

EFFETTO DEL GLUTATIONE E DELL'ANIDRIDE SOLFOROSA SULL'OSSIDAZIONE DEI FENOLI NEL VINO BIANCO

D. FRACASSETTI¹, A. VANZO², K. LISJAK², A. TIRELLI¹, W. du TOIT³

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133 Milano, Italy.

²Agricultural Institute of Slovenia, Hacquetova 17, 1001 Ljubljana, Slovenia.

³Department of Viticulture and Oenology, University of Stellenbosch, Private Bag X1, Matieland (Stellenbosch) 7602, South Africa.

Lavoro presentato alla 7^a edizione di Enoforum, Arezzo, 3-5 maggio 2011

Numerose reazioni possono avvenire durante la vinificazione e l'invecchiamento del vino bianco. Alcune di esse sono responsabili dell'imbrunimento (Simpson, 1982; Fabios et al., 2000; Labrouche et al., 2005) e dell'impovertimento aromatico (Roussis e Sergianitis, 2008). Le ossidazioni possono avvenire per via enzimatica catalizzate dagli enzimi laccasi, la cui azione è ben nota (Singleton, 1987), così come le strategie produttive che ne limitino gli effetti. Le ossidazioni non-enzimatiche sono regolate da complesse interazioni che avvengono tra i composti naturalmente presenti nei vini, come i fenoli, e aggiunti, come l'anidride solforosa (SO₂). L'aggiunta di SO₂ è una pratica comune sia per le sue attività antimicrobica e antiossidante, che per la sua capacità di contrastare la formazione di difetti sensoriali. La sua azione di protezione dalle ossidazioni può avvenire per reazione diretta con l'ossigeno, proteggendo così i composti facilmente degradabili dall'ossigeno, tra cui i fenoli (Riberau-Gayon et al., 2006; Danilewicz, 2007). Inoltre, SO₂ possiede anche attività sequestrante nei confronti del perossido di idrogeno prodotto dall'ossidazione dei fenoli, come mostrato da studi eseguiti in vino modello (Boulton et al., 1996). Comunque, l'uso di SO₂ dovrebbe essere limitato a causa dei problemi di salute tra cui asma e reazioni allergiche. Le interazioni tra SO₂ e ossigeno sono abbastanza complesse e ioni metallici, quali rame e ferro, possiedono una forte influenza sui meccanismi ossidativi che coinvolgono SO₂, ossigeno e fenoli, sia in vino (Danilewicz, 2003; Danilewicz et al., 2008) che in soluzioni modello (Danilewicz, 2007).

Oltre a SO₂, il glutatione ridotto (GSH), un costituente naturalmente presente nel vino, protegge il vino dalle ossidazioni. Questo composto è capace di ridurre gli *o*-chinoni, derivanti dall'ossidazione enzimatica catalizzata da polifenolo ossidasi (PPO) sugli acid idrossicinnamil tartarici, prevenendo così la loro polimerizzazione e la formazione di pigmenti bruni (Salgues et al., 1986). Dalla reazione tra GSH e il chinone dell'acido caftarico si genera acido 2-S-glutathionil caftarico, noto con il nome di Grape Reaction Product (GRP) (Singleton et al., 1984) che non è un substrato di PPO e limita l'imbrunimento. Il GSH rallenta l'impovertimento aromatico agendo da competitore nella riduzione dei chinoni per mezzo degli aromi tiolici (Lavigne e Dubordieu, 2004). Il tripeptide protegge alcuni composti volatili, come il linalolo, nel corso della conservazione in bottiglia (Papadopoulou e Roussis, 2008), in particolare quando è presente acido caffeico in concentrazione 15-30 mg L⁻¹ (Roussis e Sergianitis, 2008). Il GSH impedisce la formazione del sotolone, uno tra i principali composti responsabili dell'invecchiamento atipico dei vini bianchi, e il 2-amminoacetofenone (Lavigne e Dubourdieu, 2004). Possiede anche un effetto positivo sul colore che risulta più stabile nel corso dell'invecchiamento (Lavigne e Dubourdieu, 2004).

L'attività antiossidante dei composti fenolici è correlata alla vicinanza delle funzioni di-idrossiliche. Le specie reattive all'ossigeno, presenti nel vino in alcune condizioni ossidative, possono reagire con un radicale semi-chinone derivante dai fenoli che quindi rappresentano un naturale antiossidante del vino (Waterhouse, 2002; Li et al., 2008). I composti fenolici possono essere ossidati nel mosto per via enzimatica in presenza di PPO il cui meccanismo di azione e alcuni dei composti ottenuti sono descritti in letteratura (Cheynier et al., 1986; Cheynier et al., 1988; Cheynier et al., 1989). Nel vino, i fenoli possono essere il substrato dell'enzima laccasi e di ossidazioni non enzimatiche; queste ultime, se intense, possono portare all'imbrunimento dei vini bianchi (Labrouche et al., 2005).

Numerosi studi sono stati effettuati al fine di capire e approfondire le interazioni che coinvolgono tioli, fenoli e ossigeno nel vino, concentrando l'attenzione sull'acido caffeico (Cilliers e Singleton, 1989; Cilliers e Singleton, 1990a; Cilliers e Singleton, 1990b) e sui composti che derivano da esso (Cillier e Singleton, 1991). Tali studi sono stati condotti in sistemi modello con diversi valori di pH e mostrano il ruolo chiave posseduto dai tioli nei meccanismi ossidativi.

Le interazioni che hanno luogo tra GSH, SO₂, ossigeno ed il loro effetto sui fenoli nel vino bianco non sono descritte in letteratura, così come l'andamento del consumo di ossigeno durante l'invecchiamento.

Questa ricerca è stata eseguita per meglio comprendere l'effetto di GSH e SO₂ sull'ossidazione dei fenoli che può avvenire nel corso dell'invecchiamento dei vini bianchi. Sono stati condotti esperimenti finalizzati a individuare i fenomeni ossidativi che potenzialmente coinvolgono l'acido caffeico in vino bianco e in sistema modello, e a definire i fattori che determinano il decorso delle ossidazioni usando 13 Sauvignon blanc. Il vino è mantenuto ad elevate temperature al fine di aumentare la velocità di ossidazione, realizzando così un invecchiamento accelerato.

Nell'esperimento focalizzato sull'ossidazione dell'acido caffeico, il vino Sauvignon blanc prodotto nella vendemmia 2010 è stato trattato con bentonite (0.1 g L⁻¹) e carbone attivo (0.4 g L⁻¹) per rimuovere rispettivamente proteine e fenoli. Il vino sintetico conteneva 12% di etanolo e 2.5 g L⁻¹ di acido tartarico e portato a pH 3.5.

I trattamenti eseguiti sulle matrici sono indicati di seguito:

- 1) vino addizionato di acido caffeico;
- 2) vino addizionato di acido caffeico e GSH;
- 3) vino addizionato di acido caffeico e SO₂;
- 4) vino addizionato di acido caffeico, SO₂ e GSH;
- 5) vino tal quale;
- 6) vino sintetico addizionato di acido caffeico e SO₂ (20 mg L⁻¹);
- 7) vino sintetico addizionato di acido caffeico, SO₂ (20 mg L⁻¹) e GSH;
- 8) vino sintetico addizionato di acido caffeico e SO₂ (50 mg L⁻¹);
- 9) vino sintetico addizionato di acido caffeico, SO₂ (50 mg L⁻¹) e GSH;
- 10) vino sintetico addizionato di SO₂ (20 mg L⁻¹).

GSH e acido caffeico sono stati aggiunti a vino bianco e vino sintetico alla concentrazione 0.22 mM, quando previsto. Il livello di SO₂ totale nel vino bianco era 17 mg L⁻¹ ed è stata portata a 50 mg L⁻¹, quando previsto; nella soluzione di vino sintetico le aggiunte effettuate sono state analoghe al vino bianco e pari a 20 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹. In entrambe le matrici sono stati aggiunti FeSO₄·7 H₂O 5 mg L⁻¹ and CuSO₄·5 H₂O 0.12 mg L⁻¹ per aumentare la velocità di ossidazione, come descritto da Danilewicz (2007). Vino bianco e vino sintetico sono saturati di ossigeno e aliquotati in bottiglie da 100 mL, chiuse ermeticamente e mantenute alla temperatura di 37°C al buio per 60 giorni. La concentrazione di ossigeno è stata monitorata 2-3 volte al giorno con sensori ottici posti all'interno delle bottiglie. Periodicamente è stato quantificato il contenuto di GSH, acido caffeico, SO₂ (libera e totale), glutatione ossidato (GSSG), acido cis-caftarico, acido trans-caftarico, GRP, acido cis-cutarico, acido trans-cutarico, acido cis-fertarico, acido p-cumarico, acido ferulico, rame, ferro e assorbanza (280 nm, 420 nm, 440 nm), come mostrato in Tabella 1.

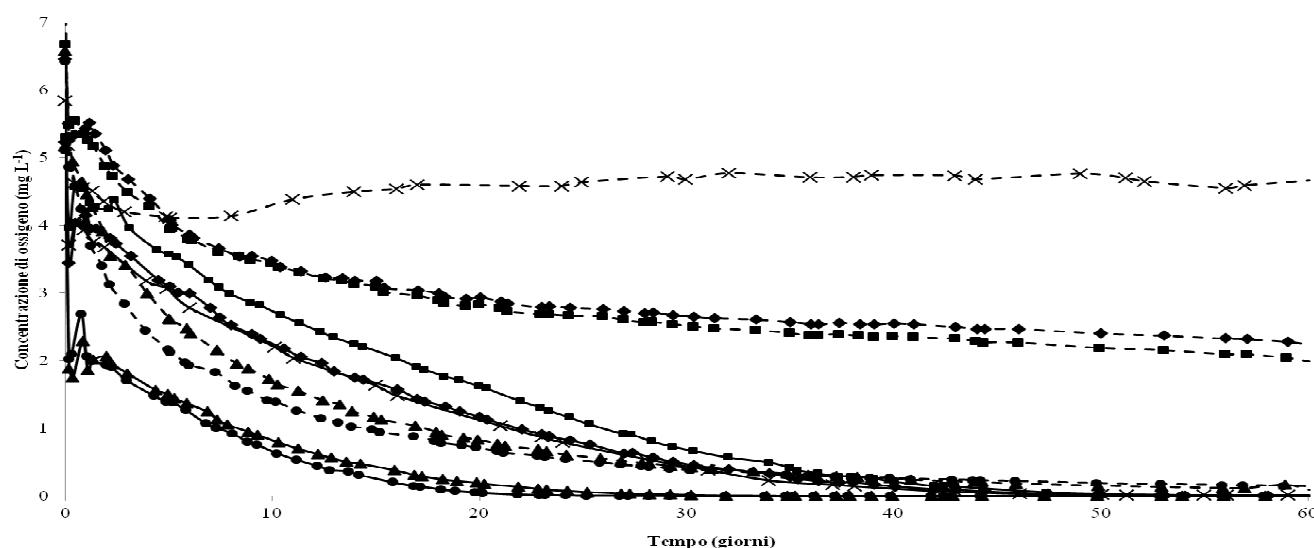
La simulazione di invecchiamento accelerato è stata condotta su 13 Sauvignon blanc prodotti nelle vendemmia 2010. I vini sono stati prelevati direttamente presso il produttore dopo fermentazione alcolica e posti in contenitori saturi di azoto. Ciascun vino è stato suddiviso in 2 aliquote di cui una è stata addizionata di 30 mg L⁻¹ di SO₂. Entrambe le frazioni di vino sono state saturate con ossigeno, trasferite in bottiglie da 100 mL chiuse ermeticamente e mantenute a 37°C al buio per 60 giorni. La concentrazione di ossigeno è stata monitorata 2-3 volte al giorno con sensori ottici posti all'interno delle bottiglie. I vini sono stati analizzati all'inizio e alla fine dell'esperimento. I parametri investigati sono stati: GSH, acido caffeico, SO₂ (libera e totale), glutatione ossidato (GSSG), acido cis-caftarico, acido trans-caftarico, GRP, acido cis-cutarico, acido trans-cutarico, acido cis-fertarico, acido p-cumarico, acido ferulico, rame, ferro e assorbanza (280 nm, 420 nm, 440 nm). Inoltre, è stata valutata la concentrazione di acido ascorbico all'inizio dell'esperimento.

Tabella 1: composti analizzati nell'esperimento focalizzato sull'ossidazione dell'acido caffeico. X*: parametro quantificato solo negli esperimenti in cui vino bianco e vino sintetico sono stati addizionati di GSH.

Composto	Tempo di prelievo (giorno)				
	0	5	23	42	60
GSH	X	X	X	X	X
Acido caffeico	X	X	X	X	X
SO ₂ libera e totale	X	X	X	X	X
Acido cis-caftarico	X		X*		X
Acido trans-caftarico	X		X*		X
GRP	X		X*		X
Acido cis-cutarico	X		X*		X
Acido trans-cutarico	X		X*		X
Acido cis-fertarico	X		X*		X
Acido p-cumarico	X		X*		X
Acido ferulico	X		X*		X
GSSG	X*		X*		X*
Rame	X				X
Ferro	X				X
Assorbanza (280 nm, 420 nm, 440 nm)	X	X	X	X	X

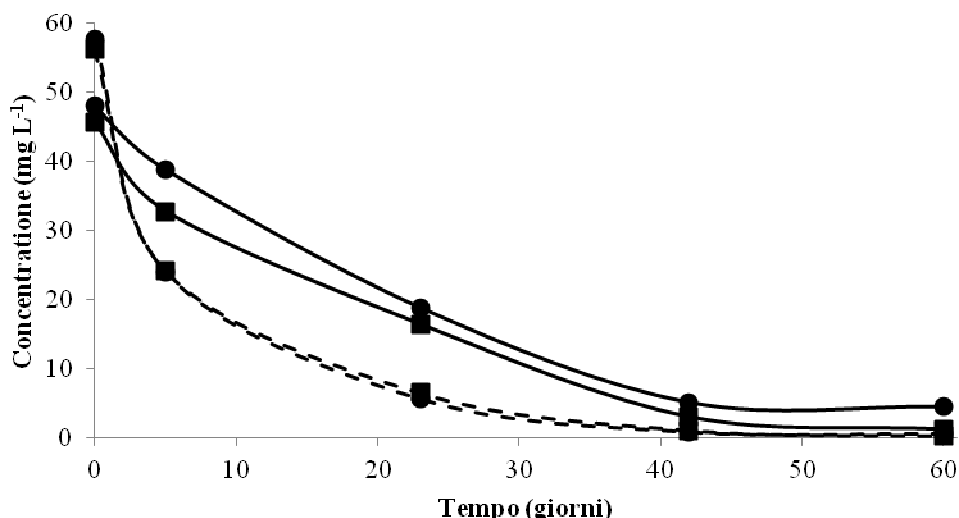
Nell'esperimento focalizzato sull'ossidazione dell'acido caffeico in vino bianco è stato osservato che la velocità del consumo di ossigeno (Figura 1) aumentava in presenza di concentrazioni più elevate di SO₂, indipendentemente dalla presenza di GSH. Al contrario, il consumo di ossigeno è stato leggermente più lento nel vino arricchito con GSH rispetto al vino additivato solo di acido caffeico. Inoltre, il consumo di ossigeno è stato osservato anche in vino tal quale e non si riscontrano differenze rispetto alla sola aggiunta di acido caffeico. Questo potrebbe significare che il basso livello di fenoli ancora presente (18 mg L⁻¹) influenza maggiormente il consumo di ossigeno rispetto al solo acido caffeico.

Figura 1: andamento del consumo di ossigeno in vino (linea continua) e vino sintetico (linea tratteggiata) per i seguenti trattamenti: (♦) aggiunta di acido caffeico (1 e 6), (■) aggiunta di GSH (2 e 7), (▲) aggiunta di SO₂ (3 e 8), (●) aggiunta di GSH e SO₂ (4 e 9) e (x) nessuna aggiunta (5 e 10).



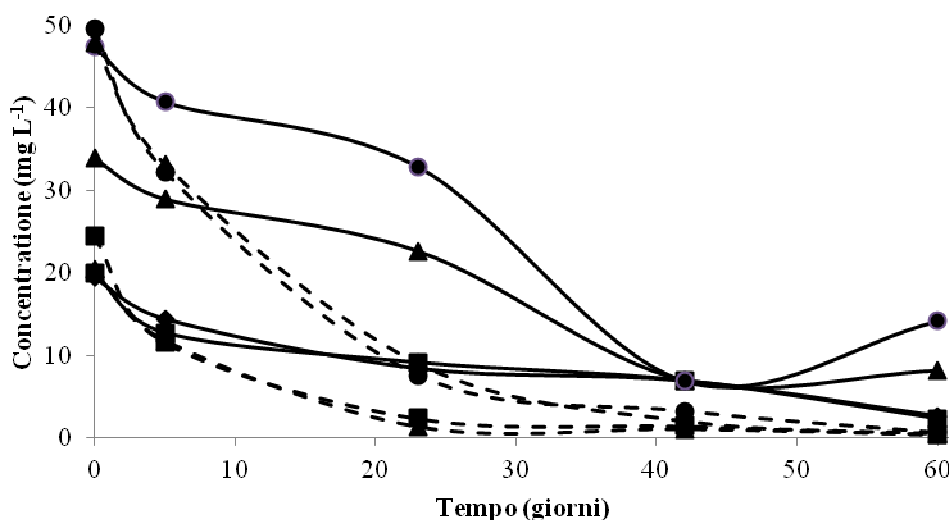
Il contenuto di GSH (Figura 2) diminuisce nel corso dell'esperimento, più velocemente in presenza di SO₂ fino scomparire dopo 60 giorni di incubazione.

Figura 2: andamento della concentrazione di GSH in vino (linea continua) e vino sintetico (linea tratteggiata) per i seguenti trattamenti: (■) aggiunta di GSH (2 e 7) e (●) aggiunta di GSH e SO₂ (4 e 9).



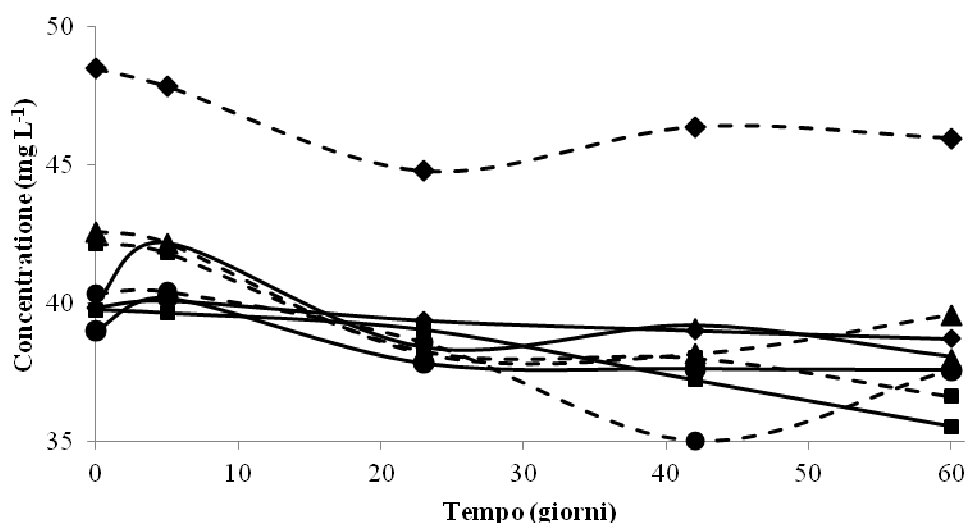
Anche il contenuto di SO₂ (Figura 3) è soggetto ad un decremento fino a 30 mg L⁻¹ che risulta più lento quando GSH è presente. Ciò significa che la presenza di GSH potrebbe influenzare la velocità di ossidazione di SO₂ e viceversa.

Figura 3: andamento della concentrazione di SO₂ totale in vino (linea continua) e vino sintetico (linea tratteggiata) per i seguenti trattamenti: (◆) aggiunta di acido caffeico (1 e 6), (■) aggiunta di GSH (2 e 7), (▲) aggiunta di SO₂ (3 e 8) e (●) aggiunta di GSH e SO₂ (4 e 9).



Un decremento di acido caffeico (Figura 4) è stato osservato nel corso dell'esperimento, doppio in presenza di GSH, confermando l'interazione tra acido caffeico e composti tiolici (Cilliers & Singleton, 1990a). Nelle condizioni sperimentali adottate non è stato rilevato un incremento della concentrazione di GRP, probabilmente dovuto ad un continuo spostamento dell'equilibrio tra GRP e acido tartarico. Questo fenomeno è già stato osservato nel vino e non consente di osservare un aumento di GRP (Riberau-Gayon 2006). Nei trattamenti in cui è stato aggiunto GSH si è formato GSSG (Figura 5) la cui concentrazione raddoppia dopo 60 giorni di incubazione, confermando che il GSH può essere ridotto a GSSG nel vino in tempi lunghi.

Figura 4: andamento della concentrazione di acido caffeico in vino (linea continua) e vino sintetico (linea tratteggiata) per i seguenti trattamenti: (◆) aggiunta di acido caffeico (1 e 6), (■) aggiunta di GSH (2 e 7), (▲) aggiunta di SO₂ (3 e 8) e (●) aggiunta di GSH e SO₂ (4 e 9).

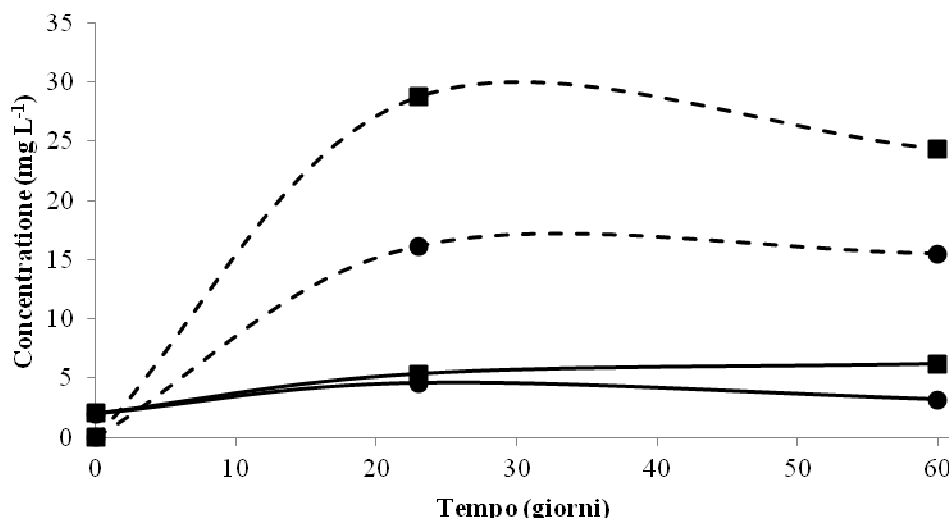


L'incremento del contenuto di GSSG non può spiegare la scomparsa di GSH; è probabile che il GSH possa degradarsi a γ -glutamyl-cisteina e cisteinil-glicina, non rilevabili. Non sono stati osservati cambiamenti nel livello degli acidi caftarico e cis-cutarico; gli acidi trans-cutarico, cis-ferutarico e trans-ferutarico diminuiscono all'aumentare del contenuto dei composti antiossidanti. La concentrazione degli acidi cumarico e ferulico aumenta durante l'esperienza. Cambiamenti di colore sono stati osservati attraverso le misure dell'assorbanza a 420 nm e 440 nm, il cui valore aumenta ad entrambe le lunghezze d'onda nel corso dell'esperienza, a causa dei fenomeni ossidativi che causano imbrunimenti. Nelle nostre condizioni sperimentali non viene confermato l'effetto positivo del GSH sul colore del vino, come descritto in letteratura (Lavigne & Dubourdieu, 2004). Non sono stati osservati cambiamenti dell'assorbanza a 280 nm. Dall'analisi statistica è emerso che esiste una stretta correlazione positiva tra i contenuti di GSH, SO₂ e ossigeno nelle condizioni sperimentali adottate. Essi risultano correlati positivamente anche con il rame confermando l'importanza del metallo nei meccanismi ossidativi (Danilewicz, 2003). La sola aggiunta di GSH non ha dato risultati significativamente differenti rispetto al trattamento in cui era prevista la sola aggiunta di SO₂; tali composti possiedono azione protettiva simile nel corso dell'invecchiamento. Ciò significa che una migliore gestione della vinificazione che preservi maggiori quantità di GSH consentirebbe di limitare l'uso di SO₂.

In vino sintetico, il consumo di ossigeno (Figura 1) era simile nei trattamenti con o senza aggiunta di GSH solo per bassi valori di SO₂. Quando la concentrazione di SO₂ è maggiore, la presenza di GSH rallenta il consumo di ossigeno. Sia il GSH che la SO₂ (Figura 2 e Figura 3) diminuiscono e non sono rilevati al termine dell'esperienza; in presenza di GSH, il livello di SO₂ diminuisce più velocemente. Come è già stato osservato nel vino bianco, anche nel vino sintetico l'acido caffeico (Figura 4) diminuisce e il decremento è doppio in presenza di GSH. Questa osservazione è un'ulteriore conferma delle interazioni tra acido caffeico e i composti tiolici, anche in soluzione modello (Cilliers & Singleton, 1990a).

La concentrazione di GRP aumenta nel vino sintetico ed è doppia nel trattamento in cui è presente solamente GSH, probabilmente correlato ad una maggiore disponibilità di chinoni in assenza di SO₂. Inoltre, quando il GSH è aggiunto si formano elevate quantità di GSSG (Figura 5): 45.0 mg L⁻¹ in presenza del solo tripeptide e 25.3 mg L⁻¹ in presenza di entrambi gli antiossidanti. SO₂ previene la formazione di GSSG, pur non ostacolando la perdita di GSH. La formazione di GSSG e GRP non è comunque sufficiente a spiegare la scomparsa di GSH, che è probabilmente degradato o potrebbe formare ponti disolfuro con SO₂ nelle condizioni sperimentali considerate.

Figura 5: andamento della concentrazione di GSSG in vino (linea continua) e vino sintetico (linea tratteggiata) per i seguenti trattamenti: (■) aggiunta di GSH (2 e 7) e (●) aggiunta di GSH e SO₂ (4 e 9).



Basse quantità di alcuni acidi idrossicinnamici sono state rilevate nel vino sintetico: si osserva la presenza degli isomeri dell'acido ferarico. In letteratura non ci sono dati riguardanti l'aumento dell'acido ferarico in presenza di acido caffeico sia in soluzioni modello che in vino. Un incremento dei valori di assorbanza a 280 nm è stato osservato, indipendentemente dall'aggiunta di GSH, SO₂ o entrambi. L'analisi statistica ha messo in evidenza che, come osservato per il vino bianco, anche nel vino sintetico i contenuti di GSH, SO₂ e ossigeno sono strettamente e positivamente correlati nelle condizioni sperimentali considerate. Questi composti sono correlati positivamente anche con il rame, confermando l'influenza del metallo nei meccanismi ossidativi (Danilewicz, 2003). L'aggiunta di GSH o SO₂ non ha portato differenze significative tra i trattamenti in cui è stato aggiunto l'uno o l'altro antiossidante, a conferma del comportamento simile di questi composti contro le ossidazioni.

Nel vino bianco, l'arricchimento di acido caffeico non influenza il consumo di ossigeno in modo così drammatico come è invece influenzato in vino sintetico. Ciò conferma l'effetto antiossidante svolto dall'acido caffeico, ma tale effetto non è invece riscontrato nel vino bianco dove il consumo dell'ossigeno è dipendente dai fenoli presenti, anche se in basse quantità, e non è modificata dall'aumento dell'acido caffeico. I fenoli residui influenzano anche la velocità di consumo di ossigeno, per la quale sono state individuate differenze significative tra vino bianco trattato e vino sintetico. Oltre al contenuto fenolico, la presenza dei composti antiossidanti condiziona la velocità di ossidazione: per bassi livelli di SO₂, il GSH non aumenta la velocità netta, contrariamente a quanto accade per elevati valori di SO₂. La concentrazione dell'ossigeno al termine dell'esperimento è influenzata dalla presenza di GSH e SO₂, sia in vino bianco che in vino sintetico, che risulta inferiore quando sono presenti maggiori livelli di SO₂. Nel vino sintetico, il livello di SO₂ diminuisce più velocemente in presenza di GSH, anche se è non è rilevabile al termine dell'esperimento, contrariamente a quanto accade nel vino bianco. Questo dato potrebbe essere spiegato dall'influenza del contenuto fenolico sull'ossidazione di SO₂, così come sull'equilibrio SO₂/HSO₃. Inoltre, mentre nel vino bianco trattato, non sono state osservate variazioni nel contenuto degli acidi idrossicinnamici investigati, nel vino sintetico sono stati osservati un incremento del contenuto di acido ferarico e di GRP. L'aumento del livello di GRP potrebbe essere rilevato per l'assenza di interazioni con gli altri acidi idrossicinnamici, interazioni che invece potrebbero instaurarsi in vino. L'analisi statistica ha messo in evidenza che l'andamento dei campioni è simile in entrambe le matrici ma è traslato verso valori positivi relativi alle condizioni sperimentali in vino sintetico rispetto al vino bianco. Inoltre, quando sono aggiunti i composti antiossidanti, i campioni oggetto dell'esperimento mostrano un andamento simile, ma con maggiori variazioni nel vino sintetico. Data la complessità del vino bianco, esso non è confrontabile con il vino sintetico nelle condizioni sperimentali considerate.

La simulazione dell'invecchiamento è stata condotta su 13 Sauvignon blanc prelevati presso il produttore e privi di acido ascorbico. Il consumo di ossigeno ha mostrato andamenti differenti tra i vini analizzati e, per la maggior parte di essi, non è stato rilevato ossigeno dopo 40 giorni di incubazione. Per i vini 1, 4 e 7 è stata osservato ossigeno disciolto fino al termine dell'esperimento. L'aggiunta di SO₂ ha aumentato la velocità del consumo di ossigeno, che non è stato rilevato in nessun vino dopo 35 giorni di incubazione, indicando che la presenza di SO₂ può influenzare positivamente il consumo di ossigeno durante l'invecchiamento dei vini bianchi. In tabella 2 sono indicate le variazioni di ossigeno, SO₂, assorbanza, GSH e GSSG tra l'inizio e la fine dell'esperimento. Il contenuto di SO₂ è almeno dimezzato al termine dell'esperimento, diminuendo di 30 mg L⁻¹ e oltre. Il GSH scompare dopo 60 giorni di incubazione, sia con che senza aggiunta di SO₂. Il GRP aumenta e non sembra essere dipendente dalla presenza di SO₂. Il contenuto di GSSG è raddoppiato in tutti i vini considerati e si osserva un minor incremento in presenza di maggiori concentrazioni di SO₂, confermando che tale composto rallenta l'ossidazione del GSH. Cambiamenti di colore verso l'imbrunimento sono stati monitorati a 420 nm e 440 nm, che sono risultati di minore entità quando è stata aggiunta SO₂.

Tabella 2: variazione dei contenuti di ossigeno, SO₂, assorbanza, GSH e GSSG tra l'inizio e la fine dell'esperimento per i vini analizzati, con e senza aggiunta di SO₂.

Vino	O ₂	SO ₂		Assorbanza			GSH	GSSG
		libera	totale	280 nm	420 nm	440 nm		
		mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	A.U.	A.U.	A.U.		
1	-6.2	-8.4	-33.4	10.3	0.075	0.059	-10.9	2.8
1 + SO ₂	-5.2	-19.5	-52.1	9.8	0.050	0.037	-11.4	1.6
2	-5.3	-6.4	-8.9	10.3	0.063	0.047	-7.2	1.7
2 + SO ₂	-5.1	-14.8	-27.8	10.3	0.035	0.028	-7.0	2.5
3	-4.8	-3.7	-8.7	10.3	0.072	0.052	-0.52	2.1
3 + SO ₂	-5.0	-14.8	-28.4	10.3	0.030	0.019	-4.6	1.6
4	-5.0	-6.4	-18.5	10.4	0.072	0.057	-3.1	2.5
4 + SO ₂	-5.1	-12.0	-30.7	10.3	0.033	0.021	-6.2	1.8
5	-5.0	-4.9	-24.3	10.3	0.055	0.039	-1.3	1.9
5 + SO ₂	-5.0	-10.4	-45.2	10.4	0.053	0.038	-2.4	1.6
6	-4.8	-5.4	-19.6	10.3	0.036	0.024	-5.7	1.9
6 + SO ₂	-6.7	-20.1	-34.2	10.4	0.018	0.011	-8.2	0.86
7	-5.1	-7.4	-35.4	10.3	0.059	0.048	-8.7	2.2
7 + SO ₂	-5.1	-16.5	-46.8	10.4	0.048	0.027	-9.8	1.6
8	-4.9	-11.1	-19.6	10.2	0.023	0.016	-15.5	2.3
8 + SO ₂	-5.1	-20.0	-36.1	10.3	0.014	0.009	-17.4	1.4
9	-5.9	0.10	-14.0	10.2	0.002	-0.007	-0.86	1.8
9 + SO ₂	-5.2	-3.2	-35.8	10.4	0.045	0.029	-3.28	1.6
10	-5.2	-5.7	-34.2	9.9	0.060	0.044	-8.04	2.1
10 + SO ₂	-4.9	-16.4	-40.3	10.4	0.046	0.033	-17.5	1.1
11	-4.8	-4.9	-6.3	10.4	0.056	0.045	-6.7	2.1
11 + SO ₂	-4.6	-15.8	-28.1	10.3	0.046	0.034	-10.8	0.92
12	-4.9	-7.3	-23.4	10.3	0.041	0.031	-7.68	2.0
12 + SO ₂	-4.8	-14.1	-38.0	10.4	0.023	0.015	-11.2	2.1
13	-5.0	-4.4	-21.2	10.3	0.032	0.019	-2.7	1.7
13 + SO ₂	-5.1	-22.3	-51.8	10.3	0.020	0.011	-10.2	0.47

I livelli degli acidi caftarico (cis e trans), cutarico (cis e trans), cis-fertarico, caffeico, cumarico e ferulico sono stabili durante i 60 giorni di incubazione, come mostrato in Tabella 3. L'acido trans-fertarico aumenta in tutti i vini, maggiormente quando SO₂ è aggiunta. Il contenuto di catechina diminuisce in tutti i vini e non sembra essere influenzato dalla presenza di SO₂.

Tabella 3: variazione dei contenuti degli acidi idrossicinnamici e della catechina tra l'inizio e la fine dell'esperimento per i vini analizzati, con e senza aggiunta di SO₂.

Vino	Acido cis-caftarico	Acido trans-caftarico	Acido cis-cutarico	Acido trans-cutarico	Acido cis-fertarico	Acido trans-fertarico	GRP	Acido caffeico	Acido cumarico	Acido ferulico	Fenoli totali	Catechina
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L		mg/L	mg/L	mg/L		
1	-1.4	-4.0	-3.03	-4.75	-0.03	0.04	4.1	0.73	-0.0056	1.14	-6.6	-18.1
1 + SO₂	-1.2	2.7	-0.70	0.89	-0.04	0.47	7.3	0.85	1.9	0.16	12.0	-15.9
2	-0.87	-2.8	-1.07	-2.36	-0.07	0.12	2.0	0.38	0.68	0.051	-3.6	-4.1
2 + SO₂	-0.84	0.085	-0.64	0.33	-0.04	0.43	3.3	0.36	0.86	0.10	5.6	1.4
3	-0.43	-1.4	-0.85	-0.96	-0.01	-0.07	-1.9	-2.2	-0.71	-0.11	-7.5	0.45
3 + SO₂	-0.16	0.058	0.07	-1.64	-0.15	0.26	-0.12	-2.1	0.54	0.26	-0.89	-3.1
4	-0.037	0.069	-0.54	-0.24	-0.15	0.15	-0.41	-5.9	-2.6	-0.28	-8.5	-7.8
4 + SO₂	0.11	-0.96	-1.75	-1.37	-0.21	-0.02	1.8	-4.6	-1.3	0.059	-3.9	-7.7
5	-0.38	-0.18	-1.38	-0.62	-0.08	0.05	-1.7	-9.7	-0.22	-0.052	-34.1	-8.4
5 + SO₂	0.08	0.26	-1.03	-1.49	-0.18	0.18	3.0	-1.4	-4.4	5.09	0.47	-8.2
6	-0.41	2.7	-1.04	1.14	-0.05	0.09	-0.55	-1.6	-2.5	-0.059	-3.2	0.016
6 + SO₂	-0.85	2.1	-1.34	0.85	-0.04	0.45	8.0	0.28	0.70	0.12	11.0	-0.83
7	-0.41	1.2	-0.87	0.04	-0.09	0.33	4.0	0.20	0.15	-0.38	4.6	-9.6
7 + SO₂	-3.5	1.8	0.56	-0.52	-0.20	0.42	5.7	0.43	0.85	-0.21	5.7	-9.8
8	-0.69	-1.9	-0.45	-1.50	-0.05	0.22	-0.82	0.17	0.30	-0.021	-3.1	-0.23
8 + SO₂	-1.1	-2.0	-0.24	-2.75	-0.15	0.13	0.92	0.57	1.2	0.017	-1.0	1.2
9	-0.12	0.79	-1.89	-0.81	-0.10	0.16	-1.7	0.17	0.72	-0.47	-1.9	-1.6
9 + SO₂	-0.37	-1.7	-3.23	-3.73	-0.04	0.16	-3.8	0.58	2.2	0.21	-8.6	-3.6
10	0.10	2.2	-0.77	0.64	0.23	0.85	3.7	-0.27	0.39	0.040	7.9	-1.8
10 + SO₂	-0.25	2.0	-1.59	0.21	-0.07	0.43	4.9	-0.13	0.57	0.27	7.1	-2.1
11	-0.54	-1.7	-1.18	-0.59	-0.04	0.20	-0.22	0.13	0.65	0.022	-2.0	-8.6
11 + SO₂	-0.99	-1.2	-1.10	-0.02	-0.03	0.27	1.0	0.33	0.85	0.64	1.1	-8.6
12	-0.33	0.045	0.32	-1.47	-0.09	0.21	-1.0	-0.16	-0.05	0.037	-2.4	-2.6
12 + SO₂	-0.01	0.44	0.56	-1.18	-0.06	0.30	1.9	-0.11	0.68	0.29	3.3	-2.3
13	-0.30	2.0	-1.07	0.65	-0.07	0.31	7.1	-0.12	0.57	0.067	9.7	-2.3
13 + SO₂	-0.82	2.7	-2.15	1.43	-0.16	0.41	8.5	0.15	1.30	0.18	12.2	-1.4

Quindi, la presenza di maggiori concentrazioni di SO₂ aumenta la velocità di consumo dell'ossigeno e il contenuto di acido ferulico, mentre limita i cambiamenti di colore nelle condizioni sperimentali considerate. La concentrazione finale di ossigeno era significativamente diversa con e senza arricchimento di SO₂ per la maggior parte dei vini analizzati, ad eccezione dei vini 7, 9 e 13 che non hanno mostrato differenze in presenza di maggiori quantità di SO₂. L'analisi statistica ha consentito di affermare che il consumo di ossigeno era positivamente correlato con la presenza di SO₂ e strettamente correlato con la composizione del vino stesso. Tra i parametri compositivi oggetto dello studio, i contenuti degli acidi ferulico, cumarico e caffeico e del ferro hanno una debole influenza sulla variabilità dei vini, che, invece, è fortemente influenzata dal livello degli acidi cutarico (cis e trans), trans-fertarico e di fenoli totali (espressi come mg L⁻¹ di acido caftarico).

Come già descritto per vino bianco trattato e vino sintetico, si osserva una forte e positiva correlazione tra GSH, SO₂ e ossigeno, confermando la stretta interazione esistente tra questi composti. Essi non sono correlati con GSSG e assorbanza, i cui livelli aumentano nel corso dell'esperimento per l'instaurarsi

di meccanismi ossidativi. Il rame, invece, è positivamente correlato con GSH, SO₂ e ossigeno; in particolare tra rame e ossigeno esiste una correlazione pari al 60%. Questo metallo è coinvolto nel consumo di ossigeno come catalizzatore della reazione di Fenton (Gunther et al., 1995) che causa la riduzione dell'ossigeno a perossido di idrogeno, composto che può reagire con SO₂, limitando l'ossidazione dell'etanolo e di altri alcoli saturi in vino e vino sintetico (Boulton et al., 1996).

Dai dati ottenuti si conferma che i composti antiossidanti investigati, quali GSH e SO₂, e la composizione del vino stesso possono aumentare il consumo di ossigeno. Il GSH può essere considerato un valido sostituto SO₂ ed assicura una protezione simile contro l'insorgere di fenomeni ossidativi; un maggior controllo della vinificazione potrebbe preservare maggiori concentrazioni di GSH, limitando di conseguenza l'uso di SO₂ ed i problemi di salute ad essa correlati. Quando entrambi i composti sono aggiunti, il consumo di ossigeno è più veloce e l'insorgenza dei fenomeni ossidativi potrebbe essere limitata. In particolare, la presenza di quantità più elevate di SO₂ limita l'aumento del livello di GSSG e del valore di assorbanza. Ben nota è, infatti, la capacità di SO₂ di ridurre i fenoli ossidati (Danilewicz et al., 2008). Comunque, l'incremento dei contenuti di GSSG e GRP non è sufficiente a spiegare la diminuzione della concentrazione di GSH, che si potrebbe degradare o precipitare. Anche il rame svolge un ruolo essenziale nei processi ossidativi, correlato non solo con l'ossigeno, ma anche con GSH e SO₂. Ricerche più approfondite dovrebbero essere focalizzate sul ruolo che il rame gioca nell'ossidazione del vino e sui composti che derivano dall'auto-ossidazione dei fenoli per una maggiore comprensione dei meccanismi che avvengono nel corso dell'invecchiamento del vino bianco.

Bibliografia

- Boulton et al., 1996. Principles and Practices of Winemaking. Chapman and Hall, New York.
- Cheyrier et al., 1986. Characterization of 2-5-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34:217-221.
- Cheyrier et al., 1988. Oxidation of grape phenolic compounds in model solution. *Journal of Food Science*, 53, 1729-1732.
- Cheyrier et al., 1989. Mechanisms of *trans*-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solution containing grape polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1069-1071.
- Cilliers e Singleton, 1989. Nonenzymatic autoxidative phenolic browning reaction in a caffeic acid model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 890-896.
- Cilliers e Singleton, 1990a. Caffeic acid autoxidation and the effect of thiols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1789-1796.
- Cilliers e Singleton, 1990b. Nonenzymatic autoxidative reaction of caffeic acid in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41, 84-86.
- Cilliers e Singleton, 1991. Characterization of the products of nonenzymatic autoxidative phenolic reactions in a caffeic acid model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1298-1303.
- Danilewicz et al., 2008. Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59:128-136.
- Danilewicz, 2003. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54:73-85
- Danilewicz, 2007. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58:53-60.
- Fabios et al., 2000. Phenolic compounds and browning in sherry wines subjected to oxidative and biological aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2155-2159.
- Gunther et al., 1995. Hydroxyl radical formation from cuprous ion and hydrogen peroxide: a spin-trapping study. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 316:515-522.
- Labrousche et al., 2005. Isomeric influence on the oxidative coloration of phenolic compounds in a model white wine: comparison of (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9993-9998.
- Lavigne e Dubourdieu, 2004. Affinamento sulle fecce e freschezza dei vini bianchi. *VigneVini*, 31:58-66.
- Li et al., (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, 108, 1-13.
- Papadopoulou e Roussis, 2008. Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by glutathione and N-acetylcysteine. *International Journal of Food Science and Technology*, 43:1053-1057.
- Riberau-Gayon et al., 2006. Handbook of enology, vol. 2, The chemistry of wine stabilization and treatments (2nd ed.). Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Roussis e Sergianitis, 2008. Protection of some aromas volatiles in a model wine medium by sulphur dioxide and mixtures of glutathione with caffeic acid or gallic acid. *Flavour and Fragrance Journal* 23:35-39.

Salgues et al., 1986. Oxidation of grape juice 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid by *Botrytis cinerea* laccase and characterization of a new substance: 2,5-di-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid. Journal of Food Science 51:1191-1194.

Simpson, 1982. Factors affecting oxidative browning of white wine. Vitis, 21, 233-239.

Singleton et al., 1984. Caftaric acid in grapes and conversion to a reaction product during processing. Vitis 23: 113-20.

Waterhouse, 2002. Wine phenolics. Annals of the New York Academy of Sciences, 957, 21-36.

ABSTRACT

Le proprietà antiossidanti del glutatione (GSH) e dell'anidride solforosa (SO₂) sono ben note. Il GSH riduce gli o-chinoni prevenendone la polimerizzazione e la comparsa di imbrunimenti; inoltre, limita la diminuzione degli aromi tiolici e sfavorisce la formazione di off-flavours. L'SO₂ ha attività antisettica, antiossidativa ed antiossidante; quest'ultima si realizza riducendo il perossido di idrogeno e i fenoli ossidati.

Nella ricerca presentata sono stati valutati la velocità di ossidazione e i prodotti derivanti dall'acido caffeico (come fenolo modello) in Sauvignon blanc e in soluzione idroalcolica, in presenza di differenti contenuti di GSH e/o SO₂. Inoltre, sono stati considerati 13 Sauvignon blanc, con e senza aggiunta di SO₂, il cui effetto è stato valutato sul contenuto fenolico.

L'SO₂ aumenta la velocità del consumo di ossigeno in entrambe le prove eseguite, mentre il GSH ha mostrato una scarsa influenza. La concentrazione di glutatione ossidato e di acido 2-S-glutathionil caftarico in vino, principali composti derivanti dai meccanismi ossidativi, è incrementata anche fino a 8 volte. I livelli di GSH e SO₂ diminuiscono, in alcuni casi fino a scomparire, nel corso di 60 giorni. Nella soluzione modello si rileva una diminuzione dell'acido caffeico che, inaspettatamente, non è correlata a SO₂, e un aumento dell'acido tartarico sia nei vini, che in soluzione idroalcolica. Anche il rame è strettamente correlato al consumo di ossigeno.