

DETERMINAZIONE DELL'IMPRONTA CARBONICA DEI SOTTOPRODOTTI DELLA VINIFICAZIONE E LORO VALENZA BIOLOGICA

Noemi Bevilacqua¹, Massimo Morassut¹, Maria Cecilia Serra¹, Francesca Cecchini^{1*}

¹ Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Viticoltura ed Enologia

Sommario – Il settore enologico, già fondamentale a livello produttivo ed economico, può raggiungere un ruolo centrale anche nella riduzione della produzione di anidride carbonica attraverso un riutilizzo dei sottoprodotti, per fare ciò è fondamentale trovare loro un valore aggiunto. Il processo di vinificazione produce vinacce, fecce e raspi. Nel presente studio si vuole stimare l'impatto ecologico, a livello nazionale, di tali sottoprodotti. In Italia il settore vitivinicolo è il principale settore agroalimentare, si stima che dalla vendemmia 2016 siano stati prodotti circa 51 milioni di ettolitri di vino. La superficie vitata in Italia rappresenta ben il 5,2% della Superficie Agricola Utilizzata ed è caratterizzata da una diffusione capillare in tutte le regioni italiane. Da un punto di vista ambientale si deve tener conto che da ogni ettolitro di vino si producono un quantitativo considerevole di sottoprodotti. Anche se vi sono diversi fattori coinvolti nella stima di tale quantità, quali varietà, processo di vinificazione, tipologia di pressatura, fattori climatico-ambientali, è possibile applicare delle stime redatte a livello nazionale. L'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (2001) stima che per ogni ettolitro di vino prodotto si producono mediamente 6 kg di fecce, 18 kg di vinacce e 4kg di raspi. A livello nazionale ed internazionale, per la valutazione dell'impronta ecologica dei vari settori produttivi viene utilizzata l'Analisi del Ciclo di Vita (LCA) che analizza l'impatto ambientale di un prodotto lungo tutto il ciclo di vita. Nel presente lavoro, sulla base della produzione enologica del 2016, utilizzando lo strumento di calcolo "International Wine Calculatr" è stata stimata la produzione di CO₂eq relativamente ai sottoprodotti (fecce, vinacce e raspi). I risultati mostrano che la CO₂eq prodotta risulta pari a 278.000 t, 834.000 t e 185.000 t rispettivamente per fecce, vinacce e raspi. Questi substrati sono ancora fonte considerevole di nutrienti, tali da renderli materia prima per un ulteriore ciclo produttivo. Le vinacce, formate da bucce e vinaccioli, sono fonte di polifenoli dotati ancora di un forte potere antiossidante, le fecce, composte principalmente da lieviti sono fonte di β -glucani, fibra alimentare solubile. Allo scopo di mostrare le fasi di produzione di tali sottoprodotti, nel presente lavoro viene illustrato un processo standard di vinificazione di un'uva a bacca rossa e la determinazione analitica del quantitativo di biomolecole estratte dai sottoprodotti.

Parole chiave: sottoprodotti, enologia, polifenoli, β -glucani, LCA.

* Per contatti: Via Cantina Sperimentale, 1 00049, Velletri (RM). Tel. 06.9630222, fax 06.9634020. E-mail: francesca.cecchini@crea.gov.it.

DETERMINATION OF CARBON FOOT-PRINT FROM WINERY BY-PRODUCTS AND THEIR BIOLOGICAL VALUE

Abstract – The wine sector from economical and productive point of view is a very important agri-food branch and it can reach a key role in reduction of carbon dioxide emission through re-use of its waste, turning them into by-products. To do that it is important to find for them an added value. Winemaking process produces pomace and seeds, lees and stalks. In this study we want to estimate, at national level, the ecological impact of these by-products. In Italy wine is one of the main agri-food sectors with the production, during 2016 vintage, of about 51 million hectolitres of wine. The vineyard area covers 5.2% of farming land and it is widespread all over the Italian regions. From an environmental point of view it must be taken into account that each hectolitre of wine will produce a considerable amount of by-products. Although there are several factors involved in the estimation of this amount, such as variety, winemaking process, type of pressing, climatic and environmental factors, it is possible to draw up a proper assessment at national level. In fact, the National Agency for Environmental Protection (2001) estimated that for every hectolitre of wine produced can be calculated an average of 6 kg of lees, 18 kg of pomace and 4kg of stalks. There are several models, at national and international level, to evaluate the ecological footprint, in the various productive branches. Nowadays reached great interest the use of Life Cycle Assessment (LCA), methods that considers the environmental impact throughout the whole product's lifecycle. In the present work, on the base of the 2016 wine production, using the "International Wine Calculatr" calculation tool, CO₂eq production has been estimated for by-products (lees, pomace and stalks). The results show that, were produced 278,000 t, 834,000 t and 185,000 t of CO₂eq respectively for lees, pomace and stalks. These substrates are still an important source of nutrients: pomace, consisting of skins and seeds, are a source of polyphenols with strong antioxidant power. Lees, mainly composed by dead yeasts, are an important source of β -glucans. For the purpose of showing the production phases of these by-products, in this paper is illustrated a standard winemaking process for a red berry grape and an analytical determination of the quantity of biomolecules extracted from by-products.

Keywords: by-products, oenology, polyphenols, β -glucans, LCA.

Ricevuto il 4-4-2017. Modifiche sostanziali richieste il 19-6-2017. Accettazione il 1-10-2017.

1. INTRODUZIONE

La vitivinicoltura rappresenta uno dei principali settori economici dell'agroalimentare italiano, nel 2014 il valore della produzione italiana di vino è stata valutata in 10,5 miliardi di euro (Mediobanca 2016) ed il settore è in continua espansione da un punto di vista economico, dal 2010 al 2015 si è registrato un aumento del fatturato del 31,6% (Mediobanca 2016). Da un punto di vista agronomico la viticoltura riveste un ruolo fondamentale con una superficie vitata pari al 5,2% della Superficie Agricole Utilizzata (SAU), con 388.881 aziende coltivate a vite pari a 664.296 ettari a livello nazionale (ISTAT 2013) e con una produzione di vino pari a 51 milioni di Ettolitri (Assoenologi, 2016) nella vendemmia 2016. Questo comparto produttivo vede diverse forme di produzione e di gestione delle aziende. In base ai dati diffusi dal Sistema di Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica (SINAB 2015) del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (MIPAAF), nel 2014 gli ettari di vite coltivati a biologico erano pari a 46.902, quelli in conversione (sulla base del regolamento CEE 2092/91 che norma l'agricoltura biologica sono definite aziende in conversione quelle aziende che stanno attraversando una fase di transizione per passare dalla produzione convenzionale a quella biologica) pari a 25.460, per un totale di 72.361 ettari, con un aumento del 6,51% rispetto al 2013. In base ai dati ISTAT (2013) 9.878 sono le aziende biologiche nel comparto che corrispondono al 2,5% delle aziende vitivinicole ed a un 6,6% del terreno vitato totale. Va sottolineato che a partire dal 2012 è possibile definire il vino "biologico" e sono state emanate una serie di direttive comunitarie per regolamentare tale produzione (regolamenti (CE) n. 834/2007 e (CE) n. 203/2012). In Italia la maggior parte della produzione enologica è di qualità: il 41% del vino è rappresentato da DOC e/o DOCG, mentre il 34% è IGP/IGT (CREA, 2015). Le suddette forme di produzione, che rappresentano la maggioranza della produzione vinicola nazionale, sono già sensibili alle varie problematiche ambientali e potrebbero essere facilmente coinvolte in azioni di riduzione nell'emissione di CO₂. Infatti questo vasto comparto, con caratteristiche molto differenti a seconda della varietà, del territorio e del clima ha un ruolo fondamentale anche da un punto di vista ecologico. La vinificazione viene erroneamente considerata una produzione a

basso impatto ecologico, in realtà richiede considerevoli quantitativi di risorse quali acqua, fertilizzanti e ammendanti, e, dall'altra parte, produce una considerevole quantità di scarti (Ruggieri et al., 2009).

Sinteticamente le fasi produttive possono essere divise in fase agricola di produzione agronomica, e fase di trasformazione che comprende il processo di vinificazione, di confezionamento e commercializzazione. Delle varie fasi quella della vinificazione produce una serie di sottoprodotti agevolmente destinabili a nuove produzioni e filiere. Infatti, durante questo processo, vengono generati un notevole quantitativo di rifiuti solidi organici (Ruggieri et al., 2009), imputabili ai processi di pigiodiraspatura e di decantazione. La qualità e la quantità di tali sottoprodotti dipende da una serie di cofattori come la varietà, l'annata, il tipo di pressatura, ma fundamentalmente dal tipo di vinificazione. Durante la pigiodiraspatura vengono generati raspi e vinacce, quest'ultime formate da bucce e semi. La vinificazione in bianco (senza la macerazione delle bucce nel mosto) produce direttamente dalla prima fase della lavorazione raspi e vinacce. La vinificazione in rosso (con la macerazione delle bucce nel mosto) porta alla formazione immediata di raspi e, solo dopo un periodo di macerazione, delle vinacce. Dal processo di fermentazione e decantazione derivano le fecce di lievito. La normativa vigente, la legge n. 238 del dicembre 2016, "Disciplina organica della coltivazione della vite e della produzione e del commercio del vino", stabilisce le modalità e le tempistiche di smaltimento di tali sottoprodotti e riconosce per le vinacce e le fecce una serie di usi alternativi. È molto complicato effettuare una stima puntuale delle quantità di sottoprodotti generati durante la fase di vinificazione poiché i fattori che influenzano tali quantità sono molteplici. In letteratura sono presenti alcuni studi inerenti le quantità di tali sottoprodotti (Mazza & Miniati, 1993, Schieber et al., 2001, Ruggieri et al., 2009, Cappellaro et al., 2010, Novello, 2015), ma è fondamentale utilizzare dei fattori che permettano delle stime accurate e puntuali. Attualmente una stima attendibile e comprensiva delle varie realtà produttive nazionali è quella redatta dall'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (ANPA, 2001) che definisce con accuratezza le quantità di scarti su base nazionale attraverso metodi di stima che si basano sulla conoscenza dei vari fattori e cofattori che compongono questo settore agronomico.

La valutazione dell'impronta carbonica si sta lentamente diffondendo anche nel comparto vitivinicolo e la metodologia maggiormente utilizzata è quella dell'Analisi del Ciclo di Vita (LCA) (Ardenne et al., 2006, Petti et al., 2010, Bosco et al., 2011, Vazquez Rowe et al., 2013, Neto et al., 2013, Corbo et al., 2014, Iannone et al., 2016, Navarro et al., 2017), la quale comporta, in base alle norme tecniche ISO 2006, il calcolo del costo ambientale dalla produzione alla distribuzione, tenendo conto anche dell'eventuale riciclo degli scarti.

L'uva, come ampiamente dimostrato da innumerevoli lavori, contiene un'elevata quantità di composti fenolici (Dreosti, 2000; Carbone et al., 2011, Cecchini, 2014), tali molecole, costituite in gran parte da flavonoidi, sono da tempo oggetto di studi interdisciplinari per le loro spiccate proprietà antiossidanti e per gli effetti positivi sull'organismo umano (Shirataki et al., 2000; Boonstra, 2003; Boonstra et al., 2004; Roy et al., 2005; Agarwal et al. 2007; Karthikeyan et al., 2007; Velmurugan et al., 2010; Dinicola et al., 2010; Dinicola et al., 2012; Georgiev et al., 2014). La loro alta reattività chimica si esplica soprattutto nella capacità di catalizzare il trasporto di elettroni, e la capacità di chelare cationi metallici, tra cui ferro e rame, con effetti sinergici sull'attività antiossidante. È stato dimostrato che essi manifestano forte attività di inibizione delle Specie Reattive dell'Ossigeno (radicale idrossilico, perossilico, superossido e ossido nitrico) (Yamaguchi et al., 1999), nonché di radicali liberi di sintesi (2,2-difenil-1-picrilidrazile – DPPH) (Saint-Cricquet al., 1999) con importanti effetti preventivi sulla perossidazione lipidica.

Le vinacce, costituite da bucce e semi, parzialmente fermentate (vinificazione in rosso) o tal quali (vinificazione in bianco) sono fonte di una elevata componente polifenolica, ed in particolare di flavan 3-oli ((+) catechina e (-) epicatechina e procianidine dimere, oligomere e polimeriche), con elevata attività antiossidante. Da prove condotte su differenti varietà emerge che i semi derivanti dai sottoprodotti sono significativamente più ricchi di composti bioattivi (polifenoli) rispetto alle bucce, che tuttavia contengono ancora una elevata quantità di queste biomolecole. I test in vitro condotti dimostrano che gli estratti di tali sottoprodotti hanno una elevata attività antiossidante (Giannini et al, 2016), antimicotica (Simonetti et al., 2014) e anticancerogena (Agarwal et al., 2007). In particolare gli estratti derivati dai vinaccioli, ricchi delle forme oligomeriche e polimeriche dei flavan-3oli,

hanno mostrato oltre ad una elevata attività antiossidante, una elevata attività citotossica come dimostrato dai test condotti su cellule cancerogene umane (Agarwal et al., 2007; Cecchini et al., 2012) e una significativa inibizione della *candida albicans* in vivo (gatti infettati) (Simonetti et al., 2014). Inoltre fra i sottoprodotti dell'enologia vanno annoverate anche le fecce, residuo depositato a fine vinificazione formato principalmente da resti di lievito, in ragione della ricchezza dei composti bioattivi che contengono, quali i β -glucani, provenienti dalle pareti cellulari dei lieviti utilizzati durante il processo fermentativo. I β -glucani sono dei polimeri lineari costituiti da molecole di glucosio unite attraverso legami glicosidici β -(1-4) e β -(1-3). Dai polimeri lineari possono inoltre dipartirsi ramificazioni costituite da catene di D-glucosio, connesse con legami β (1-6) o β (1-2). Queste sostanze ampiamente studiate, rappresentano la frazione solubile della fibra alimentare, il cui ruolo nel ridurre la glicemia e la colesterolemia nel sangue è ben riconosciuto a livello internazionale (Jenkins et al., 2002, Rop et al., 2009, Othman et al., 2011, Francolino Andrade et al., 2014, Langella et al., 2015). Primo obiettivo del presente lavoro è stato valutare, a livello nazionale, l'effetto sull'impatto ambientale dovuto ai sottoprodotti del processo di vinificazione, relativamente alla produzione di CO₂eq, mediante la metodologia dell'Analisi del Ciclo di Vita (LCA).

Secondo obiettivo è stato quello di mostrare le fasi di produzione dei vari sottoprodotti durante un processo standard di vinificazione e valutare il quantitativo di biomolecole prodotte e il loro valore biologico.

2. MATERIALI E METODI

2.1. Valutazione dell'impronta ecologica dei sottoprodotti della vinificazione

La valutazione dell'impronta ecologica a livello nazionale, è stata effettuata attraverso l'Analisi del Ciclo di Vita (LCA) utilizzando lo strumento di calcolo "International Wine Carbon Calculator", messo a punto dalla "Wine Institute of California" (FIVS 2008). Tale strumento permette di monitorare le emissioni dovute a tutte le fasi di produzione: fase agronomica della vite; fase produttiva del vino; fasi successive di stoccaggio e commercializzazione. In base a questo protocollo, al fine di discriminare fra sorgenti dirette e indirette sono stati definiti tre scopi. Lo Scopo 1 o impronta prima-

ria è una misura delle emissioni dirette di CO₂eq di cui l'azienda è responsabile diretta, lo Scopo 2 o impronta secondaria è la misura delle emissioni indirette causate in loco da energia acquistata (es. energia elettrica), l'impronta terziaria, o Scopo 3 sono le emissioni dirette ed indirette dovute a prodotti e materiali che si acquistano e si utilizzano. All'interno di questo scopo sono compresi anche gli scarti o sottoprodotti. Relativamente all'analisi LCA, sono stati definiti i confini del sistema, scegliendo di condurre l'analisi limitatamente allo scopo 3 e considerando solo la produzione di sottoprodotti della vinificazione. Per il dataset sono stati utilizzati i dati relativi alla produzione vinicola della vendemmia 2016 pubblicati da Assoenologi pari a 51 milioni di ettolitri di vino. I quantitativi dei singoli sottoprodotti generati dai 51 milioni di ettolitri di vino sono stati individuati utilizzando i dati messi a disposizione da ANPA 2001 che ha calcolato che per ogni ettolitro di vino prodotto si generano 6 kg di fecce, 18 kg di vinacce e 4 kg di raspi.

2.2. Materiale vegetale

Per lo studio è stata utilizzata la varietà di *Vitis vinifera* L. Cesanese d'Affile a bacca rossa autoctona della regione Lazio, proveniente dal vigneto sperimentale del CREA – Viticoltura ed Enologia di Velletri (RM). 100 kg di uva sono stati raccolti a maturazione tecnologica, durante la vendemmia 2015, e vinificati all'interno della cantina sperimentale, dotata di tutte le attrezzature atte alla trasformazione. Dopo pigiodiraspatura dell'uva, il mosto così ottenuto, comprensivo delle vinacce (bucce e semi dell'uva), è stato inviato direttamente nel tino di fermentazione dove è avvenuta la macerazione, cioè l'estrazione delle sostanze contenute nella parte solida dell'uva. Dopo aggiunta di SO₂ (30mg/L), la fermentazione è stata avviata con aggiunta di lievito selezionato per uso enologico *Saccharomyces cerevisiae* S6u. Il processo di vinificazione ha previsto un periodo di macerazione di circa 6 giorni, dopodiché le vinacce sono state separate dal mosto vino. A fine fermentazione il vino è stato separato dalle fecce formate principalmente da lieviti morti. I semi e le bucce delle vinacce e le fecce di lievito sono stati liofilizzati (Liofilizzatore CHIRST freeze dryers- rotational – vacuum concentrator alpha 1-2 LDplus). I liofilizzati così ottenuti sono stati sottoposti ad estrazione ed analisi delle biomolecole. Tutte le prove sono state condotte in triplo.

2.3. Estrazione e determinazione di biomolecole dai sottoprodotti della vinificazione

I composti fenolici (biomolecole) sono stati estratti da semi e bucce liofilizzati con una soluzione di metanolo ed acqua (80:20 v/v).

2.3.1. Determinazione dei polifenoli totali

Il contenuto dei polifenoli totali (TP) è stato determinato con il metodo di Folin Ciocalteu. Brevemente: 1 ml di estratto diluito 1:10 è stato fatto reagire con 1 ml di reattivo Folin Ciocalteu per 3 minuti e successivamente con 4 ml di carbonato sodico al 10% p/v. La soluzione è stata poi portata al volume di 20 ml con H₂O distillata. Dopo 90 minuti è stata eseguita la lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro (Spettrofotometro UV/Visibile Shmadzu UV-1700 Pharma Spec) alla lunghezza d'onda di 750 nm su un percorso ottico di 1 cm. Il valore dell'assorbanza è stato comparato con una retta di taratura ottenuta utilizzando come standard soluzioni di (+)- catechina a differenti concentrazioni. Il contenuto di PT è stato espresso come mg di (+) catechina equivalente/ kg di uva (PT= mg / kg).

2.3.2. Determinazione dell'attività antiossidante

L'Attività antiossidante (AA) degli estratti è stata determinata attraverso il metodo spettrofotometrico utilizzando il radicale di sintesi l'1-1-difenil-2-picril-idrazil (DPPH). Brevemente: 0,1 ml di campione è stato addizionato a 3,9 ml di soluzione di DPPH (0,0473g/L), contro un bianco costituito da 0,1 ml di campione e 3,9 ml di metanolo. È stata poi, misurata la cinetica di decadimento del radicale libero DPPH, per diverse concentrazioni del campione, a temperatura costante (23°C), allo spettrofotometro (Spettrofotometro UV/Visibile Shmadzu UV1700 Pharma Spec) alla lunghezza d'onda di 515nm ad intervalli di 15 minuti, fino al raggiungimento del plateau (60 minuti circa). L'AA è stata espressa come mg di campione (buccia, semi) che riducono il 50% del DPPH (EC50). Il valore dell'EC50 è inversamente proporzionale all'AA, in quanto maggiore è l'AA e minore è la quantità di antiossidante che occorre per ridurre del 50% il DPPH. Il reciproco di questo valore (1/EC50) rappresenta la misura dell'efficienza dell'AA e quindi il potere antiradicalico (ARP), ed in questo modo verranno espressi i valori dell'AA.

2.3.3. Determinazione dei β-glucani

La determinazione del contenuto di β-glucani è stata effettuata utilizzando il kit enzimatico *Megazyme*.

Brevemente: a 20 mg di fecce liofilizzate è stato aggiunto idrossido di potassio 2N sotto agitazione, la soluzione è stata portata a pH 4,0 con un tampone di acetato di sodio (pH 3,8). 40 μ L di sospensione enzimatica (exo 1, 3- β -glucanasi, endo-1,3- β -glucanasi, β -glucosidasi e chitinasi) è stata aggiunta e lasciata in sospensione per 16 ore a 40° C. Dopo diluizione con 10 ml di acqua e centrifugazione, ad una aliquota di 0,1 ml sono stati aggiunti 4 mL di enzimi reagenti (glucosio ossidasi, perossidasi, e 4-amminoantipirina) per 20 min a 40° C. Infine, la lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro (Spettrofotometro UV/Visibile Shmadzu UV-1700 Pharma Spec) è stata effettuata a 510 nm contro il bianco del reagente (che consiste in 0,1 mL di tampone acetato di sodio + 4 mL di glucosio ossidasi / perossidasi reagente). I risultati sono stati espressi come β glucani % peso/peso (w/w) di campione. La stessa determinazione è stata eseguita sullo stesso lievito usato per la fermentazione.

2.4. Analisi Statistica

I dati sono stati espressi come media di tre repliche \pm la deviazione standard. L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando l'analisi della Varianza (ANOVA) e la differenza tra le medie è stata valutata con il test di Tukey (Versione 7.1 Stat-Soft Italy).

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella Figura 1 è riportata la superficie vitata distinta per regione, i valori sono riferiti ai dati del censimento ISTAT 2010 pubblicati nel 2013. Per alcune regioni italiane la produzione vitivinicola ricopre una parte estesa dei terreni coltivati: il 9,6% in Veneto, 8,9% in Friuli Venezia Giulia e 8,2% in Sicilia. A fronte di una generale riduzione della superficie vitata nazionale, alcune regioni sono in controtendenza, infatti con deliberazione del 1° luglio 2016, n. 1259, in accordo con la Regione Veneto, la giunta del Friuli Venezia Giulia ha reso disponibili alla coltivazione viticola ulteriori 556 ettari per l'anno 2017.

Relativamente ai soli sottoprodotti del processo di vinificazione, in Italia, nella vendemmia 2016 (Assoenologi 2016) sono state prodotte 309.000 tonnellate di fecce, 927.000 tonnellate di vinacce e 206.000 tonnellate di raspi (Tab. 1), pari a circa il 28% di scarti calcolati sulla base della stima redatta dall'ANPA (2001).



Figura 1 – Percentuale della Superficie Agricola Nazionale utilizzata per la coltivazione della vite nel 2010

Tabella 1 – Scarti della vinificazione nelle varie regioni Italiane e relativi alla vendemmia 2016

Regione	Vino (hl)	Fecce (t)	Vinacce (t)	Raspi (t)
Piemonte	2.540.000	15.240	45.720	10.160
Lombardia	1.200.000	7.200	21.600	4.800
Trentino	1.140.000	6.840	20.520	4.560
Veneto	10.410.000	62.460	187.380	41.640
Friuli V.G.	1.770.000	10.620	31.860	7.080
Emilia Romagna	7.600.000	45.600	136.800	30.400
Toscana	2.620.000	15.720	47.160	10.480
Marche	960.000	5.760	17.280	3.840
Lazio – Umbria	2.340.000	14.040	42.120	9.360
Abruzzo	3.340.000	20.040	60.120	13.360
Campania	1.292.000	7.740	23.220	5.160
Puglia	8.880.000	53.280	159.840	35.520
Sicilia	5.810.000	34.860	104.580	23.240
Sardegna	790.000	4.740	14.220	3.160
Altre regioni	810.000	4.860	14.580	3.240
Totale Italia	51.500.000	309.000	927.000	206.000

La situazione varia nelle diverse regioni italiane con valori più alti registrati in Veneto e Puglia e quelli più bassi in Sardegna. Mazza & Miniati, 1993, Schieber et al., 2001 stimarono la quantità dei sottoprodotti della vinificazione a circa il 20%,

la percentuale di sottoprodotti riferiti alla vinificazione del Cesanese d’Affile effettuata presso la nostra cantina sperimentale è di circa 38%. Tali differenze possono essere imputate al fatto che risulta difficile effettuare un confronto, dato che la quantità e la qualità delle vinacce e delle fecce dipende da vari fattori quali pratiche agronomiche, varietà, condizioni climatiche, stipite di lievito utilizzato nella fermentazione, tipo di vinificazione, ecc. A livello nazionale il calcolo dell’emissione di CO₂ equivalenti dovuta agli scarti della vinificazione del 2016 calcolati in base all’“International Wine Carbon Calculator” risulta pari a 278.100 tonnellate dalle fecce, 834.300 tonnellate dalle vinacce e 185.400 tonnellate dai raspi. La situazione varia di regione in regione con i valori più bassi stimati in Sardegna e quelli più alti stimati in Veneto (Tab. 2).

Le figure 2 e 3, mostrano il confronto tra il contenuto di PT e l’attività antiossidante, espressa in ARP (1/EC50), nelle bucce e nei semi prima e dopo la vinificazione del Cesanese d’Affile. Come si evidenzia il contenuto in PT è significativamente superiore ($p \leq 0,05$) nelle bucce e nei semi dell’uva prima della fermentazione, in quanto durante la macerazione parte del contenuto fenolico presente nelle parti solide dell’uva viene trasferita al mosto-vino. Tuttavia in accordo con altri autori (Schieber et al., 2001, Laufenberg et al., 2003, Lafka et al. 2007, Ky et al., 2014, de Sá et al., 2014, de la Cerda-Carrasco et al., 2015, Damian et al., 2015, Ky et al. 2015), bucce e semi delle vinacce contengono ancora una parte consistente di composti fenolici, circa il 21% e il 70% di PT, nelle bucce e nei semi rispettivamente. L’elevata percentuale di composti fenolici presente ancora nei semi delle vinacce è dovuta alla robusta epidermide dello strato esterno che li rende poco permeabili all’estra-

Tabella 2 – Produzione di CO₂eq relativa agli scarti della vinificazione nelle varie regioni Italiane riferiti alla vendemmia 2016

Regione	Vino (hl)	fecce CO ₂ eq (t)	vinacce CO ₂ eq (t)	raspi CO ₂ eq (t)
Piemonte	2.540.000	13.716	41.148	9.144
Lombardia	1.200.000	6.480	19.440	4.320
Trentino	1.140.000	6.156	18.468	4.104
Veneto	10.410.000	56.214	168.642	37.476
Friuli V.G.	1.770.000	9.558	28.674	6.372
Emilia Romagna	7.600.000	41.040	123.120	27.360
Toscana	2.620.000	14.148	42.444	9.432
Marche	960.000	5.184	15.552	3.456
Lazio – Umbria	2.340.000	12.636	37.908	8.424
Abruzzo	3.340.000	18.036	54.108	12.024
Campania	1.292.000	6.966	20.898	4.644
Puglia	8.880.000	47.952	143.856	31.968
Sicilia	5.810.000	31.374	94.122	20.916
Sardegna	790.000	4.266	12.798	2.844
Altre regioni	810.000	4.374	13.122	2.916
Totale Italia	51.500.000	278.100	834.300	185.400

zione di questi composti nel mosto-vino durante la fase di macerazione. Considerata la stretta correlazione esistente tra il contenuto fenolico e l’AA anche il valore dell’ARP è significativamente superiore ($p \leq 0,05$) nelle bucce e nei semi dell’uva prima della vinificazione. Tuttavia anche in questo caso l’AA dei delle bucce e dei semi ottenuti dopo la fermentazione rappresenta rispettivamente il 25% ed il 59% rispetto agli stessi prima della fermentazione.

La Figura 4 mostra il contenuto di β-glucani presenti nel lievito enologico *Saccharomyces cerevisiae* S6u utilizzato per la fermentazione ed il contenuto di β-glucani estratti dalle fecce dello stesso

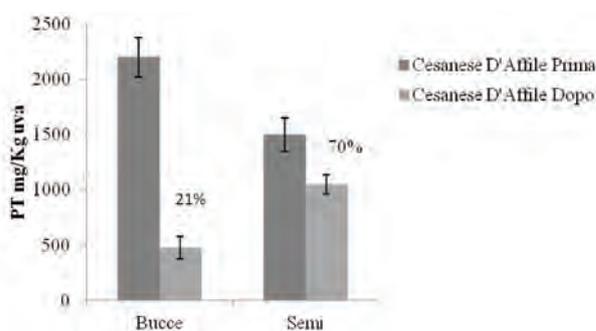


Figura 2 – Polifenoli totali (PT) espressi in mg/kg di uva, presente nelle bucce e nei semi prima e dopo il processo di vinificazione. Le barre verticali indicano ± la deviazione standard

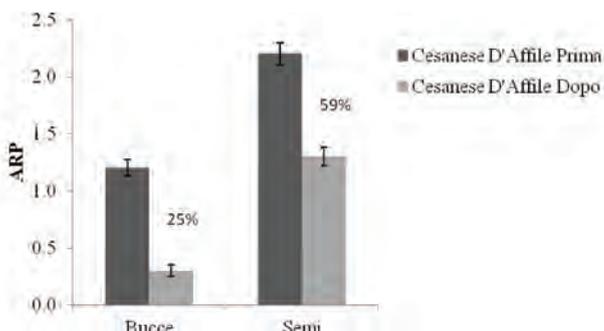


Figura 3 – Attività Antiossidante espressa come ARP (1/EC50), nelle bucce e nei semi di uva prima e dopo la macerazione. Le barre verticali indicano ± la deviazione Standard

lievito sedimentato a fine fermentazione. Come si evidenzia il contenuto di β -glucani estratti dalle fecce di lievito anche se significativamente più basso ($p \leq 0,05$) rispetto allo stesso lievito utilizzato per la fermentazione, tuttavia contiene ancora il 43% di β -glucani. Tali risultati concordano con quanto riscontrato in altri studi (Cecchini et al., 2015, Cecchini et al., 2016, Varelas et al., 2016). La Legge 12 dicembre 2016, n 238, “Disciplina organica della coltivazione della vite e della produzione e del commercio del vino” prevede che la detenzione delle vinacce e delle fecce negli stabilimenti enologici è vietata a decorrere dal 30° giorno successivo a quello dell’ottenimento. I termini di cui al presente comma sono elevati al novantesimo giorno per i produttori di quantitativi inferiori a 1000 hl. Fatta eccezione per i casi di esenzione per ritiro sotto controllo, previsti dalla vigente normativa, le vinacce e le fecce di vino comunque ottenute dalla trasformazione delle uve e dei prodotti vitivinicoli devono essere avviate direttamente alle distillerie o in alternativa in base al DM 7407/2010 del MIPAAF possono essere utilizzate per uso agronomico diretto (rimessi nel terreno) o per uso indiretto (produzione di fertilizzanti) o per uso energetico come biomassa. Lo spandimento in vigneto delle vinacce tal quali è consentito dai regolamenti europei ad alcune condizioni relative a quantità, tempi e caratteristiche dei suoli. Pur riducendo i costi di smaltimento, questa soluzione tuttavia non porta ad una reale riduzione dell’emissione di CO_2eq , se si considera che in base a quanto riportato da FIVS 2008, per ogni kg di feccia e kg di vinaccia sono generate, rispettivamente, 0,9 kg di CO_2eq ed inoltre queste pratiche potrebbero portare a contaminazione ed infezioni di patogeni sia nel terreno sia nelle piante con evidente danno economico.

Tuttavia il DM 7407/2010 del MIPAAF contempla per il ritiro sotto controllo anche la possibilità di impiegare fecce e vinacce per usi alternativi quali agroalimentare, farmaceutico, e cosmetico. Quindi in base a tale DM, la loro re-immissione dei sottoprodotti del settore vitivinicolo in altre filiere produttive potrebbe comportare un guadagno sia ecologico sia economico. Infatti biomolecole come polifenoli e β -glucani, dato il loro elevato potere salutistico, sono già ampiamente utilizzate in campo farmaceutico, chimico, cosmetico e alimentare e la loro produzione avviene per estrazione da materia prima (piante e lieviti) allevate esclusivamente per tale scopo. A titolo di esempio si può valutare la quantità di CO_2eq derivante dal-

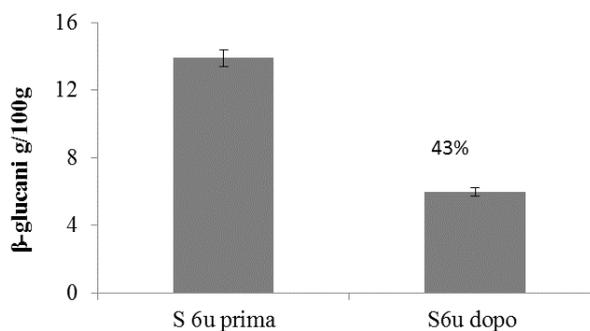


Figura 4 – Contenuto di β -glucani nel lievito prima della fermentazione e nelle fecce di lievito dopo la fermentazione. Le barre verticali indicano \pm la deviazione standard

la produzione di uva e di lieviti utilizzati come materia prima per l’estrazione di biomolecole. In letteratura viene riportato (Vazquez Rowe et al, 2013, Bosco et al. 2011, Gazulla et al., 2010) che la sola fase agronomica per la produzione di 1 kg di uva produce da 0,1 a 0,5 kg di CO_2eq , e per la produzione di 1 kg di lievito secco vengono generati 3,2 kg di CO_2eq come riportato dalla Confederazione Europea dei Produttori di Lievito (COFA-LEC). Va considerato che, utilizzando i sottoprodotti della filiera vitivinicola, tutta l’emissione di CO_2eq relativa alla fase agronomica della vite o di allevamento del lievito verrebbe annullata in quanto già computata in tutte le fasi dell’intero ciclo di vita del settore vitivinicolo.

4. CONCLUSIONE

Tenendo presente che l’Europa ha già emanato un insieme di leggi, il “pacchetto clima e energia 2020”, che impegnano i suoi stati membri a continuare la strada iniziata con il protocollo di Kyoto nella lotta ai cambiamenti climatici, sulla base degli impegni presi nel 2007 sono state emanate una serie di leggi e provvedimenti volti alla riduzione delle emissioni di anidride carbonica del 20% entro il 2020, del 30% entro il 2030 ed il 50% entro il 2050.

Le azioni previste da tale pacchetto prevedono misure specifiche per la riduzione diretta delle emissioni di anidride carbonica e l’incentivo alla produzione di energia da fonti rinnovabili. Questo impegno a livello europeo si trasforma in una serie di azioni e proposte che riguardano tutti i settori della produzione al quale non viene meno anche il settore vitivinicolo. Il coinvolgimento delle aziende vitivinicole nella riduzione dell’emissione dei gas serra attraverso un processo che inserisca piccoli cambiamenti, come il riciclo dei sottoprodotti del-

la vinificazione, su scala nazionale, comporterebbe una significativa riduzione delle emissioni totali, considerando che in base ai calcoli relativi a vinacce fecce e raspi, nella vendemmia 2016 solo in Italia sono state prodotte circa 1.300 tonnellate di CO₂eq che potrebbero essere ridotte utilizzando tali sottoprodotti come materia prima per altre filiere produttive.

5. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Agarwal C., Veluri R., Kaur M., Chou S.C., Thompson J.A., Agarwal R. (2007) Fractionation of high molecular weight tannins in grape seeds extract and identification of procyanidin B2-3-3'-O-gallate as a major active constituent causing growth inhibition and apoptotic death of DU145 human prostate carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 28, 1478-1493.
- ANPA Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (2001) I rifiuti del comparto agroalimentare", Rapporti 11/2001. ANPA – Unità Normativa Tecnica, Roma.
- Ardente F., Beccali G., Cellura M., Marvuglia A. (2006). A Case Study of an Italian Wine-Producing. *Environmental Management*, 38, 3, 350-364.
- Arienzo M., Christen E.W., Quayle W.C., (2009) Phytotoxicity testing of winery wastewater for constructed wetland treatment. *J Hazard Mater*, 169, 1-3, 94-99.
- ASSOENOLOGI (2016) Produzione 2016 i dati definitivi dell'associazione enologi enotecnici italiani Milano, 20 Novembre 2016.
http://www.assoenologi.it/main/images/pics/vendemmia_2016_dati_definitivi.pdf
- Boonstra J. (2003) Progression through the G1-phase of the on-going cell cycle. *Journal of cellular biochemistry* 90, 2, 244-252.
- Boonstra J., Post J.A. (2004) Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene* 33, 11-13.
- Bosco S., Di Bene C., Galli M., Remorini D., Massai R., Bonari E. (2011) Greenhouse gas emissions in the agricultural phase of wine production in the Maremma rural district in Tuscany, Italy. *Ital J Agron.*, 6, 93-100.
- Carbone K., Giannini B., Cecchini F. (2011) Confronto della variabilità fenotipica polifenolica ed antiossidante tra le cultivar Malvasia del Lazio e Cabernet Sauvignon. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 644,47-56.
- Carbone K., Picchi V., Giannini B., Lo Scalzo R., Cecchini F. (2013) On the importance of using different radical sources to investigate the scavenging properties of grape tissues and wines. *International Journal of Nutrition and Dietetics*, 1, 1, 1-20.
- Cecchini F., Moretti S., Giannini B., Carbone K. (2013) Phytochemical Profiles and Antiradical Capacity of Grape Seed Extracts from Different Italian Cultivars. Reusing of Winery by-products. *Cultivars: Chemical Properties, Antioxidant Activities and Health Benefits*, 137-156.
- Cecchini F., Bevilacqua N., Giannini B., Morassut M. (2015) Lees b-glucans: from winery byproduct to nutritional and environmental resource. The 3rd International Virtual Conference on Advanced Scientific Results, SCIECONF publication, 218-220.
- Cecchini F., Bevilacqua N., Giannini B., Morassut M. (2016) The potential use of yeast lees (1-3, 1-6)-β-glucans as functional food ingredients. *Internet journal of enology and viticulture*, n°4/1 pp 1-5.
- Cecchini F. (2014) Factors Affecting Antioxidant Activity of Grape Tissues. Ed- Nova Science Publishers, Inc. USA., 107-133.
- Cecchini, F., Giannini, B., Morassut, M., & Moretti, S. (2012). Effect of the basic terroir on the nutraceutical proprieties in *Vitis vinifera* L. cv. Dolcetto red grape variety. *Le progrès agricoles et viticoles*, 5, 88-92.
- Corbo C., Lamastra L., Capri E. (2014) From Environmental to Sustainability Programs: A Review of Sustainability Initiatives in the Italian Wine Sector. *Sustainability* 6, 4, 2133-2159.
- CREA (2015) *Annuario dell'agricoltura italiana*, vol. LXVIII, Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria Roma.
- Damian C., Olteanu A., Oroian M., Leahu A., Ropciuc S. (2015) Valorization of Grape by-products. *American Journal of Environmental Protection*, 4(3): 134-138 de la Cerdà-Carrasco A, López-Solís R, Nuñez-Kalasic H, Peña-Neira Á, Obreque-Slier E. (2015) Phenolic composition and antioxidant capacity of pomaces from four grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *J Sci Food Agric.*, 95, 1521-7.
- de Sá M., Justino V., Spranger M.I., Zhao Y.Q., Han L., Sun B.S. (2014) Extraction yields and anti-oxidant activity of proanthocyanidins from different parts of grapepomace: effect of mechanical treatments. *Phytochem Anal.*, 25, 2, 134-40.
- Devesa-Reya R., Vecinoa X., Varela-Alendea J.L., Barralb M.T., Cruza J.M., Moldesa A.B. (2011) Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Manag.*, 11, 2327-35.
- Dinicola S., Cucina A., Pasqualato A., D'Anselmi F., Proietti S., Lisi E., et al. (2012) Antiproliferative and apoptotic effects triggered by grape seed extract (GSE) versus epigallocatechin and procyanidins on colon cancer cell lines. *Internat J Mol Sci.*, 13, 651-664.
- Dinicola S., Cucina A., Pasqualato A., Proietti S., Danselmi F., Pasqua G., et al. (2010) Apoptosisinducing factor ad caspase-dependent apoptotic pathways triggered by different grape seed extracts on human colon cancer cell line Caco2. *Brit J Nut*, 104, 824-832.
- Dreosti I.E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition* 16, 692-694.
- FIVS (Fédération Internationale des Vins et Spiritueux) (2008) International wine carbon calculator V1.2. Disponibile su https://fivs.org/public/download/document/239/International_Wine_Carbon_Calculator_V1.2.xls
- Francelino Andrade E., Vieira Lobato R., Vasques Araújo T., Gilberto Zangerônimo M., Vicente Sousa R., José Pereira L. (2014) Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review *Nutr Hosp.*, 31, 1, 170-177.
- Gazulla C., Raugei M., Fullana-i-Palmer P. (2010) Taking a life cycle look at crianza wine production in Spain: where are the bottlenecks? *International Journal Life Cycle Assessment*, 15, 330-337.
- Georgiev V., Ananga A., Tsoleva V. (2014) Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. *Nutrients* 6, 1, 391-415.
- Giannini B., Mulinacci N., Pasqua G., Innocenti M., Valletta A., & Cecchini F. (2016) Phenolics and antioxidant activ-

- ity in different cultivars/clones of *Vitis vinifera* L. seeds over two years. *Plant Biosystems*, 1-9.
- Iannone R., Miranda S., Riemma S., De Marco I. (2016) Improving environmental performances in wine production by a life cycle assesment analysis. *Journal of Cleaner Production* 111, 172-180. International Wine Carbon Calculator, developed by "Wine Institute of California" (<http://www.wineinstitute.org>).
- ISO (2006) ISO 14040: Environmental management -Life cycle assessment- Principles and framework. EN ISO 14040. International Organisation for Standardisation. Ginevra.
- ISTAT (2013) "Atlante dell'agricoltura italiana, 6° Censimento Generale dell'Agricoltura". Istituto Nazionale di Statistica.
- Jenkins A.L., Jenkins D.J.A., Zdravkovic U., et al. (2002) Depression of the Glycemic Index by High Levels of β -glucan Fibers in two Functional Foods tested in Type 2 Diabetes. *Eur J Clin Nutr*, 56, 622-628.
- Karthikeyan K., Sarala-Bai B.R., Niranjali D. (2007) Grape seed proanthocyanidins ameliorates isoproterenol-induced myocardial injury in rats by stabilizing mitochondrial and lysosomal enzymes. An a vivo study. *Life sciences* 18, 1615-1621.
- Ky I., Lorrain B., Kolbas N., Crozier A., Teissedre P.L. (2014) Wine by-products: phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. *Molecules*, 19, 1, 482-506.
- Ky I., Teissedre P.L. (2015) Characterisation of Mediterranean grape pomace seed and skin extracts: polyphenolic content and antioxidant activity. *Molecules*, 20, 2, 2190-207
- Lafka T.I., Sinanoglou V., Lazos E.S. (2007) On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes, *Food chemistry*, 104, 1206-1214.
- Langella C., Naviglio D., Marino M., Gallo M. (2015) Study of the effects of a diet supplemented 6 with active components on lipid and glycemic profiles. *Nutrition*, 31, 180-6.
- Laufenberg G., Kunz B., Nystroem M. (2003) Transformation of vegetable waste into value added 8 products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresour Technol.* 87, 2, 167-98.
- Mazza G., Miniati E. (1993) *Grapes. In anthocyanins in fruits, vegetables and grains*, Bocaaton, Ann Harbor, London, Tokyo: CRC press, 149-199.
- Mediobanca (2016), Indagine sul settore viticolo, MBRES – Ufficio studi Mediobanca, Milano ISSN 1825-6104.
- Moldes A.B., Vázquez M., Domínguez J.M., Díaz-Fierros F., Barral M.T. (2008) Negative effect of discharging vinification lees on soils. *Bioresour Technol.*, 13, 5991-6.
- Moretti S., Comandini M.C., Valori R., Cecchini F. (2011) Antioxidant activities of grape seeds from different cultivars and clones of central Italy. *Proceedings 17th International Symposium of the Group of International Expert of vitivincultural System for CoOperation (GiESCO) Asti-Alba (CN) Italy*, 29 Aug-2 sept 2011, 115-118.
- Navarro A., Puig R., Fullana-i-Palmer P. (2017) Product vs corporate carbon footprint: Some methodological issue. A case study and review on the wine sector. *Science of the Total Environment*, 581-582, 722-733.
- Novello V. (2015). Filiera vitivinicola: valorizzare residui e sottoprodotti. *Informatore Agrario*, 33, 61-65.
- Othman R.A., Moghadasian M.H., Jones P.J. (2011) Cholesterol-lowering effects of oat β -glucan. *Nutrition Reviews*, 69, 299-309.
- Petti L., Ardente F., S. Bosco, De Camillis C., Masotti P., Pattara C., Raggi A., Tasselli G. (2010) "Stato dell'arte della Life Cycle Assessment (LCA) nel comparto vitivinicolo", in: Francesca Cappellaro e Simona Scalbi (a cura di), *La metodologia LCA: approccio proattivo per le tecnologie ambientali. Casi studio ed esperienze applicative*, Atti Convegno Scientifico della Rete Italiana LCA, Padova, 22 aprile 2010, ENEA, Roma, 221-228 (ISBN 978-88-8286-226-8).
- Rop O., Mlcek J., Jurikova T. (2009) Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*, 67, 11, 624-631.
- Roy A.M., Baliga M.S., Elmets C.A., Katiyar S.K. (2005), Grape Seed Proanthocyanidins Induce Apoptosis through p. 53, Bax, and Caspase 3 Pathways. *Neoplasia* 7, 1, 24-36.
- Ruggieri L., Cadena E., Martínez-Blanco J., Gasol C.M., Rieraevall J., Gabarrell X., Gea T., Sort X., Sánchez A. (2009) Recovery of organic wastes in the Spanish wine industry. Technical, economic and environmental analyses of the composting process. *Journal of Cleaner Production*, 17, 9, 830-838.
- Saint-Cricq, De Gaulejac N., Provost C., Vivas N. (1999) Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. *J Agric Food Chem*, 47, 425-431.
- Schieber A., Stintzing F.C. and Carle R. (2001) By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. *Trends in Food Science & Technology* 12, 401-413.
- Shirataki Y., Kawase M., Saito S., Kuruwara T., Tanaka W., Satoh K., Sakagami H., Motohashi N. (2000) Selective cytotoxic activity of grape peel and seeds extracts against oral tumor cell lines. *Anticancer Res.*, 20, 423-426.
- Shrikhande A.J. (2000). Wine by-products with health benefits. *Food Research International*, 33, 469-474.
- Simonetti G., Santamaria A.R., D'Auria F.D., Mulinacci N., Innocenti M., Cecchini F., Pericolini E., Gabrielli E., Pannella S., Antonacci D., Palamara A.T., Vecchiarelli A., Pasqua G. (2014) Evaluation of anti-Candida Activity of *Vitis vinifera* L. seed extract obtaine from wine and table cultivars. *Biomed Res Int.*, 127021.
- SINAB (2015) Bio in cifre 2015, Il Biologico Italiano. Report del Sistema di Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica a cura di Giardina F, Roma.
- Varelas V., Liouni M., Calokerinos A.C., Nerantzis E.T. (2016) An evaluation study of different methods for the production of β -D-glucan from yeast biomass. *Drug Test Anal.*, 8, 1, 46-55.
- Vázquez-Rowe I., Rugani B., Benetto E. (2013) Tapping carbon footprint variations in the European wine sector. *Journal of Cleaner Production*, 43, 146-155.
- Velmurugan B., Singh RP., Kaul N., Agarwal R., Agarwal C. (2010) Dietary Feeding of Grape Seed Extract Prevents Intestinal Tumorigenesis in APCmin/+ Mice *Neoplasia*, 12, 1, 95-102.
- Yamaguchi F., Yoshimura Y., Nakazawa H., Ariga, T. (1999) Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system. *J. Agric. Food Chem*, 47, 2544-2548.



INGEGNERIA DELL'AMBIENTE

per il 2017 è sostenuta da:

STADLER[®]
STADLER ITALIA S.r.l.



 **VEOLIA**
Veolia Water Technologies Italia S.p.A.

SOLV^{air} Solutions

 **INGEGNERIA
DELL'AMBIENTE**



N. 3/2017

Ledizioni 



CiAI Consorzio
Imballaggi
Alluminio


UNICALCE
Innoviamo la tradizione



ecopneus
il futuro dei pneumatici fuori uso, oggi


iren

VOMM

 **RICREA** 20¹⁹⁹⁷
CONSORZIO NAZIONALE RICICLO
E RECUPERO IMBALLAGGI ACCIAIO 2017

ALLEGRI
ecologia
trattamento acque

KSB 

PASSAVANT
IMPIANTI 
progettazione e costruzione impianti trattamento acque, fanghi e rifiuti

 **comieco**
Consorzio Nazionale Recupero e Riciclo
degli Imballaggi a base Cellulosica

conTec

 **SEAM**
engineering
l'acqua e l'ambiente