

PROFILO FENOLICO, AROMATICO E ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE DEL PASSITO DI SARACENA

Il Passito di Saracena, un vino dolce prodotto con uve locali non macerate (Guarnaccia, Malvasia and Moscato), è stato analizzato per il suo profilo fenolico e aromatico e per l'attività antiossidante. Le più abbondanti classi di fenoli identificati in HPLC è quella degli acidi idrossibenzoici e dei flavan-3-oli. L'analisi SPME-GC-MS evidenzia la presenza di alcoli superiori (dall'iso-butanolo e iso-amilalcol al 2-feniletanolo), terpeni e composti furfurilici, sostanze odorose chiave del bouquet di questo vino. Lo screening dell'attività antiossidante ha rivelato che il passito ha attività anti-radicalica nei confronti del radicale DPPH· (valore di IC₅₀ di 0.03 v/v) e inibisce l'ossidazione dell'acido linoleico con un valore di IC₅₀ di 0.4 v/v dopo 30 minuti di incubazione.



Di
Monica R. Loizzo¹
Marco Bonesi²
Rosa Tundis³
Alessandro Pugliese
Francesco Menichini

Dipartimento di Farmacia, Scienze della Salute e della Nutrizione, Università della Calabria - Rende (CS)

Giuseppe Di Lecce
Emanuele Boselli
Natale Giuseppe Frega

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche - Ancona

INTRODUZIONE

● Il Passito di Saracena è stato spesso premiato come vino dolce italiano di alta qualità. Il mosto è ottenuto dalla spremitura di uve stramature dei vitigni autoctoni Malvasia e Guarnaccia. L'aroma e il gusto speciale derivano anche da uve Moscato, raccolte e appassite alcune settimane prima della vendemmia. Le bacche di uva Moscato sono essiccate, selezionate, pigiate, e poi aggiunte manualmente al primo mosto. La metodica tradizionale per produrre passito in Calabria (Italia) prevede la raccolta dei grappoli e la loro disposizione su un cannicciato, per permettere all'uva di essiccare al sole per 10-15 giorni, coprendola durante la notte. Dopo una lunga e lenta fermentazione, si ottiene un vino

dolce, dal colore giallo ambra con riflessi dorati, dall'aroma intenso e dal sapore di miele, fichi secchi, frutta esotica. Il bouquet del vino è dominato da alcoli, aldeidi, esteri, acidi e altri componenti minori quali composti dello zolfo e dell'azoto che sono già presenti nell'uva o si formano durante il processo di fermentazione e stoccaggio e che nell'insieme partecipano al piacevole sapore percepito quando lo si beve.

● In questo lavoro sono riportati i risultati del profilo fenolico mediante HPLC e quello della frazione volatile mediante SPME-GC-MS, nonché l'attività antiossidante del Passito di Saracena (Calabria, Italia). I risultati sperimentali pubblicati su *Journal Food Science* sono la premessa per valutare il valore commerciale e le proprietà salutistiche di questo vino da dessert, piuttosto negletto. I dati contribuiranno alla difesa

dei metodi di produzione agro-alimentare tradizionale e locale (Loizzo *et al.*, 2013).

MATERIALI E METODI

Campioni di vino

● L'indagine è stata condotta su vino Passito di Saracena ($n= 5$) maturato in un intervallo compreso tra 1 e 4 anni. Tutti i campioni sono stati acquisiti direttamente

dalle cantine. Tutte le bottiglie sono state conservate al buio (10 °C) e analizzate subito dopo l'apertura. Un'aliquota del campione (50 mL) è stata presa e mescolata con pari aliquote degli altri per ottenere un unico campione per l'analisi.

Analisi sul vino Passito

- I parametri chimici (pH, acidità totale, acidità volatile, zuccheri riducenti, tenore alcolico, ceneri, estratto secco, solfati e cloruri) sono stati determinati in base al regolamento (CEE) n. 2676/90 della Commissione.
- Gli zuccheri sono stati quantificati mediante HPLC. Il contenuto totale fenolico è stato valutato utilizzando il metodo Folin-Ciocalteu ed espresso in mg/L (+)-catechina, mentre le proantocianidine sono state determinate spettro-fotometricamente. Inoltre, la densità del colore, il colore polimerico, la % di colore polimerico, la determinazione dei fenoli a basso peso molecolare ed il profilo aromatico sono stati determinati secondo la metodologia precedentemente riportata da Loizzo *et al.* (2013).
- L'attività anti radicalica è stata determinata mediante i test ABTS e DPPH. Il β -carotene-bleaching test è stato utilizzato per determinare la protezione dall'ossidazione lipidica (Loizzo *et al.*, 2013).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Analisi fisico chimiche e profilo fenolico

● Il passito di Saracena ha mostrato una acidità totale di 6.9 g/L espresso in acido tartarico e una acidità volatile di 0.9 g/L; questi risultati sono simili ad altri vini passiti riportati in letteratura (Giordano *et al.* 2009). Il campione in sperimentazione è caratterizzato da un basso contenuto di zuccheri riducenti (116 g/L) e ceneri (2.1 g/L). Questi parametri possono variare a seconda dell'origine e dell'elaborazione dei vini (Frias *et al.* 2003). Altri vini passiti, come il Greco di Bianco DOC e il Mantónico DOC, entrambi prodotti con uve calabresi autoctone, hanno presentato rispettivamente un'acidità totale di 6.49 e 9.90 g/L. Il contenuto di zuccheri riducenti del Greco di Bianco e del Mantónico è risultato rispettivamente di 98 e 82 g/L, quindi in-

Fig. 1 - Area di produzione del Passito di Saracena.



feriori al vino passito oggetto dello studio. Tale differenza può essere dovuta al diverso stato di maturazione delle uve. Infatti, la zona di produzione, le condizioni climatiche, l'altitudine e il periodo di vendemmia sono fattori cruciali per determinare il grado zuccherino e l'acidità totale delle uve.

- Le tecniche di vinificazione, tra cui la macerazione, le modalità di fermentazione e l'invecchiamento, oltre alle pratiche agronomiche e condizioni pedoclimatiche, influiscono sul contenuto dei polifenoli totali in modo significativo (Zeppa *et al.* 2001; Rodriguez-Delgado *et al.*, 2002). Il vino passito di Saracena ha un contenuto in fenoli totali di 249 mg/L,

espressi come (+) catechina. Fuda *et al.*, (2007) hanno analizzato numerosi vini passiti prodotti in Calabria, riportando un contenuto di (+)-catechina compreso tra 7.5-33.1 mg/L per il vino dolce Mantónico D.O.C., mentre per il Greco di Bianco 2004 un contenuto di apigenina compreso tra 4.2-17.3 mg/L. Il contenuto totale dei composti fenolici quantificato mediante HPLC è stato di 460 mg/L.

- Le classi più abbondanti di composti fenolici rilevati sono state gli acidi idrossibenzoici e flavan-3-oli, dove l'acido gallico ha mostrato il più alto valore (376.5 mg/L). I flavonoli sono i più abbondanti, in particolare il monomero (+)-catechina e una procianidina dimera, rispettivamente di 72 e 195 mg/L. I fenilettil alcoli rilevati sono stati il 2-feniletanolo, l'idrossitirosole e il tirosole a concentrazione rispettivamente di 35, 78 e 148 mg/L.
- Il 2-feniletanolo è ben noto per il suo aroma floreale che deriva dal metabolismo della fenilalanina (Polášková *et al.*, 2008). Inoltre, sono state rilevate diverse forme di acidi idrossicinnamici e loro esteri con l'acido tartarico. Questi composti sono stati registrati in quantità apprezzabili e compresi in un intervallo tra 10.2 e 68.2 mg/L rispettivamente per acido tartarico e caftarico.
- Il trans-resveratrolo è stato rilevato a livelli di 4.9 mg/L. Il profilo fenolico del Greco di Bianco e del vino passito Mantónico è stato descritto da Fuda *et al.* (2007) che

Fig. 2 - Principali composti fenolici rilevati nel Passito di Saracena quantificati come: mg acido gallico /L (benzoato I e II, ac. gallico); mg acido protocatechico/L (ac. protocatechico); mg acido caffeico /L (ac. caftarico, ac. caffeico); mg tirosole/L (idrossitirosole, tirosole); mg (+)-catechina/L ((+)-catechina/L).

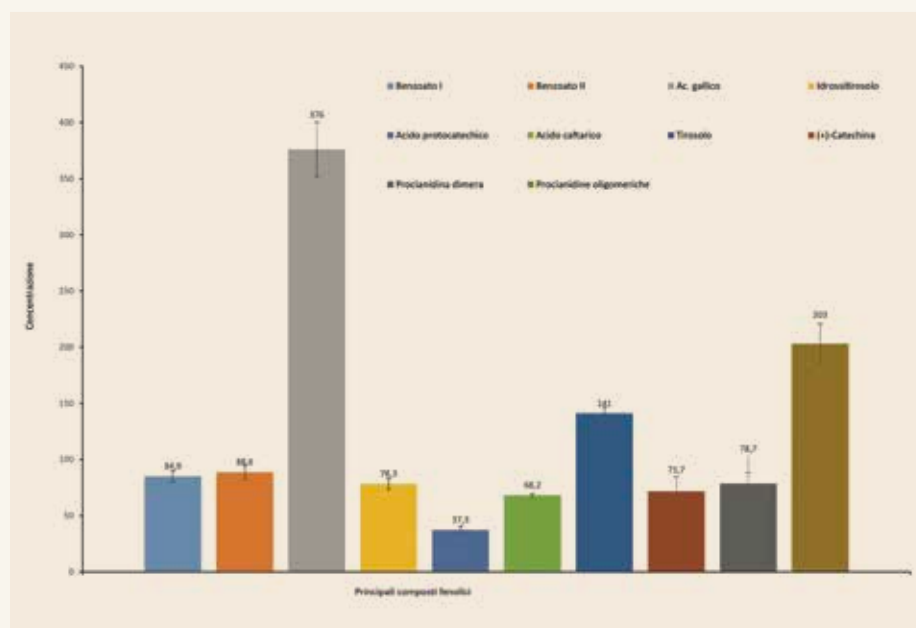
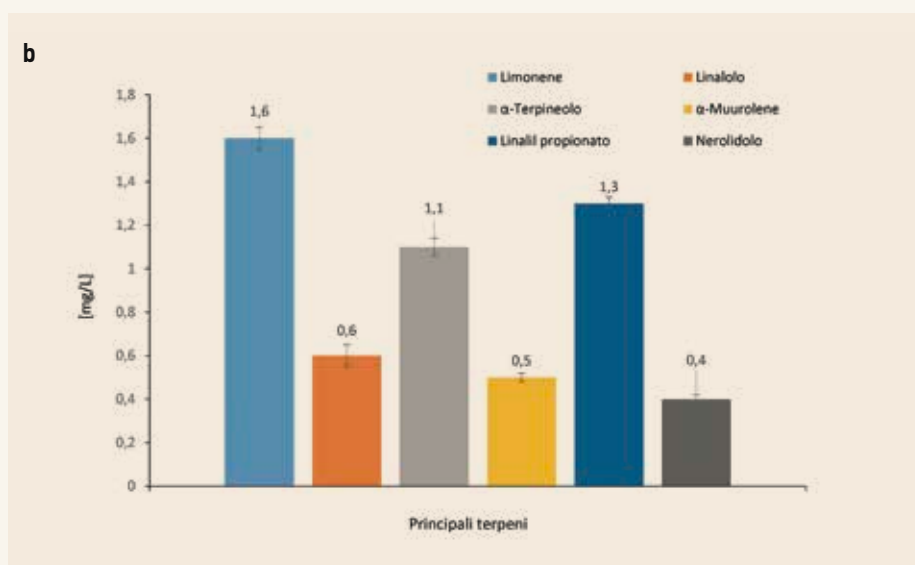
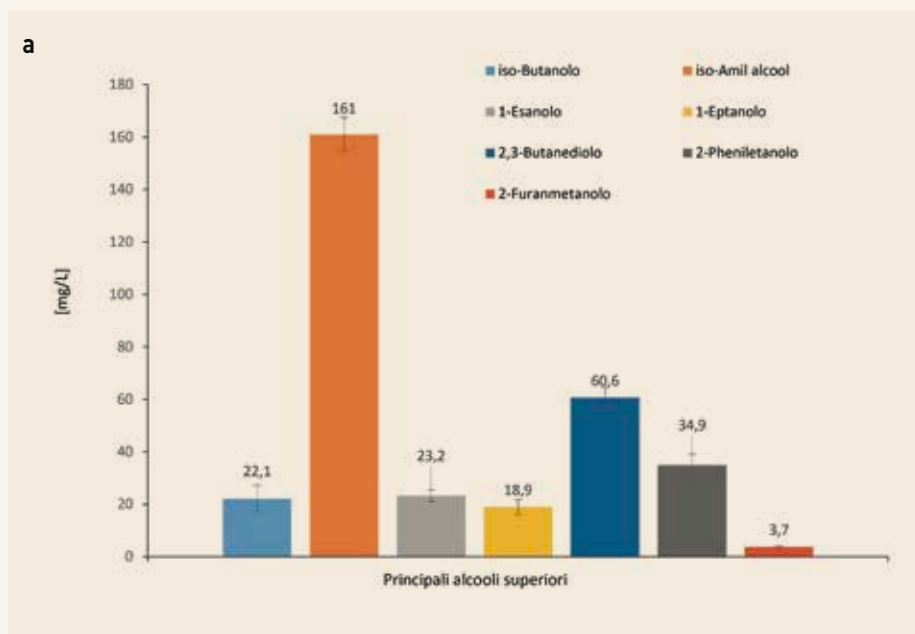


Fig. 3 - Principali alcoli superiori (a) e terpeni (b) identificati nel bouquet del Passito di Saracena.



hanno identificato come costituenti l'apigenina-7-glucoside, l'acido caffeico, la (+)-catechina, l'epicatechina, l'acido ferulico, l'acido gallico, l'acido p-cumarico, la rutina, l'acido siringico e l'acido vanillico. Nel vino Greco di Bianco e nel Montonico è stato ritrovato un alto contenuto di acido caffeico di 38.9 e 59.8 mg/L, e di acido gallico di 30.2 e 48.7 mg/L.

Composizione del bouquet

● L'analisi del bouquet ha portato all'identificazione di 42 differenti composti.

L'etilesanoato (156 mg/L), etildecanoato (135 mg/L), e l'alcool isoamilico (161 mg/L) sono risultati i costituenti dominanti. L'etilesanoato è responsabile del sentore di buccia di mela ed il decanoato di etile del sentore di frutta e odori floreali (Scacco *et al.*, 2010). Altri composti abbondantemente rilevati sono stati l'acido esadecanoico (118 mg/L), l'acido acetico (75 mg/L), il 2,3-butandiol (61 mg/L) e l'octadecanoato di etile (58 mg/L).

● Gli esteri etilici sono noti per avere sentori molto piacevoli di frutti, miele e sentori dolci, che contribuiscono alla finezza aromatica dei vini (Ugliano e Henschke

2009). Un contenuto di 6.7 mg/L di *iso*-amil acetato, un composto responsabile del sentore di banana, è stato ritrovato (Van Wyck *et al.*, 1979). Questo composto deriva dal metabolismo amminoacidico del lievito e la concentrazione nel nostro campione è in linea con quanto riscontrato per il passito Caluso, Cinque Terre Sciacchetrà e per il passito di Pantelleria (Giordano *et al.*, 2009).

● La concentrazione di questo estere nel passito di Saracena è superiore alla soglia olfattiva (0.03 mg/L) (Jiang e Zhang 2010). Gli alcoli superiori rappresentano un altro importante gruppo di volatili, identificati nel vino. Nel vino passito di Saracena sono stati identificati l'*iso*-butanolo, l'1-e-sanolo, l'1-eptanolo, il 2,3-butanediolo e il 2-furanmetanolo (**Fig. 3a**).

● Tra le aldeidi sono state identificate la 2-furancarbossaldeide (6 mg/L) e la 5-metil-2-furancarbossaldeide (8.2 mg/L). In questo vino passito, tuttavia, l'odore di mandorle amare che è caratteristica della presenza di benzaldeide era completamente assente, mentre si tratta di un componente significativamente dominante nel bouquet di vini passito come il Caluso e Cinque Terre Sciacchetrà (Giordano *et al.*, 2009).

● Numerosi studi hanno dimostrato che i terpeni sono critici nel determinare il bouquet di un vino. Il nostro campione presenta tra i costituenti α-terpinolene, α-terpinolo, limonene, linalolo, nerolidolo, linalil propionato e l'α-murolene (**Fig. 3b**). Il linalolo è l'alcool monoterpenco rappresentativo dei vini dolci e la sua presenza è correlata all'odore di acacia e di miele. Questo composto è stato rilevato anche nel vino passito Greco di Bianco DOC, ma non nel Mantonico DOC (Fuda *et al.*, 2007).

● Il profilo olfattivo del vino passito di Saracena suggerisce la presenza di frutta secca ed in particolare di fichi secchi nel suo bouquet; questi odori sono generalmente attribuiti alla presenza di C13nor-isoprenoidi che, tuttavia, non sono stati identificati nelle nostre analisi.

● Il furfurale ed i suoi derivati (2-furancarbossaldeide, 5-metil-2-furancarbossaldeide e 5-(idrossimetil)-2-furancarbossaldeide) sono considerati come alcuni dei principali prodotti del processo di imbrunimento (e marcatori di un trattamento termico). Questi composti sono stati identificati tra i costituenti volatili del campione di vino e potrebbero veicolare il flavor di frutta secca e di cotto.

Attività antiossidante del vino passito

● Le sostanze polifenoliche del vino sono agenti antiossidanti estremamente potenti, data la loro capacità di annichilire i radicali liberi (Fogliano *et al.*, 1999). Il vino Passito riduce il radicale DPPH· con un IC₅₀ di 0.03 v/v, mentre un valore di 0.60 v/v è stato trovato usando il saggio ABTS. Inoltre il vino passito mostra una promettente inibizione dell'ossidazione dell'acido linoleico (valore di IC₅₀ di 0.4 v/v a 30 min di incubazione, rispettivamente) che diminuisce linearmente dopo la diluizione.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

● In conclusione, questo lavoro ha analizzato il vino passito di Saracena relativamente al suo profilo fenolico e aromatico ed al potenziale antiossidante. Questo vino è ottenuto con uve autoctone Malvasia e Guarnaccia, con ulteriore aggiunta di uve Moscato. Le analisi chimiche hanno fornito un contributo a definire quali-quantitativamente i marcatori chimici di qualità di questo vino, necessari per assicurare l'autenticità della produzione di nicchia e la denominazione di qualità (come DOP). Inoltre, il passito ha dimostrato buone proprietà antiossidanti. Questa bio-attività potrebbe essere correlata alla presenza di flavonoidi e antociani di cui è noto l'effetto salutistico. ●

BIBLIOGRAFIA

- Fogliano, V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A. 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agr. Food Chem.* 47:1035-1340.
- Frias S Conde JE, Rodriguez-Bencomo JJ, Garcia-Montelongo F, Perez-Trujillo JP. 2003. Classification of commercial wines from the Canary Islands (Spain) by chemometric techniques using metallic contents. *Talanta* 59:335-344.
- Fuda S, De Luca S, Piscopo A, Poiana M. 2007. Caratterizzazione dei vini passiti calabresi prime osservazioni. Convegno prospettive di innovazione per il potenziamento del comparto vitivinicolo Calabrese, 13 Dicembre 2007, Lamezia Terme (CZ, Italy).
- Giordano M, Rolle L, Zeppa G, Gerbi V. 2009. Chemical and volatile composition of three Italian sweet white passito wines. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 43:159-170.
- Loizzo MR, Bonesi M, Di Lecce G, Boselli E, Tundis R, Pugliese A, Menichini F, Frega NG. Phenolics, aroma profile, and in vitro antioxidant activity of Italian dessert passito wine from Saracena (Italy). *J. Food Sci.* 2013 78(5):C703-708.
- Poládkova P, Herszage J, Ebeler SE. 2008. Wine flavor: chemistry in a glass. *Chem. Soc. Rev.* 37:2478-2489.
- Scacco A, Lanza CM, Mazzaglia A, Tripodi G, Dima G, Verzera A. 2010. Correlation between aroma compounds and sensory properties of Passito Malvasia wines produced in Sicily. *Am. J. Enol. Vitic.* 61:2-8.
- Ugliano M, Henschke PA. 2009. Yeasts and wine flavour, 313-392. In: Moreno-Arribas MV, Polo MC, editors, *Wine chemistry and biochemistry*. Springer Ed. New York, p. 735.
- Van Wyck CJ, Augustyn OPH, De Wet P, Joubert WA. 1979. Isoamyl acetate – a key fermentation volatile of wines of *Vitis vinifera* cv Pinotage. *Am. J. Enol. Vitic.* 30:167-73.
- Zeppa G, Rolle L, Gerbi V. 2001. Impiego di preparati enzimatici pectolitici nella vinificazione del Caluso Passito DOC. *Industria delle Bevande* 30:244-249.