

ANALISI DEL VINO

L'analisi del vino ha lo scopo di stabilire la genuinità del prodotto, l'assenza di malattie e alterazioni, l'effettivo possesso delle caratteristiche organolettiche previste, nonché dei valori del grado alcolico e dell'estratto stabiliti per legge, e l'assenza di manipolazioni o aggiunte illecite.

Ecco un elenco delle determinazioni che possono essere fatte sul vino. Colore, limpidezza, deposito, intorbidamento, odore e sapore. Tenuta all'aria, al freddo, in stufa.

Esame microscopico del vino e del deposito. Densità del vino, densità del residuo senza alcol. Ricerca dell'annacquamento. Grado alcolico svolto e potenziale. Determinazione del metanolo, degli alcoli superiori, del mannitolo e sorbitolo. Determinazione degli zuccheri riduttori, del saccarosio, glucosio, fruttosio, melasso. Determinazione dei polifenoli e dei tannini.

Distribuzione degli acidi organici: acido tartarico, malico, lattico, citrico, ascorbico. Acidità totale, volatile e fissa, pH e rH. Estratto secco totale. Ceneri, alcalinità delle ceneri. Distribuzione dei cationi Na^+ , Ca^{++} e Mg^{++} . Determinazione del potassio. Ricerca del ferrocianuro. Ricerca dell'EDTA. Ricerca dei solfati, limite di gessatura. Ricerca di cloruri, nitrati, fosfati, silice. Determinazione dei gas: anidride carbonica, azoto e ossigeno libero. Anidride solforosa libera e totale. Indice di ossidabilità. Potere tampone. Aminoacidi (prolina) e sostanze azotate. Ricerca degli antifermantativi (antisettici e antibiotici). Ricerca dei coloranti estranei. Ricerca del caramello. Ricerca dei metalli pesanti.

Come si vede, un'analisi veramente completa del vino è una operazione delicata e complessa che richiede molto tempo. Sarebbe buona norma effettuare sempre il maggior numero possibile di determinazioni analitiche e valutare quindi l'insieme dei risultati ottenuti. E' però consuetudine semplificare considerevolmente l'analisi e limitarsi ad alcuni dosaggi semplici relativi a certi elementi o gruppi di elementi, quali lo zucchero l'alcol, l'estratto secco, le ceneri, le acidità totale e volatile e qualche altro. Va sottolineato comunque che queste poche indicazioni, per quanto utili siano, non forniscono però una conoscenza reale della composizione dei vini, ma solo alcune informazioni orientative di base.

Inoltre il risultato di un dosamento per avere un significato deve essere messo in rapporto alle condizioni alle quali il vino è stato sottoposto. Per esempio i valori delle acidità totale e volatile hanno significato diverso a seconda che il vino sia nuovo o vecchio, abbia subito o no la fermentazione malolattica.

Negli ultimi anni è emerso che risulta significativa, al fine di una valutazione di genuinità, la determinazione quantitativa dei seguenti componenti: prolina, polifenoli, potassio, magnesio, nitrati, azoto totale.

Ciò premesso, vediamo alcune tra le più comuni determinazioni analitiche che vengono fatte sui vini. Ricordiamo dal punto di vista normativo il D.P.R. n. 162 del 12.2.65, contenente norme per la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio dei mosti, vini e aceti, e le sue successive modifiche.

DETERMINAZIONE DEL GRADO ALCOLICO

L'alcol etilico rappresenta normalmente dal 7 al 16% del volume di un vino, essendo la fermentazione alcolica inibita a concentrazioni più elevate di alcol. Il **grado alcolico** (o gradazione alcolica o **alcol svolto**) di un vino è rappresentato dai ml di alcol effettivamente presenti in 100 ml di vino (e dunque una percentuale v/v) misurati a una temperatura di 20° C. Oltre all'alcol svolto (cioè quello effettivo o reale) si considera nel vino anche **l'alcol da svolgere o alcol potenziale**. Esso è quello che potrebbe formarsi in seguito a completa fermentazione degli zuccheri presenti e determina quindi la gradazione alcolica potenziale.

Per calcolare l'alcol da svolgere occorrerà determinare la percentuale degli zuccheri, espressi come zucchero invertito, e moltiplicare tale valore per 0,6.

Il **grado alcolico complessivo** (gradazione alcolica complessiva) è dato dalla somma dell'alcol svolto e di quello da svolgere. La determinazione della gradazione alcolica nei vini è particolarmente importante in quanto è la base delle transazioni commerciali.

Per legge é vietata la vendita al diretto consumo dei mosti e dei vini che abbiano una gradazione alcolica complessiva inferiore a 9 gradi. I vini possono essere portati a tale valore minimo mediante il taglio.

I metodi più usati per la determinazione del grado alcolico sono:

1. metodi chimici per ossidazione cromica;
2. metodi separanti l'alcol etilico per distillazione con sua successiva determinazione per mezzo della misura della densità;
3. metodi ebulliometrici o ebullioscopici.

Il **metodo ufficiale** usato per la determinazione del grado alcolico é quello **per distillazione**.

Un metodo più rapido, ma con significato puramente orientativo, é quello ebullioscopico.

Per la **determinazione degli zuccheri sul vino**, defecato con acetato basico di piombo, si possono usare vari metodi:

- quello ufficiale é il metodo di Bertrand (determinazione volumetrica mediante il reattivo di Fehling);
- altri metodi sono quello di Munson e Walker (determinazione con il metodo ponderale al liquido di Fehling);
- il metodo iodometrico;
- quello elettrolitico;
- quello spettrofotometrico.

Il **metodo di determinazione del grado alcolico per distillazione** si basa sul rapporto tra densità di liquidi alcolici e loro contenuto in alcol. Le miscele acqua/alcol hanno infatti densità tanto più basso (rispetto all'acqua distillata) quanto più alto é il contenuto di etanolo.

La determinazione della densità però non si può fare direttamente sul vino perché interferirebbero le altre sostanze che si trovano disciolte, per cui bisogna ottenere per distillazione dal vino un liquido che contenga solo acqua e alcol, negli stessi rapporti presenti originariamente nel vino stesso. In pratica si distilla un certo volume di vino raccogliendone i 2/3 del volume iniziale, si riporta con acqua distillata il liquido distillato fino al volume del vino impiegato e si determina la densità a 20°, risalendo mediante apposite tabelle al grado alcolico.

E' importante neutralizzare il vino con idrossido di calcio prima della distillazione in modo da fissare gli acidi volatili che, distillando con l'alcol, altererebbero i risultati.

Infatti la loro presenza provocherebbe un aumento della densità dando quindi valori del grado alcolico diminuiti.

DETERMINAZIONE DEL GRADO ALCOLICO

IL METODO PER DISTILLAZIONE

Reattivi

- Sospensione di idrossido di calcio (120 g/l)

Procedimento

Si misurano esattamente 100 ml di vino in un matraccio tarato e si versano in un pallone da 500 ml, lavando il matraccio 2 o 3 volte con poca acqua e riunendo le acque di lavaggio e il vino.

Si procede quindi alla neutralizzazione con 3-4 g circa di latte di calce (sospensione di idrossido di calcio) in modo da fissare gli acidi volatili.

Dopo aver collegato il pallone al refrigerante mediante la bolla paraspruzzi, si distillano circa 75 ml raccogliendoli in un matraccio tarato da 100 ml.

Si porta a volume con acqua distillata e si determina la densità a 20° C (il rapporto cioè fra le masse di eguali volumi di distillato e di acqua distillata, determinate a 20°) della soluzione portata esattamente alla temperatura di 20° C.

Si potrà ricavare il grado alcolico dal valore della densità misurato, come prescrivono i Metodi Ufficiali, facendo ricorso alle tabelle di Reichard.

Tabelle alcolimetriche del Reichard							
Densità miscela alcol-acqua a 20°C	alcol			Densità miscela alcol-acqua a 20°C	alcol		
	g/l	ml/l	Vol. %		g/l	ml/l	Vol. %
1	2	3	4	1	2	3	4
0,9999	0,5	0,6	0,06	0,9949	27,8	35,2	3,52
8	1,1	1,4	0,14	8	28,3	35,9	3,59
7	1,6	2,1	0,21	7	28,9	36,6	3,66
6	2,1	2,6	0,26	6	29,4	37,2	3,72
5	2,7	3,4	0,34	5	30,0	38,0	3,80
4	3,2	4,1	0,41	4	30,6	38,8	3,88
3	3,7	4,7	0,47	3	31,2	39,6	3,96
2	4,3	5,5	0,55	2	31,8	40,3	4,03
1	4,8	6,1	0,61	1	32,4	41,0	4,10
0	5,3	6,7	0,67	0	32,9	41,6	4,16
0,9989	5,8	7,3	0,73	0,9939	33,5	42,4	4,24
8	6,4	8,1	0,81	8	34,1	43,2	4,32
7	6,9	8,7	0,87	7	34,7	44,0	4,40
6	7,4	9,4	0,94	6	35,3	44,7	4,47
5	8,0	10,1	1,01	5	35,9	45,4	4,54
4	8,5	10,7	1,07	4	36,5	46,2	4,62
3	9,0	11,4	1,14	3	37,1	47,0	4,70
2	9,6	12,2	1,22	2	37,6	47,7	4,77
1	10,1	12,8	1,28	1	38,2	48,4	4,84
0	10,6	13,5	1,35	0	38,8	49,1	4,91
0,9979	11,2	14,2	1,42	0,9929	39,4	49,9	4,99
8	11,7	14,8	1,48	8	39,9	50,6	5,06
7	12,3	15,6	1,56	7	40,5	51,3	5,13
6	12,8	16,2	1,62	6	44,1	52,0	5,20
5	13,4	17,0	1,70	5	41,7	52,8	5,28
4	13,9	17,6	1,76	4	42,3	53,6	5,36
3	14,5	18,3	1,83	3	42,9	54,3	5,43
2	15,0	19,0	1,90	2	43,5	55,1	5,51
1	15,5	19,6	1,96	1	44,1	55,8	5,58
0	16,1	20,4	2,04	0	44,7	56,6	5,66
0,9969	16,6	21,1	2,11	0,9919	45,3	57,5	5,75
8	17,2	21,8	2,18	8	45,9	58,1	5,81
7	17,7	22,4	2,24	7	46,5	58,9	5,89
6	18,3	23,2	2,32	6	47,1	59,6	5,96
5	18,8	23,8	2,38	5	47,7	60,4	6,04
4	19,4	24,6	2,46	4	48,3	61,2	6,12
3	19,9	25,2	2,52	3	48,9	61,9	6,19
2	20,5	25,9	2,59	2	49,5	62,7	6,27
1	21,0	26,6	2,66	1	50,1	63,4	6,34
0	21,6	27,4	2,74	0	50,7	64,2	6,42
0,9959	22,1	28,0	2,80	0,9909	51,3	65,0	6,50
8	22,7	28,8	2,88	8	52,0	65,8	6,58
7	23,3	29,5	2,95	7	52,6	66,6	6,66
6	23,8	30,1	3,01	6	53,2	67,4	6,74
5	24,4	30,9	3,09	5	53,8	68,1	6,81
4	24,9	31,5	3,15	4	54,4	68,9	6,89
3	25,5	32,3	3,23	3	55,0	69,7	6,97
2	26,1	33,0	3,30	2	55,6	70,5	7,05
1	26,6	33,7	3,37	1	56,2	71,2	7,12
0	27,2	34,5	3,45	0	56,9	72,0	7,20

Densità miscela alcol-acqua a 20°C	alcol			Densità miscela alcol-acqua a 20°C	alcol		
	g/l	ml/l	Vol. %		g/l	ml/l	Vol. %
1	2	3	4	1	2	3	4
0,9899	57,5	72,8	7,28	0,9849	89,9	113,9	11,39
8	58,1	73,6	7,36	8	90,6	114,8	11,48
7	58,7	74,4	7,44	7	91,2	115,6	11,56
6	59,3	75,2	7,52	6	91,9	116,4	11,64
5	59,9	76,0	7,60	5	92,6	117,3	11,73
4	60,6	76,8	7,68	4	93,3	118,2	11,82
3	61,2	77,6	7,76	3	94,0	119,1	11,91
2	61,8	78,3	7,83	2	94,7	120,0	12,00
1	62,5	79,1	7,91	1	95,4	120,8	12,08
0	63,1	79,9	7,99	0	96,0	121,6	12,16
0,9889	63,7	80,7	8,07	0,9839	96,7	122,5	12,25
8	64,4	81,6	8,16	8	97,4	123,4	12,34
7	65,0	82,1	8,21	7	98,1	124,2	12,42
6	65,6	83,2	8,32	6	98,8	125,1	12,51
5	66,3	84,0	8,40	5	99,5	126,0	12,60
4	66,9	84,8	8,48	4	100,2	126,9	12,69
3	67,5	85,5	8,55	3	100,9	127,8	12,78
2	68,2	86,4	8,64	2	101,6	128,7	12,87
1	68,8	87,1	8,71	1	102,3	129,6	12,96
0	69,4	87,9	8,79	0	103,0	130,5	13,05
0,9879	70,1	88,8	8,88	0,9829	103,6	131,3	13,13
8	70,7	89,6	8,96	8	104,3	132,1	13,21
7	71,4	90,4	9,04	7	105,0	133,0	13,30
6	72,0	91,2	9,12	6	105,7	133,9	13,39
5	72,7	92,1	9,21	5	106,4	134,8	13,48
4	73,3	92,9	9,29	4	107,1	135,6	13,56
3	74,0	93,7	9,37	3	107,8	136,5	13,65
2	74,6	94,5	9,45	2	108,5	137,4	13,74
1	75,3	95,4	9,54	1	109,2	138,3	13,83
0	75,9	96,2	9,62	0	109,9	139,2	13,92
0,9869	76,6	97,0	9,70	0,9819	110,7	140,2	14,02
8	77,2	97,8	9,78	8	111,4	141,1	14,11
7	77,9	98,6	9,86	7	112,1	142,0	14,20
6	78,5	99,4	9,94	6	112,8	142,9	14,29
5	79,1	100,2	10,02	5	113,5	143,8	14,38
4	79,8	101,0	10,10	4	114,2	144,7	14,47
3	80,4	101,8	10,18	3	114,9	145,6	14,56
2	81,1	102,7	10,27	2	115,7	146,5	14,65
1	81,8	103,6	10,36	1	116,4	147,4	14,74
0	82,5	104,4	10,44	0	117,1	148,3	14,83
0,9859	83,1	105,2	10,52	0,9809	117,8	149,2	14,92
8	83,8	106,1	10,61	8	118,5	150,1	15,01
7	84,5	107,0	10,70	7	119,3	151,1	15,11
6	85,1	107,8	10,78	6	120,0	152,0	15,20
5	85,8	108,7	10,87	5	120,7	152,9	15,29
4	86,5	109,6	10,96	4	121,5	153,9	15,39
3	87,2	110,5	11,05	3	122,2	154,8	15,48
2	87,8	111,3	11,13	2	122,9	155,7	15,57
1	88,5	112,1	11,21	1	123,6	156,6	15,56
0	89,2	113,0	11,30	0	124,4	157,5	15,75

Nel **metodo della doppia distillazione** i 75 ml di distillato sono introdotti in un altro palloncino da distillazione al quale si aggiunge l'acqua distillata usata per sciacquare il recipiente. Dopo aver basificato con 2 ml di NaOH 1N, si distilla nuovamente raccogliendo in un palloncino tarato da 100 ml 75 ml di distillato. Si porta a volume con acqua curando che la temperatura sia di 20°, quindi si determina la densità a 20°. Con la tabella si risale al grado alcolico.

IL METODO EBULLIOSCOPICO

si basa sulla variazione del punto di ebollizione di una soluzione idroalcolica in funzione del suo contenuto in etanolo. Esso è infatti tanto più basso, quanto più elevato è il contenuto alcolico. In pratica si usa l'apparecchio di Malligand che consta di una piccola caldaia metallica conica nella quale viene posto il liquido da saggiare che viene scaldato a mezzo di una circolazione a termosifone ottenuta con un anello metallico cavo riscaldato da un fornellino ad alcool. Sopra la caldaia, a mo' di chiusura, si trova un coperchio a vite sul quale è innestato un refrigerante e un termometro, piegato ad angolo retto, il cui bulbo pesca nella caldaia. Sul braccio orizzontale del termometro (non graduato) può scorrere un regolo graduato, fissabile con una vite, che porta la gradazione da 0 a 25.

Il metodo ebullioscopico non è molto preciso e non riveste carattere ufficiale, essendo fonte di contestazioni anche in campo strettamente commerciale. Tuttavia può servire come prova preliminare, essendo alquanto rapido, a titolo orientativo.

Procedimento

Per fissare lo zero, si introduce acqua nella caldaia fino al livello inferiore (segnato da un piccolo rilievo) in modo che il bulbo del termometro non sia bagnato ma venga poi lambito dai vapori.

Dopo aver avvitato coperchio e refrigerante (avendo cura di non esercitare pressione sul braccio orizzontale, pena la rottura del termometro) si scalda all'ebollizione mediante lampada ad alcool. Quando l'avanzamento della colonnina del mercurio si arresta, si fa coincidere lo zero della scala con il limite raggiunto dal mercurio e si fissa la scala mediante l'apposita vite. Lo zero, così determinato, dipendendo dalla pressione atmosferica, va determinato di volta in volta.

Fissato lo zero si svita il coperchio (attenzione alla rottura!), si toglie l'acqua, si sciacqua la caldaia con il vino, si introduce quindi questo fino al livello superiore (seconda scanalatura interna) usando una pipetta. Riavvitato il coperchio, si introduce acqua fredda nel refrigerante e si scalda all'ebollizione.

Quando la colonnina di mercurio cessa di avanzare si legge sulla scala direttamente il grado alcolico del vino.

Per i vini ad alta gradazione o dolci è opportuno diluire il campione con uguale volume di acqua, tenendo conto di ciò nella lettura del grado alcolico.

DETERMINAZIONE DELL'ESTRATTO SECCO

L'estratto secco di un vino è dato dal peso in grammi del residuo ottenuto per evaporazione delle sostanze volatili di un litro di vino. **Tale residuo è costituito dalle componenti non volatili:** zuccheri, glicerina, sostanze minerali, tartrato acido di potassio, sostanze azotate, tannini, coloranti, ecc..

Nel vino sono presenti come zuccheri principali glucosio e fruttosio. Nel succo d'uva matura glucosio e fruttosio oscillano complessivamente tra il 15 e il 25% con un rapporto **G/F = 0,95**. Durante la fermentazione questo rapporto si abbassa perchè i lieviti generalmente fermentano più attivamente il glucosio che il fruttosio. Per es. nei vini secchi con un valore zuccherino di circa 2 g/litro si arriva a 0,2-0,1.

Il valore del rapporto G/F è importante per svelare l'eventuale aggiunta fraudolenta di glucosio. Gli zuccheri hanno influenza sul gusto del vino e, in particolare, il sapore dolce dipende molto dal rapporto G/F.

I vini bianchi, sulla base del contenuto in zucchero, sono distinti in vini secchi, amabili, semiseccchi e dolci. Il saccarosio eventualmente presente nell'uva é idrolizzato durante la fermentazione e non esiste nei vini a meno che sia stato aggiunto fraudolentemente. Il galattosio può essere presente in maggior quantità nel vino che nel mosto perché deriva dalle pectine.

I pentosi (soprattutto l'arabinosio) sono compresi tra gli 0,3 e i 2 g/l e non sono fermentati dai lieviti. Nel vino si trovano anche piccole quantità di pentosani. Secondo il D.M. del 2.7.84, il contenuto massimo di sorbitolo nei vini destinati al consumo diretto é di 70 mg/litro.

Sul risultato della determinazione dell'estratto secco fatta direttamente sul vino influiscono molti fattori (dimensioni della capsula, volume del vino, sistema di evaporazione, durata del riscaldamento, ecc.) per cui, ovviamente, la determinazione deve essere fatta in condizioni standardizzate. Anche in questo caso però il metodo diretto di determinazione non viene in pratica impiegato e si preferisce ricorrere al più comodo e preciso metodo indiretto.

Va però subito precisato che la determinazione dell'**estratto secco totale** ha significato solo per i vini secchi. Per gli altri vini si usa invece il valore dell'**estratto netto**, cioè dell'**estratto secco dedotti gli zuccheri**. Anche questo dato é espresso in g/l ed ha significato analitico notevole in quanto per i vini da taglio é in genere superiore a 28-30 g/l, mentre per quelli neri da pasto oscilla tra 17 e 28 g/l. In base al D.M. del 2.7.1984 l'estratto secco, detratti gli zuccheri, deve essere non inferiore a 14 g/l per i vini bianchi, a 15 g/l per i rosati e a 18 g/l per i rossi. Per i vini bianchi del vitigno di Pinot dell'Oltrepò pavese il limite é di 13 g/l.

Dunque la determinazione dell'estratto netto presuppone quella degli zuccheri, e, se non si é partiti da un vino secco, si otterrà per l'estratto totale dei vini dolci valori molto alti, non significativi dal punto di vista analitico.

I valori dell'estratto secco e dell'estratto netto potrebbero essere fraudolentemente alterati per aggiunta di componenti non volatili ed hanno, comunque, significato nel quadro generale dell'insieme dei dati analitici disponibili.

Un valore basso dell'estratto secco può far sospettare l'annacquamento del vino che però deve essere confermato da altri dati analitici. L'estratto secco dei vini provenienti da uve colpite da particolari malattie é talvolta molto elevato. E' bene ricordare anche che, durante la conservazione del vino in fusti, possono avvenire complesse variazioni nella composizione (perdita di etanolo e acqua, precipitazione di sali e sostanze fenoliche, proteiche e polisaccaridiche, diminuzione degli zuccheri e di certi acidi, ecc.) per cui il valore dell'estratto secco può subire variazioni a seconda delle condizioni di conservazione. In bottiglia le modificazioni sono in genere di minore entità.

Per quanto riguarda le ceneri, i limiti fissati dal D.M. del 2.7.84 sono: non meno di 1 g/l per i vini bianchi, di 1,2 g/l per quelli rosati e di 1,5 g/l per quelli rossi. I vini destinati al consumo diretto non devono contenere più di: 5 mg di zinco per litro; 1 mg di rame/litro, 0,3 mg di piombo/l; 1 mg di bromo inorganico/l; 60 mg di acido borico/l.

Come abbiamo già detto, tra le determinazioni ritenute significative al fine della valutazione della genuinità del vino, vi sono quelle del potassio e del magnesio. Il contenuto in potassio decade durante i processi di vinificazione, tuttavia non scende mai al disotto di determinati valori. Perciò, mentre una concentrazione normale in potassio é poco significativa data la facilità con cui può essere corretta artificialmente, una concentrazione troppo bassa può essere interpretata come indice di non genuinità del vino. Come limite inferiore accettabile per i vini genuini é stato proposto un contenuto in potassio di 300 mg/litro.

Il contenuto in magnesio non subisce modificazioni significative durante i processi di vinificazione. I valori medi riscontrati nei vini corrispondono a 100 mg/litro. Come contenuto accettabile é stata indicata una concentrazione di 80 mg/litro.

DETERMINAZIONE DELL' ESTRATTO SECCO CON IL METODO INDIRETTO

Procedimento

Sia il densità del vino, determinata a 20° C, D_v . Sia invece quello del distillato alcolico, sempre determinato a 20°, D_a . La densità del vino privato dell'alcol é dato dalla formula (di Tabarié):

$$D_e = 1 + D_v - D_a$$

Dal valore di D_e , mediante l'impiego delle tabelle di Reichard, si può calcolare il valore dell'estratto totale (vedere tabelle per il calcolo dell'estratto secco nei vini).

Per calcolare l'estratto secco dedotti gli zuccheri, si sottrae al valore dell'estratto secco totale quello degli zuccheri espressi in g/l, diminuito di 1 se è superiore a 1 g/l.

Tabelle del Reichard per il calcolo dell'estratto secco dei vini (01)					
Densità del vino privato dell'alcol	estratto		Densità del vino privato dell'alcol	estratto	
	g/l	Peso % = g/100g		g/l	Peso % = g/100g
1,0000	0,0	0,00	1,0050	12,9	1,29
1	0,3	0,03	1	13,2	1,32
2	0,5	0,05	2	13,4	1,34
3	0,8	0,08	3	13,7	1,37
4	1,0	0,10	4	13,9	1,39
5	1,3	0,13	5	14,2	1,42
6	1,6	0,16	6	14,5	1,45
7	1,8	0,18	7	14,7	1,47
8	2,1	0,21	8	15,0	1,50
9	2,3	0,23	9	15,2	1,52
1,0010	2,6	0,26	1,0060	15,5	1,55
1	2,9	0,29	1	15,8	1,58
2	3,1	0,31	2	16,0	1,60
3	3,4	0,34	3	16,3	1,63
4	3,6	0,36	4	16,5	1,65
5	3,9	0,39	5	16,8	1,68
6	4,2	0,42	6	17,1	1,71
7	4,4	0,44	7	17,3	1,73
8	4,7	0,47	8	17,6	1,76
9	4,9	0,49	9	17,8	1,78
1,0020	5,1	0,51	1,0070	18,0	1,80
1	5,4	0,54	1	18,3	1,83
2	5,6	0,56	2	18,5	1,85
3	5,9	0,59	3	18,8	1,88
4	6,1	0,61	4	19,0	1,90
5	6,4	0,64	5	19,3	1,93
6	6,7	0,67	6	19,6	1,96
7	6,9	0,69	7	19,8	1,98
8	7,2	0,72	8	20,1	2,01
9	7,4	0,74	9	20,3	2,03
1,0030	7,7	0,77	1,0080	20,6	2,06
1	8,0	0,80	8	20,9	2,09
2	8,2	0,82	7	21,1	2,11
3	8,5	0,85	6	21,4	2,14
4	8,7	0,87	5	21,6	2,16
5	9,0	0,90	4	21,9	2,19
6	9,3	0,93	3	22,2	2,22
7	9,5	0,95	2	22,4	2,24
8	9,8	0,98	1	22,7	2,27
9	10,0	1,00	0	22,9	2,29
1,0040	10,3	1,03	1,0090	23,2	2,32
1	10,6	1,06	1	23,5	2,35
2	10,8	1,08	2	23,7	2,37
3	11,1	1,11	3	24,0	2,40
4	11,3	1,13	4	24,2	2,42
5	11,6	1,16	5	24,5	2,45
6	11,9	1,19	6	24,8	2,48
7	12,1	1,21	7	25,0	2,50
8	12,4	1,24	8	25,3	2,53
9	12,6	1,26	9	25,5	2,55

Tabelle del Reichard per il calcolo dell'estratto secco dei vini (02)

Densità del vino privato dell'alcol	estratto		Densità del vino privato dell'alcol	estratto	
	g/l	Peso % = g/100g		g/l	Peso % = g/100g
1,0100	25,8	2,58	1,0150	38,8	3,88
1	26,1	2,61	1	39,1	3,91
2	26,3	2,63	2	39,3	3,93
3	26,6	2,66	3	39,6	3,96
4	26,8	2,68	4	39,8	3,98
5	27,1	2,71	5	40,1	4,01
6	27,4	2,74	6	40,4	4,04
7	27,6	2,76	7	40,6	4,06
8	27,9	2,79	8	40,9	4,09
9	28,1	2,81	9	41,1	4,11
1,0110	28,4	2,84	1,0160	41,3	4,13
1	28,7	2,87	1	41,6	4,16
2	28,9	2,89	2	41,8	4,18
3	29,2	2,92	3	42,1	4,21
4	29,4	2,94	4	41,3	4,13
5	29,7	2,97	5	41,6	4,16
6	30,0	3,00	6	41,9	4,19
7	30,2	3,02	7	43,1	4,31
8	30,5	3,05	8	43,4	4,34
9	30,7	3,07	9	43,6	4,36
1,0120	31,0	3,10	1,0170	43,9	4,39
1	31,3	3,13	1	44,2	4,42
2	31,5	3,15	2	44,4	4,44
3	31,8	3,18	3	44,7	4,47
4	32,0	3,20	4	44,9	4,49
5	32,3	3,23	5	45,2	4,52
6	32,6	3,26	6	45,5	4,55
7	32,8	3,28	7	45,7	4,57
8	33,1	3,31	8	46,0	4,60
9	33,3	3,33	9	46,2	4,62
1,0130	33,6	3,36	1,0180	46,5	4,65
1	33,8	3,38	8	46,8	4,68
2	34,1	3,41	7	47,0	4,70
3	34,4	3,44	6	47,3	4,73
4	34,6	3,46	5	47,5	4,75
5	34,9	3,49	4	47,8	4,78
6	35,2	3,52	3	48,1	4,81
7	35,4	3,54	2	48,3	4,83
8	35,7	3,57	1	48,6	4,86
9	35,9	3,59	0	48,8	4,88
1,0140	36,2	3,62	1,0190	49,1	4,91
1	36,5	3,65	1	49,4	4,94
2	36,7	3,67	2	49,6	4,96
3	37,0	3,70	3	49,9	4,99
4	37,2	3,72	4	50,1	5,01
5	37,5	3,75	5	50,4	5,04
6	37,8	3,78	6	50,7	5,07
7	38,0	3,80	7	50,9	5,09
8	38,3	3,83	8	51,2	5,12
9	38,5	3,85	9	51,4	5,14

DISTRIBUZIONE DEGLI ACIDI ORGANICI

Gli acidi organici, oltre a conferire ai vini le loro proprietà acide, compreso il gusto acido, sono costituenti determinanti per la qualità o eventuale difettosità. Gli acidi organici del vino possono essere fissi o volatili.

Tra gli acidi fissi, il tartarico, il malico e il citrico provengono dall'uva. Gli acidi succinico e lattico sono prodotti in sede di fermentazione. Gli acidi gluconico e glucuronico si trovano nei vini di uve colpite da *Botrytis* e da *Eudemis*.

Gli acidi glicolico, gliossilico, mesossalico, glicerico e saccarico possono eventualmente essere presenti in piccolissime quantità.

Fra gli acidi volatili (formico, acetico, propionico e butirrico) il solo acetico è sempre presente nei vini. Gli acidi benzoico e salicilico sono vietati come antisettici (come conservativo è ammesso l'uso dell'acido sorbico e del suo sale potassico, E 200 e E 202 rispettivamente). L'acido ossalico è vietato nel trattamento della casse ferrica.

Ciascun acido può essere dosato singolarmente ed accanto ai tradizionali metodi chimici e cromatografici, oggi hanno assunto notevole importanza quelli enzimatici. Le concentrazioni sono espresse in g/l o in milliequivalenti/litro.

L'**acido tartarico** è l'acido più specifico ed importante dell'uva e del vino. Esso influenza notevolmente il pH e dei tre acidi fissi dell'uva (tartarico appunto, malico e citrico) è il più resistente all'azione dei batteri. Può però precipitare come bitartrato potassico e nel vino vi è un rapporto di equilibrio tra acido libero e cremortartaro, o più esattamente ione bitartrato. Nella malattia del girato l'acido tartarico è decomposto con formazione di acido lattico. La sua concentrazione nel vino dipende molto dall'annata: per esempio è minore in periodi di siccità; maggiore con il tempo piovoso. I grandi vini, rossi e bianchi, ne sono in genere poveri.

L'**acido malico** ha notevole interesse enologico. Con la maturazione dell'uva diminuisce e ad esso sono dovuti la crudezza dei vini nelle estati fredde e il carattere acerbo del vino giovane. Per fermentazione alcolica e malolattica diminuisce progressivamente, riducendosi a volte a zero o quasi nei vini non solfitati. In seguito alla fermentazione malolattica si formano acido lattico e anidride carbonica con diminuzione dell'acidità del vino (aumento del pH).

Il contenuto nel vino di **acido citrico** è molto variabile. Nei vini rossi è molto inferiore rispetto ai bianchi perché nei primi i batteri lo consumano molto facilmente per dare acidi volatili. Data la sua proprietà di complessare il ferro, è usato nel trattamento della casse ferrica. La sua determinazione è importante anche perché alcuni paesi non permettono l'importazione di vini addizionati di acido citrico.

L'**acido lattico** si forma nel vino in seguito a fermentazione come la malolattica (ma anche nel corso di quella alcolica) e a varie malattie batteriche.

L'**acido succinico** è prodotto per fermentazione alcolica degli zuccheri in quantità variabili a seconda delle condizioni. È tra gli acidi del vino quello che presenta sapore più marcato (salato e amaro) ed è stabile alle fermentazioni batteriche.

L'**acido gluconico** deriva dal glucosio per ossidazione della funzione aldeidica dovuta alla glucoossidasi delle muffe. Si trova soprattutto nei vini dolci provenienti da uve affette da marciume nobile e non è fermentescibile.

L'**acido glucuronico** si trova nei vini provenienti da uve muffite o colpite da *Eudemis*. Non è fermentescibile ad opera dei lieviti per cui permane nei vini ai quali, come l'acido gluconico, conferisce potere rotatorio destrogiro.

L'**anidride carbonica** non è ovviamente un acido organico e la sua acidità non va computata in quella del vino. Essa proviene dalle fermentazioni (principalmente quella alcolica, ma anche dalla malolattica per es.) e il suo tenore che all'origine può arrivare ai 2 g/l scende progressivamente. Nell'imbottigliamento svolge, anche in quantità così piccole da essere praticamente impercettibili alla degustazione, funzioni importanti: protegge il vino dalla penetrazione dell'ossigeno, gli conferisce una nota di freschezza e morbidezza. Soprattutto nei vini bianchi si cerca perciò di mantenere un po' di CO₂.

DETERMINAZIONE DELL' ACIDITA'

L'acidità di un vino è dovuta, come si è detto, agli acidi organici presenti alcuni dei quali sono fissi, cioè non distillano con il vapore (tartarico, malico, lattico, succinico), mentre altri sono volatili e quindi distillano per riscaldamento in soluzione acquosa (acetico).

Per il vino si distingue dunque una **acidità totale**, data dalla somma degli acidi volatili e non volatili con il vapore e una **acidità volatile**, data dai soli acidi volatili (sostanzialmente l'acetico, con tracce di formico, propionico, butirrico). Si intende per **acidità fissa** quella dovuta agli acidi non volatili.

ACIDITA' TOTALE

L'**acidità totale** si può determinare con il metodo "alla tocca" titolando il vino con una soluzione di KOH N/4 ed esprimendo il risultato in acido tartarico, riferito ad 1 litro.

Per seguire la titolazione si possono usare come indicatore o una soluzione di rosso fenolo o le cartine al blu di bromotimolo, cioè degli indicatori di viraggio esterni.

Molto più precisa è però la titolazione al piaccametro che consente di determinare nel contempo il **valore del pH iniziale** del vino. Quest'ultimo dipende dalla natura degli acidi liberi presenti, dalla loro concentrazione e dalla loro salificazione con le basi.

A temperatura ambiente esso è comunque di solito compreso tra 2,8 e 3,6, essendo elemento variabile anche durante la vinificazione e la conservazione. Questo valore ha grande importanza in enologia. Il tono e la vivacità del colore dei vini rossi dipende dal loro pH. Le trasformazioni che i microrganismi provocano nel vino dipendono dal pH. Per esempio solo a pH almeno uguale a 3,5, l'acido tartarico può essere decomposto (girato). La fermentazione malolattica è tanto più facile quanto più elevato è il pH. Vari intorbidamenti dovuti alla casse ferrica e rameosa dipendono dal pH. Il bitartrato di potassio precipita più facilmente per pH vicino a 3,6.

Un abbassamento del pH al di sotto del valore minimo potrebbe inoltre essere indice di aggiunta di acidi minerali.

Determinando l'acidità al piaccametro si dovrebbe più esattamente parlare di acidità di titolazione. Poiché l'acidità del vino è dovuta alla presenza di acidi deboli, la fine della titolazione non corrisponde esattamente al raggiungimento del pH 7 per aggiunta di alcali. Infatti la neutralizzazione è completa a pH 8,5 circa e naturalmente i valori di "acidità titolabile" dipendono dalla scelta del punto finale di titolazione. Però per convenzione si intende per **acidità totale** il numero di milliequivalenti di alcali per litro che corrispondono alla neutralizzazione fino a pH 7. Ne deriva che il termine di "acidità totale" è in realtà piuttosto impreciso.

Con l'uso di un piaccametro e di un elettrodo a vetro immerso nel vino liberato dalla anidride carbonica, si segue la variazione del pH in funzione dell'aggiunta di soluzioni di alcali (KOH N/4 oppure KOH o NaOH 0,1 N) arrestando l'aggiunta a pH 7. Risultati analiticamente più esatti si ottengono però titolando fino a pH 8,5.

Poiché l'acidità del vino è dovuta a funzioni acide deboli, la curva di neutralizzazione si innalza senza alcun gradino, prima lentamente e poi più rapidamente da pH 5. Non si hanno comunque brusche variazioni di pH.

E' anche da ricordare che il pH del vino alla neutralità non è stabile nel tempo in quanto intervengono reazioni che liberano piccole quantità di acido per cui la titolazione deve essere fatta rapidamente.

Il valore dell'acidità di titolazione diviene comunque significativo se interpretato nel complesso dei valori ottenuti da una serie di altre determinazioni. Per esempio, per aggiunta di acido tartarico o citrico si può riportare a valori normali l'acidità titolabile bassa oppure con l'impiego di neutralizzanti si può ottenere l'effetto opposto.

In generale si può dire che valori molto bassi sono indice di scarsa stabilità del vino. Con l'invecchiamento in genere l'acidità totale diminuisce per precipitazione del tartrato acido e per fermentazione malolattica (all'acido malico che è un biacido si sostituisce infatti l'acido lattico che è un monoacido). Bisogna però tener presente che contemporaneamente l'acido citrico può essere fermentato ad acetico.

DETERMINAZIONE DELL' ACIDITA' TOTALE

Reattivi

- Soluzione di idrossido di potassio N/ 4

Procedimento

Il vino deve essere mantenuto in agitazione a freddo per circa 1' in una bevuta da vuoto collegata con una pompa ad acqua al fine di privarlo dell'anidride carbonica. Fatto ciò, un adatto volume di vino é posto in un. becher e in esso viene immerso l'elettrodo del piaccametro. Si pone quindi il becher su piastra con agitatore magnetico e si procede alla titolazione impiegando la soluzione di KOH N/4. Si nota il volume impiegato per raggiungere la neutralità (pH = 7).

Poiché

$$1 \text{ ml} \cdot N/4 = \frac{x}{150/2}$$

dove $150/2 = p.$ eq. acido tartarico, da cui $x = 18,75$ mg avendo usato per esempio 25 ml di vino, moltiplicando i ml di potassa usati per 0,01875 per 40 (in pratica i ml x 0,75) avremo l'acidità totale espressa in g/l di acido tartarico. Normalmente tale valore è compreso tra 4 e 12. Se sono sopravvenute alterazioni che hanno aumentato l'acidità volatile, anche quella totale risulterà ovviamente aumentata.

L'acidità titolabile può anche essere espressa in meq di base per litro. Normalmente allora il suo valore é compreso tra 53 e 160 meq/l.

ACIDITA' VOLATILE

Nell'acidità volatile del vino sono comprese tutte le sostanze acide distillabili in corrente di vapore senza decomposizione, fatta eccezione per l'anidride carbonica (che deve essere perciò allontanata prima della determinazione) e dell'anidride solforosa libera e in combinazioni volatili, per es. come acido etanolsolfonico (che deve quindi essere determinata iodometricamente e detratta, se presente). In pratica la correzione per la SO_2 andrebbe sempre fatta perché tutti i vini ne contengono una certa quantità.

Per quanto riguarda i costituenti acidi volatili del vino, l'acido formico é presente in piccole quantità già nel succo d'uva, mentre durante la fermentazione si forma sempre un po' di acido acetico e l'acidità volatile può aumentare anche in seguito alla fermentazione malolattica. L'acido butirrico può essere presente solo in tracce.

Una acidità volatile di 0,65 g/l (espressa come acido acetico) é da considerarsi normale. Valori superiori a 0,75 g/l circa possono indicare la presenza di microrganismi vari, tra cui quelli acetici.

L'acidità volatile é un indice di notevole significato ai fini commerciali e legali. Per legge i vini con gradazione alcolica non superiore a 10° devono avere un'acidità volatile (g di acido acetico/l) non superiore ad 1. Per i vini con gradazione superiore a 10°, il limite é 1/10 della gradazione stessa.

Valori superiori sono indice di malattia del vino.

Per determinare l'acidità volatile, il principio dei vari metodi seguiti é quello della distillazione del vino in corrente di vapore e della titolazione dell'acidità sul distillato.

DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA' VOLATILE

Reattivi

- Soluzione alcolica di fenolftaleina all'1%
- Soluzione di idrossido di potassio 0,1 N

Procedimento

Nel pallone dell'apparecchio di distillazione si versano 50 ml di vino (preventivamente privati dell'anidride carbonica per agitazione di circa 5' a freddo in bevuta sotto vuoto), si diluiscono con un eguale volume di acqua e, montato l'apparecchio, si distilla il vino senza far passare il vapore fino a raccogliere circa 25 ml. Si collega quindi l'apparecchiatura al generatore di vapore e si continua a distillare fino a raccogliere circa 200 ml di distillato, curando che nel pallone il livello del vino rimanga sensibilmente costante (ciò si ottiene scaldando opportunamente a piccola fiamma il pallone di distillazione). Il distillato viene quindi titolato con KOH 0,1 N, indicatore fenolftaleina, fino a colorazione rosea. Per il calcolo occorre ricordare che 1 ml di KOH 0,1 N corrisponde a 6 mg di acido acetico (p. eq. = 60), per cui moltiplicando i ml di alcali impiegati nella titolazione per 0,006 si avrà l'acido acetico presente nel distillato proveniente dai 50 ml di vino usati. Per avere l'acidità volatile (g/l) in pratica basterà moltiplicare i ml di KOH 0,1 N impiegati per 0,12 (0,006 x 20).

Dal valore trovato si deve poi detrarre quello corrispondente alla SO₂. (Tale correzione non sarà fatta dallo studente per mancanza di tempo).

ACIDITA' FISSA

L'acidità fissa viene calcolata per differenza tra quella totale e quella volatile. Poiché essa viene espressa in grammi di acido tartarico per litro di vino, occorrerà trasformare l'acidità volatile espressa in acido acetico in acidità espressa in acido tartarico, il che si ottiene moltiplicando la prima per 1,25 (l'acido tartarico é un biacido con p.m. 150, mentre l'acido acetico é un monoacido con p.m. 60).

LE SOSTANZE AZOTATE DEL VINO

Le sostanze azotate hanno, in particolare per i grandi vini rossi, un posto importante nell'estratto. Il tenore medio di azoto totale, maggiore nei vini rossi rispetto a quelli bianchi, dipende dal diverso tipo di vinificazione, in rosso o in bianco.

Nel primo caso le condizioni sono favorevoli alla solubilizzazione delle sostanze azotate sia del mosto che dei lieviti, nel secondo no. Per la determinazione dell'azoto totale si può usare il metodo di Kjeldahl opportunamente adattato (coefficiente 6,25). Fra le qualità dei vini e il tenore in azoto totale vi é una certa relazione. Il contenuto in azoto totale decade durante i trattamenti enologici, tuttavia nei vini genuini non scende mai al di sotto di 100 mg/litro. Pertanto tale parametro é stato introdotto nell'analisi dei vini proponendo come limite minimo accettabile in azoto totale un contenuto di 100 mg/litro.

Nei vini possono sussistere fino ad alcuni g/l di sostanze azotate sotto le seguenti forme:

1) **Proteine** (sostanze albuminoidi) presenti nei vini giovani fino al 3% dell'azoto totale, assenti in genere nei vini invecchiati. Le proteine del vino sono originarie dell'uva essendovi sintetizzate durante la maturazione, periodo in cui aumentano gli aminoacidi e i peptoni e diminuisce il catione ammonio.

2) **Peptoni e albumose** presenti nei succhi d'uva e nei vini giovani, assenti nei vini rossi e nei vini bianchi vecchi.

3) **Peptidi** di peso molecolare inferiore a quello dei precedenti composti (di- e tri-peptidi); rappresentano il 60-90% dell'azoto organico del vino.

4) Lo **ione ammonio** può trovarsi nel mosto e nel vino ma durante la fermentazione scompare quasi del tutto, mentre l'azoto totale diminuisce.

5) Gli **aminoacidi** rappresentano il 10-25% dell'azoto organico nei vini bianchi (da 0,7 a 4,8 milliequivalenti) e dal 20 al 40% in quelli rossi (da 2,9 a 9,4 meq). Durante la fermentazione gli aminoacidi del mosto si trasformano in parte nei corrispondenti alcoli (per esempio dalla valina e dalle leucine si formano gli alcoli isobutilici e amilici) per decarbossilazione e desaminazione.

Tuttavia, nel contempo, la fermentazione genera piccole quantità di nuovi aminoacidi, come cistina e tirosina, assenti nel mosto.

Nel mosto gli aminoacidi più abbondanti sono: arginina, prolina, treonina e acido glutammico. In totale, sempre nel mosto, gli aminoacidi assommano in genere a 1,2 g/l. Nel vino la loro concentrazione è generalmente minore (0,8 g/l). Tra gli aminoacidi che diminuiscono maggiormente vi è l'arginina. Sia l'uva che il mosto non sono provvisti di aminoacidi solforati, indispensabili per i lieviti, però questi li sintetizzano partendo da composti solforati disponibili nel mosto, quali i solfati e l'anidride solforosa.

Alcuni aminoacidi si trovano in tutti i vini (come prolina, alanina, acido glutammico e aspartico), altri solo in taluni. Glicina, lisina e cistina non variano in pratica nel corso della fermentazione, mentre gli altri subirebbero riduzioni anche del 75-90%. Ad aumentare durante la fermentazione sarebbero invece arginina, istidina, tirosina e prolina.

Per la caratterizzazione e valutazione individuale degli aminoacidi si può ricorrere ad alcune reazioni colorate, eventualmente abbinate a metodi cromatografici su colonna, su carta e su strato sottile. Si può anche far ricorso a metodi microbiologici.

L'aminoacido più rappresentato nell'uva e nei vini è la **prolina**, la cui determinazione serve come indice di genuinità.

Infatti, nel quadro aminoacidico dei vini, la prolina è l'aminoacido che si riscontra sempre in misura preponderante rispetto agli altri. Il suo contenuto varia entro ampi limiti con la varietà dei vitigni, con le zone di produzione, con l'annata.

Tuttavia, tranne casi isolati particolari (alcuni vini della Sardegna), la quantità di prolina non è mai risultata inferiore a 300 mg/litro, mentre i valori medi riscontrati oscillano tra i 500 e i 1.000 mg/litro con punte massime di 2.500 ed oltre mg/litro.

Si è pertanto convenuto che un contenuto in prolina inferiore a 100 mg/l sia assunto come indice discriminatorio per il giudizio di non genuinità del vino mentre come valore minimo, da valutare nel quadro di tutta la composizione del vino, è stato proposto un contenuto in prolina non inferiore a 300 mg/litro.

DETERMINAZIONE DELLA PROLINA

Reattivi

- Solfato di ninidrina in metilcellosolve (monometiletero del glicole etilenico) al 3%
- Isopropanolo diluito 1:1 con acqua
- Acido formico
- Soluzione madre di prolina (100 mg/l)

Procedimento

I campioni di aminoacidi, succhi o vini vanno diluiti in modo da contenere tra 0,005 e 0,5 micromoli di prolina per ml.

A 1 ml di questa soluzione diluita di aminoacidi, succhi o vini, si aggiungono 0,50 ml di acido formico e 2 ml di soluzione di ninidrina. Si mescola il tutto in una provetta a tappo a smeriglio (15 mm x 30 mm). Le provette chiuse sono poste in bagno di acqua bollente per 15', quindi raffreddate a 21°. Mentre si raffredda, si aggiungono 10 ml di isopropanolo diluito.

La lettura a 517 nm viene effettuata almeno 5' dopo che il campione è stato raffreddato ma prima di 30' dalla rimozione del bagno bollente.

Poiché la colorazione subisce una leggera variazione con il tempo, la lettura spettrofotometrica va eseguita sempre dopo il medesimo tempo dalla rimozione dal bagno bollente.

La soluzione madre di prolina deve contenere 100 mg/l. La scala deve coprire un intervallo da 5 a 60 mcg/ml. Il bianco è costituito da tutti i reattivi usando acqua al posto della soluzione campione.

È necessario ricordare che, prima di preparare la soluzione di ninidrina, occorre controllare che il solvente (M.C.S.) sia esente da perossidi, mescolandone una aliquota con un uguale volume di ioduro potassico al 4%.

La presenza di perossidi è rivelata dalla comparsa eventuale di una colorazione gialla. Per eliminarli occorre effettuare una distillazione in presenza di solfato ferroso (10 ml di soluzione al 50% di sale eptaidrato in acido solforico 2N per litro di M.C.S.). Per i vini rossi può essere utile, anche se non indispensabile, la decolorazione con carbone.

I COLORANTI DEL VINO

I coloranti delle uve rosse sono le **enocianine** (antociani o antocianosidi), glucosidi la cui frazione agliconica è rappresentata dalle antocianidine, derivati (sali) di flavilio o benzopirillio. Gli antociani sono localizzati nella buccia, mentre la polpa è incolore (tanto è vero che è possibile ottenere vini bianchi dalle uve rosse). Solo qualche rara varietà di uva ha la polpa colorata. Nell'uva sono presenti 5 tipi di antocianidine o enocianine: delfinidina, petunidina, malvidina, cianidina e peonidina. Nella *Vitis vinifera* gli antociani sono soltanto monoglucosidi, mentre in altre specie di *Vitis* (es. *V. riparia e rupestris*) prevalgono i diglucosidi che si trovano prevalentemente anche negli ibridi. Essendo infatti il carattere "diglucoside" dominante l'incrocio di *V. riparia o rupestris* con *V. vinifera* dà un ibrido con tale carattere. Il carattere "monoglucoside" potrà ricomparire con un nuovo incrocio dell'ibrido con *V. vinifera*.

La differenziazione tra mono- e diglucosidi si può effettuare per cromatografia su carta o su strato sottile. Se l'analisi cromatografica ha rivelato la presenza di diglucosidi, siamo certamente di fronte ad un ibrido. Se i diglucosidi sono assenti vi, sono grandi probabilità di essere di fronte ad un vino di *V. vinifera*, però la cromatografia da sola non permette di affermarlo con certezza.

In alcuni antociani della *Vitis vinifera* un ossidrilico dello zucchero è esterificato con un acido organico (cinnamico, p-cumarico o p-ossicinnamico). Sulla base della composizione antocianica è possibile raggruppare le cultivar in famiglie simili, il che può essere utile per distinguere i vini d'origine.

Le antocianidine hanno la caratteristica di virare di colore con il variare del pH: rosso-violaceo in ambiente acido, in cui sono anche stabili) in prossimità del punto di neutralità virano a blu-verdastro. Ciò è dovuto al passaggio dalla forma di sali di ossonio (rossa in ambiente acido) ad una forma chinoide in ambiente neutro poi ad una struttura di fenato (blu) in ambiente alcalino. Il legame glucosidico degli antociani è molto stabile e non si idrolizza nel tempo al pH del vino.

Le enocianine costituiscono coloranti naturali ammessi all'uso alimentare, facilmente reperibili in commercio, e sono gli unici coloranti ammessi per il vino. Perciò la determinazione dei coloranti di natura acida estranei al vino con il metodo di Arata non ha più molto valore, essendo assurdo colorare il vino con coloranti estranei dal momento che sono a disposizione quelli naturali. Il metodo si presta invece ancora bene in altri settori, come per es. quello delle aranciate o di altre bevande.

Il **metodo di Arata** consiste nel concentrare per ebollizione 100 ml di vino fino a ridurre il volume ad 1/3, acidificare con acido cloridrico, aggiungere alcuni fili di lana sgrassata e far bollire per alcuni minuti. La lana viene lavata prima con acqua fredda, poi posta in acqua acidificata con HCl che si porta ad ebollizione, ripetendo l'operazione fino ad ottenere acqua incolore. A questo punto la lana viene posta in acqua addizionata di ammoniaca che si porta all'ebollizione. La soluzione decantata viene acidificata con HCl, vi si introduce un filo di lana e si fa bollire nuovamente. In caso di coloranti artificiali di natura acida il filo di lana, dopo lavaggio, si colora di rosso.

Gli antociani rientrano nel più vasto gruppo delle sostanze di natura polifenolica. Anche il **contenuto in polifenoli** è un indice utile nella valutazione della composizione dei vini. Infatti sono stati proposti i seguenti contenuti minimi espressi in acido gallico: vini bianchi 200 mg/litro; vini rosati 300 mg/ litro; vini rossi 400 mg/litro. E' stata anche sottolineata la necessità di considerare eventuali contenuti, troppo elevati rispetto ai valori medi, come derivanti dall'impiego di fecce.

Alla presenza di polifenoli (antociani) nel vino sono legati alcuni parametri che rivestono interesse analitico. Per esempio il **rapporto A/E** (alcol/estratto) è dato dal valore dell'alcol complessivo espresso in peso per litro diviso per l'estratto secco ridotto fatto con il metodo diretto. Questo rapporto A/E è legato all'indice di Folin-Ciocalteu da precise relazioni numeriche. Così, in Francia, sono ritenuti genuini i vini che corrispondono a questi requisiti: indice F.C. superiore a 40, rapporto A/E 4,8 max; F.C. minore di 10, A/E 6,5 max; ecc.

L'**indice di F.C.** è proporzionale ai polifenoli titolati presenti nel vino e si determina aggiungendo al vino, opportunamente diluito il reattivo di Folin-Ciocalteu e una soluzione al 20% di carbonato sodico. Dopo 30' si legge l'estinzione a 700 nm usando come bianco acqua distillata.

La **densità ottica a 280 nm** si legge allo spettrofotometro, a 280 nm appunto, sul vino diluito 1:100, usando acqua distillata come zero. Il valore di D.O. trovato, moltiplicato per la diluizione,

da l'indice D_{280} . Tale indice si può sostituire indicativamente a quello di Folin-Ciocalteu. Si ottengono però valori generalmente superiori a causa dell'assorbanza a questa lunghezza d'onda di altre sostanze presenti nel vino.

L'intensità colorante è data dalla somma delle misure di densità ottica a 420 e 520 nm. Per es. siano le misure lette rispettivamente: D.O. a 420 nm = 0,349 e D.O. a 520 nm = 0,215, l'intensità colorante sarà 0,564.

La tonalità colorante è data invece dal rapporto D.O. 420/D.O. 520.

Per la **determinazione degli antociani** si può operare nel seguente modo.

DETERMINAZIONE DELLA DENSITA' OTTICA

Reattivi

- HCl 0,1% m volume In etanolo a 95°
- HCl 2% in volume
- Tampone pH 3,5 (mescolare 303,5 ml di fosfato bisodico 0,2 M e 696,5 ml di acido citrico 0,1 M).

Procedimento

In due provette da 20 ml si introducono 1 ml di vino e 1 ml di HCl 0,1%. Quindi in una si aggiungono 10 ml di HCl 2% e nell'altra 10 ml di soluzione tampone. Si legge quindi la densità ottica a 520 nm usando come zero acqua distillata. Dalla differenza tra le densità ottiche si può ricavare il valore degli antociani espressi in mg/litro con il seguente grafico:

antociani mg/l	Δ D.O.
375,0	0,970
187,5	0,492
93,5	0,244
75,0	0,187
37,5	0,092

Per esempio per i vini rosati il valore degli antociani è maggiore di 15 mg/l.

Il **rapporto indice F.C./antociani** è dato dall'indice F.C. diviso per il valore degli antociani espressi in g/l.

Per i vini rosati esso è inferiore a 700, per i vini rossi è inferiore a 400.

In Francia sono considerati rosati soltanto quei vini che presentano una densità ottica (D.O.) a 520 nm minore o uguale a 1. Tali vini, se giovani, 6/7 mesi dalla vinificazione, devono avere un rapporto F.C./antociani inferiore od uguale a 1.000. Ricordiamo che i regolamenti comunitari non consentono di ottenere un vino rosato attraverso il taglio di un vino rosso con un vino bianco.

Tutti i vini rossi che presentano un indice di F.C. inferiore a 20 devono avere un rapporto F.C./antociani maggiore od uguale a 100, altrimenti sono da considerarsi vini bianchi colorati con enocianina o con vini cosiddetti rossissimi.

Per la **malvina** che è un diglucoside che si trova in molti prodotti provenienti da uve rosse di ibridi, si usa un metodo di dosamento basato sulla sua ossidazione secondo il metodo di Dorier e Verelle e sulla misura della fluorescenza ad uno spettrofluorimetro. Il massimo di emissione della fluorescenza è a 490 nm.

Un altro metodo di **analisi delle enocianine** consiste nel cromatografare su colonnina di Sephadex un opportuno volume di vino eluendo con etanolo contenente lo 0,1% di HCl concentrato le enocianine libere e con una miscela 1:1 di acetone-acqua addizionata del 3% di acido acetico i polimeri.

Segue il riconoscimento per TLC delle enocianine.

LIMITE DI GESSATURA DEI VINI

Allo scopo di renderli brillanti, é consentito aggiungere ai vini solfato di calcio fino al limite massimo corrispondente ad 1 g di solfato potassico neutro per litro per i vini comuni.

Il solfato di calcio reagisce con il tartrato acido di potassio presente nel vino per cui si forma tartrato di calcio che precipita trascinando varie sostanze intorbidanti.

La gessatura provoca anche un abbassamento del pH in quanto al tartrato acido di potassio che é un acido debole, si sostituisce il solfato acido di potassio che é invece un acido forte (aumenta cioè l'acidità ionica o attuale, cioè la concentrazione idrogenionica, mentre l'acidità totale rimane invariata).

Come conseguenza dell'abbassamento del pH, alcune sostanze neutre presenti in soluzione coagulano mentre altre, prima non solubili, si ridisciolgono. Ne deriva una migliorata limpidezza del vino.

DETERMINAZIONE DEL LIMITE DI GESSATURA

Reattivi

- Acido solforico 2N (circa 10%)
- Soluzione di cloruro di bario: aggiunta ad un eguale volume di vino deve precipitare una quantità di solfati corrispondente al limite fissato. Un litro di tale soluzione contiene 1,401 g di cloruro di bario cristallizzato ($\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) e 30 ml di HCl concentrato (in ambiente acido é insolubile il solo solfato di bario e non gli altri sali).

Procedimento

Per controllare se é stato superato il limite di gessatura, a 50 ml di vino all'ebollizione si aggiungono 50 ml di soluzione di cloruro di bario. Si filtra e il filtrato si divide in due parti. Ad una si aggiunge cloruro di bario: in caso di intorbidamento cioè di presenza di solfati, il limite di gessatura é stato superato. All'altra si aggiunge acido solforico diluito: in caso di intorbidamento, cioè di presenza di ioni bario, il limite non é stato superato. Se in entrambi i casi non si ha intorbidamento, la gessatura é al limite, cioè corrisponde esattamente ad 1 g di solfato potassico per litro.

Una determinazione che negli ultimi anni ha assunto importanza ai fini di un giudizio di genuinità dei vini é quella dei **nitrati** il cui contenuto superiore a certi limiti sarebbe indice di aggiunta di acqua.

Sulla base dei valori della letteratura e dei risultati sperimentali, é stato concordato che un vino di produzione nazionale che presenti un contenuto in nitrati, espressi come NO_3 , pari o superiore a 20 mg/litro sia da considerare sicuramente non genuino. Per valori compresi tra 5 e 20 mg/1, in attesa di giungere a valutazioni più precise, il giudizio di non genuinità dovrà essere convalidato dal complessivo quadro analitico comprendente fra le altre determinazioni, quelle relative a prolina, ceneri, magnesio, sodio, potassio, polifenoli totali, acidi organici e azoto aminoacidico.

Nell'esprimere il giudizio si dovrà tener conto anche dell'origine e provenienza del vino in esame. Per valori inferiori o uguali a 5 mg/1, il prodotto potrà considerarsi genuino, limitatamente al contenuto in nitrati.

Per la determinazione dei nitrati sia nel vino che nel mosto (anche concentrato) si segue questo metodo: i nitrati sono ridotti a nitriti dalla spugna di cadmio che si forma dalla reazione fra polvere di zinco e acetato di cadmio. I nitriti sono poi determinati colorimetricamente con il reattivo di Griess.

DETERMINAZIONE DELLA DENSITA' RELATIVA DEL VINO

Materiale utilizzato

- Bilancia analitica (0,1 mg)
- Picnometro da 50 ml
- Stufa termostatica (+/- 0,2° C)
- Essiccatore con gel di silice
- Acqua distillata

Procedimento

Determinare la massa del picnometro pulito e asciutto. Riempire il picnometro con acqua distillata, termostatare alla temperatura di 20° C, determinare la massa e l'esatto volume. Dopo averlo svuotato e asciugato in essiccatore, riempirlo con la soluzione campione, verificando che non vi siano bolle d'aria all'interno.

Termostatare il picnometro con la soluzione campione alla temperatura di 20° C. Il volume della soluzione campione deve corrispondere al volume di acqua distillata usato in precedenza. Determinare la massa del picnometro con la soluzione campione.

Calcoli

$$d = \frac{M_c - M}{M_a - M}$$

dove:

M = massa del picnometro vuoto (in grammi)

M_c = massa del picnometro con il campione (in grammi)

M_a = massa del picnometro con l'acqua distillata (in grammi)

M_a - M é un valore considerato costante per ogni picnometro, ma deve essere verificato ogni volta.

DETERMINAZIONE DEL pH

Il pH fornisce una indicazione sull'acidità del vino.

Valori compresi tra 2,9 e 3,6 alla temperatura di circa 20°C, sono nella norma sia per un vino bianco, rosso o rosato.

Materiale utilizzato:

- pH-metro
- Agitatore magnetico
- Acqua distillata
- Elettrodo per pH
- Sonda termocompensatrice
- Soluzione tampone a pH = 7,00
- Soluzione tampone a pH = 4,00

Procedimento

Prelevare circa 50 ml di campione in un becher da 100 ml. Dopo aver tarato lo strumento utilizzando le soluzioni tampone, lavare più volte l'elettrodo e la sonda con acqua distillata, immergere nella soluzione campione e attendere che il valore si stabilizzi.

DETERMINAZIONE DELLE CENERI DEL VINO

Materiale utilizzato:

- Muffola
- Bunsen
- Bilancia analitica
- Crogiolo

Procedimento

In un crogiolo precedentemente portato a peso costante, introdurre circa 20 ml di vino campione. Evaporare lentamente a bagnomaria.

Sotto cappa di aspirazione, posizionare il crogiolo su fiamma diretta del bunsen fino alla completa carbonizzazione del campione. Se necessario porre in muffola a 525° C per 30 minuti.

Aggiungere 5 ml di acqua distillata e ripetere tutto il procedimento.

Raffreddare in essiccatore, ripesare il crogiolo con le ceneri.

Calcoli

$$\% \text{ Ceneri} = \frac{\mathbf{B} - \mathbf{A}}{\mathbf{P}} \cdot 100$$

dove:

A = massa crogiolo

B = massa crogiolo e ceneri

P = massa campione di vino

DETERMINAZIONE DEL GRADO ALCOLICO CON IL METODO EBULLIOMETRICO

Si basa sul fatto che il vino è sostanzialmente una miscela idroalcolica ed ha una temperatura di ebollizione intermedia tra l'acqua (100° C) e l'alcol etilico (78,3° C); maggiore sarà il suo contenuto alcolico, inferiore sarà la sua temperatura di ebollizione e viceversa.

Con l'ebullimetro di Malligand si ottengono risultati con vini aventi gradazioni comprese tra 9 e 12 gradi circa, con un errore di +/- 0,2°.

Materiale utilizzato

- Ebullimetro di Malligand
- Acqua distillata

Procedimento

Taratura dell'apparecchio: lavare il bulbo del termometro e la caldaia con acqua distillata. Riempire la caldaia fino al segno di riferimento con acqua distillata. Chiudere il coperchio con l'asta ed il termometro e posizionare il refrigerante vuoto.

Accendere il fornellino ad alcol e riscaldare la caldaia fino alla fuoriuscita di un pennacchio di vapore dal refrigerante. Fissare lo zero dell'asta graduata in corrispondenza del punto in cui è arrivato il mercurio.

Spegnere il fornellino, svuotare la caldaia.

Determinazione del grado alcolico: lavare il bulbo del termometro e la caldaia con il vino in esame. Riempire la caldaia con il vino campione fino al secondo segno di riferimento.

Chiudere il coperchio con l'asta ed il termometro e posizionare il refrigerante riempito con acqua distillata.

Accendere il fornellino ad alcol e riscaldare la caldaia.

Appena il livello del mercurio è stabile leggere il valore del grado alcolico sull'asta graduata.

Spegnere il fornellino, svuotare la caldaia e lavare con acqua distillata.

DOSAGGIO DELLA PROLINA NEL VINO

La prolina ($(\text{CH}_2)_3\text{NH-CH-COOH}$) é l'amminoacido presente in maggiore quantità nel vino. É inattaccabile dai lieviti in ambiente anaerobico quale é quello della fermentazione alcolica. Il contenuto di questo amminoacido é variabile in base ai vigneti e alle condizioni climatiche. Generalmente varia da 300 a 900 mg/l. L'Istituto Superiore della Sanità pone un limite minimo di 100 mg/l, al di sotto di questo valore il vino deve essere considerato non genuino.

Materiale utilizzato

- spettrofotometro UV-Vis
- carta da filtro
- imbuto
- beuta da 300 ml
- pipetta da 1 ml
- provette con tappo
- piastra termica
- becher da 300 ml
- pallone da 100 ml
- soluzione standard di prolina a 1000 mg/l (o 10 mg/l)
- soluzione di isopropanolo $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$ e acqua in rapporto di 1:1
- soluzione di ninidrina $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$ in glicol etilenico monometilere $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$ al 3%
- acido formico HCOOH
- vino bianco o rosso

Procedimento

Se il vino é rosso deve essere decolorato con carbone attivo e filtrato.

Se il vino é bianco deve essere filtrato se torbido.

Diluire il vino campione di 10 volte con acqua distillata.

Diluire la soluzione standard di prolina di 100 volte con acqua distillata per ottenere una concentrazione di 10 mg/l.

Introdurre in una provetta 1 ml di campione, 0,5 ml di acido formico e 2 ml di soluzione di ninidrina.

Introdurre in una provetta 1 ml di soluzione standard di prolina a 10 mg/l, 0,5 ml di acido formico e 2 ml di soluzione di ninidrina.

Per preparare il bianco introdurre in una provetta 1 ml di acqua, 0,5 ml di acido formico e 2 ml di soluzione di ninidrina.

Eeguire tutto in doppio.

Chiudere le provette agitare delicatamente e scaldare a bagno maria bollente per circa 15 minuti.

Raffreddare in acqua corrente, quindi aggiungere 5 ml di soluzione isopropanolo-acqua 1:1 e agitare.

Azzerare lo spettrofotometro a 530 nm con il bianco.

Leggere la soluzione campione e standard entro 30 minuti dalla preparazione.

L'assorbanza del campione (A_c) diviso l'assorbanza dello standard (A_s) per la concentrazione dello standard (C), fornisce la concentrazione del campione diluito.

Calcolare la concentrazione di prolina nel campione considerando la diluizione.

$$\frac{A_c}{A_s} \cdot C_s = C_c$$