



LAFFORT

l'œnologie par nature



INFO

NUMERO 57 - Novembre - Dicembre 2007

Mannostab®: il trattamento naturale per la stabilizzazione tartarica dei vini

Dieci anni di ricerca di base ed applicata hanno permesso di isolare, identificare ed estrarre la macromolecola in grado di rivoluzionare l'approccio alla stabilizzazione tartarica dei vini.

Questa mannoproteina specifica, chiamata MP40®, è oggi estratta da pareti di lieviti per via enzimatica, con un processo industriale brevettato (brevetto francese 94-13261 reso pubblico con il n° 2726284 sul bollettino delle proprietà industriali).

Dobbiamo considerare il Mannostab® come un trattamento enologico di precisione, che fornisce una risposta naturale e non traumatica alle esigenze di stabilità dei vini. Agendo esclusivamente sul complesso colloidale dei vini trattati, Mannostab® ne conserva inalterato l'equilibrio acido-base ed il colore, preservandone integralmente le caratteristiche organolettiche originali.

Premessa

Partendo dall'osservazione empirica che i vini bianchi, conservati sulle fecce totali per diversi mesi, acquisiscono naturalmente la stabilità tartarica, si è intuito che evidentemente alcune macromolecole, verosimilmente mannoproteine cedute dal lievito nel corso della maturazione sulle fecce, hanno la capacità di inibire la cristallizzazione dei sali tartarici. Questa intuizione iniziale ha dato l'avvio a studi che si sono protratti per oltre un decennio sviluppandosi in più direzioni:

- individuazione della o delle molecole responsabili della stabilizzazione tartarica
- messa a punto di un metodo di estrazione
- comprensione del meccanismo d'azione.
- prove di impiego di mannoproteine estratte per via enzimatica in scala reale ed in condizioni di cantina.

Si è dimostrato che alla base delle proprietà inibenti delle fecce nei confronti della cristallizzazione dei sali di bitartrato di potassio vi è una particolare mannoproteina di peso molecolare pari a 40 KDa, caratterizzata da un legame glicosil-fosfatidil-inositolo. Questa mannoproteina, che viene rilasciata naturalmente durante il processo di autolisi dei lieviti, al momento attuale è ritenuta l'unica frazione in grado di inibire la cristallizzazione dei sali di bitartrato. La sua particolare natura chimica fa sì che ne siano ricchi gli estratti di parete di lievito ottenuti per via enzimatica. Altri sistemi di estrazione agendo per via chimico-fisica ne alterano la struttura modificandone le proprietà.

Alle concentrazioni abitualmente riscontrate nei vini, tali molecole riescono solo a ritardare la cristallizzazione dei sali di acido tartarico, senza inibirla completamente. Si può pensare però di raggiungere la completa stabilità aumentandone la concentrazione con un apporto esogeno, senza ricorrere a trattamenti di tipo sottrattivo.

Da qui la necessità di mettere a punto un metodo di estrazione di mannoproteine da lieviti che operi rispettandone la struttura e le proprietà. Il metodo messo a punto, che prevede l'estrazione enzimatica e la successiva purificazione per aumentare la concentrazione di MP40® è stato oggetto di brevetto, il prodotto che si ottiene ha assunto il nome di Mannostab®.

Il meccanismo d'azione del Mannostab® è legato all'inibizione della cristallizzazione del bitartrato di potassio. Si è infatti osservato che non agisce facendo variare la temperatura di saturazione dei vini, ossia non permette di aumentare la solubilità del bitartrato, ma facendo abbassare la temperatura di cristallizzazione spontanea. L'insieme dei test e delle osservazioni microscopiche eseguiti ha condotto alla conclusione che il Mannostab® agisce sia inibendo il fenomeno di nucleazione, sia impedendo l'accrescimento del germe di cristallizzazione. Si tratta di un'azione di stabilizzazione di tipo colloidale, che si svolge bloccando l'accrescimento preferenzialmente su determinate facce del cristallo.

Le innumerevoli prove di stabilizzazione condotte in cantina con questo metodo, su vini differenti, in svariate condizioni ci hanno permesso di mettere a punto ed affinare un metodo di lavoro che oggi può essere proposto ad ogni utilizzatore.

Figura 1: Osservazione al microscopio di cristalli di bitartrato formati in assenza ed in presenza di Mannostab.

Data di prelievo	27/06	30/06	02/07	04/07	07/07
Testimone					
Mannostab®					



Determinazione della dose

Il nuovo processo di stabilizzazione, consiste nell'aggiungere al vino da stabilizzare il prodotto Mannostab® in quantità tale da inibire la precipitazione tartarica. Questa quantità deve essere fissata per ogni vino in funzione dello specifico tenore in colloidali protettori naturali e del grado di stabilità desiderato.

Poiché le precipitazioni di tartrato neutro di calcio sono difficilmente prevedibili il trattamento con Mannostab® non garantisce la protezione nei confronti dei precipitati di sali di calcio.

Le dosi medie d'impiego sono comprese tra i 10 ed i 40 g/hL. Dette dosi devono essere definite con precisione mediante l'esecuzione di test di stabilità, che devono essere obbligatoriamente condotti sul vino da stabilizzare dopo il collaggio o la prefiltrazione, in condizioni il più vicine possibili a quelle del vino al momento dell'ingresso in bottiglia. Ogni operazione in grado di modificare il profilo compositivo del vino ne modifica anche la stabilità tartarica, essendo questa il risultato di un equilibrio generale assai complesso. Diverse metodologie di riferimento per la determinazione della dose di Mannostab® sono state messe a punto e saranno a breve disponibili sul nostro sito internet; di seguito descriviamo i test più facilmente eseguibili in cantina.

TEST A FREDDO:

- Sciogliere 1,5 g di Mannostab® in 40 mL di acqua distillata,
- Porre in bottiglie da 375 mL volumi crescenti della soluzione di Mannostab® : 0 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 3 – 4 mL. Questi volumi corrispondono a dosi finali di Mannostab® pari a 0 – 10 – 15 – 20 – 25 – 30 – 40 g/hL
- Portare poi ogni bottiglia a volume (375 mL) con il vino da trattare e rimescolare accuratamente il tutto.
- Filtrare ogni campione nelle stesse condizioni che si prevedono al momento dell'imbottigliamento (stesso tipo di cartucce o membrane); in caso non sia prevista filtrazione finale prima della messa in bottiglia, il campione dovrà essere nelle stesse condizioni di chiarifica programmate per l'imbottigliamento.
- Lasciare i campioni per 6 giorni a -4°C.
- Dopo 6 giorni a -4°C si procede all'osservazione della presenza di precipitati in bottiglia. Sarà meno intensa nei campioni addizionati di Mannostab® in funzione della sua efficacia e della dose aggiunta. Si prenderà in

considerazione il campione a partire del quale non si ha cristallizzazione, questo corrisponde al corretto dosaggio di Mannostab® da applicare. Se il testimone (campione ad aggiunta 0) non presenta precipitati il vino deve considerarsi naturalmente stabile.

DOSE DI TRATTAMENTO (g/hL) =
DOSE DI STABILIZZAZIONE DEFINITA DA UNO DEI TEST + 5 g/hL
 (vedi esempi in tabella 1)

TEST DI MINICONTATTO:

- Sciogliere 1 grammo di MANNOSTAB in 100 mL di acqua distillata.
- Aggiungere rispettivamente 0 -1,0 -1,5 -2,0-2,5- 3- 4 mL di soluzione a 100 mL di vino da stabilizzare e già chiarificato.
- Ciò corrisponde a dosi di 0 -10-15-20-25-30-40 g/hL.
- Dosare il potassio sui campioni.
- Porre i campioni a -4°C. Dopo 2 ore di conservazione a freddo aggiungere 4 g/L di cremor tartaro (dunque 400 mg per campione). Agitare e conservare a -4° per 48 ore.
- Dosare il potassio nei campioni dopo passaggio a freddo.
- Se la variazione di concentrazione di potassio (ΔK) è inferiore a 50 mg/L il vino è da ritenersi stabile.
- Se la variazione di concentrazione di potassio (ΔK) è superiore a 50 mg/L il vino non è stabile.

Realizzando sui vini da trattare semplicemente il controllo della stabilità tartarica con il test per mini-contatto, è possibile calcolare la dose di Mannostab necessaria alla stabilizzazione.

DOSE DI TRATTAMENTO (g/hL) = 0,08 ΔK (mg/L) + 5

Esempio 1 - $\Delta K = 170$ mg/L

Dose trattamento (g/hL) = $(0,08 \times 170) + 5 = 20$ g/hL

Esempio 2 - $\Delta K = 250$ mg/L

Dose trattamento (g/hL) = $(0,08 \times 250) + 5 = 25$ g/hL

Il sovradosaggio di 5 g/hL che compare in entrambe le formule sopra viste è prudenziale, fatto allo scopo di prevenire piccole perdite di prodotto che si possono avere durante la filtrazione o al momento dell'aggiunta o della solubilizzazione del prodotto.

Il test a freddo dimostra anche che il Mannostab® agisce impedendo la formazione del germe di cristallizzazione, mentre il test di minicontatto ha insita la dimostrazione che il Mannostab® impedisce l'accrescimento del germe di cristallizzazione che, in questo caso, viene introdotto dall'esterno.

Tabella 1: Esempi di risultati di prove di determinazione della dose ottimale di trattamento di vini con Mannostab.

VINI	Dosi di Mannostab® provate (g/hL)							DOSI DI	
	0	10	15	20	25	30	40	stabilizzazione	trattamento
Bianco	****	***	**	0	0	0	0	20	25
Rosso	***	**	0	0	0	0	0	15	20
Bianco liquoroso	****	***	**	*	0	0	0	25	30
* = presenza di cristalli				0 = assenza di cristalli					

Trattamento dei vini.

L'aggiunta di Mannostab® deve essere effettuata dopo la filtrazione di preparazione all'imbottigliamento, prima della filtrazione finale, che precede immediatamente la messa in bottiglia, almeno nel pomeriggio che precede tale operazione.

Dopo la determinazione della dose di trattamento con Mannostab® possono essere aggiunti al vino, se ritenuto necessario, solamente SO₂, acido ascorbico e gomma arabica.

In preparazione al trattamento si deve sciogliere la quantità necessaria di Mannostab® in acqua tiepida (30°C circa) nella proporzione di 1 a 10.

Dopo la completa solubilizzazione del prodotto (inizialmente la soluzione sarà opalescente) attendere 20 minuti circa, fino a completo illimpidimento. Si otterrà una soluzione trasparente di colore bruno.

Incorporare la soluzione così preparata al vino, preferibilmente attraverso un tubo venturi durante un rimontaggio.

L'omogeneizzazione della soluzione di Mannostab® al vino deve essere fatta in modo accurato, operando un rimontaggio al chiuso (far ricircolare almeno una volta e mezzo l'intero volume della vasca) od applicando un agitatore.

E' di estrema importanza che il prodotto venga uniformemente omogeneizzato all'intera massa del vino.

Interazioni con la matrice fenolica

Una particolare annotazione riguarda il caso dei vini rossi giovani o novelli, intendendo come tali i vini fino a 3 mesi dopo la fine della fermentazione alcolica. Alcuni di questi vini, in occasione di prove di trattamento in cantina, inizialmente si sono infatti rivelati difficilmente stabilizzabili con il Mannostab®, mentre lo divenivano dopo alcune settimane. Il controllo di diversi parametri analitici su tali prodotti ha fatto notare che in questo lasso di tempo si aveva una forte variazione dell'indice di HCl. Ciò ha permesso di evidenziare una sorta di interazione tra le mannoproteine ed alcune frazioni polifenoliche, come se queste potessero formare dei complessi con le mannoproteine bloccandole, o comunque non rendendole più disponibili per l'inibizione della cristallizzazione.

Questa frazione instabile della materia colorante, che potrebbe pregiudicare l'efficacia del trattamento con Mannostab® può essere facilmente allontanata trattando preventivamente il vino con 20 g/hL di scorze di lievito (Biocell).

Dopo 2 settimane di contatto le scorze possono essere eliminate mediante travaso ed il vino è pronto al trattamento con Mannostab®.



Altra osservazione va fatta sui vini rossi, soprattutto d'annata, particolarmente ricchi di colore. Su questi deve essere verificata in via preliminare anche la stabilità della materia colorante. Come già sottolineato ogni

Prima dell'aggiunta di Mannostab®	Dopo aggiunta di Mannostab®	Opzioni per la filtrazione finale di imbottigliamento	Soglia relativa di ritenzione (µm)
Torbidità < 3 NTU e IC < 50	IC < 20 e torbidità < 3 NTU	Filtrazione su strati K150/K100/KS50/EK filtrazione su membrane	(µm) 1
			(µm) 0,6
			(µm) 0,45
			(µm) 0,35
Torbidity < 5 NTU e IC > 50	IC > 20 e torbidità < 3 NTU	Filtrazione su strati K200	(µm) 1,5
	Torbidity < 5 NTU	Filtrazione su strati K250	(µm) 2
Torbidity > 5 NTU	Aggiunta non possibile senza preventiva filtrazione su terra o con strati K300/K700		(µm) 2-3

variazione della struttura colloidale del vino ne induce una modificazione generale della sua stabilità. Una precipitazione di colore nel prodotto imbottigliato può comprometterne anche la stabilità tartarica; come conseguenza della precipitazione di materia colorante si può dunque verificare una precipitazione di cristalli di bitartrato.

E' quindi opportuno effettuare preliminarmente, nel caso si sospetti instabilità del colore, il relativo test.

TEST DI STABILITA' DEL COLORE:

Leggere in via preliminare con il turbidimetro la torbidità del campione tal quale; se è superiore a 2 NTU procedere ad una filtrazione del campione che lo porti al di sotto di tale valore.

Determinare la torbidità del campione iniziale a temperatura ambiente (trb_0).

Porre il campione per 48 ore al freddo (+4 °C), trascorso tale periodo misurarne la torbidità a freddo (mantenendo la temperatura del campione a +4 °C, avendo cura che la lettura non venga influenzata dall'eventuale formazione di condensa sulla superficie della cuvetta; se il turbidimetro è portatile può essere tarato e mantenuto al freddo per il test; altrimenti prevedere un trattamento dell'esterno delle cuvette con idonei prodotti anti-appannanti reperibili presso i negozi di ottica). Questa lettura rappresenta la torbidità finale (trb_{48}).

Determinare il $\Delta NTU = (trb_0) - (trb_{48})$ che ci fornisce le informazioni necessarie sull'instabilità del colore.

Se:

- $\Delta NTU < 2$ Il colore può ritenersi stabile
- $\Delta NTU > 2 - 6 <$ Il colore è instabile
- $\Delta NTU > 6$ il colore è fortemente instabile

Se il colore risulta instabile sarà necessario prevedere in fase di stabilizzazione del vino gli opportuni interventi o precauzioni.

Gli interventi possono consistere in una leggera esposizione al freddo dell'intera massa (2-3 gg a +4 °C - stessi parametri applicati nel test), nell'aggiunta di gomma arabica o in un trattamento con scorze di lievito.

Interazioni con la filtrazione

Nel caso dei vini che non debbono essere filtrati il Mannostab® sarà aggiunto al vino la sera precedente l'imbottigliamento, secondo le modalità operative prima descritte.

Nel caso di vini che debbono essere filtrati il discorso si fa un po' più complesso. Il principio di base è che il prodotto di per sé è filtrabile; una soluzione modello contenente unicamente il Mannostab® può essere filtrata tranquillamente anche su un 0,20 micron. Se invece il vino contiene colloidali o particelle che intasano il mezzo filtrante si possono avere problemi per almeno due cause.

- Il trattenimento di materiale colloidale sul filtro impoverisce il vino di colloidali che certamente giocano un ruolo negli equilibri della sua stabilità salina, il che comporta un livello di instabilità non contemplato al momento della determinazione della dose di trattamento.
- Il mezzo filtrante colmatato perde le sue caratteristiche nominali e trattiene anche composti che teoricamente lo attraverserebbero; se parte del Mannostab® viene trattenuto a causa dell'occlusione dei pori del mezzo filtrante, il livello di dosaggio prescritto al momento della determinazione della dose non viene rispettato.

Una buona filtrabilità del vino è dunque condizione indispensabile alla riuscita del trattamento con Mannostab®. La misura della torbidità e dell'indice di colmataggio è essenziale al fine di definire le adeguate condizioni di filtrazione, ed in base a queste stabilire una corretta linea di lavorazione.

La tabella 2 fornisce alcune indicazioni circa gli indici di filtrabilità, la torbidità e la filtrazione applicabile.

Durante la filtrazione finale è assolutamente raccomandato non superare un differenziale di pressione di filtrazione di 0,8 bar (tra entrata ed uscita del filtro) in modo da evitare la ritenzione dei colloidali – e/o di Mannostab® - a seguito di colmataggio, con la conseguente inefficacia del trattamento.

Altro parametro importante da prendere in considerazione è la temperatura del vino al momento del trattamento e della filtrazione finale di imbottigliamento. Al diminuire della temperatura del vino gli indici di filtrabilità scendono, mentre la pressione differenziale tende ad aumentare, aggravando il rischio sopra descritto. Consigliamo pertanto di non filtrare ed imbottigliare a temperature inferiori a 15 °C, ed inoltre evitare ogni sbalzo termico (variazione di temperatura > di 5°C) dopo imbottigliamento e nel corso delle 72 ore successive.

Un'eventuale pastorizzazione dopo imbottigliamento non compromette invece in alcun modo la tenuta del trattamento con Mannostab®

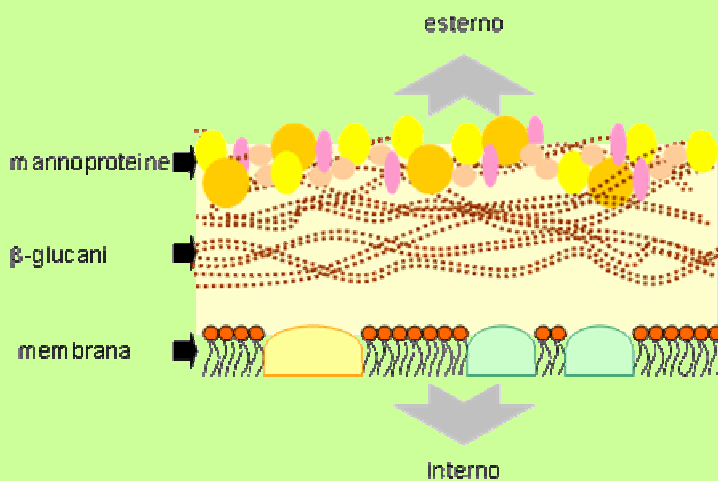
Conclusione

Come traspare da questa serie di informazioni il trattamento dei vini con Mannostab® non è una banale aggiunta al vino. Comporta al contrario una ben precisa filosofia produttiva volta alla stabilizzazione integrale del vino con l'obiettivo di preservarne e trasferirne in bottiglia le caratteristiche qualitative catturate e sviluppate con il processo di vinificazione. Se si riesce in questo ambizioso disegno il vino racchiuso in bottiglia e versato nel bicchiere del consumatore evoca realmente caratteristiche sensoriali di alto pregio, frutto della sinergia tra coltura del vigneto, tecnica di vinificazione equilibrata e rispettosa stabilizzazione del prodotto. Qui il Mannostab® gioca il suo ruolo principe.

Dove sono collocate le mannoproteine?

La parete di *S. cerevisiae* comprende uno strato esterno di mannoproteine associato ad una matrice di β -1,3 glucano in forma amorfa che ricopre uno strato interno di β -1,3 glucano in forma fibrosa associato a piccole quantità di chitina (1-2%).

Figura 2: Schema della composizione della parete cellulare dei lieviti



Il β -1,6 glucano funge da cementante tra i due strati (figura 2).

La chitina svolge il ruolo di recettore di tossine killer, contribuisce al mantenimento dell'integrità osmotica e morfologica ed è il maggior costituente delle cicatrici che si formano nei punti in cui avviene la gemmazione.

Le mannoproteine, parte più superficiale della parete, ne rappresentano dal 25 al 50%. Hanno pesi molecolari compresi tra 20.000 e oltre 450.000 daltons.

Tra di loro possono presentare dei legami crociati mediati da interazioni idrofobiche e/o da ponti disolfuro, sono legate alle sottostanti microfibrille di glucano mediante legami covalenti.

Possiedono un grado di glicosilazione variabile fino ad oltre il 90% di mannosio per solo 10% di peptidi nel caso di mannoproteine definite ipermannosilate. La diversità nella composizione e nella struttura ne comporta differenti proprietà. Alcune risultano essere molecole con funzione enzimatica come l'invertasi o la fosfatasi acida.

La parete dei lieviti contiene anche delle β -glucanasi di tipo 1-3 ed 1-6 che, nel corso della conservazione sulle fecce, sono implicate nei fenomeni di autolisi.