



VERDICCHIO MACERATO IN RIDUZIONE: COME EVOLVONO GLUTATIONE E BIOFENOLI

Il Verdicchio ottenuto in condizioni di "riduzione" è stato confrontato con un Verdicchio di controllo. È stato registrato un andamento a campana del livello di GSH, con un picco massimo durante il processo di fermentazione; dopo sei mesi di maturazione il GSH non era più rilevabile. Acido caffeico, cumarico, i loro esteri e le proantocianine sono presenti maggiormente nel vino conservato per sei mesi, e quindi possono essere considerati i marcatori chimici della maturazione. Altri fenoli naturali (ad es., acido caftarico) calavano durante la conservazione. L'etilcaffeato aumentava in tutti i campioni durante la fermentazione e la maturazione, a conferma della sua origine come prodotto di condensazione fra l'acido caffeico e l'etanolo dopo l'idrolisi dell'acido caftarico.



Di
Fabrizio Rossetti
Emanuele Boselli
 Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche - Ancona

Giuseppe di Lecce
 Nutrition and Food Science Department, XaRTA, INSA, Pharmacy School, Università di Barcellona (Spagna)

Giuliano D'Ignazi
 Terre Cortesi Moncaro - Montecarotto (AN)

(Da sinistra nella foto)

INTRODUZIONE

■ La vinificazione in riduzione viene usata da qualche decennio per la produzione di vini di alta qualità. Consiste nella macerazione del mosto di uve bianche in un'atmosfera a basso tenore di ossigeno ottenuta attraverso l'aggiunta di anidride carbonica, azoto, argon o loro miscele (Di Lecce, Arranz, Estruch, & Lamuela-Raventós, 2011).

■ La macerazione solitamente è condotta in presenza di antiossidanti come acido ascorbico e solfiti (Antonelli, Arfelli, Masino, & Sartini, 2010) e permette di ottenere vini bianchi con un contenuto maggiore di composti dell'aroma e loro precursori, come ad esempio i tioli varietali "graditi" (Dubourdieu, Tominaga, Masneuf, Peyrot des Gachons, & Murat, 2006), oltre agli antiossidanti fenolici (Darias-Martin,

Rodriguez, Diaz & Lamuela-Raventós, 2000; Falqué & Fernandez, 1996; Ough, 1969).

■ C'è una stretta relazione funzionale tra sostanze fenoliche e glutazione (GSH). Quest'ultimo è un antiossidante tri-peptidico presente nelle uve (Adams & Liyanage, 1993), nei mosti (Cheyner, Souquet, & Moutounet, 1989; Dubourdieu & Lavigne - Cruege, 2003), e nei vini bianchi (Lavigne, Pons, & Dubourdieu, 2007). Il gruppo tiolico del GSH può ridurre le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e rigenerare quindi i prodotti di ossidazione dei fenoli (i chinoni), alle sostanze fenoliche native (Singleton, Zaya, Trousdale, & Salgues, 1984).

■ I livelli di GSH in diverse varietà di uve possono variare da 17,3 a 114 mg kg⁻¹, mentre è stato osservato che il contenuto nei mosti

varia tra 1 e 20 mg L⁻¹ (Cheyner *et al.*, 1989). Il GSH rappresenta circa 10 g kg⁻¹ di peso secco dei lieviti e costituisce più del 95% del pool dei tioli a basso peso molecolare; il GSH è rilasciato dai lieviti al termine della fermentazione alcolica (Elkens, Jaspers, & Penninckx, 1991). Il livello di GSH nel vino bianco dipende dal contenuto nei mosti e dalla qualità della fermentazione alcolica e diminuisce durante la maturazione (Lavigne *et al.*, 2007). La fortissima reattività del GSH ridotto, sia con l'ossigeno, che con i composti fenolici, probabilmente



DOCUMENTO TECNICO

spiega il motivo per cui ci sono solo pochi studi sulla determinazione del GSH ridotto nei mosti e nel vino.

■ Lavori passati hanno mostrato che la presenza dell'acido caffeico, del GSH e dell'anidride solforosa rallentava il calo di diversi esteri e terpeni volatili nel vino bianco (Roussis, Lambropoulos, & Tzimas, 2007). Per quanto riguarda l'applicazione commerciale, alcuni produttori di ingredienti su scala industriale forniscono formule di lieviti incapsulati o inattivati che rilasciano quantità certificate di glutazione (nell'ordine di 20-30 g kg⁻¹ del peso della formulazione), sia come nutriente della fermentazione, sia come conservante (antiossidante) del profilo aromatico dopo la fermentazione stessa.

■ La composizione e la concentrazione fenolica giocano un ruolo cruciale nel profilo sensoriale degli aromi del vino bianco, che dipende dalla *cultivar* o dall'uvaggio usati, dalle pratiche agronomiche, dallo stadio della maturazione (De Simón, Hernández, Estrella, & Gómez-Cordovés, 2005), dalle condizioni stagionali (Ojeda, Andary, Kraeva, Carboneau, & Deloire, 2002), dall'area di produzione (Broussaud, Cheynier, Asselin, & Moutounet, 1999) e dalla resa del frutto (Mazza, 1995). I flavan-3-oli (o catechine) sono responsabili del gusto astringente e amaro e della struttura del vino (Singleton & Esau, 1969) e delle reazioni di imbrunimento nell'uva e nel vino (Macheix, Sapis, & Fleuriet, 1991). Gli acidi idrossicinnamici sono i maggiori composti fenolici presenti nelle vinacce e il loro contenuto aumenta con il tempo di contatto tra il mosto e le parti solide (Fuhrman, Volkova, Suraski & Aviram, 2001).

■ Studi recenti mostrano che gli acidi fenolici (ad esempio l'acido caffeico) e i flavonoidi vengono assorbiti nell'uomo e si trovano nell'urina e nel plasma in forma non coniugata (Azuma *et al.*, 2000; Choudhury, Srari, Debnam, & Rice-Evans, 1999). In un lavoro precedente (Frega, Boselli, Bendia, Minardi, & Benedetti, 2006), è stato visto che l'etil caffeato (CfE) è un fenolo naturale presente solo nel vino in conseguenza della condensazione dell'acido caffeico presente nella polpa dell'acino con l'etanolo formato dopo la fermentazione alcolica. Questo composto è più lipofilo rispetto alla forma libera (l'acido caffeico) e presumibilmente più prontamente assorbibile dalle membrane cellulari. Boselli, Bendia, Di

Fig. 1 - Tracciato HPLC del glutatione ridotto nel mosto di Verdicchio mM60 (A) e 6C (B), rispettivamente.

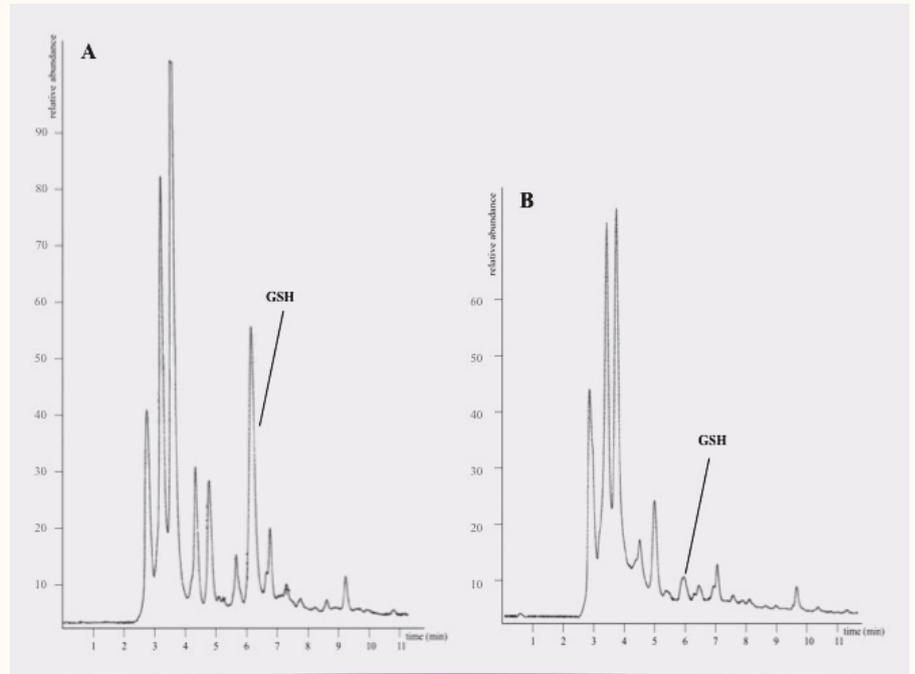
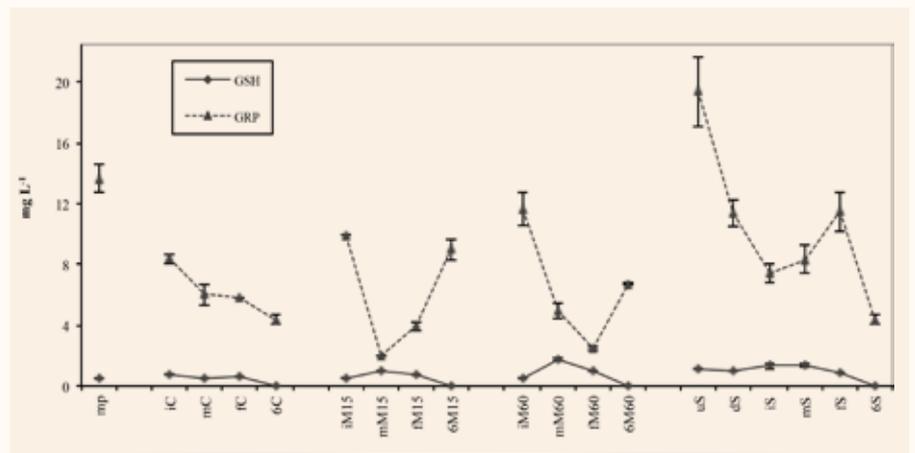


Fig. 2 - Andamento delle concentrazioni di GSH e GRP nel mosto fiore (mp), nel vino di controllo (C), nel vino con macerazione al 15% (M15), al 60% (M60) e nel Superiore (S) (ulteriori abbreviazioni nella Procedura di campionamento).



Lecca, Benedetti e Frega, (2009) hanno anche dimostrato che il CfE estratto dal vino Verdicchio potrebbe avere effetti epatoprotettivi e antifibrotici, agendo sia a livello cellulare che molecolare *in vitro* e *in vivo*.

■ Il Verdicchio è la più importante varietà di uva bianca locale coltivata nella regione delle Marche. Lo scopo di questo lavoro era quello di studiare l'effetto della macerazione, a diffe-

renti percentuali di vinaccia (15% e 60%), e in condizioni di riduzione, sulla frazione fenolica e sul livello di GSH del mosto e del vino di Verdicchio, durante la fermentazione alcolica e dopo sei mesi di maturazione. Sono stati scelti per l'esperimento due diversi lotti di uve di Verdicchio con differenti contenuti zuccherini. Il processo di vinificazione è stato realizzato su scala industriale in due lotti da 300 e 10 hL.



MATERIALI E METODI

Procedura di campionamento

■ I campioni di mosti e vini bianchi sono stati ottenuti dalle uve di Verdicchio in condizioni di "riduzione": i grappoli sono stati raccolti manualmente presso l'azienda vitivinicola Terre Cortesi-Moncaro a Montecarotto (AN) e immediatamente refrigerati (5 - 10 °C) con ghiaccio secco prima della pigiatura. Sono stati aggiunti metabisolfito di potassio in polvere (70 mg kg⁻¹) ed acido ascorbico (40 mg kg⁻¹) per proteggere il mosto dall'ossidazione.

■ Il primo lotto di campioni è stato ottenuto dalla selezione di uva di Verdicchio con un contenuto totale di zuccheri di 25.0 g 100 mL⁻¹. Dopo la pigiatura, il succo è stato suddiviso in tre aliquote: l'aliquota C rappresentava il mosto di controllo costituito da 300 hL di mosto; M15 era il mosto sottoposto alla macerazione con il 15% (150 g L⁻¹) di vinaccia e M60 rappresentava il mosto con il 60% (600 g L⁻¹) di vinaccia. M15 e M60 avevano un volume pari a 10 hL ognuno. M60 è stato ottenuto dalla rimozione di una parte del mosto, quindi aumentando la quota di vinacce fino al valore riportato.

■ La macerazione è stata ottenuta solo nei campioni M ed è durata per l'intero periodo della fermentazione alcolica, che è stata

condotta ad una temperatura di 12- 15 °C. Dopo la svinatura il vino è stato fatto maturare in contenitori d'acciaio inossidabile per sei mesi.

■ La procedura di campionamento è stata condotta sul mosto fiore (mp) all'inizio (i), durante (m) e alla fine (f) della fermentazione alcolica e dopo un periodo di sei mesi di maturazione del vino (campione chiamato 6) in un contenitore d'acciaio inossidabile. In questo modo sono stati ottenuti i seguenti campioni: C, iC, mC, fC e 6C per il mosto di controllo; iM15, mM15, fM15 e 6M15 per il vino ottenuto con 150 g L⁻¹ di vinaccia; iM60, mM60, fM60 e 6M60 per il vino ottenuto con 600 g L⁻¹ di vinaccia.

■ Il secondo lotto di campioni è stato ottenuto selezionando l'uva di Verdicchio con un contenuto totale di zuccheri di 26.5 g 100 mL⁻¹ (campioni "Superiore") e il campionamento è stato fatto sul mosto fiore (uS), dopo la decantazione (dS), all'inizio (iS), durante (mS) ed alla fine (fS) della fermentazione alcolica e dopo un periodo di sei mesi di maturazione del vino (campione chiamato 6S) in un contenitore d'acciaio inossidabile.

■ Il processo di vinificazione è stato condotto in un contenitore di 300 hL e il vino è stato mantenuto *sur lie* (sulle proprie fecce fini) dopo la fermentazione ed il primo travaso. Un contenuto di azoto prontamente assimilabile (APA) di 150-160 mg L⁻¹ è stato assicurato durante la fermentazione alcolica di tutti i tipi di vino.

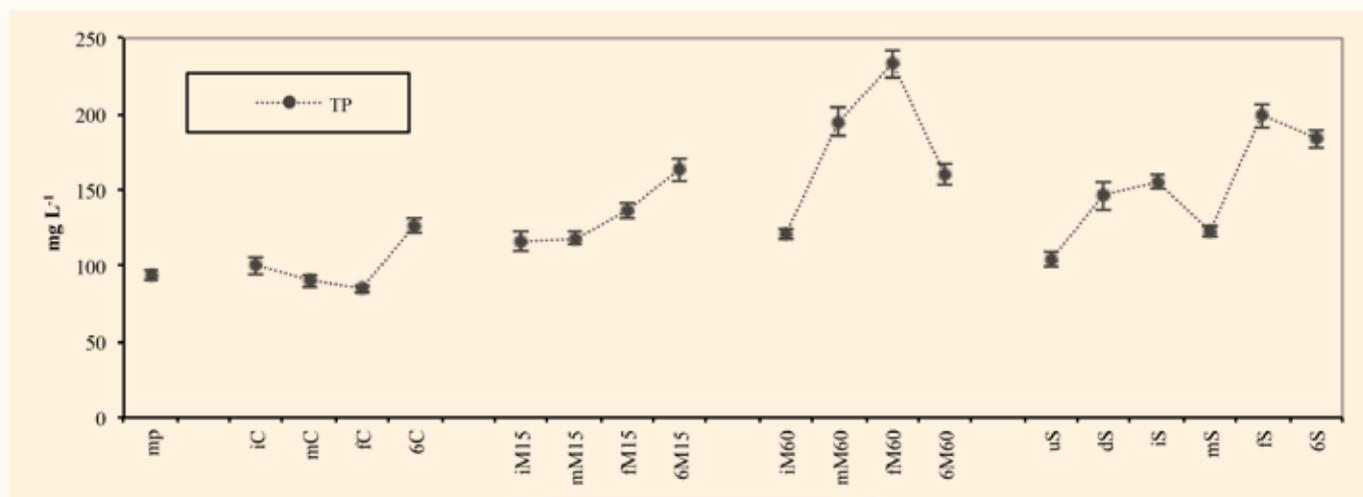
Determinazione del GSH

■ Il GSH è stato determinato seguendo la procedura descritta da Park, Boulton e Noble (2000), apportando piccole modifiche: l'orto-ftalaldeide (2mg) è stata sciolta in 5 mL di metanolo, mentre il 2-aminoetanolo è stato aggiunto (2 µL) a 5 mL della soluzione di sodio borato (pH 7.4) a 0.8 mol L⁻¹. Un'aliquota di mosto (150 µL) è stata aggiunta a 20 µL di orto-ftalaldeide e 2-aminoetanolo. La miscela è stata agitata per 1 min e immediatamente iniettata nel sistema HPLC. La soluzione di standard è stata preparata in una soluzione di tampone di acetato di sodio da 1 mmol L⁻¹ (pH 4.0) contenente 0.02 mmol L⁻¹ di EDTA. L'identificazione e la quantificazione del GSH è stata eseguita mediante HPLC con rilevatore a fluorescenza (lunghezza d'onda di eccitazione 340 nm; di emissione, 450 nm). I dati sono riportati come la media di tre determinazioni.

Caratterizzazione dei composti fenolici nei mosti e nei vini

■ La determinazione dei composti fenolici è stata ottenuta usando lo stesso sistema di cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC). Tuttavia, un rilevatore a stringa di diodi (DAD) e uno spettrometro di massa a trappola ionica sono stati accoppiati alla pompa HPLC per identificare e quantificare i composti fenolici sulla base di un lavoro precedente (Boselli, Minardi, Giomo, & Frega, 2006).

Fig. 3 - Andamento della concentrazione dei polifenoli totali (TP) nel mosto fiore (mp), nel vino di controllo (C), nel vino con macerazione al 15% (M15), al 60% (M60) e nel Verdicchio Superiore (S).





DOCUMENTO TECNICO

RISULTATI E DISCUSSIONE

■ L'uva era caratterizzata da un valore di pH di circa 3.30 - 3.35. Una differenza di 15 g L⁻¹ nel contenuto di zuccheri dei due lotti di mosto (mp and us) determina una differenza di circa 0.9% nel contenuto finale di alcol nel vino. Le **Fig. 2, 3, 4, 5**, mostrano come variavano le concentrazioni di GSH e GRP, polifenoli totali, acido caffeico ed etilcaffeato, ed acido caftarico nel mosto fiore e nelle quattro tipologie di Verdicchio durante la fermentazione e dopo sei mesi di maturazione.

Glutazione (GSH)

■ Il livello più alto di GSH, comunque inferiore a 2 mg L⁻¹, è stato rilevato nel campione mM60 (**Fig. 1A**), il mosto contenente 600 g L⁻¹ di vinaccia campionato durante la fermentazione. In **Fig. 1B** viene riportato il tracciato del mosto 6C (GSH inferiore a 0,05 mg/L⁻¹).

■ La concentrazione di GSH ridotto era di 0.51 mg L⁻¹ immediatamente dopo la pressatura (mp). Successivamente, all'inizio della fermentazione, il contenuto di GSH è aumentato. Nel gruppo C, i livelli di GSH a metà della fermentazione erano già diminuiti del 32% rispetto al contenuto iniziale.

■ Al contrario, i campioni ottenuti con la macerazione (M15 e M60) hanno mostrato un andamento a campana: è stato raggiunto un incremento del 78% e del 213% rispettivamente nei campioni mM15 e mM60. Nei mosti

macerati, il livello di GSH ridotto alla fine della fermentazione era del 38% e del 77% più alto se comparato con i valori iniziali, a differenza del vino di controllo e del Superiore.

■ Le uve "S" hanno raggiunto un grado maggiore di maturità, tuttavia il mosto non è stato sottoposto a macerazione. Un calo di GSH ridotto è stato registrato nella fase di decantazione del mosto. Dopo aver raggiunto il massimo valore a metà della fermentazione, il livello di GSH è diminuito alla fine della fermentazione fino al valore ottenuto nei campioni macerati con 600 g L⁻¹ di vinacce.

■ Un periodo di 6 mesi di maturazione ha portato alla completa degradazione del GSH ridotto in tutti i vini.

Profilo fenolico

■ Come prevedibile, durante la fermentazione alcolica è stato registrato in tutti i campioni un incremento della somma delle sostanze fenoliche (TP in **Fig. 3**) rilevate tramite HPLC, eccetto nel vino di controllo, il quale conteneva il livello più basso di sostanze fenoliche fra i campioni.

■ All'inizio della fermentazione, i campioni iC, iM15 e iM60 hanno mostrato un contenuto più alto della somma dei fenoli rilevati tramite HPLC rispetto al mosto di controllo (mp). In generale, la diminuzione dei composti fenolici durante la fermentazione del campione di controllo, era attribuibile all'acido caftarico, all'acido glutationilcaftarico (GRP), all'acido caffeico ed alla (-) - epicatechina.

■ Nei campioni soggetti al contatto con le

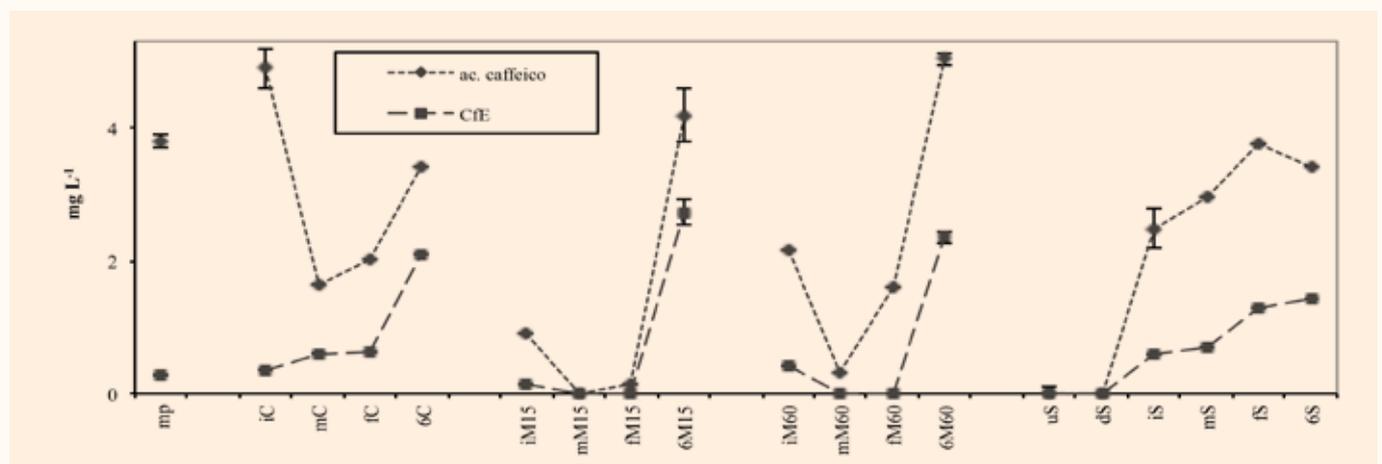
bucce, la quantità di sostanze fenoliche aumentava (**Fig. 3**, campioni M). Anche in questo caso l'incremento era maggiore nei campioni soggetti a macerazione con una maggiore quantità di vinaccia.

■ Il principale aumento nei campioni M15 e M60 è stato visto per l'acido gallico, per l'acido caftarico e per gli acidi cis- e trans- cutarico (Di Lecce *et al.*, 2013). Gli acidi caftarico, cis e trans-cutarico e ferarico sono gli acidi cinnamici formati negli acini d'uva dall'esterificazione dell'acido caffeico, cumarico e ferulico rispettivamente con l'acido tartarico.

■ Il Verdicchio è stato già descritto come una buona fonte di questi congeneri in un lavoro precedente (Boselli *et al.*, 2009). Visto che tutti i composti fenolici sono proni all'ossidazione, il GSH può reagire con la forma chinonica degli acidi cinnamici attraverso un'addizione elettrofila che porta alla rigenerazione della forma cinnamica. In alternativa, le specie libere degli acidi cinnamici possono formarsi a partire dall'idrolisi degli esteri tartarici, che porta alla formazione dei loro precursori (acido caffeico, cumarico e ferulico). Questa ipotesi è stata confermata dall'aumento dell'acido caffeico, registrato dopo sei mesi (6M15 e 6M60, **Fig. 4**) e dalla contemporanea diminuzione degli esteri tartarici nei vini macerati.

■ Nel gruppo M60, i flavanoli monomerici, cioè (+) - catechina e (-) - epicatechina, aumentavano considerevolmente rispetto ai campioni C e M15. I flavan-3-oli sono localizzati nell'epidermide degli acini e la macerazione con le vinacce favorisce la migrazione in soluzione di (+) - catechina e (-) - epicatechina

Fig. 4 - Andamento delle concentrazioni di acido caffeico ed etilcaffeato (CfE) nel mosto fiore (mp), nel vino di controllo (C), nel vino con macerazione al 15% (M15), al 60% (M60) e nel Superiore (S).





DOCUMENTO TECNICO

nel mosto in fermentazione. Il campione fM60 mostrava, alla fine della fermentazione, un contenuto fenolico (233 mg L^{-1}) che era maggiore rispetto ai campioni fC e fM15 (Fig. 3).

■ Il contenuto di (+) - catechina era maggiore solo nei campioni che avevano subito la macerazione. Successivamente, durante sei mesi di conservazione, la catechina dimerizzava con formazione di cogeneri di proantocianine. Il trans-resveratrolo è presente nell'epicarpo dell'uva; era immediatamente disponibile nel mosto ed è stato rilevato in tutti i campioni in piccole concentrazioni. La sua concentrazione nei mosti macerati era positivamente correlata con la percentuale di vinaccia e il valore massimo è stato rilevato nel M15 e nel M60 a metà della fermentazione (rispettivamente 2.9 e 4.3 mg L^{-1}). Nel controllo C, e nei campioni M15 e M60, il trans-resveratrolo mostrava lo stesso andamento; aumentava nelle prime fasi della fermentazione, e poi diminuiva. Probabilmente, dopo le fasi della fermentazione e durante la conservazione del vino, il trans-resveratrolo era degradato durante il processo di ossidazione e spariva.

■ Dopo sei mesi di conservazione, nei campioni di 6M60, è stata registrata una diminuzione dei composti fenolici. Questo calo è da imputare all'acido gallico, all'acido protocatechico, all'acido caftarico, all'acido cis- e trans-cumarico ed alla (+) - catechina. Al contrario, nei campioni 6C e 6M15, è stato osservato un andamento opposto: la somma dei composti fenolici (TP) aumentava del 49% e del 20% rispettivamente. Il campione 6M15 raggiungeva circa lo stesso valore del Verdicchio 6M60.

■ Nei mosti di Verdicchio Superiore (S), il contenuto dei composti fenolici aumentava già nelle prime fasi della vinificazione (da uS a iS). Successivamente, durante la fermentazione è stato registrato un andamento non lineare e la massima concentrazione di composti fenolici è stata rilevata al termine della fermentazione (Fig. 3, campioni S). Il campione fS ha mostrato un contenuto più alto di sostanze fenoliche dell'fC e dell'fM15, ma più basso (del 17%) rispetto all'fM60. Il contenuto fenolico del Verdicchio Superiore (6S) è diminuito dopo la maturazione rispetto all'fS, a causa della diminuzione dell'acido gallico, protocatechico, caftarico, tirosolo, GRP e (+)-catechina.

Etil caffeato (CFE)

■ L'etil caffeato (CFE) è il prodotto di condensazione dell'acido caffeico e dell'etanolo. È stato riscontrato nel Verdicchio in quantità apprezzabili e ha mostrato significative attività biologiche in vivo (Frega *et al.*, 2006). Tuttavia, fino ad ora non sono stati pubblicati dati sul rapporto tra il CFE, i suoi precursori (acidi caftarici e caffeici), né l'influenza del glutatone sulle reazioni collaterali che portano alla formazione di GRP durante il processo di vinificazione.

■ Nel gruppo C, il CFE aumentava dopo la pressatura dell'uva in condizioni di riduzione, tra l'inizio e la fine della fermentazione alcolica. Considerando i mosti durante la fermentazione, il CFE era assente nei campioni M15 ed M60, probabilmente a causa del basso contenuto di acido caffeico libero, sebbene i corrispondenti mosti M15 ed M60 contenessero

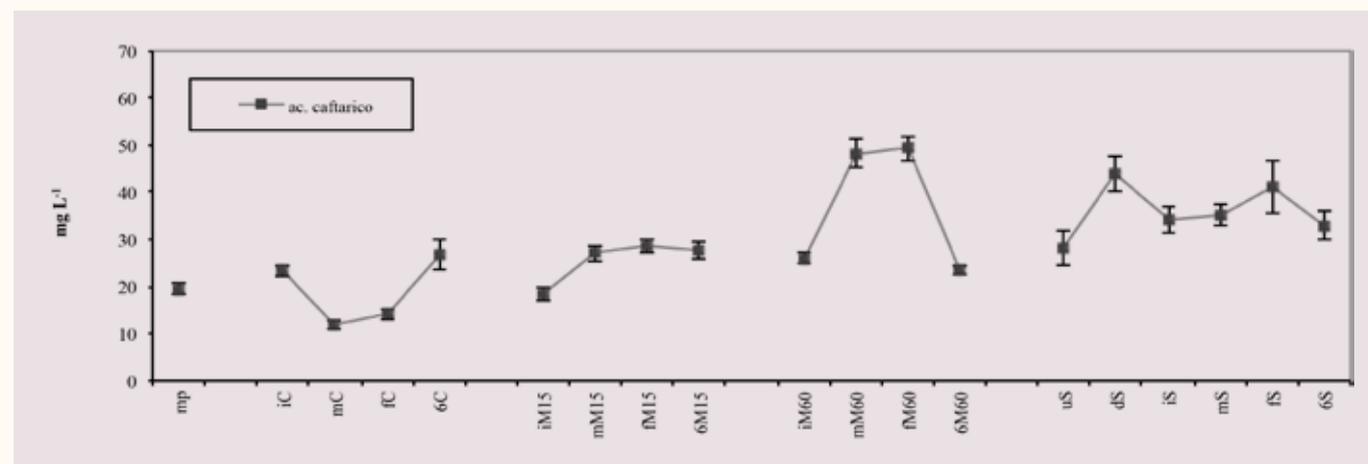
più acido caftarico rispetto al controllo (Fig. 5).

■ Questa evidenza sperimentale dimostrerebbe che il precursore diretto del CFE dovrebbe essere l'acido caffeico libero, proveniente dall'idrolisi dell'acido caftarico. La formazione diretta del CFE dall'acido caftarico è perciò fortemente limitata dall'ingombro sterico di quest'ultimo. Dopo sei mesi di conservazione, 6C, 6M15 e 6M60 mostravano un contenuto di CFE rispettivamente di 2.1 , 2.7 e 2.3 mg L^{-1} , che era la massima concentrazione registrata tra i vini (Fig. 4).

■ Nel Verdicchio Superiore (Fig. 4), il CFE non è stato rilevato nella prima fase della vinificazione (campioni uS e dS). Successivamente, durante la fermentazione, il CFE aumentava da 0.6 a 1.3 mg L^{-1} e fino a 1.4 mg L^{-1} dopo sei mesi di conservazione. Questo andamento è in accordo con quanto suggerito sopra, poiché il CFE aumenta quando è presente una più alta concentrazione di acido caffeico libero, come ad esempio nel vino 6C; infatti, il rapporto quantitativo caftarico/caffeico del vino di controllo dopo sei mesi (7.9) è molto più basso rispetto a quello del vino Superiore (12.1).

■ Gli esteri etilici degli acidi cinnamici mostravano quindi un destino differente, se paragonati agli altri composti fenolici. Infatti il CFE e il CmE aumentavano durante la fermentazione e in particolare durante la conservazione del Verdicchio, a causa dei fenomeni di condensazione con l'etanolo formato dopo l'intervento dei lieviti. Ne deriva che, ovviamente, gli esteri cinnamici erano correlati agli acidi loro precursori, l'acido caffeico e cumarico, rispettivamente.

Fig. 5 - Andamento della concentrazione di acido caftarico nel mosto fiore (mp), nel vino di controllo (C), nel vino con macerazione al 15% (M15), al 60% (M60) e nel Superiore (S).





DOCUMENTO TECNICO

DISCUSSIONE
DEI RISULTATI

■ Dal punto di vista dell'andamento durante il processo di vinificazione e conservazione, i fenoli del Verdicchio possono essere classificati in due gruppi: il primo gruppo è costituito da acido caffeico, cumarico, i loro esteri e la proantocianina. Questi infatti sono presenti maggiormente nel vino conservato per sei mesi, e quindi possono essere considerati i marcatori chimici della maturazione.

■ Tutti gli altri fenoli invece, eccetto il resveratrolo, sono presenti maggiormente nel Verdicchio Superiore e nel vino macerato con il 60% di vinacce, subito dopo la fermentazione primaria. Questo può essere dovuto alla maggiore solubilità e quindi alla diffusione dei fenoli provenienti dalle parti solide dell'uva in un ambiente idroalcolico piuttosto che nel mosto. Il contenuto di resveratrolo era anche maggiore nei mosti macerati (si diffonde dalle vinacce), ma ha raggiunto il suo massimo durante la fermentazione primaria e poi diminuiva.

■ D'altra parte il tirosolo mostrava una correlazione abbastanza buona con l'attività del lievito e, quindi, con il contenuto di etanolo ($R^2 = 0.43$). Il GRP invece era particolarmente più elevato nel mosto all'inizio della fermentazione, e poi diminuiva. Nei campioni non vi era nessuna correlazione tra il GRP e GSH.

■ Il venir meno delle condizioni di riduzione, che avviene dopo la fermentazione, causa il calo del GSH ridotto, probabilmente a causa della condensazione con l'acido caftarico e della formazione di GRP. Questa ipotesi è supportata dall'incremento di GRP nei vini macerati durante la maturazione, come è riportato nella **Fig. 2**.

CONSIDERAZIONI
CONCLUSIVE

■ Il processo di vinificazione in condizione di riduzione combinato con la vinificazione con macerazione ha permesso di ottenere un mosto fermentato di Verdicchio con una maggiore concentrazione, sia di GSH ridotto, sia di composti fenolici totali, rispetto al controllo. Il contenuto di GSH e tirosolo aumentava con la percentuale di vinacce durante la fermentazione con macerazione. E' stato registrato un

andamento a campana del livello di GSH con un picco massimo durante il processo di fermentazione. Dopo sei mesi di maturazione il GSH non era più rilevabile nei campioni.

■ La macerazione in condizioni di riduzione ha avuto anche un'influenza positiva sul contenuto dei composti fenolici; quest'aumento era strettamente legato al contenuto di vinacce (0-15-60%), piuttosto che al grado alcolico potenziale del mosto.

■ L'acido caftarico aumentava nella prima fase della vinificazione e durante la fermentazione alcolica.

■ Successivamente, l'idrolisi del legame estere dell'acido caftarico nei primi sei mesi di maturazione ha portato al rilascio dell'acido caffeico libero. Nello stesso periodo (durante la maturazione del vino), la condensazione tra alcol etilico e acido caffeico formava il CFe.

■ Per quanto ci risulta, questa è la prima volta che l'andamento della cinetica del CFe e dei derivati idrossicinnamici è stato studiato durante il processo della vinificazione del Verdicchio in condizioni di riduzione. ■

BIBLIOGRAFIA

- Adams, D. O., & Liyanage, C. (1993). Glutathione Increases in Grape Berries at the Onset of Ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44: 333-338.
- Antonelli, A., Arfelli, G., Masino, F., & Sartini, E. (2010). Comparison of traditional and reductive winemaking: influence on some fixed components and sensorial characteristics. *European Food Research and Technology*, 231: 85-91.
- Azuma, K., Ippoushi, K., Nakayama, M., Ito, H., Higashio, H., & Terao, J. (2000). Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5496-5500.
- Boselli, E., Bendia, E., Di Lecce, G., Benedetti, A., & Frega, N. G. (2009). Ethyl caffeate from Verdicchio wine: Chromatographic purification and in vivo evaluation of its antifibrotic activity. *Journal of Separation Science*, 32: 1-6.
- Boselli, E., Minardi, M., Giomo, A., & Frega, N. G. (2006). Phenolic composition and quality of white d.o.c. wines from Marche (Italy). *Analytica Chimica Acta*, 563: 93-100.
- Broussaud, F., Cheyner, V., Asselin, C., & Moutounet, M. (1999). Flavonoid compositional differences of grapes among site test plantings of Cabernet franc. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 277-284.
- Cheyner, V., Souquet, J. M., & Moutounet, M. (1989). Glutathione content and glutathione to hydroxycinnamic acid ratio in *Vitis vinifera* grapes and musts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40: 320-324.
- Choudhury, R., Srai, S. K., Debnam, E., & Rice-Evans, C. A. (1999). Urinary excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration. *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 278-286.
- Darias-Martin, J.J., Rodriguez, O., Diaz, E., & Lamuela-Raventos, R. M. (2000). Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine. *Food Chemistry*, 71: 483-487.

- De Simón, B. F., Hernández, T., Estrella, I., & Gómez-Cordovés, C. (2005). Variation in phenol content in grapes during ripening: low-molecular-weight phenols. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 194: 351-354.
- Di Lecce, G., Arranz, S., Estruch, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (2011). Effect of Winemaking Techniques on Bioactive Compounds in White and Red Wine. In A.S. Peeters (Eds.), *Wine: Types, Production and health*. Hauppauge, NY (USA): Nova Science Publishers, Inc.
- Di Lecce, G., Boselli, E., D'Ignazi, G., & Frega, N. G. (2013). Evolution of phenolics and glutathione in Verdicchio wine obtained with maceration under reductive conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 53(1): 54-60.
- Dubourdiou, D., & Lavigne-Cruege, V. (2003). Il ruolo del glutathione sull'evoluzione aromatica dei vini bianchi secchi. *Vinidea rivista internet tecnica del vino*, 7.
- Elskens, M.T., Jaspers C.J., & Penninckx, M.J. (1991). Glutathione as an endogenous sulphur source in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*, 137: 637-644.
- Falqué, E., & Fernandez, E. (1996). Effect of different skin contact times on Treixadura wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 309-311.
- Frega, N.G., Boselli, E., Bendia, E., Minardi, M., & Benedetti, A. (2006). Ethyl caffeate: Liquid chromatography-tandem mass spectrometric analysis in Verdicchio wine and effects on hepatic stellate cells and intracellular peroxidation. *Analytical Chimica Acta*, 563: 375-381.
- Fuhrman, B., Volkova, N., Suraski, A., & Aviram, M. (2001). White wine with red wine-like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3164-3168.
- Lavigne, V., Pons, A., & Dubourdiou, D. (2007). Assay of glutathione in must and wines using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection - Changes in concentration in dry white wines during alcoholic fermentation and aging. *Journal of Chromatography A*, 1139: 130-135.
- Macheix, J.J., Sapis, J.C., & Fleuriet, A. (1991). Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 30: 441-486.
- Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 35: 341-371.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., & Deloire, A. (2002). Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 261-267.
- Ough, C.S. (1969). Substances extracted during skin contact with white musts. I. General white wine composition and quality changes with contact time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20: 93-100.
- Park, S.K., Boulton, R.B., & Noble, A.C. (2000). Automated HPLC analysis of glutathione and thiol-containing compounds in grape juice and wine using pre-column derivatization with fluorescence detection. *Food Chemistry*, 68: 475-480.
- Roussis, G.I., Lambropoulos, I., & Tzimas, P. (2007). Protection of volatiles in a wine with low sulfur dioxide by caffeic acid or glutathione. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 274-278.
- Singleton, V.L., & Esau, P. (1969). Phenolic substances in grapes and wine and their significance. *Advanced Food Research*, 1: 1-261.
- Singleton, V. L., Zaya, J., Trousdale, E., & Salgues, M. (1984). Caftaric acid in grapes and conversion to a reaction product during processing. *Vitis*, 23: 113-120.