

# Impiego delle Analisi isotopiche per la valutazione della genuinità ed origine geografica dei vini

V. Dell'Oro –C. Tsolakis –A. Ciambotti  
CREA  
CRA-ENO Asti Via Micca 35 Italia

Chi ricerca trova:

*Le soluzioni tecnologiche per la CARTA DI MILANO. Lotta alle contraffazioni, diagnostica per controllo qualità, qualità delle produzioni alimentari.*

EXPO Milano Workshop del 17 Settembre 2015

# METODI ISOTOPICI

- APPLICAZIONI in CAMPO: ALIMENTARE – FARMACEUTICO-COSMETICO RICERCA E CONTROLLI
- STRUMENTAZIONE: SPETTROMETRI DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE, SPETTROMETRI di MASSA dei RAPPORTI ISOTOPICI
- E' POSSIBILE DISTINGUERE MOLECOLE CHIMICAMENTE UGUALI MA ISOTOPICAMENTE DIVERSE, ORIGINATESI DA MATERIE PRIME DIFFERENTI O ATTRAVERSO PROCESSI SINTETICI DIVERSI.
- ES: AROMI NATURALI -AROMI ARTIFICIALI  
ORIGINE BOTANICA DEI SUCCHI DI FRUTTA, DEI FERMENTATI E DEI DISTILLATI, SALMONI DI ALLEVAMENTO DA SALMONI SELVAGGI

# APPLICAZIONI ENOLOGICHE

**Rilevazione della tipologia dello zucchero utilizzato per l'ottenimento dei fermentati e quindi la valutazione della genuinità del prodotto in esame rispetto a:**

- ZUCCHERAGGIO
- ANNACQUAMENTO
- ZUCCHERAGGIO ed ANNACQUAMENTO

Inoltre con le tecniche isotopiche si può anche stabilire l'Origine Geografica del prodotto che risulta particolarmente importante per i vini a DOP ed IGP

# DISTRIBUZIONE ISOTOPICA NATURALE

**H<sup>1</sup>**

**99.9844 %**

**D**

**0.0156 %**

**<sup>12</sup>C**

**98.9%**

**<sup>13</sup>C**

**1.1 %**

**<sup>14</sup>C**

**radioattivo**

**<sup>16</sup>O**

**99.757%**

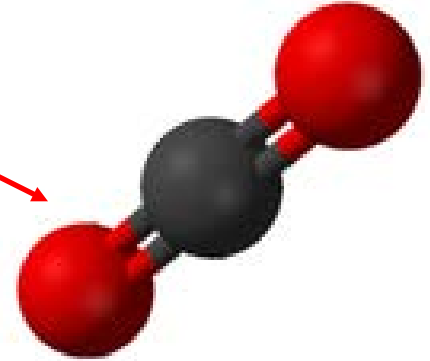
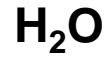
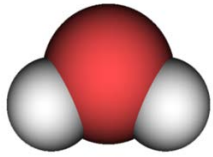
**<sup>17</sup>O**

**0.039%**

**<sup>18</sup>O**

**0.204 %**

# ACQUA E ANIDRIDE CARBONICA



PM 18

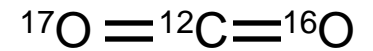
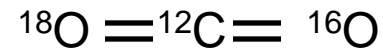
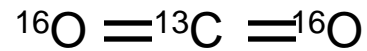
P.M. 19



P.M. 18

PM 19

P.M. 20



P.M. 44

P.M. 45

PM 46

PM 45

# FRAZIONAMENTO ISOTOPICO

Successivamente le molecole di H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub> subiscono il cosiddetto frazionamento isotopico, che può venire riassunto in 3 fasi:

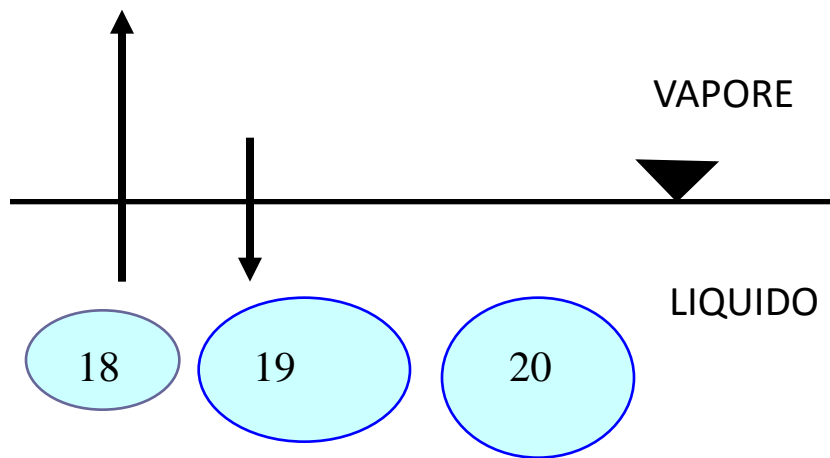
*Frazionamento atmosferico,*

*Frazionamento fisiologico,*

*Frazionamento biochimico.*

# FRAZIONAMENTO ATMOSFERICO

EVAPORAZIONE ACQUA



- Latitudine
- Temperatura
- Climatologia
- Piovosità

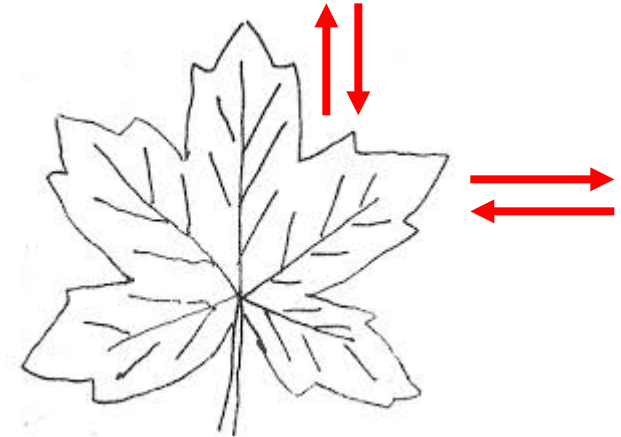
LE MOLECOLE PIU' LEGGERE EVAPORANO PIU' FACILMENTE ARRICCHIMENTO DEL LIQUIDO NEGLI ISOTOPI PIU' PESANTI

# FRAZIONAMENTO FISIOLÓGICO



## Traspirazione fogliare

- Ampiezza fogliare
- Stomi
- Esposizione solare
- Climatologia

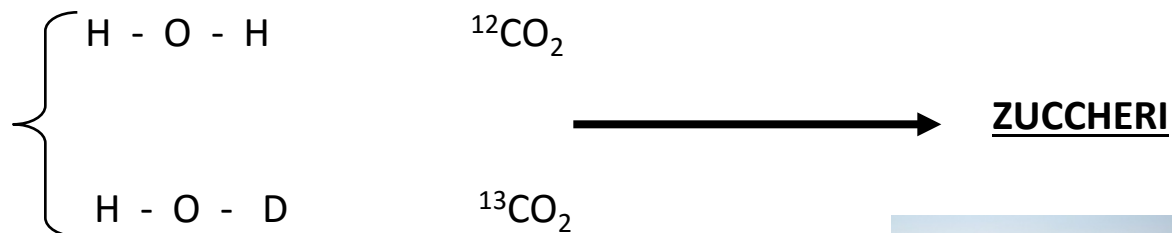


**ARRICCHIMENTO in D e <sup>18</sup>O**



# FRAZIONAMENTO BIOCHIMICO

## Fotosintesi - Ciclo $C_3$ e $C_4$



- CICLO  $C_3$  vite e barbabietola

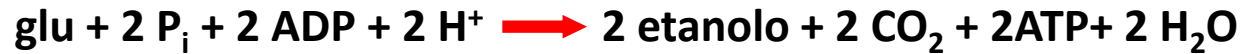


- CICLO  $C_4$  canna- mais

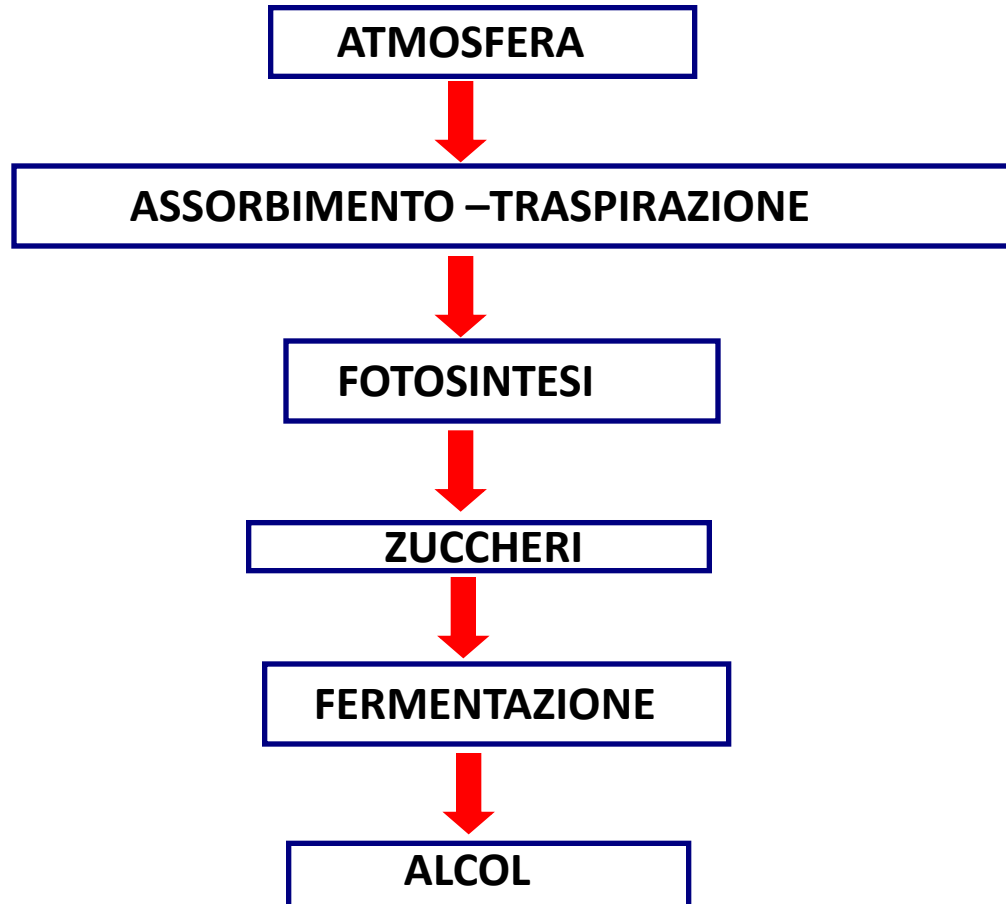


Le piante a ciclo  $C_4$  grazie alla loro maggior efficienza fotosintetica, si arricchiscono in  $^{13}\text{C}$

# FERMENTAZIONE ALCOLICA

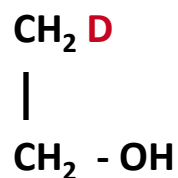
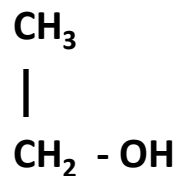


- LA MOLECOLA DI ETANOLO CHE SI FORMA HA LE STESSA CARATTERISTICHE ISOTOPICHE DELLA MOLECOLA DI GLUCOSIO

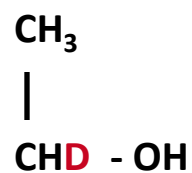
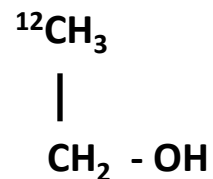


Centro di ricerca per l'enologia

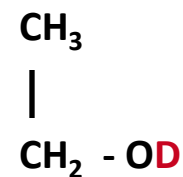
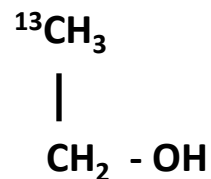
# DISTRIBUZIONE ISOTOPICA DELL'ETANOLO



**SITO I**



**SITO II**



# RAPPORTI ISOTOPICI

- Il **Rapporto Isotopico (D/H)** che è caratteristico della specie vegetale che ha sintetizzato lo zucchero, da cui l'alcol ha avuto origine, ed in misura minore alla geografia del luogo (natura dell'acqua usata per la fotosintesi).
- Il **Rapporto Isotopico  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$**  che rappresenta la variazione ‰ rispetto ad una sostanza di riferimento definita da organismi internazionali quali l'Agenzia Internazionale per l'Energia Atomica (IAIE) di Vienna (PDB).
- Il **Rapporto Isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$**  che rappresenta la variazione ‰ rispetto ad un riferimento convenzionale del contenuto dell'acqua dell'Oceano (V-SMOW Vienna Standard Mean Ocean Water).

## UNITA' DI MISURA DEI RAPPORTI ISOTOPICI

RAPPORTO ISOTOPICO DEUTERIO IDROGENO (D/H)<sub>i</sub> (ppm) =  $N_i/NP_i$

$N_i$ = numero molecole monodeuterate di tipo i

$N$ = numero molecole protonate

$P_i$ = popolazione del sito i

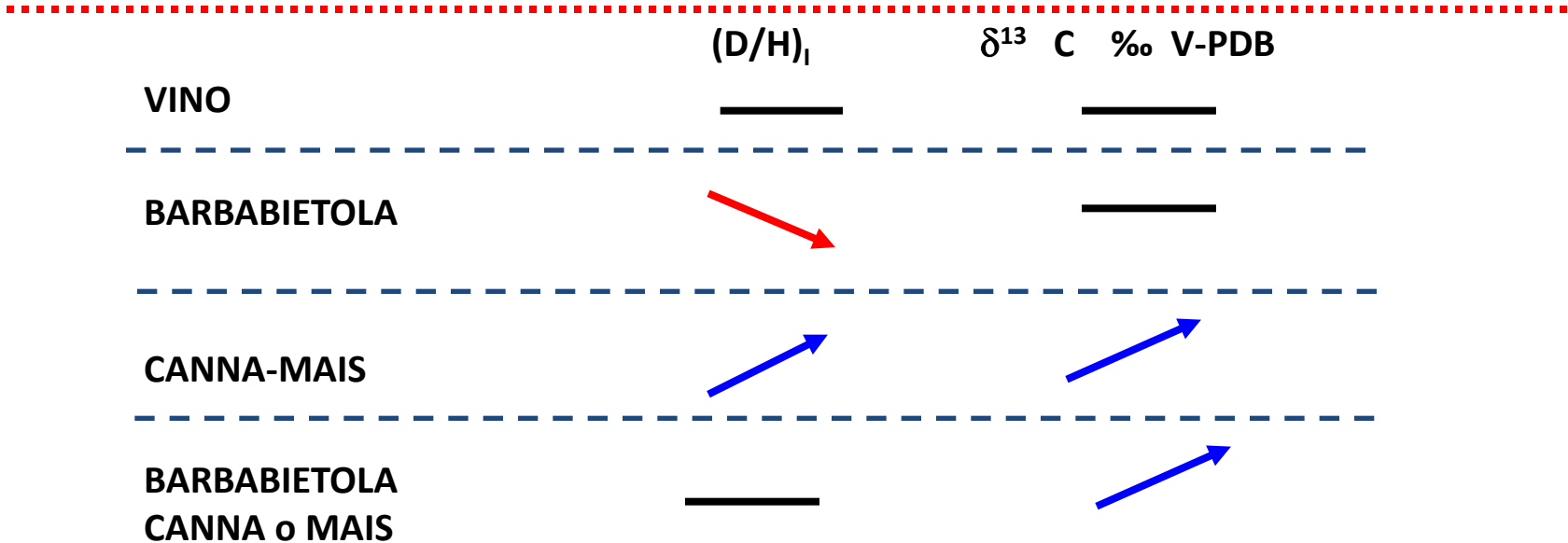
$$- \delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = \frac{^{13}\text{C} / ^{12}\text{C} \text{ campione}}{^{13}\text{C} / ^{12}\text{C} \text{ riferimento}} - 1$$

{ riferimento= STANDARD INTERNAZIONALE V-PDB (Vienna Pee Dee Belemnite) }

- RAPPORTO ISOTOPICO  $^{18}\text{O} / ^{16}\text{O}$  = VARIAZIONE ‰ RISPETTO AD UN RIFERIMENTO CONVENZIONALE DEL CONTENUTO DELL'ACQUA DELL'OCEANO (V-SMOW Vienna Standard Mean Ocean Water)

# VALUTAZIONE DELLA GENUINITA'

<u>ALCOL</u>	$(D/H)_i$			
CANNA- MAIS	110	ppm		
VINO	100	ppm circa		
BIETOLA	92	ppm		
VINO-BIETOLA	-27	}	$\delta^{13} C$	‰ V-PDB
CANNA-MAIS	-12			



# VALUTAZIONE DELLA GENUINITÀ DI UN VINO

## ANNACQUAMENTO

- Il Rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  permette di controllare l'aggiunta di acqua al vino.
- Valori del rapporto isotopico dipendono dalla latitudine. Al nord Italia si possono avere anche valori negativi, mentre al sud si riscontrano molto spesso valori positivi.
- L'aggiunta di acqua al vino fa abbassare il valore del rapporto isotopico originale.

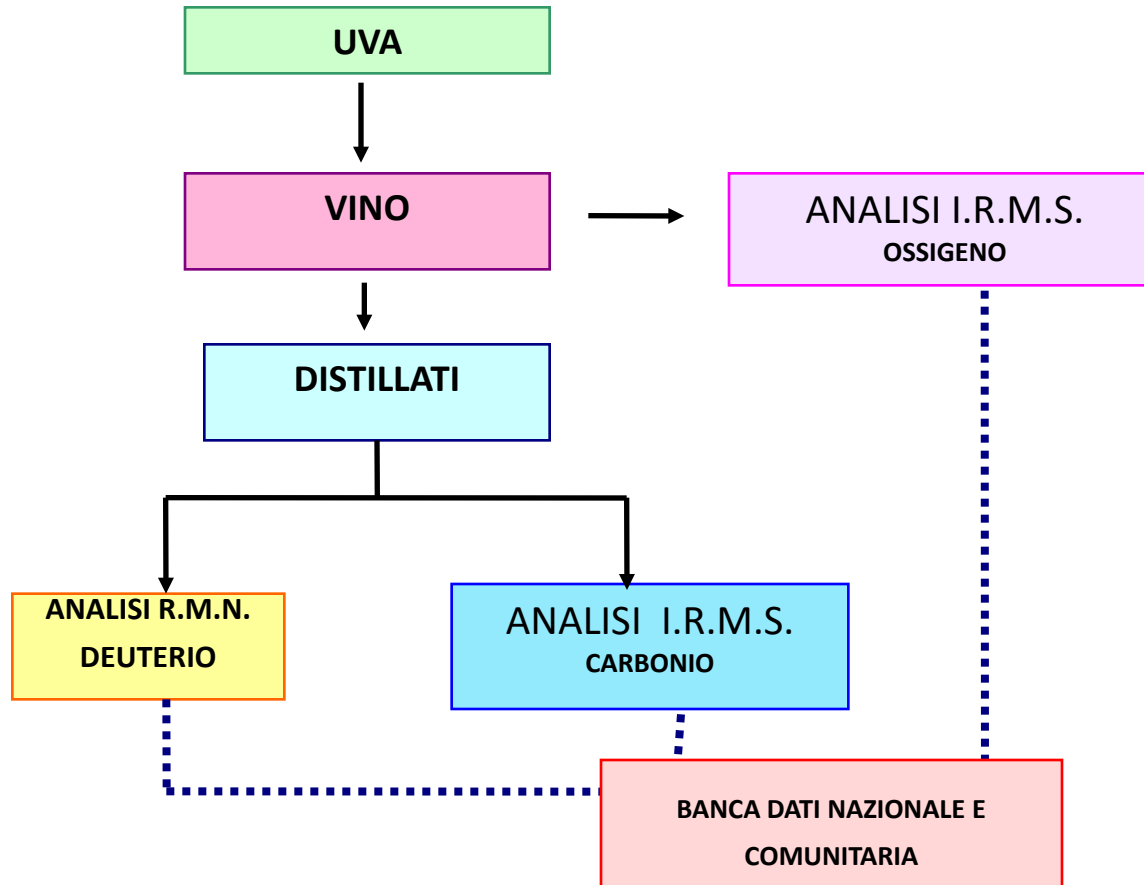
## BANCA DATI

- Per valutare la genuinità dei vini sin dal 1987, il MIPAAF ha attuato una banca dati su campioni sicuramente genuini e provenienti da tutta Italia.
- Ogni anno vengono raccolti nelle zone di produzione circa 400 campioni di uva, vengono vinificati in laboratorio, analizzati e sottoposti alle analisi isotopiche.
- Attualmente la CE ha emanato il Reg. CE 555/2008 “**recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 479/2008**” il quale prevede per tutti gli stati membri l’attuazione della Banca Dati, relativa ai parametri isotopici.
- Secondo il regolamento gli stati membri devono farsi carico della raccolta delle uve, della loro vinificazione e dell’esecuzione delle analisi isotopiche da parte di laboratori ufficiali e dell’invio dei risultati al centro competente.
- Il Centro Comune di Ricerca CCR di Ispra (Va) gestisce la banca dati comunitaria per il settore vinicolo.



# BANCA DATI ANNUALE

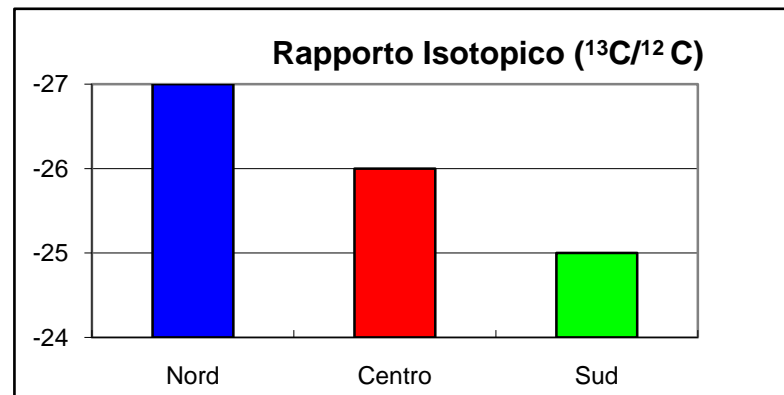
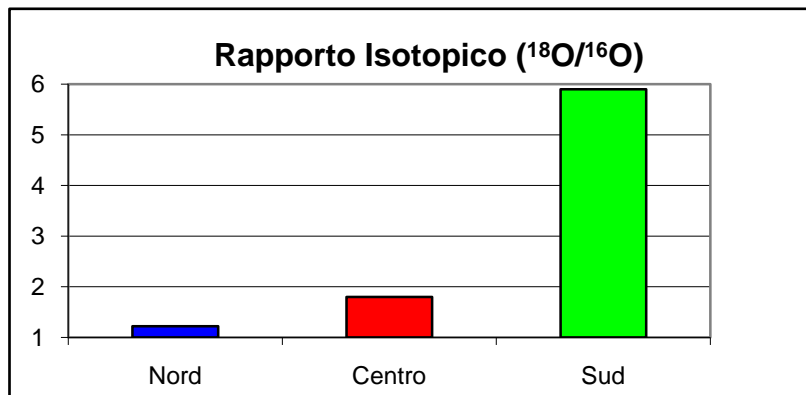
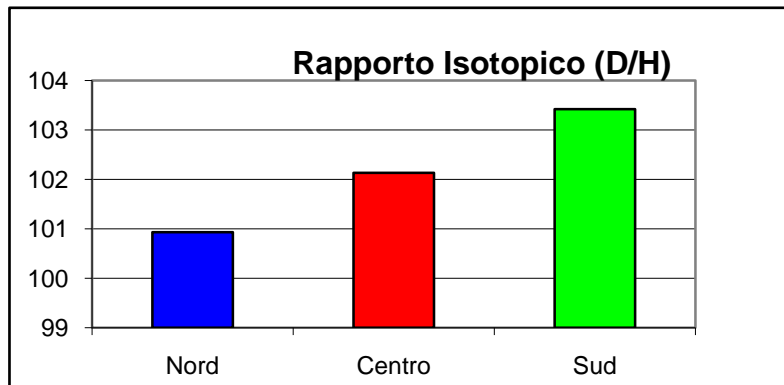
Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali Ispettorato Centrale Repressione Frodi



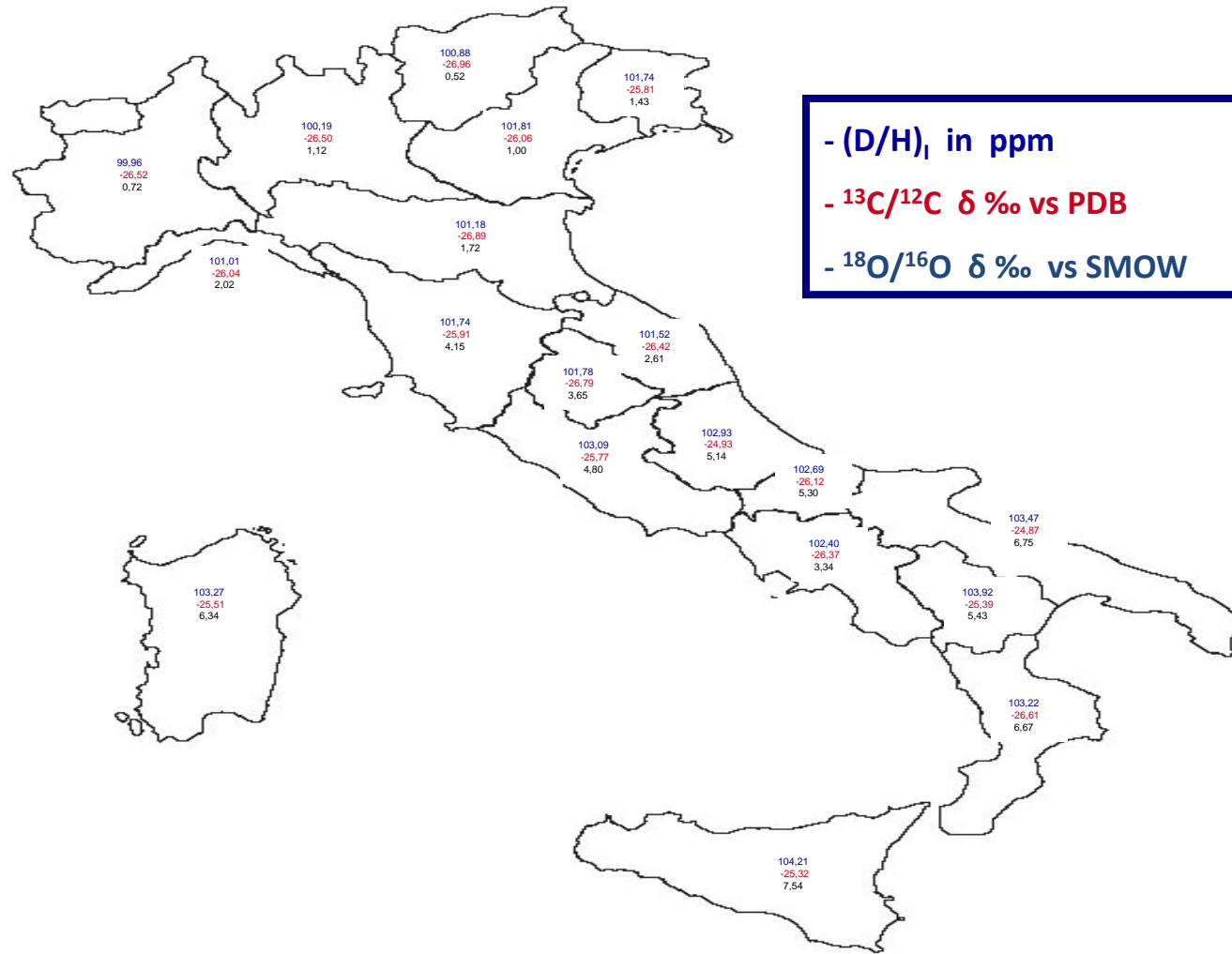
# METODI DI ANALISI

- “Rivelazione dell’aumento del titolo alcolometrico volumico naturale dei mosti di uve, nei mosti di uve concentrati e nei mosti di uve concentrati rettificati e dei vini, mediante la Risonanza Magnetica Nucleare del Deuterio”
- “Determinazione del rapporto  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  relativo all’alcol di fermentazione i mosti, MC, MCR e da vini tramite Spettrometro di Massa per la determinazione dei Rapporti di Isotopi stabili (-IRMS) “
- “Determinazione del rapporto isotopico  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  dell’acqua contenuta nei vini “
- Elencati dall’OIV nel volume “Recueil des methodes internationales d’analyse des vins et des mouts”

# ALCUNI ESEMPI DI VALORI ISOTOPICI APPARTENENTI ALLA BANCA DATI NAZIONALE



# VALORI DEI RAPPORTI ISOTOPICI IN ITALIA ( ANNO 1994)



# SPETTROMETRO DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

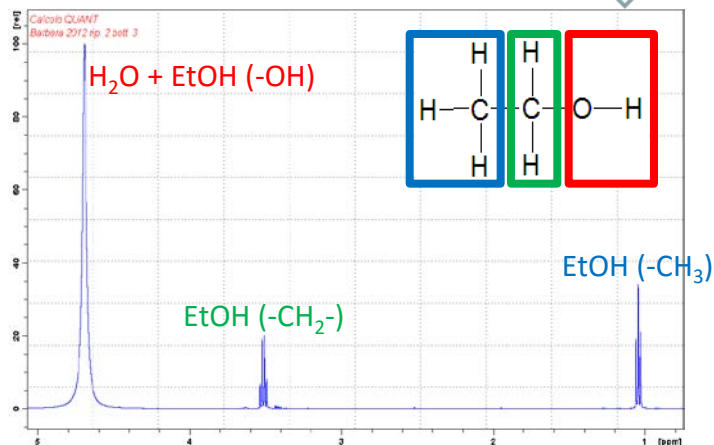


# SPETTROMETRO DI MASSA DEI RAPPORTI ISOTOPICI (IRMS)



# IDENTIFICAZIONE DI METABOLITI DEL VINO TRAMITE SPETTROSCOPIA 1H-NMR

L'identificazione dei metaboliti presenti nel vino avviene tramite **spettroscopia di risonanza magnetica nucleare al protone ( $^1\text{H-NMR}$ )**.



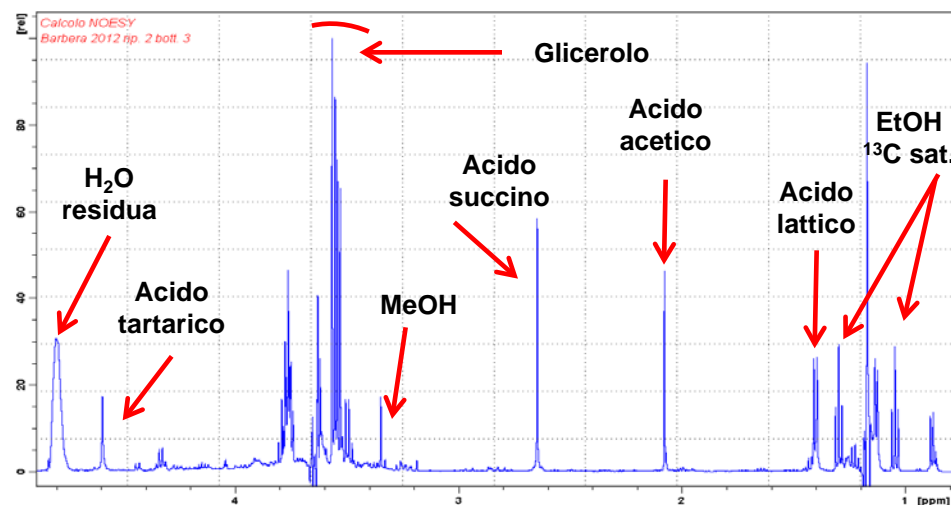
Presaturazione  
delle 8 linee



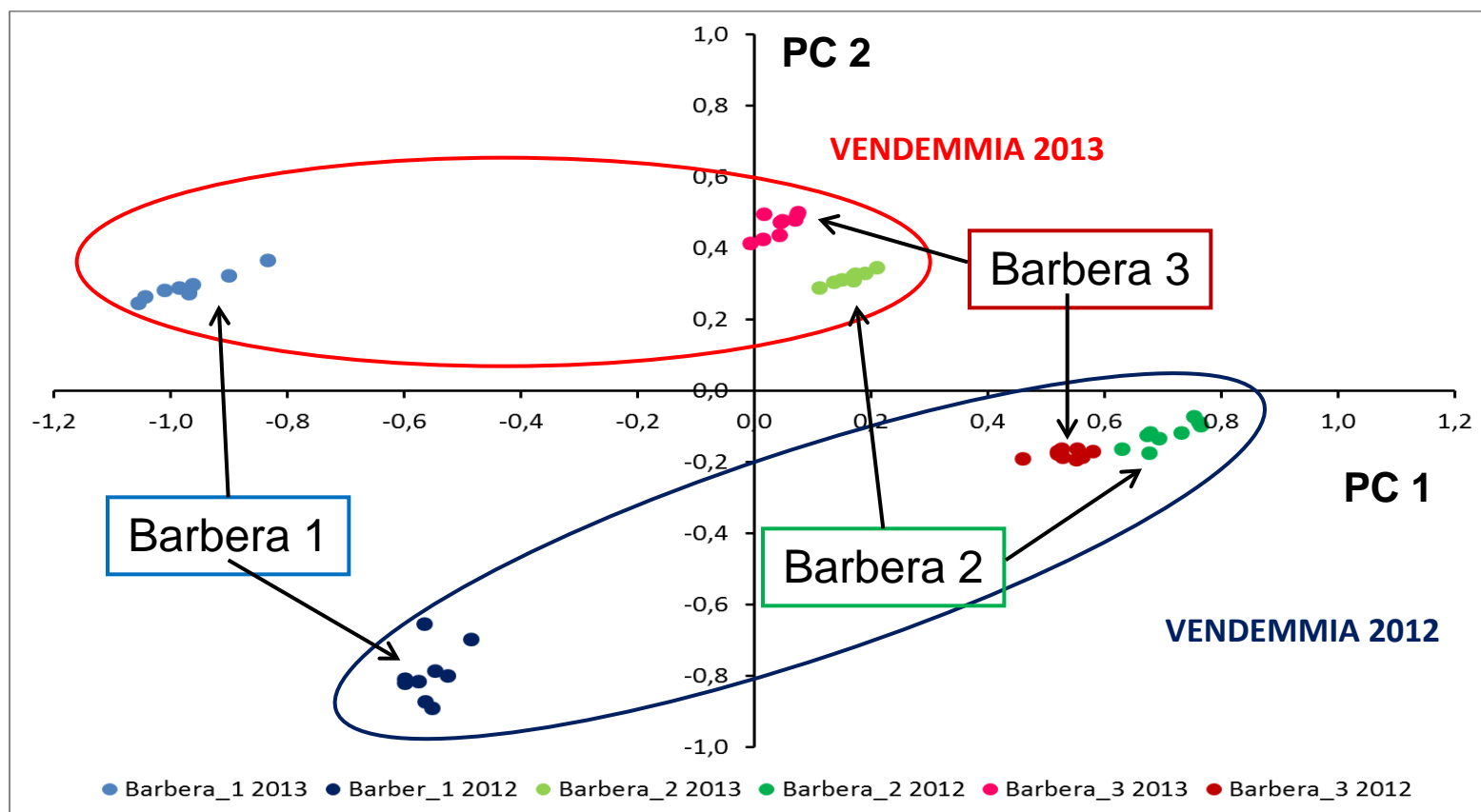
I segnali principali dello spettro  $^1\text{H-NMR}$  sono dovuti all'acqua ed all'etanolo. Per poter osservare gli altri componenti è necessario abbattere tali segnali con un adeguata tecnica di presaturazione.

Il metodo non richiede pretrattamento del campione.

Tramite analisi statistica dei dati spettrali si possono ottenere informazioni sul prodotto.



Analisi di campioni di vino Barbera proveniente da tre diversi produttori piemontesi e di due differenti annate di produzione. L'analisi statistica PCA permette di separare i campioni sia in base alla loro provenienza (PC 1) sia in base all'annata di produzione (PC 2).





**GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE !!!**