



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

---

Dipartimento Territori e Sistemi Agro Forestali

Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Viticole ed Enologiche

## EVOLUZIONE DELLA QUERCETINA DURANTE LA FERMENTAZIONE DELLE UVE SANGIOVESE

**Docente di riferimento:**

Prof. Simone Vincenzi

**Laureando:** Svetlana Hariton

Matricola n. 2020530

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

# INDICE

<b>RIASSUNTO .....</b>	<b>2</b>
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1. INTRODUZIONE.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 La quercetina.....</b>	<b>7</b>
1.1.1 Classificazione chimica e funzioni nella pianta.....	7
1.1.2 Precipitati e stabilità.....	9
1.1.3 Caratteristiche enologiche della quercetina.....	11
1.1.4 Fattori che influenzano il contenuto di quercetina a livello di pianta.....	12
1.1.5 Fattori che influenzano il contenuto nel vino.....	16
<b>2. MATERIALI E METODI.....</b>	<b>19</b>
2.1 Vini .....	19
2.2 Analisi HPLC.....	20
<b>3. RISULTATI E DISCUSSIONE.....</b>	<b>20</b>
<b>CONCLUSIONI.....</b>	<b>23</b>
(Risultati delle prove e della ricerca e prospettive future)	
<b>RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....</b>	<b>24</b>

## **RIASSUNTO**

Uno dei fenomeni che negli ultimi anni ha suscitato grande attenzione da parte dei produttori di vino e del mondo scientifico in generale è la precipitazione della Quercetina in bottiglia.

Gli studi sulla quercetina hanno avuto uno sviluppo recente, principalmente spinto dalla ricerca di soluzioni operative in vigna e in cantina, destinate a risolvere il problema della formazione dei precipitati (Vendramin, Pizzinato e Vincenzi, 2022).

La quercetina è un flavonolo che negli ultimi anni sta creando sempre più problemi ai vini derivanti soprattutto dalla varietà Sangiovese, che ne è naturalmente ricca, seppur si abbiano riscontri di depositi anche su vini ottenuti da altre varietà.

L'instabilità in questione provoca la formazione di un sedimento amorfo e sgradevole alla vista del consumatore, che causa un forte deprezzamento del prodotto.

La formazione del sedimento avviene anche a distanza di un paio di anni dall'imbottigliamento, indicando che si tratta di un processo lento e difficile da prevedere. Il fenomeno avviene quando la quercetina passa dalla forma glicosilata, solubile grazie alla presenza di zucchero, alla forma aglicone, ovvero priva dello zucchero e quindi insolubile. Tale deglicosilazione può avvenire sia per via chimica che per via enzimatica.

Dei campioni di vino sono stati raccolti presso un'azienda che produce Brunello di Montalcino (Sangiovese in purezza) durante tutto il periodo dalla pigiatura alla svinatura e analizzati per il contenuto di quercetina nelle sue diverse forme per valutare l'evoluzione durante la fermentazione.

I glicosidi di quercetina sono aumentati nel tempo, però mentre la quercetina glucuronide ha raggiunto un massimo e poi si è stabilizzata, la quercetina glucoside ha iniziato a diminuire verso la fine della fermentazione alcolica con un conseguente aumento di quercetina aglicone.

Per la prima volta, è stata studiata in dettaglio l'evoluzione delle diverse forme di quercetina durante la fase fermentativa.

## **ABSTRACT**

The precipitation of Quercetin in bottles has attracted great attention from wine producers and the scientific community in recent years.

Studies on quercetin have had recent developments, primarily driven by the search for operational solutions in vineyards and cellars to solve the problem of precipitate formation (Vendramin, Pizzinato, & Vincenzi, 2022).

Quercetin is a flavonol that has been recently causing increasing problems in wines, especially those derived from the Sangiovese variety, which is naturally rich in it, although deposits have also been found in wines made from other varieties.

This instability leads to the formation of an amorphous sediment that is unpleasant to the consumer's eye and significantly devalues the product.

The sediment formation can also occur a couple of years after bottling, indicating that it is a slow process difficult to predict. The phenomenon occurs when quercetin shifts from the glycosylated form, soluble due to the presence of sugar, to the aglycone form, which lacks sugar and is therefore insoluble. This de-glycosylation can occur both chemically and enzymatically.

Samples of wine were collected from a winery that produces Brunello di Montalcino (pure Sangiovese) throughout the period from pressing to racking. Their content of quercetin in its different forms was analyzed to assess its evolution during fermentation.

The quercetin glycosides increased over time, but while quercetin glucuronide reached a peak and then stabilized, quercetin glucoside started to decrease towards the end of the alcoholic fermentation, resulting in an increased level of quercetin aglycone.

For the first time, the evolution of the different forms of quercetin during the fermentation phase has been studied in detail.

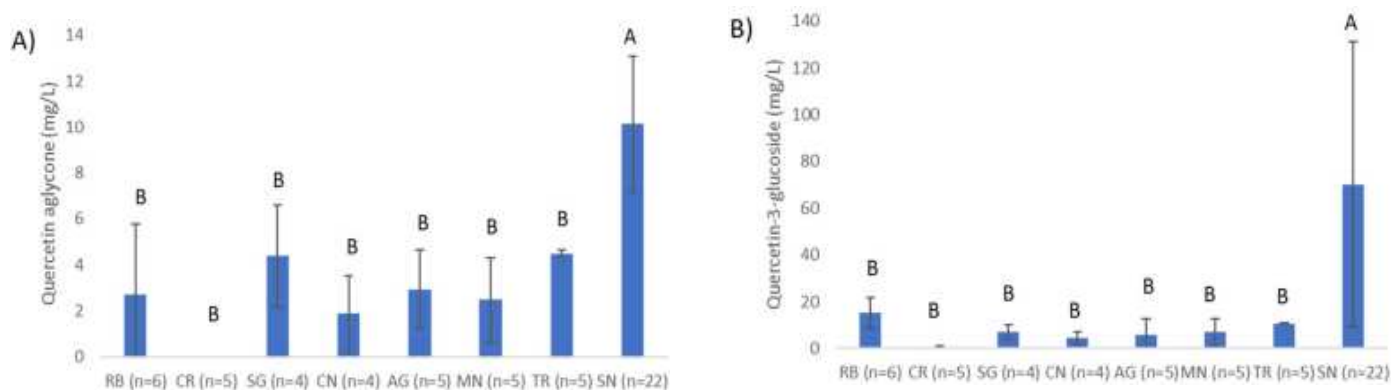
## **1. INTRODUZIONE**

L'assenza di difetti nei vini e la loro stabilità sono da sempre motivi di attenzione e di ricerca da parte del settore enologico. In particolare, le alterazioni del colore, la presenza di torbidità e i depositi in bottiglia sono difetti che possono compromettere la commercializzazione dei vini creando danni economici e di immagine non trascurabili per il produttore.

Negli ultimi anni, nell'ambito vitivinicolo toscano e non solo si è diffuso un fenomeno (con frequenza ed importanza anomala), che ha attirato l'attenzione del settore enologico: si tratta della comparsa di depositi di quercetina.

Tale fenomeno, non frequente, ma non per questo meno economicamente impattante e dannoso nei confronti dell'immagine delle cantine, è in particolare legato alla varietà Sangiovese. Come riportato da UNIONE ITALIANA VINI (2010), il Sangiovese è la principale cultivar italiana per superficie occupata, pari *all'11% del totale (71'600 Ha)* <https://www.unioneitalianavini.it/vitigni-ditalia-chi-sale-e-chi-scende/>), presente in varie regioni, dalla Romagna alla Campania ed è il vitigno più diffuso in Toscana (Quattrocali, 2019).

In un lavoro recente (Gambuti et al., 2020) è stato dimostrato che il Sangiovese è la varietà, tra quelle analizzate, con il più alto contenuto di quercetina aglicone (0.4-8.6 mg/L) e di quercetina glicoside (3.1-33.9 mg/L). Ancora più recentemente, in un'altra pubblicazione (Vendramin et al., 2022), è stato confermato questo comportamento, come riportato in Figura 1.



**Figura 1:** contenuto di quercetina aglicone (A) e quercetina 3-glucoside (B) su vini italiani monovarietali. Lettere maiuscole diverse indicano gruppi con differenze statisticamente significative ( $p > 0,05$ ). Da sinistra a destra: Raboso (RB), Corvina (CR), Sagrantino (SG), Cannonau (CN), Aglianico (AG), Montepulciano (MN), Teroldego (TR), **Sangiovese (SG)**

Dato che il Sangiovese è la varietà più coltivata in Toscana, qui il fenomeno della precipitazione della quercetina è particolarmente sentito. Per rimarcare l'importanza che questo fenomeno ha in particolare nella zona della Toscana, si è sviluppato e concluso nel 2018 il progetto QUE-STAB.

Si tratta di "un'iniziativa sperimentale di Col d'Orcia e ISVEA nell'ambito del PSR Regione Toscana e focalizzato alla stabilità della quercetina nel Sangiovese, vino che presenta un tenore significativamente maggiore di quercetina rispetto ad altre varietà".

Il lavoro aveva lo scopo di identificare le precipitazioni di quercetina e ridurre il depauperamento qualitativo dei prodotti, prevenendo danni economico-commerciali, al fine di migliorare la conservabilità e trovare una soluzione per stabilizzare la quercetina (Moutounet, Tranchida e Ferrari, 2017).

Il Sangiovese è una varietà molto antica, ne sono accertate produzioni già dal '500 anche se potrebbe essere presente già da secoli prima (Quattrocchi, 2019) e ci si potrebbe chiedere come mai la problematica del deposito sia recente; secondo il dottor Ferrari (ISVEA) ciò è dovuto alla recente attendibilità nella caratterizzazione dei sedimenti di quercetina. Egli attribuisce inoltre il fenomeno a evoluzioni delle pratiche agronomiche: l'aumento della densità delle piante, l'utilizzo di portinnesti meno vigorosi e l'incremento di tecniche come la sfogliatura, ma anche delle tecniche enologiche, in particolare rispetto alla protezione dei vini dalle ossidazioni e dalle temperature in affinamento (Martelli, E. 2018).

Nonostante il problema sia presente da pochi anni, Somers e Ziemelis già nel 1985 segnalavano un “precipitato giallo o giallo-verde” di quercetina su vini bianchi ottenuti da vendemmia meccanica; i ricercatori ipotizzarono che questo si formasse a causa del passaggio nel mosto di quercetina rutinoside, molto concentrata nelle parti verdi della vite (considerato l’elevato numero di foglie rinvenute nel raccolto) e della successiva idrolisi di questo composto nel vino con liberazione dell’aglicone. Negli anni successivi, le segnalazioni riguardanti la quercetina aumentarono sensibilmente, provenendo da areali molto differenti.

L’idrolisi della quercetina glicosidata avviene in tempi relativamente lunghi (Gambutì, 2020), e nel processo di invecchiamento e affinamento può subire ulteriori idrolisi per mezzo di fattori quali l’apporto di ossigeno e temperatura, formando ulteriore deposito.

È difficile determinare una soglia sotto la quale poter considerare un vino a basso rischio di precipitazione di quercetina poiché la varietà, la conduzione agronomica (Romboli et al, 2018), le pratiche di vinificazione, di invecchiamento e di affinamento incidono in maniera determinante sulla sua stabilità. In vini stabili, il contenuto massimo di quercetina aglicone è di circa 15 mg/L (Biondi Bartolini, 2018).

Tuttavia, la quercetina aglicone può ritrovarsi nel vino in quantitativi maggiori rispetto alla sua soglia di solubilità a causa di diversi fattori, tra cui sono annoverati anche i fenomeni di copigmentazione con gli antociani (Gutiérrez, 2005), dove è necessaria la presenza di pigmenti monomeri disposti a formare tali strutture stabili nel mezzo.

Gli studi sulla quercetina hanno avuto uno sviluppo recente, principalmente spinto dalla ricerca di soluzioni operative in vigna e in cantina, destinate a risolvere il problema della formazione dei precipitati (Vendramin V. Pizzinato e Vincenzi, 2022).

I risultati riportati da (Lanati, 2014) mostrano che è possibile abbattere il contenuto in flavonoli, in particolare di quercetina glucoside e aglicone, per mezzo di trattamenti con PVPP (Polivinilpolipirrolidone), con carbone decolorante e per mezzo del contatto con l’ossigeno, senza riflessi negativi sulla qualità del vino.

La pratica dell’ossigenazione per mezzo di travasi parziali o di micro-ossigenazione sembra la più adatta a diminuire il contenuto in flavonoli dei vini in cui con maggior frequenza si sono osservati precipitati di quercetina aglicone. Di conseguenza, un contatto del vino con l’ossigeno durante la fase di maturazione, dovrebbe indurre una diminuzione del contenuto in quercetina.

Questo spiegherebbe, almeno in parte, perché il deposito è stato riscontrato più frequentemente nei vini conservati in botti grandi in cui sono state meno intense le reazioni di ossidazione piuttosto che in barriques in cui il vino è venuto a contatto con tenori più elevati di ossigeno.

Ad oggi l'unico trattamento che funziona, seppur solo parzialmente, è la chiarifica tramite l'aggiunta di PVPP (Polivinilpolipirrolidone) al vino, che comunque rimuove solo un 20% circa della quercetina aglicone, come riportato nell'articolo di OenoOne di (Vendramin e colleghi, 2022).

Si tratta di un coadiuvante enologico, che appare come polvere biancastra insolubile nel vino, con la capacità di eliminare la frazione ossidata ed ossidabile dei vini, ovvero i polifenoli, quercetina compresa (O.I.V., 2007). Il PVPP, però, in quanto molecola di sintesi non naturale, risulta bandito nelle produzioni biologiche (GUCE, Regolamento di esecuzione (UE) n. 203/2012).

Le uve di Sangiovese sono utilizzate per la produzione, tra gli altri, in purezza o come uvaggio, di Chianti, Chianti Classico, Brunello di Montalcino e del famoso "Tignanello" (Antinori) e "Luce" (Luce della Vite-Frescobaldi).

Da un lavoro svolto su Brunello si è confermato che i sedimenti sono costituiti fondamentalmente dalla forma aglicone della quercetina (meno solubile) e tali depositi avvengono anche dopo 1-2 anni dall'imbottigliamento. Il medesimo studio ha messo in luce che la maggior frequenza del problema in questione si ha in bottiglie da 0,75 L piuttosto che 1,5 L e 3L, il sedimento tende inoltre a formarsi su vini di elevata qualità con maturazione fenolica ottimale, infine bottiglie dello stesso lotto possono essere o meno soggette al fenomeno (Moutounet, Tranchida e Ferrari, 2017).

Gli studi svolti finora hanno però preso in considerazione prevalentemente i vini finiti, senza determinare quale relazione esiste con il contenuto di quercetina iniziale delle uve.

Lo scopo di questa tesi è quello di valutare l'evoluzione delle diverse forme di quercetina durante la fermentazione di uve Sangiovese in purezza, destinate alla produzione di Brunello.

## 1.1 LA QUERCETINA

### 1.1.1. Classificazione chimica e funzioni nella pianta

La quercetina è una sostanza fra le più antiossidanti del vino.

La quercetina è una molecola della classe dei polifenoli, dei flavonoidi, in particolare un Flavonolo.

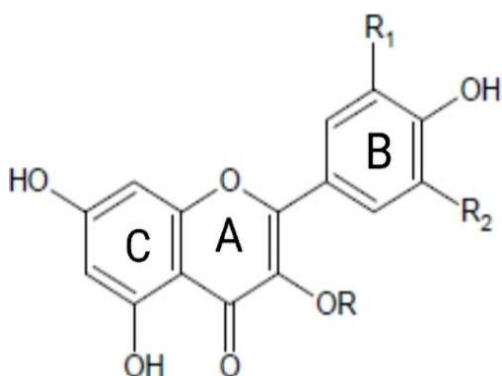


Fig.2 Struttura generale Flavonoli.

I polifenoli sono composti che presentano almeno un anello fenolico. Sono una classe di molecole prodotte dalle piante definibili come metaboliti secondari, ovvero molecole non fondamentali per la vita del vegetale (come possono invece essere zuccheri, aminoacidi...), ma frutto dell'espressione genetica della pianta stessa. I polifenoli sono accomunati dalla capacità antiossidante, grazie a cui limitano nella pianta i rischi dovuti a ossidazioni causate da luce solare e dagli UV in particolare (Price et al., 1995), caratteristica comunque variabile a seconda della categoria fenolica di appartenenza; inoltre interagiscono con i patogeni come riportato da Macheix e colleghi (2005).

La struttura dei fenoli risulta planare a causa dell'ibridazione  $sp^2$  dei carboni coinvolti nei legami, ciò comporta che siano molecole prevalentemente idrofobiche, in grado quindi di interagire con l'alcol piuttosto che con l'acqua in una soluzione quale il vino.

Oltre alla fondamentale azione antiossidante, i polifenoli partecipano alla colorazione di svariati frutti, tra cui l'uva e conseguentemente il vino, dove garantiscono allo stesso struttura e astringenza.

Ponendo l'attenzione sui flavonoli, essi si trovano di norma in forma *glicosilata* e differiscono per i gruppi **R** portati sull'anello **B**. La presenza di:

- **1 OH** porta alla formazione di *kampferolo* (i precipitati di quercetina ne contengono in parte minore);
- la presenza di **2 OH** porta alla formazione di *quercetina*;
- la presenza di **3 OH** porta alla formazione della *miricetina* (assente nelle uve bianche).

La quercetina, essendo un FLAVONOIDE, si trova nelle parti solide dell'acino (*vinaccioli e buccia*) ma anche in foglie, tralci e raspi.

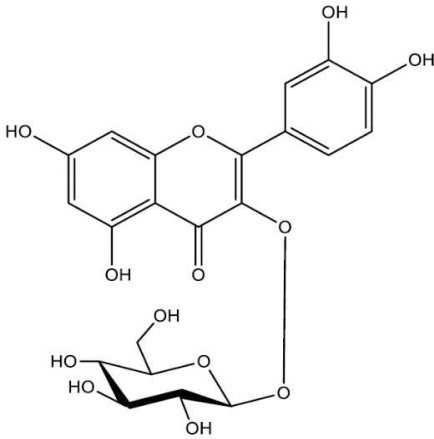
La quercetina nella vite è presente sia nelle parti verdi della pianta (foglie, tralci), che nei vacuoli della polpa (in tracce) e nella buccia delle uve bianche e rosse. La concentrazione può variare da pochi mg/kg a oltre 200 mg/kg. Essa si trova nelle uve in forma prevalentemente: glicosilata (glucoside, glucuronide, galattoside e rutinoside), il che ne facilita la solubilizzazione nell'acino. (Martelli, E. 2018)

Secondo uno studio (Mattivi et al., 2006) volto a classificare i flavonoli e antociani in 91 varietà di *Vitis vinifera*, la quercetina glicosilata è risultata effettivamente il principale FLAVONOLO nelle bucce di uve rosse (media 43,99%) seguita da miricetina (36.81%) e kampferolo (6.43%).

Nelle bucce di varietà a bacca bianca la *quercetina glicosilata* è ancora più presente (media 81,35%), in quantità minori sono presenti *kampferolo* e *isoramnetina*, è invece assente la *miricetina* che rimane in forma esterificata (Mattivi et al., 2006)



Figura 3. Quercetina-3-glucoside



La quercetina ha un'elevata capacità antiossidante, grazie ai due gruppi ossidrilici in posizione orto (anello B, posizioni 3'-4'). A seguito della loro ossidazione la molecola diviene un ortoquinone, ovvero un composto altamente reattivo in grado a sua volta di ridursi per ossidare altre molecole, riacquisendo di fatto capacità antiossidante, oppure di polimerizzare con altri chinoni e precipitare come composto bruno. La sua velocità nel reagire con anione superossido e altri radicali dell'ossigeno (escluso radicale idrossile  $\text{OH}^\cdot$ ) è rispettivamente da 3 a 6 volte maggiore dei flavan-3-oli (+) catechina e (-) epicatechina (Lanati, Marchi, Cascio, 2014)

Nei vini il sedimento di quercetina è un problema relativo principalmente ai rossi; infatti, essi subiscono una macerazione più o meno prolungata con le bucce che comporta anche l'estrazione di quercetina, l'assenza (salvo eccezioni) di detta operazione nella vinificazione in bianco rende praticamente nullo tale rischio.

### 1.1.2 Precipitati e stabilità

Come accennato nell'introduzione, il sedimento di quercetina venne per la prima volta descritto e caratterizzato nel 1985 da Somers e Ziemelis.

Tuttavia, per quanto riguarda specificamente la quercetina, è stato osservato che essa può essere la causa di un difetto del prodotto, soprattutto nei vini a base di Sangiovese, anche di alta gamma, dove può formare dei precipitati insolubili (Figura 4 e 5).

La formazione dei precipitati può avvenire sia in vasca, quando il vino è ancora in cantina, sia in bottiglia; quest'ultima situazione, al pari di tutti i difetti che possono manifestarsi dopo l'imbottigliamento, determina un deprezzamento del prodotto che si risolve in un danno economico per le aziende.

La precipitazione della quercetina è legata a una sua perdita di solubilità: in particolare, come detto, nell'uva la quercetina si trova in forma glicosilata. La presenza dello zucchero permette alla stessa di essere solubile in mezzo acquoso. L'attività dei lieviti e lo stesso ambiente acido, come verrà spiegato successivamente, possono causare una deglicosilazione, in grado di liberare lo zucchero e l'aglicone perde di solubilità. La forma agliconica del flavonolo è infatti idrofobica, a causa dei 2 anelli benzenici che lo costituiscono.



*Figura. 4: Precipitazione nel calice*



*Figura. 5: Deposito di quercetina in bottiglia*

La quercetina aglicone è un complesso instabile che nel vino tende a precipitare se in concentrazioni maggiori a 5 mg/L (Boulton, 2002); secondo (Somers e Zeimelis 1985) la solubilità è molto bassa, pari a 3-4 mg/L in vini bianchi.

Tuttavia, come accennato in precedenza può ritrovarsi in quantitativi maggiori di 5 mg/L rispetto alla sua soglia di solubilità grazie ai fenomeni di copigmentazione con gli antociani (Gutiérrez, 2005), dove è necessaria la presenza di pigmenti monomeri disposti a formare tali strutture stabili nel mezzo. Brevemente, la copigmentazione si ha quando due molecole idrofobiche (quercetina aglicone + fenoli come antociani) sovrappongono la propria struttura planare per divenire più stabili, aumentando notevolmente l'intensità del colore.

In vini stabili, il contenuto massimo di quercetina aglicone è di circa 15 mg/L (Biondi Bartolini, 2018). Questo dato è confermato dall'esperienza maturata tra laboratori di analisi e produttori secondo cui la dose critica di quercetina aglicone è 15-30 mg/L (Vincenzi e Pizzinato, 2021).

Il raggiungimento di questa soglia, però, per la forma aglicone non è sufficiente per garantire stabilità nel tempo, in quanto i glicosidi, presenti in quantità maggiore nel vino, sono a loro volta dei precursori della forma aglicone.

Il passaggio dall'una all'altra forma è influenzato da parametri che verranno descritti meglio in seguito ma che possiamo così riassumere:

- idrolisi acida: è il meccanismo più importante
- generi, specie, ceppi di lievito differenti con diversa attività glicosidatica,
- temperatura,
- aggiunta di enzimi esogeni con attività secondaria glicosidatica.

L'idrolisi della quercetina glicosidata nel vino avviene in tempi relativamente lunghi (Gambutì, 2020), e nel processo di affinamento e conservazione può subire ulteriori idrolisi per mezzo di fattori quali l'apporto di ossigeno e temperatura, formando ulteriore deposito.

Una soluzione al problema potrebbe essere quello di utilizzare dei chiarificanti per rimuovere anche la quercetina glicoside. Studi svolti da Vendramin e colleghi (2022) e da Gambuti et al. (2020) hanno dimostrato, però, che i chiarificanti sono efficaci solo sulla forma aglicone e non su quella glicosidata, permettendo di ottenere una stabilità solo apparente e limitata nel tempo. Tra i prodotti testati, il migliore sembra essere il PVPP.

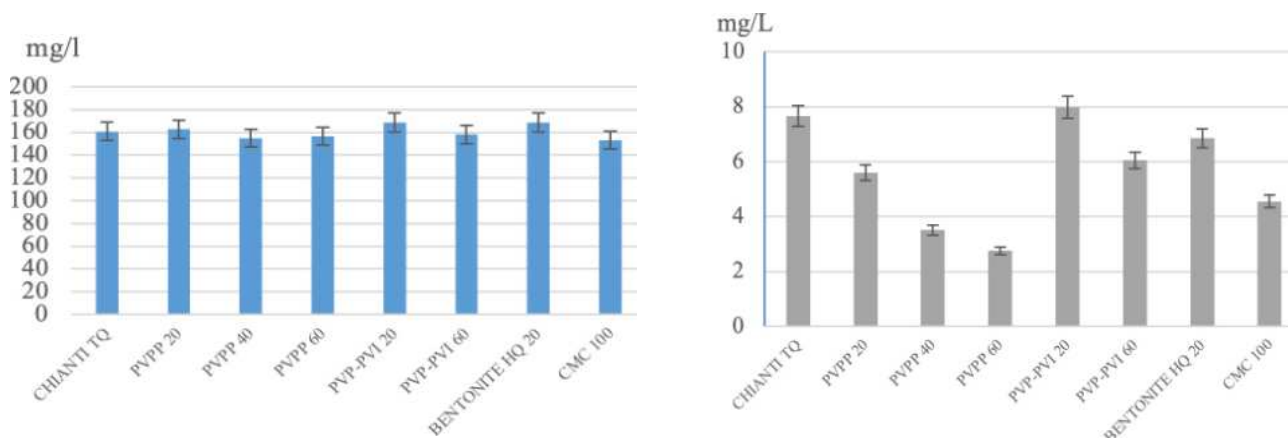


Figure. 6-7: effetti coadiuvanti su quercetina 3-glucoside (sinistra) e aglicone (destra). Vincenzi.S, Pizzinato. D 2021

### 1.1.3 Caratteristiche enologiche della quercetina

I flavonoli sono composti sintetizzati in prevalenza nella buccia degli acini. Durante il processo di vinificazione in rosso, questi composti sono estratti dalle bucce e svolgono un ruolo chiave in termini qualitativi; al contrario, nella vinificazione in bianco, l'anticipata separazione delle bucce dal mosto non ne permette una sufficiente diffusione (Mattivi et. al., 2006).

La quercetina è un flavonoide e si ritrova quindi nelle parti solide dell'uva, ne consegue che la sua estrazione sia tanto più marcata quanto più si macera. A tal proposito possono sicuramente avere effetto anche operazioni pre-fermentative come la flash-détente che comportano un indebolimento delle pareti cellulari dell'acino e un maggior rilascio dei composti presenti nelle bucce, così come

aggiunte di anidride solforosa per protezione dalle ossidazioni. Al contrario, da studi svolti, la criomacerazione è priva di effetti o riduce il contenuto di polifenoli totali (Manzo, F. 2019)

Un importante fenomeno enologico che avviene in presenza di quercetina e che potrebbe spiegarne la perdita di solubilità con il passare del tempo è la copigmentazione, tramite cui varia l'intensità colorante del vino. La copigmentazione è uno dei più importanti fattori che permettono di spiegare la variazione del colore dei vini rossi. Tale fenomeno consiste nella formazione di legami tra antocianine (intramolecolare) o tra antociani e altre strutture con anelli idrofobici che possano legarsi (intermolecolare).

Nella seconda situazione, la sovrapposizione dei legami  $\pi$ - $\pi$  avviene tra l'anello B antocianico e un anello B planare di un fenolo come la quercetina. Tale fenomeno è sfavorito da un solvente parzialmente apolare come l'etanolo, il che comporta la labilità di questa interazione nel tempo (Hu et al., 2012)

All'inizio gli antociani sono in forma libera e in parte ionizzati (ioni flavilio), dotati quindi di una carica positiva che ne favorisce la solubilità. Con la copigmentazione aumenta di conseguenza la solubilità della quercetina aglicone legandosi all'antociano. Le interazioni, seppur deboli, portano a una certa stabilizzazione del pigmento con manifestazione degli effetti batocromico (colore tendente al violaceo) e ipercromico (aumento dell'intensità colorante), entrambi tipici dei vini rossi giovani. Con il passare del tempo gli antociani si legano ai tannini e si sottraggono alla reazione con la quercetina, che perde di solubilità, si riduce l'intensità del colore per il minor effetto ipercromico-batocromico.

A livello gustativo la quercetina viene percepita come amara e debolmente astringente (Gawel. R., 1998).

#### **1.1.4 Fattori che influenzano il contenuto di quercetina a livello di pianta**

Le forme glicosilate della quercetina sono contenute anche nelle foglie e nei tralci della vite (Di Stefano e Maggiorotto, 1995). La sintesi della quercetina-3-glucuronide è praticamente conclusa in prossimità dell'invasatura (Lanati, 2014), mentre quella dei 3-glucosidi della quercetina e degli altri flavonoli inizia in prossimità dell'invasatura e può continuare fino alla fine della maturazione (Keller e Hrazdina, 1998; Downey et al., 2006).

La sintesi dei flavonoli, più di quella degli antociani è condizionata dal livello di esposizione dei grappoli alla luce diretta del sole (Cortell et al., 2005; Downey et al. 2004; Haselgrove et al., 2000; Price et al. 1995). In grappoli oscurati, praticamente, non avviene; in grappoli ombreggiati procede lentamente e in misura limitata; in grappoli direttamente colpiti dalla luce del sole viene attuata più intensamente.

In condizioni di temperatura elevata, tuttavia, come per gli antociani, le reazioni di degradazione possono superare quelle di sintesi dei flavonoli (Keller e Hrazdina, 1998). Se la temperatura si mantiene su valori non eccessivamente alti, l'esposizione dei grappoli alla luce diretta del sole porta al massimo accumulo dei flavonoli.

Innanzitutto, i polifenoli, e più dettagliatamente i flavonoli, vengono sintetizzati perché proteggono dalle ossidazioni causate dalla luce UV, grazie agli anelli benzenici che assorbono tale luce. Non a caso, il metodo analitico di determinazione dei polifenoli totali utilizza la spettrofotometria con una lunghezza d'onda di 280 nm (UV).

La varietà ha sicuramente un'importanza non trascurabile. Come riportato nell'introduzione, il Sangiovese ha una quantità di quercetina aglicone e glicosilata superiore alle altre varietà prese in esame (Vendramin et al. 2022), probabilmente dovuto a fattori genetici (Goldberg et al., 1998).

Andando ancora più in dettaglio (Iacopini et. at., 2008) hanno voluto quantificare la quercetina in grappoli di differenti cloni Sangiovese, confrontandoli poi con i contenuti in grappoli di altre varietà (Tabella 1).

Catechin and epicatechin content of seeds and resveratrol, rutin and quercetin content of skin of grape genotypes studied

Variety/clone	Phenolic content (mg/100 g DM) <sup>a</sup>				
	Seeds		Skin		
	Catechin	Epicatechin	Resveratrol	Rutin	Quercetin
AP SG 1	96.9±5.9 d	106.8±1.6 d	0.7±0.04 e	149.1±15.1 b	1.05±0.16 a
F9	74.4±0.9 e	98.4±9.9 de	0.8±0.16 de	158.5±3.3 ab	1.00±0.18 a
ISV 2	72.9±7.0 e	88.0±0.7 e	0.8±0.04 de	169.0±7.3 a	1.07±0.20 a
ISV RC1	60.3±8.3 e	67.9±6.2 f	0.6±0.16 e	160.2±16.2 ab	1.04±0.10 a
Merlot	138.8±0.4 bc	131.8±9.7 c	10.5±1.84 c	89.9±10.2 c	0.69±0.07 bc
Cabernet Sauv.	141.8±7.9 b	127.6±4.4 c	25.5±1.16 a	88.6±5.3 c	0.60±0.01 bc
Canaiolo	140.7±2.2 bc	205.7±3.1 a	2.8±0.02 d	41.3±2.3 e	nd
Colorino V.no	124.4±0.1 c	89.0±8.6 e	16.4±1.57 b	40.3±3.9 e	0.50±0.01 de
Foglia Tonda	67.4±5.1 e	47.2±3.5 g	1.3±0.07 de	60.4±3.2 d	0.29±0.06 d
Montepulciano	205.7±19.0 a	164.6±16.8 b	10.9±0.59 c	53.2±4.5 de	0.76±0.05 b
P ANOVA	***	***	***	***	***

<sup>a</sup> Values are the means±SD (n = 3). Data were analysed by ANOVA (\*\*\*P<0.001) and within each column different letters indicate statistically different values according to post-hoc comparison (LSD-test) at P = 0.05.

Tabella 1: contenuto fenolico in semi/bucce per varietà/clone; nel riquadro blu sono riportati 4 cloni di Sangiovese e i relativi quantitativi di quercetina rutinoside e aglicone espressi in mg/100g dry matter.

In questo caso è stata riscontrata anche la rutina, un flavonolo diglicosilato formato dalla quercetina e dal disaccaride rutinosio. La tabella evidenzia come vi siano differenze statisticamente significative tra due cloni di sangiovese in termini di quercetina rutinoside, segno che anche il tipo di clone può avere un impatto sulla produzione del flavonolo; in fase di scelta del clone da piantare se ne potrà tenere conto.

Si può altresì vedere come vi siano differenze statisticamente significative tra i vari cloni di Sangiovese e le altre varietà prese in esame in termini di quercetina rutinoside, ciò conferma che la varietà Sangiovese ne è naturalmente più ricca.

È possibile anche notare una piccola quota di quercetina aglicone, con differenze statisticamente significative tra Sangiovese e le altre cultivar. Non è chiaro però se nell'acino fosse effettivamente già presente o se la de-glicosilazione fosse avvenuta in fase di ammostamento.

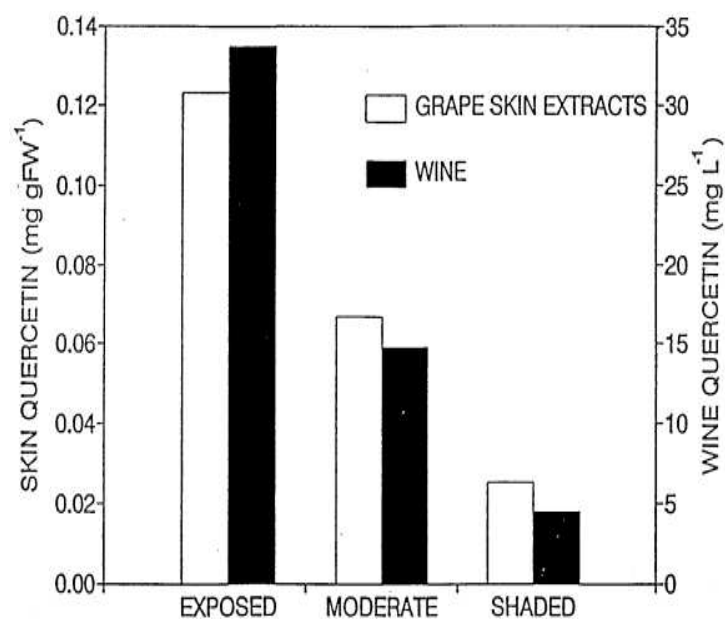
Anche un lavoro svolto da (Price, 1995) conferma come vi possa essere una quota di quercetina aglicone già negli estratti di bucce d'uva, e come anche questa vari a seconda dell'esposizione al sole.

<b>Quercetin aglycone (360 nm)</b>	<b>26.4 b</b>	<b>15.2 ab</b>	<b>8.2 a</b>
----------------------------------------	---------------	----------------	--------------

**Figura 8:** quantità di quercetina aglicone (mAU sec) ottenuto con HPLC per mosto da grappoli rispettivamente esposti, moderatamente esposti e ombreggiati da sinistra a destra

Tale studio è stato fatto per valutare gli effetti che esposizione e ombreggiamento dei grappoli hanno sul contenuto fenolico, in particolare di quercetina, utilizzando uve di Pinot nero. *S.F.Price* ha dimostrato come la sintesi dei flavonoli sia positivamente correlata con l'esposizione dei grappoli alla luce diretta del sole. La sintesi di tali composti risulta pressoché nulla in grappoli oscurati artificialmente o semplicemente ombreggiati, e il loro accumulo è limitato e lento. Mentre in grappoli direttamente irradiati dalla luce solare la sintesi di flavonoli è maggiormente spinta.

Questo sottolinea il fatto che tale classe di molecole sono metaboliti secondari, prodotti all'occorrenza, e come la loro sintesi sia strettamente correlata alla presenza più o meno intensa di radiazioni solari, con lo scopo proteggere le bacche dai raggi UV.



**Figura 9:** quercetina in estratti di bucce d'uva di Pinot nero e relativi vini in uve esposte, moderatamente esposte e ombreggiate; differenze significative con una  $p = 0,01$  (Price, 1995)

Un altro lavoro (*Keller e Hrazdina, 1998*), hanno messo in relazione il rapporto sintesi flavonoli-temperatura. Si è visto che a temperature elevate, funzione del grado di esposizione delle uve, le reazioni di degradazione dei flavonoli possono prevalere su quelle della loro sintesi.

Bisogna considerare che l'eccessiva esposizione dell'uva al sole e di conseguenza le elevate temperature possono impartire tutta una serie di caratteri gustativi all'uva (su tutti gusto di cotto, di marmellata) e aromatici (produzione di furfurale, aroma di pane, perdita di aromi varietali) spesso indesiderati. Per questo, non esporre eccessivamente i grappoli alla luce solare mantenendo conseguentemente un microclima meno secco potrebbe essere la scelta vincente.

Ovviamente si deve fare anche una valutazione rispetto ai patogeni soprattutto fungini che prediligono microclimi umidi o bagnati, è opportuno quindi trovare un compromesso.

Sicuramente poi gioca un ruolo centrale il territorio, in particolare l'orografia e l'esposizione dei vigneti. Assume in questo contesto una grande importanza anche il terreno su cui la vite si trova, e in particolare il colore dello stesso. Terreni biancastri favoriscono infatti una riflessione della luce, con indiretta esposizione dei grappoli alla radiazione.

Ne consegue che anche le pratiche agronomiche volte ad aumentare l'esposizione dei grappoli alla luce solare, su tutte la defogliazione, possono causare un incremento nella sintesi di flavonoli nelle bucce degli acini.

Uno studio svolto da Pastore e colleghe (2017) ha permesso di vedere gli effetti della defogliazione in invaiatura sulla produzione di antociani e flavonoli, utilizzando Cabernet-Sauvignon, Nero d'Avola, Raboso Piave e Sangiovese.

	C	D
<b>Cabernet Sauvignon</b>		
Total flavonols	0.20 b	0.48 a
Myricetin	0.10 b	0.21 a
Quercetin	0.09 b	0.23 a
Kaempferol	0.01 b	0.04 a
<b>Nero d'Avola</b>		
Total flavonols	0.32 b	0.77 a
Myricetin	0.20 b	0.38 a
Quercetin	0.11 b	0.33 a
Kaempferol	0.01 b	0.06 a
<b>Raboso Piave</b>		
Total flavonols	0.14 b	0.49 a
Myricetin	0.07 b	0.11 a
Quercetin	0.07 b	0.36 a
Kaempferol	0.00 b	0.03 a
<b>Sangiovese</b>		
Total flavonols	0.36 b	0.68 a
Myricetin	0.06 b	0.07 a
Quercetin	0.28 b	0.56 a
Kaempferol	0.02 b	0.05 a

Tabella 2: concentrazione flavonoli totali e singoli (mg/g buccia) per varietà alla raccolta. **C = non defogliato, D = defogliato**. I dati sono una media del biennio 2008-2009. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative (Test Tukey,  $p < 0,05$ )



Concentrandosi sui flavonoli, i testimoni defogliati D hanno avuto incrementi significativi nella produzione di flavonoli totali rispetto ai controlli non defogliati C. In particolare, sono aumentate le produzioni di quercetina e miricetina in tutte le varietà, mentre il kampferolo ha avuto un incremento molto modesto.

Anche un lavoro di Romboli e colleghi (2018) ha invece messo in luce come l'epoca e la defogliazione più o meno spinta facciano variare il contenuto in flavonoli nelle uve, in particolare di quercetina. La defogliazione intensa in fioritura ha aumentato la quota di flavonoli totali e dei derivati glicosidici della quercetina nelle uve. Al contrario le uve delle tesi defogliate in modo intenso e blando in allegagione non hanno mostrato differenze rispetto al controllo non defogliato per i suddetti parametri.

Anche la vendemmia meccanica gioca un ruolo indiretto in questo contesto. Tramite vendemmia meccanica si ha una parziale contaminazione del pigiato con foglie, che a loro volta possono essere una fonte di quercetina. Perciò, con tale tipo di raccolta, si può manifestare un incremento di quercetina glicoside nei mosti e nei relativi vini, come ipotizzato da Somers e Ziemelis (1985).

### 1.1.5 Fattori che influenzano il contenuto nel vino

Il contenuto di quercetina nel vino è ovviamente funzione della sua quantità nell'uva, ma le operazioni di cantina possono avere un ulteriore ruolo nel determinare la concentrazione finale.

Come tutti i flavonoidi, anche la quercetina è situata nelle parti solide, specificatamente nella buccia; ne consegue che il tempo di macerazione è un aspetto centrale da considerare. I flavonoli e le catechine sono maggiormente estratti prolungando il contatto delle vinacce con il mosto in fermentazione, questo per via dell'azione estraente di un composto affine come l'alcol su tali composti.

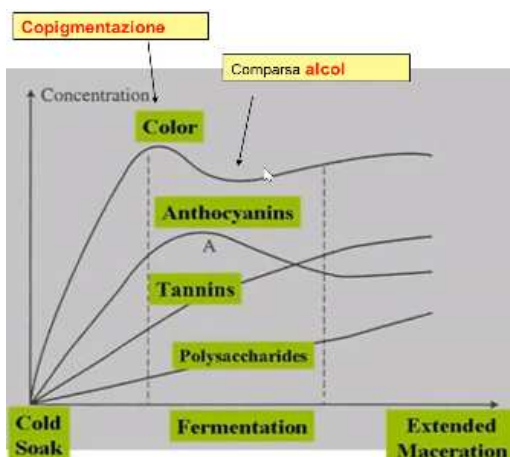


Figura 10: estrazione composti nelle bucce al variare del momento fermentativo.



Il tempo di macerazione è funzione del vino che si vuole ottenere, di conseguenza non sempre è possibile modificare il periodo di contatto succo-bucce. Vanno innanzitutto analizzati gli aspetti chiave che possono determinare un maggiore o minore rischio di depositi in bottiglia.

Il processo chiave è la conversione dei glicosidi, più stabili, nella forma aglicone, che è la forma effettivamente instabile.

Durante la fermentazione, un possibile rilascio di enzimi potrebbe favorire questa conversione. In questo caso diventano importanti: genere, specie, ceppi di lievito utilizzati.

Durante la fermentazione tali microrganismi possono produrre enzimi glicosidasici la cui sintesi può essere più o meno spinta a seconda del tipo di lievito (Terrier et al., 2009). Anche i batteri della fermentazione malolattica possono contribuire all'idrolisi della quercetina. In ogni caso, si tratta sempre di enzimi limitati dal pH e dalle temperature di esercizio.

A tal proposito, un lavoro di Romboli e colleghi (2018) non ha mostrato differenze significative sulla distribuzione delle varie forme di quercetina, miricetina e kampferolo utilizzando diverse specie e ceppi di lievito (da sinistra a destra *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae*, *Starmerella bacillaris*), come riportato in Tabella 3.

	ES 454	ES 488	Sb 409	One-way ANOVA
Flavonoli tot (mg/L)	150,4±2,7	136,0±3,8	141,6±6,5	ns
Profilo dei flavonoli				
Quercetine (%)	79,0±3,0	79,3±2,6	79,7±3,1	ns
Miricetine (%)	18,4±2,9	17,3±2,1	17,6±2,9	ns
Campferoli (%)	2,6±0,1	3,4±0,5	2,7±0,3	ns
Quercetine (mg/L)	118,8±2,4a	107,7±0,5b	112,8±0,7ab	*
Profilo delle quercetine				
Quercetina-3-galattoside (%)	3,6±0,5	3,9±1,1	3,3±0,2	ns
Quercetina-3-glucuronide (%)	21,0±1,7	20,4±0,0	18,9±0,4	ns
Quercetina-3-glucoside (%)	49,6±1,9	48,4±0,8	51,5±4,6	ns
Quercetina aglicone (%)	25,9±0,7	27,4±0,3	26,3±4,0	ns

Tabella 3: contenuto flavonoli nei vini ottenuti con 3 diversi lieviti. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative (test Tukey, \*  $p < 0,05$ )

L'utilizzo di lieviti con spiccata capacità di sintetizzare questi enzimi potrebbe divenire centrale in futuro, in quanto l'utilizzo di microrganismi con basse attività  $\beta$ -glicosidasiche potrebbe ritardare in modo non indifferente la comparsa del precipitato. Infatti, in assenza di attività glicosidasiche, la deglicosilazione avviene comunque, in particolare mediante il meccanismo dell'idrolisi acida. Si tratta di un processo chimico, lento e inesorabile, più basso è il pH più veloce è l'idrolisi chimica.

Un aspetto molto importante da considerare è la temperatura, che a valori elevati può accelerare sia le attività enzimatiche sia l'idrolisi acida dei derivati della quercetina.

L'ultimo fattore, ma non per importanza, è l'aggiunta di enzimi esogeni con attività glicosidasi secondaria. Essi possono lavorare in modo ottimale alle condizioni enologiche ed avere un effetto importante sull'idrolisi della quercetina. Il rischio è di deglicosilare anche altre molecole (antociani aromi...), problema in realtà molto limitato.

Anche su questo argomento è stato fatto uno studio da Gambuti e colleghi (2007), secondo cui vini ottenuti da mosti aggiunti di enzimi pectolitici e solfitati manifestano una maggior presenza di catechina, epicatechina, rutina, trans-resveratrolo e quercetina rispetto ai vini di controllo, come visibile in (tabella. 4); a tal proposito va ricordato che i flavonoidi sono presenti nelle parti solide come la buccia, ne consegue che un'attività pectolitica sulle medesime aumenta l'estrazione dei detti composti.

Wine	Ethanol (v/v%)	Sugar (g/L)	Total acidity (g/L)	pH	Vol. acidity (g/L)	Free SO <sub>2</sub> (mg/L)	Total SO <sub>2</sub> (mg/L)	Dry extract (g/L)
CW	13.18	1.98	6.45	3.60	0.6	22.4	56.2	32.38
SW	13.10	2.30	6.78	3.64	0.4	25.6	72	32
SEW	13.05	2.65	6.50	3.69	0.5	32	76	33.1
Chromatic characteristic								
	O.D. 420 nm	O.D. 520 nm	O.D. 620 nm	Color intensity	Color hue	dAI%	dTAT%	
CW	3.40a	4.63a	1.15a	9.18a	0.74a	21.74a	54.57a	
SW	3.60a	4.72a	2.01b	10.35b	0.76ab	25.62b	53.35a	
SEW	4.16b	5.17b	2.04b	11.37c	0.81b	27.57c	61.47b	
Polyphenols								
	(+)-Catechin (mg/L)	(-)-Epicatechin (mg/L)	Rutin (mg/L)	trans-Resveratrol (mg/L)	Quercetin (mg/L)	Total phenolics (Folin-Ciocalteu Index)	Tannins (g/L)	Total anthocyanins (mg/L of malvidin-3-monoglucoside)
CW	45.73a	75.80a	2.42a	1.54a	5.68a	67.21a	3.89a	329.98a
SW	79.17b	88.78a	2.97a	1.63a	6.54ab	66.00a	3.60a	380.67b
SEW	95.61b	121.03b	3.48b	1.74b	8.17b	72.13b	3.98a	428.73c

CW = control wines; SW = wines obtained from a must treated with SO<sub>2</sub>; SEW = wines from a must treated with SO<sub>2</sub> and 5 g/hL of pectolitic enzyme. Values followed by different letters on the column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Tabella 4: effetti dell'enzimaggio e della solfitazione sul tenore di iso-quercetina in vini Aglianico. Sono evidenziati a sinistra il tipo di vino, a destra il contenuto in quercetina aglicone.

La tabella. 4 mostra come vi siano differenze statisticamente significative tra controllo e vini aggiunti di enzimi e solfitati su tutti i composti. Risulta particolarmente importante l'uso di enzimi pectolitici che permette di degradare le pareti della buccia, aumentando l'estrazione dei vari composti.

Come sappiamo, gli enzimi hanno spesso attività secondaria, per esempio  $\beta$ -glucosidasi, questo potrebbe spiegare come mai sia presente in maggiore quantità anche la quercetina aglicone.

Sono riportati altri fattori che potrebbero influire sulla stabilità della quercetina.

Un'operazione molto utile è l'ossigenazione dei mosti, pratica indispensabile sui rossi, grazie a cui la forma aglicone che si forma con il procedere della fermentazione si ossida, potendo polimerizzare e precipitare in vasca. In tal senso, l'utilizzo di solforosa piuttosto che di tannini idrolizzabili, ambedue con funzione antiossidante, deve essere gestito oculatamente.

Sempre grazie allo stesso principio, in fase di *èlevage* si ottiene un maggior deposito facendo affinare il vino in *barriques* piuttosto che in botte, perché le prime hanno un maggior rapporto superficie-volume e ciò permette un maggior apporto di ossigeno tramite la micro-ossigenazione; a questo proposito i travasi risultano fondamentali per ridurre problemi successivamente (Lanati et al., 2014).

In fase di pre-imbottigliamento, diventa fondamentale individuare e gestire separatamente le partite a rischio precipitazione. Si può alternativamente pensare di effettuare tagli con vini potenzialmente instabili e vini ricchi in polifenoli, che tramite la loro azione antiossidante e di complessazione potrebbero evitare la sedimentazione. Infine, si può intervenire con PVPP, che ad oggi è l'unico coadiuvante che ha mostrato una certa affinità per la quercetina aglicone.

## **2. MATERIALI E METODI**

### **2.1 Vini**

I vini utilizzati in questa tesi sono stati gentilmente forniti dall'enologo Davide Bozzon dell'azienda "*Tenuta Castel Giocondo dei Marchesi Frescobaldi*", Montalcino.

Alla vendemmia (20 settembre 2022) le uve provenienti da uno stesso appezzamento sono state pigiate e diraspate, quindi messe a fermentare in due diverse vasche (123 e 125) per avere una replica biologica.

Il vigneto di Sangiovese utilizzato si trova a 320 mt s.l.m. esposto a Ovest; il terreno è scisto-argilloso con presenza di arenaria.

Non è stato fatto nessun inoculo di lieviti, ma la fermentazione è stata condotta da lieviti indigeni.

Fin dal primo giorno e per tutta la durata della fermentazione e della macerazione sulle bucce (24 giorni) è stato fatto un prelievo dalle vasche e il campione è stato conservato in congelatore fino al momento dell'analisi.

La vasca 125 ha subito un delestage a 1/3 fermentazione alcolica. Durante tutta la macerazione sono stati eseguiti rimontaggi all'aria o al chiuso secondo le esigenze estrattive.

## 2.2 Analisi HPLC

L'utilizzo di un sistema per cromatografia liquida ad alta prestazione (High Performance Liquid Chromatography) ha consentito di separare la quercetina presente all'interno dei vini mediante migrazione differenziale in un sistema bifasico, sfruttando la distribuzione selettiva e reversibile di tali sostanze tra la fase mobile e la fase stazionaria.

Le molecole sono state separate su una colonna Kinetex (4 x 150 mm, 5 $\mu$ m, Phenomenex) tramite HPLC (Waters 1525 Binary Pump) dotato di rivelatore UV (Waters 2487 Dual Band Absorbance Detector). Come fase mobile si è utilizzato acido Trifluoroacetico 0.1 % (tamponi A), ad un flusso pari a 1 mL/min, mentre per l'eluizione è stato utilizzato metanolo contenente acido trifluoroacetico 0.1% (tamponi B) secondo il gradiente riportato in Tabella 5.

Tempo (min)	0.5% formico	2% formico in metanolo
0	75	25
5	65	35
13	53	47
15	0	100
17	0	100
18	75	25
22	75	25

L'identificazione e quantificazione delle molecole di interesse (quercetina glucoside, quercetina glucuronide e quercetina aglicone) è stata eseguita utilizzando delle rette di calibrazione eseguite con i composti puri commerciali. In particolare, la quantificazione è stata eseguita selezionando i picchi rilevati a 350 nm (massimo di assorbimento dei flavonoidi).

## 3. RISULTATI E DISCUSSIONE

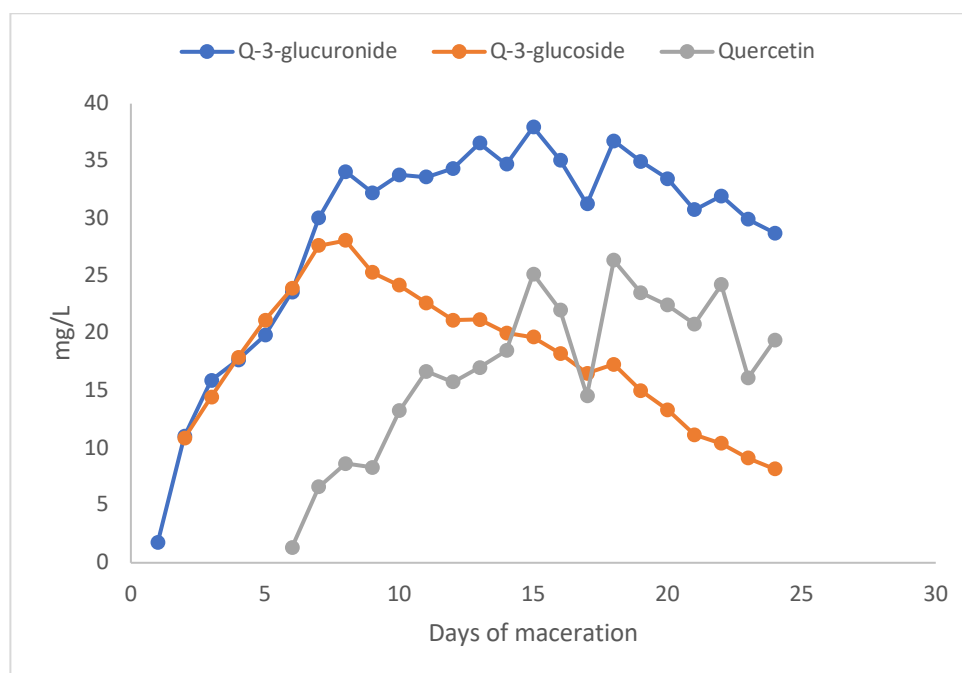
In Fig.10 sono presentati i profili di Q-3-glucuronide, Q-3-glucoside e Q-Aglicone ottenuti dalla vasca N.123 (che non ha avuto delestage).

Come atteso, considerando che la quercetina è contenuta nelle bucce, il contenuto di quercetina glucoside e glucuronide è aumentato nel tempo, raggiungendo il massimo intorno a 7-8 giorni, in corrispondenza del termine della fermentazione alcolica.

Interessante notare che nelle due settimane successive non si è riscontrato un ulteriore aumento di questi composti ad indicare che eventuali macerazioni post fermentative più o meno lunghe non dovrebbero avere effetti sulla instabilità legata alla presenza di quercetina.

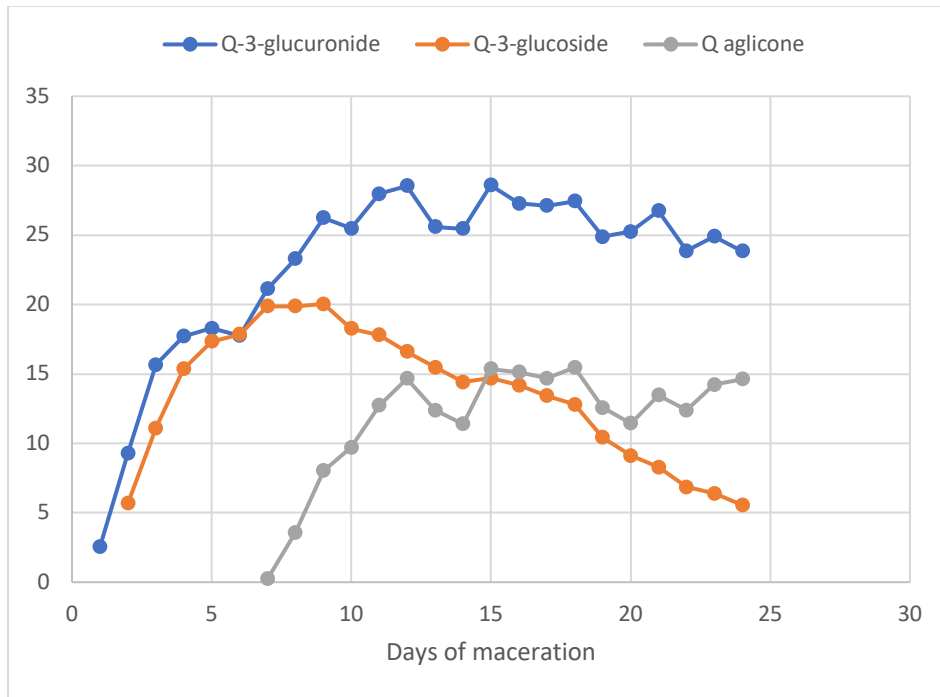
Si è osservato, però, che, mentre la quercetina glucuronide è rimasta costante per tutto il periodo di osservazione, la quercetina glucoside ha iniziato a diminuire in maniera costante e graduale. In corrispondenza della diminuzione della quercetina glicoside si è assistito ad un aumento della quercetina aglicone. Da notare che la quercetina aglicone è stata al di sotto del limite di rilevabilità fino al 5 giorno, a conferma che nelle uve è presente soprattutto in forma glicosilata. Non è da escludere che intervenga su questo aspetto anche l'effetto della solubilità: infatti la quercetina aglicone è poco solubile in soluzione acquosa, ed è quindi probabile che inizi a entrare in soluzione solo quando il mezzo raggiunge un determinato grado alcolico.

Il fatto che la quercetina aglicone continui ad aumentare anche dopo la fine della fermentazione alcolica e in parallelo con una diminuzione della quercetina glucoside, fa pensare che la prima ipotesi sia quella più corretta.



**Figura 11. Serbatoio N. 123**

Lo stesso comportamento è stato osservato anche nel serbatoio 125.



**Figura 12. Serbatoio N. 125**

Si può anche osservare che dopo i 12-13 giorni, nonostante la degradazione della quercetina glucoside continui ancora, non si osserva un ulteriore aumento della quercetina aglicone. Questo fenomeno (già osservato da Vendramin et al., 2022) suggerisce che, una volta raggiunto il suo limite di solubilità, l'ulteriore quercetina aglicone prodotta in soluzione tende a precipitare.

Considerati i tempi relativamente brevi in cui si sono osservate queste evoluzioni, dobbiamo ipotizzare che siano intervenuti dei processi enzimatici.

E siccome non sono stati aggiunti enzimi esogeni, la degradazione della quercetina glucoside è evidentemente dovuta all'attività enzimatica dei lieviti.

Se confrontiamo questi dati con quelli di altri ricercatori (ad esempio Romboli et al., 2018, vedi Tabella 3) si vede che non sempre la quercetina glucoside viene degradata durante la fermentazione alcolica. Questo potrebbe suggerire la presenza di attività glicosidasiche più o meno spinte nei diversi ceppi di lievito.

Purtroppo, l'azienda che ha fornito i campioni ha fatto fermentazione spontanea, per cui non è stato possibile risalire al ceppo/ceppi che hanno condotto la fermentazione alcolica. In ogni caso questi risultati dimostrano che è possibile, utilizzando semplicemente dei lieviti appropriati, ridurre in maniera naturale e già durante la fermentazione alcolica la quantità di precursori che possono portare ad una potenziale precipitazione di quercetina nelle fasi di maturazione del vino successive.

## Conclusioni

Questa analisi dell'evoluzione delle forme di quercetina durante la fermentazione ha permesso di mettere in luce alcuni aspetti interessanti.

Innanzitutto, si è visto che l'estrazione di quercetina dalle bucce raggiunge il suo massimo in circa una settimana: questa è una indicazione importante per i produttori, perché mostra che è possibile operare delle macerazioni post fermentative anche abbastanza lunghe, in base alle necessità enologiche (ad esempio estrazione e stabilizzazione del colore), senza il rischio di aumentare l'instabilità dovuta alla quercetina.

Si è anche osservato che, almeno in questo caso, si può arrivare ad una quasi completa degradazione della quercetina glucoside da parte dei lieviti già durante la fermentazione o, meglio, nelle 2 settimane successive di macerazione. Anche se la fermentazione nel nostro caso è stata condotta da lieviti indigeni e quindi non è stato possibile identificare il ceppo responsabile, è evidente che alcuni ceppi di lievito possiedono l'attività enzimatica necessaria per deglicosilare la quercetina glucoside, portando ad una sorta di stabilizzazione naturale.

Bisogna però considerare che i lieviti non sono stati in grado di degradare la quercetina glucuronide. Questo composto, quindi, rimane nel vino e costituisce comunque un precursore alternativo di quercetina aglicone attraverso deglicosilazione in ambiente acido. Questo significa che, per essere certi di avere un vino stabile, sarà comunque necessario rimuovere anche la quercetina glucuronide, magari mediante l'aggiunta di enzimi esogeni, come recentemente suggerito (Vendramin et al., 2022), ma rimane il fatto che l'utilizzo di ceppi di lievito con attività glucosidasica permetterebbe di ridurre la quantità di enzima da utilizzare.

## BIBLIOGRAFIA

Biondi Bartolini A., (2018), “*e quercetina: una sfida ad alti livelli.*”, Vigne, vini e qualità (VVQ), N. 6, 42-45;

Gambutì A., et al., (2020), “*New insights into the formation of precipitates of quercetin in Sangiovese wines.*” J Food Science Technology, 57(7), 2602–2611;

Donato Lanati, Dora Marchi e Patrizia Cascio “*Precipitati di Quercetina nei vini*”, 37th World Congress of Vine and Wine and 12th General Assembly of the OIV, 06007 (2014);

Boulton R., (2001), “*The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review*”, Am J Enol Vitic, 52:67-87;

Gutiérrez I.H., Sanchez-Palomo Lorenzo E., Vicario Espinosa A., (2005), “*Phenolic composition and magnitude of copigmentation of young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah*”, Food Chemistry, 92, 269-283;

Romboli Y., Galardi M., Buscioni G., Mangani S., Mari E., Granchi L., Vincenzin M., (2018), “*Quercetina in uve e vini Sangiovese: effetto della defogliazione precoce e dei lieviti coinvolti nella fermentazione alcolica.*” [www.infowine.com](http://www.infowine.com) rivista internet di viticoltura ed enologia, N.11/2;

Gazzetta ufficiale dell’Unione europea, (2019), Regolamento delegato (UE) 2019/934 commissione del 12 Marzo 2019. [Online];

(Gazzetta ufficiale dell’Unione europea. Regolamento di esecuzione (UE) n. 203/2012);

Relazione tecnico scientifica conclusiva “QUE-STAB”, PSR 2014-2020 PIF n.19/2015;

Somers, T. C. & Ziemelis, G., (1985), “*Flavonol Haze in White Wines.*”, Vitis Journal of Grapevine Research, 24, 43-50;

Vendramin V. Pizzinato D., Sparrow C., Pagni D., Cascella F., Carapelli C. **Vincenzi S.**, “*Prevention of quercetin precipitation in red wines: a promising enzymatic solution*”, Oeno One, 56-1, 41-51(2022);

PRICE, S.F., et al.,1995. Cluster Sun Exposure and Quercetin in Pinot noir Grapes and Wine. American Journal of Enology and Viticulture, 46 (2), 187-194;

VINTEGRO è un progetto finanziato nell'ambito del partenariato Europeo per l'innovazione e del Piano di Sviluppo Rurale della Regione Toscana (misure attivate 16.2, 1.1, 1.2, 1.3);

Partner del gruppo operativo Vintegro: Antinori, Col d'Orcia, Avignonesi, ISVEA, Università degli studi di Firenze, Vinidea, CAICT;

INFOWINE. Esperienze di stabilizzazione su Brunello di Montalcino. Antonino Tranchida, Col d'Orcia. [https://www.infowine.com/it/video/la\\_stabilita\\_della\\_quercetina\\_sc\\_16875.htm](https://www.infowine.com/it/video/la_stabilita_della_quercetina_sc_16875.htm));

QUATTROCALICI, Sangiovese, pagina 1 paragrafo 1 (Il vitigno Sangiovese e i suoi vini).