

Influenza della sfogliatura sulla sintesi della quercetina in Sangiovese. Ulteriori acquisizioni sui precipitati di quercetina nei vini

D. Marchi, D. Lanati, P. Cascio, and M. Giacomo

Enosis s.r.l., 11043, Fubine (AL), Italia

Sintesi. Allo scopo di approfondire i fattori che portano ad un accumulo elevato dei flavonoli e in particolare dei glicosidi della quercetina nell'uva abbiamo valutato in campo l'influenza della defogliazione precoce e all'invaiaura e di altre variabili viticole sulla sintesi di questi composti. Nello stesso tempo abbiamo studiato l'influenza della refrigerazione del vino e della formazione di complessi con altre sostanze presenti nel vino sulla solubilità della quercetina aglicone. I risultati ottenuti hanno confermato che: i) la defogliazione, in particolare quella precoce, inducono un incremento della sintesi dei flavonoli nell'uva, ii) la quercetina aglicone forma complessi, presumibilmente con gli antociani monomeri e con certe classi di pigmenti polimeri, con un incremento sensibile della sua solubilità, iii) la refrigerazione dei vini in cui la quercetina aglicone è presente sopra la sua soglia di solubilità porta alla sua precipitazione.

1. Introduzione

In una precedente nota (Lanati et al., 37° Congresso OIV 2014) [1] abbiamo segnalato la presenza di precipitati di quercetina aglicone in bottiglie di vini da lunga conservazione, elaborati a partire da uve Sangiovese. In questi ultimi anni il problema in questione si è esteso a vini elaborati da uve di altre varietà, nei due emisferi (nostre osservazioni non pubblicate). In particolare, per la cultivar Sangiovese: (i) i precipitati di quercetina aglicone si sono formati dopo un periodo di tempo anche piuttosto lungo dopo l'imbottigliamento, (ii) i caratteri sensoriali positivi dei vini in cui erano presenti precipitati di quercetina aglicone hanno portato ad escludere attacchi di microrganismi, (iii) il fenomeno non ha interessato tutte le bottiglie dello stesso lotto, (iv) le bottiglie da 0.75 L sono risultate più esposte al fenomeno di quelle da 1,5 L, (v) nelle bottiglie di vini sottoposti a maturazione in barriques sono stati osservati precipitati di quercetina aglicone con minor frequenza rispetto a vini la cui maturazione è stata condotta in contenitori di altri materiali, (vi) il rischio di formazione di precipitati di quercetina è apparso minore nei vini che avevano subito un contatto maggiore con l'ossigeno (travasi, MOX), (vii) le chiarifiche o altre operazioni di fining non hanno eliminato il rischio di formazione di precipitati di quercetina aglicone, (viii) il fenomeno ha riguardato soprattutto vini ottenuti da uve di qualità elevata, caratterizzati da una sintesi più efficiente, da elevata concentrazione ed estraibilità dei polifenoli dalle bucce dell'uva e da più elevato rapporto solido d'uva/mosto, (ix) non è stato possibile correlare la quantità del precipitato con l'età, l'origine e lo stato di conservazione del contenitore in legno in cui il vino era stato conservato, (x) il fenomeno ha riguardato soprattutto le aziende che vinificavano uve provenienti dai propri vigneti particolarmente curati, da viti sottoposte

a sfogliatura per incrementare l'esposizione dei grappoli alla luce diretta del sole. Se erano piuttosto evidenti (a) l'influenza dell'esposizione alla luce diretta del sole sul contenuto in flavonoli della buccia dell'uva (Downey et al., 2004) [2], in quanto la sintesi di questi composti avviene in risposta e come meccanismo di difesa nei riguardi dei raggi UV-A (380–315 nm), (b) la diminuzione del rischio nei vini che avevano subito un maggior contatto con l'ossigeno (per l'elevato potere antiossidante e la facile ossidabilità di questi composti), erano difficili da razionalizzare tutti gli altri fattori: in particolare la precipitazione della quercetina aglicone in bottiglia dopo periodi piuttosto lunghi dalla fine del periodo di maturazione del vino (in fase di conservazione). Per tentare di spiegare quest'ultimo fenomeno, è stato ipotizzato (Lanati et al., 2014) [1] che la quercetina aglicone, la cui solubilità è intorno a 5 mg/L (Boulton, 2001) [3], man mano che è prodotta per idrolisi dei glicosidi della quercetina (soprattutto per via enzimatica durante la fermentazione alcolica e per catalisi acida nel vino) potesse restare in soluzione a concentrazioni più elevate e potesse essere difesa dalle reazioni di degradazione ossidativa grazie al suo coinvolgimento in complessi con gli antociani monomeri e, probabilmente, anche con pigmenti polimeri. Il proseguimento delle reazioni di polimerizzazione degli antociani monomeri e la formazione di pigmenti polimeri più complessi avrebbe portato alla liberazione della quercetina aglicone con il raggiungimento, sotto forma non complessata, di una concentrazione superiore alla sua solubilità, e la sua conseguente precipitazione. Le nostre esperienze successive, non ancora pubblicate, hanno avuto come obiettivo l'abbattimento del contenuto in quercetina dei vini a rischio attraverso opportune tecniche di maturazione dei vini e trattamenti sottrattivi. In questa nota sono descritte prove volte a valutare (a) l'influenza della defogliazione precoce e all'invaiaura sul contenuto

in glicosidi della quercetina a livello di uva e (b) la formazione di complessi in cui la quercetina aglicone potrebbe essere coinvolta nel vino.

2. Materiali e metodi

2.1. Influenza della defogliazione

Le prove sono state effettuate in tre ambienti diversi della zona del Sud della Toscana nel 2016, su cloni di Sangiovese diversi (Vigneto 1 clone CH20, Vigneto 1 Tebano 19, Vigneto 2 Selezione Massale, Vigneto 3 Selezione Massale) innestati su 420A, 110R, 110 3P, 101–14. Sono state valutate la sfogliatura precoce (all'allegagione 29 giugno 2016) e all'invaiaura (1 agosto 2016) e sono stati effettuati prelievi di acini per le analisi a metà maturazione e a maturazione. Il controllo era costituito da viti non sfogliate. Tutte le viti erano allevate a cordone speronato. La quercetina aglicone e il profilo dei flavonoli glicosidi sono stati determinati per HPLC dopo pre-concentrazione del campione (10 mL di omogenato d'uva sono stati estratti due volte con 20 mL di etil acetato; dopo evaporazione del solvente sotto vuoto il residuo è stato ripreso con 2 mL della miscela H_3PO_4 10^{-3} M in acqua: metanolo 60:40). Le uve non diradate hanno rappresentato il controllo. Tutte le determinazioni sono state effettuate in triplo.

2.2. Condizioni cromatografiche per l'analisi dei Flavonoli per HPLC

Solvente A: H_3PO_4 10^{-3} M in acqua; solvente B: metanolo LiChrosolv Merck; da 0% a 5% di B in 5 min., a 10% di B in 5 min., a 30% di B in 15 min., a 60% di B in 10 min., a 100% di B in 10 min., 100% di B per 10 min., a 5% di B in 5 min. Flow: 0.8 mL/min., λ : 360 nm, volume iniettato: 20 μ L,

Colonna: LiChrospher® 100 RP-18 (5 μ m) – LiChroCart® 250-4, Merck

Guard Columns: LiChrospher® 100 RP-18 (5 μ m) – LiChroCart® 4-4, Merck
gli antociani totali e i flavonoidi totali per spettrofotometria (Corona et al., 2015) [4].

2.3. Valutazione della possibilità di coinvolgimento della quercetina aglicone in complessi con i pigmenti

Soluzioni: a) soluzione di quercetina aglicone a 3 g/L in metanolo; b) soluzione tampone a pH 3.20 (in un matraccio tarato da 1L sono stati posti 5 g di acido tartarico, 22.2 mL di NaOH 1 N, ca. 500 mL di acqua deionizzata e dopo agitazione sono stati aggiunti 125 mL di etanolo al 95–96%; si è portato, infine, a 1L con acqua deionizzata).

Vini: Barbera 2018, Cirò 2014

Dissoluzione della quercetina aglicone nel vino e in soluzione tampone a pH 3.20:

In contenitori da 100 mL sono stati posti 1 mL di soluzione di quercetina a 3 g/L in metanolo e 100 mL di Barbera 2018 o di Cirò 2014 o di tampone a pH 3.20. Dopo agitazione, i campioni sono stati conservati a 18 °C per sei giorni. Analoghi campioni (100 mL) di vini e di tampone a pH 3.20 addizionati di quercetina aglicone (3 mg) sono stati conservati a 0 °C per sei giorni. Al termine, tutti i campioni sono stati centrifugati per

15 min a 4000 rpm e i precipitati e le fasi liquide recuperati separatamente. I precipitati a 18 °C e a 0 °C sono stati solubilizzati in 10 mL di metanolo e, dopo la registrazione dello spettro di assorbimento da 230 a 400 nm sono state determinati $E_{360, 2\text{mm}}$ e $E_{\lambda_{\text{max}}, 2\text{mm}}$ ($\lambda_{\text{max}} = 371$ nm). Sulle fasi liquide sono state determinate la composizione fenolica per spettrofotometria ed $E_{360, 2\text{mm}}$. Tutte le prove sono state effettuate in triplo.

3. Effetto della refrigerazione del vino sulla precipitazione della quercetina aglicone

Campioni da 100 mL di vini Barbera 2018 e Cirò 2014 non addizionati di quercetina aglicone sono stati posti a 0 °C per sei giorni. Al termine sono stati centrifugati a 4000 rpm per 15 min e sul precipitato solubilizzato in 10 mL di metanolo e sulla fase liquida sono state effettuate le determinazioni di $E_{360, 2\text{mm}}$ e della composizione fenolica per spettrofotometria. Analoghe determinazioni sono state effettuate sui vini non refrigerati. Tutte le prove sono state effettuate in triplo.

4. Determinazione degli antociani totali e dei flavonoidi totali.

È stato impiegato il metodo descritto da Corona et al. (2015) [4].

5. Risultati e discussione

Effetto della sfogliatura sul contenuto in glicosidi della Quercetina

I risultati riportati in Table 1 mostrano che dalla metà alla fine della maturazione dell'uva il contenuto della quercetina-3-glucuronide ha subito una diminuzione in tutti gli ambienti e per tutti i trattamenti, in accordo col fatto che la sua sintesi inizia poco prima dell'invaiaura e si esaurisce subito dopo (nostre osservazioni non pubblicate). Il valore più basso di questo derivato è stato riscontrato nel controllo. È evidente che una parte di esso ha subito reazioni di degradazione nel corso del processo di maturazione dell'uva e che l'esposizione dei grappoli alla luce del sole ha favorito la sua sintesi. Sembra che il microambiente, il clone e il portinnesto abbiano esercitato una influenza a volte rilevante sul contenuto della quercetina-3-glucuronide, almeno fino a metà maturazione ma, man mano che la maturazione è proceduta, i suoi contenuti hanno mostrato tendenza ad uniformarsi. A causa della diminuzione che il suo tenore subisce durante la maturazione dell'uva, del suo contenuto di solito non elevato alla raccolta, e della sua resistenza all'idrolisi acido catalizzata, la sua importanza nella formazione di intorbidamenti in bottiglia sembra sensibilmente minore di quella della quercetina-3-glucoside. A differenza del derivato glucuronide, il contenuto della quercetina-3-glucoside è aumentato da metà maturazione a maturazione in tutti i microambienti considerati e per tutti i trattamenti. I contenuti più elevati di quercetina-3-glucoside sono stati osservati a maturità nel microambiente 2, indipendentemente dal trattamento. Il controllo ha fatto registrare i tenori più bassi, in linea con quanto già noto sull'effetto dell'esposizione alla luce

Table 1. Contenuti di flavonoli di uve Sangiovese 2016 da viti sottoposte a sfogliatura precoce (un mese prima dell'invaiaitura) e all'invaiaitura. Prelievi di acini a metà maturazione e a maturazione (mg/kg di acini). Variabili valutate: ambienti, cloni, portinnesti.

Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 1 CH20 420A – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.47	0.04	0.41	0.03	0.25	0.00	0.41	0.04	0.35	0.02	0.30	0.02
Miricetin Gl	7.07	0.07	7.05	0.16	5.82	0.22	6.44	0.21	5.55	0.11	5.35	0.05
Quercetin Gr	6.96	0.25	5.10	0.07	3.81	0.22	5.29	0.13	3.98	0.23	3.74	0.04
Quercetin Gl	17.96	0.52	17.64	0.82	15.22	0.15	17.58	0.59	15.12	0.39	15.98	0.61
Kaempferol Gl	2.63	0.08	2.79	0.17	1.86	0.04	2.61	0.04	2.29	0.06	2.08	0.04
Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 1 Tebano 19 420A – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.6	0.06	0.7	0.03	0.3	0.00	0.5	0.03	0.6	0.03	0.3	0.02
Miricetin Gl	5.4	0.10	5.5	0.20	4.2	0.25	6.2	0.14	5.9	0.11	4.4	0.20
Quercetin Gr	8.4	0.30	7.9	0.17	5.2	0.14	5.7	0.18	5.7	0.17	3.8	0.27
Quercetin Gl	15.2	0.35	15.9	0.10	10.8	0.36	16.2	0.33	16.9	0.34	11.2	0.56
Kaempferol Gl	2.3	0.02	2.2	0.00	1.0	0.03	2.0	0.15	2.3	0.19	0.9	0.02
Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 2 Selezione Massale 110R – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.6	0.03	0.6	0.03	0.4	0.05	0.6	0.01	0.5	0.03	0.4	0.05
Miricetin Gl	5.3	0.14	5.2	0.08	3.6	0.13	6.1	0.19	6.8	0.09	5.1	0.25
Quercetin Gr	8.5	0.15	6.8	0.17	5.4	0.17	6.9	0.09	6.2	0.13	4.2	0.25
Quercetin Gl	14.4	0.24	14.8	0.34	11.9	0.41	19.2	0.23	20.6	0.61	14.0	0.24
Kaempferol Gl	1.8	0.12	1.7	0.14	0.8	0.07	2.4	0.07	2.9	0.11	1.8	0.05
Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 2 Selezione Massale 420A – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.7	0.02	0.5	0.01	0.3	0.02	0.5	0.04	0.3	0.02	0.4	0.02
Miricetin Gl	4.6	0.22	3.9	0.24	2.9	0.08	5.7	0.10	5.1	0.24	4.6	0.09
Quercetin Gr	7.9	0.20	6.9	0.23	4.8	0.16	7.1	0.29	4.4	0.19	4.2	0.25
Quercetin Gl	16.4	0.15	14.9	0.21	10.6	0.76	18.3	0.59	16.6	0.23	15.6	0.27
Kaempferol Gl	2.8	0.01	2.7	0.05	0.7	0.05	3.3	0.10	2.7	0.05	1.9	0.05
Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 3 Sesti diversi Selezione Massale 110 3P – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.5	0.03	0.4	0.02	0.4	0.01	0.4	0.03	0.3	0.03	0.3	0.00
Miricetin Gl	4.3	0.04	3.7	0.15	4.2	0.10	6.3	0.22	5.9	0.12	6.1	0.05
Quercetin Gr	5.9	0.27	5.2	0.07	5.3	0.18	4.6	0.22	3.4	0.19	3.1	0.12
Quercetin Gl	15.2	0.58	12.6	0.48	12.4	0.15	17.1	0.21	17.1	0.45	15.6	0.35
Kaempferol Gl	1.8	0.07	1.9	0.14	1.8	0.08	2.3	0.09	2.0	0.09	1.9	0.10
Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 3 Sesti diversi Selezione Massale 420A – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiaitura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.6	0.04	0.6	0.03	0.5	0.02	0.5	0.03	0.3	0.00	0.4	0.02
Miricetin Gl	5.4	0.27	4.7	0.17	4.6	0.17	8.0	0.01	6.8	0.14	6.6	0.18
Quercetin Gr	6.0	0.33	5.5	0.14	5.0	0.23	5.6	0.11	3.4	0.31	3.9	0.20
Quercetin Gl	13.8	0.44	12.9	0.50	12.4	0.33	17.8	0.33	15.7	0.50	14.2	0.38
Kaempferol Gl	2.2	0.06	1.5	0.05	1.3	0.05	3.1	0.11	2.1	0.06	1.9	0.01

Table 1. Continued.

Uva Sangiovese 2016 – Vigneto 3 Sesti diversi, Selezione Massale 101-14 – mg/Kg												
	Prelievo metà maturazione						Prelievo maturazione					
	Sfogl.Precoce media (s.d.)		Sfogl.Invaiatura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)		Sfogl.Precoc media (s.d.)		Sfogl.Invaiatura media (s.d.)		Controllo media (s.d.)	
Miricetin Gr	0.49	0.02	0.51	0.03	0.48	0.02	0.34	0.01	0.27	0.01	0.26	0.01
Miricetin Gl	4.60	0.23	5.29	0.28	4.39	0.23	6.56	0.02	6.01	0.12	5.79	0.05
Quercetin Gr	5.71	0.23	5.30	0.14	5.05	0.19	4.82	0.18	3.79	0.12	3.61	0.09
Quercetin Gl	14.66	0.21	14.87	0.45	14.53	0.49	17.46	0.61	16.65	0.38	15.82	0.37
Kaempferol Gl	1.96	0.01	2.28	0.08	1.74	0.05	2.96	0.13	2.65	0.10	2.40	0.01

Table 2. – 100 mL di vino addizionati di 3 mg di quercetina aglicone. Dati relativi a quercetina precipitata a 18 °C e a 0 °C e al vino dopo centrifugazione. Medie di tre determinazioni e s.d.

	Quercetina precipitata a 18 °C		Quercetina precipitata a 0 °C	
	E _{371,2mm} Media	s.d.	E _{371,2mm} Media	s.d.
Barbera	0.387	0.015	2.882	0.076
Cirò	0.733	0.199	2.729	0.121
Tampone	4.559	0.021		
Dati Vino privato del precipitato				
	Barbera	Cirò	Barbera	Cirò
	18 °C	18 °C	0 °C	0 °C
	media (s.d.)	media (s.d.)	media (s.d.)	media (s.d.)
E _{360,2mm}	1.957 (0.066)	1.624 (0.01)	1.952 (0.01)	1.412 (0.008)
Ant. tot. mg/L	296 (1.528)	69 (1.155)	299 (0.577)	66 (1.155)
Flav. tot. mg/L	1046 (20.78)	1562 (21.31)	1072 (9.815)	1568 (14.43)
E _{520,2mm}	1.241 (0.012)	0.407 (0.002)	1.201 (0.004)	0.409 (0.003)
Tonalità	0.583 (0.002)	1.215 (0.002)	0.600 (0.002)	1.182 (0.013)
Intensità col.	9.820 (0.083)	4.503 (0.013)	9.603 (0.02)	4.458 (0.008)

del sole, dell'ombreggiamento e dell'oscuramento sulla sintesi dei flavonoli. Sembra, inoltre, che la sfogliatura precoce abbia favorito l'accumulo di quercetina-3-glucoside. Sebbene i contenuti di questo derivato, nell'annata considerata, non fossero particolarmente elevati, i risultati ottenuti in questo lavoro danno chiare indicazioni sulla possibilità che le tecniche di allevamento della vite offrono per tenere sotto controllo la sintesi dei glicosidi della quercetina alla cui idrolisi sono da attribuire gli intorbidamenti di quercetina aglicone. L'idrolisi dei glicosidi della quercetina (soprattutto del derivato 3-glucoside), come è stato osservato in un altro lavoro (Marchi et al., 2019) [5] presentato in questo stesso congresso, avviene già in fase di macerazione fermentativa, probabilmente per via enzimatica; durante il processo di maturazione del vino per catalisi assistita dallo ione H⁺. Entrambi i risultati di queste idrolisi sono difficili da razionalizzare in quanto i) fattori quali il livello di maturità dell'uva, la conduzione della macerazione (tipo, periodo e frequenza dei rimontaggi, temperatura) possono condizionare l'attività enzimatica glucosidasi, ii) il contenuto in antociani monomeri e polimeri non evoluti, per il loro effetto complessante e di conseguenza sottrattivo sui flavonoli, può esercitare una influenza determinante sull'idrolisi chimica. Sebbene non sia stato segnalato il suo coinvolgimento nei fenomeni di intorbidamento in bottiglia, la miricetina-3-glucoside merita di essere tenuta in considerazione in quanto rappresenta il flavonolo quantitativamente più importante dopo la quercetina-3-glucoside (in certe varietà prevale anche sulla quercetina). Il suo contenuto, a parte il microambiente 1, clone CH20,

portinnesto 420A, ha subito incrementi da metà a fine maturazione e come la quercetina-3-glucoside è stato condizionato dall'esposizione, raggiungendo i tenori più bassi nei campioni controllo di ogni microambiente e di ogni trattamento. Come osservato per la quercetina-3-glucoside, anche la sintesi della miricetina-3-glucoside è stata attivata dall'esposizione precoce dei grappoli alla luce solare.

6. Effetto della refrigerazione del vino sulla solubilità dei composti fenolici

L'influenza della refrigerazione a 0 °C per sei giorni sul contenuto in quercetina aglicone (più propriamente sull'assorbanza a 360 nm) è stata valutata su un vino Barbera 2018 e su un vino Cirò 2014 (Table 2). I due vini avevano una composizione in antociani e in flavonoidi sensibilmente diversa, in linea con le varietà e i territori da cui provenivano (povero di flavonoidi e ricco di antociani il Barbera, l'inverso il Cirò). Inoltre, i valori di dTAT% (23 per Barbera 2018 e 49 per Cirò 2014) e d'TAT% (12 per Barbera 2018 e 33 per Cirò 2014) (contributo all'assorbanza a 520 nm, E₅₂₀, dei pigmenti polimeri non decolorabili da parte della SO₂ rispettivamente al pH del vino e a pH ~ 0) mostrano che responsabili del colore del vino Cirò erano soprattutto pigmenti polimeri non decolorabili da parte della SO₂, del Barbera pigmenti decolorabili da parte della SO₂. Il precipitato raccolto dopo centrifugazione a 4000 rpm per 15 min. di 100 mL di vino refrigerato a 0 °C per sei giorni, solubilizzato in 10 mL di metanolo ha presentato una E_{360,2mm} media

di 0.045 u.a. (s.d. = 0.002) nel caso del Barbera e di 0.034 u.a. (s.d. = 0.005) nel caso del Cirò. I valori di queste assorbanze corrispondono a circa 0.30 mg/L di quercetina aglicone nel caso del Barbera e a 0.21 mg/L nel caso del Cirò. Si tratta di quantità trascurabili che, d'altra parte, non corrispondono ai contenuti reali di quercetina nel precipitato in quanto la radiazione a 360 nm (alla quale è effettuata la misura per rivelare la presenza della quercetina) è assorbita anche da antociani monomeri e polimeri, ioni Xantilio. ...È noto infatti che la refrigerazione del vino induce la precipitazione di pigmenti e polimeri fenolici allo stato colloidale. Su questo principio è basato un metodo pratico, in uso nelle cantine, per la determinazione della stabilità del colore del vino. Inoltre, se si fosse riscontrata per refrigerazione dei vini la precipitazione di una quantità rilevante di quercetina, prima di adottare questa tecnica per la diminuzione del contenuto di questo flavonolo nei vini sarebbe necessario valutare l'influenza di tale trattamento sulla qualità dei vini invecchiati.

7. Solubilizzazione della quercetina aglicone in soluzione tampone a pH 3.20 in vini rossi: Barbera 2018 e Cirò 2014

Una soluzione di quercetina aglicone commerciale a 30 mg/L in metanolo ha presentato una $E_{360,2\text{mm}} = 0.438$ u.a. e una $E_{371,2\text{mm}} = 0.486$ u.a.. L'aggiunta di 3 mg di quercetina a 100 mL di soluzione tampone a pH 3.20 ha prodotto un precipitato di 2.8 mg; 0.2 mg sono rimasti in soluzione. Nel vino Barbera 2018 mantenuto a 18 °C l'aggiunta di 3 mg/100 mL di quercetina ha prodotto un precipitato di 0.24 mg; 2.76 mg sono rimasti in soluzione. Dopo refrigerazione per sei giorni a 0 °C, nello stesso vino sono precipitati 1.78 mg di quercetina; 1.22 mg sono rimasti in soluzione. Nel vino Cirò 2014 mantenuto a 18 °C l'aggiunta di 3 mg/100 mL di quercetina ha prodotto un precipitato di 0.45 mg; 2.55 mg sono rimasti in soluzione. Dopo refrigerazione per sei giorni a 0 °C, nello stesso vino sono precipitati 1.69 mg di quercetina; 1.31 mg sono rimasti in soluzione. La precipitazione della quercetina dopo refrigerazione sembra contraddire quanto dedotto dalla refrigerazione del vino non addizionato di quercetina. Ad un esame più attento, tuttavia, appare chiaro che la precipitazione dopo refrigerazione riguarda il vino che conteneva in soluzione una quantità elevata di quercetina addizionata. Appare, comunque paradossale che una quantità molto elevata della quercetina addizionata (malgrado sia stata riportata una solubilità di 5 mg/L) sia rimasta in soluzione sia a 18 °C, sia dopo refrigerazione a 0 °C. La quercetina rimasta in soluzione a 18 °C e a 0 °C nei due vini spiega gli incrementi di $E_{360,2\text{mm}}$ osservati. La maggior solubilizzazione della quercetina nel vino Barbera 2018 rispetto al vino Cirò 2014 potrebbe indicare che questo flavonolo si sia legato ad antociani monomeri più che a polimeri per formare complessi di copigmentazione (il Barbera era più ricco di antociani del Cirò). Questa deduzione, tuttavia non è confermata dai valori di E_{520} delle fasi liquide, da cui i precipitati erano stati rimossi, che sono rimasti praticamente inalterati nei vini addizionati di quercetina rispetto ai vini non addizionati (ci si sarebbe aspettati un effetto ipercromico nei vini addizionati di quercetina). È, d'altra parte evidente

che, se una parte della quercetina addizionata ai vini è rimasta in soluzione a 18 °C e non è precipitata del tutto dopo refrigerazione a 0 °C, questo è avvenuto in quanto essa si è associata ad altre sostanze che non possono essere altri che gli antociani monomeri e polimeri (in quest'ultimo caso, come dimostrano i dati del Cirò 2014 che aveva conseguito già un buon livello di stabilità fenolica, provata dalle elevate percentuali di dTAT% e di d'TAT%). L'associazione con gli antociani monomeri e polimeri della quercetina rimasta in soluzione nei due vini mantenuti a 18 °C e dopo refrigerazione a 0 °C senza che sia stato registrato un effetto ipercromico potrebbe essere dovuto al fatto che il fenomeno della copigmentazione richiede sensibili quantità di copigmento, non raggiunte in questo lavoro, per essere osservato (Baranak et al., 1997) [6].

Malgrado le incertezze connesse con l'interpretazione dei dati sopra esposti, pare ragionevolmente provato che la quercetina aglicone possa essere presente nei vini giovani, e in minor misura nei vini che hanno subito un processo di maturazione o una lunga conservazione, in quantità sensibilmente maggiori di quanto deducibile dalla sua solubilità. Questa discrepanza può essere spiegata solo ipotizzando la formazione di complessi con antociani monomeri e in minor misura con antociani polimeri che, tuttavia non hanno indotto un effetto ipercromico a causa della esigua quantità del copigmento. Per la prima volta, comunque, i dati ottenuti in questo lavoro sembrano suggerire che la quercetina aglicone si possa associare a pigmenti polimeri, oltre che ad antociani monomeri. I pigmenti polimeri in grado di legarsi con legami deboli con la quercetina potrebbero essere quelli in cui il cromoforo flavilio o base chinonica si trovano alla fine della catena polimerica. Man mano che gli antociani monomeri e i pigmenti polimeri si evolvono, la quercetina si stacca dai complessi che forma con essi, supera la sua soglia di solubilità e precipita. Anche la refrigerazione del vino, abbassando la solubilità della quercetina, induce una sua precipitazione.

8. Conclusioni

I risultati delle esperienze descritte in questo lavoro hanno confermato che l'esposizione dei grappoli alla luce diretta del sole induce un incremento del contenuto dei glicosidi dei flavonoli, e in particolare della quercetina, a livello di acini d'uva. L'influenza dell'ambiente, del clone e del portainnesto, pur apparendo chiara ad una prima valutazione dei dati, richiede un più attento esame di questi con l'impiego di metodi statistici. La refrigerazione può contribuire ad un abbattimento del contenuto in quercetina aglicone dei vini, ma la fattibilità di questo trattamento deve essere valutata tenendo conto dei suoi effetti sulla qualità sensoriale del vino. Infine è stato provato che la possibilità di formazione di complessi, presumibilmente con antociani monomeri e con certe classi di pigmenti polimeri può consentire alla quercetina aglicone di restare in soluzione nel vino a concentrazioni sensibilmente più elevate di quelle prevedibili sulla base della sua solubilità.

Letteratura citata

- [1] D. Lanati, D. Marchi, P. Cascio Precipitati di quercetina nei vini. 37° Congresso OIV (2014)

- [2] M.O. Downey, J.S. Harvey, S.P. Robinson. *Aust. J. Grape Wine Res.* **10**, 55 (2004)
- [3] R. Boulton, *Am. J. Enol. Vitic.* **52**, 67 (2001)
- [4] C. Onofrio, M. Squadrito, G. Vento, A. Tirelli, R.D. Stefano, *Food Chemistry* **172**, 537 (2015)
- [5] D. Marchi, D. Lanati, P. Cascio, *Composizione in antociani e flavonoli di vini prodotti nel territorio svizzero. 45 °Congresso OIV* (2019)
- [6] J.M. Baranac, N.A. Petranovic', J.M. Dimitric'-Markovic, *J. Agric. Food Chem.* **45**, 1698 (1997)