio della riclassificazione 33%**

*I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale della riga - riattribuiti alla regione d'origine*

**Tab. 6**  
**Confronti a coppie (test di Tukey) fra le medie dei parametri**  
**minerari delle diverse regioni sulle annate 1996-1997**



Quelle unite dallo stesso segmento non sono significativamente diverse;  $\alpha = 5\%$

Tab. 7a

Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1996 (dati isotopici)

| dalla regione | nella regione |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % 18 |
|---------------|---------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Bas           | Cal | Cam | Em | La | LI | Lo | Ma | Mo | PI | Sa | SI | To | Tr | Um |    |        |      |
| Basilicata    | 4             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 100    |      |
| Calabria      | 0             | 9   | 1   | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 2  | 15 | 60     |      |
| Campania      | 0             | 1   | 18  | 0  | 0  | 1  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 6  | 30 | 60     |      |
| Emilia R.     | 0             | 0   | 0   | 33 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 1  | 36 | 92     |      |
| Lazio         | 0             | 1   | 0   | 0  | 13 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 14 | 93     |      |
| Liguria       | 0             | 2   | 1   | 0  | 1  | 6  | 0  | 0  | 0  | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 13 | 46     |      |
| Lombardia     | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 27 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 29 | 93     |      |
| Marche        | 0             | 0   | 1   | 0  | 0  | 1  | 0  | 22 | 0  | 4  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 30 | 73     |      |
| Molise        | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 100    |      |
| Piemonte      | 0             | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 0  | 35 | 0  | 0  | 0  | 6  | 1  | 48 | 73     |      |
| Sardegna      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 16 | 8  | 0  | 1  | 0  | 27 | 59     |      |
| Sicilia       | 0             | 0   | 2   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 39 | 0  | 0  | 0  | 47 | 83     |      |
| Toscana       | 0             | 1   | 7   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 4  | 0  | 28 | 0  | 0  | 42 | 67     |      |
| Trentino A.A. | 0             | 0   | 0   | 1  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 1  | 29 | 1  | 36 | 81     |      |
| Umbria        | 0             | 0   | 4   | 0  | 2  | 0  | 1  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 26 | 36 | 72     |      |
| V. Aosta      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 6  | 5  | 100    |      |

Errore medio della riclassificazione 25%

I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale delle righe - riassegnati alla regione d'origine, considerata includente anche le regioni confinanti

Tab. 7b

Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1996 (dati isotopici + Na, Mg, Cl)

| dalla regione | nella regione |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % TOT |
|---------------|---------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|-------|
|               | Bas           | Cal | Cam | Em | La | Li | Lo | Ma | Mo | PI | Sa | Si | To | Tr | Um |    |        |       |
| Basilicata    | 4             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 100    |       |
| Calabria      | 0             | 13  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 15 | 87     |       |
| Campania      | 0             | 1   | 26  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 30 | 87     |       |
| Emilia R.     | 0             | 0   | 0   | 35 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 36 | 97     |       |
| Lazio         | 0             | 0   | 0   | 0  | 14 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 14 | 100    |       |
| Liguria       | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 12 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 13 | 92     |       |
| Lombardia     | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 29 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 29 | 100    |       |
| Marche        | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 1  | 2  | 23 | 0  | 4  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 30 | 77     |       |
| Molise        | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 100    |       |
| Piemonte      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 40 | 0  | 0  | 1  | 4  | 1  | 48 | 83     |       |
| Sardegna      | 0             | 0   | 1   | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 18 | 6  | 0  | 0  | 0  | 27 | 67     |       |
| Sicilia       | 0             | 0   | 1   | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 3  | 41 | 0  | 0  | 0  | 47 | 87     |       |
| Toscana       | 0             | 0   | 9   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 3  | 1  | 29 | 0  | 0  | 42 | 69     |       |
| Trentino A.A. | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 32 | 2  | 36 | 89     |       |
| Umbria        | 0             | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 33 | 36 | 92     |       |
| V. Aosta      | 0             | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 100    |       |

Errore medio della riclassificazione 14%

I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale delle righe - riassegnati alla regione d'origine, considerata includente anche le regioni confinanti

Tab. 8a

Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1997 (dati isotopici)

| della regione | nella regione |    |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % IS |
|---------------|---------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Ab            | Ba | Cal | Cam | Em | La | LI | Lo | Ma | Mo | PI | Pu | Sa | SI | To | Tr | Um |    |        |      |
| Abruzzi       | 7             | 3  | 0   | 1   | 1  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 3  | 2  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 21     | 33   |
| Basilicata    | 0             | 11 | 0   | 0   | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 0  | 0  | 19     | 58   |
| Calabria      | 0             | 0  | 2   | 0   | 1  | 2  | 0  | 0  | 2  | 0  | 3  | 2  | 2  | 0  | 2  | 0  | 3  | 0  | 19     | 11   |
| Campania      | 1             | 0  | 0   | 12  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 3  | 1  | 2  | 0  | 27     | 44   |
| Emilia R.     | 0             | 0  | 0   | 1   | 36 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 39     | 92   |
| Lazio         | 0             | 1  | 1   | 0   | 7  | 14 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 4  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 30     | 47   |
| Liguria       | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 1  | 5  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 2  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 11     | 45   |
| Lombardia     | 1             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 26 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 30     | 87   |
| Marche        | 0             | 0  | 0   | 2   | 0  | 0  | 0  | 4  | 17 | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 26     | 66   |
| Molise        | 0             | 2  | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 9  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 14     | 64   |
| Piemonte      | 1             | 1  | 0   | 3   | 0  | 0  | 0  | 0  | 7  | 0  | 32 | 2  | 0  | 1  | 2  | 5  | 0  | 0  | 54     | 59   |
| Puglia        | 3             | 0  | 0   | 0   | 1  | 2  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 24 | 2  | 0  | 5  | 0  | 0  | 0  | 39     | 62   |
| Sardegna      | 0             | 0  | 1   | 4   | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 12 | 0  | 2  | 0  | 2  | 0  | 28     | 43   |
| Sicilia       | 2             | 5  | 0   | 5   | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 12 | 1  | 8  | 0  | 0  | 0  | 0  | 36     | 22   |
| Toscana       | 0             | 2  | 0   | 2   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 36 | 0  | 0  | 0  | 42     | 86   |
| Trentino A.A. | 1             | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32 | 0  | 0  | 37     | 86   |
| Umbria        | 0             | 0  | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 34 | 0  | 38     | 89   |
| V. Aosta      | 0             | 0  | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 2  | 6      | 33   |

Errore medio della riclassificazione 38%

I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale delle righe - riattribuiti alla regione d'origine, considerata includente anche le regioni confinanti

Tab. 8b

Riclassificazione mediante analisi discriminante quadratica dei campioni delle diverse regioni italiane nell'anno 1997 (dati isotopici + Na, Mg, Cl)

| della regione | nella regione |    |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | VA | TOTALE | % IS |
|---------------|---------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|------|
|               | Ab            | Ba | Cal | Cam | Em | La | LI | Lo | Ma | Mo | PI | Pu | Sa | SI | To | Tr | Um |    |        |      |
| Abruzzi       | 17            | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 21     | 81   |
| Basilicata    | 0             | 16 | 0   | 0   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 19     | 79   |
| Calabria      | 0             | 0  | 18  | 0   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 19     | 95   |
| Campania      | 1             | 0  | 1   | 16  | 4  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 4  | 0  | 1  | 0  | 27     | 56   |
| Emilia R.     | 0             | 0  | 0   | 0   | 38 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 39     | 97   |
| Lazio         | 0             | 1  | 0   | 0   | 2  | 23 | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 30     | 77   |
| Liguria       | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 2  | 7  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 11     | 64   |
| Lombardia     | 2             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 26 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 30     | 87   |
| Marche        | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 22 | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 26     | 85   |
| Molise        | 0             | 3  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 10 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 14     | 71   |
| Piemonte      | 2             | 0  | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 5  | 0  | 42 | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 1  | 0  | 54     | 78   |
| Puglia        | 1             | 0  | 0   | 0   | 1  | 4  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 24 | 1  | 1  | 6  | 0  | 0  | 0  | 39     | 62   |
| Sardegna      | 0             | 0  | 2   | 3   | 0  | 3  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 3  | 13 | 0  | 2  | 0  | 1  | 0  | 28     | 46   |
| Sicilia       | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 2  | 3  | 1  | 26 | 2  | 0  | 1  | 0  | 36     | 69   |
| Toscana       | 0             | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 39 | 0  | 0  | 0  | 42     | 93   |
| Trentino A.A. | 1             | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32 | 0  | 0  | 37     | 86   |
| Umbria        | 1             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 37 | 0  | 38     | 97   |
| V. Aosta      | 0             | 0  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 6  | 6      | 100  |

Errore medio della riclassificazione 21%

I numeri posti lungo la diagonale, in grassetto, rappresentano il numero di campioni di banca dati - sul totale delle righe - riattribuiti alla regione d'origine, considerata includente anche le regioni confinanti

# I COMPOSTI VOLATILI NEL CONTROLLO DI QUALITÀ DELLE UVE E DEI VINI.

Rocco Di Stefano - Istituto Sperimentale per l'Enologia - Asti

## Introduzione

I composti coinvolti nella formazione dell'aroma delle uve e dei vini, sono intuitivamente quelli dotati di una certa volatilità; tuttavia il loro contributo dipende dalla possibilità di una loro interazione con i centri olfattivi.

I suddetti aromi possono essere divisi nei seguenti gruppi:

- 1) aromi varietali (alcoli terpenici, norisoprenoidi, benzenoidi, pirazine, alcanoli), presenti sotto forma libera ma soprattutto sotto forma glicosilata;
- 2) composti prefermentativi (aldeidi ed alcoli, principalmente a sei atomi di carbonio), derivati dalla ossidazione enzimatica degli acidi grassi insaturi;
- 3) composti di fermentazione (alcoli, aldeidi, chetoni, acidi, esteri, composti contenenti eteroatomi quali ad es. azoto e zolfo, composti non usuali);
- 4) composti derivati dall'elaborazione di precursori di natura azotata da parte dei lieviti (ad es. 4-metil-4-mercapto-pentanone-2);
- 5) composti derivati dalla trasformazione di composti aromatici varietali o prefermentativi da parte dei lieviti;
- 6) composti derivati dalla trasformazione di sostanze non aromatiche, da parte dei lieviti (etil fenoli, vinil fenoli);
- 7) composti postfermentativi (esteri degli acidi fissi, acetali);
- 8) composti derivati dall'idrolisi o dalla trasformazione acido-catalizzata dei composti varietali liberi e glicosilati;
- 9) composti esogeni (derivati dal legno delle botti quali ad es., furani, pirani, aldeidi aromatiche, oak lattoni, fenoli).

La presenza di tali classi, ciascuna delle quali è costituita da un numero rilevante di composti, in genere di natura chimica diversa, ha fatto intravedere la possibilità di poter utilizzare le informazioni dedotte a livello analitico per il controllo dell'origine e della qualità dei vini.

Nel seguito verranno indicate alcune applicazioni che già fanno parte dei metodi di alcuni laboratori pubblici e privati.

### *Controllo dell'origine varietale delle uve*

I lavori di Usseglio-Tomasset (1969, 1973) avevano dimostrato che era possibile distinguere, dal contenuto di composti terpenici, le uve in due grandi classi: quelle aromatiche e quelle cosiddette a gusto semplice.

Da quei lavori pionieristici si passò, con il progresso delle tecniche di preparazione del campione e delle tecniche analitiche per gascromatografia e per spettrometria di massa, all'analisi di un sensibile numero di uve aromatiche e si arrivò alla conclusione che ogni cultivar possiede un ben determinato profilo

terpenico, espressione di processi biosintetici codificati a livello genetico. I lavori di Sefton et al. (1993 e 1994), rispettivamente sullo Chardonnay e sul Sauvignon, dimostrarono che anche le uve neutre possiedono un profilo terpenico, norisoprenoidico e benzenoidico varietale.

Attualmente i laboratori di ricerca enologica sono impegnati in un lavoro di caratterizzazione varietale attraverso la determinazione del profilo terpenico, norisoprenoidico e benzenoidico delle uve delle principali cultivar coltivate nel territorio nazionale (Di Stefano et al., 1998).

Oltre ai successi di queste tecniche nella caratterizzazione delle singole cultivar di vite, la determinazione delle suddette classi di composti, a livello di uve, ha permesso di individuare la coerenza di omonimie in campo varietale. Dato che il profilo varietale rappresentato dai composti in questione dipende dalla componente genetica, si può affermare che due cultivar, che presentino profili diversi, appartengono certamente a varietà diverse. L'analisi del DNA ha, fino a questo momento, confermato le deduzioni effettuate in base alla determinazione del profilo aromatico varietale. Nelle tabelle 1-2 e 3 è riportato un esempio relativo alla determinazione del profilo varietale di uve denominate Prosecco. Si può osservare che le uve dei due Prosecchi Tondi si differenziano nettamente da quelle dei due Prosecchi Lunghi, mentre all'interno delle due coppie le differenze sono solo di ordine quantitativo. Evidentemente si tratta di due coppie di cloni di cultivar diverse.

#### *Controllo dell'origine dei vini*

Mentre per la determinazione dell'origine varietale delle uve è possibile utilizzare i metodi della biologia molecolare (profilo degli isoenzimi e del DNA), nel caso dei vini, a causa dell'assenza di questi polimeri, l'unica possibilità di determinazione dell'origine varietale, consiste nell'utilizzare i composti aromatici varietali o eventualmente altre classi di composti opportunamente selezionati. La scelta dei composti aromatici varietali per queste finalità è giustificata dal fatto che durante le fasi di preparazione del mosto e di vinificazione, si ha l'idrolisi solo di alcuni precursori (ad es. è stata segnalata la parziale idrolisi dei glicosidi del linalolo e in misura più modesta l'idrolisi di quelli del nerolo, del geraniolo, dei due isomeri dell'8-idrossi linalolo, dell'acido geranico, dei precursori del damascenone e del 3-idrossi--damascone, dei precursori del 3-oxo--ionolo e di alcuni benzenoidi). Malgrado questi fenomeni idrolitici indotti in parte dal basso pH dei vini, in parte dall'attività dei lieviti, il profilo aromatico dei vini rimane sensibilmente inalterato rispetto a quello dell'uva e tale da consentire, se non delle sicure ipotesi di appartenenza, almeno di esclusione. Potrebbe risultare difficile il riconoscimento varietale nel caso in cui sono stati utilizzati in vinificazione enzimi glucosidasici e glicosidasici piuttosto potenti. Anche in questo caso, pur ammettendo una totale idrolisi dei precursori, resta la possibilità di analisi degli agliconi, alcuni dei quali subiscono solo una trasformazione molto lenta nel tempo. Al momento tuttavia questi problemi non sono di carattere determinante in quanto gli enzimi glucosidasici commerciali non hanno una attività così forte da indurre l'idrolisi tutti i glicosidi presenti. Nelle tabelle 4 e 5 è riportato un esempio di profilo di uve delle cultivar Sangiovese e Nebbiolo e di vini da esse derivati: è possibile osservare delle somiglianze importanti con le

uve di origine, anche se si tratta di vini invecchiati.

*Determinazione dello stato di conservazione del vino e valutazione del processo di vinificazione.*

Durante la fermentazione, i lieviti producono un numero rilevante di composti, fra i quali alcoli (alcoli superiori), acidi grassi a media catena ed esteri.

Generalmente nella vinificazione in bianco, il tenore degli alcoli aumenta con il grado di torbidità del mosto e il tenore in esteri e in acidi grassi a media catena con il grado di chiarifica del mosto. L'opposta tendenza alla biosintesi di queste classi di composti è condizionata da altri fattori che per il momento possiamo fare a meno di coinvolgere nella nostra analisi.

Si intuisce la possibilità di dedurre l'entità del trattamento di chiarifica che il mosto ha subito, dalla determinazione degli alcoli superiori, degli esteri e degli acidi grassi: se si è in presenza di un tenore di alcoli superiori maggiore di 200 mg/L e di un basso tenore di acetati degli alcoli superiori e di esteri etilici degli acidi grassi, si può ipotizzare che il mosto di partenza era stato chiarificato in misura modesta; inversamente un tenore di alcoli superiori minore di 150 mg/L ed elevato (diversi mg/L) di esteri, può fare ragionevolmente supporre che il mosto era stato ben chiarificato e che era stato fermentato a temperatura minore o uguale a 20°C. Può capitare che il vino presenti un tenore in alcoli superiori maggiore di 150 mg/L e un tenore elevato di esteri, in particolare acetati: in questo caso si ipotizza che il mosto, pur dotato di una certa torbidità, possedeva anche un tenore di azoto amminico elevato. Con la conservazione, il contenuto di esteri subisce un decremento a causa di reazioni di idrolisi acido-catalizzate. Infatti gli esteri degli acidi grassi sono prodotti dai lieviti, nelle condizioni sopra specificate, in tenori nettamente superiori a quelli che competono alle condizioni dell'equilibrio:



a cui è associata una costante:

$$K = ([\text{RCOOR'}] \cdot [\text{H}_2\text{O}]) / ([\text{RCOOH}] \cdot [\text{R'OH}])$$

La reazione di idrolisi continuerà finchè non si saranno stabilite le concentrazioni delle singole specie chimiche che intervengono nella reazione per arrivare alla K di equilibrio di ogni reazione. Quando l'equilibrio sarà raggiunto, in genere il tenore degli acetati è ridotto a frazioni di mg/L e quello degli esteri etilici ha subito diminuzioni di una certa rilevanza. Per discernere in questo caso quanto sopra osservato, nel caso dei vini appena prodotti, si tiene conto del tenore in alcoli superiori e in acidi grassi a media catena: questi ultimi saranno presenti in tenori in genere superiori a 10-15 mg/L se il vino deriva da un mosto sufficientemente limpido. L'avvenuta idrolisi degli acetati e degli esteri etilici si può controllare attraverso la formazione degli esteri degli acidi fissi e in particolare del dietil succinato. Per la stessa reazione di equilibrio sopra riportata, l'acido succinico prodotto dai lieviti durante la fermentazione, viene esterificato tanto che il suo tenore passa da pochi centesimi di mg/L a diversi mg/L (anche

decine). La presenza di tenori elevati di acetati e di dietil succinato, può essere associata alla rifermentazione di vini già chimicamente vecchi o ad una aromatizzazione: in questo caso bisogna procedere all'analisi di altri fattori e alla ricerca di sottoprodotti presenti nei formulati usati per l'aromatizzazione, non consentita nel caso dei vini da pasto comuni o a DOC. Oltre al dietil succinato, per una diagnosi sull'età chimica del vino, è possibile utilizzare i succinati misti, i lattati, i 2-idrossi-glutarati e in genere gli esteri degli acidi dicarbossilici o degli idrossiacidi, ivi compresi i malati.

L'analisi degli esteri di fermentazione può anche essere utilizzata per il controllo della qualità organolettica del vino durante la conservazione. Infatti le caratteristiche di aroma fruttato dei vini bianchi giovani sono legate al tenore in esteri etilici degli acidi grassi a media catena e in acetati degli alcoli superiori; durante la conservazione, in dipendenza dal pH del vino e dalla temperatura, si ha la parziale idrolisi di questi composti e in particolare degli acetati, come sopra è stato osservato. Il controllo del tenore di tali composti in cantina consente di seguire il vino in tutte le sue fasi e di intervenire, cambiando le condizioni fisiche di conservazione, nel caso in cui si osserva una rapida diminuzione del tenore degli acetati.

Il controllo della qualità organolettica e della età chimica, nei vini aromatici, oltre che attraverso l'analisi degli esteri di fermentazione e degli esteri degli acidi fissi si può effettuare anche attraverso la determinazione degli aromi varietali e in particolare dei composti terpenici. Innanzi tutto si osserva che il linalolo dell'uva è l'isomero S-(+). Questo, per catalisi acida, e pertanto in dipendenza dal pH e dalla temperatura di conservazione, si isomerizza a R-(-)-linalolo portando ad una miscela racemica dei due isomeri. Nello stesso tempo il linalolo ciclizza ad -terpineolo e si idrata ad idrossi-linalolo, oltre ad isomerizzarsi a nerolo e a geraniolo. Le trasformazioni continuano con l'idratazione del nerolo e del geraniolo e soprattutto dell'-terpineolo con produzione delle due terpine isomere. I dioli e trioli terpenici d'altra parte subiscono tutta una serie di trasformazioni con produzione in particolare di composti ciclici. Anche i glicosidi vanno incontro a trasformazioni rilevanti. Intanto i glicosidi del linalolo, del nerolo e del geraniolo, si idrolizzano più o meno velocemente in dipendenza dal pH e dalla temperatura di conservazione, ma possono anche idratarsi a glicosidi dell'idrossi-linalolo, dell'idrossi-nerolo e dell'idrossi-geraniolo. Gli altri glicosidi generano prima l'aglicone e poi questo subisce le trasformazioni sopra ricordate.

Esse vengono sfruttate per una diagnosi sullo stato di conservazione dei mosti e dei vini e sulla qualità organolettica del vino, risultando a livello qualitativo più elevato quei prodotti in cui le trasformazioni sono state contenute il più possibile o quelli in cui sono avvenute trasformazioni con produzioni di composti a positivo impatto aromatico.

#### *Conservazione del vino in legno*

Il legno cede al vino composti da cui si originano aldeidi aromatiche quali vanillina e siringaldeide, oak lattoni, fenoli volatili e furani, questi ultimi derivati dalla trasformazione degli zuccheri durante le operazioni di piegatura del legno col calore.

I composti che più vantaggiosamente si possono utilizzare per ipotizzare se il

vino è venuto a contatto con il legno non usato per molte conservazioni, sono gli oak lattoni e in minor misura i furani, in quanto questi si possono originare attraverso altre vie.

La fermentazione del vino in barrique nuova può essere rivelata attraverso l'analisi dell'alcol furfurilico che si origina durante la fermentazione per riduzione dell'aldeide furfurale.

#### Bibliografia

Di Stefano R., Bottero S., Pigella R., Borsa D., Bezzo G., Corino L. -1998- Precursori d'aroma glicosilati presenti nelle uve di alcune cultivar a frutto colorato. *L'Enotecnico*, 34, (3), 63-74.

Sefton M. A., Francis I. L., Williams P. J. -1993- The volatile composition of *Chardonnay* juices: a study by flavor precursor analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44, (4), 359-370.

Sefton M. A., Francis I. L., Williams P. J. -1994- Free and bound volatile secondary metabolites of *Vitis vinifera* grape cv. *Sauvignon blanc*. *J. Food Science*, 59, (1), 142-147.

Usseglio-Tomasset L. -1969- I costituenti aromatici delle uve e dei vini. *Riv. Vitic. Enol.*, (6)

Usseglio-Tomasset L. -1973- Sostanze aromatiche naturali delle uve e dei vini. *Annali Ist. Sper. Enol.*

Tab. 1- Composti fermentativi e varietali liberi di uve di biotipi di Prosecco (Τύπος Νέων Ποικυών, Γραμμοί ανά Kg)

|                 | Tondo Cosmo | Tondo Balbi | Lungo Cipriani | Lungo Segat |
|-----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| ESANOLO         | 51,6        | 61,2        | 27,6           | 42,8        |
| CIS-3-ESENOLO   | 11,4        | 22,0        | 14,0           | 14,6        |
| TRANS-2-ESENOLO | 64,1        | 82,1        | 74,5           | 93,0        |
| LINALOLO        | 2,78        | 10,5        | -              | -           |
| OX C            | -           | 6,95        | -              | -           |
| OX D            | -           | 6,86        | -              | -           |
| GERANIOLO       | 10,98       | 76,9        | 6,26           | 9,73        |
| ALCOL BENZILICO | -           | -           | 3,99           | 22,8        |
| 2-FENILETANOLO  | 6,69        | 55,8        | 2,13           | 15,5        |
| DIOLLO 1        | -           | -           | 3,28           | 4,19        |

Tab 2

Prodotti per idrolisi chimica da precursori glicosilati estratti dal succo ottenuto da uve omogeneizzate di biotipi di Prosecco (Αριαλ, Γρασσεττο Vγ/Kγ δι υπα)

|                                  | Tondo Cosmo | Tondo Balbi | Lungo Cipriani | Lungo Segat |
|----------------------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| 2,6,6-TRIMETIL-2-VINILTHP        | 15,7        | 14,8        | n.d.           | n.d.        |
| ESANOLO                          | 20,8        | 24,2        | 13,4           | 17,6        |
| TRANS-3-ESENOLO                  | n.d.        | 5,5         | n.d.           | n.d.        |
| CIS-3-ESENOLO                    | 9,8         | 10,9        | 4,1            | 4,4         |
| TRANS-2-ESENOLO                  | 5,2         | 5,0         | 7,6            | 4,6         |
| TRANS FURAN LINALOL OX ISOMERO 1 | 78,4        | 155,9       | 14,0           | 17,3        |
| CIS FURAN LINALOL OX ISOMERO 2   | 35,3        | 108,1       | 38,8           | 43,6        |
| VITISPIRANI                      | 24,7        | 36,8        | 4,1            | 6,8         |
| LINALOLO                         | 25,0        | 162,2       | 9,3            | 8,2         |
| Ho-TRIENOLO                      | n.d.        | 6,4         | 2,4            | 1,8         |
| MIRCENOLO                        | 21,6        | 22,8        | 2              | n.d.        |
| RIESLING ACETALE                 | 5,4         | 5,9         | n.d.           | n.d.        |
| OCIMENOLO 1                      | 41,9        | 40,3        | 3,7            | n.d.        |
| p-MENT-1-ENE-9-ALE               | 50,4        | 98,1        | n.d.           | n.d.        |
| OCIMENOLO 2                      | 79,4        | 85,4        | 2,8            | 2,0         |
| α-TERPINEOLO                     | 87,5        | 170,3       | 11,5           | 9,8         |
| TDN                              | 1,6         | 4,6         | n.d.           | n.d.        |
| DAMASCENONE                      | 3,2         | 3,3         | 3,9            | 3,7         |
| GERANIOLO                        | 5,3         | 31,8        | 86,8           | 76,5        |
| ACTINIDOLI ISOMERI 1 e 2         | 106         | 76,9        | 2,0            | 1,2         |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-2,6-DIOLO    | 129         | 131         | 19,1           | 13,4        |
| TERPINA 1                        | 49,7        | 57,2        | 2,5            | n.d.        |
| EUGENOLO                         | 5,7         | 9,3         | 15,9           | 9,6         |
| ZE-3,7-DIMETIL-2-OCTEN-1,7-DIOLO | 22,6        | 16,9        | 4,9            | 3,5         |
| E-3,7-DIMETIL-2-OCTEN-1,7-DIOLO  | 81,8        | 55,2        | 73,3           | 45,6        |
| 3-OH-β-DAMASCONE                 | 117         | 93,7        | 78,6           | 64,9        |
| 3-OXO-α-IONOLO                   | 75,4        | 56,8        | 65,1           | 49,3        |
| 3,9-DIIDROSSIMEGASTIGMA.-5-ENE   | 27,5        | 16,5        | 12,3           | 14,0        |

Tab 3.

Prodotti per idrolisi enzimatica da precursori glicosilati estratti dal succo ottenuto da uve omogeneizzate di biotipi di Prosecco (Αριαλ, Γρασσεττο Vγ/Kγ δι υνα)

|                                      | Tondo Cosmo | Tondo Balbi | Lungo Cipriani | Lungo Segat |
|--------------------------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| ESANOLO                              | 22,8        | 24,0        | 16,7           | 20,9        |
| CIS-3-ESENOLO                        | 9,4         | 11,7        | 7,4            | 8,6         |
| TRANS-2-ESENOLO                      | 5,9         | 5,5         | 9,7            | 7,4         |
| TRANS FURAN LINALOL OX ISOMERO 1     | 15,7        | 50          | 9,4            | 10,8        |
| CIS FURAN LINALOL OX ISOMERO 2       | 5,8         | 40,3        | 31,0           | 37,7        |
| BENZALDEIDE                          | 4,5         | 3,1         | 3,8            | 4,6         |
| VITISPIRANI                          | 1,9         | 1,2         | 0,92           | 0,62        |
| LINALOLO                             | 55          | 238,3       | 1,1            | 3,2         |
| 1-OTTANOLO                           | 2,7         | 3,4         | 1,4            | 2,8         |
| α-TERPINEOLO                         | 5,5         | 11,4        | 7,8            | 6,5         |
| TRANS PIRAN LINALOL OX ISOMERO 1     | 11,1        | 29,8        | 11,2           | 13,6        |
| METIL-SALICILATO                     | 12,5        | 10,7        | 5,7            | 10,9        |
| CIS PIRAN LINALOL OX ISOMERO 2       | 5,02        | 33,1        | 20,2           | 24,2        |
| CITRONELLOLO                         | 4,3         | 5,1         | 3,7            | 4,1         |
| NEROLO                               | 13,1        | 24          | 5,8            | 6,3         |
| α-METIL-BENZENMETANOLO               | 5,4         | 5,2         | 5,5            | 6,1         |
| GERANILOLO                           | 112,6       | 180,6       | 72,9           | 72,7        |
| 2-OH-1,8-CINEOLO                     | 20,7        | 36,0        | 12,6           | 11,8        |
| ALCOL BENZILICO                      | 219         | 192         | 139            | 149         |
| 2-FENILETANOLO                       | 124         | 102,5       | 97,4           | 110         |
| 2,6-DIMETIL-1,7-OCTADIEN-2,6-DIOLO   | n.d.        | 7,2         | 3,7            | 2,3         |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-2,6-DIOLO        | 11,9        | 15,5        | 3,9            | 2,7         |
| FENOLO                               | 1,17        | 4,5         | 3,4            | 1,2         |
| EUGENOLO                             | n.d.        | n.d.        | 8,0            | 5,4         |
| 4-VINIL-GUAIACOLO                    | 73,8        | 40,5        | 58,4           | 50,1        |
| 3,7-DIMETIL-1,7-OCTANDIOLO           | 23,8        | 13,3        | 11,9           | 11,0        |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-1,6-DIOLO        | 7,5         | 15,5        | 2,4            | 1,7         |
| E-2,6-DIMETIL-2,7-OCTADIEN-1,6-DIOLO | 35,2        | 126,9       | 20,2           | 15,1        |
| E-3,7-DIMETIL-2-OCTEN-1,7-DIOLO      | 144,1       | 185,2       | 62,2           | 51,7        |
| Z-2,6-DIMETIL-2,7-OCTADIEN-1,6-DIOLO | 165,6       | 674,8       | 20,2           | 18,0        |
| AC. GERANICO                         | 53,7        | 85,9        | 67,9           | 54,0        |
| 4-VINIL-FENOLO                       | 246         | 120         | 190            | 101         |
| p-MENT-1-ENE-7,8-DIOLO               | 24,1        | 22,1        | 18,5           | 11,6        |
| 3-OH-β-DAMASCONE                     | 48,8        | 45,3        | 44,8           | 42,5        |
| VANILLINA                            | 5,5         | 6,4         | 7,3            | 9,2         |
| METIL-VANILLATO                      | n.d.        | n.d.        | 8,7            | 6,8         |
| 3-OXO-α-IONOLO                       | 58,3        | 52,8        | 34,6           | 32,2        |
| ACETOVANILLONE                       | 16,5        | 8,0         | 10,2           | 9,7         |
| 3,9-DIIDROSSIMEG.-6-ENE              | 10,4        | 10,3        | 5,0            | 5,0         |
| ZINGERONE                            | n.d.        | n.d.        | n.d.           | 2,9         |
| ALCOL OMOVANILLICO                   | 14,2        | 16,0        | 21,4           | 31,8        |
| DIDROCONIFERIL ALCOL                 | 46,3        | 34,5        | 43,2           | 27,6        |
| VOMIFOLIOLO                          | 281         | 251         | 237            | 116         |

TAB.4: COMPOSTI GENERATI PER IDROLISI A pH 3,1

|                               | NEBBIOLO    |             |
|-------------------------------|-------------|-------------|
|                               | POLPA µg/Kg | BUCCE µg/Kg |
| 2,6,8-TRIMETIL-2-VINIL-THP    | 9,6         | 6,5         |
| FURAN-LIN-OX-ISOMERO 1        | 94,9        | 33,9        |
| FURAN-LIN-OX-ISOMERO 2        | 86          | 27,6        |
| VITISPIRANI                   | 77,1        | 95,2        |
| LINALOLO                      | 20,5        | 9,3         |
| RIESLING ACETALE              | 34,2        | 21,4        |
| OCIMENOLO 1                   | 15,7        | 8,2         |
| p-MENT-1-EN-9-ALE             | 49,8        | 24,9        |
| OCIMENOLO 2                   | 44,8        | 29,9        |
| α-TERPINEOLO                  | 46,5        | 26,5        |
| TDN                           | 18,1        | 16,5        |
| PIRAN-LIN-OX-ISOMERO 1        | 18,6        | 15,8        |
| PIRAN-LIN-OX-ISOMERO 2        | 35,2        | 14,8        |
| DAMASCENONE                   | 27,7        | 11          |
| ACTINIDOLI                    | 86,2        | 35,8        |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-2,6-DIOLO | 31,4        | 28,2        |
| TERPINA 1                     | 9,3         | 16,8        |
| X                             | 11,5        | 12,3        |
| 3-IDROSSI-β-DAMASCONE         | 174         | 70,3        |

|                                    | NEBBIOLO    |             |
|------------------------------------|-------------|-------------|
|                                    | POLPA µg/Kg | BUCCE µg/Kg |
| ESANOLO                            | 42,3        | 17,1        |
| CIS-3-ESENOLO                      | 10,7        | 5,2         |
| TRANS-2-ESENOLO                    | 8           | 4,2         |
| FURAN-LIN-OX-ISOMERO 1             | 14,2        | 10          |
| FURAN-LIN-OX-ISOMERO 2             | 32,6        | 26          |
| BENZALDEIDE                        | 13,5        | 15,3        |
| VITISPIRANI                        | 19,4        | 7,1         |
| LINALOLO                           | 3,2         | -           |
| 1-OCTANOLO                         | 9           | -           |
| α-TERPINEOLO                       | 7           | 7,2         |
| PIRAN LIN-OX-ISOMERO 1             | 19,6        | 11,4        |
| METIL-SALICILATO                   | 13,2        | 3,7         |
| PIRAN LIN-OX-ISOMERO 2             | 23,9        | 9,8         |
| CITRONELLOLO                       | -           | -           |
| NEROLO                             | 10,7        | 7,5         |
| GERANILOLO                         | 40,8        | 35,1        |
| 2-IDROSSI-1,8-CINEOLO              | 9,1         | 6,3         |
| BENZIL ALCOL                       | 251,1       | 122,9       |
| 2-FENIL ETANOLO                    | 107,1       | 50,2        |
| 2,6-DIMETIL-3,7-OCTADIEN-2,6-DIOLO | 13,2        | 6,4         |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-2,6-DIOLO      | -           | -           |
| 2,6-DIMETIL-7,7-OCTADIEN-3,6-DIOLO | -           | -           |
| 4-VINIL-GUAIACOLO                  | 64,8        | 20,4        |

|                                      | NEBBIOLO    |             |
|--------------------------------------|-------------|-------------|
|                                      | POLPA µg/Kg | BUCCE µg/Kg |
| 3,7-DIMETIL-1,7-OCTANDIOLO           | 8,5         | 5,8         |
| 2,6-DIMETIL-7-OCTEN-1,8-DIOLO        | 5,8         | 5,1         |
| E-2,6-DIMETIL-2,7-OCTADIEN-1,8-DIOLO | 37,8        | 18,6        |
| Z-3,7-DIMETIL-2-OCTEN-1,7-DIOLO      | 7,6         | 5,6         |
| Z-2,6-DIMETIL-2,7-OCTADIEN-1,8-DIOLO | 113,4       | 70,4        |
| E-3,7-DIMETIL-2-OCTEN-1,7-DIOLO      | 35          | 27,6        |
| ACIDO GERANICO TRANS                 | 25,5        | 12,8        |
| 4-VINIL FENOLO                       | 99,3        | 75,9        |
| ACIDO BENZOICO                       | -           | -           |
| p-MENT-1-ENE-7,8-DIOLO               | 18,7        | 8,8         |
| 3-IDROSSI-β-DAMASCONE                | 41,8        | 15,8        |
| VANILLINA                            | 32,6        | 19,7        |
| METIL VANILLATO                      | 11,4        | 13,5        |
| 3,7-DIMETIL-2,6-OCTADIEN-1,8-DIOLO   | -           | -           |
| ACETOVANILLONE                       | 18,4        | 9,9         |
| 3-OXO-α-IONOLO                       | 35,7        | 25,3        |
| 3,9-DIIDROSSI-MEGASTIGMA-5-ENE       | 11,8        | 8,7         |
| ZINGERONE                            | -           | -           |
| ALCOL OMOVANILLICO                   | 157         | 81,9        |
| METIL SIRINGATO                      | 7,9         | 8,5         |
| ALCOL                                | 133,4       | 42          |
| DIIDROCONIFERILICO                   | 294,3       | 167,6       |

Tab. 5

**Convegno "I controlli qualità dei prodotti vinicoli"**  
**Intervento "Controllo di qualità attraverso la determinazione dei composti aromatici"**

Pasquale Tamborra

Analisi di succo di uve ad aroma di Moscato

La caratteristica più importante dei vini ad aroma di Moscato risiede nell'aroma tipico floreale dovuto alla presenza di terpenoli, quando superano i 50-100 µg/L.

Il (+)linalolo, presente nel succo dell'uva, possiede odore dolce, di petitgrain (olio essenziale ottenuto da foglie e giovani rami di agrumi), mentre l'isomero (-)linalolo, praticamente assente nell'uva, ha odore di lavanda. Si riscontra invece nel vino, in quanto i due isomeri si originano a partire da precursori comuni. Il geraniolo ed il nerolo sono presenti soprattutto nelle bucce: possiedono odore di rosa, geranio, agrumi (l'olio di neroli viene estratto dai fiori o appena sbocciati dell'arancio).

Risulta quindi acquisito come un maggior profumo provenga da una più elevata presenza di tali composti allo stato libero, mentre la più parte di essi, combinata agli zuccheri e quindi non possedendo la volatilità, non odora. Questi glicosidi si comportano invece da riserva di aroma in quanto liberano terpenoli per idrolisi acida o enzimatica.

Importante quindi valutare il contenuto di linalolo libero presente al momento del conferimento delle uve con un metodo che risulti rapido, preciso e non inquinante.

Abbiamo utilizzato il metodo proposto da Rapp et al. (1994), con alcune modifiche: in una boccettina da 100 mL, dotata di tappo, si pongono 25 mL di mosto limpido per centrifugazione ed 1 mL di soluzione di n-decanolo (standard interno). Si aggiungono 250 µL di solvente Kaltron (1,1,2 triclorotrifluoroetano), si tappa ermeticamente e si estraggono i terpenoli con una leggera agitazione, tramite ancoretta magnetica, per 15 minuti; quindi si lascia a riposo per circa mezzora dopodichè si aspira mediante pipetta Pasteur la fase organica, più pesante, dal fondo della boccetta per riporla in un vial, che si lascia in congelatore per pochi minuti. A questo punto si preleva 1 µL per l'analisi gascromatografica, effettuata utilizzando una colonna HP-FFAP 25 m di lunghezza, 0.2 mm di diametro e con 0.33 µm di spessore della fase e programmata di 50 °C per 4', 4 °C/min fino a 180 °C, isoterma di 30'.

In questo modo si è proceduto alla determinazione dei terpeni monoidrossilati (linalolo, nerolo e geraniolo) mentre altri terpeni ossigenati e polioidrossilati non vengono estratti dal Kaltron. Lo stesso metodo, utilizzato sui vini, permette di stimare le quantità di esteri di acidi grassi ed acetati di alcoli superiori presenti e che costituiscono l'aroma fruttato dei vini giovani; non vengono estratti gli acidi grassi a corta catena. Il recupero dell'acido esanoico avviene solo in modeste quantità, con il vantaggio di una migliore separazione dal geraniolo che possiede stesso tempo di ritenzione.

Sono stati analizzati numerosi campioni di succo di uva, prelevati al momento del ricevimento delle uve ad aroma di Moscato in due Cantine della zona del Nord Barese durante la vendemmia 1997. Nella figura 1 riportiamo i risultati ottenuti presso la prima cantina relativi al grado rifrattometrico (solidi solubili) ed al linalolo, l'alcool terpenico maggiormente presente.

I valori risultano molto diversi: il minimo di soli 22 µg/L è stato riscontrato in un campione di uva che presentava limitato tenore di zuccheri, si parlava di "uva morta" ovvero di arresto di maturazione per le avverse condizioni meteorologiche (scarsa piovosità). Valori

il massimo. Tenori incredibilmente elevati per due campioni della zona di Barletta, che superano il milligrammo per litro, precisamente 1244 e 1530 µg/L: il primo succo, analizzato presso la Sezione centrale di Chimica Enologica di Asti con il metodo proposto da Di Stefano R. (1991), ha confermato il contenuto di linalolo libero (1273 µg/L) e presentando inoltre un elevato tenore di diendiolo 1 (2049 µg/L). All'analisi dei composti terpenici liberati dopo idrolisi enzimatica, venivano riscontrati 1728 µg/L di linalolo, 388 µg/L di geraniolo, 284 µg/L di nerolo, 658 µg/L di trans-8-idrossilinalolo e 470 µg/L di cis-8-idrossilinalolo ed idrossi geraniolo insieme.

Nella figura 2 riportiamo i risultati ottenuti analizzando i succhi relativi alla Cantina 2 : notiamo come i solidi solubili siano abbastanza vicini tra loro, mentre i tenori di linalolo sono diversi e vanno da un minimo di 33 ad un massimo di 189 µg/L. Sono valori piuttosto bassi, tanto che la Cantina opera abitualmente la macerazione delle bucce per 24 ore. Infatti l'analisi effettuata su due vasche di mosto fa rilevare la presenza di 107 e 206 µg/L di linalolo e di 122 e 234 µg/L di geraniolo, dove la maggiore quantità di quest'ultimo si deve attribuire al prolungato contatto con le bucce.

#### Bibliografia

Di Stefano R. (1991). Proposition d'une methode de preparation de l'echantillon pour la determination des terpenes libres et glycosides des raisin et des vins. Bull. O.I.V.Gia, 721-722, 219-222

Rapp A., Yavas I.,Hastrich,H. ( 1994 ). Einfache und schnelle Anreicherung, "Kaltronmethode", von Aromastoffen des Weines und deren quantitative Bestimmung mittels Kapillar-chromatographie. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 90, 171-174.

Figura 1. Rilievi analitici di uva ad aroma di Moscato.

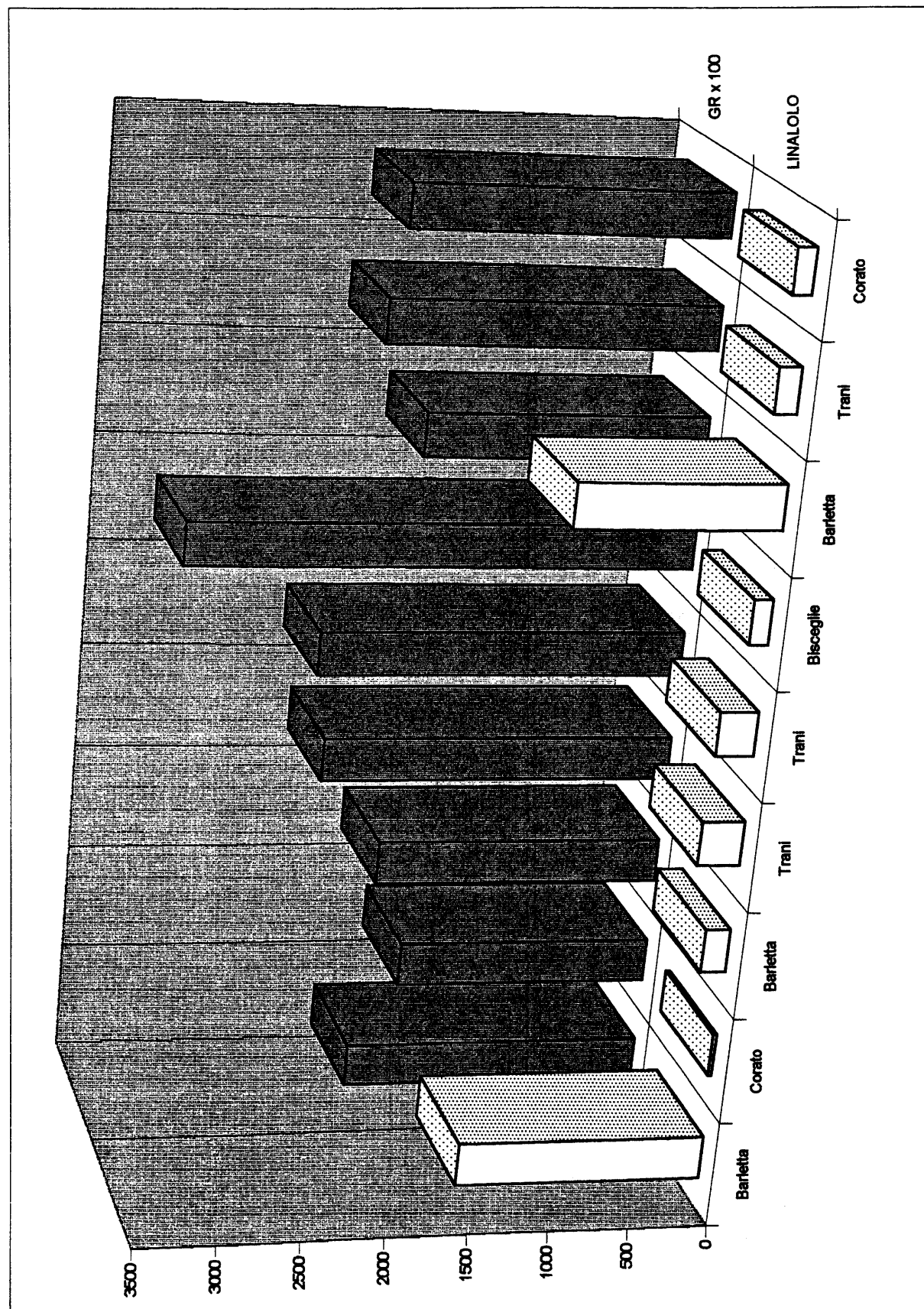
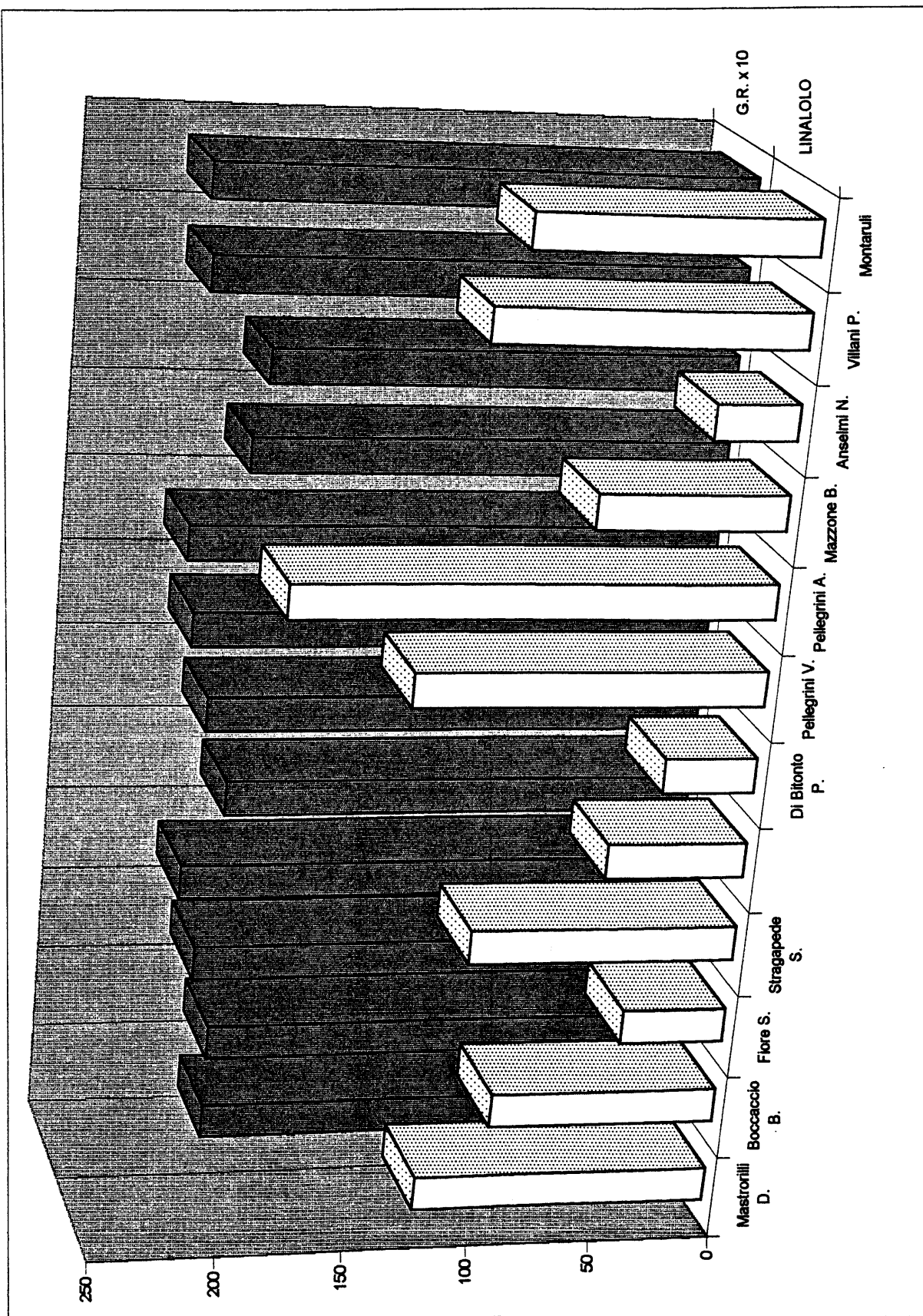


Figura 2. Rilievi analitici di uva ad aroma di Moscato



Cantina di Ruvo di Puglia

## ANALISI SENSORIALE DEL VINO MEDIANTE PANEL TEST

Gerbi Vincenzo, Zeppa Giuseppe

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

### Premessa

L'esame sensoriale costituisce da sempre una parte integrante dell'analisi di un vino. Come per pochi altri alimenti il saggio sensoriale è fondamentale per la definizione del livello qualitativo del prodotto e risulta, per questo aspetto, non sostituibile dall'analisi chimica, ma ne risulta un naturale complemento.

Per quali ragioni si assaggia un vino? Molte risposte vengono subito in mente, tutte sensate, che vanno dalla necessità di controllare la vinificazione o di accertare l'assenza di difetti, alla semplice valutazione del livello di gradimento da parte del consumatore. Ma in mezzo a questi due momenti estremi ve ne possono essere molti altri, in cui entrano in funzione figure professionali anche molto diverse tra di loro: tecnici di cantina, tecnici assaggiatori delle commissioni D.O.C. e D.O.C.G., assaggiatori di concorsi enologici, enotecari, critici enogastronomici, sommelier ecc.

Ognuna di queste categorie ha compiti specifici e non esiste normalmente concorrenza o confusione di funzioni.

Che si siano sviluppate così tante figure intorno all'assaggio del vino è conseguenza del fatto che al consumo del vino è associata una scelta culturale che lega un certo vino all'abbinamento gastronomico, ad una particolare occasione, al desiderio di conoscere i gusti e le abitudini di un certo luogo.

I vini, più di ogni altro cibo o bevanda, si differenziano in funzione dei vitigni, dell'ambiente in cui questi si sviluppano, dalle cure colturali che ricevono, dalla tecnologia di vinificazione e di affinamento.

Proprio il variegato quadro dei prodotti ha fatto sì che il settore enologico sia stato sicuramente il primo ad avvalersi delle forti capacità dell'apparato sensoriale umano per valutare, studiare e differenziare i prodotti ed è stato quello che ha creato e formalizzato per primo la figura dell'assaggiatore, variamente qualificato a seconda della sua preparazione specifica e della sua professionalità.

Ben presto però anche gli altri settori delle tecnologie alimentari hanno imparato ad apprezzare la sensibilità, la rapidità ed il basso costo dei referti sensoriali in appoggio o in alternativa agli accertamenti chimici.

Anzi l'applicazione di criteri scientifici all'uso dei sensi ha fatto nascere una vera e propria disciplina, l'analisi sensoriale, alla quale si sono dedicati con passione un buon numero di ricercatori e che è ormai diventata una materia insegnata nelle Università, anche in quelle italiane.

L'analisi sensoriale è una materia di studio che sfrutta le conoscenze di altre discipline, in particolare di fisiologia umana, psicologia, metrologia e statistica.

Il giudice, così viene definito con un termine di derivazione inglese chi esercita l'analisi sensoriale, si comporta come uno strumento di misura chiamato, secondo il tipo di *test*, a percepire delle differenze, a quantificare l'intensità di determinati caratteri sensoriali o a valutare l'adeguatezza di un

alimento rispetto ad un determinato *standard*.

I componenti dei gruppi di analisi, o *panel*, vengono selezionati ed addestrati per migliorare le loro capacità di misura, che possono essere espresse in termini di sensibilità, precisione e riproducibilità del responso.

Per i *panelist* l'esperienza personale su un determinato prodotto e la propria scala di valori devono avere meno importanza che per gli assaggiatori. D'altronde i risultati di un'analisi sensoriale sono sempre espressi e valutati in termini di significatività statistica e non sono il frutto di una mediazione dei pareri dei commissari.

Dell'analisi sensoriale in enologia si sono avvalsi soprattutto i ricercatori per valutare i risultati di sperimentazioni tecnologiche. È frequente ad esempio il ricorso ai test concettualmente più semplici come quelli di differenza (*test alla pari*, duo-trio, triangolare) o di preferenza (*ranking test*) per accertare l'influenza sui caratteri organolettici dei vini dell'impiego di tecniche di vinificazione alternative, di microrganismi selezionati o di nuovi coadiuvanti e additivi.

L'analisi sensoriale trova però interessanti applicazioni anche nel settore produttivo e commerciale. Può ad esempio consentire progressi rilevanti nella definizione e divulgazione delle caratteristiche sensoriali dei vini.

La valorizzazione dei prodotti di un certo territorio non potrà continuare a basarsi solo sull'immagine di cui gode la zona di produzione o sulla fiducia riconosciuta ai produttori. Occorrerà motivare le ragioni del maggior valore anche spiegando le caratteristiche del prodotto. Per comprendere questa necessità basta pensare quanto i consumatori conoscano meglio gli attributi dei prodotti che acquistano nei settori diversi da quello alimentare.

I metodi di analisi quantitativa descrittiva si prestano egregiamente ai suddetti scopi consentendo di individuare un profilo sensoriale del vino in esame attraverso una serie di attributi sensoriali specifici facilmente individuali e misurabili. I dati raccolti possono essere sottoposti ad elaborazione statistica e fornire quindi interpretazioni non equivocate.

L'analisi quantitativa descrittiva deve essere condotta da un *panel* addestrato e prevede una fase preliminare destinata all'individuazione dei descrittori ed una fase di analisi vera e propria in cui si procede alla misura dei medesimi.

Gli assaggiatori tradizionali sono degli ottimi esperti di prodotto, mentre i giudici sono degli esperti di metodo. Non si può quindi che augurarsi una collaborazione tra i due mondi per il bene del vino e dei prodotti ad alta tipicità in genere.

## **Il caso del Barolo D.O.C.G.**

Il lavoro di cui si riferisce aveva l'obiettivo di individuare i descrittori sensoriali del Barolo D.O.C.G. e di approntare una scheda per l'analisi descrittiva-quantitativa.

Il problema è stato affrontato con un metodo inusuale, utilizzando nella selezione dei descrittori sensoriali anziché un limitato numero di esperti con schede descrittive libere, un vasto campione di frequentatori dell'Enoteca Regionale del Barolo ed impiegando una scheda 'a consenso' destinata ad agevolare il lavoro degli assaggiatori e quello di chi doveva raccogliere i dati. Infatti ciascun descrittore è individuato nella scheda da un codice numerico che ne permette l'agevole inserimento in un foglio elettronico (Fig. 1).

La scheda, disponibile in inglese, francese, tedesco e spagnolo, oltre ad un piccolo questionario iniziale relativo al degustatore-compilatore (Fig. 2), comprendeva 100 descrittori sensoriali di cui 9 per il colore, 85 per l'aroma e 6 per il sapore. Come si comprende i descrittori dell'aroma sono largamente eccedentari rispetto a quelli ragionevolmente ritrovabili nel Barolo, ma l'ampia scelta era finalizzata a stimolare l'attenzione dei degustatori i quali dovevano semplicemente segnalare l'individuazione della sensazione, la descrizione era quindi esclusivamente qualitativa.

Il rischio del riconoscimento di descrittori impropri per un fenomeno di suggestione è stato annullato dall'elevato numero, oltre 1100, di casi osservati.

La compilazione delle schede non era ovviamente obbligatoria e questo ci ha permesso di rilevare un maggiore interesse da parte dei maschi italiani di 30-40 anni con un titolo di studio elevato (Fig. 3).

Degno di nota il fatto che ben il 32% dei visitatori era straniero e di questi l'8% provenienti da Paesi extra-europei ed in particolare dagli Stati Uniti.

I vini in degustazione erano di annate comprese tra il 1947 ed il 1988, con una larga prevalenza delle annate '85 e '86, quindi tendenzialmente piuttosto invecchiati (Fig. 4).

Di ciascun descrittore sono state valutate le frequenze di citazione: molti descrittori sono stati citati con frequenze molto basse. Essendo assai difficile applicare correttamente criteri statistici per la scelta dei descrittori significativi nel caso di un numero di schede elevato e con parecchi difetti di compilazione parziale, si è deciso di tener conto dei termini indicati da almeno 200 visitatori, pari a circa il 20% del totale.

La stessa scheda è stata utilizzata anche da un *panel* di 18 assaggiatori esperti appartenenti all' Organizzazione Nazionale Assaggiatori Vino (O.N.A.V.) che hanno esaminato 9 campioni di Barolo delle annate 1985, 1986 e 1987.

In considerazione della maggiore esperienza degli assaggiatori, è stata richiesta per ciascun descrittore anche una valutazione quantitativa mediante un punteggio da 1 a 5 in funzione dell'intensità. È stato possibile in questo modo utilizzare la procedura prevista dalle norme francesi di normalizzazione per l'individuazione dei descrittori significativi. Per la scelta dei descrittori è stato utilizzato un valore limite di media geometrica (MG) del 10% per la significatività, come consigliato dalle suddette norme.

Il confronto tra i descrittori emersi dalle schede dei visitatori e da quelle degli esperti mette in evidenza risultati assai diversi.

Per quanto riguarda i descrittori visivi e quelli rilevabili in bocca (Tab. 1) si è potuta osservare una notevole sicurezza nelle indicazioni di definizioni classiche per i vini rossi invecchiati, sia da parte dei visitatori dell'Enoteca che da parte degli assaggiatori esperti.

Fanno eccezione le sensazioni **Acido**, **Salato** e **Alcolico** che i visitatori hanno segnalato con minore frequenza, probabilmente per una scarsa abitudine al loro riconoscimento.

D'altra parte il numero di descrittori tra cui scegliere era limitato e molto attinente ai caratteri del vino in esame.

Per quanto riguarda l'individuazione dei descrittori olfattivi è risultata evidente una minore sicurezza da parte dei visitatori che hanno indicato molti descrittori, anche utilizzando gli spazi liberi per segnalare descrittori non previsti, ma con scarsa frequenza (Fig. 5).

Sono risultati individuati, adottando i criteri sopra esposti, da parte dei

visitatori, solamente tre descrittori: **Chiodi di garofano**, **Rovere** e **Viola**, mentre gli assaggiatori esperti hanno indicato con frequenze statisticamente significative numerosi descrittori tra i quali emergono per l'elevato valore di MG termini come **Tabacco**, **Cuoio**, **Rovere**, e **Sottobosco** (tartufo e funghi secchi) segnalati invece con scarsa frequenza dai visitatori (Tab. 2).

Ciò conferma, se ve ne fosse bisogno, che la capacità di osservazione "sensoriale" necessita di formazione ed addestramento per fornire risultati utilizzabili.

L'accorpamento dei descrittori considerabili organoletticamente simili quali **Sottobosco-Funghi secchi-Tartufo** o **Cuoio-Pelliccia**, **pelo** consente così di costruire una scheda per l'analisi sensoriale di tipo descrittivo-quantitativo basata su 19 descrittori.

Il confronto (Tab. 3) fra questa nuova scheda ed una scheda elaborata precedentemente evidenzia numerosi punti di contatto.

Nel caso dei descrittori del colore si confermano quelli già presentati con la sola eccezione del **Rosso mattone** trasformato in **Rosso aranciato** in quanto meglio definibile dal punto di vista cromatico.

Tutti confermati anche i descrittori del sapore, mentre per quanto riguarda le sensazioni tattili ne permangono solo più due, l'**Astringente** e l'**Alcolicità**.

È soprattutto la scomparsa del descrittore **Corposità** che determina il maggior interesse. Probabilmente i termini utilizzati usualmente nella pratica dell'assaggio dei vini non trovano riscontro applicando i criteri dell'analisi sensoriale in quanto non fanno riferimento a sensazioni precise e riproducibili. Solo un attento e prolungato utilizzo della nuova scheda potrà indicare se tale assenza presenta delle ripercussioni negative sulle capacità descrittive della scheda stessa.

Le maggiori differenze tra le due schede si hanno però a carico dei descrittori dell'odore ove accanto ad alcune conferme (**Liquirizia**, **Sottobosco**, **Tabacco**), abbiamo numerose variazioni.

Così il descrittore **Rovere/Vaniglia** si semplifica in **Rovere** mentre i troppo generici **Spezie** e **Fiori freschi** originano **Cannella** e **Pepe** il primo e **Rosa** e **Viola** il secondo.

In entrambi i casi si assiste quindi ad un incremento nella capacità descrittiva della scheda mediante il ricorso a descrittori sensorialmente meglio definiti.

Scompaiono infine i descrittori **Frutti freschi** e **Frutti secchi**, mentre fa la sua comparsa la **Prugna cotta**.

L'eliminazione del descrittore **Frutti freschi** può però ascriversi all'età relativamente avanzata (circa 9 anni) dei vini esaminati. È quindi molto probabile che per l'esame di vini Barolo più giovani sia indispensabile l'inserimento di descrittori relativi ai frutti freschi.

Si propone infine l'eliminazione del descrittore **Difetti**, perchè troppo generico e non più utilizzabile in una scheda descrittiva-quantitativa (Fig. 6).

L'esame comparato dei risultati ottenuti da due serie di degustazioni, l'una effettuata con i visitatori dell'Enoteca di Barolo, l'altra con assaggiatori esperti ha quindi messo in evidenza una spiccata disformità nelle risposte.

In particolare è risultato che i primi si sono lasciati spesso suggestionare dalle impressioni senza riuscire a cogliere gli aspetti più salienti dei vini esaminati. Solo per i descrittori più conosciuti e che l'immaginario collettivo

accomuna al Barolo vi è stata una discreta uniformità di risposte con un elevato numero di segnalazioni.

Nel caso invece del *panel* di esperti vi è stata una maggiore uniformità di risposte e quindi il raggiungimento della significatività statistica da parte di un elevato numero di descrittori organolettici.

La maggiore esperienza e la formazione professionale hanno quindi giocato un ruolo di primo piano consentendo agli assaggiatori di cogliere nei prodotti in esame tutte quelle particolarità sensoriali che fanno del vino in generale e del Barolo in particolare un prodotto unico ed irripetibile.

## BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

AFNOR (1991) - *Contrôle de la qualité des produits alimentaires - Analyse sensorielle*. AFNOR-DGCCRF, Paris, F.

AITA (1994) - Atti Convegno "Usi e abusi dell'analisi sensoriale". Milano, 14 ottobre 1994.

Castino M. (1983) - La valutazione organolettica dei vini con una scala non strutturata. *Vigne-vini*, 10, 10, 53-61.

Etiévant P.X., Issanchou S., Guichard E. (1990) - Remplacer une séance de dégustation par une analyse physico-chimique: rêve ou réalité. *Rev. Fr. Oenol.*, 127, 37-45

Gerbi V., Zeppa G., Minati J.L., Minetti G. (1993) - *Caracterisation sensorielle du Barolo D.O.C.G.: individuation des descripteurs organoleptiques par l'analyse multidimensionnelle*. Atti Convegno "Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins". Montpellier, 9-10 aprile.

Meilgaard M., Civille G.V., Carr B. T. (1991) - *Sensory evaluation techniques*. CRC Press, Boston, USA.

Noble A.C., Arnold R.A., Masuda B.M., Pecore S.D., Schmidt J.O., Stern P.M. (1984) - Progress towards a standardized system of wine aroma terminology. *Am. J. Enol. Vitic.*, 35, 2, 107-109.

O.I.V. (1993) - Atti Convegno "Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins". Montpellier, 9-10 aprile.

Piggott J.R. (1988) - *Sensory analysis of foods*. Elsevier Applied Science, London, GB.

Porretta S. (1992) - *L'analisi sensoriale*. Ed. Tecniche Nuove, Milano, IT.

SSHA (1990) - *Evaluation sensorielle - Manuel méthodologique*. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, F.

Ubigli M. (1992) - Contributo alla realizzazione del profilo sensoriale di un vino a D.O.C. *Vini d'Italia*, 34, 3, 27-42

## **Didascalie figure e tabelle**

Figura 1 - Scheda descrittiva 'a consenso' utilizzata per la caratterizzazione sensoriale del Barolo D.O.C.G.

Figura 2 - Scheda-questionario utilizzata per rilevare le informazioni sui degustatori.

Figura 3 - Distribuzione per età, sesso, nazionalità e titolo di studio degli assaggiatori che hanno compilato la scheda descrittiva presso l'Enoteca del Barolo (n.i. - non indicato).

Figura 4 - Annate di Barolo esaminate per la caratterizzazione sensoriale (n.i. - non indicata).

Figura 5 - Distribuzione per frequenza di citazione dei descrittori sensoriali dell'odore.

Figura 6 - Scheda descrittiva-quantitativa 'a ruota' per l'analisi sensoriale del Barolo D.O.C.G.

Tabella 1 - Numero di citazioni e valore della Media Geometrica per i descrittori visivi e gustativi e relativo descrittore sensoriale derivato.

Tabella 2 - Numero di citazioni e valore della Media Geometrica per i descrittori olfattivi e relativo descrittore sensoriale derivato.

Tabella 3 - Descrittori utilizzati nelle due versioni della scheda descrittiva-quantitativa per il Barolo D.O.C.G.

Fig. 1

| Colori                        |                            |  |
|-------------------------------|----------------------------|--|
| Tonalità                      |                            |  |
| 1                             | Giallo-aranciato           |  |
| 2                             | Aranciato                  |  |
| 3                             | Rosso-aranciato            |  |
| 4                             | Rosso-rubino               |  |
| 5                             | Rosso-granato              |  |
| 6                             | Rosso-mattone              |  |
| Odori                         |                            |  |
| Aromatici                     |                            |  |
| 10                            | Aglio                      |  |
| 11                            | Alloro                     |  |
| 12                            | Anice                      |  |
| 13                            | Finocchio                  |  |
| 14                            | Menta                      |  |
| 15                            | Senape                     |  |
| Erbacei                       |                            |  |
| 16                            | Asparago                   |  |
| 17                            | Erba fresca tagliata       |  |
| 18                            | Erba secca, fieno          |  |
| 19                            | Peperone                   |  |
| Caseari                       |                            |  |
| 55                            | Burro                      |  |
| 56                            | Formaggio                  |  |
| 57                            | Latte                      |  |
| 58                            | Yogurt                     |  |
| Empireumatici                 |                            |  |
| 74                            | Catrame                    |  |
| 75                            | Fumo, affumicato           |  |
| 76                            | Gomma                      |  |
| 77                            | Idrocarburi, petrolio      |  |
| 78                            | Incenso                    |  |
| 79                            | Tabacco                    |  |
| Speziati                      |                            |  |
| 28                            | Cannella                   |  |
| 29                            | Chiodi di garofano         |  |
| 30                            | Noce moscata               |  |
| 31                            | Pepe                       |  |
| Animali                       |                            |  |
| 80                            | Cera d'api                 |  |
| 81                            | Cuoio                      |  |
| 82                            | Pelliccia, pelo            |  |
| Fruttati                      |                            |  |
| 40                            | Arancia                    |  |
| 41                            | Banana                     |  |
| 42                            | Ciliegia                   |  |
| 43                            | Fragola                    |  |
| 44                            | Lampone                    |  |
| 45                            | Mela acerba                |  |
| 46                            | Melone                     |  |
| 47                            | Mirtillo                   |  |
| 48                            | Mora                       |  |
| 49                            | Ribes                      |  |
| Di legno                      |                            |  |
| 50                            | Castagno                   |  |
| 51                            | Pino, resina               |  |
| 52                            | Rovere                     |  |
| 53                            | Legno tostato              |  |
| 54                            | Vaniglia                   |  |
| Dolci                         |                            |  |
| 32                            | Caramello                  |  |
| 33                            | Crosta di pane             |  |
| 34                            | Liquirizia                 |  |
| 35                            | Mela cotta                 |  |
| 36                            | Miele                      |  |
| 37                            | Pera cotta                 |  |
| 38                            | Prugna cotta               |  |
| 39                            | Prugna secca               |  |
| Di frutti secchi              |                            |  |
| 64                            | Arachidi                   |  |
| 65                            | Mandorle                   |  |
| 66                            | Nocciole                   |  |
| 67                            | Noci                       |  |
| Coloniali                     |                            |  |
| 25                            | Cacao                      |  |
| 26                            | Caffè                      |  |
| 27                            | The                        |  |
| Sapori                        |                            |  |
| 95                            | Acido                      |  |
| 96                            | Amaro                      |  |
| 97                            | Dolce                      |  |
| 98                            | Salato                     |  |
| Sfumature                     |                            |  |
| 7                             | Riflessi ambrati           |  |
| 8                             | Riflessi aranciati         |  |
| 9                             | Riflessi violacei          |  |
| Fermentativi e di ossidazione |                            |  |
| 68                            | Acetone                    |  |
| 69                            | Alcol                      |  |
| 70                            | Etere                      |  |
| 71                            | Lievito                    |  |
| 72                            | Marsala, Vernaccia, Madera |  |
| 73                            | Mosto cotto                |  |
| Florali                       |                            |  |
| 20                            | Biancospino                |  |
| 21                            | Narciso                    |  |
| 22                            | Rosa                       |  |
| 23                            | Rosa canina                |  |
| 24                            | Viola                      |  |
| Di sottobosco                 |                            |  |
| 59                            | Funghi freschi             |  |
| 60                            | Funghi secchi              |  |
| 61                            | Muschio                    |  |
| 62                            | Sottobosco                 |  |
| 63                            | Tartufo                    |  |
| Difetti                       |                            |  |
| 83                            | Aceto                      |  |
| 84                            | Anidride solforosa, zolfo  |  |
| 85                            | Carta, cartone             |  |
| 86                            | Idrogeno solf., uova marce |  |
| 87                            | Legno marcio               |  |
| 88                            | Muffa                      |  |
| 89                            | Naftalina                  |  |
| 90                            | Polvere                    |  |
| 91                            | Tappo                      |  |
| Altri                         |                            |  |
| 92                            |                            |  |
| 93                            |                            |  |
| 94                            |                            |  |
| Astringente                   |                            |  |
| 99                            | Astringente                |  |
| Bruciante, caldo              |                            |  |
| 100                           | Bruciante, caldo           |  |

FIG. 2

Compilare in ogni sua parte il questionario indicando per le sensazioni colore, odore e sapore i termini, fra quelli riportati, che meglio descrivono il prodotto in esame.

Per informazioni rivolgersi al Personale dell'Enoteca.

### Informazioni preliminari

#### Prodotto

Produttore : .....

Annata : .....

#### Degustatore

Nazionalità : .....

Sesso                      ☐ M                      ☐ F

Età : .....

Titolo di studio

- ☐ Universitario
- ☐ Maturità scientifica
- ☐ Maturità classica
- ☐ Maturità tecnica
- ☐ Enotecnico
- ☐ Scuola media
- ☐ Scuola elementare
- ☐ Altro .....

Professione : .....

fig 3

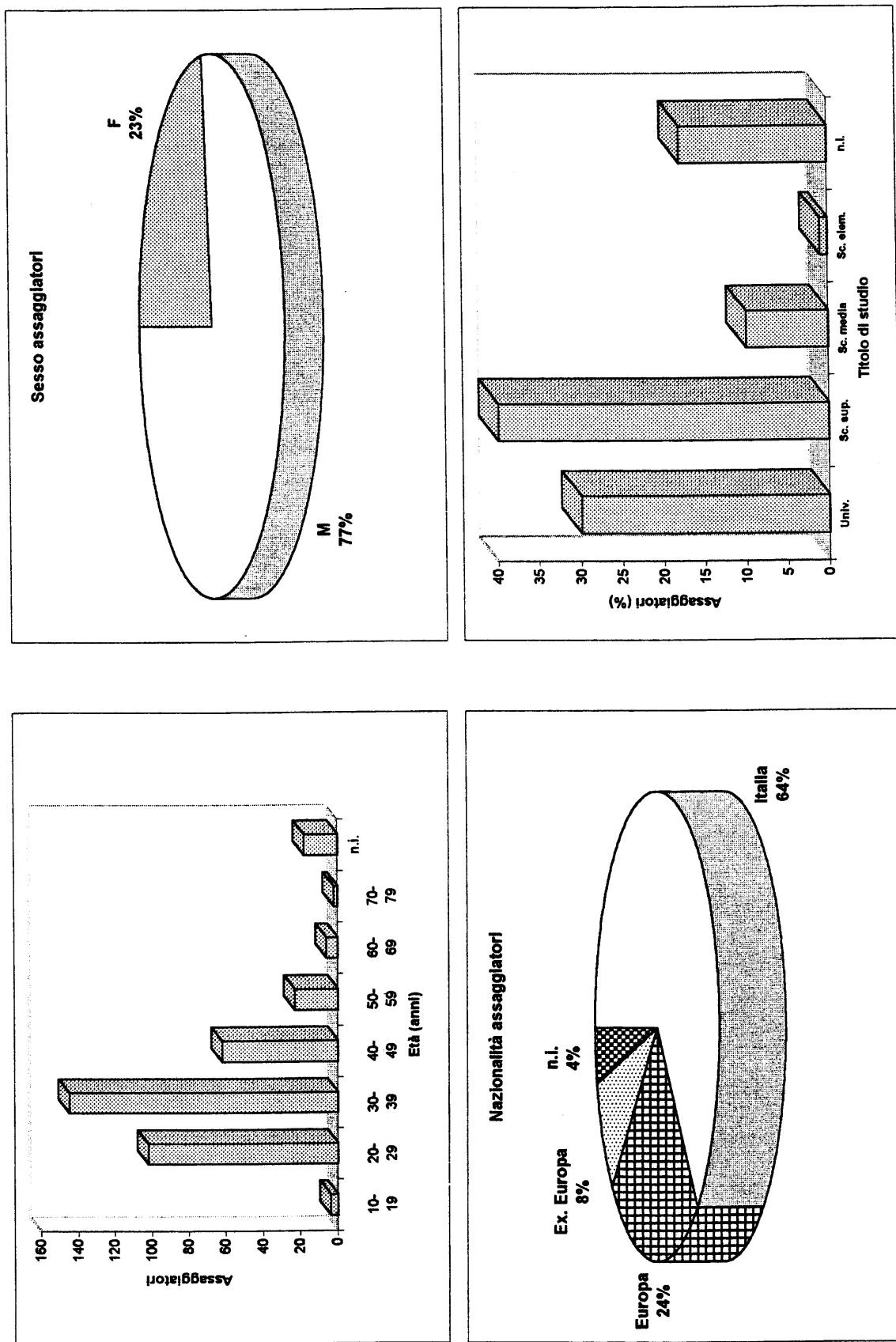


fig 4

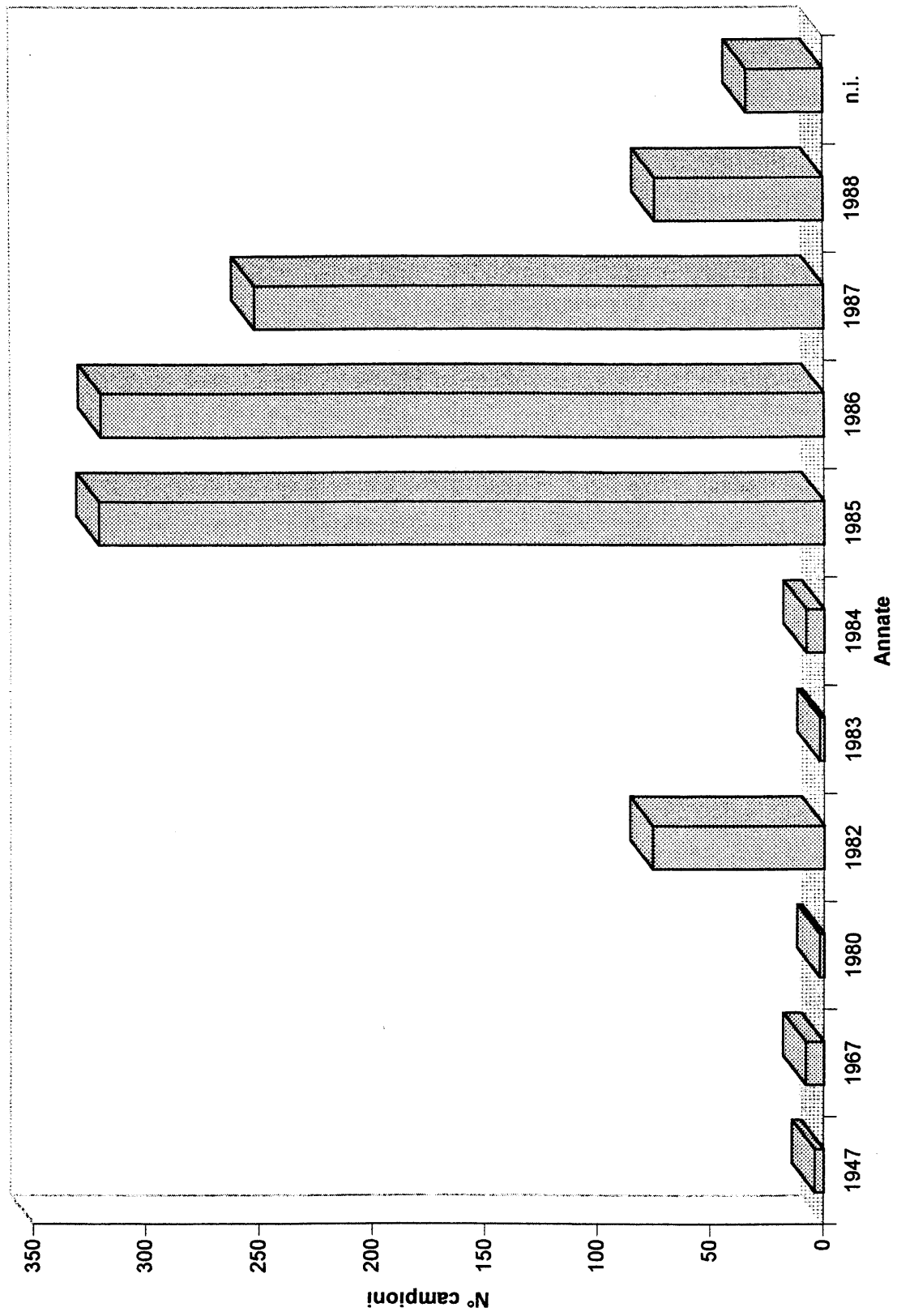


fig 5

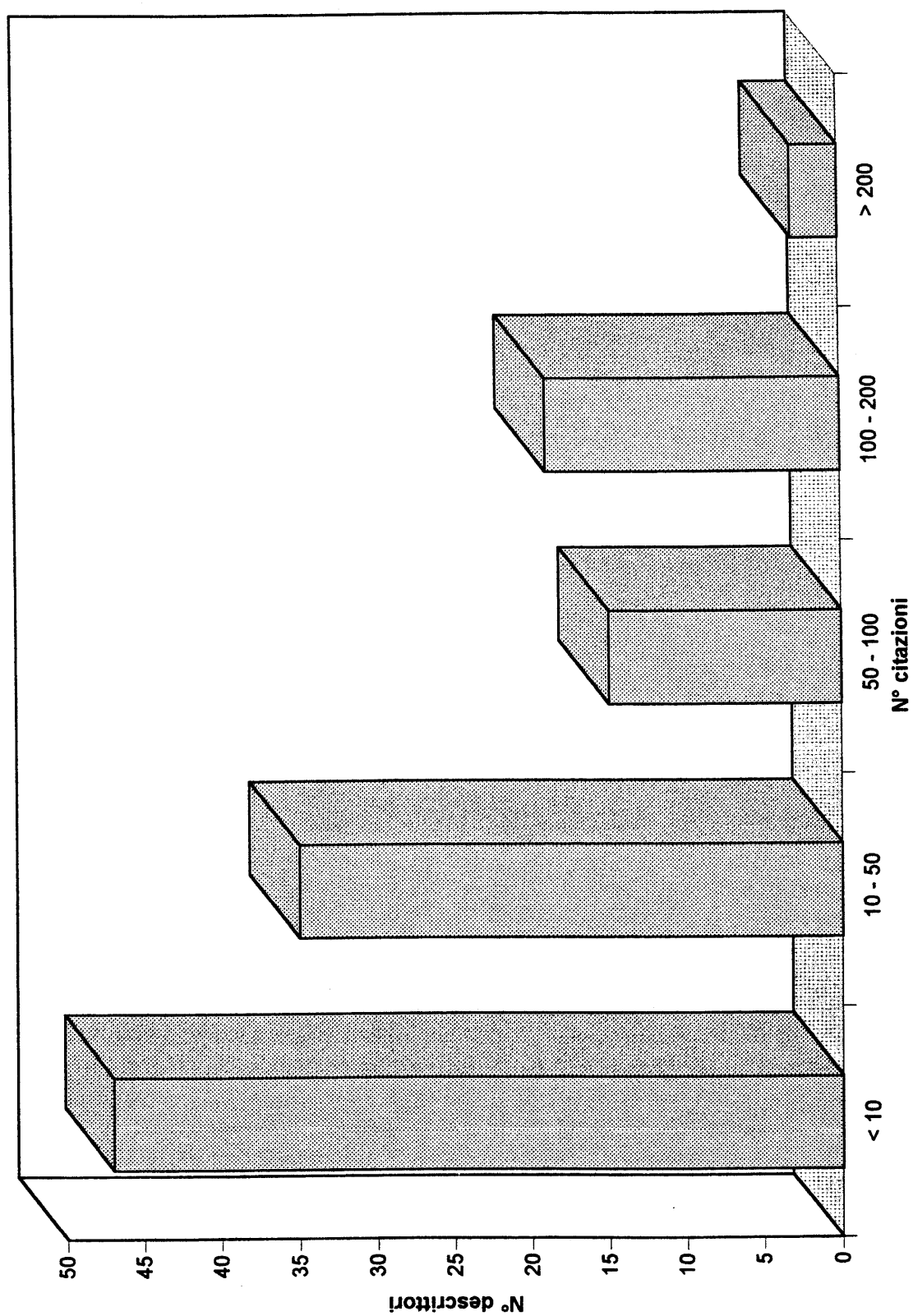


Fig. 6

## Analisi sensoriale del Barolo

Campione n.: .....

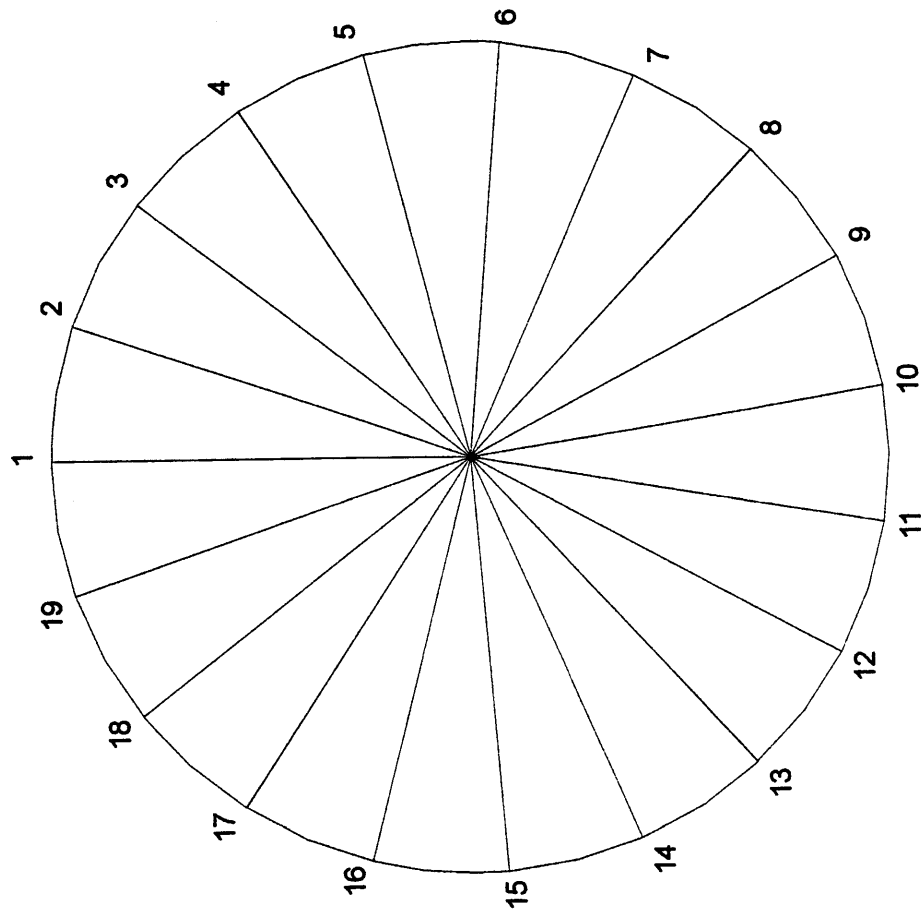
Data : .....

Degustatore: .....

- 1) Rosso rubino
- 2) Rosso granato
- 3) Rosso aranciato
- 4) Riflessi aranciati

- 5) Rovere
- 6) Cannella
- 7) Pepe
- 8) Liquirizia
- 9) Prugna cotta
- 10) Sottobosco
- 11) Tabacco
- 12) Rosa
- 13) Viola
- 14) Cuoio

- 15) Amaro
- 16) Acido
- 17) Sapido
- 18) Astringente
- 19) Alcolicità



Per ogni descrittore, l'intensità massima si colloca all'esterno del raggio, la minima all'interno

tab 1

|                 | I° degustazione<br>(cit. > 20%) | II° degustazione<br>(M.G. > 10%) | Descrittore<br>derivato |
|-----------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| R. aranciato    |                                 | 40.05                            | <i>R. aranciato</i>     |
| R. mattone      | 206                             | 12.33                            |                         |
| R. rubino       | 297                             | 27.28                            | <i>R. rubino</i>        |
| R. granato      | 390                             | 55.24                            | <i>R. granato</i>       |
| Rifl. ambrati   | 296                             |                                  |                         |
| Rifl. aranciati | 385                             | 47.60                            | <i>Rifl. aranciati</i>  |
| Acido           |                                 | 48.95                            | <i>Acido</i>            |
| Amaro           | 351                             | 34.50                            | <i>Amaro</i>            |
| Salato          |                                 | 15.68                            | <i>Sapido</i>           |
| Astringente     | 530                             | 63.10                            | <i>Astringenza</i>      |
| Alcolico        |                                 | 53.16                            | <i>Alcolicità</i>       |

tab 2

|                   | I° Degustaz.<br>(cit. > 20%) | II° Degustaz.<br>(M.G. > 10%) | Descrittore<br>derivato |
|-------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| Cannella          |                              | 11.07                         | <i>Cannella</i>         |
| Chiodi garof.     | 202                          |                               |                         |
| Pepe              |                              | 11.34                         | <i>Pepe</i>             |
| Catrame           |                              | 17.77                         |                         |
| Tabacco           |                              | 23.50                         | <i>Tabacco</i>          |
| Cuoio             |                              | 28.92                         | <i>Cuoio</i>            |
| Pelliccia, Pelo   |                              | 16.70                         |                         |
| Rovere            | 244                          | 30.39                         | <i>Rovere</i>           |
| Liquirizia        |                              | 19.50                         | <i>Liquirizia</i>       |
| Prugna cotta      |                              | 19.55                         | <i>Prugna cotta</i>     |
| Erba secca, fieno |                              | 17.53                         | <i>Fieno</i>            |
| Alcol             |                              | 16.41                         |                         |
| Etere             |                              | 16.87                         |                         |
| Rosa              |                              | 10.48                         | <i>Rosa</i>             |
| Viola             | 246                          | 10.48                         | <i>Viola</i>            |
| Funghi secchi     |                              | 15.61                         |                         |
| Sottobosco        |                              | 20.49                         | <i>Sottobosco</i>       |
| Tartufo           |                              | 11.36                         |                         |

tab 3

| Vecchia scheda  | Nuova<br>scheda        |
|-----------------|------------------------|
| R. mattone      | <i>R. aranciato</i>    |
| R. rubino       | <i>R. rubino</i>       |
| R. granato      | <i>R. granato</i>      |
| Rifl. aranciati | <i>Rifl. aranciati</i> |
| Rovere/Vaniglia | <i>Rovere</i>          |
| Spezie          | <i>Cannella</i>        |
| Frutti freschi  | <i>Pepe</i>            |
| Liquirizia      | <i>Liquirizia</i>      |
| Frutti secchi   | <i>Prugna cotta</i>    |
| Sottobosco      | <i>Sottobosco</i>      |
| Tabacco         | <i>Tabacco</i>         |
| Fiori freschi   | <i>Rosa</i>            |
|                 | <i>Viola</i>           |
| Cuoio           | <i>Cuoio</i>           |
| Amaro           | <i>Amaro</i>           |
| Acido           | <i>Acido</i>           |
| Sapido          | <i>Sapido</i>          |
| Astringente     | <i>Astringente</i>     |
| Alcolicità      | <i>Alcolicità</i>      |
| Corposità       |                        |
| Morbidezza      |                        |
| Persistenza     |                        |
| Difetti         |                        |

## UTILIZZO DI NASI ELETTRONICI PER LA DIFFERENZIAZIONE DEI VINI E CREAZIONE DI UNA BANCA DATI.

**Berardino TORRONE**

Azienda Vinicola Michele Mastroberardino S.r.l.

Nell'ambito degli impianti di produzione delle industrie alimentari, è sempre più frequente l'utilizzo di apparecchiature elettroniche che riproducono le funzioni degli organi di senso umani.

Ad esempio: nei reparti di imbottigliamento di alcune aziende, si trovano macchine chiamate "look control" che, per mezzo di telecamere collegate a microprocessori, così come farebbe un occhio umano, individuano bottiglie difettose o mal confezionate.

Il naso elettronico è uno strumento di nuova concezione, costruito per emulare il sistema olfattivo umano nella sua capacità di stabilire differenze tra gli odori e l'intensità degli stessi.

Esso racchiude una serie di sensori a ossidi semiconduttori, con parziale specificità, che emulano la sensibilità dei recettori olfattivi nei riguardi delle caratteristiche stereochimiche e polari delle sostanze volatili. L'elaborazione dei dati, fatta con metodi chemiometrici, si avvicina al processo che ha luogo nel bulbo olfattivo. Infine, la rete neurale che si associa al calcolo statistico, imita il riconoscimento e la valutazione dell'aroma in tempo reale.

Lo strumento utilizzato per queste misure è un naso elettronico Fox 3000 prodotto da Alpha M.O.S. (*Lab. Service Analytica S. r. l.*).

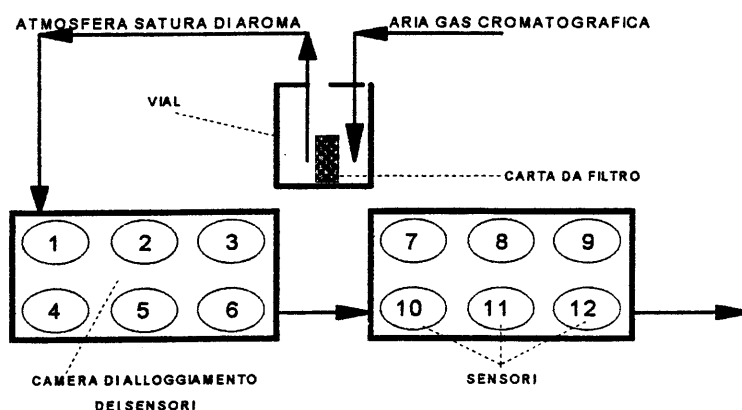


fig. 1

Le due camere, contenenti i dodici sensori rappresentano il cuore del sistema: su di essi viene fatto fluire il campione da analizzare utilizzando aria gas-cromatografica come carrier (figura 1).

In presenza della sola aria pura la resistenza dei sensori assume un valore costante; ma, nel momento in cui la superficie viene a contatto con un campione odoroso, la resistenza decresce, per poi ritornare al valore iniziale quando, tutto il campione, sarà defluito dalla camera di alloggiamento.

Ogni sensore è costruito per reagire con una diversa categoria di sostanze (alcoli, aldeidi, esteri, idrocarburi, sostanze aromatiche...).

La combinazione delle risposte dei dodici sensori, viene registrata, in tempo reale, dal computer e rappresenta l'impronta digitale di ogni singolo campione (fig. 2).

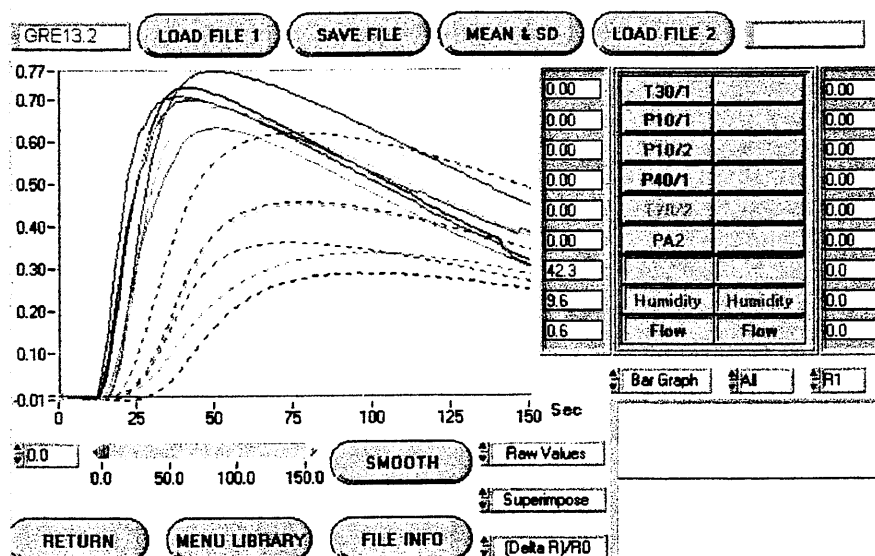


fig. 2

Nel diagramma in figura ogni curva rappresenta la risposta di un singolo sensore mentre la linea di base è il valore assunto in presenza del solo carrier.

Lo scopo della ricerca era quello di capire le potenzialità del naso elettronico nella discriminazione di vini a seconda degli uvaggi, lavorazione e anno di produzione, onde dare una valutazione oggettiva, in tempo reale, di percezione di aromi indipendente da fattori umani.

Fasi fondamentali della procedura d'analisi - messa a punto presso il Dipartimento di Chimica Organica ed Industriale dell'Università di Parma, dal gruppo di ricerca del Dott. Enrico Dalcanale - sono la metodica di campionamento e la scelta del pattern di sensori.

Nel corso delle sperimentazioni si è riscontrato che il miglior metodo è quello di far adsorbire un volume noto di vino su carta da filtro. La quantità di campione richiesto è 2 µl. Tale dose, infatti, è risultata essere quella in grado di generare, a temperatura ambiente, una risposta sufficientemente alta da parte di tutti i sensori e contemporaneamente di non portarli a saturazione.

Depositando il campione su carta da filtro e chiudendo ermeticamente il vial, si crea un'atmosfera satura di aroma che, tramite flusso di aria gas-cromatografica, viene trasportata all'interno delle camere dove alloggiano i sensori.

Per questo motivo, le fiale contenenti, i campioni devono essere preparate almeno quattro ore prima dell'analisi in modo da equilibrare lo spazio di testa dell'aroma stesso.

Tutte le analisi, i cui risultati saranno esposti qui di seguito, sono state effettuate su vini di produzione Mastroberardino e tutte le bottiglie campionate sono state, preventivamente, sottoposte ad analisi organolettiche e chimico-fisiche, per controllare il rispetto degli standard abituali.

La prima prova è stata fatta su quattro vini bianchi, (annata '97) : Greco di Tufo, Fiano di Avellino, Lacryma Christi Del Vesuvio Bianco e Mastro Bianco.

Sono state campionate venti bottiglie di Greco, otto bottiglie di Fiano, di Lacryma Christi e di Mastro. Per ogni bottiglia sono state fatte tre misure, di modo che sono state ottenute sessanta acquisizioni dati per il Greco e ventiquattro per gli altri tre vini.

La figura 3 riassume il risultato ottenuto analizzando i dati col metodo statistico della "discriminant analysis".

In blu sono evidenziati i campioni di Greco di Tufo, in rosso quelli di Fiano, in magenta quelli di Lacryma Christi e in verde quelli di Mastro.

Dall'osservazione del grafico si può notare come il naso elettronico abbia ben differenziato i quattro vini in esame, "sentendo" le differenze tra loro e ponendo vicine le due nuvole, tra l'altro molto compatte, dei due vini, Lacryma Christi e Mastro, aventi caratteristiche simili in quanto, entrambi, prodotti con uve provenienti da vitigni Coda di volpe.

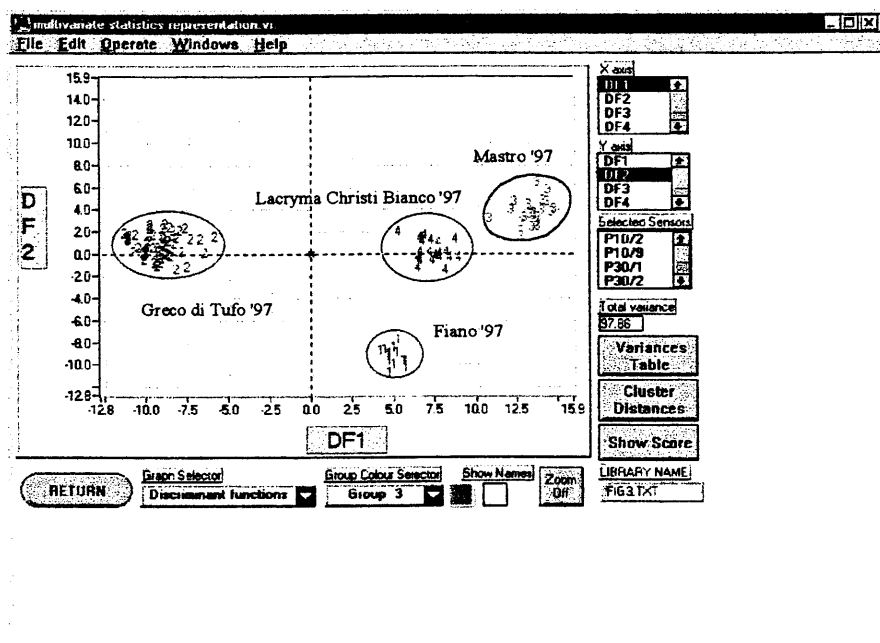


fig. 3

Le medesime prove sono state eseguite su tre vini rossi : Lacryma Christi Rosso, Mastro Rosso (entrambi annata '97) e Taurasi Radici (annata '94).

Per ogni tipo di vino sono stati prelevati dodici campioni da quattro bottiglie diverse.

Il risultato ottenuto dall'elaborazione dei dati è il seguente :

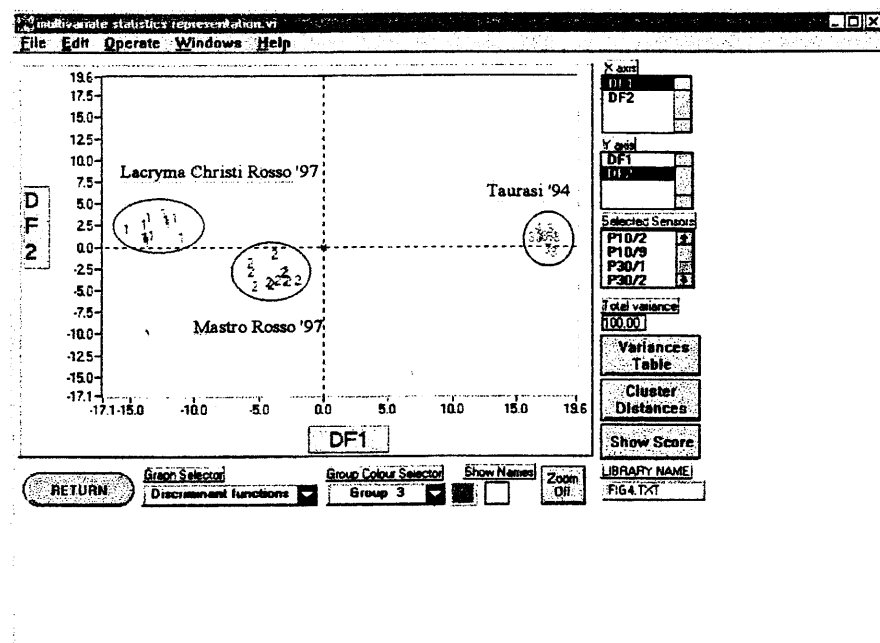


fig. 4

in rosso si nota la nuvola appartenente al Lacryma Christi, in blu quella del Masito e in verde quella del Taurasi.

Anche qui la differenziazione è stata ottima, con una netta separazione tra i due vini prodotti nel 1997 e il Taurasi, vinificato nel 1994 e affinato in barriques.

Dopo avere avuto conferma che si riuscivano a differenziare vini diversi, si è sperimentato il comportamento del naso elettronico nei riguardi di diverse annate di uno stesso vino.

Sono state prese in esame le produzioni dal '91 al '94 di Taurasi e dal '94 al '97 di Lacryma Christi Rosso.

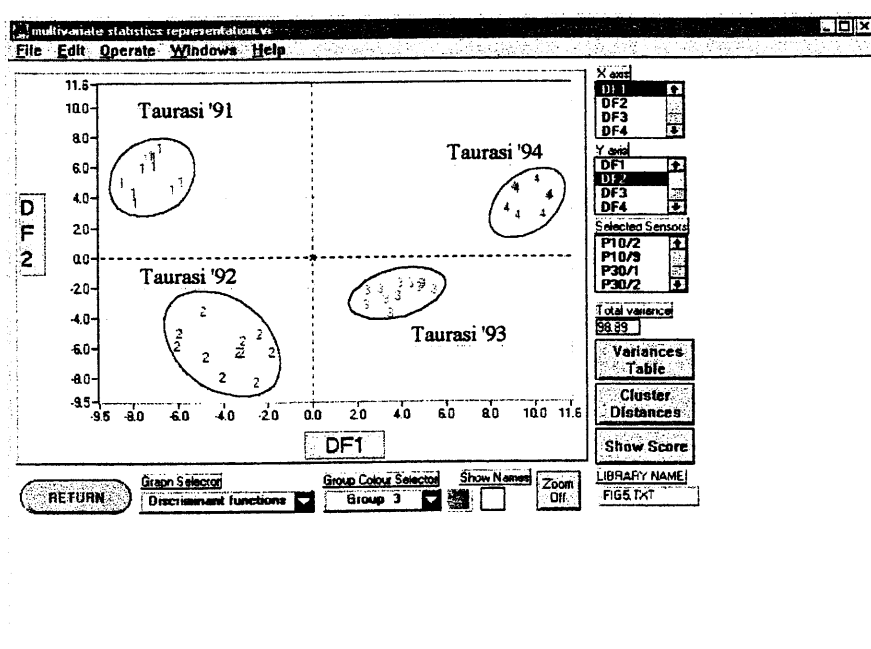


fig. 5

Nella figura 5 si può notare come il naso elettronico abbia ben discriminato le varie annate di Taurasi, disponendo, inoltre, sul lato sinistro del diagramma, le annate '91 e '92 e, sul lato destro, le annate '93 e '94.

Questa netta distinzione è, probabilmente, dovuta al fatto che le annate 1991 e 1992 sono state affinate in fusti di rovere, mentre le annate 1993 e 1994 in barriques.

Il medesimo risultato si ottiene per le diverse annate di Lacryma Christi Rosso.

Nella figura 6 si osserva che, anche in questo caso, il naso elettronico tende a differenziare non solo le quattro annate fra loro, ma, in particolare, distingue quelle del 1996 e 1997 che, come per il Taurasi, hanno avuto un passaggio in barriques.

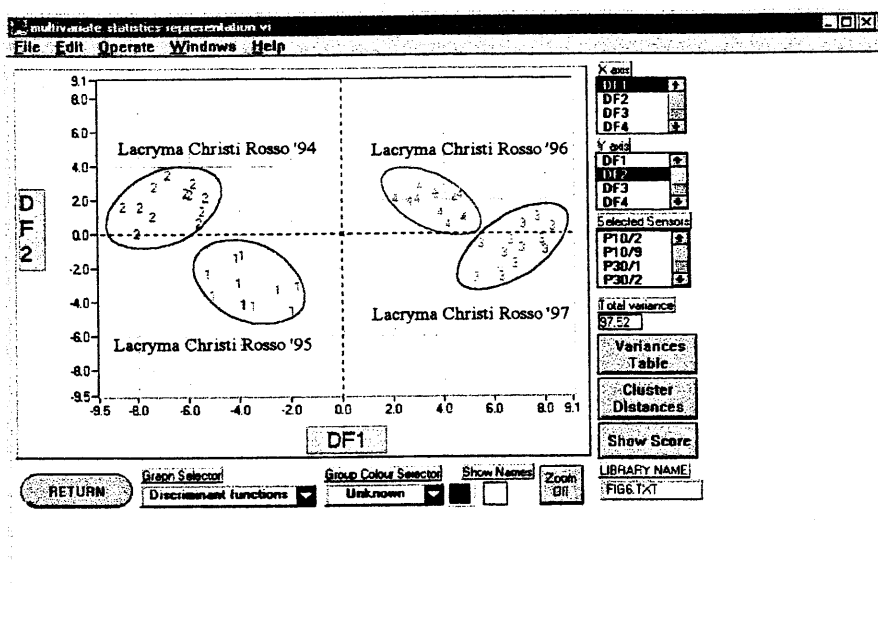


fig. 6

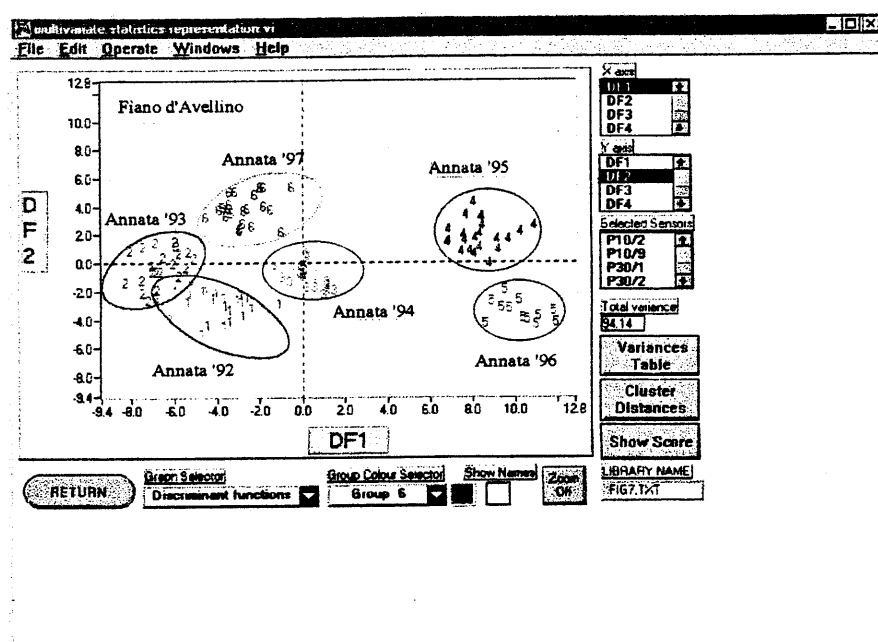


fig. 7

Una prova di differenziazione per annata è stata effettuata anche per un vino bianco, utilizzando le annate che vanno dal 1992 al 1997 di Fiano di Avellino (fig.7).

In questo caso, a differenza delle prove precedenti, la discriminazione delle varie annate non segue una logica precisa e per la prima volta, si verifica la sovrapposizione di due nuvole.

L'osservazione di questo diagramma permette di affermare che le annate 1992 e 1993 di Fiano di Avellino sono, dal punto di vista dei profumi, molto simili tra di loro e che le annate 1994 e 1997 seguono la stessa tendenza.

Il discostarsi delle annate 1995 e 1996 dalle altre è, probabilmente, la conseguenza della naturale variazione dei rapporti tra le concentrazioni delle varie sostanze aromatiche presenti nell'uva, dato che il processo di vinificazione non ha subito modifiche sostanziali nel corso degli anni.

Il problema precipuo che si incontra nell'utilizzo del naso elettronico, è rappresentato dalla scarsa riproducibilità dei sensori dopo lunghi periodi di tempo dovuta alla loro instabilità intrinseca. Per capire se tutte le acquisizioni dati effettuate erano utilizzabili per la creazione di una banca dati valida, nonostante il drift giornaliero dei sensori e con una bombola diversa di aria gas-cromatografica, dopo qualche settimana dalle prime misurazioni, è stato analizzato un campione di Fiano di Avellino, dello stesso lotto di produzione del precedente, per vedere in che punto del diagramma di partenza sarebbe stato collocato dal naso.

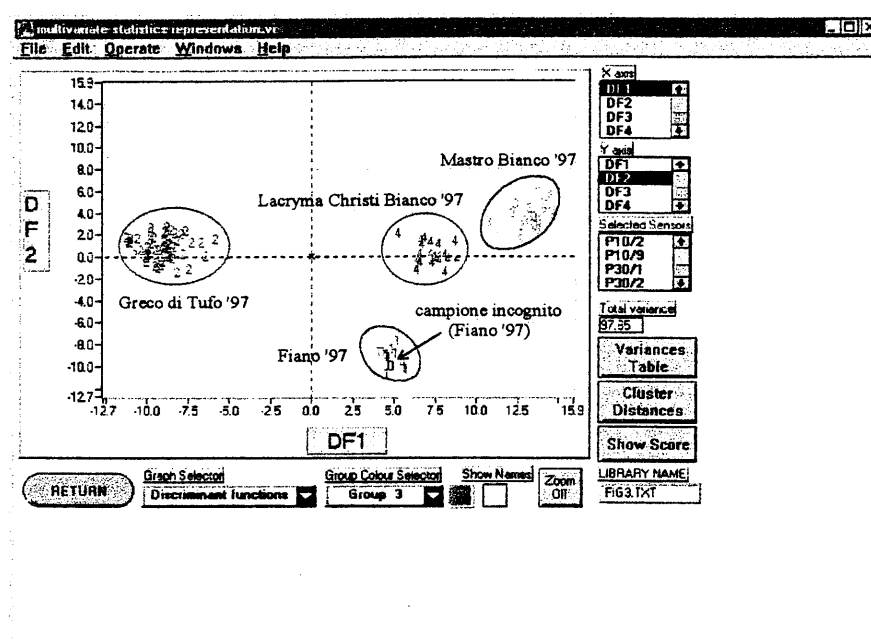


fig. 8

Nella figura 8 si può osservare come il naso abbia identificato esattamente il campione incognito, posizionandolo all'interno della nuvola del Fiano.

Questo, dunque, sta a significare che entro un periodo limitato di tempo, si possono sfruttare le esperienze acquisite per confronti con test successivi, in quanto il normale scostamento, nella risposta dei sensori, non compromette il risultato finale dell'analisi.

I risultati delle prove realizzate finora mostrano come sia possibile discriminare i vini per qualità, per annata, nonché per il tipo di invecchiamento al quale sono stati sottoposti. Attualmente, le ricerche sono ancora in corso per studiare la possibilità di integrare il naso elettronico nel controllo qualità del processo produttivo.

Atripalda, 12 maggio 1998

Laboratorio Controllo Qualità

*Berardino Torrone*

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Berardino Torrone', written in a cursive style.

# SVILUPPO DI BIOSENSORI BASATI SU TECNOLOGIE DI SOLID-BINDING-MAKER (SBM) ALL'AVANGUARDIA PER APPLICAZIONI NEL SETTORE VITIVINICOLO.

Andrea Pizzariello, Alberto Perbellini, Miroslav Stredansky, Juraj Svitel, Stanislav Miertus

*POLY-tech, Area di Ricerca, Padriciano 99, I-34012 Trieste, Italia*

---

## Introduzione

Attualmente, i biosensori rappresentano uno dei metodi analitici di maggior interesse in ambito scientifico.

La possibilità di utilizzarli vantaggiosamente come prodotti commerciali si basa sulle loro caratteristiche intrinseche quali l'industriabilità, la semplicità d'uso e l'economicità. Infatti i principali vantaggi dei biosensori nei confronti dei sistemi analitici tradizionali sono: la specificità, il basso costo, la possibilità di eseguire analisi in tempi rapidi, un pre-trattamento minimo o addirittura nullo del campione, e la possibilità di realizzare dispositivi portatili per analisi sul campo.

Il biosensore è costituito da due componenti chiave:

- i) l'elemento biosensibile (bioriconoscimento e/o biocatalisi) e
- ii) l'elemento trasduttivo che converte l'evento biologico in una risposta che può essere valutata elettronicamente e mostrata in maniera chiara ed univoca.

Lo sviluppo e la produzione di nuovi strumenti analitici basati sulle tecnologie collegate ai biosensori prevedono un'estensione ai campi alimentare, chimico-clinico ed ambientale. In particolare, ci si concentra su una concezione di sistemi che:

- i) offrano l'elevata specificità dei sistemi biologici, o di sistemi ingegnerizzati che ne mimino le funzioni, implementate in apparecchiature per utilizzo sia in laboratori centralizzati che sul campo;
- ii) migliorino le tecniche per una realistica produzione su scala industriale di sistemi biosensoristici;
- iii) riducano in maniera sostanziale il costo ed il tempo di ogni singola analisi.

In tale contesto, l'importante spinta innovativa delle nuove concezioni tecnologiche relative ai biosensori sviluppate da POLYtech ha portato al superamento di importanti limiti funzionali quali, la stabilità dei sistemi biocatalitici o di bioriconoscimento utilizzati, la riproducibilità di ogni singola unità prodotta anche dopo lo scale-up per la produzione massiva, il costo delle materie prime, la progettazione delle apparecchiature interfacciate, le interferenze derivanti da matrici anche notevolmente complesse [1,2].

### **Una nuova concezione di biosensori a matrice solida (SBM)**

POLYtech ha sviluppato sia una nuova concezione di trasduttori composti per biosensori amperometrici basati su leganti a matrice solida (*SBMs: solid binding makers*), sia l'applicazione di tali sensori, basati su questa concezione innovativa, a linee dedicate al controllo della qualità degli alimenti e delle bevande ed al controllo ambientale.

I leganti a matrice solida sono composti specifici con caratteristiche amfifiliche (o in alternativa lipofiliche) regolabili. Appartengono al gruppo di composti chimici di struttura chimica definita, solidi a temperatura ambiente e con un adeguato punto di fusione (30-90°C per biosensori bulk e 30-200°C per biosensori con uno strato biocatalitico applicato), come ad esempio gli idrocarburi con gruppi polari - OH, -X, -COOH, CO-, -CHO, ecc. e gli esteri di acidi grassi con glicerolo e colesterolo. Questi composti hanno infatti interazioni stabilizzanti sia con le componenti lipofiliche che idrofiliche del sensore composito (grafite, mediatore, biocatalizzatore).

I biosensori SBM presentano caratteristiche meccaniche migliorate, specialmente compattezza e plasticità, rispetto ai tradizionali sensori a base di pasta di carbone. Garantiscono inoltre un ambiente molecolare adeguato all'interno del corpo del trasduttore, ambiente che permette una comunicazione efficace tra i centri ossidoriduttivi del catalizzatore ed i mediatori. Ottimizzano l'efficacia del processo biocatalitico, la conducibilità ed in particolar modo la stabilità (sia in fase operativa che durante la conservazione).

### **Principali settori di applicazioni dei biosensori SBM**

I vantaggi offerti dai biosensori con l'innovativa concezione SBM trovano ampio utilizzo in vari tipi di analisi nel settore alimentare, medico-clinico ed ambientale.

L'Unità Operativa Biosensori di POLYtech si è concentrata principalmente sulle applicazioni in campo alimentare. [2-7].

La Tabella 1 illustra in maniera sintetica le principali applicazioni dei biosensori SBM:

**Tabella 1**

| <i>Applicazioni nel settore alimentare</i> | <i>Analita</i>                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Latte                                      | Lattosio, Lipidi, Caseina, Acido Lattico, Acido Citrico, Fosfati, Glicerolo, Urea, Acetone, Lattulosio, Pesticidi residui, Ammine biog, Antibiotici, Attività fosfatasica, Perossido d'idrogeno, Amido. |
| Birra                                      | Etanolo, Glicerolo, Acidità totale, pH, Zuccheri riducenti, Destrine, Diacetile, Amido, Ammine biog., Polifenoli, Solfiti, Alfa-Amilasi.                                                                |
| Frutta e Verdura                           | Saccarosio, Amido, Etanolo, Acido Citrico, Acido Lattico, Acido Malico, Zuccheri riducenti, Glucosio, Fruttosio, Pesticidi residui.                                                                     |
| Olii e Grassi                              | Antiossidanti, Perossidi, Acidi Grassi, Polifenoli, Colesterolo                                                                                                                                         |
| Bevande Analcooliche                       | Etanolo, Caffeina, Citrato, Glucosio, Acido Malico, Saccarosio, Zuccheri riducenti.                                                                                                                     |

### **Biosensori per eno-diagnostica**

POLYtech S.C.r.l. ha messo a punto una linea di sistemi analitici ideata e studiata per venire efficacemente incontro alle più importanti esigenze diagnostiche nel settore enologico.

I sistemi della linea di eno-diagnostica POLYtech si basano sull'uso degli SBM, tecnologia biosensoristica d'avanguardia, che consente una misurazione sensibile ed affidabile degli analiti chiave nell'uva, nel mosto e nel vino.

La possibilità di monitorare il processo di vinificazione semplicemente, in piena autonomia, con tempestività, ovunque lo si ritenga necessario e ad un prezzo decisamente conveniente contribuisce a fare del pacchetto eno-diagnostico POLYtech il leader nel settore *quality-control* vitivinicolo sul campo.

La linea di eno-diagnostica POLYtech si compone di un sistema modulare elettronico,

prodotto e commercializzato da *bioFutura S.r.l. di Gorizia*, con il marchio *PerBacco*.

I principali parametri analitici dei biosensori per eno-diagnostica sono riassunti nella Tabella seguente:

**Tabella 2**

| <i>Analita</i> | <i>Ripetibilità</i> | <i>Tempi di misura</i> |
|----------------|---------------------|------------------------|
| Glucosio       | 1 g/l               | 3 minuti               |
| Fruttosio      | 1 g/l               | 3 minuti               |
| Etanolo        | 0.2 % Vol.          | 3 minuti               |
| Acido Lattico  | 0.1 g/l             | 3 minuti               |
| Acido Malico   | 0.1 g/l             | 3 minuti               |

**Futuri biosensori per analisi enologiche avanzate.**

Altri biosensori per la determinazione di analiti nel vino sono ora in fase di studio presso POLYtech:

|                    |
|--------------------|
| Polifenoli         |
| SO <sub>2</sub>    |
| Acido citrico      |
| Glicerolo          |
| Anidride carbonica |

### **Riferimenti bibliografici**

- [1] Svorc, J., Miertus, S., Stredansky, M. (1997) Electrochemical biosensors and process for their preparation. Brevetto internazionale WO-A- 97/02359
- [2] Svorc, J., Stredansky, M., Pizzariello, A., Katrlík, J. Miertus, S. (1997) Biosensors based on solid binding matrix with prolonged stability. Brevetto Italiano MI97A001216
- [3] Svorc, J., Miertus, S., Katrlík, J., Stredansky, M. (1997) Composite transducers for amperometric biosensors. The glucose sensor. *Analytical Chemistry*, 69, 2086-2090.
- [4] Katrlík, J., Svorc, J., Stredansky, M., Miertus, S.(1998) Composite alcohol biosensors based on solid binding matrix. *Biosensors and Bioelectronics*, 13, 181-191.
- [5] Svorc, J., Miertus, S., Katrlík, J., Pizzariello, A., Stredansky, M., Svitel, J.(1998) Amperometric biosensors based on solid binding matrices applied in food quality monitoring. *Biosensors & Bioelectronics* (accepted).
- [6] Svitel, J., Miertus, S. (1998) Development of tyrosinase-based biosensor and its application for monitoring of bioremediation of phenol and phenolic compounds. *Environmental Science and Technology*, 32, 828-832.



## **NUOVO CONCETTO DEL CONTROLLO GENETICO DELLA QUALITA' NELLA FERMENTAZIONE**

**Dr. L. Cervo, Prof. C. Bruschi, Dr. F. Perasti**

**BioStrands S.r.l.**

Biostrands è una società di R & S nata nel 1996, insediata nell'Area Science Park di Trieste. Possiede ampia esperienza nel campo della genomica e della biologia molecolare e può essere annoverata tra le realtà più qualificate in questo settore, a livello nazionale ed europeo.

Il nostro personale ha messo a punto tecnologie di sequenziamento, analisi e caratterizzazione del DNA del lievito *Saccharomyces cerevisiae* e del *Bacillus subtilis* partecipando a numerosi progetti commissionati dalla Comunità Europea ad un importante istituto internazionale di ricerca.

Tale esperienza permette un approccio sperimentale nuovo ed efficiente per la manipolazione cellulare degli organismi da analizzare, l'estrazione di DNA cromosomico ed il suo sequenziamento su larga scala.

Nella genomica è operativo un servizio di sequenziamento di DNA, che si distingue per l'elevata accuratezza dei risultati derivante dal particolare sistema di analisi usato e dalla precisione nella verifica dei dati.

La società è in grado di fornire un servizio di sequenziamento automatico, con un'accuratezza del 98.5 %, cui si affianca il sequenziamento manuale, indicato, considerata la sua superiore precisione, per dati da utilizzare nelle pubblicazioni scientifiche.

Il sequenziamento permette una tipizzazione qualitativa sicura e a basso costo. La metodologia si basa sull'uso di sistemi automatici per la separazione elettroforetica di frammenti di DNA da sequenziare e la loro analisi in tempo reale per mezzo di rivelatori di fluorescenza secondaria eccitata da luce laser. Questa unità elettroforetica e di lettura, il sequenziatore, è collegata ad un computer dove i dati originali vengono elaborati con un software specifico per l'analisi genetica. In particolare, il nostro

sequenziatore ABI 377 Prism permette la lettura di 500 nucleotidi per corsa elettroforetica per un totale di 32 corse effettuabili 2 volte al giorno, il che vuol dire una capacità giornaliera di lettura pari a 3200 nucleotidi.

Il servizio è rivolto alle richieste che provengono, oltre che dalla ricerca, dalla diagnostica medica e dall'industria agroalimentare.

Nel settore della diagnostica il sequenziamento è di fondamentale importanza per tutte le malattie a base genetica (quali ad esempio la fibrosi cistica) dovute a modificazioni (mutazioni) del DNA, casuali o indotte da fattori esterni: il sequenziamento permette di individuarle fin dallo stadio prenatale.

Nel campo dell'industria, il servizio di analisi genomica trova applicazione come controllo genetico di qualità nel settore agroalimentare, in particolare ovunque si attui un processo di fermentazione o comunque si utilizzino microorganismi vivi o vi sia pericolo di contaminazione, quindi dal settore lattiero-caseario all'industria dei salumi, dalla birra al vino.

I rischi che coinvolgono i microorganismi sono molteplici; si va dall'esposizione di questi ad agenti mutageni quali ad esempio il metallo con cui sono costruiti i fermentatori (si pensi al rame nel caso della birra), che comporta fenomeni quali la trasposizione e la transgenesi, come pure l'accumulo di mutazioni spontanee durante la fase di crescita a lungo termine cui vanno ad aggiungersi le trasformazioni naturali del genoma dovute ai frammenti di DNA rilasciati nel mezzo da cellule morte e lisate.

La conseguenza di questi eventi è la presenza di microorganismi geneticamente diversi dai tipi standard usati nei processi di fermentazione, che contaminano la coltura.

La possibilità di controllare, in diversi stadi di sviluppo, i microorganismi responsabili della fermentazione, equivale ad acquisire maggior certezza sulla qualità del prodotto da ottenere. Ovviamente c'è da distinguere i diversi campi di utilizzo di questo servizio. Ad esempio, nella fermentazione dello yogurt si procederà all'analisi dei ceppi di *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* prima che la fermentazione abbia inizio; quindi sarà bene ripeterla a metà ed a fine processo per verificare eventuali mutazioni incorse nel processo di acidificazione del latte. Il sequenziamento è una procedura semplice e non invasiva nel processo e nel prodotto, in grado di garantire il controllo di qualità sull'intero ciclo di fermentazione.

Nel caso del vino la cosa è leggermente diversa. Essenzialmente, l'intero processo di fermentazione è una complessa interazione biochimica ed ecologica tra diverse specie di lieviti, batteri, funghi ed i loro virus. La capacità di verificare la presenza di questi

microorganismi sulle uve e nel vino, sulle superfici delle attrezzature utilizzate per la vinificazione e sulle preparazioni commerciali dei lieviti è molto importante per tenere sotto controllo il processo della vinificazione e garantire un'elevata qualità e costanza del prodotto. Con le tecniche tradizionali, si tratta di un compito difficile che richiede tempi lunghi e spese elevate.

I lieviti sono molto importanti nella vinificazione giacchè sono essi ad attuare la fermentazione alcolica, a determinare l'eventuale degenerazione del vino durante la conservazione e l'imbottigliamento ed ancora ad influenzare la qualità del prodotto con l'autolisi. Sappiamo che nel processo di vinificazione diversi ceppi di lieviti si succedono, pertanto risulta difficile poterne seguire costantemente gli sviluppi, ma il controllo genetico di qualità può essere effettuato al momento dell'inoculo. Si tratta pertanto di un controllo qualità per così dire "a priori" che però fornisce notevoli garanzie sull'evoluzione della fermentazione.

L'approccio è di tipo innovativo rispetto alle metodologie correnti che si basano per lo più su tecniche datate tipo tests API per la fermentazione degli zuccheri ed altre sostanze in presenza di coloranti come indicatori di pH e tests biochimici specifici come la conversione di particolari substrati; questi sistemi monitorizzano poche, discrete caratteristiche biochimiche corrispondenti ad un particolare background genetico. Con l'analisi genomica invece abbiamo la certezza che i lieviti usati siano sempre i migliori ceppi produttori.

Come si procede? Una volta ottenuti i ceppi dagli acini delle uve, li si coltiva in laboratorio; li possono essere separati da altre specie contaminanti, con un procedimento non invasivo, del tutto simile a quello che i normali produttori di lieviti da vinificazione adottano per le loro produzioni. A questa fase, una volta definiti i ceppi che si vogliono conservare ed utilizzare per la vinificazione, è possibile far seguire un'ulteriore, più sofisticata e definitiva tipizzazione determinando la sequenza genetica caratteristica ed univoca di regioni specifiche del DNA di questi lieviti, che porta i geni responsabili della produzione di enzimi fondamentali per la fermentazione.

Inoltre è possibile selezionare i ceppi dei lieviti, fermentarli, produrli, liofilizzarli e riutilizzarli di anno in anno, per garantire un'elevata e costante qualità del prodotto. Il controllo sui ceppi così selezionati può essere ripetuto ogni qualvolta si presenti la necessità, ovvero al momento dell'inoculo del mosto.

Stesso approccio e stesse metodologie possono essere applicate alla pianta della vite da cui si produce un particolare vino, al fine così di caratterizzare entrambi gli elementi

necessari a conferire la caratteristica unicità al prodotto: i lieviti e l'uva. Si tenga presente che il metodo, in entrambi i casi, non è invasivo e può essere ripetuto annualmente.

La metodica di controllo genetico di qualità, comunemente usata nei laboratori di microbiologia di tutto il mondo, viene tecnicamente chiamata fingerprinting e comprende diverse tecniche, dal sequenziamento del DNA satellite al RFLP, RAPD, l'ARDA e la PCR a seconda che si voglia ottenere la brevettazione del proprio lievito o più semplicemente sapere di che ceppo si tratti.

Questa nuova metodologia di analisi per il controllo di qualità trova una sua applicazione nella vigente filosofia comunitaria, la quale suggerisce la classificazione genetica specifica dei cultivars della vite e dei lieviti autoctoni che si trovano sugli acini, al fine di tutelare la denominazione di origine controllata e garantita (DOCG) dei vini che dovrebbero in tal modo venire prodotti esclusivamente con uve e lieviti del luogo di produzione. Attualmente quasi tutta la produzione vinicola si basa sull'inoculo del mosto con ceppi di lievito non locali acquistati da produttori talvolta addirittura stranieri. Ciò comporta da un lato la standardizzazione della produzione del vino, ma dall'altro la perdita della sua caratteristica di prodotto tipico di una particolare zona. Al fine di permettere l'uso di ceppi di lievito locali nel processo della vinificazione, nonché di tutelarne l'unicità, è possibile isolarli e caratterizzarli direttamente nell'ambiente della vigna dove si trovano naturalmente. L'analisi genomica permette di identificare senza possibilità di confusione il particolare ceppo di lievito con cui viene prodotto un vino a denominazione di origine controllata. In sostanza è possibile ottenere, con un costo modesto, da un lato la riqualificazione dei prodotti enologici, dall'altro una carta d'identità genetica dei ceppi di lievito esistenti in natura e delle uve utilizzate.

Tale caratterizzazione può poi essere utilizzata per eventuali coperture brevettuali tese a tutelare non solo l'origine ma anche l'associazione del marchio della ditta produttrice con un particolare tipo di vino prodotto in una zona specifica.

#### **Bibliografia**

- Barberio C., Fani R., Carli A., Polsinelli M., (1994) DNA fingerprinting of yeast strains by restriction enzyme analysis. *Res. Microbiology*, **145**, 659-666
- Mortimer, R., Romano, P., Suzzi, G., and Polsinelli, M. (1994) Genome Renewal: A new phenomenon revealed from a genetic study of 43 strains of *Saccharomyces cerevisiae* derived from natural fermentations of grapes musts. *Yeast* **10**, 1543-1552.
- Paffetti, D., Barberio, C., Casalone, E., Cavalieri, D., Fani, R., Fia, G., Mori, E. and Polsinelli, M. (1995) DNA fingerprinting by random amplified polymorphic DNA and restriction fragment length polymorphism is useful for yeast typing. *Res. Microbiol.* **146**, 587-594.
- Rosi, I., Vinella, N. and Domizio, P. (1994) Characterization of  $\beta$ -glucosidase activity in yeasts of oenological origin. *J. Appl. Bacteriol.* **77**, 519-527.

- Rosi e Bertuccioli, M. (1992) The influence of lipid addition of fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and aroma characteristics of experimental wines. *J. Inst. Brew.* **98**, 305-314.
- Schütz, M. and Gafner, J. (1993). Analysis of yeast diversity during spontaneous and induced alcoholic fermentations. *J. Appl. Bacteriol.* **75**, 551-558.
- Scory, C.D., Freer, S.N. Cloning and characterization of a gene encoding a cell-bound extracellular, extracellular-glucosidase in the yeast *Candida wickerhamii*. *Appl. Environ. Microbiol.* (1995) **61**, 518-525.
- Versavaud, A., Courcoux, P., Roulland, C., Dulau, L. and Hallet, J.-N. (1995) Genetic diversity and geographical distribution of wild *Saccharomyces cerevisiae* strains from the wine-producing area of Charentes, France. *Appl. and Environ. Microbiol.* **61**, 3521-3529.
- Wine microbiology and biotechnology, Harwood Academic Publishers (1994).

## **DETERMINAZIONE AUTOMATICA DEGLI ACIDI ISO-ALFA NELLA BIRRA**

**Costanza Rovida**, Gilson Italia via Alserio 5, 20159 MILANO

Tel. 02-6931921, fax 02-69004700, e-mail [gilson@gilson.it](mailto:gilson@gilson.it)

Il tipico retrogusto amaro della birra è dato dalla presenza delle resine amare del luppolo, composte da particolari acidi organici la cui forma iso-alfa si genera durante il processo di fermentazione del luppolo.

Questi aromi vengono oggi anche aggiunti artificialmente durante il processo di produzione della birra e il loro continuo monitoraggio risulta essere una parte essenziale del controllo qualità.

L'analisi degli amari del luppolo è storicamente eseguita con il test di Brenner, un test semplicissimo, ma anche altamente impreciso soprattutto perché non è in grado di differenziare tra acidi naturali e artificiali.

L'analisi in HPLC fornisce viceversa un risultato molto affidabile e completo, ma richiede una preparazione del campione più laboriosa e tecnici di laboratorio specializzati per seguirla. Questi problemi possono essere completamente risolti automatizzando l'intera procedura.

Il sistema ASPEC della Gilson è in grado di prelevare un campione di birra semplicemente degassificato e di estrarlo tramite cartuccia SPE o membrana C18. L'estratto viene poi direttamente iniettato in un HPLC isocratico con rivelatore UV. L'intero apparato è gestito da un computer attraverso il software Unipoint della Gilson, che oltre a co-ordinare i vari moduli, acquisisce i dati e stampa un report personalizzato con i dati che interessano.

L'elevato grado di automazione permette di lavorare 24 ore su 24 anche con personale non specializzato garantendo risultati molto affidabili sia in termini di riproducibilità che di accuratezza.

## **UTILIZZO DELLA TECNICA DI DIALISI PER L'ANALISI DELL'ACIDO ASCORBICO IN MATRICI ALIMENTARI**

**Costanza Rovida Lino Dinatale, Gilson Italia via Alserio 5, 20159 MILANO**

**Tel. 02-6931921, fax 02-69004700, e-mail [gilson@gilson.it](mailto:gilson@gilson.it)**

La vitamina C o acido ascorbico, viene aggiunta come agente anti-ossidante in parecchi alimenti. La quantità presente deve essere sufficiente a garantire una buona azione conservante durante la produzione, il trasporto e lo stoccaggio, pur rispettando i limiti imposti dalla legge.

L'analisi in HPLC dell'acido ascorbico è molto semplice e ormai ben consolidata, mentre l'estrazione dal campione grezzo comporta qualche difficoltà. Infatti le matrici alimentari sono in genere assai complesse e contengono interferenti di varia natura, come proteine e polisaccaridi. Inoltre la vitamina C è molto instabile in quanto si degrada alla luce, a contatto con l'ossigeno dell'aria e col calore.

Il problema viene risolto con la tecnica di dialisi: il campione grezzo viene posto a contatto con una membrana semipermeabile che permette il passaggio solo delle molecole a più basso peso molecolare, come l'acido ascorbico. Tutto il processo avviene in un ambiente chiuso e molto velocemente in modo da evitare qualunque rischio di degradazione dell'acido ascorbico. La soluzione dializzata viene direttamente iniettata in HPLC e analizzata con la procedura standard.

I volumi trattati e il tempo di contatto con la membrana sono parametri fondamentali per una buona riuscita dell'analisi. Il sistema ASTED prodotto dalla GILSON è in grado di automatizzare i prelievi del campione, la fase di dialisi e l'iniezione in HPLC.

Con queste premesse, il metodo è risultato essere valido per la determinazione della vitamina C in varie bevande, succhi di frutta, latte in polvere e mangimi.

La riproducibilità calcolata su una miscela standard è dell'1.1% a 0.5mg/ml di acido ascorbico e del 3.2% a 0.005mg/ml.

## **ALCO TRACE**

**Sistema ad alta sensibilità per la determinazione di alcohol in differenti liquidi  
mediante abbinamento Biosensor - Flow Diffusion Analysis (FDA)**

**Alexander Günther, Lorenz Hartwig, Jochen Mohns & Wolfgang Künnecke**  
Trace Analysensysteme GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Germany  
Tel. 0049-531-26133-0, Fax 0049-531-26133-38, e-mail [Trace@t-online.de](mailto:Trace@t-online.de)

Uno dei principali parametri di controllo della produzione nell'industria vinicola, della birra, dei succhi di frutta e in generale delle bibite è la determinazione quantitativa dell'etanolo. Per questa applicazione è disponibile ALCOTRACE, uno strumento dedicato all'analisi dell'etanolo, sviluppato da Trace.

Il sistema si sviluppa in due fasi: la gas-diffusione e la determinazione attraverso biosensori. E' possibile ricoprire un ampio intervallo di concentrazione. A seconda del tipo di campione sono stati ottimizzati diversi metodi analitici che utilizzano differenti membrane per la gas-diffusione:  
da 0,001 – 1Vol% per succhi di frutta o bevande  
da 0,01 – 7Vol% per birra  
da 0,01 – 18Vol% per vino  
senza nessuna necessità di diluizione o degassificazione del campione prima dell'analisi.

Per arricchire il campione si esegue una evaporazione a bassa temperatura. I vapori prodotti vengono spinti da un gas di trasporto attraverso una membrana gas permeabile in un flusso (acceptor) con conseguente ossidazione selettiva enzimatica e rivelazione amperometrica. In questa reazione il prodotto dell'ossidazione dell'etanolo è perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ) la cui concentrazione è proporzionale alla quantità di alcohol inizialmente presente. Con una ottimizzazione della reazione enzimatica e della rivelazione elettrochimica si può analizzare un elevato numero di campioni in un ampio lasso di tempo.

I punti di forza di questa metodica verranno dimostrati attraverso l'analisi di campioni reali confrontati con standard analitici.

TRACE è una società che ha una vasta esperienza nell'applicazione della tecnologia dei biosensori per la determinazione di parametri di qualità nel settore alimentare.

# **PRESENTAZIONE DEL PROGRAMMA LEXTRA v. 2.0**

## **Il primo ed unico "programma integrato" per l'industria alimentare**

di Giancarlo Tonolo

Il programma LEXTRA non è solo una raccolta di leggi, ma uno strumento di lavoro integrato tutti quelli che, come tecnologi alimentari, chimici, biologi, etc., si occupano di scienza dell'alimentazione e per l'industria alimentare, la scuola e le associazioni dei consumatori.

Qual è il significato del termine "integrato"? Il motivo per cui LEXTRA si può definire come programma integrato è che questo software racchiude al suo interno moltissimi degli strumenti di uso quotidiano del tecnologo alimentare ad esempio, additivi, alimenti, aromi, etichettatura nutrizionale di un prodotto alimentare, metodi ufficiali di analisi per prodotti alimentari e non.

Perché queste funzioni sono state raccolte in un unico programma? LEXTRA è nato non dall'idea di una software house, ma dalle necessità quotidiane di un tecnologo alimentare e quindi dal bisogno di avere un sistema rapido accesso ad informazioni professionali. Il programma è il risultato di un lavoro di circa due anni, ma l'idea che lo ha generato risale ad almeno 5 anni fa.

Il nome LEXTRA condensa in se la LEGISLAZIONE e tre A: Additivi, Aromi e Alimenti.

Chi vi scrive lavora da sedici anni nel settore alimentare e si trova quotidianamente ad affrontare i Vostri stessi problemi. Chiunque di Voi si sia trovato di fronte a problemi quali:

- preparare un'etichettatura nutrizionale di un prodotto,
- cercare quali sono i provvedimenti legislativi che disciplinano un determinato argomento, ad esempio pensate ai rischi chimici (pesticidi, dall'OM del 6/6/85, più volte modificata al DM del 27/1/97) durante la preparazione del piano HACCP,
- preparare la lista degli ingredienti e dover cercare i numeri CEE di determinati additivi, o
- stabilire quali sono i limiti di detti additivi in un determinato alimento,
- sapere quali sono i metodi ufficiali di analisi per determinati prodotti,
- decodificare un'etichetta di un prodotto, magari della concorrenza, infarcita di sigle quali E 175, E 999...,
- sapere qual è la normativa "aggiornata" relativamente ad un determinato settore alimentare
- quali sono i criteri di purezza di uno o più additivi
- quali sono i dati chimico-fisici relativi ad un determinato additivo
- qual è l'ADI (Admitted Daily Intake) per gli additivi

ha sperimentato quanto sarebbe importante avere tutte le informazioni richieste a portata di "click".

Quelli che, come si diceva in precedenza, si trovano di fronte alla necessità di preparare il piano di autocontrollo (HACCP) e stanno analizzando il problema della determinazione dei rischi vorrebbero poter avere tutte le informazioni relative a quanto prevede la legge relativamente al loro settore di attività. Un solo "click" e avrete tutti provvedimenti in vigore, previsti dalla legislazione italiana e "molti" (non mi sento di affermare tutti, ma stiamo lavorando affinché la raccolta sia completa) di quelli previsti da quella comunitaria. Nel programma vi sono moltissimi testi di legge completi con allegati, una delle poche cose che realmente servono a chi lavora nel settore alimentare e che spesso non si trovano nelle raccolte legislative.

Qualcuno potrebbe obiettare che questo lo si può trovare anche in un qualsiasi altro programma che raccolga i testi di legge.

Che cosa rende unico LEXTRA ? Una parziale lista delle attività che il programma è in grado di affrontare è stata presentata in precedenza. La lista è stata volutamente presentata in modo disordinato, sembra quasi non seguirne uno schema logico, ma quante volte, mentre si sta esaminando un certo argomento, viene in mente qualcosa che potrebbe essere attinente?

Quante volte sarebbe utile aver questo "qualcosa" immediatamente disponibile senza dover consultare montagne di "scartoffie"?

E' proprio questa la sua unicità; tutti, o quasi, gli strumenti che servono a chi lavora nel settore alimentare, raccolti nello stesso programma. Basta spostarsi, con un grado di difficoltà pari a quello di un "click" del mouse da un menù ad un altro. La sua caratteristica principale è l'integrazione delle informazioni, la pronta disponibilità, la facilità di aggiornamento e la possibilità di non aver più migliaia di "carte" disperse qua e là.

Inoltre LEXTRA consente una libertà di scelta che nessun altro programma Vi offre ovvero, gli aggiornamenti. LEXTRA è nato con la doppia possibilità di poter essere aggiornato dall'utente stesso o di affidarsi ad un servizio di aggiornamento. Sarà l'utente a decidere, in base alle sue uniche esigenze.

Il programma è accompagnato da un dettagliatissimo manuale che, con la tecnica del "passo dopo passo" vi spiega quali sono le particolarità in esso contenute. Tutte le schede contenute nei vari menù che lo compongono sono dotate di altre schede di AIUTO. Per quanto umanamente possibile nulla è stato lasciato al caso e soprattutto l'installazione e l'utilizzo del programma non richiedono di essere dei "maghi" del computer.

Nella versione 2.0 sono state introdotte, come descritto in precedenza notevoli migliorie: la sezione dedicata all'etichettatura nutrizionale dei prodotti alimentari, così come previsto dal Decreto Legislativo del 16 febbraio 1993, n. 77, vi consente di:

- poter aggiornare e personalizzare la composizione di ogni singolo, specifico ingrediente, che è incluso nei vostri prodotti; il programma è già corredato di una raccolta di ingredienti, ma si sa che le necessità sono spesso uniche e/o particolari.
- poter inserire il nome del vostro prodotto, aggiungere gli ingredienti in ordine di peso e "click" avere l'etichettatura nutrizionale calcolata in uno dei due modi previsti dal citato Decreto Legislativo, comprese le vitamine, i sali minerali e le % di RDA, se le informazioni che "Voi" fornite sono sufficienti.

La sezione dedicata ai metodi ufficiali di analisi, che stiamo continuamente aggiornando, vi consentirà finalmente di avere a disposizione una raccolta di metodi del tutto simile a quella dell'AOAC. Ricercate per categoria: acqua, birra, caffè, latte....etc. vi apparirà una lista di parametri analitici e "click" avrete accesso immediatamente al testo di legge dove questi metodi sono riportati.

La sezione della ricerca legislativa dove alla classica ricerca per argomento: latte, uova, formaggi... etc. è affiancata una scheda con due livelli di ricerca:

- ricerca del testo se si conosce la data esatta di pubblicazione
- ricerca del testo se si conosce l'anno (se si ha anche il tipo di provvedimento: Legge, decreto legge, regolamento) la ricerca è ancor di più facilitata

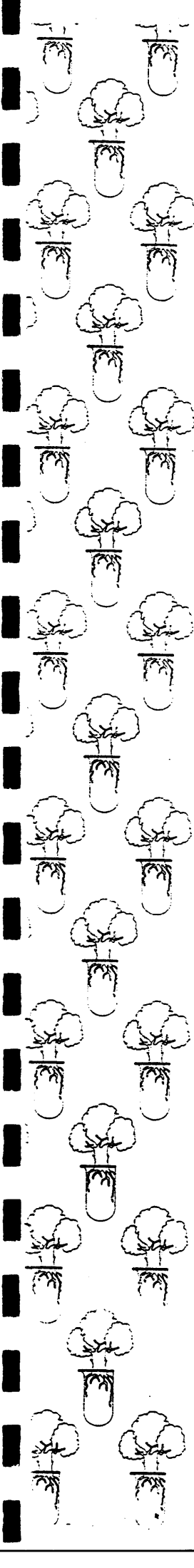
quest'ultimo aggiornamento c'è stato suggerito da un utente che aveva, come molti di voi, il problema di trovare che cosa fosse il DM 503/97.

Spesso alcuni provvedimenti legislativi usano questi riferimenti che, chi deve poi utilizzare la norma, ha la necessità di reperire immediatamente.

In conclusione, per rispondere alla legittima domanda: "di che cosa ho bisogno per poter installare LEXTRA?" la seguente lista rappresenta i requisiti necessari:

- un PC 486 o superiore con almeno 12 MB di memoria RAM (consigliati dalla Microsoft per far funzionare Access 7.0 o 97 in maniera ottimale; 8 MB per la versione di LEXTRA per Access 2.0)
- Un Hard Disk con almeno 50 MB liberi
- Il programma Access 2.0 oppure 7.0 (Office 95) o Access 97 (Office 97). Per ognuno di questi è disponibile l'appropriata versione del programma LEXTRA.

In conclusione LEXTRA è il software più completo disponibile in commercio, ad un costo contenuto e di estrema facilità d'uso. Buon lavoro.



# Biolife:

## **PERCHÉ DI UNA SCELTA**

*OFFRIAMO UNA GAMMA DI PRODOTTI  
TRA LE PIÙ COMPLETE DEL MERCATO.*

**SIAMO IN GRADO DI PREPARARE  
TERRENI DI COLTURA SU "SPECIFICA TECNICA" DEL CLIENTE.**

*PROPONIAMO UN RAPPORTO QUALITÀ/PREZZO INTERESSANTE.  
GARANTIAMO LA QUALITÀ CON CERTIFICATI D'ANALISI  
INSERITI IN OGNI CONFEZIONE DI TERRENI IN POLVERE ED  
INVIABILI, SU RICHIESTA, PER GLI ALTRI PRODOTTI.*

**ABBIAMO UN SISTEMA DI QUALITÀ IN FASE DI SVILUPPO  
PER RAGGIUNGERE I REQUISITI RICHIESTI  
DALLA NORMA ISO 9001.**

*SIAMO DA OLTRE 30 ANNI COMPLETAMENTE DEDICATI  
ALLA MICROBIOLOGIA  
OLTRE AI PRODOTTI DESIDERIAMO OFFRIRE  
UN SERVIZIO QUALIFICATO  
ED UNA COMPETENZA SPECIFICA.*

**ABBIAMO OTTIME REFERENZE  
IN ITALIA ED ALL'ESTERO.**

*SCEGLIENDO BIOLIFE,  
AIUTI UNA AZIENDA PRODUTTRICE ITALIANA  
A RAGGIUNGERE UNA GIUSTA POSIZIONE SUL MERCATO NAZIONALE,  
COME HANNO MERITATO E RAGGIUNTO I NOSTRI CONCORRENTI  
SUI LORO RISPETTIVI MERCATI NAZIONALI.*

**Biolife** Italiana S.r.l.  
Viale Monza, 272 - 20128 Milano  
Tel. (02) 25.51.641 - Fax (02) 25.76.428



# La microbiologia degli alimenti

*Prodotti certificati  
a garanzia della qualità*

# BATTERIOLOGIA CLINICA E PER L'INDUSTRIA

- Terreni di coltura disidratati e pronti per l'uso
- Atmosfera controllata
- Test di identificazione

## CONTROLLO DI QUALITÀ

- Ceppi batterici per il controllo interno in microbiologia
- Programmi di valutazione esterna di qualità in microbiologia

# RICERCA DI BATTERI PATOGENI NEGLI ALIMENTI

- # Salmonella Rapid Test
- # Listeria Rapid Test



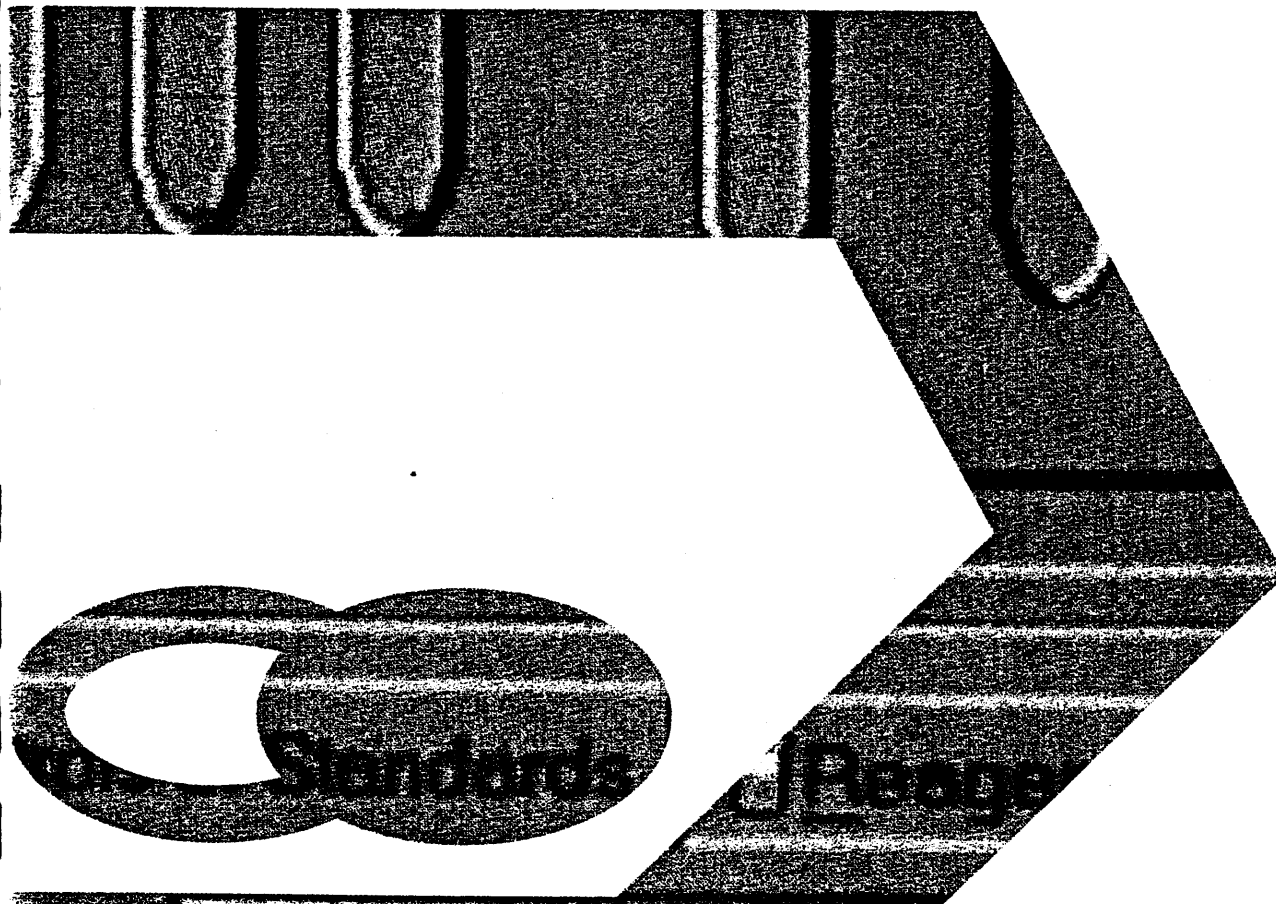
**OXOID S.p.A.** - Via Montenero, 180 - 20024 Garbagnate Milanese (MI)  
Telefono (02) 99472.1 r.a. - Fax (02) 995.82.60

Fax Ufficio Vendite (02) 990.27.611 - E-Mail: [Oxid@tehnetwork.it](mailto:Oxid@tehnetwork.it)

00889160156 I.v. - Registro delle Imprese di Milano n° 115753 - R.E.A. di Milano n° 598758 - Cod. Fisc. e Part. I.V.A. 00889160156

# Transia Elisamatic II

*The Flexible Approach  
to Rapid Food Diagnostics*



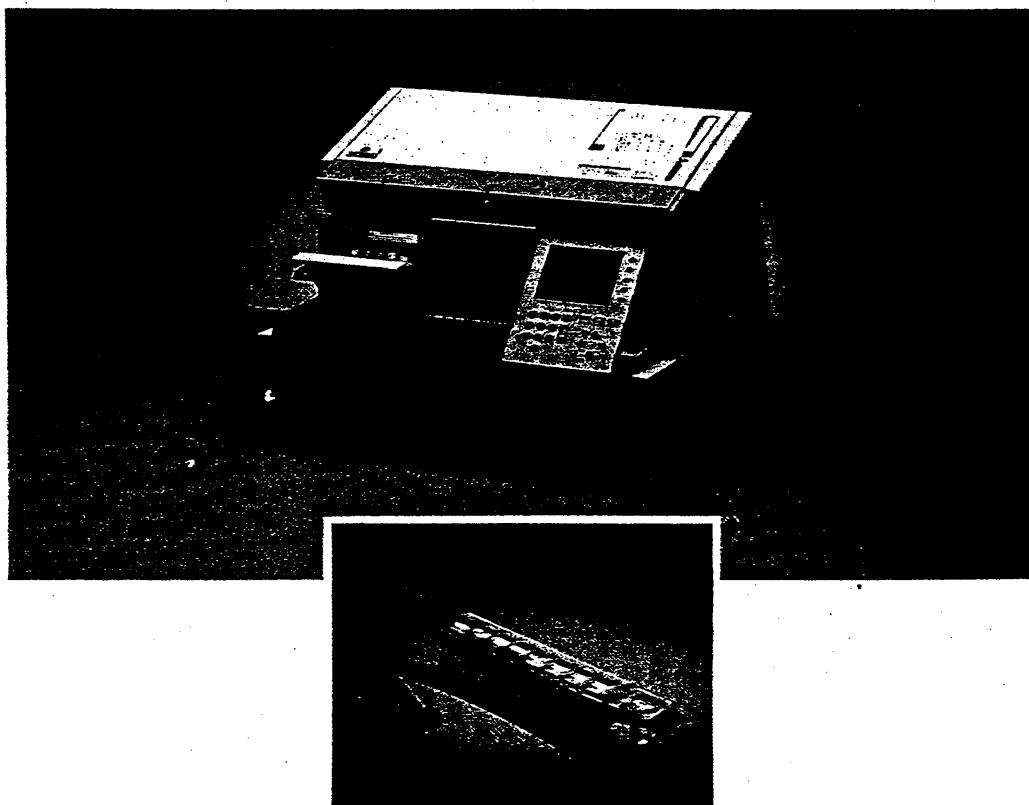
Neg-Salmo  
Pos-Salmo

Multiple use  
Cost-efficient  
User-friendly

 **Diffchamb**

Your specialist in food diagnostics

# VIDAS

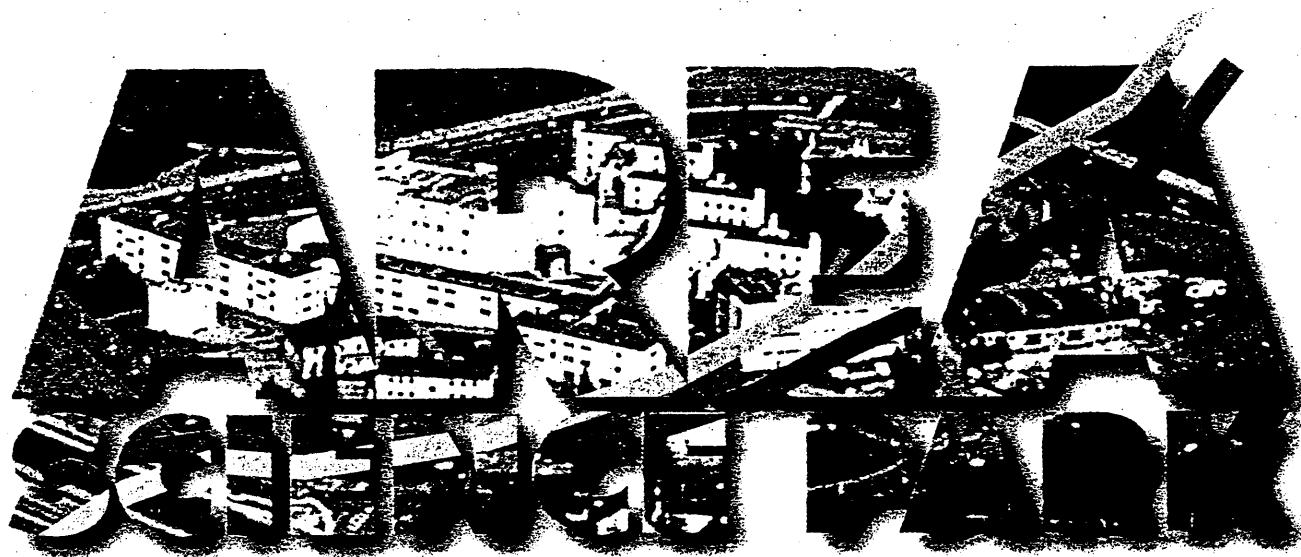


Sistema automatico di immunoanalisi  
per la ricerca rapida dei patogeni  
nell'industria alimentare.



**bioMérieux**

# UN BALZO IN AVANTI PER LA TUA AZIENDA



**P**er le aziende restare al passo con i tempi è indispensabile: lo strumento ideale per assicurarsi competitività sul mercato è l'innovazione tecnologica. In **AREA Science Park** l'imprenditore dispone di laboratori e tecnologie avanzate in grado di ottenere soluzioni ai problemi di una moderna azienda.

Con l'intervento di **AREA** inoltre, l'impresa può ricevere incentivi finanziari e agevolazioni, accanto a qualificate consulenze attente alle esigenze degli imprenditori.

**AREA Science Park** accoglie al suo interno quattro diverse tipologie di insediamenti:

**CENTRI DI RICERCA E  
FORMAZIONE**

**NUOVE  
IMPRESE**

**LABORATORI DI  
RICERCA & SVILUPPO  
E CENTRI SERVIZI DI  
IMPRESE ESTERNE**

**LABORATORIO DI  
LUCE DI SINCROTRONE  
ELETTRA**

# AREA

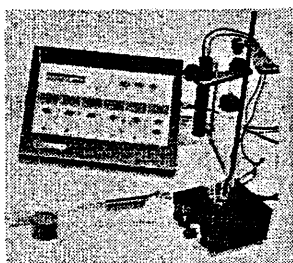
**SciencePark**

AREA Science Park, Padriciano, 99 - 34012 Trieste (Italy) tel. +39. 40. 37551 - Fax +39. 40. 226698  
<http://www.area.trieste.it>



POLYtech S.C.r.l. svolge ricerche e trasferimento tecnologico nei settori della *chimica fine* mirata allo sviluppo di tecnologie e prodotti innovativi.

Fondata nel 1993 da un gruppo di ricercatori con pluriennale esperienza di ricerca e sviluppo, POLYtech ha sede e laboratori presso **AREA Science Park** a Trieste.



Apparecchiatura biosensoristica completa

POLYtech, oltre a svolgere *ricerca in proprio*, partecipa anche a progetti di *ricerca e sviluppo* sia in ambito nazionale (*Piani Nazionali di Ricerca* del MURST) che europeo (*BRITE, FAIR, BIOTECH, BIOMED, COPERNICUS*).

Esegue inoltre ricerche su commessa per conto di *aziende private* sia nazionali che internazionali.

Dal 1993, POLYtech ha depositato 10 domande di brevetto relative a biosensori, farmaci antitumorali, sintesi enzimatica di oligosaccaridi e modifica chimica di polisaccaridi.

Nei propri laboratori, attrezzati con *strumentazione all'avanguardia*, vengono sviluppati progetti di ricerca applicata e di base nei settori:

#### **Chimico analitico**

- sviluppo di tecnologie che utilizzano biosensori
- preparazione di fasi stazionarie chirali per separazione di enantiomeri.

#### **Chimico**

- modifica chimica ed enzimatica di oligo e polisaccaridi
- isolamento di polisaccaridi da fonti naturali, loro purificazione e caratterizzazione

#### **Agroalimentare**

- caratterizzazione dei componenti di bevande ed alimenti con tecniche spettroscopiche, calorimetriche, reologiche

#### **Farmaceutico**

- *drug design*
- sintesi di profarmaci
- preparazione sistemi di rilascio controllato di principi attivi
- preparazione di biomateriali
- modifica chimica ed enzimatica di saccaridi
- estrazione di principi attivi da fonti rinnovabili e da processi di fermentazione

AREA

SciencePark

Padriciano 99, I-34012 Trieste, Italy  
Tel. +39-40-3756611 Fax +39-40-9220016  
E-Mail: [polytech3.area.trieste.it](mailto:polytech3.area.trieste.it)  
<http://polytech3.area.trieste.it>



(Biological Structure Analysis, Design & Sequencing)

BioStrands è una società di R&S ubicata nell'AREA Science Park di Trieste. Opera nel campo delle biotecnologie rivolte alla ricerca, alla diagnostica ed all'industria.

Nel settore agroalimentare BioStrands offre un

## **servizio di sequenziamento del DNA**

che permette

- la caratterizzazione e tipizzazione di microorganismi
- il controllo nella produzione di ceppi selezionati di lieviti e loro possibile liofilizzazione e brevettazione
- il controllo genetico di qualità nelle fermentazioni alimentari

BioStrands Srl

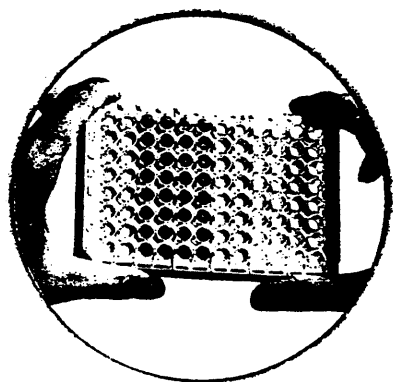
AREA Science Park, Palazzina F3, Padriciano 99, 34012 Trieste - Italy  
Tel. 040 / 922-0047 - Fax 040 / 922-0045 - e-mail: [biostrands@com.area.trieste.it](mailto:biostrands@com.area.trieste.it)  
P.I. e C. Fisc. 00907470322 - Iscrizione Registro Imprese Trieste no. 38089



## La risposta completa alle esigenze del controllo degli alimenti e degli impianti di produzione

### **Reagenti e KIT DIAGNOSTICI**

per il controllo dei microorganismi, per micotossine, anabolizzanti, antibiotici, pesticidi, cellule somatiche.



### **EASY SCREENING SERVIZIO DI ASSISTENZA TECNICA POST-VENDITA**

Uno staff di biologi e chimici pronto a risolvere immediatamente ogni problema dalle 9 alle 17.30 dal lunedì al venerdì. Un indirizzo di posta elettronica dove spedire quesiti, richieste di chiarimenti e reclami 24 ore al giorno senza spostarVi dal Vostro computer.



### **CORSI DI FORMAZIONE**

per il monitoraggio dell'igiene negli impianti di produzione  
di introduzione e perfezionamento all'uso del metodo immunoenzimatico (ELISA)  
di introduzione al metodo di amplificazione genica, PCR (polymerase chain reaction).

### **PICCOLA STRUMENTAZIONE**

LUMINOMETRO portatile, LETTORI manuali ed automatici per micropiastre, TERMOCICLATORI, apparecchiature per ELETTROFORESI, TRANSILLUMINATORI, apparecchiature per fotografare i gel, CAPPE a flusso laminare

### **CONTROLLO DI QUALITA' ESTERNO**

per la verifica delle performances del laboratorio nel settore dei contaminanti chimici degli alimenti di origine animale

TECNA Srl , Padriciano, 99 34012 TRIESTE, tel. 040-226690 fax 040-226902  
e-mail: [tecna@com.area.trieste.it](mailto:tecna@com.area.trieste.it)

**Convegno 5**  
**I CONTROLLI DI QUALITÀ DEL VINO**  
**moderatore: Dr. Rocco Di Stefano**

**Indirizzi di moderatore e relatori:**

**Dr. Roberto Larcher**

**Dr.ssa Daniela Depentori**

Lab. Chimico - Istituto Agrario di S. Michele all'Adige  
Via Edmondo Mac 1 - 38010 S. Michele all'Adige (TN)  
tel. 0461/615264 Fax 0461/650872

**Dr. Rocco Di Stefano**

Direttore Ist. Sperim. per l'Enologia di Asti  
Via Pietro Micca 36 - 14100 Asti  
tel. 0141/593084 Fax 0141/436829

**Dr. Pasquale Tamborra**

Ist. Sperim. per l'Enologia - Via Vittorio Veneto 26 - 70051 Barletta (Bari)  
Tel. 0883/521346 - 521379 - Fax 0883/528955

**Dr. Andrea Giomo**

GASP! srl

Via Quattro Giugno 6 - 20087 Robecco sul Naviglio - Milano  
Tel. e Fax 02/9470214 - Tel. Cellulare 0348/2689172

**Dr. Giuseppe Zeppa**

DIVAPRA - Università di Torino  
Via Leonardo da Vinci 44 - 10095 Grugliasco (Torino)  
Tel. 011-6708551 - Fax 011/6708549

**Berardino Torrone**

Azienda Vinicola Michele Mastroberardino - Via Manfredi 75/81 - 83043  
Atripalda (Avellino) - Tel. 0825/626123 - Fax 0825/614231

**Dr. Alberto Perbellini**

Politech - Area Science Park - Via Padriciano 99 - 34012 Trieste  
Tel. 040/3756611 - Fax 040/9220016

**Dr. Dino Cervo**

Biostrands - Area Science Park - Via Padriciano 99 - 34012 Trieste  
Tel. 040/9220047 - Fax 040/9220045

Tel. 02/69001227 - 69001237  
Fax 02/69001229  
**MORGAN EDIZIONI TECNICHE s.r.l.**  
Viale Zara, 9 - 20159 MILANO

