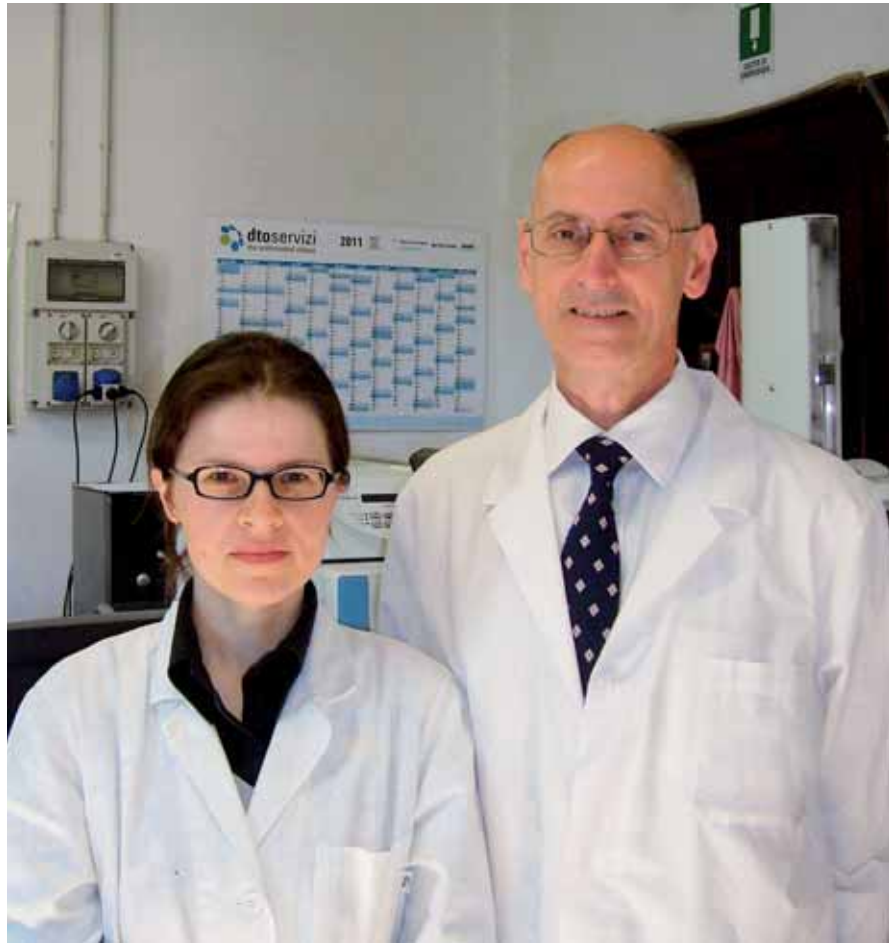


DOCUMENTO
TECNICO

***Annarita Panighel**
****Roberto Castagner**
****Roberto Sonego**
***Antonio Dalla Vedova**
***Riccardo Flamini**

*CRA-VIT, Laboratorio Chimico,
 Conegliano (TV)
 **Distilleria Acquavite S.p.A.,
 Visnà di Vazzola (TV)



Da sinistra:
 A. Panighel e
 A. Dalla Vedova

UN METODO RAPIDO PER STIMARE QUALITÀ E ALCOL DELLE VINACCE IN ARRIVO ALLA DISTILLERIA

È proposto un metodo per la determinazione dei principali parametri analitici delle vinacce in arrivo alla distilleria. Il metodo, veloce e sufficientemente accurato, consente di stimare la produttività in alcol e di valutare la qualità delle masse al fine di individuare i metodi di stoccaggio più idonei alle necessità dell'impianto.

Introduzione

La vinaccia è un sottoprodotto della vinificazione composta di bucce, raspi e vinaccioli. Dalla distillazione delle vinacce, mediante sistemi a bagno-maria o di passaggio diretto del vapore attraverso la massa, si ottiene il distillato denominato Grappa, che per la normativa europea può essere prodotto solo in Italia da un distillato con un contenuto di etanolo inferiore al 86% (v/v) prima della diluizione con acqua (De Rosa

e Castagner, 1994; Regolamento CE 110/2008).

La vinaccia può pervenire in distilleria non fermentata (contenente zuccheri ma non etanolo), parzialmente fermentata (contiene etanolo e zuccheri), completamente fermentata. All'arrivo in distilleria, le vinacce vengono stoccate in condizioni controllate per un periodo di tempo sufficiente per il completamento della fermentazione alcolica degli zuccheri.

Le vinacce provenienti da uve rosse di solito fermenta-

no in parte durante la vinificazione e arrivano in distilleria già parzialmente o completamente fermentate (Usseglio-Tomasset, 1971). In ogni caso, lo stoccaggio si rende sempre necessario a causa delle grandi quantità di vinacce che arrivano in tempi brevi in distilleria durante il periodo vendemmiale.

La determinazione degli zuccheri e dell'etanolo viene effettuata per stimare il potenziale alcolico della vinaccia. Nei metodi tradizionali l'etanolo è recuperato dalle

Fig. 1 - Analisi HPLC di un estratto a freddo di vinaccia bianca. Tra parentesi sono riportati i tempi di ritenzione (in minuti) degli analiti

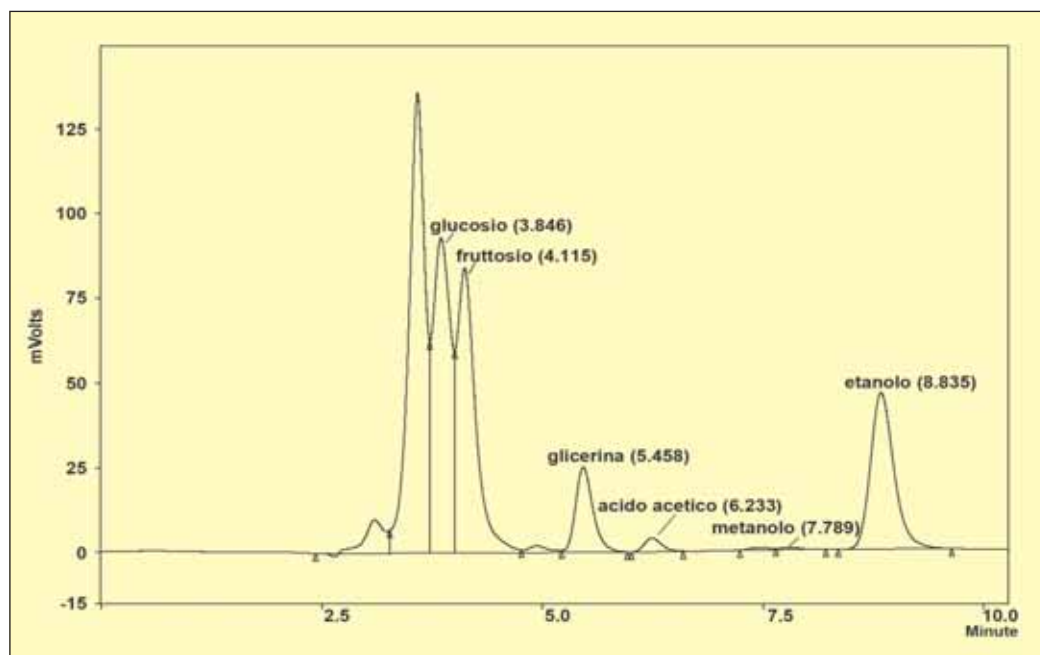
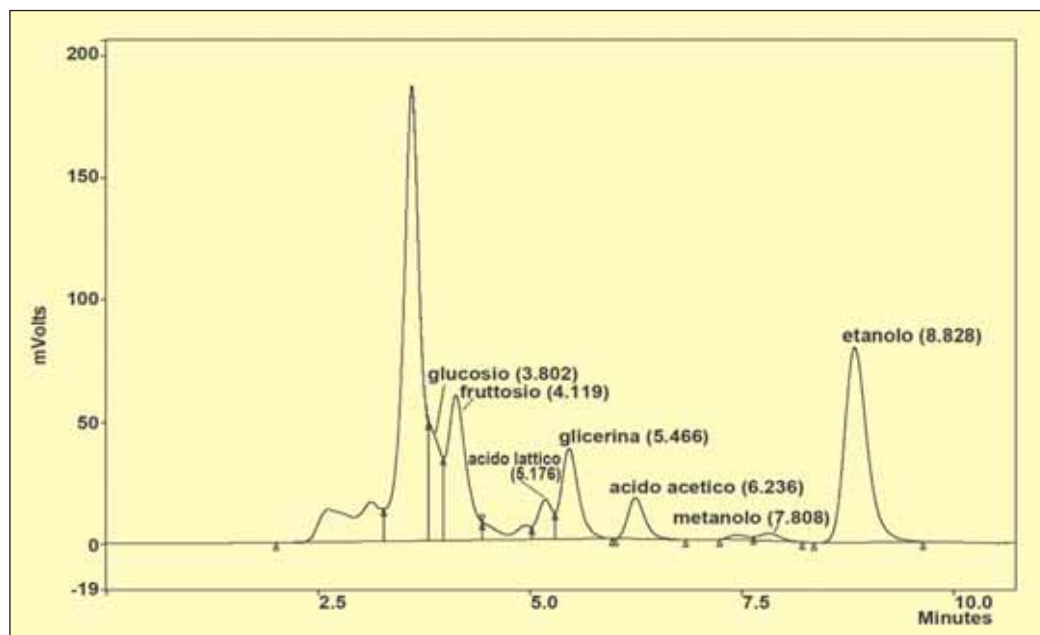


Fig. 2 - Analisi HPLC di un estratto a freddo di vinaccia rossa. Tra parentesi sono riportati i tempi di ritenzione (in minuti) degli analiti



vinacce mediante distillazione in corrente di vapore e determinando misurando la densità del distillato (Miconi, 2005). Gli zuccheri residui sono determinati mediante titolazione di Fehling degli estratti acquosi delle vinacce dopo la distillazione (De Rosa e Castagner, 1994; Usseglio-Tomasset, 1995). In generale, principale svantaggio di questi metodi è che sono

lunghe e laboriosi e solo un numero di campioni molto limitato (circa 10) può essere analizzato in un giorno con la determinazione di un parametro alla volta.

Le procedure possono essere velocizzate mediante l'impiego di sistemi automatizzati, quali apparecchi di distillazione e di titolazione ma il loro costo, non compensato da un guadagno in

termini di ulteriori informazioni acquisite, ne rende limitato l'utilizzo.

L'analisi mediante cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC) permette di quantificare in modo rapido ed accurato gli zuccheri e l'etanolo nei vini con un metodo in grado di fornire informazioni anche su altri importanti composti presenti (Testa, 1991).

Nel presente lavoro si propone un rapido metodo di estrazione del campione accoppiato all'analisi HPLC per la determinazione di etanolo, glucosio e fruttosio nelle vinacce. Con la stessa analisi è inoltre possibile determinare metanolo, glicerina, acido acetico ed acido lattico per ottenere utili informazioni sullo stato qualitativo e sanitario delle vinacce legato agli attacchi batterici, e la degradazione della glicerina che può essere legata alla formazione dell'acroleina, un composto che conferisce note pungenti ai distillati (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003; Nykänen, 1986).

Materiali e metodi

Campioni e standard. Per lo studio sono stati utilizzati campioni di vinacce provenienti da uve rosse e bianche forniti dalla Distilleria Acquavite S.p.A. (Vazzola, Veneto). Per la preparazione della soluzione standard sono stati utilizzati glucosio e fruttosio (Carlo Erba reagenti, Milano), lattato di litio 95% (Sigma Aldrich, Milano), acido acetico (J.T. Baker, Milano), glicerina 99.5% (Fluka, Milano), etanolo e metanolo (Romil Ltd, Cambridge).

Estrazione dei campioni. L'estrazione è stata condotta aggiungendo 240 mL di acqua deionizzata a 100 g di vinaccia posta in un pallone a fondo tondo da 500 mL.

Dopo vigorosa agitazione per cinque minuti, l'estratto è stato filtrato con un filtro di carta (Perfecte 2®, Superfiltro SRL Milano) e raccolto in un matraccio da 100 mL. Dopo aggiunta di una spatola di carbone decolorante sono stati filtrati circa 10 mL di liquido in una beuta da 25 mL utilizzando un filtro a pieghe (Vetrotecnica, Padova).

Prima dell'analisi HPLC i campioni sono stati filtrati con filtro per siringa in PTFE 0.45 µm Econofilters (Agilent Technologies, Milano).

Analisi. Le analisi sono

Tab. 1 - Parametri organolettici ed analitici di vinacce bianche, rosse e miste in arrivo alla distilleria. n.d., non determinato. Odori sgradevoli: no/sì, lieve acescenza o odore erbaceo; presenza etanolo: sì/no, inizio fermentazione. Zuccheri, glucosio+fruttosio

Tipologia di vinaccia	Data arrivo e stoccaggio	Parametri organolettici				Parametri analitici					
		Presenza di raspi o acini	Odori gradevoli	Odori sgradevoli	Etanolo	Acido lattico	Acido acetico	Glicerina	Zuccheri	Metanolo	Etanolo
						g/100g di vinaccia				mL/100g vinaccia	
Bianca 1	01-10-08	no	no	no/sì	sì	0.06	0.01	0.18	0.22	0.14	8.50
Bianca 2	27-09-08	sì	sì	no	no	n.d.	0.03	0.03	4.61	n.d.	0.49
Bianca 3	28-08-08	no	sì	no	no	n.d.	0.01	0.09	1.94	n.d.	2.34
Bianca 4	8-9-08	no	sì	no	no	n.d.	0.02	0.07	3.89	n.d.	0.76
Bianca 5	26-9-08	sì	sì	no	no	n.d.	0.01	0.04	4.44	n.d.	0.21
Bianca 6	23-9-08	no	sì	no	no	n.d.	0.01	0.03	5.20	n.d.	0.22
Bianca 7	16-9-08	sì	sì	no	no	n.d.	0.01	0.01	7.09	n.d.	0.08
Bianca 8	26-9-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.06	0.03	6.23	n.d.	0.56
Bianca 9	10-9-08	no	sì	no	no	n.d.	0.01	0.03	7.46	n.d.	0.34
Bianca 10	15-9-08	no	sì	no	sì	0.07	0.12	0.16	0.96	0.04	4.56
Bianca 11	25-9-08	sì	sì	no	no	0.01	0.04	0.09	2.79	n.d.	1.72
Bianca 12	5-9-08	no	no	sì	no	n.d.	0.02	0.03	8.33	n.d.	0.19
Bianca 13	11-9-08	no	sì	no	no	0.05	0.03	0.08	8.10	n.d.	1.67
Rossa 1	04-11-08	scarsa	sì	no	sì	0.06	0.07	0.14	0.09	0.06	6.32
Rossa 2	10-10-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.02	0.14	0.17	0.05	6.44
Rossa 3	16-10-08	no	sì	no	sì/no	n.d.	0.01	0.09	2.70	n.d.	1.03
Rossa 4	10-10-08	no	no	no/sì	sì	0.01	0.01	0.14	0.22	0.05	5.34
Rossa 5	16-10-08	sì	sì	no	sì/no	n.d.	n.d.	0.10	1.09	0.01	2.96
Rossa 6	29-9-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.01	0.20	0.37	0.02	6.93
Rossa 7	1-10-08	no	sì	no	sì	0.01	0.01	0.14	0.33	0.02	5.80
Rossa 8	27-9-08	sì	sì	no	sì/no	n.d.	0.01	0.11	8.21	n.d.	1.98
Rossa 9	26-9-08	no	sì	no	sì	0.04	0.01	0.17	0.17	0.05	8.20
Rossa 10	8-10-08	sì	sì	no/sì	sì	n.d.	0.01	0.19	n.d.	0.03	7.30
Rossa 11	30-9-08	sì	sì	no	sì	0.01	0.03	0.15	0.68	0.02	5.42
Rossa 12	6-10-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.02	0.15	0.26	0.01	6.89
Rossa 13	03-10-08	no	sì	no	sì	0.02	0.03	0.16	0.50	0.07	4.31
Rossa 14	27-9-08	no	sì	no	sì	0.03	0.07	0.11	0.35	0.16	4.86
Mista 1	27-9-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.03	0.14	0.26	0.06	5.00
Mista 2	4-9-08	sì	sì	no	no	0.01	0.09	0.08	3.24	0.02	0.88
Mista 3	26-9-08	sì	sì	no	sì	0.01	0.04	0.15	0.94	0.03	5.11
Mista 4	02-10-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.03	0.13	1.55	0.11	4.52
Mista 5	2-9-08	no	sì	no	sì	n.d.	0.03	0.05	4.24	n.d.	0.81
Mista 6	17-9-08	no	sì	no	sì	0.02	0.19	0.10	0.94	0.02	3.22
Mista 7	25-9-08	no	no	no	sì	0.02	0.01	0.23	0.30	0.02	6.60

state eseguite utilizzando un sistema HPLC della Jasco Europe S.r.l. (Corsico, Milano) costituito da una pompa isocratica PU-2080 ISO dotata di loop da 20 µL, fornetto di termostatazione CO-2065,

autocampionatore AS-2055, degasatore ternario mod. DG-2080-53 connessa ad un rivelatore ad indice di rifrazione RI-2031.

Condizioni cromatografiche. Le analisi sono state ese-

guite utilizzando una colonna PL Hi-Plex H Fast Acid Column (100×7.7 mm) munita di pre-colonna PL Hi-Plex H Guard Cartridges (5×3 mm) (Polymer Laboratories, Varian S.p.A., Torino) termosta-

tata a 60 °C. La fase mobile era costituita da una soluzione di H₂SO₄ 0.002 N, l'eluizione degli analiti è stata eseguita in modalità isocratica operando ad un flusso di 0.50 mL/min. Per l'acquisizione e l'elabora-

Tab. 2 - Contenuti di etanolo (espressi in mL/100 g di vinaccia) di differenti campioni di vinacce parzialmente o completamente fermentate determinati mediante analisi HPLC degli estratti preparati a freddo (A) e distillazione in corrente di vapore (B). SD=deviazione standard; Cv%=SD×100/media

Campioni vinacce	etanolo (mL/100 g vinaccia)		% recupero
	estrazione a freddo/HPLC (A)	distillazione in corrente di vapore/densità (B)	
parz. fermentata	0.08	0.18	44.4
parz. fermentata	0.18	0.34	52.9
parz. fermentata	0.02	0.05	40.0
parz. fermentata	0.13	0.28	46.4
media			46.0
SD			5.4
Cv %			11.7
fermentata	1.04	4.19	24.8
fermentata	1.04	3.25	32.0
fermentata	0.82	2.76	29.7
fermentata	0.92	2.02	45.5
media			33.0
SD			8.9
Cv %			26.9

zione dei dati è stato utilizzato il software ChromNav Chromatography Data System (Jasco Europe S.r.l., Corsico, Milano).

Risultati e discussione

Il metodo utilizzato. Rispetto ai metodi tradizionalmente usati, il principale vantaggio del metodo proposto è di poter eseguire l'analisi di un numero elevato di campioni al giorno, permettendo alla distilleria di separare le vinacce in arrivo in base alla qualità ed operare così gli stoccaggi più idonei. La preparazione del campione richiede infatti circa 10 minuti, ed altrettanto è il tempo richiesto per l'analisi. Inoltre, diversamente dai metodi tradizionali, oltre all'etanolo e gli zuccheri nella stessa analisi si possono determinare altri parametri di qualità come l'acido acetico, l'acido lattico, la glicerina, il metanolo che consentono di avere importanti informazioni sullo stato sanitario della vinaccia (Figg. 1 e 2).

La colonna HPLC utilizzata - particolarmente corta ed adatta per *fast analysis* - per-

mette di ultimare l'analisi in circa 9 minuti, molto meno degli oltre 20 minuti necessari con le colonne che sono tradizionalmente utilizzate per la determinazione di questi parametri (Panighel *et al.*, 2007).

I metodi tradizionalmente utilizzati in laboratorio di distilleria consentono di analizzare mediamente 10 campioni di vinaccia al giorno. Per determinare il grado alcolico si eseguono due distillazioni in corrente di vapore e la termostatazione del distillato prima della misura di densità, operazioni che richiedono circa 1 ora. Per la determinazione degli zuccheri riduttori residui, le vinacce esauste provenienti dalla distillazione sono addizionate di acqua bollente, dopo filtrazione gli zuccheri nella soluzione sono determinati mediante titolazione di Fehling, operazioni che richiedono ulteriori 50 minuti circa. Il metodo proposto permette la determinazione simultanea di questi parametri in un tempo cinque volte inferiore a quello richiesto da tali metodi.

I parametri di qualità della vinaccia. In Tab. 1 sono riportati i parametri organolettici ed i dati analitici delle vi-

nacce analizzate, con le date di arrivo in distilleria dei campioni.

I parametri organolettici sono stati determinati mediante l'analisi visiva ed olfattiva dei campioni da parte di un panel composto da tre degustatori, prelevando 1 kg di vinaccia da diversi punti della massa nel camion. È stata valutata la presenza di raspi nel campione (il campione rosso 1 presentava basse quantità di raspi); con "odori gradevoli" è stata contrassegnata la vinaccia che si presentava all'olfatto gradevolmente profumata (note fruttate o floreali); la rilevazione di note di acescenza e/o odore erbaceo è stata inclusa negli "odori sgradevoli". Il riscontro della presenza di etanolo è stata indicata alla voce "presenza di etanolo"; con "sì/no" si è voluto evidenziare quando era avvertito un inizio di fermentazione.

L'estrazione della vinaccia a freddo non consente un recupero quantitativo dell'etanolo e degli zuccheri. Operando l'estrazione a caldo sotto riflusso è possibile determinare, oltre agli zuccheri e all'etanolo, anche l'acido acetico, l'acido lattico e la glicerina, con un recupero degli

zuccheri glucosio e fruttosio compreso tra 89-100 % e dell'etanolo di circa 84% (Panighel *et al.*, 2007). Tale metodo richiede però un tempo di analisi di circa 20-30 minuti per campione, spesso troppo lungo per le necessità della distilleria.

Il metodo proposto (estrazione a freddo ed analisi HPLC dell'estratto) è stato confrontato con i metodi tradizionali (determinazione dell'etanolo mediante misura della densità del distillato in corrente di vapore, determinazione degli zuccheri mediante estrazione a caldo della vinaccia esausta e titolazione di Fehling) eseguendo l'analisi di 7-8 campioni di vinacce parzialmente e completamente fermentate. Con il metodo di estrazione a freddo, nel caso di vinacce parzialmente fermentate con contenuti di etanolo compresi tra 0.05-0.5 mL/100 g vinaccia, è stata stimata una percentuale media di recupero dell'etanolo del 46% con un coefficiente di variazione percentuale di circa 12%; nel caso di vinacce fermentate, con contenuti di etanolo più elevati (compresi tra 1-4 mL/100 g vinaccia), il recupero è risultato del 33% con un Cv% del 27% circa (dati in Tab. 2). Per la natura eterogenea delle masse di vinacce su cui sono eseguiti i prelievi, la variabilità riscontrata è, almeno in parte, legata ai campioni stessi.

Con l'estrazione a freddo si evidenzia che il recupero di etanolo diminuisce all'aumentare del contenuto alcolico della vinaccia. Separando i campioni sulla base dei contenuti di etanolo in basso (<0.5 mL/100 g vinaccia) e medio-alto (>1 mL/100 g vinaccia), la riproducibilità risulta comunque accettabile, ed è sufficiente per eseguire una valutazione dello stato della vinaccia e consentire una programmazione dello stoccaggio. Nel caso degli zuccheri, il recupero medio dell'estrazione a freddo risulta pari al 54% dell'estrazione a caldo, e con una buona riproducibilità (Cv% del 16%, Tab. 3).

Per una stima più accurata,

sono stati pertanto calcolati i coefficienti moltiplicativi da introdurre nei fattori di risposta cromatografici dei due parametri, che sono risultati di 2.2 e 3 per l'etanolo nei campioni di vinacce rispettivamente parzialmente fermentate e completamente fermentate, e 1.85 per gli zuccheri (dati in Tab. 1).

In generale, i parametri determinati hanno evidenziato nei campioni una scarsa presenza di attività batteriche, soprattutto nelle vinacce di uve rosse (Tab. 1). Effettivamente, le vinacce erano state rapidamente conferite alla distilleria dopo la vinificazione, o conservate in cantina per brevi periodi al riparo dal sole e temperature non elevate. Si evidenzia una correlazione tra il contenuto di metanolo - praticamente assente nella maggior parte dei campioni non fermentati (vinacce bianche) - e lo stato fermentativo della vinaccia, così come della glicerina. Questa è prodotta essenzialmente dalla fermentazione gliceropiruvica dei lieviti e la troviamo, come ci si aspetta, più elevata nelle vinacce rosse.

Si riscontra spesso la presenza di odori sgradevoli nei campioni con maggiori livelli di acido acetico o lattico (campione Bianca 1), evidenziando il negativo effetto delle attività batteriche sulle proprietà organolettiche della vinaccia.

Si può osservare che le vinacce rosse pervenute in distilleria subito dopo la vinificazione risultano prive di odori sgradevoli, hanno un elevato grado alcolico ed un basso contenuto di acido acetico. Dal punto di vista qualitativo, la presenza di livelli elevati di acido acetico nella vinaccia fermentata può essere dovuta ad una conservazione all'aria prima del conferimento in distilleria.

Considerazioni conclusive

I tempi relativamente brevi richiesti per la preparazione e l'analisi del campione con le procedure proposte, uniti ad

Tab. 3 - Contenuti di zuccheri (espressi in g/100 g di vinaccia) di differenti campioni di vinacce parzialmente o completamente fermentate determinati mediante estrazione a freddo ed analisi HPLC (glucosio+fruttosio) (A) ed estrazione a caldo e titolazione con il reattivo di Fehling (B) della vinaccia esausta dopo la distillazione. SD=deviazione standard; Cv%=SD×100/media

Campioni vinacce	zuccheri (g/100 g vinaccia)		% recupero
	estrazione a freddo/HPLC (A)	estrazione a caldo/ Titolazione Fehling (B)	
parz. fermentata	2.79	4.68	59.5
parz. fermentata	0.81	1.88	43.4
parz. fermentata	0.61	1.39	44.1
fermentata	0.18	0.29	62.8
fermentata	0.23	0.37	62.8
fermentata	0.17	0.36	48.2
fermentata	0.18	0.31	59.0
media			54.2
SD			8.7
Cv %			16.1

una ripetibilità discreta nei recuperi dell'alcol e buona nei recuperi degli zuccheri ottenuta operando sempre secondo le stesse modalità, rendono il metodo idoneo per una rapida determinazione dei parametri produttivi e di qualità delle vinacce che risponde alle esigenze della distilleria nel periodo vendemmiale.

Riassunto

I contenuti di zuccheri e di alcol nelle vinacce in arrivo in distilleria vengono determinati per stimare la potenziale resa alcolica ottenibile in distillazione.

Altri parametri, quali il metanolo, l'acido acetico e l'acido lattico, permettono di valutare lo stato sanitario e la qualità della vinaccia. Il contenuto di metanolo nei distillati è regolamentato dalla normativa a causa dei problemi che può recare alla salute, gli acidi acetico e lattico forniscono una stima dell'attacco di batteri acetici e lattici alla vinaccia, i valori di glicerina forniscono utili informazioni sulla possibile formazione di acroleina, un composto che conferisce nota pungente ai distillati.

Il problema principale dei metodi tradizionali di controllo delle vinacce sono i tempi relativamente lunghi richiesti per la preparazione

del campione, spesso incompatibili con l'arrivo delle masse in distilleria durante il periodo vendemmiale.

In questo lavoro viene proposto un metodo veloce ed accurato per l'analisi delle vinacce che consente di valutarne la qualità e di stimare la produttività in termini di alcol, pertanto di individuare i metodi di stoccaggio delle masse in arrivo più idonei alle necessità dell'impianto.

Bibliografia

De Rosa T., Castagner R. (1994). In: *Tecnologie della grappa e dei distillati d'uva*. Edizioni Edagricole, Bologna.

Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2008). Regolamento CE del Parlamento Europeo e del Consiglio n. 110/2008 del 15 gennaio 2008 relativo alla definizione, alla designazione, alla presentazione, all'etichettatura e alla protezione delle indicazioni geografiche delle bevande spiritose in abrogazione del regolamento CEE n. 1576/1989. Gazz. Uff. della C. E. L 39/16 del 13 febbraio 2008.

Miconi C. (2005). In: *Misure densimetriche e rifrattometriche su mosti, vini e distillati*. Unione Ex Allievi della Scuola di Viticoltura e di Enologia di Conegliano. Editrice

Arti grafiche Spa, Conegliano. Nykänen L. (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *Am. J. Enol. Vitic.* 37(1): 84-96.

Panighel A., Dalla Vedova A., Flamini R. (2007). Alcohol and sugar control in grape mares for grappa production by a HPLC method in comparison with usual methods. *Riv. Vitic. Enol.*, 1: 25-34.

Ribèreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A. (2003). In: *Trattato di enologia II*. Edizione Edagricole, Bologna.

Testa S. (1991). *Metodica per il dosaggio contemporaneo mediante HPLC di acidi organici, glucosio, fruttosio, glicerina ed etanolo*. L'Enotecnico, 10: 81-87.

Usseglio-Tomasset L. (1971). Le caratteristiche della grappa derivanti dall'evoluzione dei costituenti volatili delle vinacce durante il periodo di insilamento e dalle modificazioni apportate dal processo di distillazione. *Vini d'Italia*, 13: 453-46.

Usseglio-Tomasset L. (1995). In: *Chimica enologica*. Edizioni AEB Brescia.

Ringraziamenti. Si ringrazia la *Distilleria Acquavite S.p.A.* per i campioni ed il supporto tecnico ed economico alla ricerca.