

Un metodo semplificato per la quantificazione rapida delle frazioni di rame nel vino

Fonte: articolo scientifico "Simplified measures of copper fractions in wine: colorimetric and filtration-based approaches" (Australian Journal of Grape and Wine Research, 2020)¹.

>>> Recentemente sono state sviluppate metodologie semplici ed economiche per quantificare la concentrazione totale di rame (Cu) così come di varie frazioni di Cu nel vino, inclusa l'applicazione dell'analisi colorimetrica e/o della filtrazione di profondità con terre di diatomee. Rispetto ad altri metodi convenzionali per l'analisi del Cu, gli approcci proposti sono più adatti per i laboratori di cantina per una quantificazione affidabile e accessibile del Cu totale e delle sue frazioni durante la produzione del vino. <<<

È stato dimostrato che il rame (Cu) influisce sulla composizione e sulla chimica del vino in vari modi. Viene spesso aggiunto deliberatamente al vino durante la vinificazione per eliminare il difetto d'odore di "riduzione", poiché si ritiene che il Cu (II) precipiti l'idrogeno solforato che può essere rimosso mediante sedimentazione e/o filtrazione. Tuttavia, recenti ricerche indicano che, una volta formati, i complessi tra Cu e idrogeno solforato possono rimanere nel vino anche dopo la filtrazione. Inoltre, studi su soluzioni modello di vino hanno dimostrato che durante il trattamento con Cu, possono verificarsi reazioni parallele tra Cu, idrogeno solforato e composti tiolici le quali generano polisolfani che possono rilasciare idrogeno solforato in condizioni di basso apporto di ossigeno². Inoltre, il Cu può anche mediare le reazioni di ossidazione nel vino e quindi potenzialmente accelerare la sua degenerazione ossidativa³.

Considerando l'effetto significativo del Cu sul vino, la concentrazione totale di Cu è stata a lungo utilizzata come potenziale parametro per monitorare la qualità del vino durante la sua produzione. Tuttavia, una recente ricerca si è concentrata sull'identificazione del ruolo che diverse frazioni di Cu possono svolgere nel vino¹. Il particolare vantaggio nel misurare diverse frazioni di Cu è un argomento di ricerca attuale, ma i risultati finora ottenuti hanno suggerito un legame tra specifiche frazioni di Cu e l'inibizione dell'accumulo di aromi di riduzione nel vino. Inoltre, la misura delle frazioni di Cu può fornire un'indicazione della quantità di Cu che è già legata all'idrogeno solforato. Di conseguenza, la possibilità di misurare diverse forme di Cu nel vino ha un interesse per i produttori di vino e l'intera filiera. Tuttavia, le metodologie convenzionali utilizzate per determinare la concentrazione totale di Cu e quella delle sue diverse frazioni, sono principalmente orientate alla ricerca scientifica, richiedendo notevoli costi di infrastrutture, funzionamento e formazione del personale e di conseguenza non sono accessibili per le aziende vinicole di piccole e medie dimensioni.

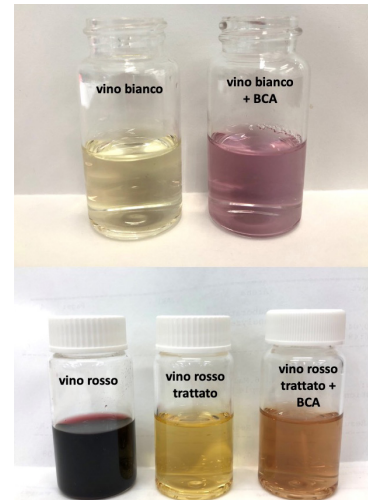


Figura 1. Vino Bianco (A) e vino rosso (B) dopo la preparazione dei campioni.

Per permettere il controllo di routine della qualità del vino in cantina, sono stati sviluppati diversi approcci per consentire la quantificazione totale di Cu e delle frazioni di Cu nel vino utilizzando attrezzature più accessibili alle aziende vinicole.

■ L'approccio colorimetrico

La tecnica colorimetrica utilizza la reazione tra Cu e acido bicononico (BCA) per formare un complesso di colore viola (Figura 1). La quantificazione del Cu nei campioni si ottiene misurando l'intensità dell'assorbanza a 563 nm con uno spettrofotometro e convertendo l'assorbanza in concentrazione mediante una curva di calibrazione. Per ottenere una sensibilità di assorbanza sufficiente per misurare le concentrazioni di Cu tipiche del vino, è necessario effettuare l'analisi con una cuvetta in vetro con un cammino ottico di 40 mm⁴.

Per determinare la concentrazione totale di Cu nel vino bianco, la reazione tra Cu nel vino e BCA aggiunto viene realizzata in presenza di Ag (I) (argento (I)), poiché l'Ag (I) è in grado di rilasciare il Cu legato a diversi composti, in modo tale che tutto il Cu nel vino possa interagire con il BCA. In genere, è necessario un tempo di incubazione di 30 minuti del vino con Ag (I) e BCA per una determinazione accurata del Cu totale⁴. Se l'aggiunta di Ag (I) viene omessa durante l'analisi, l'intensità di assorbanza può essere misurata immediatamente dopo l'aggiunta di BCA al vino (cioè, essenzialmente senza incubazione), o dopo 30 min di

incubazione, per determinare la concentrazione della frazione di Cu I e II, rispettivamente¹ (Figura 2). È stato trovato che la frazione I del Cu corrisponde ai complessi Cu-acidi organici nel vino, come Cu (II)-tartarato e Cu (II)-malato, mentre la frazione II del Cu è stata collegata alle interazioni Cu-composti tiolici, come Cu-glutationina. La frazione III del Cu rappresenta la porzione di Cu nel vino che non può essere fissata dal BCA ed è dovuta in gran parte ai complessi formati tra Cu e idrogeno solforato nel vino (cioè Cu legato al solfuro) (Figura 2).

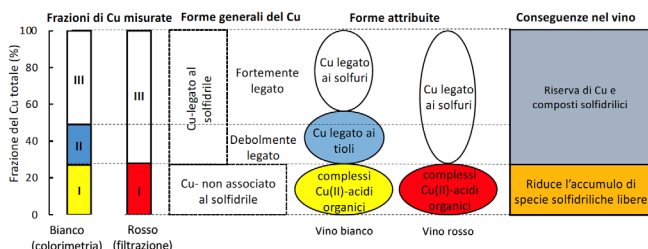


Figura 2. Rappresentazione delle frazioni di Cu misurate nel vino, le forme loro attribuite e le implicazioni nel vino.

La quantificazione diretta del Cu nel vino rosso con BCA non è possibile, perché il colore del vino rosso interferisce con la rilevazione del complesso Cu-BCA a 563 nm. Pertanto, è necessaria, prima dell'analisi colorimetrica, la decolorazione del vino rosso. Ciò si ottiene trattando il vino rosso con perossido di idrogeno in condizioni alcaline a 80°C per almeno 6 ore (Figura 1B). L'aggiunta di Ag (I) al vino rosso trattato non è richiesta poiché il trattamento rilascia già tutto il Cu fissato ai leganti forti⁴.

■ L'approccio per filtrazione di profondità con terre di diatomee

La necessità di decolorare il vino rosso mediante trattamento con perossido di idrogeno impedisce la quantificazione delle frazioni di Cu mediante analisi colorimetrica. Di conseguenza, è stata sviluppata una metodologia alternativa che utilizza la filtrazione di profondità con terre di diatomee (FPTD)¹. In questo caso sono stati utilizzati dei filtri a base di cellulosa e terre di diatomee, per adsorbire il Cu legato ai solfuri (cioè, la frazione del Cu III) dal vino e lasciare la frazione di Cu rimanente - principalmente la frazione I del Cu - nel filtrato. Nel vino rosso, c'è generalmente una quantità trascurabile di frazione II del Cu¹. Dopo aver fatto passare 100 mL di vino attraverso il filtro, tenuto all'interno di un sistema di filtrazione a membrana da 45 mm, la frazione I del Cu può quindi essere determinata tramite qualsiasi analisi di routine per il Cu totale. L'approccio FPTD può essere applicato anche al vino bianco per distinguere la frazione III del Cu da una combinazione di frazione I e II.

■ Accuratezza dei diversi approcci

L'accuratezza dell'analisi colorimetrica per determinare la concentrazione totale di Cu e delle sue frazioni è stata esaminata confrontando i risultati con quelli ottenuti tramite spettrometria ad emissione ottica al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-OES) e voltammetria di ridissoluzione o di stripping.

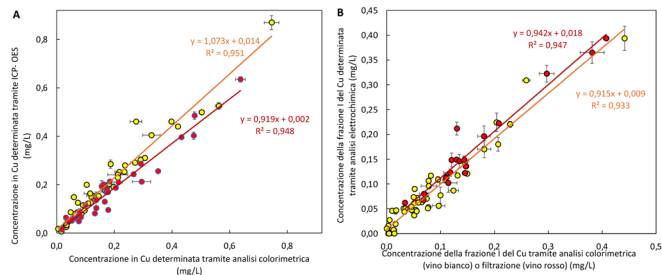


Figura 3. Confronto della concentrazione di Cu totale (A) e della frazione I del Cu (B) quantificata nei vini bianchi (punti gialli) e rossi (punti rossi).

La tecnica elettrochimica è il metodo tradizionalmente utilizzato nella ricerca per misurare la frazione I del Cu nei vini. Per quanto riguarda il vino bianco, la concentrazione totale di Cu è stata misurata in 50 vini e la frazione I del Cu in 41 vini. È stato osservato un buon accordo tra le diverse metodologie, come mostra il valore prossimo a uno della retta di interpolazione (Figura 3). Una valutazione simile è stata condotta anche per il vino rosso, ma la frazione I del Cu, ottenuta tramite DEDF, è stata determinata mediante ICP-OES. Questa frazione di Cu è stata analizzata anche tramite l'analisi colorimetrica. Un totale di 48 e 20 vini rossi sono stati analizzati per determinare le concentrazioni di Cu totale e frazione I del Cu, rispettivamente, ed è stato mostrato un buon accordo tra le due tecniche (Figura 3).

■ Conclusione

Sono state sviluppate delle metodologie per la misurazione delle concentrazioni di Cu totale e delle frazioni di Cu nei vini bianchi e rossi in vista di un'applicazione enologica. Questi approcci^{1,4} sono stati progettati per le aziende vinicole con accesso ad attrezzature modeste e non necessitano competenze specifiche per gli operatori. ■

Xinyi Zhang^{1,2}, Nikolaos Kontoudakis^{1,2,3}, Geoffrey R. Scollary^{1,2,4}, Andrew C. Clark^{1,2}

1 National Wine and Grape Industry Centre, Wagga Wagga, NSW 2678, Australia

2 School of Agricultural and Wine Sciences, Charles Sturt University, Locked Bag 588, Wagga Wagga, NSW 2678, Australia

3 Laboratory of Enology and Alcoholic Drinks, Department of Food Science and Human Nutrition, Agricultural University of Athens, Athens, 11855 Greece

4 School of Chemistry, The University of Melbourne, Vic. 3010, Australia

1 Clark, A. C.; Zhang, X.; Kontoudakis, N., Simplified measures of copper fractions in wine: colorimetric and filtration-based approaches. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2020, 26 (4), 399-409.

2 Kreitman, G. Y.; Danilewicz, J. C.; Jeffery, D. W.; Elias, R. J., Copper(II)-mediated hydrogen sulfide and thiol oxidation to disulfides and organic polysulfanes and their reductive cleavage in wine: Mechanistic elucidation and potential applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2017, 65 (12), 2564-2571.

3 Danilewicz, J. C., Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture* 2007, 58 (1), 53.

4 Kontoudakis, N.; Smith, M.; Smith, P. A.; Wilkes, E. N.; Clark, A. C., The colorimetric determination of copper in wine: total copper. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2020, 26 (2), 121-129.