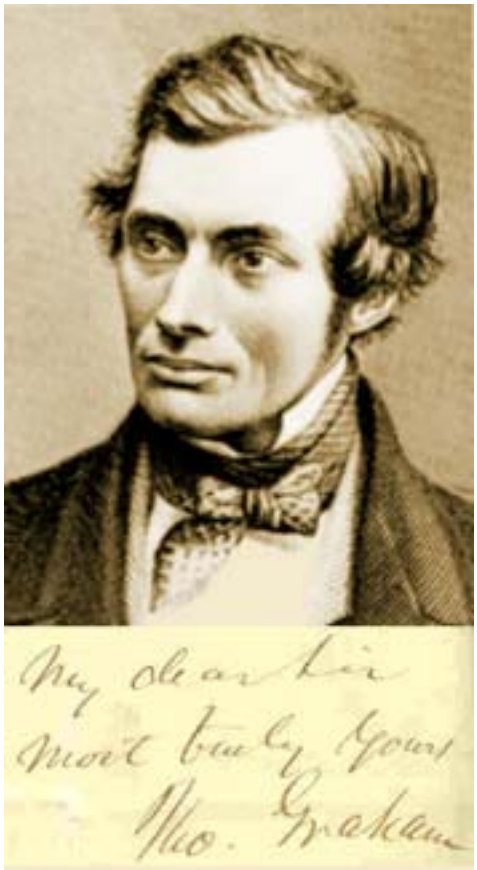
# IL VINO E I COMPOSTI COLLOIDALI: CARATTERISTICHE ED ASPETTI TECNOLOGICI

Dopo quello delle ossidazioni, quello della stabilità colloidale nei vini è un altro grosso problema che impegna quotidianamente l'enologo per la sua soluzione.



Il termine colloide fu proposto dall'inglese Thomas Graham per soluzioni di proteine e di gomma le cui molecole erano tanto grandi da non passare attraverso i pori di una membrana semipermeabile.

Quando si parla di colloidi del vino s'intende, in senso lato, quel complesso di sostanze organiche e minerali, che hanno o possono assumere caratteristiche e comportamenti tipicamente colloidali, come le proteine, i polisaccaridi neutri, le pectine, le frazioni fenoliche polimerizzate, il fosfato di ferro, il solfuro di rame e via dicendo.

Il vino è una soluzione vera e una dispersione colloidale allo stesso tempo, contiene molecole in parte dissociate (ioni) e particelle colloidali.

Le prime, cioè le molecole, rappresentano la parte preponderante dei soluti, le seconde (particelle colloidali) vi si trovano, invece, in concentrazioni assai basse.

Eppure l'importanza delle sostanze colloidali è tale che il vino può dirsi un vero e proprio "sistema colloidale", cioè condizionato, almeno per quanto riguarda la stabilità chimico-fisica, dalla presenza e dai difficili equilibri di queste sostanze.

Basti pensare alla naturale complessità compositiva del vino, alle sue intime e incessanti trasformazioni, alle sue delicate e precarie strutture organiche di fronte alle influenze esterne (arieggiamenti, variazioni di temperatura, contaminazioni metalliche e così via) per comprendere la difficoltà di mantenere indenne la limpidezza di un vino, specialmente bianco, da possibili perturbazioni colloidali.

Le sostanze colloidali che più da vicino interessano questo particolare problema sono i colloidi proteici e i colloidi di natura glucidica o "protettori" dall'altro, in relazione ai quali s'è venuta attuando, durante gli ultimi decenni, una indagine analitica sempre più sofisticata ed una importante tecnologia nell'ambito della stabilizzazione dei vini.

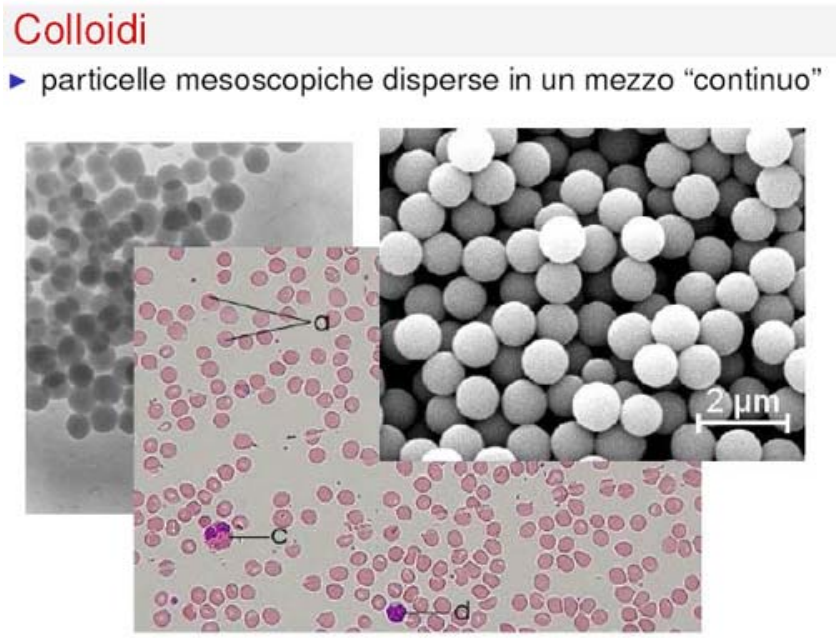
*Nozioni generali*

Una sostanza, a seconda della sua natura, disciolta o dispersa in acqua o in liquidi acquosi può trovarsi:

a) *allo stato molecolare*, quando è in soluzione la molecola, che è la parte più piccola della sostanza (alcoli, zuccheri, aldeidi, acidi, ecc.)

b) *allo stato di ioni*, cioè quando la molecola non è più integra, ma si è dissociata, scissa in due o più frammenti (ioni), di opposte cariche elettriche. Questo fenomeno è detto "dissociazione elettrolitica". Sono soggetti a questa dissociazione, in misura più o meno rilevante, gli acidi, i sali, le basi, ecc.

c) *allo stato colloidale*, quando in dispersione o pseudo-soluzione si trovano raggruppamenti più o meno grossi di molecole (micelle) o molecole estremamente grandi (macromolecole). Proteine, gomme, pectine, alcuni polifenoli, sono costituiti da una grossa molecola, cioè da "macromolecole"; fosfato di ferro, solfuro di rame da molecole che tendono ad agglomerarsi in "micelle".




Alla osservazione diretta visiva una soluzione molecolare (o di ioni) risulta perfettamente limpida; altrettanto potrebbe dirsi per quella colloidale, cioè avente in dispersione dei colloidi.

Se però facciamo attraversare le due soluzioni da un fascio di luce intensa, lateralmente alla direzione di osservazione, su fondo nero, le cose cambiano: la prima soluzione (quella molecolare o ionica) apparirà inalterata nella sua trasparenza, né sarà visibile la luce che l'attraversa; la seconda (quella colloidale, micellare o macromolecolare) presenterà in corrispondenza del passaggio del fascio di luce una banda brillante e lattiginosa (fenomeno di Tyndall).



*Osservazione della torbidità tramite l'ENOSCOPE.*

La spiegazione è semplice; mentre le molecole in soluzione, dissociate o no, non interferiscono e non disturbano minimamente, data la loro estrema piccolezza, il passaggio della luce, le particelle colloidali, invece, essendo enormemente più grandi (anche se visibili soltanto all'ultramicroscopio) colpite lateralmente dal raggio luminoso danno luogo ad un fenomeno di riflessione e di diffusione, suscitando appunto la scia opalescente e caratteristica, in seno al liquido.
Allo stesso modo di un raggio di sole, quando entrasse, attraverso una fessura, in una stanza sufficientemente buia; si osserverà, come tutti sanno, una fascia luminosa, originata dalla presenza del pulviscolo atmosferico.
L'effetto di Tyndall ci dice, senza tante spiegazioni, che ogni dispersione colloidale è un sistema otticamente eterogeneo. Alla stessa stregua va considerato il vino.



Ma ci sono ben altre e più importanti differenze fra le due soluzioni.
La soluzione molecolare è prima di tutto una soluzione vera, omogenea; infatti sotto l'incalzare degli urti incessanti e frenetici, fra le molecole del soluto e quelle del solvente la sostanza disciolta tende il più rapidamente possibile a distribuirsi e ad occupare ogni più piccolo spazio libero nel liquido, formando in breve tempo una soluzione assolutamente uniforme, in perfetto equilibrio molecolare, nel rispetto della seconda legge della termodinamica relativa al valore entropico (grado di disordine) di un sistema. Nel caso di un insieme di particelle, infatti, esse tendono sempre ad assumere la distribuzione più disordinata e caotica (e quindi anche la più uniforme) nello spazio, in modo da raggiungere i livelli di energia più bassi che consentono una maggiore stabilità del sistema complessivo.

Le particelle colloidali, per la loro relativa grandezza e natura, si diffondono nel liquido con molta maggiore difficoltà e lentezza, anche se sollecitate pur esse da bombardamenti molecolari ("movimenti browniani") e da contrasti di cariche elettriche; non sempre perciò la loro ripartizione nella massa può risultare omogenea.
Ecco perché quella colloidale è considerata una dispersione eterogenea o"sol" o pseudo-soluzione; ed è più esatto infatti dire che le sostanze colloidali sono "disperse", non disciolte nei liquidi e chiamare quindi "dispersioni colloidali", "sistemi dispersi" o "sistemi eterogenei" i liquidi contenenti dei colloidi.
La composizione di un colloide non è, in modo assoluto, definita come lo è invece quella delle molecole ordinarie. In altre parole i colloidi non hanno il valore di un composto chimico definito, come il glucosio o il cloruro di sodio o l'acido tartarico. Il non colloide, infatti, reagisce con un determinato reattivo ed in rapporti fissi, il che non avviene o in maniera molto approssimativa con il colloide.
Inoltre le particelle colloidali di uno stesso colloide possono variare di grandezza e forma, secondo le condizioni del mezzo disperdente.
I colloidi, ancora, posseggono una loro struttura, sia fisica che chimica, "plastica" o anche "modulare", con tendenza a fissare sostanze o corpi estranei, mentre le sostanze non colloidali sono a questo riguardo dei sistemi rigidi e costanti.

Altra fondamentale differenza rispetto alle soluzioni molecolari, non colloidali, è che la presenza, anche in percentuale sensibile, di una sostanza colloidale non modifica alcune importanti caratteristiche fisiche del solvente, quali ad esempio la temperatura di ebollizione e quella di congelamento.
In altre parole è come se fra la fase liquida (solvente) e la fase dispersa (colloide) non esistesse alcun rapporto e quindi fossero estranee alle leggi che regolano le soluzioni vere.
Possiamo dire ancora che le soluzioni molecolari o ioniche danno, dopo

estrazione per procedimento fisico o per reazione chimica, residui o precipitati cristallini, mentre le dispersioni colloidali abbandonano un prodotto amorfo, apparentemente senza struttura, polverulento o fioccoso, più o meno gelatinoso.

**SISTEMI DISPERSI**

| fase dispersa | fase disperdente | denominazione | simbolo |
|---|---|---|---|
| *liquido* | *gas* | nebbia | L / G |
| *solido* | *gas* | fumo | S / G |
| *gas* | *liquido* | schiuma | G / L |
| *liquido* | *liquido* | emulsione | L / L |
| *solido* | *liquido* | dispers. colloidale | S / L |
| *gas* | *solido* | schiuma solida | G / S |
| *liquido* | *solido* | emulsione solida | L / S |
| *solido* | *solido* | lega | S / S |

Un'ultima annotazione: alcune membrane semi-permeabili, a pori finissimi, come il cellophane, nel processo di dialisi (Graham) restano impermeabili alle particelle colloidali, ma non ai non colloidi (soluzioni molecolari).

È importante, a questo punto, precisare che il passaggio da colloidi a non colloidi non è poi così netto come si potrebbe pensare, anzi, secondo le più recenti acquisizioni, non esiste demarcazione alcuna.
Prima di tutto la stessa sostanza può comportarsi, a seconda delle condizioni in cui viene a trovarsi, da colloide oppure da non colloide.
Ciò in relazione alla natura del solvente o per intervento di altri fattori. Il cloruro di sodio, ad esempio, dà una soluzione tipica, ionica in acqua; basta però un'aggiunta più o meno forte di alcol perché la soluzione salina idroalcolica manifesti un comportamento molto diverso. Essa, in questo caso, verrà a trovarsi in parte allo stato ionico ed in parte allo stato colloidale o di "sol", mentre una terza frazione del sale tenderà a cristallizzare e precipitare.

Ma c'è da fare una seconda e più importante constatazione: una così fatta soluzione eterogenea è tale per cui il passaggio tra la forma molecolare e quella colloidale è continuo, sfumato, non c'è separazione netta. Se le cose stanno così (e il vino sembra non fare eccezione) come possiamo distinguere e quindi definire una soluzione vera, molecolare o ionica, da una dispersione colloidale o infine da uno stato di sospensione?

*Classificazione dei sistemi "dispersi"*
Si cercò di superare 1`*impasse* in maniera alquanto convenzionale, stabilendo una classificazione approssimativa basata sulle dimensioni delle particelle,

siano esse molecole, colloidi o ioni (Zsigmndy e Ostwald). Si tenne presente, a tale riguardo, che le particelle colloidali dovevano essere visibili all'ultramicroscopio, vale a dire possedere "eterogeneità ottica" in soluzione, quindi instabilità, e che i loro caratteri potevano essere ben definiti soltanto entro una fascia o zona centrale dei sistemi colloidali, con dei limiti di variabilità secondo la natura delle particelle stesse. Tuttavia un tale procedimento di classificazione presentava delle difficoltà e faceva sorgere non poche incertezze: il sistema della misura dei diametri, in millimicron (mμ), poteva essere valido per particelle sferiche o approssimativamente sferiche, ma non per quelle a forma estremamente allungata, caso questo frequentissimo nei colloidi organici.
Fu allora che Staundinger propose una diversa classificazione basata sul numero di atomi, cui ogni particella è costituita.
Consuetudine vuole che i due metodi di classificazione dei sistemi dispersi proposti da Zsigmndy, Ostwald e Staudinger (tutti e tre premi Nobel) vengano spesso accostati, come mostra la tabella seguente:

**CLASSIFICAZIONE ORIENTATIVA DEI SISTEMI DISPERSI**

| Tipo di soluzione | Dimens. in mμ | Nr. atomi approssim. | Comportamento |
|---|---|---|---|
| Soluzioni molecolari (molecole o ioni) | < 2 | < 1000 | Non trattenute dalla ultrafiltrazione né visibili all'ultramicroscopio; sono dializzabili e stabili. |
| Dispersioni colloidali (particelle) | 2-100 | da 1000 a un miliardo | Trattenute dall'ultrafiltrazione, visibili all'ultramicroscopio, non dializzabili, instabili. |
| Stato di sospensione (particelle o agglomerati) | > 100 | oltre un miliardo | Visibili al microscopio, non si diffondono, non sono dializzabili, sedimentano facilmente |

Completiamo il discorso su questo specifico argomento, che riteniamo di estrema importanza, tornando per un momento al procedimento dialitico; l'attraversamento di una membrana semi-permeabile da parte di un soluto, molecolare o colloidale che sia, è condizionato dalla dimensione dei pori. La membrana del dializzatore funge, in qualche modo, da setaccio. Ora, nell'accezione corrente, si definiscono colloidi quelle sostanze o particelle che in dispersione colloidale non attraversano membrane, a pori finissimi, come appunto il cellophane.
Aggiungiamo, ancora, a proposito dei precipitati cristallini (soluzioni molecolari-ioniche) ed amorfi (dispersioni colloidali) che non a caso abbiamo

detto di questi ultimi "apparentemente senza struttura"; infatti sembra esistere anche per alcuni colloidi, rivelata dai raggi X e dal microscopio elettronico una precisa struttura, di tipo cristallino, almeno verso una determinata direzione spaziale della particella colloidale.

## Caratteristiche dei colloidi

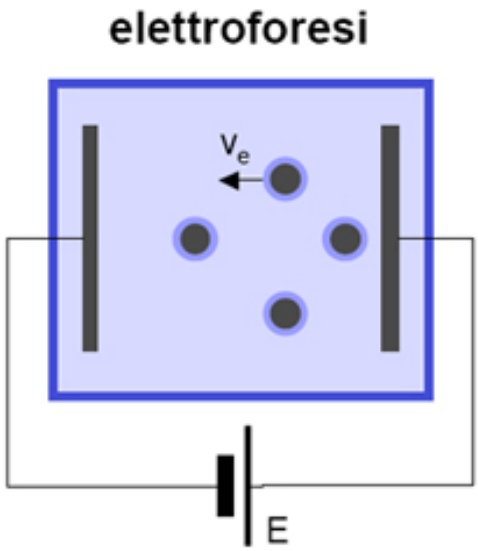
Abbiamo visto come le dispersioni colloidali posseggano o possano possedere requisiti di limpidezza (all'osservazione diretta), e di una certa stabilità. Questo fatto va messo in relazione a tre fattori principali: piccolezza delle particelle, movimento browniano, cariche elettriche.
Le particelle colloidali hanno convenzionalmente, come sappiamo, dimensioni comprese fra i 2 e 100 millimicron (mμ); in altri termini si collocano fra le dimensioni delle più grosse molecole delle soluzioni vere e le più piccole particelle in stato di sospensione. È evidente che l'estrema piccolezza delle particelle offre un'enorme superficie di contatto al liquido, in cui sono disperse, rispetto al loro peso e pertanto un considerevole attrito nella caduta.
Secondo la legge di Stockes, infatti, la velocità di caduta è proporzionale al quadrato del raggio delle particelle (assunte sferiche).

**Numero di particelle in sospensione nel vino per $cm^3$ (Mandrau)**

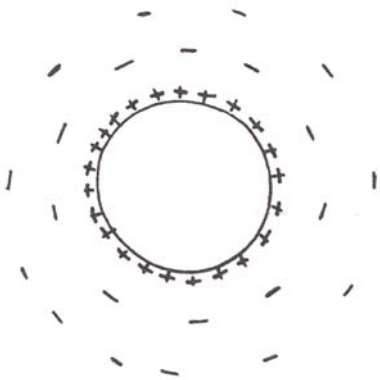
| Diametro delle particelle ($\mu$) | Vino rosso decantato | Vino bianco filtrato su farina | Vino bianco filtrato su cartoni sterilizzanti |
|---|---|---|---|
| 4,4 | 1200 | 1600 | 3000 |
| 3,5 | 4800 | 2700 | 6400 |
| 2,8 | 6000 | 9000 | 9600 |
| 2,2 | 9800 | 23000 | 17200 |
| 1,75 | 44000 | 62000 | 29200 |
| 1,40 | 338000 | 339000 | 46000 |
| 1,25 | 1540000 | 621000 | 86600 |

La maggiore o minore dispersione e relativa stabilità delle particelle in seno ai liquidi dipende, quindi, dalla grandezza e numero delle stesse. Anche l'intensità del movimento browniano, provocato dall'urto reciproco fra molecole del solvente e particelle colloidali, tende a contrastare e a neutralizzare la lentezza della loro caduta.
Lo stesso dicasi per i più insignificanti movimenti convettivi, in seno alla massa, dovuti a differenze, pur piccole, di temperatura fra zone basse ed alte e fra zone periferiche e centrali del recipiente.
Ma il fatto più importante in questo complicato meccanismo di equilibri e di stabilità dei sistemi dispersi è rappresentato dall'esistenza di cariche elettriche, cui sono dotate le particelle colloidali.
Che le particelle colloidali posseggano una carica elettrica lo si constata

facilmente facendo passare nella soluzione una corrente elettrica continua: all'anodo (+) migrano le particelle cariche negativamente (colloide elettronegativo), al catodo (-) quelle di segno positivo (colloide elettropositivo).
Questo fenomeno è chiamato "elettroforesi" e corrisponde a quanto avviene per le soluzioni ioniche ("elettrolisi").




*Carica elettrica dei colloidi*
Ma come avviene che una particella colloidale assume questa o quella carica?
Ci sono a tale proposito principalmente due spiegazioni: la prima (teoria fisica) presuppone un adsorbimento da parte della superficie della particella colloidale, di cationi o anioni che si trovano nel liquido in cui il colloide è disperso, assumendo con ciò carica positiva o negativa, mentre nello strato liquido che avvolge la particella si addensano, sfumando verso l'esterno ("atmosfera ionica" o doppio strato elettrico diffuso), ioni di segno contrario a quelli fissati dal colloide. La differenza di potenziale tra le due zone o strati è nota come potenziale elettrocinetico o "potenziale zeta".
Questo fenomeno è dipendente dal pH del mezzo, ossia dal rapporto tra ioni $H^+$ e ioni $OH^-$.
Lo influenza anche la concentrazione degli elettroliti e la temperatura.
Il pH del vino, com'è noto, oscilla da 3 a 4, mediamente 3,2-3,6; il vino è pertanto un liquido a reazione nettamente acida, dove la concentrazione degli $H^+$ è molto superiore a quella degli $OH^-$.
Le particelle colloidali del vino, come in ogni altro mezzo acido, tenderanno perciò ad assumere carica positiva, in quanto fissano in prevalenza ioni idrogeno.



Ma non sempre è così, dato che gli ioni non sono i soli, anche se in misura preponderante, ad essere fissati dal colloide.

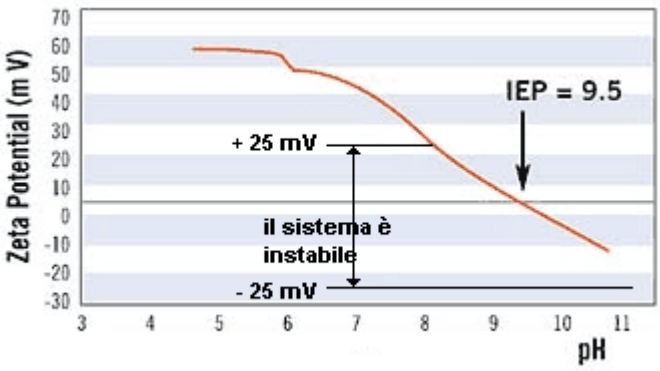
Altri cationi o anioni, presenti nella soluzione (come il vino), specialmente quelli polivalenti, possono fortemente modificarne le condizioni di assunzione della carica elettrica; nè va dimenticato che ogni colloide, per sua natura, presenta una maggiore o minore propensione nel fissare questo o quello ione.
Esiste pertanto, per ogni tipo di colloide, un certo pH (che difficilmente coincide con la neutralità, cioè pH 7) che determina il passaggio da una carica elettrica all'altra; questo pH è detto "**punto isoelettrico**" e rappresenta il punto morto o neutro del colloide. Così nel vino, vale a dire in un mezzo acido, vi si trovano sostanze di natura colloidale di segno positivo (come le proteine, il cui punto isoelettrico, a seconda dei vini, tende ad accostarsi a pH 4,7) e altre di segno negativo (materie gommose, pectine, tannini e altri polifenoli condensati, solfuro di rame, ferrocianuro ferrico, ecc.), i cui punti isoelettrici sono a pH inferiori a quelli dei vini.
La seconda spiegazione (teoria chimica) prevede, analogamente a quanto avviene per le molecole di natura ionica, uno sdoppiamento, una dissociazione della macromolecola o del raggruppamento di molecole del colloide, di cui una parte è rappresentata da uno ione semplice e l'altra, detta *granulo*, da uno ione complesso, di considerevoli dimensioni.
Quest'ultimo, infatti, costituisce la parte preponderante della particella.
Comunque sia, per fissazione in superficie di ioni provenienti dal mezzo o per effetto di una particolare dissociazione ionica, il colloide, qualunque esso sia, assumerà in stato di dispersione e a seconda delle condizioni del mezzo, una determinata carica elettrica: positiva se il "punto isoelettrico" risulta superiore al pH del vino,- negativa quando è inferiore.

Abbiamo visto che per ogni colloide esiste un pH limite che coincide con la neutralità o potenziale zero della particella ("punto isoelettrico").
Tanto più questo pH limite o punto isoelettrico si discosta dal valore piaccametrico del mezzo disperdente tanto maggiore ne sarà il potenziale, cioè l'intensità, la forza della carica elettrica (positiva o negativa) di cui è provvista la particella del colloide. E viceversa.
Ora le particelle aventi tutte cariche di segno uguale si respingono; in tali condizioni aumenta la dispersione e quindi la stabilità della soluzione colloidale.
Quando invece intervengono cariche di segno contrario, tali da neutralizzare in tutto o in parte le preesistenti cariche elettriche, per la presenza di altri colloidi o per effetto di elettroliti, fra le particelle colloidali in soluzione si stabilisce un fenomeno di attrazione che tende ad agglomerarle, quindi a ridurne la dispersione e per conseguenza la stabilità.
Ricordiamo, per inciso, che elettrolita è ogni composto (in particolare metalli) che, presente in una soluzione è suscettibile di dissociarsi in ioni (positivi e negativi); lo ione di segno contrario a quello della particella colloidale tenderà a neutralizzarla, tanto più quanto la concentrazione dello ione ($Na^{+}$, $K^{+}$, $Ca^{++}$, $Fe^{+++}$ $Al^{+++}$) è maggiore e la sua valenza più elevata. Così il $Ca^{++}$ è molto più attivo del $K^{+}$, il $Fe^{+++}$ più del $Ca^{++}$; a parità di effetto neutralizzante e coagulante è

sufficiente che lo ione Fe sia, in concentrazione, 100 volte meno del Ca e 1000 volte meno del K. La forza di attrazione o repulsione tra colloidi è regolata, dunque, dalle cariche elettriche, positive o negative, di cui sono dotate le singole particelle.
Abbiamo appena visto che attorno alle particelle provviste di carica si concentrano, sfumando verso l'esterno, ioni di carica opposta, per cui si forma un doppio strato elettrico, che dà origine al cosiddetto **potenziale elettrocinetico o potenziale ζ (zeta)**.
Il valore di tale potenziale è misurabile mediante tecniche speciali (elettroforesi, elettrosmosi); nei sistemi colloidali stabili esso risulta, di norma, superiore a 25 mV.

| Potenziale ζ [mV] | Stabilità del colloide |
|---|---|
| **da 0 a ±5** | **Rapida coagulazione o flocculazione** |
| **da ±10 a ±30** | **Instabilità incipiente** |
| **da ±30 a ±40** | **Moderata stabilità** |
| **da ±40 a ±60** | **Buona stabilità** |
| **> ±61** | **Eccellente stabilità** |

Quando però il potenziale elettrocinetico si annulla o, per essere più precisi, si approssima allo zero ("*potenziale critico*") il colloide coagula e precipita.
Evento questo che, come sappiamo, si verifica quando il pH del mezzo è sensibilmente vicino al punto isoelettrico del colloide oppure con la neutralizzazione reciproca fra cariche elettriche in seno alla soluzione colloidale.
Anche il movimento browniano che, secondo quanto abbiamo visto precedentemente, poteva

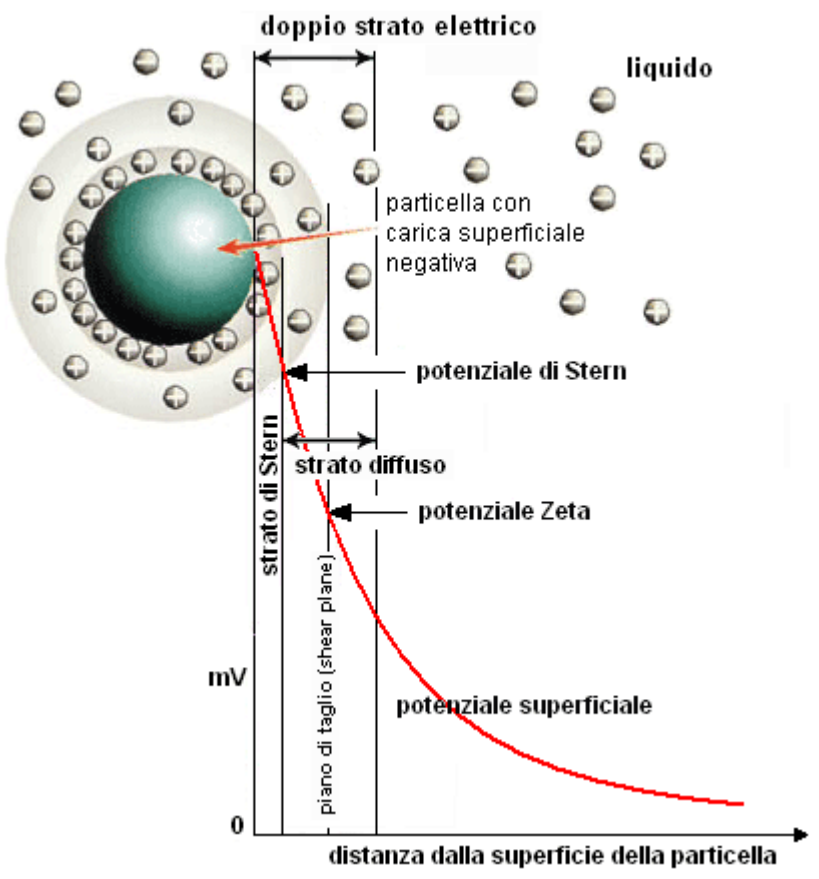



**Andamento tipico del potenziale ζ al variare del pH . In questo caso la stabilità è possibile solo per valori di pH inferiori a 8**

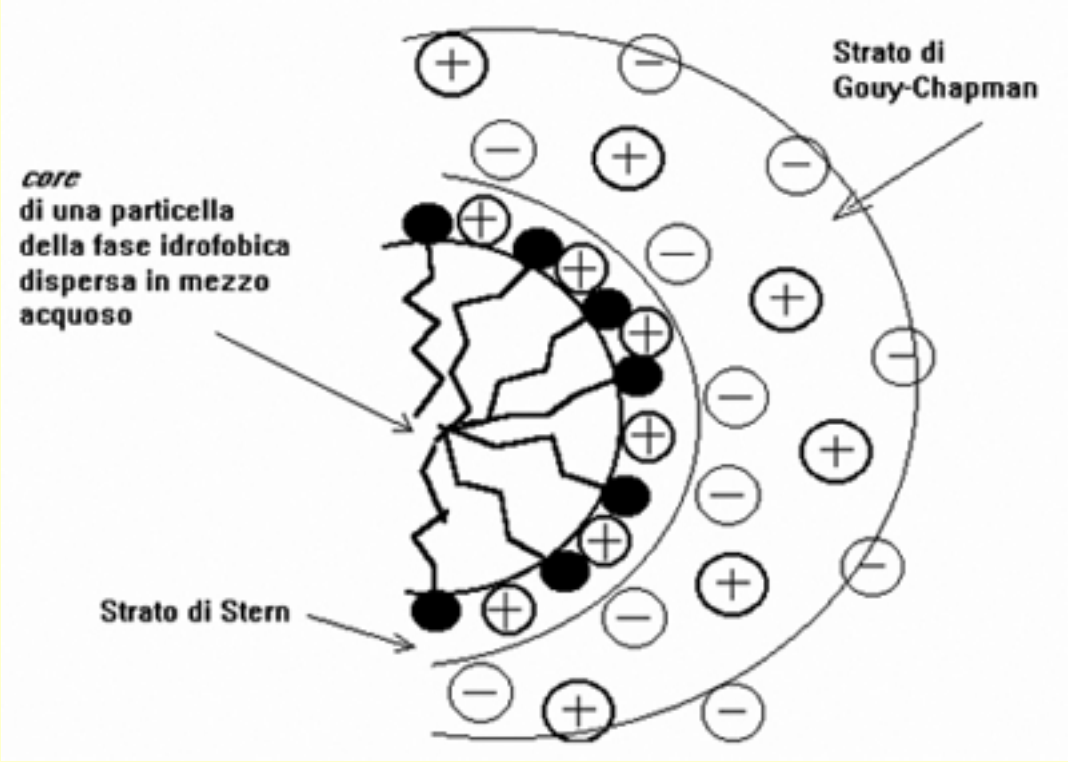
favorire la dispersione e quindi la stabilità delle particelle colloidali, in questo caso ne facilita l'incontro e di conseguenza l'ammassamento e la caduta.
Concludiamo questo rapido sguardo sulle nozioni generali riguardante i colloidi con l'osservazione che più ci interessa, cioè il fenomeno della relativa stabilità delle soluzioni o sistemi colloidali.

## IL POTENZIALE ζ

Una particella superficialmente carica produce una distribuzione di ioni nella regione che la circonda, provocando un aumento della concentrazione di controioni (ioni di carica opposta a quella della particella) vicino alla superficie. Lo strato di liquido che circonda la particella e' composto di due zone: una interna, detta strato di Stern, dove gli ioni sono fortemente legati ed una esterna, detta strato diffuso, dove le interazioni sono piu' deboli. Le due zone, Stern+diffuso, costituiscono un doppio strato elettrico intorno a ciascuna particella. All'interno dello strato diffuso e' possibile individuare un confine teorico entro il quale ioni e particelle formano entita' stabili: quando la particella si muove gli ioni all'interno di questo confine si muovono con essa, mentre quelli al di fuori non viaggiano con la particella. Questo confine e' chiamato "slipping plane". Il potenziale in corrispondenza di questo confine e' conosciuto come POTENZIALE ZETA.



La misura del potenziale Zeta fornisce informazioni sulle caratteristiche fisiche e chimiche delle particelle in sospensione. Un valore elevato di Potenziale Zeta (piu' positivo di +30mV e piu' negativo di -30 mV) e' di solito associato ad una elevata stabilita' della dispersione. Un valore basso (tra -30 e +30 mV), invece, puo' indicare la formazione di aggregati, causando una instabilita' colloidale. Si tratta, quindi, di una misura che consente al formulatore di selezionare e valutare le componenti piu' idonee da aggiungere alla sospensione. La stabilita' delle dispersioni e' fortemente influenzata dalla carica superficiale vista la tendenza a respingersi delle particelle di carica opposta. Se si applica un campo elettrico al mezzo liquido le particelle colloidali si muoveranno verso il polo di carica opposta; pertanto, la direzione dello spostamento indica chiaramente il segno della carica sulla superficie. La velocità con cui si muovono le particelle è proporzionale alla grandezza della carica e misurando sia la velocità sia la direzione dello spostamento in un campo elettrico noto è possibile calcolare la Mobilità Elettroforetica e da qui il Potenziale Zeta del sistema colloidale.




## Importanza pratica del potenziale zeta

Quando due particelle sono così vicine che i loro doppi strati si sovrappongono, si respingono reciprocamente con una forza elettrostatica la cui intensità dipende dal potenziale zeta: se è troppo basso (tipicamente inferiore a ±25 mV), la forza repulsiva non sarà abbastanza forte da superare l'attrazione di van der Waals fra le

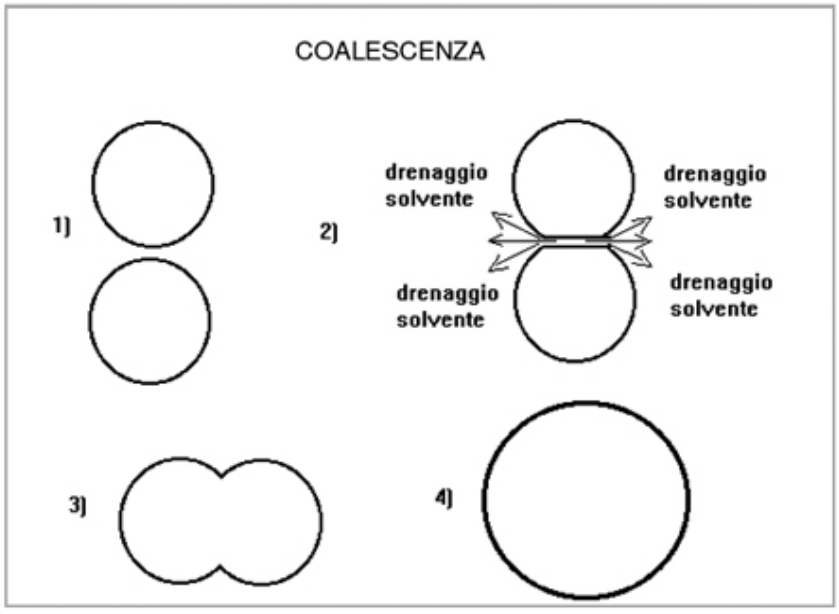
particelle, e queste inizieranno ad agglomerarsi. Quando questo accade la sospensione è instabile. Un alto potenziale zeta impedisce l'agglomerazione delle particelle e mantiene la dispersione uniforme e libera di scorrere. Di conseguenza, per la preparazione della maggior parte delle formulazioni, l'obiettivo è massimizzare il potenziale zeta.

Il potenziale ζ dipende dalla densità della carica superficiale e dallo spessore del doppio strato. La densità della carica superficiale, a sua volta, dipende dalla concentrazione del potenziale prodotto dagli ioni nei solventi ionici che hanno un'affinità particolare per la superficie. In molti sistemi, lo ione $H^+$ determina il potenziale e così il potenziale ζ dipende dal pH.

Il potenziale ζ è positivo per bassi valori di pH e negativo per valori alti. Il pH per cui il potenziale ζ è nullo definisce il punto isoelettrico (IEP = *IsoElectric Point*) del sistema disperso. Il punto isoelettrico è una proprietà della superficie della particella ed è il valore intorno al quale si ha scarsa stabilità in quanto sono più evidenti le forze di van der Waals.

*Relativa stabilità delle soluzioni colloidali*

Abbiamo detto che una sostanza colloidale è dispersa nel liquido sotto forma di particelle (macromolecole, micelle) più o meno piccole; questa dispersione o pseudo-soluzione appare limpida alla luce diretta (stato di "sol"). Quando però la concentrazione delle particelle o la loro dimensione superasse certi limiti ovvero ci fosse, per l'attenuarsi del contrasto fra le cariche elettriche, un principio di ammassamento o agglomeramento di esse (coagulazione o "stato di gel") allora la limpidezza e quindi la stabilità della soluzione verrebbe compromessa. Il liquido può, così, apparire più o meno leggermente velato.



Questa forma di iniziale opalescenza, potrebbe a sua volta risultare stabile a lungo, per un ristabilito equilibrio dinamico ed elettrico o per azione secondaria di colloidi "protettori", ma anche evolversi verso una graduale intensificazione dell'intorbidamento, per il rapido progredire del fenomeno di agglomeramento delle particelle colloidali.
Allorchè questi ammassamenti micellari superano le dimensioni dell'ordine di 100 mμ di diametro avremo uno stato di vera e propria sospensione visibile ("flocculazione").
L'intorbidamento può successivamente assumere le forme più vistose, cui segue la rapida precipitazione del torbido, con conseguente progressivo illimpidimento del mezzo ("*sinèresi*").

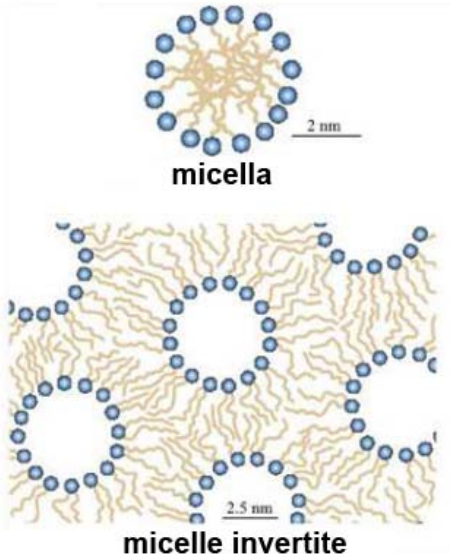
**Natura e comportamento dei colloidi**
Ora, nel quadro di questi fenomeni, dobbiamo fare una importante distinzione fra due categorie di colloidi, che caratterizzano i sistemi dispersi, come il vino. Essi sono:
a) Colloidi "instabili" o "sospensoidi" o più modernamente "**idrofobi**" o "micellari" o "microcristallini".
b) Colloidi "stabili" o "emulsoidi" o"solvatocratici" o ancora "**idrofili**" o "macromolecolari".

Esaurito il "vocabolario etimologico" dei due gruppi di colloidi, che rivela, del resto, una distinzione sostanzialmente approssimativa, passiamo in breve all'esame dei caratteri e comportamenti di tali sostanze, con particolare riguardo al mezzo che ci interessa, ossia il vino.

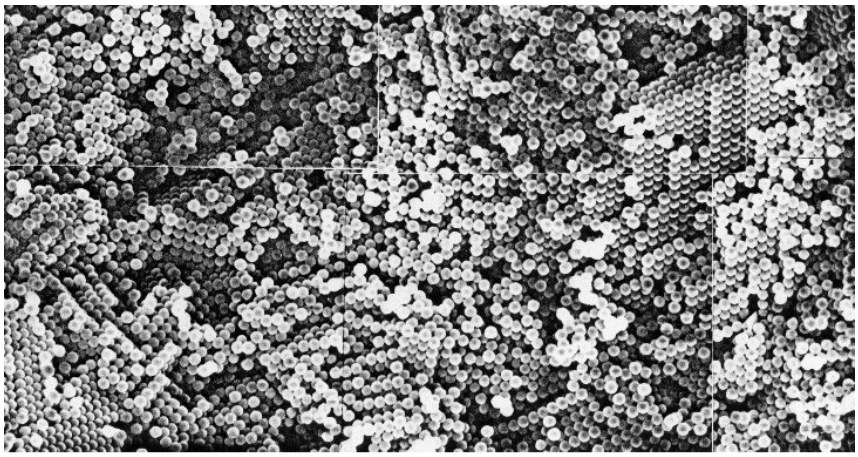
I primi (solfuro di rame, fosfato ferrico, metalli allo stato colloidale, ferrocianuro di ferro e rame, ecc.), hanno scarse affinità con la fase liquida, in quanto sono "idrofobi" ossia incapaci di adsorbire acqua e precipitano per semplice azione antagonista di elettroliti, formando depositi polverulenti e secchi.
Le loro capacità dispersoidali sono, infatti, affidati unicamente al gioco delle cariche elettriche ("elettrocratici").

I secondi invece (proteine, polisaccaridi neutri, pectine, alcuni polifenoli condensati) sono solitamente assai poco sensibili agli elettroliti, in quanto più intimamente incorporati nella fase liquida, e pertanto protetti dall'acqua adsorbita, dal guscio di solvatazione ("idrofili").
È evidente che questa capacità di idratazione ne aumenta considerevolmente l'attitudine alla stabilità in stato di dispersione colloidale.
Per la stessa ragione diventano anche relativamente "pigri" al passaggio di una corrente elettrica continua, ("elettroforesi"), in confronto con i colloidi idrofobi o sospensoidi.
È sufficiente però sottrarre agli idrofili l'acqua di solvatazione, disidratarli, per

renderli sensibili all'influenza degli stessi elettroliti e quindi provocarne la caduta per flocculazione, come se si trattasse di colloidi idrofobi.




Ma esistono altre sostanziali differenze tra i due gruppi colloidali.
I colloidi idrofobi si trovano in dispersione sotto forma di "*micelle*", vale a dire in aggregati o raggruppamenti assai tenaci di molecole, grazie all'esistenza di forze di coesione, riferibili alle valenze secondarie (Van der Vaals). Sono, in altri termini, colloidi di associazione. Si è altresì potuto constatare che, all'esame del microscopio elettronico, tali aggregati micellari rivelano spesso delle strutture tipicamente cristalline, secondo precise posizioni spaziali.
Per cui è stato coniato, successivamente, il termine di dispersioni o colloidi "microcristallini".
I colloidi idrofili, invece, sono formati da molecole di grandi dimensioni o macromolecole di alto peso molecolare (Staudinger). Pertanto vengono definiti colloidi o dispersioni "macromolecolari".



Microstruttura di una massa di un cristallo colloidale composto di silice colloidale amorfa idratata al di sotto del micron. Il diametro medio della particella è di 600 nm.

Per semplicità, come abbiamo fatto fin ora, micelle e macromolecole vengono raggruppate sotto la dizione unica di "*particelle colloidali*".

Riprendendo il discorso di poc'anzi vogliamo chiederci: come può essere provocata la disidratazione o denaturazione dei colloidi idrofili?
Effetto desolvatante sui protidi, ad esempio, hanno il tannino, l'alcol, il riscaldamento, agenti questi che, come sappiamo, ne provocano la precipitazione.

Ma, ripetiamo, perchè ciò avvenga è indispensabile la presenza di sali, di un elettrolita; infatti tanto più il contenuto minerale (ceneri) di un vino è elevato, tanto più facilmente si possono verificare in esso perturbazioni colloidali, ma anche, nel caso di chiarificazioni proteiche, favorirne il processo di flocculazione e quindi di illimpidimento delle masse trattate.
Non si pensi però che i meccanismi di coagulazione e precipitazione dei colloidi siano così schematici ed evidenti; sono, al contrario, estremamente complessi, dato che intervengono ancora molti altri fattori, che non raramente sfuggono alla nostra indagine.

**Composizione colloidale dei mosti e dei vini**

Dopo questa panoramica, invero un po' sbrigativa, su alcune nozioni generali concernenti i colloidi, vediamo adesso di soffermarci, per quanto ci è possibile, sulla composizione colloidale dei mosti e dei vini. Diciamo subito che nonostante un gran numero di lavori, di cui alcuni veramente esemplari, sulla costituzione, comportamento ed evoluzione delle sostanze colloidali nei prodotti vinicoli, molto resta da chiarire ancora. Trattasi di materia assai complessa, del nodo, forse, più difficile da sciogliere.
Tuttavia le nostre conoscenze a tale riguardo hanno fatto, specialmente negli ultimi anni, progressi notevoli. Grazie anche all'applicazione di modernissime ed ingegnose metodiche analitiche (elettroforesi, gelfiltrazione, cromatografia su strato sottile TLC, ecc.). C'è da sperare che tanti sforzi in questa direzione possano approdare, a più o meno breve termine, a conclusioni, se non definitive (il definitivo è come.... l'ideale irraggiungibile) certamente determinanti. Pertanto molta parte delle vecchie nozioni e classificazioni sui colloidi dei mosti e dei vini come in parte è già avvenuto dovrà essere ulteriormente ed opportunamente riveduta.

Come sappiamo fanno parte della composizione dell' uva alcune sostanze colloidali, a struttura generalmente complessa, i cui pesi molecolari sono in prevalenza compresi fra 10.000 e 200.000, con punte fino a 1.000.000. Colloidi più o meno solubili ed in concentrazione diversa, a seconda della localizzazione nell'acino: polpa, buccia, vinaccioli. Possiamo dire, grosso modo, che il 40% dei colloidi totali è situato nella polpa dell'acino, il rimanente nei tessuti della buccia e nei vinaccioli.
Pertanto nel mosto e nel vino troveremo una parte, variamente rilevante, di questi colloidi, in relazione al vitigno, allo stato e grado di maturazione dell'uva, alla tecnologia seguita nell'ammostamento e nella vinificazione (presenza o meno della vinaccia, temperatura di fermentazione, trattamenti e via dicendo).

Per quanto concerne le metodiche, sempre più raffinate, adottate nell'analisi di tali sostanze, ci limiteremo a qualche semplice accenno; in particolare vogliamo riferirci alla tecnica principe, quella dell`elettroforesi", che consiste nel sottoporre all'azione di un campo elettrico l'estratto o

dispersione colloidale, preventivamente ed opportunamente preparata: i colloidi elettronegativi migreranno all'anodo, quelli elettropositivi al catodo.
Tale spostamento avviene, in condizioni ben definite del mezzo (in quanto la composizione ionica di esso potrebbe influenzare la carica della particella colloidale in esame), con diversa velocità ("mobilità elettroforetica"), a seconda del valore o intensità della carica elettrica di cui, come abbiamo visto, è dotato ogni colloide. Tale mezzo deve inoltre essere tamponato onde stabilizzare il pH, sì da evitare che possa, a sua volta, modificare lo stato di dissociazione dei gruppi ionizzabili dei colloidi e di conseguenza la rispettiva carica elettrica.
Di qui l'identificazione e classificazione delle differenti frazioni colloidali presenti nella soluzione.
Quali sono i colloidi che entrano nella composizione naturale dei mosti e dei vini?
Usseglio-Tomasset fino dal 1958-59 ha potuto separare quattro gruppi o frazioni di colloidi, caratterizzati da differente mobilità elettroforetica (in fase libera), ascrivibili a proteine, pectine, materie coloranti, pentosani e polimeri da esosi.

Le materie coloranti rivestono sotto l'aspetto tecnologico importanza marginale, e pertanto non ce ne occuperemo. Diciamo soltanto che sono colloidi normalmente presenti, in piccoli tenori, nei mosti e vini rossi, in equilibrio con la parte colorante (antocianine) allo stato di soluzione molecolare (Ribéreau-Gayon). Essi hanno origine prevalentemente da fenomeni di polimerizzazione, per ossidazione.
Tali materie coloranti sono normalmente precipitate a temperature molto basse; vengono asportate, altresì, dalla bentonite, come vedremo più avanti.
Lo stesso dicasi per altre sostanze polifenoliche, più o meno condensate aventi caratteri colloidali. A tale proposito appare frequente la tendenza di queste sostanze ad associarsi ad altri colloidi, in primo luogo a proteine, in forme non raramente solubili e reversibili, la cui evoluzione e stabilità è però fortemente condizionata dallo stato ossido-riduttivo, temperatura, pH, azione catalizzante dei metalli ed altro ancora.

Le proteine sono colloidi a modesta mobilità elettroforetica e formano, per costituzione chimica e comportamento, un gruppo a sè, importantissimo.

I colloidi degli altri due gruppi, di natura glucidica, precipitabili dai mosti e vini con alcol, si differenziano in primo luogo per una diversa mobilità elettroforetica negativa: molto elevata quella delle pectine, bassa invece quella del gruppo comprendente, in prevalenza, arabani, galattani, mannani.
In altri termini trattasi di polimeri carboidrati o polisaccaridi complessi, che per idrolisi enzimatica e non enzimatica forniscono monomeri glucidici, vale a dire zuccheri semplici, a cinque e sei atomi (pentosi ed esosi).
Queste due importanti frazioni o gruppi colloidali si possono distinguere

ancora in colloidi glucidici o polisaccaridi "acidi", per la presenza nella composizione macromolecolare peptica di acidi galatturonici (acidi uronici), parzialmente metilati, cioè esterificati con alcol metilico ed in polisaccaridi "neutri" in quanto costituiti da osani (arabani, galattani, mannani, ramnani, glucani, ecc.) vale a dire da anidridi di zuccheri, più o meno polimerizzati, a carattere neutro.
Questo fatto spiega anche, come vedremo, la differente attitudine elettroforetica ed idrolitica dei due gruppi.
Diciamo subito, onde non ripudiare del tutto le tradizionali nomenclature, che il gruppo dei polisaccaridi "neutri" è riferibile alle gomme, destrani e mucillaggini, che con le sostanze peptiche entrano nel novero dei cosiddetti colloidi "protettori", di cui abbiamo già fatto menzione.

*Ora i colloidi azotati o proteine da un lato e i colloidi di natura glucidica o "protettori" dall'altro costituiscono, a grandi linee, i pilastri su cui poggia fondamentalmente la struttura e la stabilità colloidale dei vini.*
È importante innanzitutto sottolineare che i primi, cioè le proteine, sono facilmente soggetti a coagulare e flocculare e quindi possono dar luogo a intorbidamenti e sedimentazioni nel vino, mentre i secondi piuttosto raramente insolubilizzano, così come gli eventuali prodotti di idrolisi.
Pertanto il pericolo di alterazioni della limpidezza, in questi casi, deriva quasi esclusivamente dai colloidi proteici.
Ma la stabilità di questi è fortemente influenzata, oltre che da condizioni e fattori di ordine generale che, come abbiamo visto, determinano il comportamento di ogni soluzione colloidale, dalla presenza dei colloidi detti, appunto, protettori.
Questa correlazione ci fornisce l'immagine degli elementi costitutivi di una porta, cioè gli stipiti e l'architrave, dove i primi rappresentano i colloidi protettori e il secondo quelli proteici.
La presenza, infatti, di tenori sufficientemente elevati di colloidi di natura glucidica, nei vini (e mosti), specialmente bianchi e rosati, esercita nei confronti delle sostanze proteiche (e non solo quelle) un'efficace azione protettiva di sostegno, anticoagulante.
A questo proposito Thiessen diede una duplice interpretazione di tale fenomeno: una "protezione avvolgente" quando le particelle anticoagulanti, essendo più piccole e numerose, si depositano intorno al colloide impedendone così la caduta oppure una "protezione aderente" quando il colloide che esercita la protezione, essendo la sua molecola molto più grossa, attira e fissa alla sua superficie quella della sostanza da proteggere.
Diversamente l'eliminazione anche parziale (filtrazioni strettissime) o la demolizione enzimatica (idrolisi) dei colloidi protettori tende a provocare la rapida caduta delle proteine e di conseguenza turbamenti nella limpidezza del vino.
Questa nozione, sia pur semplicistica, mette in rilievo l'importanza che i colloidi di natura glucidica assumono nel processo di stabilizzazione dei vini.

Anche le proteine sono colloidi idrofili, e pertanto dotati di azione protettiva, ma non lo sono nel vino per la presenza di polifenoli e tannini in genere che hanno effetto denaturante e precipitante su di esse.
Oggi vengono consigliati per i vini bianchi addizioni di gomma arabica, allo scopo di rafforzarne la difesa antiproteica, svolta appunto dai colloidi protettori naturali.
Prima però di esaminare le soluzioni tecniche connesse con il raggiungimento di una sollecita e sufficiente stabilità proteica e di altre forme colloidali non idrofile nei vini, sarà opportuno riprendere ed approfondire alquanto il discorso sulla natura e comportamento di queste sostanze.

## Colloidi di natura azotata o proteine o protidi

I mosti e i vini contengono numerosi composti azotati, sotto diversa forma, non tutti ancora ben conosciuti, provenienti dall'uva e anche, per quanto riguarda il vino, dal metabolismo dei lieviti.
Una prima distinzione può essere fatta fra azoto ammoniacale ($NH_4^+$) e azoto organico, in forme più o meno complesse (amminoacidi, peptoni, polipeptidi, proteine).
Tale patrimonio azotato è fortemente influenzato, sia quantitativamente che qualitativamente, dal vitigno, dal grado di maturazione e sanità delle uve, dal clima ed andamento stagionale, dalle concimazioni azotate e via dicendo.
Le parti solide dell'acino, buccia e vinaccioli, rispetto alla polpa, contengono una quantità maggiore di azoto (grosso modo sul 60%), che però trovasi in condizioni più difficilmente solubilizzabile.
Così i nostri bianchi di sgrondo risultano più poveri in azoto organico in confronto con gli stessi ottenuti mediante pressatura oppure con i mosti vinificati in rosso.
Possiamo rilevare ancora che le sostanze azotate tendono ad abbondare nelle uve "botritizzate", non sane, così come in quelle prodotte nelle regioni meridionali in comparazione con le uve maturate al nord.
Il tasso medio in azoto totale (N) nei mosti italiani oscilla, secondo Tarantola, sui 200-300 mg/l, con punte fino a 600 mg.
Fra i componenti azotati prevalgono, quasi sempre, gli amminoacidi, che con l'azoto ammoniacale costituiscono la forma più semplice e prontamente assimilabile da parte dei lieviti.
Nel corso della fermentazione, a seguito dell'intenso metabolismo dei lieviti, in primo luogo, la composizione azotata subisce profonde modificazioni, quantitativamente e qualitativamente.

**COMPOSIZIONE AZOTATA DI ALCUNI VINI ITALIANI DELLA VENDEMMIA 1970 (da Tarantola)**

| | Valore minimo | Valore massimo | Valore medio | Campioni esaminati |
|---|---|---|---|---|
| | | N (mg/l) | | n. |
| N totale | 70 | 781 | 350 | 164 |
| N ammoniacale | 0 | 143 | 14 | 83 |
| N amminico | 8 | 348 | 73 | 158 |
| N amidico | 1 | 40 | 4 | 55 |
| N "polipeptidico" | 28 | 273 | 148 | 7 |
| N "proteico" | 1 | 125 | 42 | 23 |

Una seconda distinzione, per noi molto importante, è quella relativa alle sostanze azotate di tipo colloidale e non colloidale. Al primo gruppo appartengono i composti proteici o proteine o protidi, un tempo detti albuminoidi.
Appunto su questi colloidi idrofili o emulsoidi, a struttura proteica, appunteremo la nostra attenzione.
Essi rappresentano anzitutto soltanto una modesta frazione dell'azoto totale presente in un mosto o in un vino (2-5% come N proteico e 5-15% come colloide azotato).
La percentuale più alta si riscontra nei mosti poveri di materie tanniche e polifenoliche in genere, cioè nei mosti bianchi di prima spremitura o mosti fiore. Ciò del resto è facilmente intuibile, tenuto conto dell'influenza insolubilizzante dei tannini sulle sostanze proteiche.
Durante il processo fermentativo anche l'azoto proteico tende a diminuire, sia per coagulazione (tannino, alcol, acetaldeide) o per trascinamento da parte del torbido feccioso o di eventuali trattamenti, sia per fenomeni di idrolisi proteolitica.
Al termine della fermentazione per autolisi, cioè per decomposizione delle cellule di lievito, si ha un sensibile incremento di azoto amminico, oltre ad azoto peptico e proteico (20-30 mg secondo Usseglio-Tomasset), per cui i vini, in questa fase, presentano forti variazioni nella composizione proteica rispetto a quella dei mosti.
Per la stessa ragione viene ceduta dai lieviti al nuovo vino una parte cospicua di enzimi, di cui la cellula è straordinariamente ricca, enzimi che possono intervenire nella degradazione delle proteine presenti. Ma è solitamente dopo il primo travaso che si verifica nei vini bianchi e rosati una forte, anche se progressiva, caduta delle proteine, in particolare con temperature e pH bassi.
I vini rossi, anche giovani, ne sono invece praticamente privi.

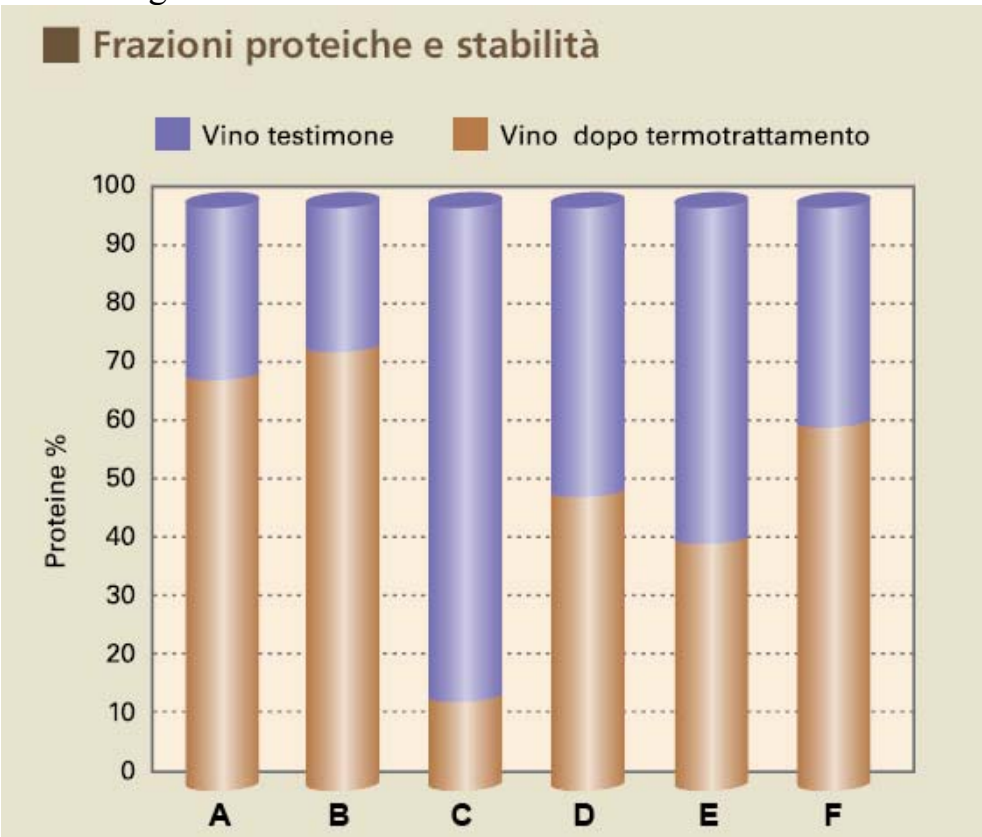
*Tenore di proteine dei mosti e dei vini corrispondenti*

| | | Proteine % dei collodi totali |
|---|---|---|
| Moscato 1972 | Mosto | 15,9 |
| | Vino | 11,3 |
| Barbera 1972 | Mosto | 6,8 |
| | Vino | 3,5 |
| Nebbiolo 1973 | Mosto | 7,1 |
| | Vino | 4,6 |
| Pinot bianco | Mosto | 4,4 |

## Le proteine dell'uva

Dato che le proteine sono precipitate dai tannini, i vini rossi praticamente non ne contengono, per contro i vini bianchi e rosati ne possono contenere fino a valori intorno a qualche centinaio di mg/L. Sono la causa ben nota di instabilità e di intorbidamento di questi vini.
La loro precipitazione costituisce la cosiddetta "casse proteica" che appare in bottiglia durante la conservazione dei vini, soprattutto a temperature non controllate.
Queste proteine provengono essenzialmente dall'uva.
Qualunque sia il vitigno le proteine responsabili dell'instabilità dei vini presentano delle masse molecolari relativamente basse, comprese tra 15.000 e 35.000 dalton; punti isoelettrici che possono variare tra 4 ed oltre 7 ed uno stato di glicosilazione variabile.
Alcuni autori (Waters et al., 1996; Hayasaka et al., 2007) hanno mostrato che la maggior parte delle proteine responsabili dell'instabilità dei vini sono proteine prodotte dalla pianta in difesa contro i patogeni (pathogenesis related proteins o PR proteins).
Già in passato alcuni ricercatori (Berget, Akioshi, 1967) avevano dimostrato che le proteine dei mosti non hanno tutte la stessa termosensibilità, dunque la stessa instabilità nei vini.
Lavori condotti con l'impiego dell'elettroforesi capillare applicata al dosaggio delle proteine dei vini Sauvignon blanc (Ledoux et al 1992; Dubourdieu et al 1996), hanno permesso di dividere il patrimonio proteico di questo vitigno in 6 frazioni differenti.
Ciascuna di queste frazioni proteiche separate per elettroforesi capillare si è dimostrata diversamente sensibile al trattamento termico. Come rappresentato nel grafico della sottostante figura, posto pari a 100 il contenuto proteico di ogni picco, la frazione più termosensibile, dunque più instabile è la frazione 3 seguita dalla frazione 5.
Le frazioni 1 e 2 risultano invece essere le più stabili, quindi meno interessate dall'effetto del calore e meno suscettibili a produrre "casse

proteica" in bottiglia.




Stabilità termica delle differenti frazioni proteica di un vino separate per elettroforesi capillare.

Lavori condotti con l'impiego dell'elettroforesi capillare applicata al dosaggio delle proteine hanno permesso di dividere il patrimonio proteico in 6 frazioni differenti.
Ciascuna di queste frazioni proteiche, separate per elettroforesi capillare, si è dimostrata diversamente sensibile al trattamento termico. Come rappresentato nel grafico posto pari a 100 il contenuto proteico di ogni picco, la frazione più termosensibile e dunque più instabile è la frazione C, seguita dalla frazione E. Le frazioni A e B risultano invece essere le più stabili, quindi meno interessate dall'effetto del calore e meno suscettibili di produrre casse proteica in bottiglia.

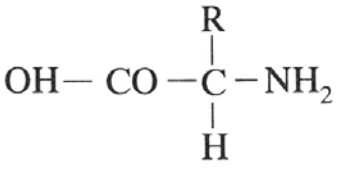
Per valutare il rischio di casse proteica prima dell'imbottigliamento vengono impiegati in cantina differenti test, volti anche a fornire informazioni circa la dose ottimale di bentonite da applicare nel trattamento stabilizzante.
Questi test sono basati sulla rapida denaturazione delle proteine da parte di specifici agenti: calore con aggiunta o meno di tannini, reattivi chimici come l'acido fosfomolibdico, acido tricloroacetico, o etanolo.
Non tutti i metodi sono però in grado di tener conto della diversa instabilità delle proteine.
A nostro avviso, allo stato attuale delle conoscenze, il test più aderente alla realtà per la stima della stabilità proteica dei vini, anche se un po' più laborioso, è il test a caldo. Consiste nel leggere la torbidità del vino tal quale, si sottopone poi a riscaldamento, in bagno-maria, a 80 °C per 30 minuti.
L'eventuale torbido proteico appare durante il raffreddamento. Si controlla

nuovamente la torbidità, se il suo aumento è superiore a 2 NTU il vino è da ritenersi instabile dal punto di vista proteico (Dubourdieu et al., 1988). (in seguito viene descritto il test).

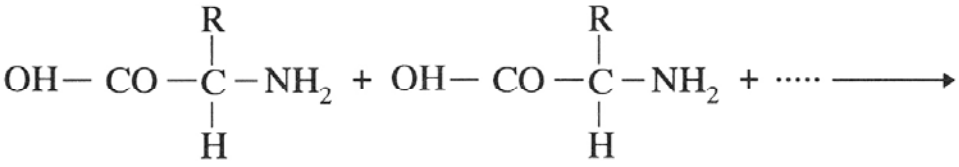
*Composizione delle proteine*

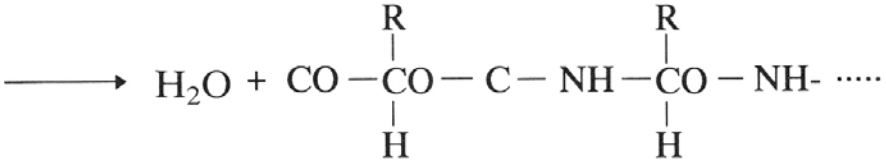
Ma qual è la composizione delle proteine?

Le proteine sono costituite essenzialmente (proteine semplici o oloproteine) da molecole di amminoacidi R-CH($NH_2$)-COOH concatenate fra loro da un legame peptidico (-NH-CO-), con eliminazione di acqua, fra il gruppo amminico (-$NH_2$) dell'uno e il carbossile (-COOH) dell'altro, secondo il seguente schema:



per cui:

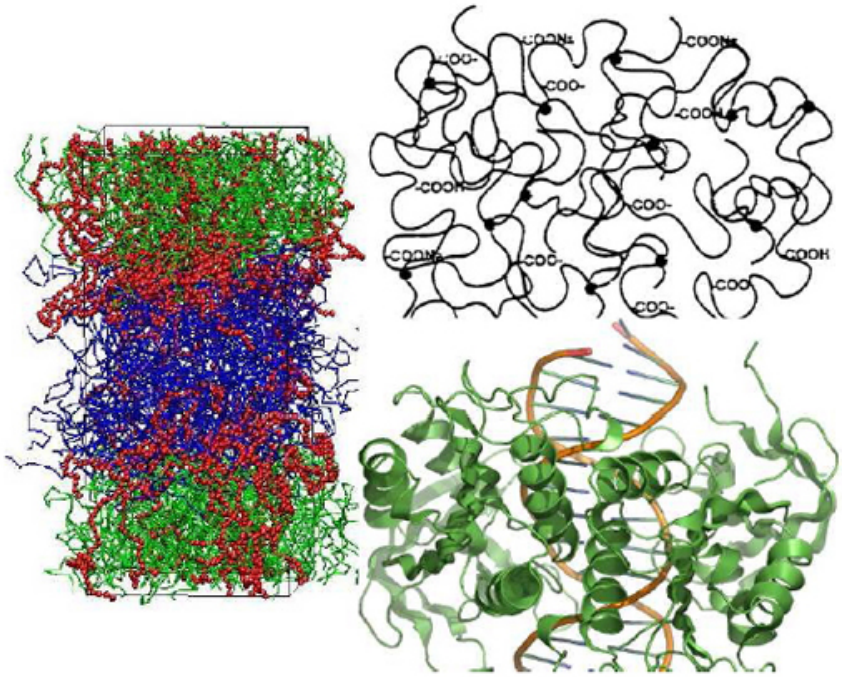




(acqua) (proteine)

La struttura delle proteine è costituita quindi da macromolecole lineari, a catena più o meno lunga, i cui elementi sono rappresentati, appunto, dai diversi amminoacidi.

Spaghetti molecolari, proteine



*Degradazione proteica*

Le proteine soggiaciono a fenomeni di idrolisi enzimatica o acida; in tal caso rimettono in libertà gli amminoacidi, di cui sono formate.

Una degradazione parziale di esse porta, invece, alla formazione di composti azotati di trasformazione, come peptoni e specialmente polipeptidi, cioè frammenti di proteine, di peso molecolare inferiore a 10.000, dializzabili.

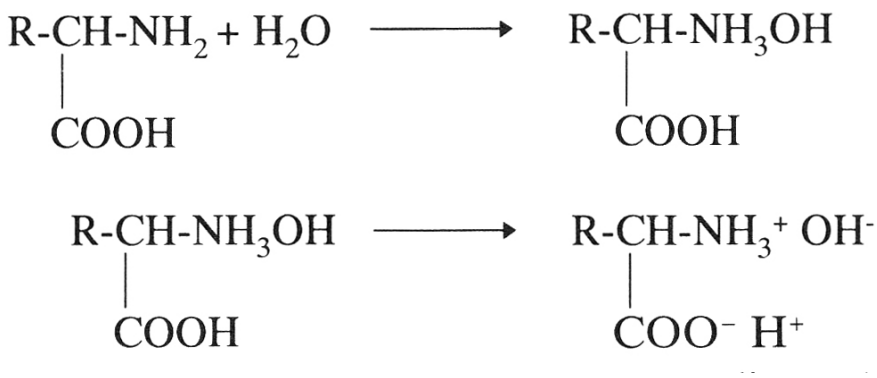
Infatti le proteine possono essere definite anche "polipeptidi superiori".

Il meccanismo di tale processo di degradazione proteolitica può essere evidenziato come segue.

I mosti (e i vini) contengono principalmente due gruppi di enzimi proteolitici: le "proteasi", che provocano la rottura dei legami peptidici -CO-NH- internamente alla catena proteica, dando luogo, appunto, a frammenti più o meno consistenti (peptoni, polipeptidi). Sono questi degli "endo" enzimi.

Ci sono poi gli "eso" enzimi, come le "esoproteasi" o "peptidasi" che scindono anch'esse gli stessi legami, siti però alle estremità della molecola o degli spezzoni peptidici liberando gli amminoacidi.

La temperatura ottimale per questi enzimi è piuttosto elevata (sui 50°C), ai pH normali dei mosti (3-3,5). La forte presenza di polifenoli (vinificazione in rosso) e di alcol hanno effetto deprimente sulla loro attività. Le proteine hanno carattere anfotero, in quanto posseggono funzioni sia acide (-COOH) che basiche (-NH2), allo stesso modo degli amminoacidi, che in soluzione fissano acqua e si dissociano:




Ora la molecola proteica in soluzione semplice può presentare una carica globalmente positiva o negativa, seppur molto debole (in rapporto alla massa della molecola), in base al numero delle funzioni acide e basiche ionizzabili che la molecola porta.
Nei mosti e nei vini, invece, in un mezzo cioè nettamente acido (pH 3-3,5 mediamente), essa libera, secondo la legge dell'azione di massa, ioni $OH^-$, dato che il punto isoelettrico delle proteine è intorno a pH 4,7. Le proteine perciò sono dotate di carica elettropositiva. Le proteine semplici contengono l'elemento azoto in percentuale abbastanza costante (15-20%); il rimanente è costituito da carbonio (50-55%), idrogeno (6,67,3%), ossigeno (19-24%) e, nelle proteine coniugate o eteroproteine, da piccole percentuali di zolfo, fosforo o altro ancora.
Queste ultime sono dette anche nucleo-proteine e risultano solubili in acqua debolmente alcalinizzata, che ne salifica le funzioni acide.
A questo gruppo appartiene, per noi importante da un punto di vista tecnologico, la caseina, impiegata in enologia come prodotto chiarificante e stabilizzante. Nei mosti e nei vini sono presenti, nella quasi totalità, sostanze proteiche riferibili alle oloproteine o proteine semplici, composte unicamente da amminoacidi.
Non si pensi però che le proteine siano sostanze a struttura effettivamente "semplice".
Sono al contrario tra le sostanze più complesse e straordinariamente diversificate che si possano trovare nel mondo vivente.
Basti considerare che esistono in natura (e la vite li sintetizza tutti) oltre una ventina di amminoacidi diversi e che le possibilità di combinazione, per numero e tipi, nella formazione di altrettante proteine, diventano enormemente grandi, di ordine astronomico.

*Struttura e comportamento delle proteine*
Il DNA (acido desossiribonucleico) presiede a queste combinazioni, attraverso l'azione rigorosa e catalizzante di numerosi enzimi, che sono delle proteine speciali.
Se ne deduce che anche lo studio delle proteine nei mosti e nei vini presenta non poche difficoltà, ma anche un interesse stimolante, sia come ricerca pura che finalizzata.

Alcuni studiosi hanno affrontato, specialmente negli ultimi decenni, un tale campo di ricerca, conseguendo risultati di indubbia rilevanza, grazie anche ai più moderni mezzi di indagine analitica ed in particolare, come abbiamo già ricordato, per mezzo della tecnica elettroforetica.
Ricordiamo, a questo proposito, che un siffatto procedimento ("elettroforesi su carta") venne applicato per la prima volta nella determinazione dei colloidi proteici del vino da Koch nel 1954.
Fu possibile, da allora, attraverso un costante perfezionamento della metodica elettroforetica, nonchè di altre ancora come la gelfiltrazione, la cromatografia su strato sottile (TLC) e la focalizzazione isoelettrica su gel di poliacrilammide (Pagif), spingere avanti la separazione e identificazione di più frazioni colloidali di natura proteica e non proteica, sia nei mosti che nei vini, caratterizzate da una mobilità elettroforetica differenziata.
Così il russo Kichkovski ha individuato nei mosti da 2 a 18 frazioni proteiche, in maggioranza a carattere acido, di diverso comportamento e peso molecolare. Altri autori sovietici hanno potuto stabilire che il peso molecolare delle proteine solubili può variare da poco più di 7.000 a quasi 50.000.
Anche secondo Cordonnier raramente il peso molecolare delle proteine, nei prodotti vinicoli, supera 50.000. Altri invece, come Tarantola, ne spostano i confini a 100.000.
Successivamente Usseglio-Tomasset ha rilevato che alcune componenti proteiche presenti nel vino hanno pesi molecolari che vanno oltre 200.000.
Come si vede siamo, su questo argomento, abbondantemente in marcia, né sappiamo dove sarà fissato (se lo sarà) il traguardo.
Una tale situazione, del resto, sta a significare la complessità dei caratteri strutturali e di comportamento delle proteine in soluzione nei mosti e, più ancora, nei vini. Situazione, altresì, complicata dal fatto che tra i due gruppi di confine, polipeptidi e proteine, la frontiera non è affatto netta e sicura; essa dipende o dovrebbe dipendere convenzionalmente dal "grado" di condensazione amminoacida.
Vale a dire quando il composto azotato non è più dializzabile attraverso una membrana ordinaria di cellophane (Lynge) e il peso molecolare si approssima a 10.000.
Vi si aggiunga ancora che le molecole delle proteine sono degli edifici fragili, la cui struttura è continuamente e facilmente esposta ad importanti modificazioni.
Le proteine si trovano disperse, in forma macromolecolare o in altre ancora più complesse, in condizioni di stabilità molto variabili e presentano, come abbiamo già visto, una carica positiva, avendo il loro punto isoelettrico a pH superiore a quello dei vini. Va tenuto presente ancora che alcune frazioni proteiche, separate per via elettroforetica, dimostrano, a causa della loro composizione amminoacidica, variazioni notevoli nei riguardi del punto isoelettrico.

*Le proteine ed il calore*

Abbiamo parlato, poc'anzi, di comportamento dei colloidi proteici; ebbene uno degli aspetti tecnologicamente più interessanti riguarda l'influenza su di essi del calore.

Già Koch aveva potuto individuare, per mezzo della tecnica elettroforetica, due frazioni protidiche importanti, una più abbondante termolabile, ossia coagulabile con il riscaldamento, la seconda termostabile. Successivamente Diemar e coll., mediante ultrafiltrazione ed elettroforesi, sono giunti a separare quattro frazioni, una delle quali, come evidenziato da Koch, molto sensibile al calore.

Secondo Berg e Moretti le frazioni proteiche termolabili occuperebbero, nei vini, la zona dei pesi molecolari compresi tra 18.000 e 23.000 circa.

Ora l'instabilità termica non sembra necessariamente legata alle dimensioni e quindi al peso molecolare della macromolecola proteica, ma piuttosto alla natura degli amminoacidi che la compongono, ai loro legami strutturali, al grado di solvatazione del colloide, al punto isoelettrico delle singole frazioni. Lo stesso contenuto complessivo in proteine dice, infatti, relativamente poco nel quadro della stabilità colloidale dei vini.

È interessante notare come la composizione amminoacidica delle frazioni proteiche "termolabili" risulti nettamente diversa da quelle delle frazioni "termostabili". Le prime contengono in prevalenza amminoacidi come tirosina, valina, metionina, fenilalanina, leucina; le seconde acido aspartico, acido glutammico, serina, treonina, alanina.

Possiamo altresì supporre che le frazioni meno solvatate siano le prime a risentire dell'azione disidratante del calore, a partire da 40-45°C. Infatti le componenti proteiche termolabili o termosensibili che dir si voglia, coagulano e precipitano a gradienti termici differenti, come lo dimostra la seguente esperienza condotta su un vino bianco:

- a 45°C sono flocculati 90 mg/1 di proteine
- a 50°C sono flocculati 130 mg/1 di proteine
- a 60°C sono flocculati 170 mg/1 di proteine
- a 70°C sono flocculati 190 mg/1 di proteine

Oltre 70°C non vi sono state variazioni sensibili. Complessivamente le proteine termolabili precipitate hanno rappresentato quasi un terzo delle proteine totali.

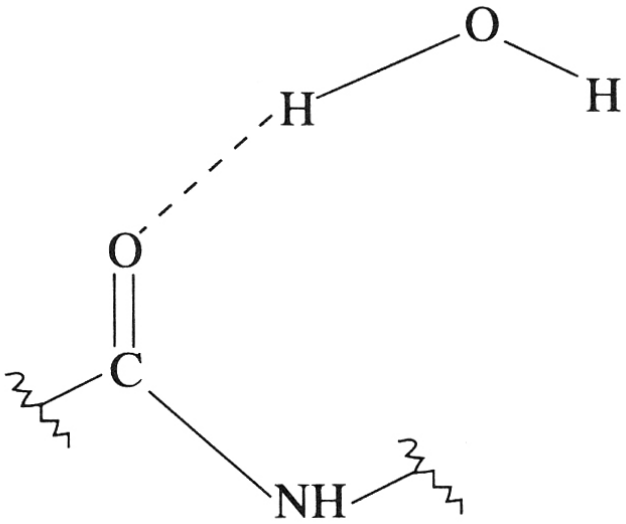
*Proteine e Tannini*

Altro importantissimo aspetto, connesso con il comportamento delle proteine in enologia, riguarda il rapporto proteine-tannini o, più in generale, proteine-polifenoli.

Il meccanismo della loro reciproca flocculazione non sembra ancora ben definito; la spiegazione comunque più fondata sembra la seguente.

I gruppi funzionali o legami peptidici (-NH-CO-) delle proteine, di cui

abbiamo parlato più indietro, sono particolarmente idrofili. L'acqua di solvatazione si lega secondo lo schema:




I tannini si legano a questi gruppi per mezzo dell'idrogeno delle loro funzioni fenoliche scacciando l'acqua di solvatazione.
II grado di una siffatta interazione reciproca è naturalmente in relazione al numero di idrogeni di tali gruppi funzionali.
In questo modo viene a diminuire la solubilità (e stabilità) delle proteine, per l'effetto disidratante, per cui precipitano come fossero dei colloidi idrofobi (Chapon e coll.) in presenza di cationi, cioè di ioni positivi, in quanto la formazione tanno-proteica è elettronegativa.
Evidentemente in questi fenomeni hanno molta importanza la composizione e le condizioni del mezzo disperdente (mosto, vino), in particolare temperatura e pH.
Il pH del vino e il punto isoelettrico (Ip) delle proteine, come abbiamo visto nella parte generale, sono due fattori estremamente importanti; più i due valori si differenziano, più le proteine risultano stabili in stato di soluzione colloidale, e inversamente. In pratica va tenuta presente anche la situazione dei tannini, il cui punto isoelettrico è vicino a pH 2,3. Pertanto a pH del vino molto basso diminuisce la reattività del tannino nei confronti delle proteine. Questo fatto riveste molta importanza nelle operazioni di chiarificazione proteica.
Anche la temperatura ha grande influenza sulla precipitazione delle proteine; tanto più è bassa tanto più la favorisce.
È un argomento questo che riprenderemo più avanti. Le proteine una volta coagulate, indipendentemente dalla causa, cambiano di segno, ossia assumono carica elettrica negativa e producono, particolarmente nei vini bianchi, intorbidamenti di vario genere ed intensità, a seconda delle condizioni in cui il fenomeno si svolge.
A questo proposito dobbiamo ricordare ancora una volta che quasi mai gli

intorbidamenti proteici sono causati dalla flocculazione di sole proteine. Altre sostanze presenti nel vino, di natura colloidale o polimerizzate in genere, partecipano, per aggregazione o trascinamento, alla caduta delle proteine, come vedremo poco più avanti.
Il più sovente l'aspetto di queste alterazioni della limpidezza va dall'opalescente al lattiginoso intenso, fino al grigio brunastro o rossastro, nel caso che vi si accompagni una simultanea rottura ferrica o rameica. Cosa che accade abbastanza di frequente.
Il precipitato può presentarsi in forma fioccosa, dispersa, ma anche compatta.
Il fenomeno va anche sotto la denominazione generica di "rottura proteica".
Usseglio-Tomasset, anche in collaborazione con Di Stefano (1977), ha ravvisato una diversa o se vogliamo più suggestiva dinamica di questa alterazione che colpisce in prevalenza i vini bianchi. Si tratterebbe di vere e proprie associazioni tra proteine e colloidi di natura glucidica e polifenolica, formanti voluminose micelle, a struttura particolarmente complessa e ad alto peso molecolare.
Tali complessi colloidali risulterebbero determinanti nei fenomeni della stabilità colloidale nei mosti e soprattutto nei vini.
Questa situazione modifica indubbiamente il quadro proteico tradizionalmente distinto in proteine termolabili e termostabili, dove le due espressioni appaiono perciò quanto mai relative.
Tutto sommato resta ancora molto da chiarire sulle proprietà chimico-fisiche e funzionali delle diverse frazioni proteiche. Questo è anche dipeso dal modesto tenore in proteidi presenti nei vini (10-30 mg/1 o poco più) e dalla tendenza a formare dei complessi, come abbiamo visto, con altre sostanze.

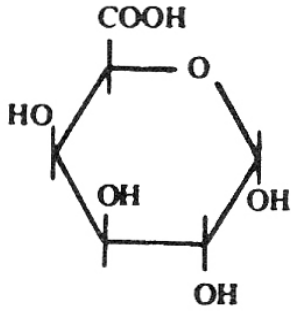
## Colloidi di natura glucidica o polisaccardidi o "protettori"

Se in una provetta mettiamo una piccola quantità di vino e ne aumentiamo di circa 5 volte il volume con alcol etilico, previa acidificazione con HCl, dopo agitazione osserveremo che il liquido vino-alcol s'intorbida e da lì a poco si separano in forma sempre più netta e vistosa dei fiocchi o filamenti chiari, che lentamente si raccolgono sul fondo della provetta.
Questo sedimento dall'aspetto gelatinoso comprende, per la gran parte, sostanze colloidali di natura glucidica (pectine, gomme, mucillaggini), che rappresentano il complesso colloidale più importante del mosto e del vino.
Ora se il precipitato viene, dopo opportuna purificazione, solubilizzato e sottoposto all'esame elettroforetico, si ha la separazione netta di due tronconi: uno caratterizzato da elevata mobilità, l'altro da bassa mobilità. Pertanto possiamo ravvisare in questo complesso colloidale due gruppi distinti, che non solo si differenziano per comportamento elettroforetico, ma per struttura molecolare e stabilità. Trattasi del gruppo delle pectine o polisaccaridi "acidi" da un lato e del gruppo degli arabani, galattani, ramnani, glucani, ossia di materie genericamente gommose o polisaccaridi "neutri" dall'altro.

A noi sembra perciò opportuno analizzare separatamente composizione e caratteristiche dei colloidi dei due gruppi, anche se in natura vi si trovano normalmente in forme associate, più o meno complesse.

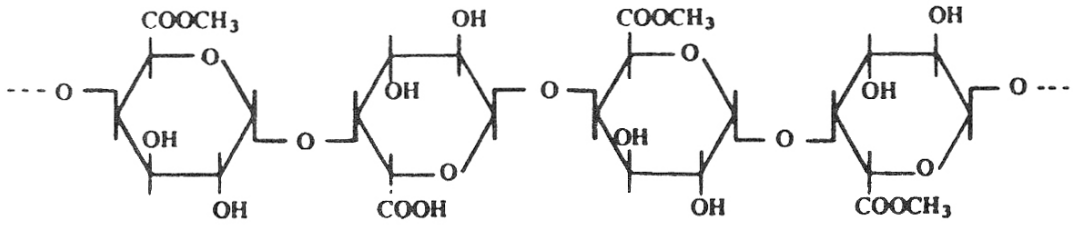
*a) Gruppo delle pectine o polisaccaridi "acidi"*

Le pectine, molto diffuse nel regno vegetale, sono delle grosse molecole o macromolecole formate, per condensazione, da catene di un gran numero di molecole di acido d-galatturonico, saldate fra loro da un legame glucosidico (1-4).




acido D-galatturonico

I gruppi carbossilici (-COOH) di questo acido risultano parzialmente esterificati dall'alcol metilico (-COO-$CH_3$) e parzialmente liberi, suscettibili questi ultimi di essere salificati (con calcio, magnesio, ecc.). Oltre la metà dei carbossili risultano, in genere, esterificati. È ai carbossili liberi che si deve soprattutto la forte carica negativa della pectina, e pertanto la elevata mobilità elettroforetica.

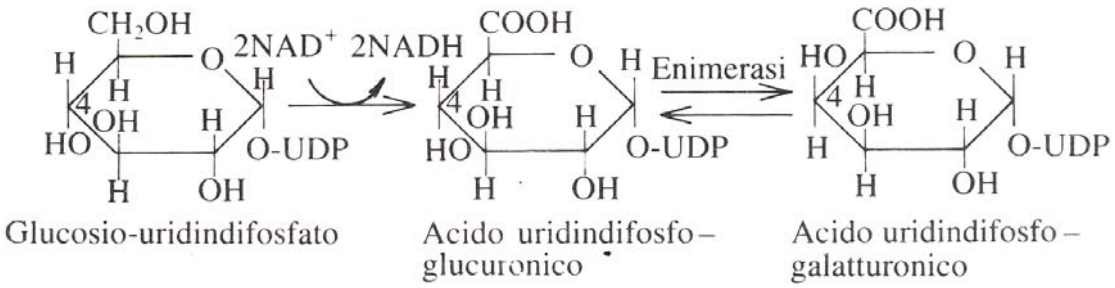



porzione della molecola di pectina

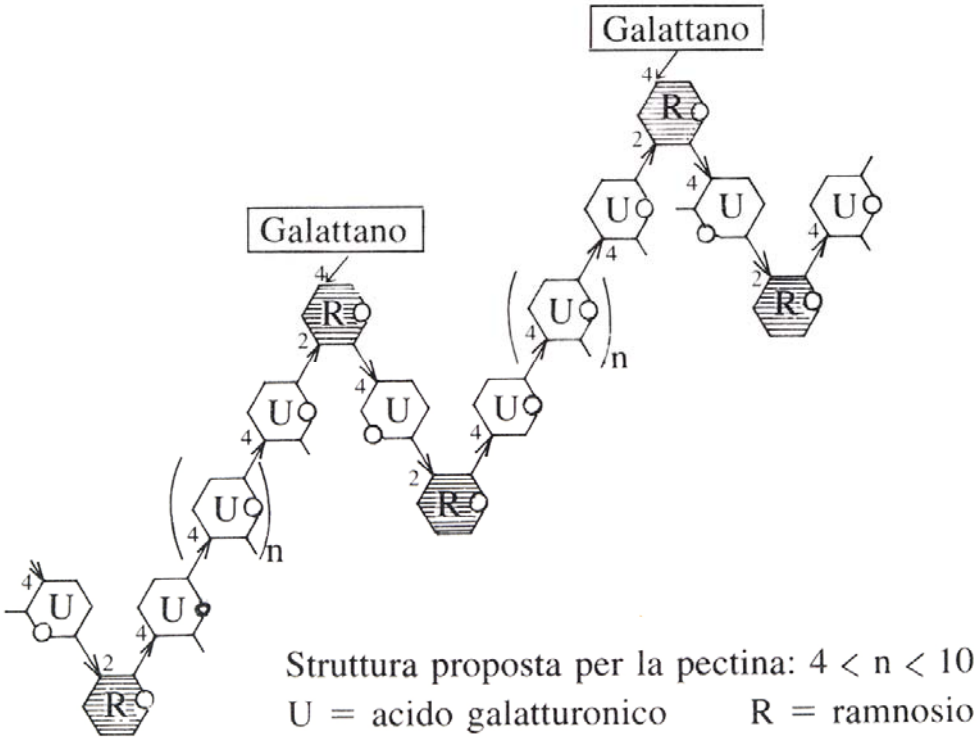
Il peso molecolare di queste sostanze può variare moltissimo, grosso modo da 20.000 a 300.000 e con esso lo sviluppo e le dimensioni della catena pectica.

La produzione dell'acido galatturonico nei vegetali avviene dal glucosio, in forma di glucosiouridindifosfato, attraverso la formazione dell'acido uridinfosfoglucuronico in seguito all'intervento del nicotamideadenindinucleotide in forma ossidata (NAD+); successivamente le epimerasi trasforma l'acido uridindifosfoglucoronico in acido uridindifosfogalatturonico e quindi si hanno i processi di polimerizzazione con legame glucosidico in 1 ---> 4 tra

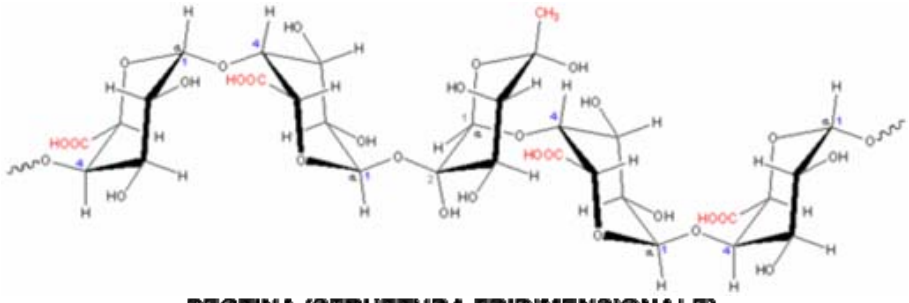
le molecole e separazione dell'uridindifosfato.




Le pectine, dopo precipitazione con alcol, si separano dagli altri colloidi glucidici facendole riprecipitare sotto forma di pectato di calcio, operando opportunamente. Il precipitato di calcio appare, di solito, inscindibilmente legato a componenti di natura glucidica a bassa mobilità, come arabani, galattani, ramnani. Tale constatazione ha fatto sorgere il dubbio che altre frazioni colloidali potessero partecipare alla struttura stessa della pectina.
Si deve a Usseglio-Tomasset e Castino il merito di aver definitivamente dimostrato che il pectato di calcio, dopo un accurato procedimento di purificazione e solubilizzazione, sottoposto all'azione elettroforetica su fibra di vetro, fornisce un componente mobile costituito praticamente da solo acido galatturonico (63,90%). Pertanto le pectine, anche se posseggono spiccate attitudini all'associazione con altri colloidi, rappresentano una sostanza definita, composta unicamente da acidi galatturonici. A noi è sembrato non del tutto ozioso, enologicamente parlando, l'aver toccato questa particolare questione.



Nell'uva si trovano sostanze pectiche solubili che passano nel mosto, ed altre insolubili (protopectine) annidate particolarmente nel tessuto parenchimatico della buccia.



**PECTINA (STRUTTURA TRIDIMENSIONALE)**

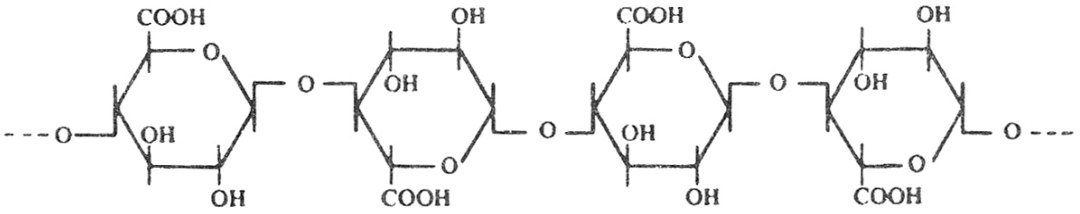
Con la maturazione dell'uva aumenta la proporzione della pectina solubile, probabilmente per azione enzimatica.
Nel mosto passano frazioni più o meno importanti di pectine; molta influenza hanno, a questo riguardo, il tipo di vitigno, il grado di maturazione dell'uva e l'andamento climatico dell'annata.
Se infatti la stagione decorre asciutta e calda si avrà un notevole incremento in sostanze pectiche (e proteiche). Anche la tecnologia di trasformazione (pigiatura, macerazione o meno, trattamenti, temperatura di fermentazione, ecc.) è determinante a questo riguardo. La parte preponderante dei polisaccaridi pectici, in ogni caso, proviene dalla polpa dell'acino (Mourgues 1979).
I tassi di pectine solubili nei mosti freschi possono, infatti, accusare differenze considerevoli, da 100 a 1000 e più mg/litro. A tale proposito vogliamo osservare che fissare dei contenuti medi significativi, non solo in pectine, ma in proteine e colloidi in generale. nei mosti e nei vini, è sempre molto difficile, se non vano, troppo rilevanti essendo le differenze.

| | UTILI | | | | DANNOSE | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ZUCCHERI | ACIDI ORGANICI | SOSTANZE ORGANICHE | SOSTANZE AZOTATE | SOSTANZE POLIFEN. | SOSTANZE MINERALI | OSSIDASI | LIPIDI (grassi) | SOSTANZE PECTICHE | +++ = molto abbondante<br>– = piccole quantità o assenza |
| raspo | – | (+) | – | – | +++ | +++ | (++) | – | – | |
| vinacciolo | – | – | – | – | +++ | +++ | | +++ | – | |
| buccia | – | + | +++ | + | ++ | ++ | +++ | – | +++ | |
| polpa | +++ | +++ | + | +++ | + | + | (++) | – | ++ | |

Le pectine cedute dall'uva ai mosti soggiacciono, dal momento della pigiatura, a fenomeni di degradazione prevalentemente enzimatica. Trattasi dell'azione di enzimi pectolitici, contenuti naturalmente nel succo d'uva.
Vi è da osservare subito che le pectine, proprio perché colloidi idrofili ad elevata mobilità elettroforetica, risultano molto più sensibili ai processi di

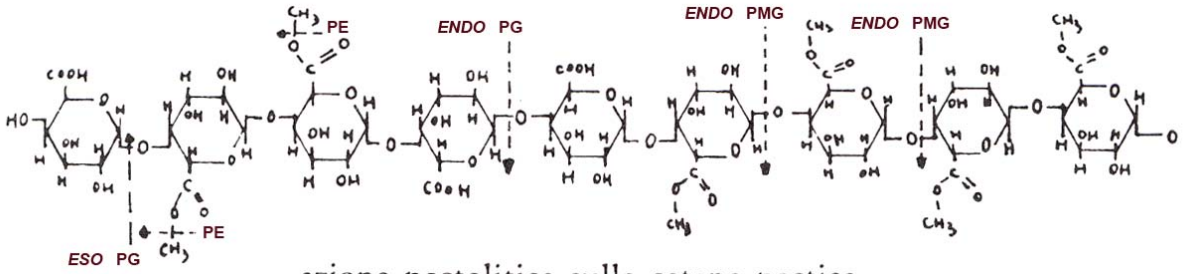
idrolisi di quanto non lo siano i colloidi a bassa mobilità (proteine, gomme, destrani, ed in generale i polisaccaridi neutri).
Prima però di tracciarne, seppur brevemente, il quadro evolutivo in vinificazione e nei vini, ci sembra non privo di interesse dire qualcosa sui processi di decomposizione pectolitica.

*Degradazione delle Pectine*. Attualmente conosciamo quattro enzimi principali, in grado di agire sui legami glucosidici della macromolecola pectica, sì da frantumarne la lunga catena. Due di essi e cioè la `'endo-polimetilgalatturonasi" (PMG) e la "endo-poligalatturonasi" (PG) spezzano la grossa molecola in tronconi, in frammenti minori; in questo modo ne viene diminuita la forte viscosità, propria della pectina.
Subentrano quindi altri due enzimi dello stesso tipo, ma "eso" (anzichè "endo") che operano sulle parti terminali di questi frammenti, mettendo in libertà acidi pectici, acido galatturonico ed alcol metilico. Gli acidi pectici o acidi poligalatturonici vanno intesi come gli ultimi residui della catena pectica completamente privi di gruppi metossilici ($OCH_3$); l'idrolisi a sua volta dell'acido pectico porta alla formazione di unità di acido d-galatturonico.



acido pectico

Ma affinché ciò avvenga si rende necessario in realtà l'intervento di un quinto enzima, la "pectinesterasi" (PE) o"pectinmetilesterasi"'. In difetto di questo enzima la disgregrazione della catena a livello degli ultimi componenti non può verificarsi.

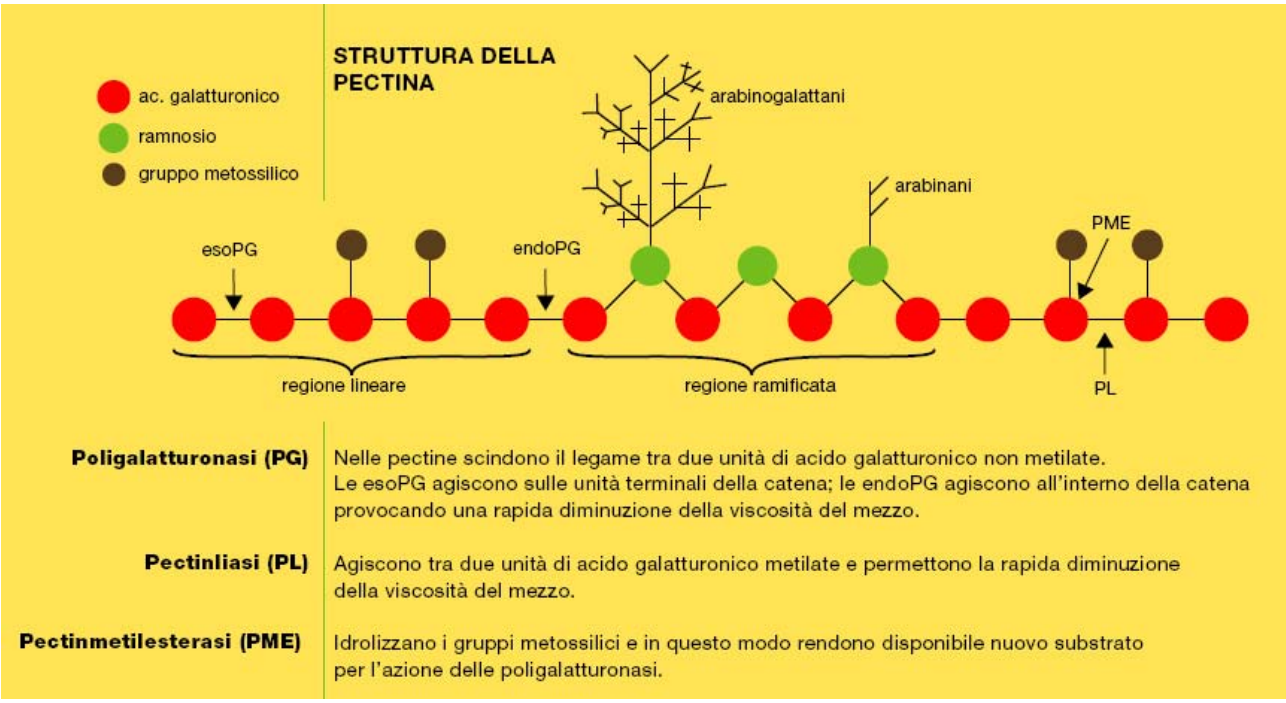


azione pectolitica sulla catena pectica

Va ricordato che il processo di demolizione pectolitica è favorito dai pH elevati. Più esattamente la massima attività delle poligalatturonasi si ha a pH 4,5 - 4,7; essa è, altresì, sensibile alla temperatura; a 40°C si riduce, secondo Datounaschvjli e coll., già del 40 per cento. Lo stesso dicasi per la presenza di

alcol etilico; infatti la stessa riduzione del 40% di attività si verifica in un vino di 100 d'alcol. Il punto isoelettrico dell'enzima si colloca intorno a pH 3,5 (Turina 1977).
Da quanto sopra scaturisce, dal punto di vista tecnologico, un particolare interesse per questi fenomeni, quando fosse possibile ostacolare o impedire nei mosti l'attività della sola PE, al fine di scongiurare formazioni anomale di alcol metilico.
È un enzima che, come gli altri, compare nell'uva in tenori molto variabili.
Colpisce in questi processi di degradazione enzimatica, similmente a quanto abbiamo visto per le proteine, la perfetta e complessa concatenazione dei fenomeni. La natura non è acrobata, ma rigorosamente sistematica. *Natura saltum non facit!*

Nella vinificazione in bianco le pectine, a cominciare dalla pigiatura, subiscono una progressiva diminuzione, ad opera degli enzimi, cui abbiamo appena fatto menzione. Assistiamo, insomma, ad un processo di demetilazione, e pertanto ad una più elevata mobilità elettroforetica delle pectine residue, per il maggior numero di carbossili che si rendono liberi. Fatto questo che le rendono ancora più instabili.
Alla svinatura resta ben poco del patrimonio pectico iniziale; tanto è vero che dopo qualche mese i vini bianchi ne sono praticamente privi.



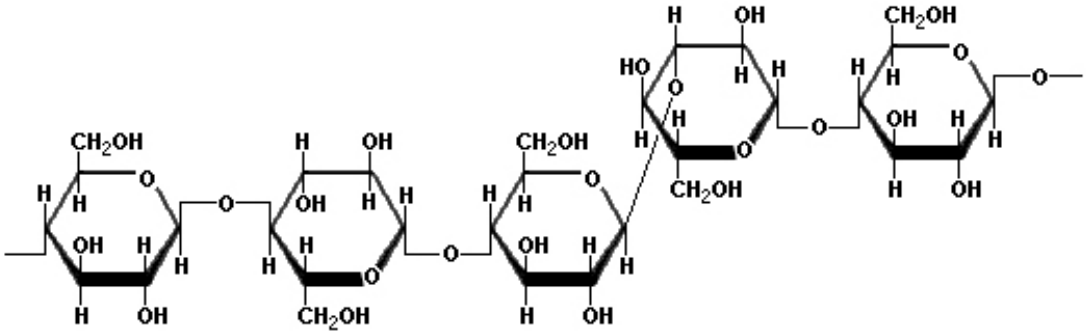

Nelle vinificazioni in rosso le cose procedono diversamente, dato che con l'avvio della fermentazione tumultuosa, per la presenza della vinaccia, gran parte degli enzimi pectolitici naturali vengono inattivati. Forse per la carica polifenolossidasica che s'accompagna alla vinaccia.
Sta di fatto che le frazioni pectiche demolite prima della fermentazione tumultuosa vengono solitamente rimpiazzate durante il processo

fermentativo, per il continuo passaggio di nuove sostanze pectiche nella massa liquida dalla vinaccia, favorito dalla temperatura e dalla azione indiretta dell'alcol in via di formazione.
Sicché al termine della fermentazione i tassi di sostanze pectiche non appaiono normalmente molto diversi da quelli riscontrati nel pigiato.
Soltanto nel vino, dopo separazione delle parti solide ed il primo travaso, si ha una progressiva caduta delle pectine, nonchè degli altri colloidi, anche se, per questi ultimi, in misura più limitata.
Dopo un anno di conservazione restano ancora apprezzabili tracce di pectine nel vino rosso (UsseglioTomasset).
L'attività dei lieviti, in questo caso, come del resto l'autolisi degli stessi, non sembra avere alcuna influenza nei fenomeni di degradazione delle pectine.
I vini parzialmente fermentati (ad es: moscati) sono, di norma, più ricchi in pectine. Di qui la maggior difficoltà a chiarificare e filtrare.

b) *Gruppo dei colloidi glucidici a bassa mobilità o polisaccaridi neutri.*
Se dopo precipitazione dei colloidi (non azotati) dal mosto, per alcolizzazione e dopo allontanamento delle pectine vogliamo, sul residuo colloidale di natura glucidica caratterizzato da bassa mobilità elettroforetica (polisaccaridi "neutri"), determinare i carboidrati o zuccheri semplici, i cui polimeri (osani) entrano nella composizione, vi troviamo: galattosio, arabinosio, mannosio, xilosio, ramnosio, glucosio, acido galatturonico ed acido glucuronico (Usseglio-Tomasset e Castino). Osserviamo subito che colpisce la presenza minima o in tracce, fra i componenti glucidici, del glucosio, che la vite pur sintetizza in enormi quantità.

Ora ci si domanda: il gruppo colloidale, di cui parliamo, costituisce un unico colloide dalla struttura complessa, oppure trattasi di un insieme, di un'aggregazione, seppur molto intima, di specie colloidali diverse o più semplici?
Usseglio-Tomasset e Castino, volendo dare una risposta al quesito, hanno sottoposto il prodotto colloidale ad un frazionamento spinto con l'aiuto dell'elettroforesi su fibra di vetro; la constatazione è stata che detti colloidi tendono a dividersi, seppur imperfettamente, in due frazioni principali. Una, in particolare, si è dimostrata relativamente più mobile all'influenza del campo elettrico, una seconda più pigra. La prima frazione risulta costituita, in prevalenza, da monomeri riferibili all'acido galatturonico e uronici in genere, nonchè al ramnosio, oltre a piccole quantità di galattosio e arabinosio; la seconda, invece, più ricca in galattosio e arabinosio, più tracce di acido galatturonico.
Anche il peso molecolare varia notevolmente, a seconda del contenuto dei diversi glucidi.
Se infine esaminiamo lo stesso residuo colloidale estratto dal vino, anzichè dal mosto, troviamo che presenta delle modificazioni importanti non soltanto

quantitative, ma qualitative; i tenori di esso risultano, in generale, più ridotti, mentre aumenta in maniera rilevante il mannosio ed è presente, in modesta misura, anche il glucosio, precursore dei glucani, apporto questo ceduto evidentemente dai lieviti al substrato fermentescibile.



**Struttura chimica del beta-(1-3)-glucano**

Da quanto sopra dovremmo escludere l'esistenza di una sostanziale omogeneità, a struttura complessa, dei colloidi glucidici a bassa mobilità, come invece pensavano gli svizzeri Búchi e Denel (1954). Secondo gli AA. astigiani trattasi piuttosto di miscuglio o aggregati di più specie colloidali, contraddistinti da bassa mobilità e non sempre facili da idrolizzare. La stessa rilevazione dei pesi molecolari, cui abbiamo appena accennato, confermerebbe tale ipotesi.
Quali siano, poi, i legami ed i caratteri strutturali di questi aggregati, nei quali vi si inseriscono, in forme più o meno intime, anche altri composti colloidali come pectine, proteine, sostanze fenoliche condensate, non lo sappiamo con certezza ancora. Proteine ricche di idrossiprolina, alanina, serina, glicina, possono associarsi con legami covalenti a queste macromolecole glucidiche.
E questa, del resto, una matassa (l'immagine è pertinente!) ancora lungi dall'essere compiutamente sbrogliata, il che lascia a mezz'aria non pochi interrogativi....

Vien fatto rilevare che in questo gruppo colloidale il componente che più condiziona la relativa mobilità elettroforetica delle diverse frazioni è l'acido galatturonico, sempre presente in tenori variabili, anche se talvolta appena percettibili.
Se così stanno le cose deve sembrare quanto meno approssimativa o semplicistica la vecchia nomenclatura che classificava, sic et simpliciter, questi colloidi o polisaccaridi "neutri" dei mosti e dei vini come *gomme, destrani e mucillagini*.
Volendo tuttavia dare un contorno a quest'ultime sostanze potremmo dire, in base alla composizione predominante, che le gomme vanno riferite agli arabani o pentosani, accompagnati da acidi uronici, e i destrani (e mucillagini) a galattani, mannani, glucani, ossia polimeri di esosi.
In realtà sono dei polisaccaridi complessi, vale a dire miscugli di polimeri

glucidici, non ben definibili e soggetti a modificazioni, come vedremo tra poco parlando di alcune specie di tali colloidi con forti caratteristiche intasanti.

I colloidi glucidici a bassa mobilità si trovano nell'uva, assieme alle pectine e proteine; la loro concentrazione tende ad aumentare con la maturazione. Essi si formano a seguito di intensi processi biochimici.
Gli arabani e i pentosani sono normalmente più abbondanti nella polpa dell'acino (Datounachvjli); i galattani, mannani e glucani predominano nelle uve "botritizzate".
La quantità di questi colloidi, presenti nei mosti freschi, varia enormemente, da 0,1-0,2 a qualche grammo per litro. Ciò dipende molto dal vitigno e dal decorso meteorico: il caldo ed il secco favoriscono la formazione dei colloidi da parte della vite, per cui si ottengono vini difficoltosi da decantare e filtrare.
I polisaccaridi neutri sono molto più stabili che non le pectine e proteine.

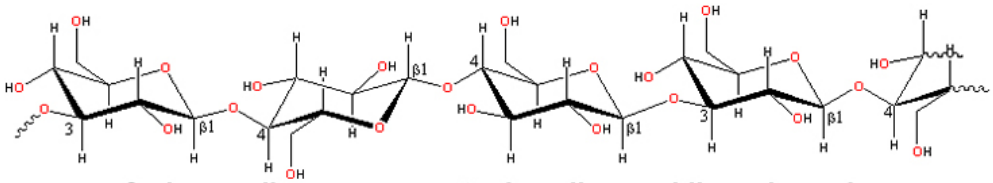
A fine fermentazione, infatti, la degradazione enzimatica e non enzimatica di essi risulta piuttosto modesta; nella vinificazione in rosso si hanno spesso degli incrementi, per fenomeni di cessione da parte della vinaccia, mentre nei vini bianchi, pur provenienti da uve sane, si possono trovare, a seguito del metabolismo dei lieviti nel corso della fermentazione, piccole frazioni di colloidi (β-glucano) ad elevato peso molecolare ed in prevalenza α-mannano.
Occorre per contro rammentare che un forte accumulo di alcol in fermentazione ne favorisce la precipitazione, in particolare di alcune frazioni mucillaginose e più sensibili all'azione coagulante dell'etanolo.
Nei vini di annata i processi di idrolisi verso questi colloidi "protettori", elettroforeticamente pigri, si verificano con estrema lentezza, durante la conservazione invernale, per la bassa temperatura, mentre detti processi, per effetto di enzimi naturali o degli acidi, si svolgono solitamente con più rapidità a partire dalla primavera.

Quest'ultimo scorcio della nostra trattazione può anche (e a ragione) sollevare qualche dubbio circa la vecchia terminologia "polisaccaridi" o "colloidi glucidici" o idrati di carbonio polimerizzati che dir si voglia, che si rivela quanto meno generica ed approssimativa, tenuto conto che raggruppa specie colloidali aventi una notevole eterogeneità strutturale, origini diverse, comportamenti del tutto differenti, non sufficientemente definiti.
Potremmo allo stesso modo concludere che le nostre conoscenze in materia sono a tutt'oggi, nonostante i notevoli progressi, non soltanto carenti, ma spesso accompagnate da elementi di confusione. Eppure bisogna riconoscere che i polisaccaridi rivestono notevole importanza in enologia, per le loro particolari caratteristiche chimico-fisiche, come vedremo più avanti.

Tra i polisaccaridi le frazioni attualmente meglio note e definite sono senza dubbio le sostanze pectiche o pectine, classificate, come visto in precedenza nel gruppo dei polisaccaridi acidi, comprendenti, secondo alcune

recenti indagini, un ristretto sottogruppo di pectine cosiddette neutre in quanto sprovviste di molecole di acido galatturonico (Saubnier e coll., 1988). Sappiamo che le pectine sono sostanze di precaria stabilità, che vengono degradate per processi naturali di idrolisi enzimatica o acida durante la fermentazione del mosto o nel caso di vini rossi almeno in larga misura nei primi tempi di conservazione post-fermentativa.
Le pectine infatti non sollevano in generale grossi problemi di natura tecnologica, per quanto riguarda la chiarificazione o la filtrazione delle masse, in particolare dei vini, come vedremo in seguito.

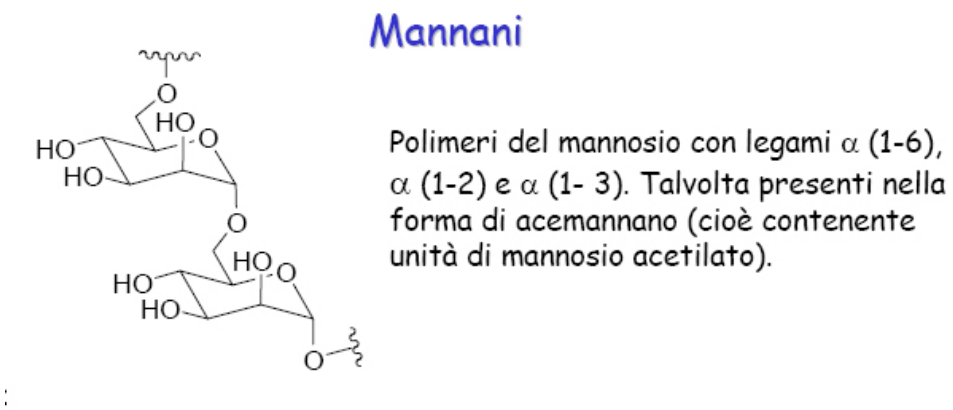
Non così invece alcuni polisaccaridi neutri costituiti da catene di molecole o polimeri formati in prevalenza da esosi (mannosio o, in misura assai più ridotta, glucosio) caratterizzati da pesi molecolari ragguardevoli o estremamente elevati (Doubardieu, 1978). Vogliamo riferirci ai mannani e soprattutto ai glucani, colloidi che possono trovarsi in tenori significativi sia nei mosti che nei vini e che provengono da una doppia fonte: dall'uva invasa dalla Botrytis cinerea (ma anche nobile), il cui fungo (ifomicete) li sintetizza in elevate concentrazioni, oppure dal metabolismo dei lieviti durante il processo fermentativo e che per conseguenza vanno ad arricchire il nuovo vino. Ora il mannano è un colloide in percentuale fortemente predominante, con legami (1-6) in posizione α ( α-mannano ); il suo peso molecolare solitamente non supera 50.000 e le sue micelle si presentano di norma in forma minuta, per cui la presenza, anche cospicua, di α-mannano raramente può procurare seri problemi nelle operazioni di filtrazione o di chiarificazione del mezzo (Villetaz e Amado, 1980). Il glucano per contro è il polimero glucidico di gran lunga più temuto dai vinicoli; formato da catene di molecole di glucosio, caratterizzate da legami in β (1-3), fornito spesso di ramificazioni laterali in (1-6) con legami di idrogeno.



**β-glucano lineare composto da polisaccaridi con legami β-(1 - 3) e β-(1 - 4)-D-glucopyranose unità**

Il glucano pertanto è costituito da macromolecole di notevole sviluppo, aventi pesi molecolari estremamente elevati, che possono raggiungere e superare il milione.
Quest'ultima specie di colloide che si identifica nel β-glucano crea gravissimi ostacoli alla decantazione e chiarificazione, sia spontanea che provocata, nonchè a livello della filtrazione, in particolare stretta o amicrobica sia dei mosti che dei vini.

Ma non basta, pare che le micelle a struttura ramificata di questo colloide esoso tendano ad agglomerarsi tra loro o per associazione con altre forme colloidali (proteine, sostanze fenoliche, ecc.) aggravando ulteriormente e pesantemente l'effetto intasante e "protettore". Questi agglomerati colloidali avrebbero poi tendenza a flocculare nel tempo. Se ne deduce che tanto più le micelle colloidali direttamente o per forme associative assumono maggiori dimensioni tanto più ridotta ne risulta la loro stabilità.
Diciamo subito che il β-glucano messo in evidenza nelle ricerche degli ultimi anni, rappresenta per il produttore vinicolo un serio ostacolo, un grosso spauracchio, sia dal punto di vista tecnico che economico. Anche se il ricorso ad uno specifico enzima (β-glucanasi) può consentire, come vedremo più avanti, soddisfacenti od ottime soluzioni.
Occorre ricordare ancora che mentre l'α-mannano risulta facilmente solubile nel mosto o vino, non altrettanto è il β-glucano, che possiede una limitata solubilità.
Anche questo particolare ha i suoi risvolti da un punto di vista tecnologico.




Nell'acino d'uva colpita (in modo non troppo grave) dalla Botrytis cinerea, il colloide glucanico secreto in abbondanza dal fungo si trova localizzato in profondità tra la buccia e la polpa. Tale localizzazione e la non facile solubilizzazione dello stesso suggeriscono di operare una spremitura meccanica dell'uva "botritizzata" nella forma più soffice possibile, onde limitare al massimo il passaggio del polisaccaride nel mosto. Quando invece la vendemmia si presentasse irrimediabilmente invasa dalla muffa grigia ogni accorgimento del genere non servirebbe a nulla. (Doubardieu, Ribéreau-Gayon, Serrano, Castino).

La seconda fonte, come accennato poc'anzi, della formazione del β-glucano (e dell'α-mannano) è costituita dal lievito (S. cerevisiae) in fase fermentativa, pur con mosti perfettamente sani o quasi.
L'attivo metabolismo può indurre la cellula blastomicetica a secernere sia 1'α-mannano che, in tenori assai più modesti, il β-glucano.
Trattasi di fenomeni biochimici estremamente complessi ed ancora poco conosciuti, talora controversi, dove sembrano determinanti il ceppo di

lievito impiegato, la composizione del mezzo e le condizioni che accompagnano il processo della fermentazione. Tanto più detto processo è attivo e per conseguenza più abbondante la massa cellulare, tanto maggiore sarà la formazione dei citati colloidi glucidici. Motivo anche questo molto importante per una scelta oculata del tipo di lievito, per condizionare la temperatura di fermentazione, per evitare eccessi di sostanze nutritive, in particolare azoto, per un pH il più basso possibile e via dicendo.

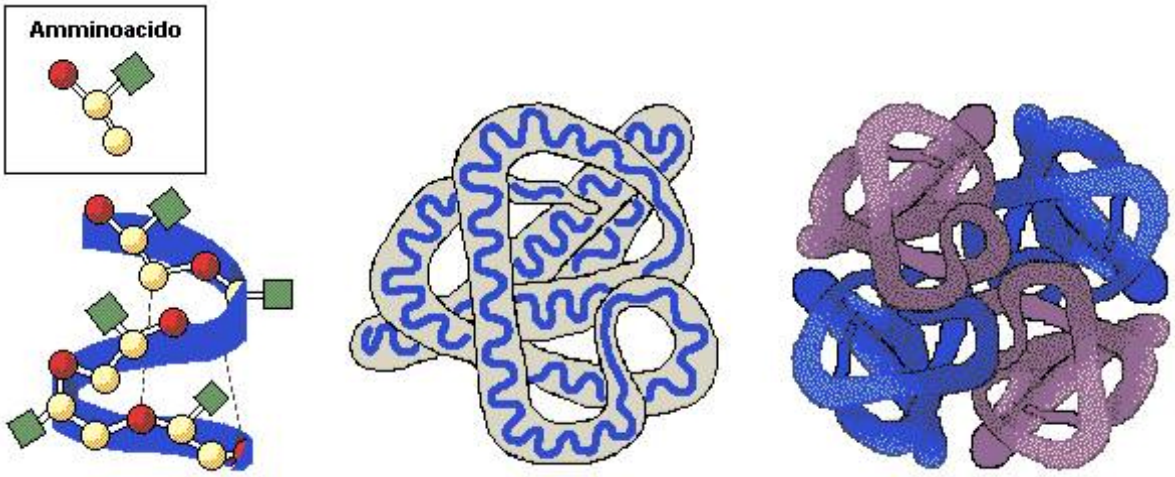
Si fa l'ipotesi che questi colloidi sintetizzati dal lievito, formati prevalentemente dai precursori mannosio e glucosio (accompagnati da piccole quantità di proteine) contribuiscano alla costruzione della parete cellulare, composta in buona parte dai due polisaccaridi. Il β-glucano meno solubile e fornito meno di appendici, avrebbe prevalentemente la funzione di rafforzarne la struttura.
Tutto questo può spiegare la circostanza abbastanza frequente secondo la quale i vini arricchitisi di β-glucano e α-mannano risultano, in modo talvolta rilevante, più difficili da filtrare che non i mosti dai quali derivano.
Va rammentato, a questo riguardo, che nell'ambito dei polisaccaridi l'effetto intasante (o con termine francese: colmatante) non conta tanto la quantità o la concentrazione degli stessi nel mezzo liquido, quanto la loro struttura, o se vogliamo il corrispettivo valore dei pesi molecolari.
Così, per fare un esempio, colloidi glucidici quali il destrano (o β-glucano), gli arabani, gli arabinogalattani, ecc., anche a concentrazione di 200 mg/1 hanno scarsissima influenza nella filtrazione, mentre nelle medesime condizioni operative i mannani (α-mannano) e le pectine mostrano un discreto effetto intasante; diversamente il β-glucano, in particolare di origine botritica, anche a bassissimi tenori (10-20 mg/l) rende, come noto, la filtrazione difficoltosa se non irrisolvibile e comunque antieconomica (Wucherpfennig e coll., 1985).

Pertanto non esiste correlazione alcuna tra concentrazione di colloidi totali e filtrabilità dei vini; mentre tale correlazione diventa altamente significativa nei confronti del β-glucano tal quale o assieme all'α-mannano.
Concludiamo questa panoramica ricordando che il vino lasciato sulla feccia, al termine del processo fermentativo, tende progressivamente ad arricchirsi di colloidi intasanti per processi di distruzione cellulare o autolisi.

**Stabilizzazione dei vini e sostanze colloidali**

Ora, dovendo scendere sul terreno concreto della elaborazione e stabilizzazione dei vini, in relazione ai diversi gruppi di sostanze colloidali dianzi trattate (proteine, pectine, polisaccaridi neutri), vedremo di esaminare i possibili interventi sia di natura chimica che chimico-fisica ed enzimatica, alla luce soprattutto delle attuali conoscenze ed orientamenti.

Per il carattere di queste note e per ragioni di spazio, ci limiteremo a pochi accenni per quanto riguarda quelle pratiche enologiche che possiamo definire collaterali, non propriamente specifiche, di tipo tradizionale (addizioni di gomma arabica, carbone vegetale attivo, tannino, chiarificazione, refrigerazione, filtrazioni strette, ecc. ) che possono avere effetti soltanto parziali, quasi sempre modesti o comunque insufficienti nella riduzione dei colloidi totali presenti nel vino. Iniziamo dalle sostanze proteiche.
Occorre subito precisare che intendiamo riferirci a quelle frazioni proteiche che possono dare origine a fenomeni di opalescenza o di velatura o avere proprie flocculazioni nel tempo (rottura o casse proteica). Ne abbiamo, per la verità, già parlato nelle pagine antecedenti alquanto in dettaglio.
Trattasi, insomma, di quella frazione del patrimonio proteico dei vini, specialmente bianchi e rosati, definita, in modo assai convenzionale ed approssimativo, come "*proteine termolabili*" o "*termosensibili*" oppure con dizione in senso più lato "*proteine instabili*". Questo tipo di proteine instabili deve essere neutralizzato entro i limiti di sicurezza, onde mettere il vino al riparo da spiacevoli sorprese.




La **struttura secondaria** di una proteina si forma quando tra gli amminoacidi della struttura primaria si instaurano legami idrogeno che ne provocano la torsione.

La **struttura terziaria** di una proteina è prodotta dall'interazione tra amminoacidi posti in punti diversi della struttura secondaria.

Quando due o più catene polipeptidiche a struttura terziaria si intrecciano, si forma una proteina a **struttura quaternaria**.

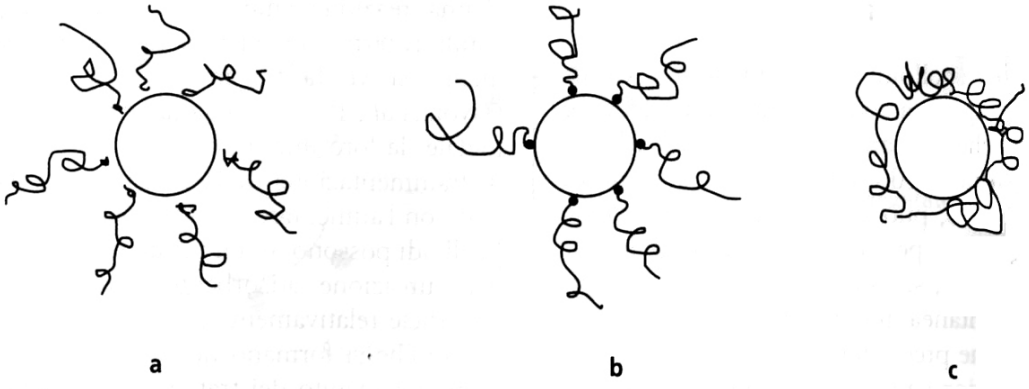
Il problema relativo alla stabilità proteica può essere affrontato in modi diversi:
1) Impedire alle proteine in soluzione nel vino di precipitare.
2) Eliminarne la presenza mediante opportune operazioni.
Premettiamo subito che quest'ultima soluzione è di gran lunga la più razionale, da un punto di vista tecnologico, e quindi coglieremo lo spunto per allargare, come merita, il discorso.
Anzitutto (1° quesito) quale possibilità abbiamo per impedire la precipitazione dei colloidi proteici, specialmente nei vini bianchi e rosati, ancora abbastanza ricchi in tali sostanze?

Ne abbiamo fatto cenno in precedenza.
Si tratta di rinforzare le difese naturali antiproteiche (e non soltanto antiproteiche), mediante i cosiddetti colloidi "protettori", con adeguate addizioni di gomma arabica.
La gomma arabica è ottenuta per essudazione naturale o da taglio, da determinate qualità d'acacia; in commercio si trova in frammenti, in lamine, in soluzione concentrata o in polvere fine di color bianco, tecnicamente pura (tipo Kordofan).




Questo prodotto è grosso modo analogo ad alcuni polimeri glucidici neutri, in particolare al destrano (o β-glucano).
L'aggiunta ai vini di gomma arabica è una pratica preconizzata molti anni fa (1933) da Ribéreau-Gayon; viene utilizzata come antidoto nei confronti della "casse" bianca o fosfato ferrica, in quella rameosa ma anche nell'ostacolare l'insolubilizzazione proteica. Dosi 10-30 g/hl. E' stata a suo tempo inclusa tra le pratiche consentite in enologia dalla CEE (R. 1678/77 e R. 337/79).
Diciamo subito che noi, in linea di massima, non siamo favorevoli ad una tale addizione.
Perché? L'aggiunta di gomma arabica non facilmente solubile andrebbe fatta nei vini prima dell'ultima filtrazione: questo trattamento renderebbe però difficoltosa la filtrazione, mentre una parte non trascurabile del colloide addizionato verrebbe trattenuta dagli strati filtranti, in particolare a base di farine fossili, riducendone, in tal modo, l'effetto protettivo.
Sarebbe perciò consigliabile l'introduzione diretta del colloide nel vino già pronto per l'imbottigliamento, come del resto sosteneva anche Ribéreau-Gayon, ma una siffatta soluzione comporterebbe a sua volta altri inconvenienti. Anzitutto il rischio di lasciare nel vino delle impurità che accompagnano sovente il prodotto commerciale, oppure di dover sottoporre preventivamente la soluzione gommosa ad una non facile filtrazione la più

stretta possibile, operando a temperatura piuttosto elevata.
Superate comunque anche queste difficoltà resterebbe il fatto, tecnicamente inevitabile, di uno scadimento, sia pure appena percettibile, del grado di brillantezza, di viva naturale luminosità del vino trattato, specialmente se bianco.
Conseguenza questa d'un pur remoto fenomeno di Tyndall, che si instaura a seguito di tale intervento.




**a**: polimeri in sequenza, **b**: polimeri inseriti (legami covalenti); **c**; polimeri lineari.

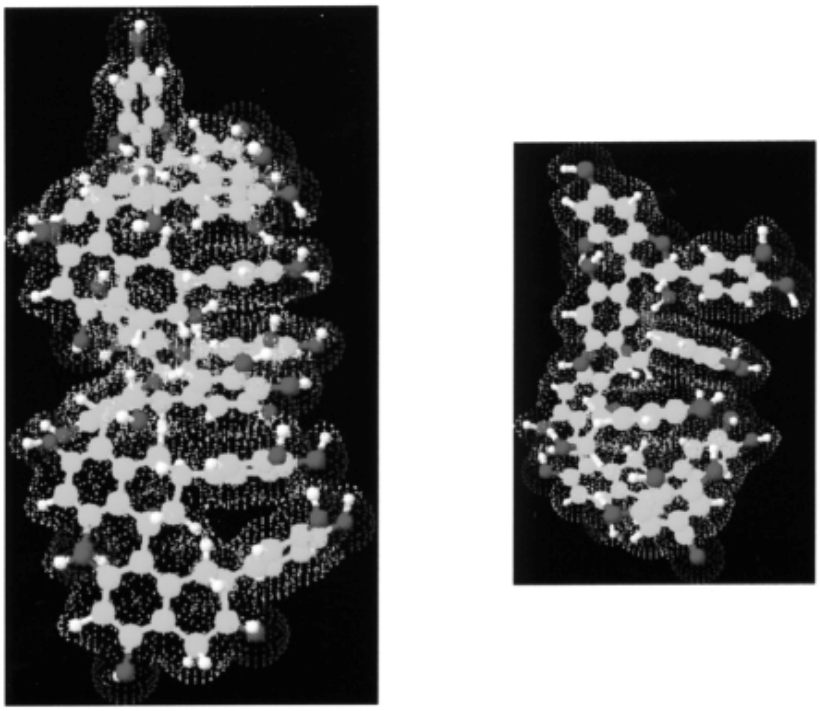
Diversi meccanismi di azione dei polisaccaridi proposti per spiegare la loro azione di protezione delle particelle colloidali dalla flocculazione.

La gomma arabica può essere addizionata anche ai vini rossi (20-30 g/hl). Giacomini (1979) ne propone il ricorso altresì per la stabilizzazione della sostanza colorante e per un certo effetto anticremore, in abbinamento all'acido metatartarico.
L'effetto "protettore", anticoagulante delle gomme aggiunte può, a parere nostro, trovare una certa giustificazione limitatamente ai vini di massa, di tipo corrente e di sollecito consumo.
In commercio la gomma arabica si trova solitamente in soluzione intorno a1 25%, prefiltrata e pronta per l'impiego addizionata di $SO_2$ quale stabilizzante, e di acido citrico. Ci fermiamo qui.

La .... chirurgia vale infatti anche e sommamente nella moderna tecnica enologica, più che soluzioni di puntellamento, spesso precarie.
L'eliminazione, entro limiti di sicurezza, di ogni agente direttamente responsabile della perturbazione della limpidezza dovrebbe, quasi sempre, rappresentare la soluzione tecnicamente da preferire.
Così la eliminazione delle frazioni proteiche instabili presenti nel vino.
Ma come raggiungere tale risultato?
Ricordiamoci, anzitutto, che il vino è un prodotto naturale, apprezzato per le sue inimitabili caratteristiche di profumo e di gusto, quindi tutte le operazioni che noi compiamo su di esso, a qualsiasi fine, devono rispettarne al massimo l'integrità. Di qui l'importanza di ricorrere, di volta in volta, ai trattamenti non solo tecnicamente, ma enologicamente più consoni.

Ora le sostanze proteiche presenti in un vino possono, di massima, essere eliminate mediante: tannino, riscaldamento, alcolizzazione, enzimi proteolitici, bentonite. Ci soffermeremo soprattutto in dettaglio sulla bentonite per la complessa funzione che riveste in questo caso particolare.

Il tannino è pur esso un fattore naturale della massima importanza, tale da influenzare in maniera determinante il contenuto proteico nei vini.
I tannini derivano dalla polimerizzazione per condensazione di molecole fenoliche elementari, cioè da flavani, come i leucoantociani e le catechine.
I loro pesi molecolari variano, a seconda del numero di questi monomeri, da 500 a 3000 circa, mentre il punto isoelettrico di essi è intorno a pH 2,11 tannini, perciò, posseggono carica elettronegativa vale a dire opposta a quella delle proteine.

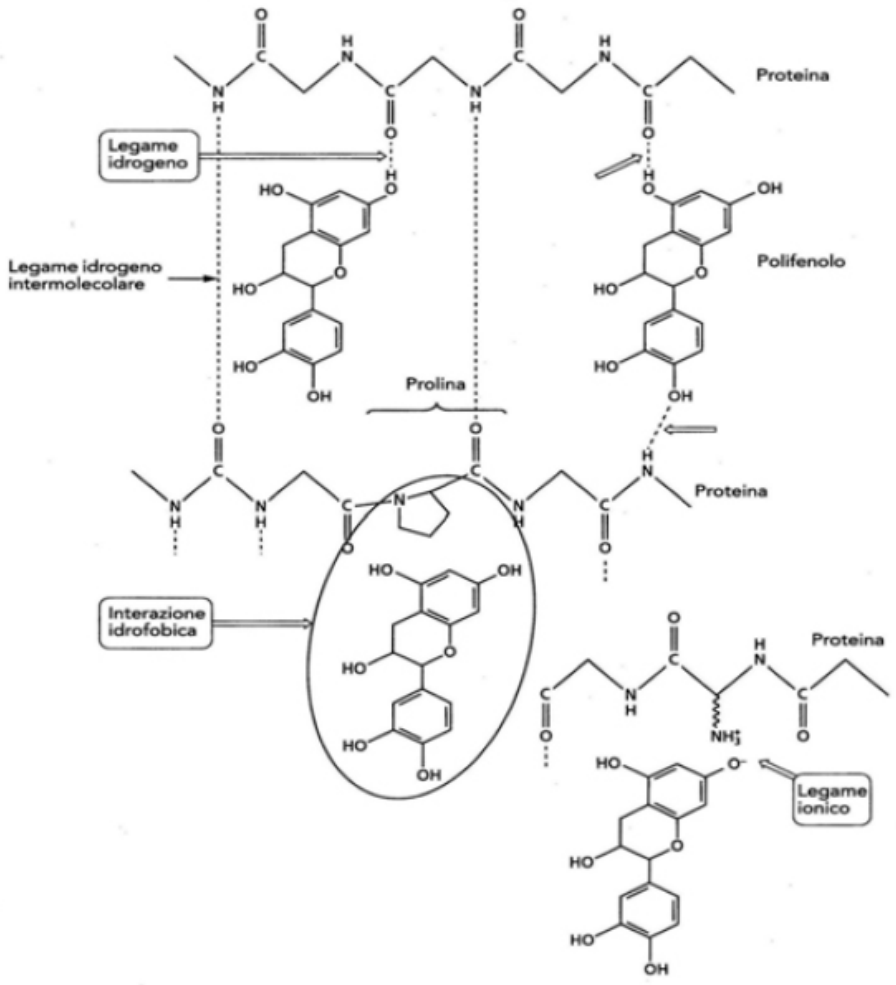


– Esempi di possibile conformazione tridimensionale di un tannino eptamero della buccia e di un tannino tetramero galloilato.

Le proprietà dei tannini dipendono dalla natura delle molecole semplici che li compongono, dai loro reciproci legami e dal loro peso molecolare, cioè dal grado di polimerizzazione.
Rammentiamo ancora che i tannini d'uva presenti nei mosti e nei vini, detti anche enotannini, sono tannini condensati o pirocatechici, non idrolizzabili, diversi dai tannini di galla o gallo-tannini o pirogallici (i tannini in commercio), soggetti a scomposizione idrolitica per azione enzimatica ("tannasi") o di acidi forti. A tutti è notorio il fatto della combinazione tanninoproteine, che viene da tempo immemorabile sfruttato nella pratica di

chiarificazione dei vini (e mosti), con prodotti come gelatina, ittiocolla, albumina di sangue e d'uovo, caseina lattica. Chiarificazioni provocate che, in ogni caso, inducono modestissime riduzioni di proteine naturali del vino, tendenzialmente instabili.

Va detto subito che non si tratta di una vera e propria reazione chimica secondo rapporti di combinazione definiti e costanti, ma piuttosto di processi di adsorbimento reciproco o di intima aggregazione, cui intervengono svariati fattori fisici e chimici, con formazione di un complesso tanno-proteico o meglio polifenolico-proteico, che assume carica elettronegativa, insolubilizza facilmente e precipita in fiocchi al fondo. Il meccanismo che ingenera la flocculazione reciproca fra tannini e proteine, aventi cariche opposte, siano esse proteine naturali che addizionate, è stato già schematizzato da noi quando ci siamo soffermati su alcuni tipici comportamenti dei colloidi proteici.




Interazione delle proteine con i polifenoli

Si è visto che l'idrogeno delle funzioni fenoliche dei tannini (ed altri polifenoli) si lega al gruppo peptidico delle proteine, disidratandole e quindi causandone la precipitazione.

Pertanto i tannini sono i principali regolatori della presenza, più o meno

importante, delle sostanze proteiche naturali nei mosti e nei vini. Ciò spiega perché i vini bianchi o i vini derivati da vinificazioni in bianco e quindi poverissimi in sostanze tanniche (50-200 mg/1), risultano al contrario nettamente più forniti di proteine; raramente i vini rossi, a contenuto rimarchevole di materie tanniche (2-5 g/1), vanno incontro a fenomeni di intorbidamento proteico. Ne deriva che l'aggiunta artificiale di tannino ai vini bianchi, in dosi compatibili con le caratteristiche di gusto, agevola l'eliminazione delle proteine naturali, ma occorrono per questo molto tempo e condizioni del mezzo sufficientemente favorevoli. Non pensiamo però che questa pratica sia, oggi, seguita da qualcuno; detta aggiunta, caso mai, ha altri intendimenti, come quello di conferire talvolta una maggiore robustezza organolettica al vino, ma soprattutto per consentire un più completo e rapido andamento delle chiarificazioni proteiche (gelatina, albumina, caseina), capaci di trascinare, come sappiamo, anche piccole frazioni di proteine naturali del vino. Anche la conservazione dei vini bianchi in fustame favorisce indubbiamente l'eliminazione dei colloidi azotati, grazie al lento passaggio nel vino di tannini dal legno delle doghe.

*Fattori che agiscono sulla combinazione tanno-proteica*

È importante chiarire, a questo punto, che la precipitazione delle proteine per interazione con i tannini non è mai completa, dato che si determina, anche in questo caso, un equilibrio tra i due, in stato di soluzione o dispersione limpida nel mezzo-vino; infatti nuove aggiunte dell'uno o dell'altro provocano facilmente ulteriori flocculazioni.

Si aggiunga ancora che il contenuto, l'entità della presenza nei vini dell'una come dell'altra sostanza, a parità di condizioni del mezzo (pH, temperatura, ecc. ) non è tutto; conta molto, in questo rapporto di combinazione, anche la natura dei tannini, cioè il loro grado di polimerizzazione e le molecole elementari che li compongono, come, d'altra parte, la natura delle proteine, formate da amminoacidi diversi e in numero variabile.

Detto questo dobbiamo esaminare, seppur brevemente, il ruolo importantissimo che alcuni fattori, come la temperatura, il pH, il ferro ed altri cationi o elettroliti, i colloidi "protettori", svolgono nell'ambito della formazione di tali complessi tanno-proteici, sia che il processo avvenga naturalmente, spontaneamente in seno alle masse (mosto, vino), sia per via artificiale, cioè con la pratica delle chiarificazioni a base di sostanze proteiche.

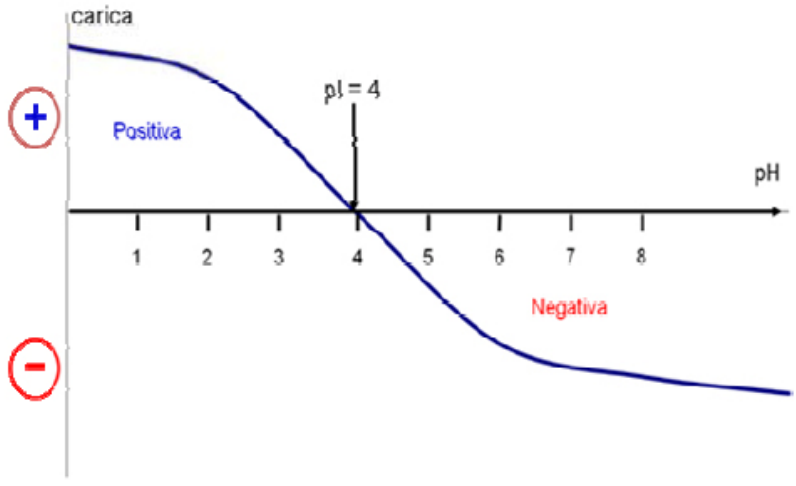
Aggiungiamo subito che le attività e le influenze di questi fattori, nelle condizioni reali in cui si svolgono i fenomeni, non si manifestano singolarmente, le une distinte dalle altre, ma si sovrappongono, si confondono, si esaltano o si contrastano reciprocamente ed in vario modo.

Così le basse temperature favoriscono, in misura notevole, la precipitazione proteica nei mosti e nei vini bianchi, in quanto basta la presenza di piccole quantità di tannini per precipitare molta proteina. E viceversa. Infatti quando

la temperatura delle masse risulta elevata (25-30°C), le proteine precipitano in modo stentato e parzialmente, anche a fronte di un forte contenuto tannico.
Questo diverso comportamento si spiega, almeno in parte, con il minimo effetto anti-coagulante esercitato dai colloidi "protettori" alle basse temperature, dato che in tali condizioni le materie mucillaginose e le gomme "impigriscono" notevolmente, limitando con ciò la loro capacità di avvolgere, come in una guaina protettiva, le macromolecole proteiche o tanno-pro teiche.
Al contrario, il ferro allo stato libero si ossida più facilmente alle basse o modeste temperature, passando dallo stato ferroso a quello ferrico, e pertanto è in grado di esercitare il suo ruolo di potente catalizzatore oltre che di catione positivo.
Sono sufficienti differenze in più o in meno di 1 mg/1 di $Fe^{3+}$ per avere effetti sensibilmente maggiori o minori nella precipitazione proteica o tanno-proteica o nella classica chiarificazione provocata.
Inversamente quando la temperatura superasse, grosso modo, i 25°C, il ferro viene rapidamente ridotto, perdendo gran parte della sua specifica attitudine catalizzante e neutralizzante; nelle stesse condizioni di temperatura invece gli eventi protettivi colloidali si accentuano in maniera sensibile.

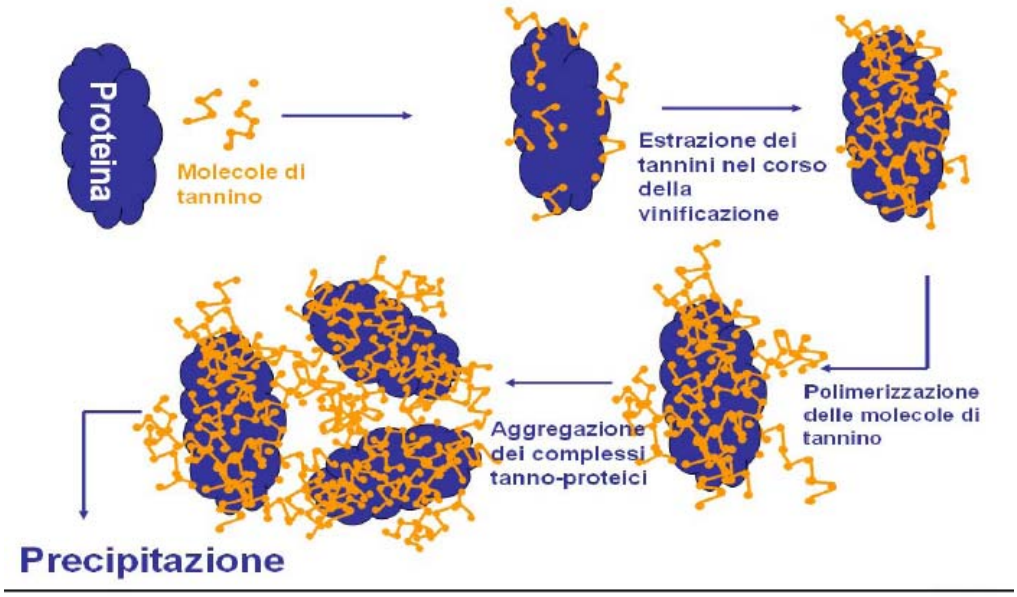
Altro fattore determinante è il pH.
A pH bassi o molto bassi, cioè con vini fortemente acidi, le proteine naturali risentono meno della presenza del tannino: la loro combinazione, in tali condizioni, diventa più difficile e lenta.

*Rapporto tra punto isoelettrico, pH del mezzo e carica elettrica delle proteine.*




La spiegazione di questo fenomeno risiede nel fatto che i tannini, il cui punto isoelettrico è intorno a pH 2,3-2,5, contengono dei gruppi fenolici debolmente acidi (pK dell'ordine di $10^{-10}$) e che a pH bassi (forte concentrazione di ioni $H^+$) sono pochissimo dissociati; ne deriva che, per la legge di azione di massa, è presente in quantità preponderante la forma

indissociata, per cui la reattività dei tannini risulta minima. Di qui la difficoltà per il tannino di "legare" con le proteine, e nel caso della chiarificazione provocata, con la gelatina addizionata.
Lo stesso fenomeno si ha, per converso, quando il pH del vino (o mosto) è eccessivamente alto (oltre 3,8-4), cioè quando si avvicina al punto isoelettrico delle proteine o meglio della frazione proteica più importante che è intorno a pH 4,6-4,7.
Pertanto la zona dei pH più propizia per la combinazione, sia naturale che provocata, delle proteine con i tannini sembra essere, grosso modo, quella compresa tra 3,4 e 3,8.
Per contro ai bassi pH il ferro trivalente, che come abbiamo ricordato esercita una forte influenza catalizzatrice, è in gran parte allo stato libero, dissociato, quindi attivo, mentre ai pH elevati è, in forte misura, complessato e pertanto incapace di agire.
Come si vede il gioco in questi rapporti tanno-proteici, è estremamente complesso e difficile da chiarire in ogni suo aspetto.
Abbiamo già visto come i tannini o più in generale i polifenoli agiscono sulle proteine denaturandole, cioè trasformandole da emulsoidi a sospensoidi. Questo fatto le rende sensibili agli elettroliti o più propriamente ai cationi come $K^{+}$, $Na^{+}$, $Ca^{++}$ $Al^{+++}$ $Fe^{+++}$, la cui maggiore o minore azione è legata alla valenza e al peso atomico.
Molto più efficaci a questo proposito, infatti, si dimostrano i cationi plurivalenti.
Pertanto una sufficiente carica salina (ceneri) presente nei mosti e nei vini può determinarne o facilitarne la flocculazione.




**Modello delle interazione tannini-proteine nelle prime fasi della macerazione dei vini rossi, nel caso di presenza esclusiva di tannini endogeni:**

*in giallo sono rappresentate le molecole di tannino provenienti essenzialmente dalla buccia degli acini.*

*Chiarificanti Proteici*

Detto questo vediamo di soffermarci un momento sul diverso comportamento dei chiarificanti proteici più impiegati, vale a dire gelatine, albumine, caseine, gelatina-sol di silice, quali importanti fattori tecnologici di stabilizzazione, come abbiamo avuto occasione di parlarne nel precedente capitolo, ma soprattutto nelle operazioni di chiarificazione provocata.

Sulle gelatine ci siamo qua e là intrattenuti assimilandone il comportamento a quello delle proteine naturali dei vini.

Pertanto non abbiamo granché altro da aggiungere. Riassumendo possiamo dire che le gelatine si mostrano soprattutto sensibili a due fattori: il pH e la temperatura.

Il ricorso, infatti, a questo chiarificante è sconsigliabile quando il pH risulti basso o molto basso (2,8-3,2); anche se in nostre esperienze le differenze di comportamento o di tempi nella chiarificazione con gelatina, a pH diversi, non sembrano così evidenti o estreme come viene fatto di pensare.

Per quanto riguarda la temperatura abbiamo già visto che soltanto a freddo o comunque a temperature non superiori a 18-20°C è possibile ottenere buoni o discreti risultati impiegando la gelatina. A 25-30°C o più la chiarificazione avviene spesso con difficoltà, in particolare quando il mezzo non sia ricco di tannino.

Questo vuol dire che nei flocculati la percentuale di tannini rispetto a quella del proteide sale progressivamente man mano che la temperatura aumenta e viceversa.

Pertanto, anche nel caso dei trattamenti con gelatina, vale la regola di combinazione:

- poco tannino e molta gelatina a bassa temperatura;
- molto tannino e poca gelatina ad alta temperatura.

Altra importante annotazione: i tannini o polifenoli dei mosti e dei vini reagiscono verso la gelatina addizionata in modo diverso anche in relazione al loro grado di polimerizzazione e natura dei monomeri che li compongono.

Così trattando vini rossi diversi, aventi lo stesso contenuto totale in polifenoli, stessi pH e temperatura, con la medesima dose di gelatina, la quantità di tannini o polifenoli asportati può risultare diversissima e lo stesso dicasi per quanto riguarda gli effetti chiarificanti. A cagione appunto del differente stato di polimerizzazione e composizione delle sostanze tanniche (Margheri).

Lo stesso discorso vale anche per la gelatina impiegata nel trattamento, il cui comportamento nei confronti dei tannini del vino (o mosti) può variare notevolmente a seconda della qualità della stessa, cioè della sua composizione in amminoacidi, del peso molecolare e dei metodi di preparazione industriale. Migliori risultati si possono, di norma, ottenere con il trattamento combinato sol di silice + gelatina nella chiarificazione dei mosti o vini. Viene nettamente accentuato, in questo modo, l'effetto deproteinizzante vero e proprio, nonché depauperante nei riguardi dei

polisaccaridi neutri (fino al 15-25%), oltre a realizzare un processo di chiarificazione più sollecito e marcato. Anche perché tale intervento combinato risente meno l'influenza, rispetto alla sola gelatina, delle condizioni operative (temperatura, pH, colloidi protettori, ecc.).

**ORIGINE E COMPOSIZIONE DELLA GELATINA**

La gelatina deriva da una proteina fibrosa - il collagene - contenuta nelle pelli, ossa e cartilagini degli animali. Questa proteina si caratterizza per la ricchezza in glicina (21%), prolina (13%) e idrossiprolina (11%) e per la struttura terziaria a triplice elica che le conferisce una notevole rigidità.
La gelatina si ricava principalmente dalla pelle e dalle ossa di bovini e suini.
Le pelli sono trattate direttamente dopo il loro lavaggio mentre le ossa vengono prima sgrassate e demineralizzate allo scopo di eliminare il fosfato di calcio contenuto. Sia nelle ossa che nelle pelli, il collagene si trova in forma insolubile. Il trattamento applicato alla materia prima deve servire perciò a demolire la struttura del collagene fino ad ottenere una gelatina solubile in acqua calda.

L'albumina di sangue o d'uovo e la caseina lattica o il caseinato potassico risentono molto meno le variazioni di temperatura; è quindi opportuno fare ricorso a questi due chiarificanti proteici in condizioni di temperatura piuttosto elevata delle masse da trattare. A pH molto bassi si preferisce la caseina o il caseinato, tenuto conto che tali sostanze flocculano per effetto dell'ambiente acido, anche se (e questo è un particolare assai importante da un punto di vista tecnologico) il mosto e il vino devono, in ogni caso, essere sufficientemente provvisti di tannini, onde conseguire anche un buon effetto chiarificante.
In altri termini nel caso della caseina possiamo dire che l'acidità provoca l'immediata coagulazione, ma soltanto il tannino, trascinato anch'esso nel meccanismo, consente una flocculazione tale da assicurare un regolare e soddisfacente processo chiarificante. Ai pH molto elevati sembra più idoneo, invece, il trattamento mediante albumina, essendo quest'ultima meno sensibile ai colloidi protettori e all'acidità.

*Surcollaggio*
È questo un fenomeno non infrequente che si appalesa in vini bianchi e talvolta anche rosati a seguito di chiarificazioni soprattutto eseguite con gelatina.
Quando, cioè, rimangono in stato di soluzione o sospensione colloidale frazioni più o meno importanti del proteide addizionato, sia per eccesso di dosi in rapporto alla presenza di tannini, sia per il concorso di altri fattori (cui abbiamo fatto cenno) come basso pH, eccessiva temperatura, forte contenuto in colloidi protettori, carenza di ceneri, oltre ad eventuali condizioni più o meno anomale del mezzo, quali stato di alterazione microbica, soverchie disacidificazioni, e via dicendo.
Le chiarificazioni con albumina, sia di sangue che d'uovo, in polvere, in dosi

di 10-25 g/hl, predispongono assai meno i mosti e i vini ai rischi di surcollaggio, rispetto a quelle eseguite con gelatina. Il ricorso alla caseina (5-20 g/hl, di norma), anche in dosi massicce (esempio 50-100 g) non dà luogo praticamente a inconvenienti di sorta, cosa del resto comprensibile quando si consideri che la coagulazione del proteide, in questo caso, è provocata dalla reazione acida del mezzo.
Ora, uno stato esistente di surcollaggio, anche molto lieve, se può rappresentare un ... incidente nella elaborazione o conservazione in cantina delle masse, diventa un incombente gravissimo pericolo di intorbidamenti o di opalescenze, più o meno accentuate (a seguito di tardive ed anche impercettibili modificazioni biochimico-fisiche del mezzo), nel caso di vini confezionati o pronti per il consumo.

Quali i possibili interventi contro i pericoli del surcollaggio?
Allo stato attuale della tecnica enologica c'è un rimedio, che vogliamo definire unico e sovrano: la bentonite.
Ma su questo importante prodotto ci intratterremo un po' più avanti.

**TEST DI COLLAGGIO**

La pratica del collaggio serve innanzitutto ad illimpidire il vino ma anche a stabilizzare il colore, il contenuto proteico e ad eliminare i colloidi di natura varia che possono eventualmente precipitare. Inoltre, serve a migliorare la filtrabilità e le caratteristiche organolettiche.
Una valutazione complessiva di tutti gli effetti descritti, fatta attraverso prove preliminari di laboratorio, consente di individuare per ciascun vino il collaggio che assicura il risultato migliore.
La degustazione iniziale è indispensabile per scegliere le dosi ed il tipo di gelatina da utilizzare
Le prove di collaggio si realizzano in cilindri graduati da 200 ml.
Dopo 48 ore si valutano:
- volume del deposito
- torbidità
- intensità colorante (D.O. 420 + D.O. 520 per i rossi - D.O. 420 per i bianchi)
- tonalità dei vini rossi (D.O. 420/D.O. 520: maggiore è il valore della tonalità più il colore rosso è tenue, minore è il valore della tonalità più il colore tende al rosso)
- filtrabilità (tempo necessario per filtrare un volume stabilito di vino attraverso una membrana filtrante)
- stabilità proteica
- analisi organolettica dei vini ottenuti dalle varie prove di collaggio a confronto tra loro e con il testimone.

L'importanza di ciascun parametro varia in funzione del tipo di vino e del risultato atteso.

*Coagulazione per riscaldamento*
Passando ora ad esaminare gli effetti del riscaldamento (pastorizzazione) sulla coagulazione delle proteine termolabili, naturalmente presenti nei mosti e nei vini bianchi e rosati, l'argomento tannino torna in primo piano, dato il ruolo che vi gioca anche in tale circostanza.
In altre parole il fenomeno, in questo caso, si complica non poco con l'intervento triangolare del calore, dei tannini o polifenoli in genere e delle

proteine del vino. A cui si aggiunge l'influenza, più o meno determinante, del pH, degli elettroliti, dei colloidi "protettori" o polisaccaridi del mezzo.
Così, ad esempio, anche con il riscaldamento la deproteinizzazione è meno efficace ai pH bassi.
Sappiamo che il riscaldamento di un vino (o mosto) a 75-80°C, per pochi minuti, provoca sicuramente la precipitazone dei colloidi proteici "termolabili" eventualmente presenti.
Questa caduta (flocculazione) per vini di normale composizione avviene solitamente in fase di raffreddamento se il riscaldamento è effettuato in modo rapido (in pochi minuti o con la "flash-pastorizzazione"); durante il raggiungimento delle massime temperature se al contrario il riscaldamento procede con molta lentezza.
Da queste osservazioni si deduce che la coagulazione delle proteine non è conseguenza diretta del riscaldamento, ma è un fenomeno successivo.
Il riscaldamento infatti solubilizza maggiormente il colloide proteico, presente in un vino (o mosto), ma nello stesso tempo provoca la progressiva disidratazione della macromolecola dello stesso; questo fatto determinante permette anzitutto al tannino di legarsi facilmente al proteide denaturato; in secondo luogo perde la caratteristica di emulsoide stabile per assumere, come abbiamo più volte ricordato, quella di sospensoide, eppertanto sensibile agli elettroliti. Nel tempo stesso le molecole polifenoliche (tannini), per effetto del calore e per la rapida riduzione dell'ossigeno, in stato di solubilità o già in forma attiva ($RO_2$) nel vino, polimerizzano ulteriormente favorendone di solito l'aggregazione con le proteine, più o meno denaturate, e di conseguenza la flocculazione reciproca.
Quando, invece, un vino bianco sia molto povero in tannino e venga anch'esso pastorizzato fino a 75-80°C, il fenomeno di coagulazione albuminoidea tende a verificarsi a prodotto sufficientemente raffreddato, dato che come sappiamo soltanto in queste condizioni minimi tenori di tannino possono combinarsi con la proteina. Sempre che naturalmente non intervenga in anticipo ed in maniera determinante l'azione dell'elettrolita o altre influenze concomitanti.

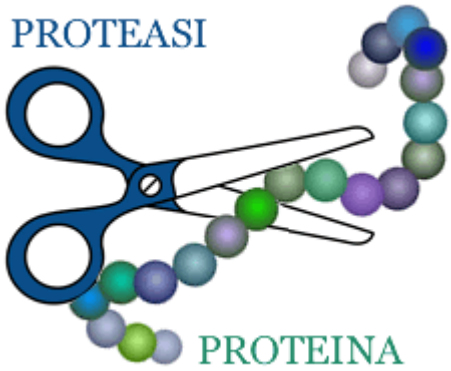

Impianto di pastorizzazione vino

Pertanto anche il raffreddamento di un vino, al limite del congelamento, può consentire forme d'addensamento e coagulazione proteica, sia per effetto fisico della bassa temperatura sulla macromolecola, sia per la minima influenza dei colloidi protettori e la più vivace azione catalizzante del ferro, in stato prevalentemente ossidato.
Una filtrazione stretta, in tali condizioni, permette vantaggiosamente di

allontanare buona parte delle sostanze proteiche, presenti nel vino bianco o rosato. Occorre precisare che temperature inferiori a 70-75°C, in tempi piuttosto brevi, non consentono normalmente una sufficiente garanzia di stabilità proteica quando vengano trattati a caldo vini bianchi, a povero contenuto tannico.
In questi casi può essere determinante o quanto meno opportuna una certa aggiunta di tannino alla massa, prima dell'intervento termico.
La pastorizzazione inoltre, com'è risaputo, accentua, in seno alla massa trattata, l'effetto protettivo, anticoagulante e anticristallizzante, come se venisse addizionata della gomma arabica o dell'acido metatartarico.
È questo un fenomeno colloidale di indubbio interesse pratico, quanto inesplicabile ancora; probabilmente, a causa del riscaldamento, si ha un processo indotto di ingrossamento, per associazione o condensazione, di alcune frazioni pectiche, mucillaginose, polifenoliche e fors'anche metatartariche.
Questo fatto rappresenta un altro importante motivo che consiglia il raffreddamento, portato al più basso livello possibile, delle masse dopo l'operazione a caldo, in considerazione, appunto, della ridotta azione protettiva esercitata a freddo da tali sostanze.

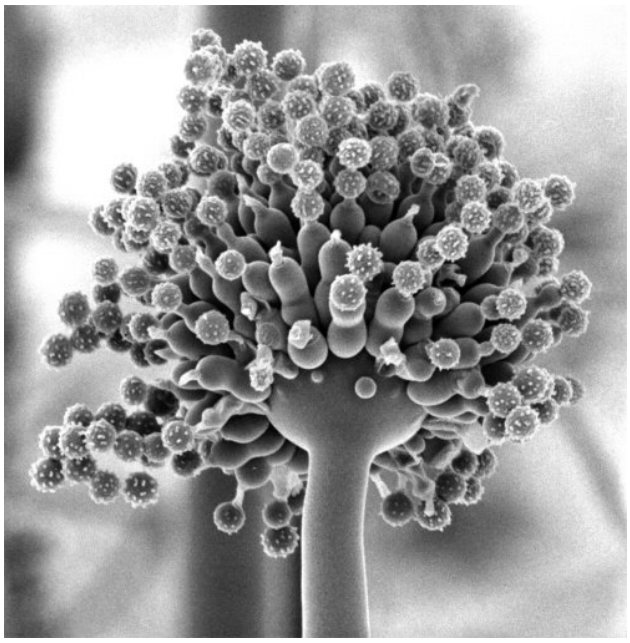
L'alcolizzazione dei vini, ossia una forte aggiunta di alcol etilico, è una pratica permessa soltanto nella preparazione di alcuni vini speciali come il Vermouth. L'alcol, avendo un energico potere disidratante, agevola oltre modo la flocculazione delle sostanze albuminoidee eventualmente presenti nel vino "base", sottoposto all'alcolizzazione.
Lo stesso fenomeno può verificarsi, anche se in maniera più lenta ed incompleta, nei vini bianchi e rosati di modesta gradazione, quando vengano "tagliati" con vino molto alcolico.

*Enzimi proteolitici o proteasi*




Nell'industria birraria si fa spesso ricorso ad enzimi proteolitici o proteasi, in grado di "digerire" le proteine idrolizzandole, allo scopo di evitare possibili intorbidamenti di natura proteica.
Nel settore enologico, detto enzima non è stato ancora ammesso dalla CEE.
Noi stessi, oltre una trentina di anni fa, conducemmo una serie di prove con enzimi, del tipo pepsina, sui moscati ed altri vini bianchi, freschi di fermentazione, nell'intento di soppiantare il trattamento bentonitico, ma il tentativo non fu incoraggiante.
Anche Tarantola, qualche anno dopo, sperimentò in vini bianchi l'impiego della pepsina, nelle dosi di 100 mg/1, sola ed associata ad enzimi pectolitici.
La constatazione fu che soltanto una frazione delle proteine presenti veniva

degradata, insufficiente comunque ad assicurare una perfetta stabilità del prodotto.
Più recentemente Cordonnier e Dugal misero assai bene in evidenza l'azione delle proteasi (o peptidasi), naturalmente presenti nell'uva.
Questi enzimi (proteolitici) esplicano la loro attività ottimale, nella idrolisi delle proteine, a pH molto bassi (intorno a 2) e a temperature di 50-55"C.
Al pH dei mosti (2,9-3,2) e alle normali temperature di fermentazione l'attività di tali enzimi può essere valutata intorno al 40-50 per cento o poco più. Le proteasi sono estremamente resistenti al calore: secondo gli autori francesi, a temperature di 80-90"C per una mezz'ora con mosto a pH 3,15, l'enzima non viene completamente distrutto.
La $SO_2$, in dosi modeste, ha effetto attivante sulle proteasi, in modo più accentuato nei mosti sani, meno in quelli botritizzati.
L'alcol invece sembra deprimerne fortemente l'attività. Nelle vinificazioni in rosso questi enzimi risentono non poco della presenza dei tannini e dei polifenoli in genere.
Molti altri autori s'interessarono, in particolare negli ultimi vent'anni, a questo problema non privo, tecnicamente parlando, di una certa suggestione.
L'enzima proteolitico addizionato ai mosti o ai vini bianchi determina, tutto sommato, una parziale ed insufficiente degradazione delle proteine (mediamente 30-40 per cento).
Ne deriva che il trattamento con la proteasi acida può solo favorire, non assicurare, la perfetta stabilizzazione proteica dei vini (Monca e coll., 1989), nonostante gli sforzi effettuati nel corso di molti anni per raggiungere lo scopo.
L'enzima viene estratto da alcuni funghi, come l'Aspergillus: esso scinde i legami peptidici (CO-NH) della macromolecola.



Un fatto importante, messo in evidenza abbastanza recentemente, riguarda l'attività proteasica dei lieviti, quali eso-produttori dell'enzima, specialmente nella fase finale della fermentazione alcolica, quando più forte si manifesta la carenza azotata, in special modo di amminoacidi.
Un processo legato soprattutto al tipo di lievito, più o meno dotato di caratteristiche proteolitiche (S. cerevisiae).
Tutto questo contribuisce, inoltre, allo sviluppo di batteri malolattici per la disponibilità di forme azotate semplici presenti nel nuovo vino (Feuillat, 1984).

## La bentonite nella tecnica enologica

Veniamo ora a parlare di quello che è considerato dalla moderna enotecnia, ai fini di una valida stabilizzazione proteica, il trattamento principe, ossia l'impiego nei mosti e nei vini della bentonite.
Tale impiego è ancora oggi argomento frequente sulla stampa enologica internazionale; non c'è infatti paese vitivinicolo che non abbia portato il suo contributo a questo riguardo.
Noi ci limiteremo ad esporre, in sintesi, gli aspetti più significativi, allo stato attuale delle nostre cognizioni, del trattamento bentonitico.
Diciamo subito che l'interesse per la bentonite, nell'ambito della tecnica enologica, non è legato soltanto, anche se lo è in modo prevalente, alle sue straordinarie capacità di fissare le proteine, ma si estende a molti altri suoi peculiari e complessi comportamenti.
Oggi il trattamento con la bentonite resta ancora la sola pratica, di largo uso, in grado di allontanare le proteine dai vini. Ciò non toglie che molti aspetti possono essere ulteriormente affinati e meglio compresi. Uno sforzo in questa direzione può essere fatto analizzando le differenze esistenti tra le diverse bentoniti utilizzabili in enologia e approfondendo le nostre conoscenze circa le caratteristiche delle proteine che vogliamo allontanare dai vini.

E opportuno anzitutto chiarire che il termine "bentonite", originato da Fort Benton, località del Wyoming (Nord America) dove venne scoperto nel 1888 il primo giacimento, è indicativo di un minerale che appartiene al gruppo della montmorillonite-beidellite (o anche taylorite), di composizione generale $(Na,Ca)_{0.33}(Al,Mg,Fe)_2[(Si,Al)_4O_{10}(OH)_2.nH_2O]$, che presenta caratteristiche di composizione chimica e di comportamento, quali il potere di rigonfiamento in acqua, la capacità adsorbente, di scambio ionico ed altro.

La natura e le origini vulcaniche dei giacimenti bentonitici danno luogo spesso a varietà fortemente eterogenee di minerale.
Ci sono così bentoniti che possiamo definire alcaline (come quelle americane, a base sodica), bentonite alcalino-terrose (abbondanti in generale nel bacino del Mediterraneo, a base prevalentemente calcica), bentoniti a carattere acido e bentonite cosiddette inferiori o sub-bentonite, le cui proprietà originali sono distrutte dall'acido solforico, a differenza delle vere bentonite. Soltanto queste ultime, naturalmente, interessano la tecnica enologica. Esse posseggono, in primo luogo, spiccate caratteristiche colloidali.

**ANALISI CHIMICHE DI VARIE BENTONITI**

| | Stati Uniti (Wyoming) | | | | Sud Europa | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| $SiO_2$ | 59,17 | 64,50 | 59,57 | 59,50 | 72,5 | 75,8 | 75,8 |
| $Al_2O_3$ | 19,08 | 20,80 | 16,50 | 16,50 | 15,3 | 13,5 | 13,1 |
| $Fe_2O_3$ | 2,79 | 3,05 | 3,00 | 3,00 | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| FeO | 0,42 | 0,46 | — | — | — | — | — |
| CaO | 0,48 | 0,53 | 1,00 | 1,00 | 1,2 | 1,0 | 1,0 |
| MgO | 2,12 | 2,30 | 2,50 | 2,50 | 3,3 | 2,7 | 2,7 |
| $Na_2O$ | 2,74 | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 0,3 | 0,5 | 0,5 |
| MnO | — | — | — | — | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| $K_2O$ | — | — | — | — | 0,7 | 0,5 | 0,5 |
| $TiO_2$ | 0,13 | 0,15 | — | — | 0,14 | 0,23 | 0,23 |
| Umidità | 8,00 | — | 14,50 | 14,50 | 5,0 | 4,2 | 5,2 |
| Perdita al fuoco | 4,74 | 4,74 | — | — | 4,6 | 4,9 | 3,2 |
| $P_2O_5$ | 0,01 | 0,2 | — | — | 0,01 | 0,05 | 0,05 |

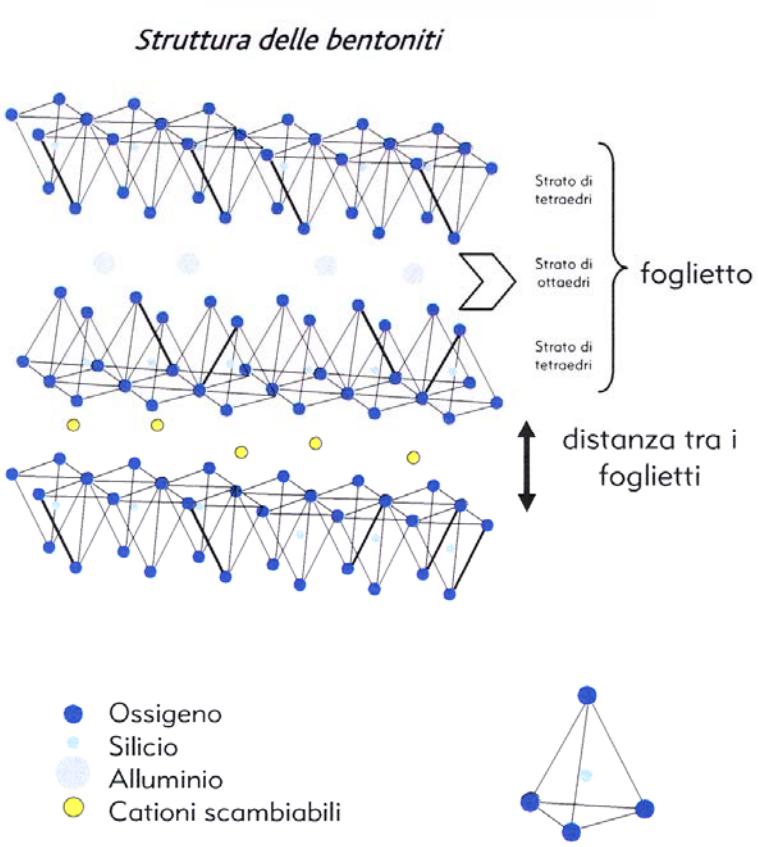
L'impiego in enologia della bentonite venne proposto, per la prima volta, dal californiano Saywell nel 1934, come prodotto chiarificante e genericamente stabilizzante dei vini, non essendone stata individuata ancora la particolare attitudine deproteinizzante.
Come tale, infatti, la bentonite fu successivamente sperimentata in Europa da J. Ribéreau-Gayon (1935-39), dal nostro Salvarezza (1939), da Piacentini (1941), dagli americani Joshlyn e Amerine (1941), da Garoglio (1942) e da altri ancora, spesso in comparazione con la terra di Lebrija (Spagna) o con il caolino.
Ma soltanto dopo la guerra l'interesse per la bentonite riprese con grande fervore ed in maniera più concreta; fu così che Ribéreau-Gayon (1947), Filipello (1947), Kielhoefer (1949) ecc., ne evidenziarono soprattutto quella che è la proprietà più tipica e provvidenziale del prodotto, enologicamente parlando, cioè l'effetto deproteinizzante.
Ci sia dato ricordare, per inciso, anche la nostra personale ed appassionata attività sperimentale con bentoniti di diversa origine, esplicata sia in laboratorio che nelle cantine di molte regioni d'Italia, a partire dalla primavera del 1948.

*Struttura cristallografica e comportamenti*

Prima di addentrarci nel vivo dell'argomento a noi sembra sommamente importante porsi la domanda: che cos'è la bentonite?
Dire che la bentonite è un'interessante argilla, appartenente al gruppo importante della montmorillonite (silicato idrato di alluminio), che rigonfia in acqua più o meno fortemente, gelificando (potere di solvatazione e tixotropico), la cui struttura è reticolare, eppertanto offre una enorme superficie di scambio ed adsorbente, è, a nostro parere, troppo poco e generico per chi voglia rendersi conto di certi caratteristici comportamenti.
Eppure la nutritissima letteratura enologica sulla bentonite ha quasi sempre trascurato, se non ignorato, di evidenziare, come meriterebbe, la struttura intima e complessa di questo minerale. Sì da rendere, in qualche modo, comprensibili o intuibili determinati, fondamentali meccanismi di scambio e

solvatazione. Meccanismi forse ancora largamente indefiniti, ma certamente suggestivi; proprio per questo offrono all'enotecnico, preparato e sensibile, un più acuto e segreto interesse nell'applicazione di questo prodotto.

Le argille del gruppo delle montmorilloniti sono costituite da foglietti sovrapposti. Ogni foglietto è a sua volta costituito da 3 strati: uno strato di ottaedri di alluminio intercalato tra due strati di tetraedri di silicio.
Nella bentonite questi foglietti sono impilati in modo disordinato. I foglietti sono separati tra loro da uno spazio che contiene ioni calcio, sodio e/o magnesio, oltre a molecole di acqua. La loro composizione chimica può essere schematizzata come in figura.




All'interno di questa struttura al posto di alcuni ioni di silicio tetravalente ($Si^{4+}$) si possono trovare ioni di alluminio trivalente ($A1^{3+}$), così come al posto di ioni di alluminio trivalente ($A1^{3+}$) si possono trovare ioni di ferro e magnesio bivalente ($Fe^{2+}$, $Mg^{2+}$). Questa sostituzione crea un deficit di cariche positive che rende il complesso della struttura caricato negativamente. Lo spazio tra un foglietto e l'altro può aumentare a causa dell'adsorbimento di molecole d'acqua, fenomeno all'origine del rigonfiamento in acqua della bentonite. I cationi presenti nello spazio tra i foglietti sono scambiabili con altri ioni e possono essere pertanto liberati nella soluzione.

La base cristallografica della montmorillonite (bentonite) è quella tipica dei fillosilicati; tale struttura ci suggerisce l'immagine di un sottile.... panino o sandwich imburrato ed imbottito di salame o, se preferiamo, di prosciutto,

dove la mollica dei due mezzi panini è rappresentata dai tetraedri di silice orientati con gli atomi di ossigeno verso l'esterno (crosta), il salame è l'alluminio ed il burro gli ossidrili. Possiamo schematizzare tale struttura, vista in sezione, nella figura 1.

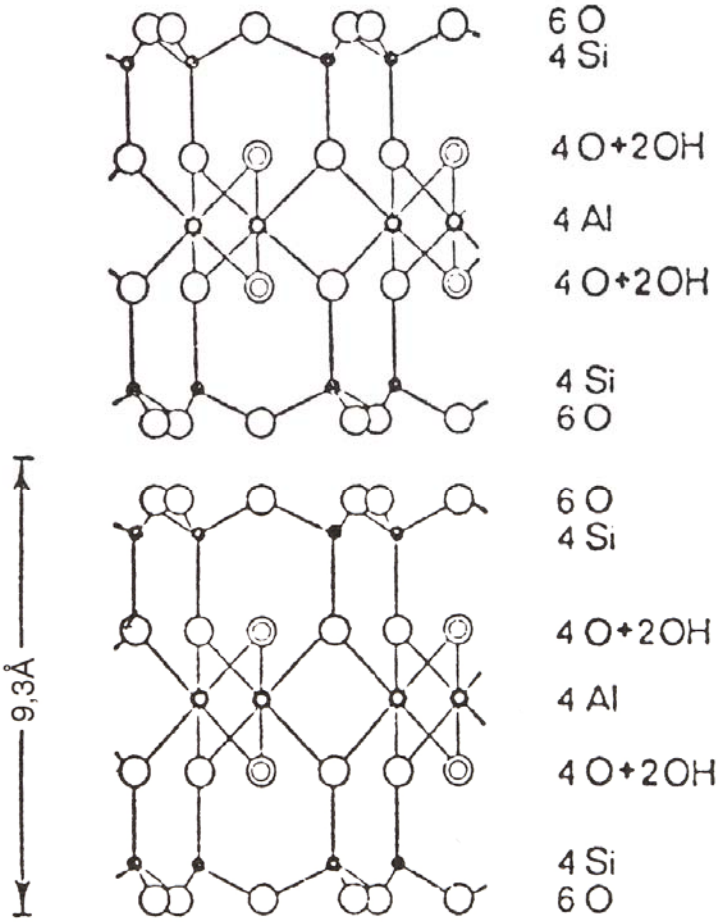



Fig. 1.

Si può osservare, appunto, come strati di ottaedri di formula $AlX_6$ (ove X è un atomo di ossigeno o un gruppo OH e, nelle diverse varietà del minerale, Al può essere sostituito da Fe, Mg, Mn, Zn ecc.) sono interposti a due strati di tetraedri $SiO_4$, il tutto in perfetto equilibrio di cariche elettriche (neutralità del sistema). Gli strati sono tra loro collegati da deboli forze intermolecolari (tipo Van Der Vaals), con distanze variabili. E questo l'elemento primigenio o cristallino o particella elementare del minerale.

Va tenuto presente che la struttura vista si estende indefinitivamente in direzione ortogonale (angolo retto), rispetto al piano della sezione; in parole povere come fossero dei *pannelli* o *lamelle* del medesimo spessore, senza limiti di superficie, sovrapponibili. Di qui la struttura cosiddetta lamellare o a mazzo di carte.
Ora la sostituzione di parte degli ioni di alluminio (Al) con elementi diversi o

di diversa valenza (es.: magnesio) rompe l'equilibrio di elettroneutralità di questi strati che costituiscono il cristallino o particella elementare, così da creare sulla superficie degli stessi delle cariche elettriche negative, che possono attrarre ioni positivi o cationi, come $Ca^{++}$, $Na^{+}$, ecc., più o meno solvatabili, aventi cioè capacità di idratarsi (Figura 2). Alle estremità (bordi) delle singole lamelle si genera pertanto, per effetto polare, una carica opposta, positiva, assai più ridotta.
Una struttura così modificata, rispetto a quella originaria, è caratteristica della bentonite.

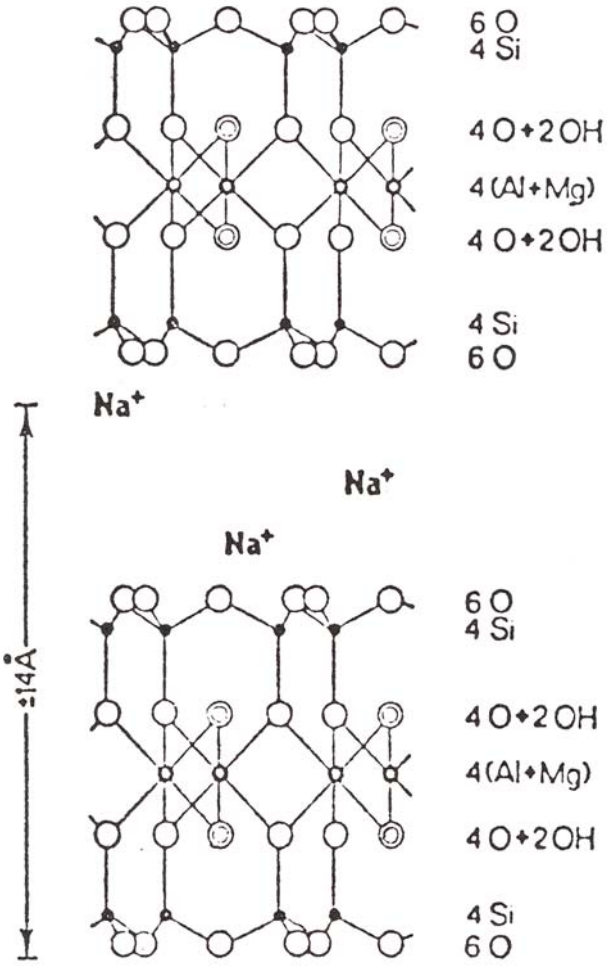



Fig. 2.

E da osservare che gli ioni solvatabili (o meno) inseritisi tra le lamelle, non interessano il "centro" dei successivi strati che formano il cristallino, ma solo la superficie, in quanto la presenza compatta degli atomi d'ossigeno (crosta) impedisce stericamente il passaggio di questi ioni positivi verso l'interno dello strato.
La bentonite si comporta pertanto come una resina scambiatrice di ioni, in cui l'attività della superficie del cristallino elementare è data da squilibri elettrostatici nel suo interno.

Consideriamo ora il comportamento di una bentonite immersa nell'acqua.
Con la solvatazione degli ioni scambiabili ($Ca^{++}$, $Na^{+}$, ecc.), interposti fra gli

elementi strutturali (lamelle), questi ultimi tenderanno ad allontanarsi l'uno dall'altro. Natura, grado e capacità di solvatazione o idratazione e concentrazione dei vari ioni hanno influenza determinante sull'entità di tale fenomeno.
In presenza di una scarsa concentrazione ionica o di ioni poco solvatabili, come il $Ca^{++}$, detti elementi lamellari si distaccano moderatamente.
In generale essi si orientano su piani paralleli, in aggregati abbastanza compatti (Figura 3).

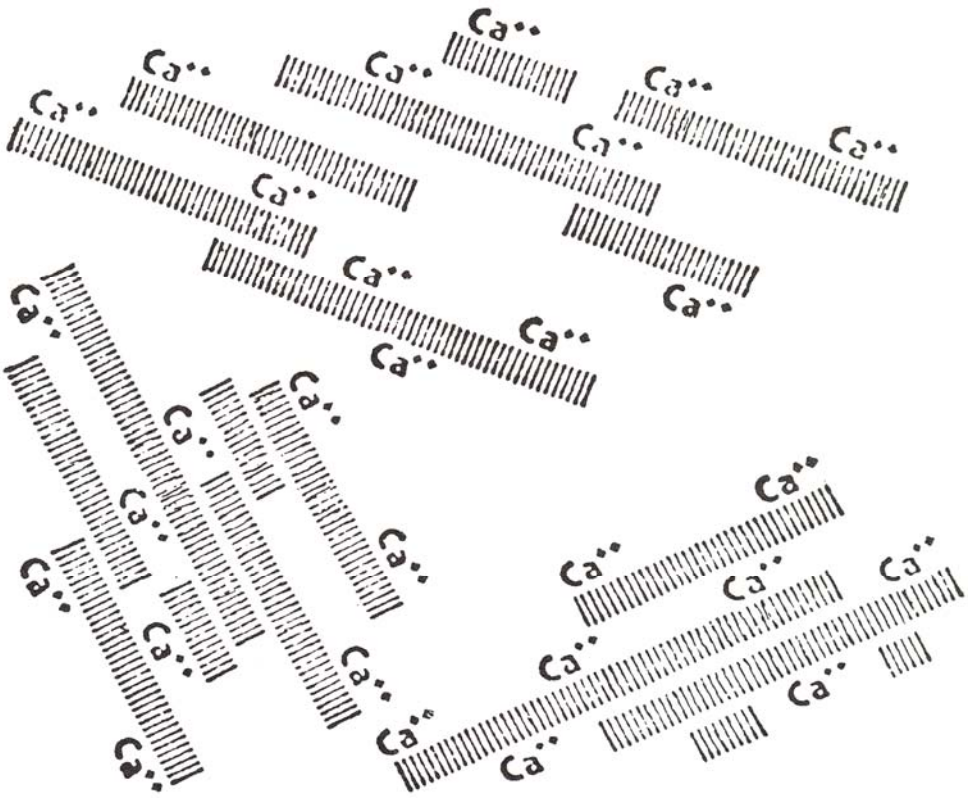


Fig. 3

Tali aggregati rigonfiano, perciò, assai poco in acqua, formando dei granuli o cristalli lamellari o micelle; quest'ultime possono raggiungere dimensioni fra 0,02 e 0,05µm.
La completa scissione, a sua volta, dei singoli cristalli, dà origine alle particelle elementari, che, come abbiamo visto, sono cariche negativamente in superficie e positivamente alle estremità.
Quando invece intervengono ioni fortemente solvatabili, come il sodio ($Na^{+}$), possiamo assistere ai seguenti fenomeni, via via che la concentrazione di questi ioni aumenta:

1) le forze di spinta o repulsione meccanica, causate dalla solvatazione dello ione sodio, aumentano progressivamente fra i singoli elementi o particelle, che tendono così ad allontanarsi l'una dall'altra;

2) in tali condizioni le cariche positive alle estremità della particella

tenderanno ad orientarsi verso le cariche negative delle superfici. Si crea così una dispersione poligonale fra le particelle stesse ("struttura a castello di carte") in equilibrio elettrostatico, che inglobano fra loro una considerevole quantità d'acqua, sicchè le particelle elementari non possono liberamente muoversi, dando luogo alla formazione di "gel" (Figura 4).

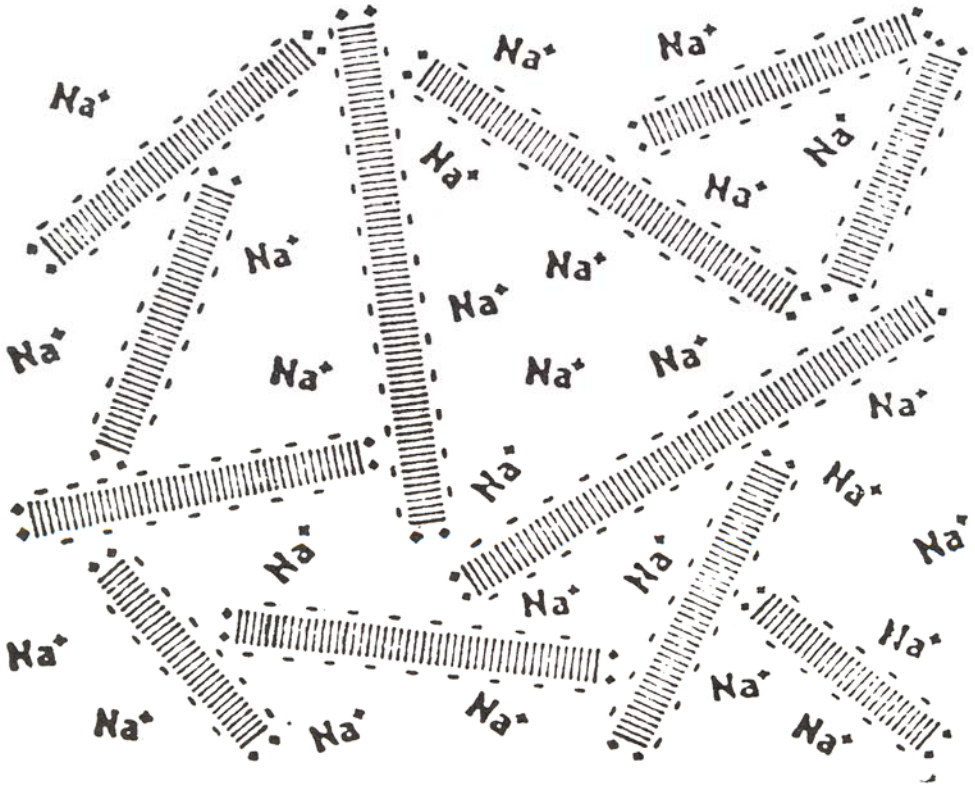



Fig. 4

3) l'aumento di concentrazione dello ione ($Na^+$) può arrivare a neutralizzare completamente le cariche negative, creando fra le singole particelle forze repulsive tali da "rompere" il gel, in quanto le particelle possono ora muoversi liberamente. In questo caso la forte presenza di ioni positivi fa risultare negative anche le cariche all'estremità (Figura 5).

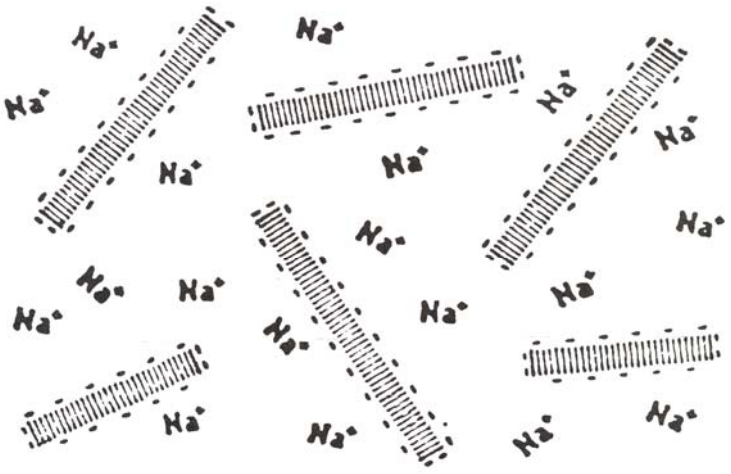



Fig. 5

Viene così spiegata la diminuzione dell'effetto gelificante quando si ecceda, nel processo di attivazione della bentonite calcica, con gli ioni sodio. Lo stesso fenomeno si può temporaneamente osservare quando il "gel", fattosi denso, venga sottoposto ad energica agitazione; in questo caso l'azione meccanica rompe la struttura a castello di carte, disperdendo i singoli elementi o particelle cristalline e fluidificando fortemente la massa. Una volta però cessata l'agitazione detta struttura si ricompone e con essa lo stato di gel di partenza (fenomeno di tixotropia).
Riassumendo, ci sembra più esatto dire che la *bentonite possiede una struttura lamellare* piuttosto che reticolare.
Essa presenta, oltre che una carica negativa, una carica positiva, sia pure molto più debole, che si sviluppa alle estremità delle singole particelle. Questo fatto spiega, almeno in parte, certi comportamenti (come vedremo) apparentemente contraddittori della bentonite nei fenomeni di flocculazione di sostanze colloidali elettronegative, vale a dire aventi la medesima carica normalmente attribuita alla bentonite.

*La bentonite come scambiatore di ioni*
Abbiamo visto che la bentonite ha le proprietà tipiche di uno scambiatore di ioni; essa è in fondo un prodotto zeolitico, cioè affine a quelle argille o zeoliti (silicati di alluminio), che venivano impiegati nell'addolcimento delle acque dure (scambio di cationi $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ con quelli di $Na^{+}$ contenuti appunto nelle zeoliti) prima dell'avvento delle resine sintetiche a scambio ionico (Adams e Holms, 1935).
Il cristallo lamellare della bentonite può essere, in certa guisa, paragonato alla matrice reticolare della resina cationica, cui sono legati i gruppi attivi; una struttura chimicamente stabile. I cationi sodio, calcio, ecc. che si addensano, come se n'è già parlato, alla superficie delle particelle elementari bentonitiche, in conseguenza della carica negativa, sono tra loro scambiabili.
Che sia così lo dimostra il fatto che in presenza di bentonite, pur lavata e depu rata a fondo, l'equilibrio canonico del mezzo liquido viene modificato, anche se entro limiti modesti (Colagrande, Criselli, Del Re, Weger). Per una bentonite sodica naturale (tipo "Wyoming") l'entità di scambio $Na^{+}$ è dell'ordine di 1,3% (1,3 g di ione sodio per 100 g di bentonite); per una calcica, il $Ca^{++}$ scambiato può toccare lo 0,7%, come per il $Mg^{++}$ (Jakob).

Possiamo dire ancora, più esattamente, che la particella elementare rappresenta il gruppo attivo (anione), funzionale del minerale, capace di formare un legame polare con uno o più ioni ($Ca^{++}$, $Na^{+}$, $K^{+}$, proteine, ecc.) di carica opposta (catione).
L'energia o attività di scambio, intercorrente fra lo scambiatore e la soluzione, dipende dalla forza di questo legame, che varia analogamente a quanto si osserva nella dissociazione di elettroliti (sali, acidi, ecc.) deboli o forti.

Volendo stabilire una scala decrescente di questa forza di scambio tra i gruppi attivi della resina a scambio ionico e la bentonite, la successione è questa:

$SO_3H$ > COOH > OH > particella montmorillonitica

(solfonico) > (carbossilico) > (fenolico) > (bentonite)

Gli scambiatori di ioni, di qualunque natura essi siano, per sviluppare appieno la loro attività di scambio, devono entrare intimamente in contatto con il liquido o soluzione destinata al trattamento; ciò che si realizza quando la forma dello scambiatore risulta estremamente suddivisa e porosa.
È appunto il caso della bentonite che grazie alla sua struttura lamellare e alle sue attitudini solvatanti può, nelle condizioni ideali, offrire una superficie di scambio (adsorbente) enorme.
Da questi pochi cenni appare evidente che tanto più gli elementi strutturali della bentonite si trovano in stato di solvatazione ("gel"), quindi aperti, tanto più la carica elettrostatica superficiale degli stessi è grande, tanto più il minerale è libero da intrusioni estranee o incrostanti, tanto maggiore ne sarà l'attività di scambio e adsorbente, di conseguenza deproteinizzante e stabilizzante nel caso dei vini.
Considerato che il sodio è tra gli elementi più fortemente solvatabili se ne deduce che la bentonite di tipo sodico manifesta, in generale, una più elevata attività e velocità di scambio.
È stato infatti calcolato che 1 grammo di buona bentonite sodica, in sospensione colloidale acquosa ("gel"), presenta una superficie di contatto (o specifica) dell'ordine di 5 $m^2$!
È inoltre possibile, sfruttando opportunamente le singolari proprietà di scambio ionico della bentonite, giungere alla sostituzione, parziale o totale, della base non sodica del granulo montmorillonitico con quella sodica, mediante il trattamento con opportuni sali sodici, in modo che il comportamento del prodotto attivato risulti praticamente lo stesso di quello di origine sodica.
Il processo di "attivazione sodica" della bentonite normalmente di tipo calcico fa parte delle tecniche più o meno raffinate, razionali e spesso riservate, messe a punto dalle industrie interessate.

Le bentoniti naturali sono distinte in due categorie in funzione del catione scambiabile presente:
- *bentoniti sodiche* nelle quali il sodio rappresenta il catione maggiormente scambiabile,
- *bentoniti calciche* nelle quali il calcio è il catione maggiormente scambiabile.

Lo spazio tra i foglietti in una bentonite sodica è di circa 100 Angstrom mentre non supera i 10 Angstrom in una bentonite calcica.
Questa differenza spiega il maggior potere di rigonfiamento di una bentonite sodica rispetto ad una bentonite calcica.

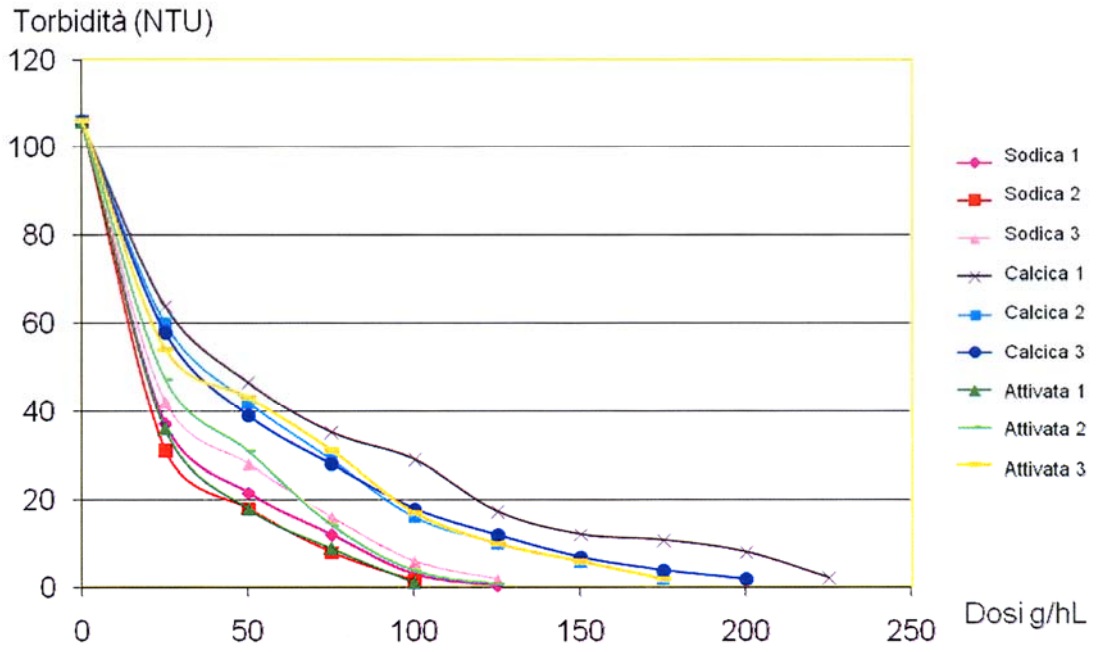
Dal punto di vista enologico la capacità di scambio delle bentoniti sodiche è molto più elevata, ciò comporta che la loro efficacia di rimozione nei confronti delle proteine sia molto alta, sebbene le loro proprietà in termini di velocità di decantazione e compattamento delle fecce non siano esaltanti. Le bentoniti calciche sono caratterizzate da decantazione molto più rapida che da origine ad un maggiore compattamento del deposito feccioso, a fronte di un non molto elevato potere deproteinizzante.

Esistono poi bentoniti calciche attivate, in cui parte degli ioni calcio sono stati sostituiti nell'ambito di un apposito processo da ioni sodio. Le loro proprietà enologiche sono interessanti, ma non stabili nel tempo, in quanto l'efficacia deproteinizzante può cambiare in un arco di tempo variabile tra i 3 ed i 18 mesi.

In funzione del tipo di bentonite utilizzato la dose necessaria all'ottenimento della stabilità proteica può essere motto diversa.

Nella prova esemplificativa rappresentata in figura, in cui sono state confrontate 3 bentoniti sodiche, 3 bentoniti calciche e 3 attivate, lo stesso vino risulta stabile con 100 - 125 g/hl di bentonite sodica, mentre per avere lo stesso risultato con bentonite calcica ne occorrono 175 - 225 g/hl. L'effetto delle bentoniti calciche attivate è intermedio, l'attivata 1 risulta avere lo stesso effetto stabilizzante della migliore sodica, ossia 100 g/hl, l'attivata 3 ha lo stesso effetto della migliore calcica, ossia 175 g/hl, l'attivata 2, che corrisponde alla 1 conservata per 3 mesi, risulta aver perso almeno il 30 % della sua attività.
Per quanto riguarda la percentuale di fecce formate a termine del trattamento si ottiene la classificazione esattamente contraria, il volume di fecce decantate risulta minore nel caso delle bentoniti calciche e massimo nel caso della bentonite sodica n° 1.

*Determinazione della dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione di uno stesso vino, utilizzando bentoniti di differenti tipologie.*




## Proprietà tipiche della bentonite

Dopo questo breve preambolo sulla struttura e sul comportamento della bentonite, vediamone adesso l'aspetto più propriamente enotecnico. L'importanza fondamentale assunta in enologia dalla bentonite si ricollega prima di tutto, come abbiamo visto, alle sue spiccate proprietà deproteinizzanti; l'effetto chiarificante, se pure di notevole interesse pratico, rappresenta come tale un fatto secondario e, possiamo dire, conseguente.
Mentre infatti la chiarificazione dei vini può essere conseguita con l'aiuto di altri prodotti (gelatine, sol di silice e gelatina, albumine, cascine, ittiocolla, ecc.) il problema della eliminazione delle sostanze proteiche nei vini (o mosti) sarebbe, senza il ricorso a queste argille speciali, ben più arduo da risolvere, sia tecnicamente che economicamente.
Non è tutto: il trattamento bentonitico può avere, infatti, altri molteplici effetti altamente positivi, sempre in relazione alla stabilizzazione dei prodotti vinicoli. Così nei riguardi di eventuali alterazioni dovute a fenomeni di ossidazione enzimatica, della rottura rameosa o fosfato-ferrica, delle materie polifenoliche e pigmenti in stato colloidale e quindi di labile stabilità, oppure conseguenti alle fermentazioni, specialmente con mosti "botritizzati" e via dicendo.

*a) Azione deproteinizzante.*

Innanzitutto il contenuto in proteine dei mosti e dei vini, in particolare bianchi, è mediamente dell'ordine di 50-200 mg/1, con punte estreme che vanno, grosso modo, da una decina a 300 mg e più, pertanto uno spettro proteico amplissimo. La bentonite, a differenza della pastorizzazione, asporta

dal vino (o mosto) sottoposto al trattamento, le proteine sia termolabili che termostabili (queste ultime solo in parte).
Quale ne sia poi la scala di selettività nell'adsorbimento delle diverse frazioni proteiche non sappiamo granché: sembra che le forme termolabili siano quelle più prontamente fissate dalla bentonite (Boehringer e Dolle).
Quest'ultime, in fondo, costituiscono la parte proteica che più interessa ai fini della stabilizzazione e che rappresenta sempre, come abbiamo già visto, una percentuale molto variabile delle proteine totali presenti nei vini.
Le cose vengono però complicate dal fatto che le proteine dei mosti e dei vini, come è stato già ricordato, vi si trovano normalmente in forme associate o in aggregati, in cui partecipano assieme ai proteidi altre sostanze colloidali, come pectine, polisaccaridi neutri, tannini e altri polifenoli condensati.
Vi si aggiunga ancora che l'adsorbimento da parte della bentonite delle proteine o aggregati proteici in soluzione nei mosti e nei vini non è un fenomeno attribuibile soltanto a processi di scambio ionico, dei quali abbiamo appena parlato, ma certamente altri fenomeni intervengono, come quello tipico per adsorbimento reciproco o per concentrazione superficiale regolato da cariche opposte fra le frazioni proteiche elettropositive e la superficie lamellare della bentonite elettronegativa.

Possiamo poi citare un terzo tipo di adsorbimento, quello prevalentemente meccanico, che si verifica per semplice contatto o adesione o capillarità; è pur esso un fenomeno, tipicamente di superficie, per cui anche molecole intere o aggregati colloidali, praticamente privi di cariche elettriche, possono venir fissati o trascinati dalla bentonite.
Questi fenomeni diversi chiamati genericamente di adsorbimento (dove il prefisso "ad" sta a significare l'effetto superficiale) che tendono ad intrecciarsi, a sovrapporsi e a confondersi, sono potentemente favoriti dalla struttura lamellare, quindi estremamente porosa, del materiale montmorillonitico.

Molta parte hanno, inoltre, in processi del genere, la natura e le caratteristiche della sostanza adsorbente e di quella adsorbita, la loro concentrazione, le condizioni e la temperatura del mezzo liquido e via dicendo.
Come si vede sono numerosi i fattori che entrano in gioco in fenomeni tanto complessi.

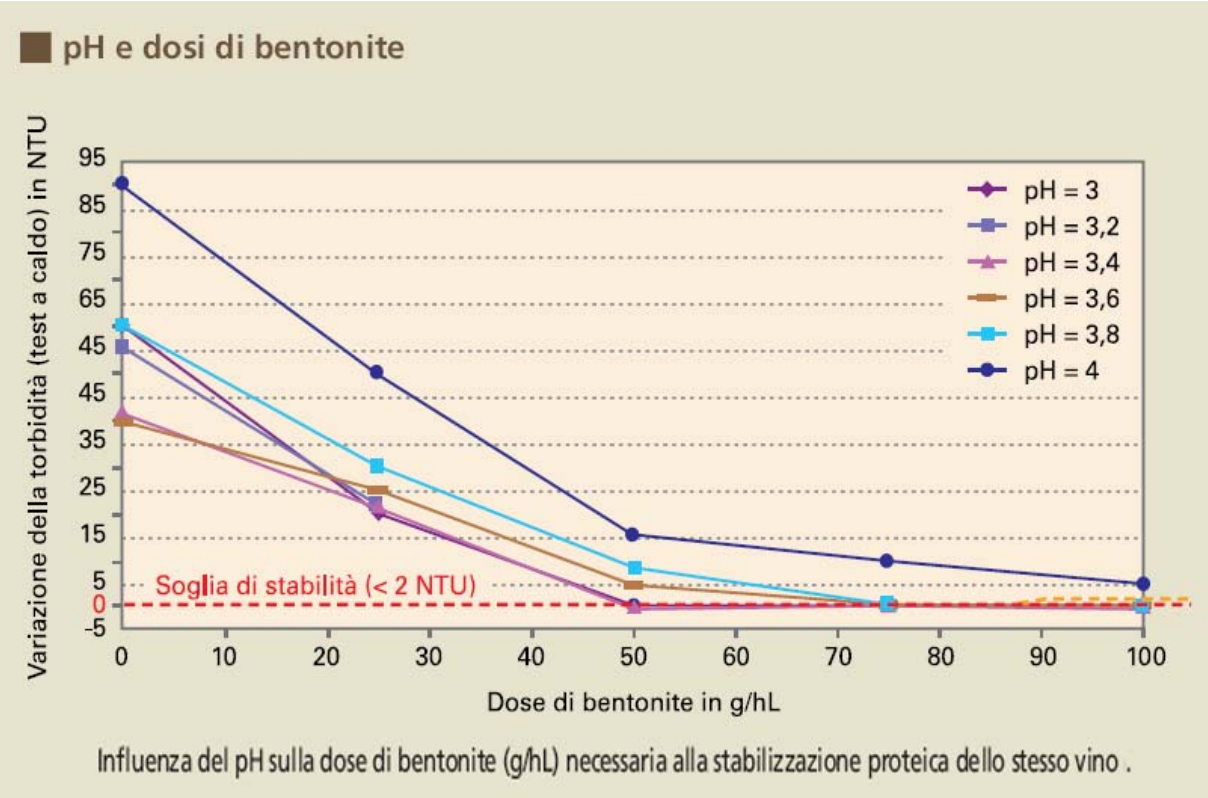
In questo meccanismo di scambio e di adsorbimento reciproco il complesso bentonite-proteina che si forma, per l'azione concomitante e neutralizzante degli elettroliti, in particolare dei cationi plurivalenti ($Ca^{++}$, $Mg^{++}$, $Fe^{+++}$, ecc.) tende facilmente ed abbondantemente a flocculare (flocculazione reciproca) e precipitare.
Né più né meno di quanto avviene, sotto tale aspetto, con il composto tanno-proteico.

Qual è l'effettiva azione deproteinizzante della bentonite nei mosti e nei vini?

Risponderemo succintamente.
Anzitutto la bentonite non asporta soltanto ed esclusivamente l'azoto proteico, ma anche altre forme più semplici, come polipeptidi e peptoni, sia pure in esigua entità (Koch, Albonico).
Gli amminoacidi liberi invece vengono pochissimo interessati nel trattamento bentonitico.
Questo trattamento, secondo Milisavljevic, è in grado di ridurre fino al 25 per cento l'azoto totale di un vino. Una frazione, pertanto, cospicua.
Altri hanno tentato di stabilire un valore orientativo dei tenori adsorbiti di proteine da parte di una buona bentonite sodica: questo si aggirerebbe mediamente dai 30 ai 50 mg/1 (Kiessling).
Ora, la quantità percentuale dei proteidi asportabili con il trattamento bentonitico, particolarmente nei vini bianchi e talvolta rosati, è in stretta correlazione al tipo, caratteristiche e purezza della bentonite impiegata, alla dose, alle modalità seguite nell'aggiunta, alla composizione e condizioni del vino da trattare. Sulla natura e qualità della bentonite abbiamo precedentemente formulato alcune considerazioni; è questa una questione di fondo, che non può essere, come capita troppo sovente, trascurata o affrontata sommariamente.

*Controllo del potere deproteinizzante*
Ma come determinare la capacità deproteinizzante di una bentonite?
Possiamo ravvisare due forme di controllo.
La prima prevede una soluzione sintetica (Codex Oenologique Int.), cioè una soluzione di bianco d'uovo (5 g/1), acidificato a pH 3 (acido citrico 0,5%).
Un litro di questa soluzione previamente filtrato contiene circa 90 mg di azoto totale e mg 575 di proteine (metodo Kjeldahl).
Dopo aggiunta di 1 g/1 di bentonite in esame, allo stato di "gel" (5 g in 100 ml di acqua pura), seguita da energica agitazione, riposo per 24 ore e decantazione o centrifugazione, non si devono riscontrare nella soluzione trattata, dopo analisi, più di 50 mg/1 di azoto totale (300 mg/1 di proteine), per poter definire la bentonite idonea all'impiego. Ovviamente sarà tanto più attiva quanto più il dato determinato risulterà inferiore a 50 mg.
È un metodo orientativo, non sempre valido, in quanto si opera su soluzioni sintetiche.
Per questa ragione si preferisce il metodo che fa ricorso direttamente ad un vino bianco giovane, perfettamente limpido e provvisto di proteine in tenori tali da intorbidare fortemente se riscaldato a 80°C.
Alcuni campioni del vino (da 500 0 250 ml), in bottiglia di vetro chiaro o in cilindro, vengono trattati con dosi crescenti (es. 20-40-60-80-100 g/hl) di bentonite da esaminare, posta per tempo a rigonfiare in acqua, fino a "gel" omogeneo.
Dopo 12-24 ore si filtra su carta o meglio si centrifuga una porzione

chiarificata di ciascun campione trattato; quindi a tali campioni, perfettamente limpidi, si addiziona del tannino all'alcol (0,5 g/1) in soluzione limpida e si riscalda a 80°C per mezz'ora. Tutti i campioni si mettono poi a raffreddare, possibilmente in frigorifero.
Si passa infine all'osservazione dello stato di limpidezza dei singoli campioni, meglio se a confronto con campioni trattati, a loro volta, con una bentonite "teste" di cui è nota l'attività.
È chiaro che la bentonite più efficace, agli effetti proteostabilizzanti, corrisponderà a quella del campione che a più basse dosi ha deproteinizzato completamente o in misura maggiore il vino servito per la prova.
Altri saggi più raffinati e precisi possono essere messi in atto; ciò che consigliamo è che i controlli vengano effettuati su vini (anche "surcollati" artificialmente) e non in soluzioni sintetiche, che, come abbiamo detto, danno risultati spesso non probanti.
I migliori tipi di bentonite assicurano, normalmente, una perfetta stabilità proteica in vini bianchi, ben provvisti di colloidi azotati, alla "dose minima limite" di 40-50 g/hl. Con bentoniti meno attive le dosi dovranno essere aumentate in rapporto a tale loro attività. Nel caso invece di bentoniti speciali da tempo sul mercato, elaborate allo stato di gel, in forma di sottili filamenti attraverso un ingegnoso procedimento di purificazione, le dosi scendono decisamente (20-25 g/hl). Va tenuto presente anche che l'adsorbimento proteico non è proporzionale alle dosi: così se con 50 g/hl di bentonite viene asportato il 50% dell'azoto proteico totale di un determinato vino ne occorrono ben 150 g della stessa bentonite per la completa deproteinizzazione (Jakob).

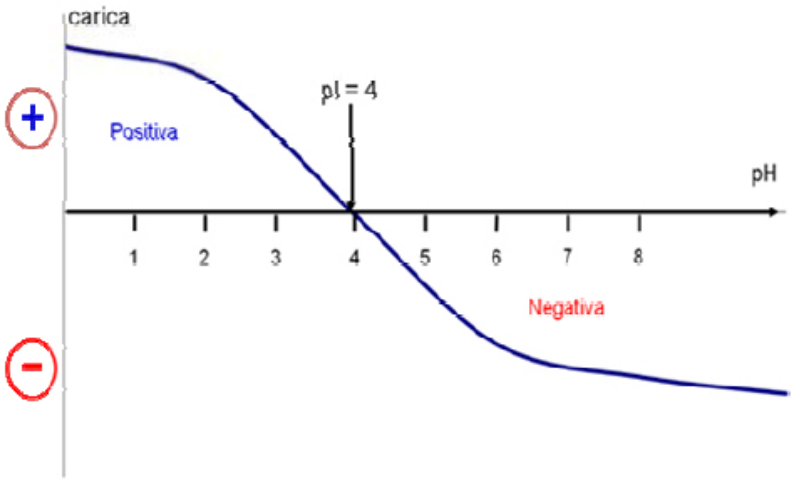


Influenza del pH sulla dose di bentonite (g/hL) necessaria alla stabilizzazione proteica dello stesso vino .

È importante, a questo punto, rilevare che la reale azione deproteinizzante della bentonite è notevolmente condizionata dal pH, dalla temperatura, dalla presenza di colloidi "protettori" dalla eventuale forte concentrazione tannica o zuccherina, dallo stato di ossidazione del vino (o mosto).

Le bentoniti messe in sospensione nell'acqua o nel vino formano una dispersione colloidale le cui particelle sono caricate negativamente.
Le proteine del vino, il cui punto isoelettrico varia come abbiamo già accennato tra 4 e 7, in funzione del pH del mezzo in cui sono disperse possono assumere carica elettrica differente.
Sono tutte caricate positivamente se il pH del mezzo è inferiore a 4, ed in tali condizioni sono adsorbite dalla bentonite.
Se il pH del mezzo è vicino a 4 la frazione proteica il cui punto isoelettrico è pari a 4 risulta essere quasi priva di carica, quindi poco o affatto adsorbite.
Se il pH del mezzo sale sopra a 4 alcune proteine assumono carica negativa, ed in tali condizioni non possono essere adsorbite dalla bentonite.

*Rapporto tra punto isoelettrico, pH del mezzo e carica elettrica delle proteine.*




Così, tanto più l'acidità del mezzo è elevata tanto maggiore sarà l'effetto deproteinizzante. Secondo J. Ribéreau-Gayon se a pH 3 sono sufficienti 50 g di bentonite per ettolitro, a pH 3,6 ne occorrono ben 200 g per ottenere gli stessi risultati.
A titolo di esempio è interessante ricordare che avendo la laccasi (enzima ossidasico prodotto da *Botrytis cinerea* e presente in mosti e vini derivati da uve infettate da questo patogeno) punto isoelettrico intorno a 2,5, al pH del vino assume carica negativa e pertanto non può essere rimossa da un trattamento con bentonite.

A nostro avviso differenze di quest'ordine, nel computo delle dosi di bentonite in relazione alle variazioni di pH, sono da considerarsi, in pratica, piuttosto esorbitanti.

**INFLUENZA DEL pH SULL'AZIONE CHIARIFICANTE DI ALCUNE BENTONITI (A. Ronchi)**

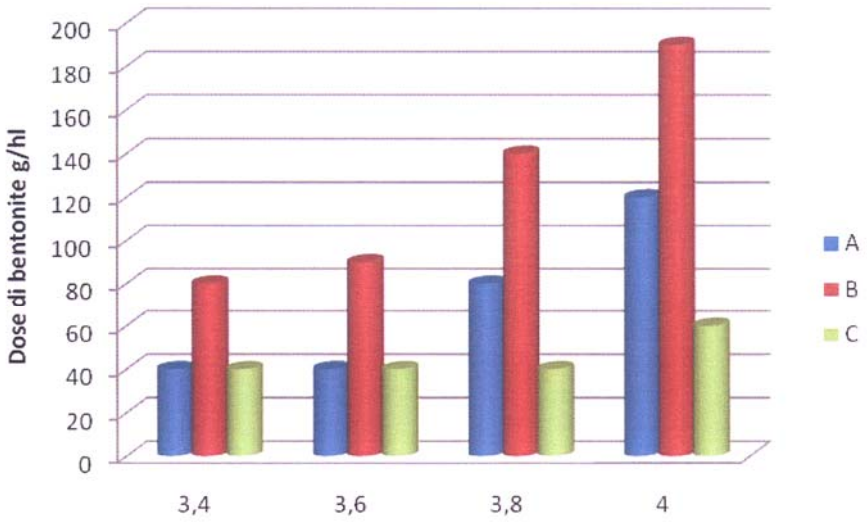
| Bentoniti | Dosi g/hl | Valori di torbidità (NTU) | | | N tot mg/l Media riduz. |
|---|---|---|---|---|---|
| | | pH 3 | pH 3,5 | pH 4 | |
| CALCICA (agg.ta in polv). | 100 | 20.0 | 22.0 | 27.0 | − 6.5 |
| CALCICA (agg.ta in soluz.) | 100 | 16.3 | 16.9 | 18.4 | − 9.8 |
| CALCICA ATTIVATA | 100 | 1.5 | 1.5 | 1.9 | −48.5 |
| SODICA NATURALE | 100 | 3.6 | 3.6 | 4.0 | −46.9 |
| VINO TESTE | — | 14.0 | 14.0 | 14.0 | 346.6 |

Anche la temperatura delle masse sottoposte al trattamento ha una non trascurabile importanza nel potere di adsorbimento della bentonite.
La zona di temperatura ottimale viene compresa fra i 15 e i 30°C.
Le basse temperature, infatti, riducono alquanto la capacità deproteinizzante della bentonite. Perché?
Una probabile più immediata spiegazione del fatto potrebbe essere che il cristallo o granulo lamellare della bentonite tende con il freddo a "chiudersi", a farsi compatto (con ciò avvicinandosi di più al comportamento del caolino), insomma più pigro dal punto di vista degli scambi, offrendo pertanto una minor superficie di contatto ed una più ridotta attitudine all'adsorbimento.
Il tannino, come del resto le gomme e le pectine, tende ad ostacolare la funzione deproteinizzante della bentonite e più ancora quella chiarificante. La stessa cosa si verifica per la presenza di zuccheri; l'attività stabilizzante della bentonite, infatti, decresce con l'aumentare della concentrazione zuccherina. Al 20% in zuccheri questa si riduce di circa la metà.
Stabilire, pertanto, una dose di buona bentonite valida per tutti i tipi di vino è non solo improprio, ma rischioso; caso per caso sarà prudente eseguire preventivamente delle prove in piccolo con dosi scalari di bentonite, onde fissare quella più idonea. La gradazione alcolica invece ha scarsa influenza sulla efficacia deproteinizzante del prodotto bentonitico.

Elementi di scelta della bentonite: a seconda del campo di applicazione e degli obiettivi enologici che ci si pongono, tenendo in conto le informazioni fino a qui esposte, potrà essere necessario utilizzare bentoniti con caratteristiche differenti.
Per questo le bentoniti ad uso enologico devono essere scelte tenendo conto dei seguenti criteri:
- proprietà stabilizzanti ;
- spettro d'azione al variare del pH ;
- potere chiarificante ;

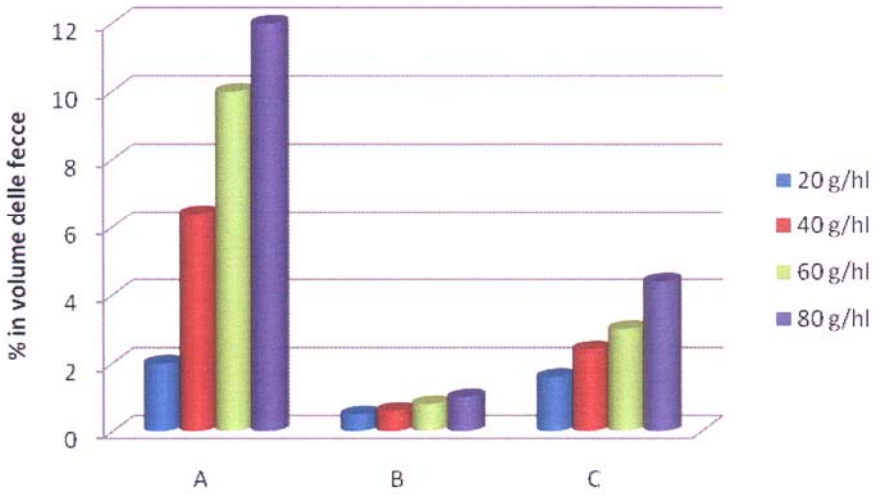
- protezione aromatica.

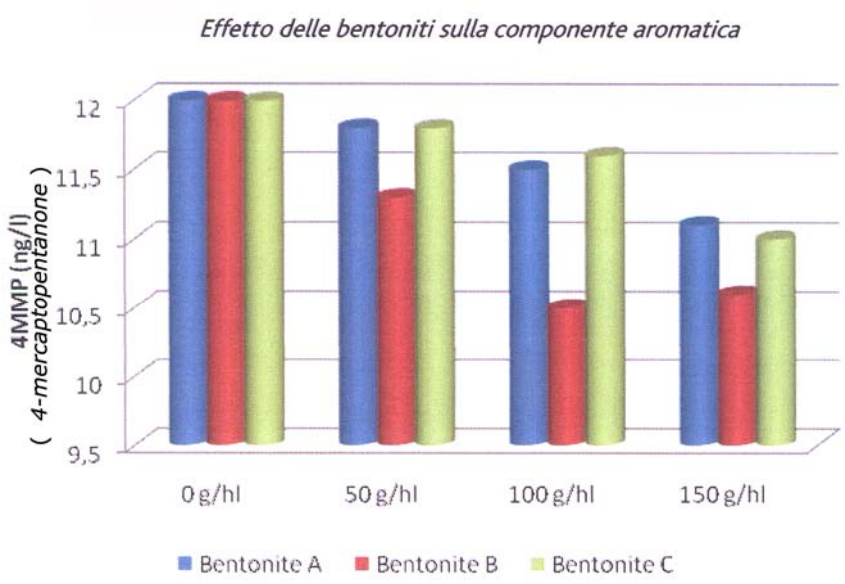
*Proprietà stabilizzanti delle tre bentoniti testate al variare del pH*




| Sigla riconoscimento | caratteristiche |
|---|---|
| Bentonite A | bentonite sodica in polvere |
| Bentonite B | bentonite calcica in polvere |
| Bentonite C | bentonite sodica granulare |

*Potere chiarificante delle tre bentoniti impiegate a diverse dosi*






Enorme importanza riveste la tecnica seguita nella preparazione del gel di bentonite e nella sua introduzione nei mosti e particolarmente nei vini.
Da queste modalità può dipendere la buona riuscita o meno del trattamento; non sarà mai troppa l'attenzione posta in una simile particolare operazione. In breve possiamo dire:

1) La bentonite va sempre e preventivamente stemperata in una quantità d'acqua sufficiente alla formazione di un "latte" colloidale il più possibile omogeneo e fluido (da 10 a 20 e più volumi d'acqua). Rammentiamo che tanto più il gel di bentonite è fluido e meglio è, in quanto nella massa (mosto o vino) si disperde più rapidamente ed uniformemente sì da esplicare in maniera ottimale la sua azione. Chi scrive, fin dai primi anni cinquanta, poté constatare che con bentoniti sodiche o attivate l'acqua di rigonfiamento (rapporto 1:10 - 1:20 ed oltre) viene in gran parte e tenacemente trattenuta dalla bentonite stessa e pertanto non passa, salvo frazioni trascurabili, nel vino o mosto (Figura 4). La stessa constatazione venne fatta da Jakob (1968).

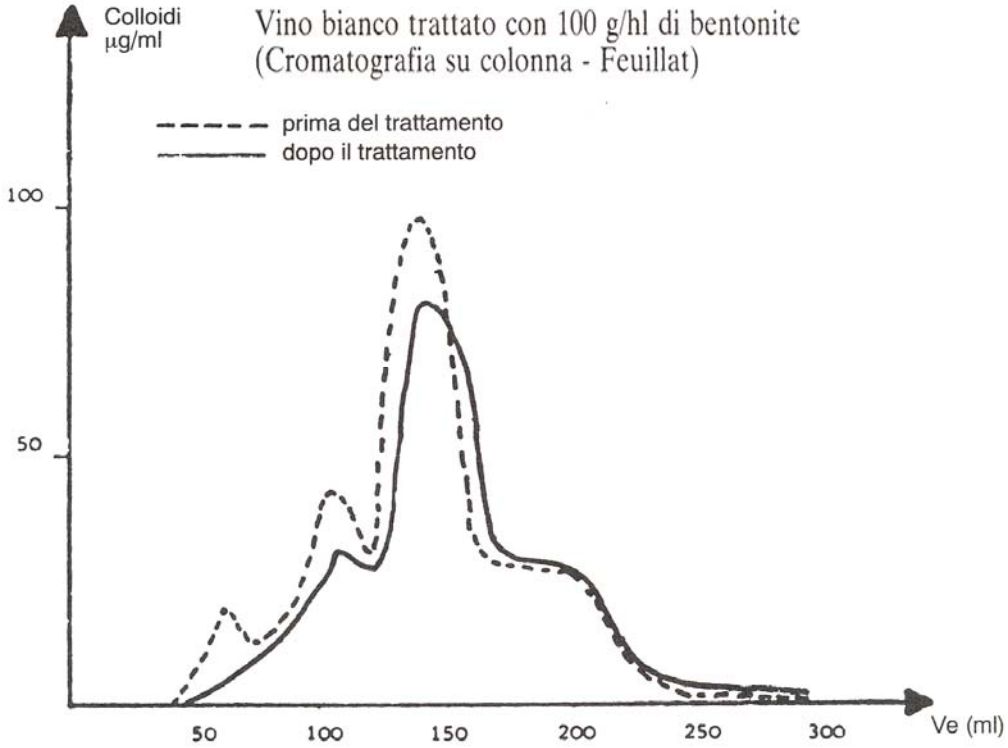
2) è opportuno lasciar rigonfiare e macerare in acqua la bentonite, specialmente se di tipo sodico, per almeno 18-24 ore, avendo cura di agitare ogni tanto. Non basta, infatti, che la bentonite risulti ben stemperata, ad esempio con l'ausilio di un agitatore meccanico, ma occorre che il tempo consenta alle singole micelle di assumere uno stato di perfetto equilibrio elettrostatico, il che ne aumenta l'efficacia deproteinizzante, chiarificante e stabilizzante in generale.

3) l'immissione, nella massa da trattare, del gel di bentonite va fatta con molta lentezza, sotto agitazione, meglio se con l'ausilio di opportuni spruzzatori ed operando mediante gas inerti. Detta distribuzione, infatti, deve avvenire nel modo più uniforme possibile, onde evitare la formazione di grumi e scompensi di concentrazione del colloide bentonitico in seno alla

massa.

È da sconsigliare l'immissione diretta della bentonite polvere nel vino da trattare. Esperienze in proposito hanno ampiamente dimostrato che una buona bentonite, sia di tipo sodico ("Na-bentonite") che calcico ("Ca-bentonite"), stemperata e rigonfiata preventivamente in acqua, esplica un'attività adsorbente alcune volte più grande che se la stessa venisse addizionata tal quale nel vino. Non solo, ma aumenta considerevolmente anche la velocità di scambio ed adsorbente (qualche minuto).
In alcuni paesi (Germania, Austria) dove si è inclini, anche per ragioni legali e per limitarne i sedimenti, ad impiegare bentoniti prevalentemente calciche, la distribuzione del prodotto in polvere direttamente nelle masse è operazione abbastanza corrente.
Oltre che in polvere la bentonite viene talvolta preparata dalle case produttrici sotto forma di piccoli granuli: la cosiddetta bentonite "granulare" o granulata.
Il vantaggio principale di questo tipo di bentonite è che non provoca polvere, fastidiosa per chi manipola il prodotto.
La bentonite granulare inoltre assicura, in molti casi, un rigonfiamento più sollecito e completo in acqua quando venga evitata nelle prime ore ogni più piccola agitazione. Con ciò viene inoltre eliminato l'inconveniente non trascurabile dei grumi.

Merita osservare ancora l'importanza di effettuare il trattamento bentonitico su vini o mosti possibilmente limpidi o quanto meno ben decantati, ad evitare che la presenza delle sostanze intorbidanti, specie di natura colloidale, avvolgendo la superficie attiva del prodotto ne ostacolino fortemente il normale processo di scambio ed adsorbimento delle proteine.
Concludendo, possiamo affermare che un oculato trattamento bentonitico elimina sicuramente una quantità sufficiente di proteidi, presenti nel vino, sì da rendere questo stabile alle sostanze proteiche.




*Controllo dei vini trattati con bentonite*

Volendo controllare tale stabilità si possono applicare dei saggi o test termici, indicati nel passato da diversi autori.

Così Koch consiglia di riscaldare un campione di vino trattato a 40°C per 24 ore; Ribéreau-Gayon a 80°C per 30 minuti; Hennig a 60°C per 15'; Koch e Sajak a 45°C per 9 ore, previa addizione di 5 ml di soluzione satura di solfato di ammonio a 95 ml di vino.

Secondo gli ungheresi Ferenczi e Erezhegy la temperatura più idonea per questi tests è sui 55°C per 24 ore, senza addizioni di solfato d'ammonio o altri precipitanti (acido tricloroacetico, acido fosfomolibdico, ecc.). Sembra infatti che temperature superiori a 60°C e soprattutto aggiunte di precipitanti possano indurre flocculazioni non soltanto proteiche. A raffreddamento avvenuto (meglio in frigorifero) se ne controlla accuratamente lo stato di limpidità nei singoli campioni.

A parere nostro, in numerose prove effettuate in laboratorio i risultati più probanti sono stati ottenuti con il metodo indicato da Ribéreau-Gayon (80°C per 30' e immediato raffreddamento).

Jakob, a sua volta, ha elaborato un procedimento, denominato `Bentotest", che permette di stabilire in pochi minuti la dose utile di bentonite per ogni massa di vino, impiegando una speciale soluzione precipitante delle proteine. La dose determinata è anche in relazione al pH del vino da trattare.

Il sistema "bentotest", indubbiamente interessante, da noi sperimentato nel passato su un gran numero di vini bianchi italiani non ci ha fornito, a nostro giudizio, risultati molto soddisfacenti.

## Valutare il rischio

Per valutare il rischio di *casse* proteica prima dell'imbottigliamento vengono impiegati in cantina differenti test, volti anche a fornire informazioni circa la dose ottimale di bentonite da applicare nel trattamento stabilizzante. Questi test sono basati sulla rapida denaturazione delle proteine da parte di specifici agenti: calore con aggiunta o meno di tannini, reattivi chimici come l'acido fosfomolibdico, acido tricloroacetico o etanolo. Non tutti i metodi sono però in grado di tener conto della diversa instabilità delle proteine. A nostro avviso, allo stato attuale delle conoscenze, il test più aderente alla realtà per la stima della stabilità proteica dei vini, anche se un po' più laborioso, è il test a caldo. Consiste nel leggere la torbidità del vino tal quale, che successivamente si sottopone a riscaldamento, a bagno-maria, a 80 °C per 30 minuti. L'eventuale torbido proteico appare durante il raffreddamento. Si controlla nuovamente la torbidità: se il suo aumento è superiore a 2 NTU, il vino è da ritenersi instabile dal punto di vista proteico.

**Valutazione del grado di instabilità proteica del vino**

Il quesito che ci si deve porre è il seguente: Il mio vino è proteicamente stabile e se è instabile in che modo lo posso rendere stabile?

Per controllare il grado di stabilità proteica di un vino occorre poter applicare un metodo affidabile e ben adattato al substrato. Esistono numerosi test rapidi che si basano sulla denaturazione ed induzione alla precipitazione per via chimica delle proteine, noti con diversi nomi commerciali, (Bentotest e similari).

Secondo l'esperienza pratica, questi metodi non riescono a distinguere efficacemente le proteine termoinstabili del vino, cioè quelle realmente responsabili della "casse proteica" dalle altre proteine non termoinstabili.

Questi test, infatti, non sono sensibili solo alla frazione termoinstabile del contenuto proteico, ma ne rilevano la totalità.

Il risultato una abbondante sovrastima del livello di instabilità dei vini, giungendo alla prescrizione di trattamenti a volte eccessivi.

Il fenomeno di sovrastima viene ulteriormente accentuato nel caso di vini affinati per lunghi periodi sulle fecce di fermentazione in quanto buona parte del materiale mannoproteico e peptidico ceduto dai lieviti al vino viene valutato come instabile da questi metodi, pur essendo stabile, a volte addirittura stabilizzante e certamente utile dal punto di vista organolettico.

Per questa serie di motivi si ritiene che il test che riproduce meglio i

fenomeni naturali e reali di instabilità dei vini, dunque specifico per le proteine termoinstabili, sia il test a caldo.

Vediamo di descriverne il protocollo di esecuzione.

Per la sua realizzazione in cantina occorre un torbidimetro, un bagnomaria e normale vetreria da laboratorio. La prima operazione consiste nel misurare la torbidità del vino tal quale, se la torbidità è > a 2 si deve procedere ad una filtrazione del campione, avendo cura di utilizzare un setto filtrante neutro nei confronti delle proteine. Si consiglia pertanto una membrana in polietersulfone.

Si rimisura la torbidità iniziale e la si annota come (TORB1). Si pone il vino in bagnomaria già portato a temperatura di 80°C ove si lascia per 30 minuti. Importante impostare correttamente la temperatura ed il tempo. Trascorsi i 30 minuti si lascia raffreddare il campione a temperatura ambiente per 45 minuti trascorsi i quali si procede ad una rilettura della torbidità annotandola come (TORB 2).

Se la differenza tra la torbidità del campione iniziale e dopo passaggio a caldo ANTU = (TORB 2) - (TORB 1) risulta > 2 significa che il vino è instabile e si dovrà pensare ad un trattamento, se in valore è < 2 il vino è da ritenersi stabile e non occorrerà nessun trattamento dal punto di vista proteico.

Alcune annotazioni al protocollo del test: *si devono rispettare in maniera scrupolosa i 45 minuti di raffreddamento a temperatura ambiente* perché si è visto che accelerando il raffreddamento, ad esempio ponendo la provetta sotto acqua corrente, si ha minor formazione di torbido con rischio di sottostima del grado di instabilità. Se ci si dimentica il campione e si esegue la lettura dopo un tempo superiore ai 45 minuti, si ha per trascinamento la formazione di un torbido anche non proteico che porta ad una sovrastima del grado di instabilità. Si raccomanda dunque di attenersi strettamente ai tempi e modi prescritti.

Se il vino risulta instabile si deve procedere al trattamento di stabilizzazione. Attualmente il solo metodo di stabilizzazione proteica e di prevenzione della casse è il trattamento alla bentonite.

Qui ci basti ragionare sul fatto che un trattamento eccessivo alla

bentonite non da fenomeni di *surcollaggio,* quindi non si evidenzia in maniera macroscopica sul vino. E' innegabile comunque che esso porti ad un impoverimento del vino con forte depauperamento dal punto di vista organolettico. Per queste ragioni è estremamente importante determinare con precisione la dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione, avendo cura di non eccedere.

Per la determinazione della dose di bentonite, su vini che risultano instabili al test a caldo, consigliamo di procedere al laboratorio eseguendo alcune prove di trattamento con dosi crescenti di bentonite. Le dosi possono essere scelte facendo semplicemente riferimento al dato di instabilità rilevato, moltiplicando per 2 e per 3 il ANTU scaturito dal test a caldo.

Per esempio se ANTU = (TORB 2 - TORB 1) = (34 -2) = 32 le dosi di bentonite da provare possono essere:

32 - 64 - 96 g/hL

Importantissimo: in questo test si deve utilizzare la stessa bentonite che poi si utilizzerà in cantina per il trattamento reale.

In laboratorio preparare una sospensione di bentonite al 5%, ad esempio in 100 mL di acqua di fonte in becker da 250 mL; mettere in agitazione ed aggiungere La bentonite man mano che si disperde. Attendere 1 ora di reidratazione a temperatura ambiente, quindi addizionare la bentonite al vino oggetto del controllo nelle 3 dosi prefissate.

30 minuti dopo incorporazione della bentonite ne[ vino separare il surnatante limpido e rifare sui 3 campioni trattati con le differenti dosi il test a caldo come prima descritto. Si dovrà scegliere La dose minore di bentonite che permette di ottenere ANTU < 2.

La dose di bentonite da applicare in cantina sarà data da questa dose aumentata di 10 g/hL. Dose g/hL = 64 + 10 = 74 g/hL

| Dose g/hL | 0 | 32 | 64 | 96 |
|---|---|---|---|---|
| ΔNTU | 32 | 24 | 1,5 | 1,3 |

I tempi di reidratazione e di trattamento in laboratorio sono molto più accelerati rispetto a quelli di cantina in quanto su piccolo volume l'efficacia di reidratazione della bentonite così come pure di

omogeneizzazione al vino e di trattamento sono nettamente superiori che in scala reale di cantina.
Per buona norma e massima sicurezza, dopo il trattamento, si deve verificarne l'efficacia ripetendo il test a caldo sul vino trattato.

**Considerazioni sul trattamento ai vini**

Un tempo era molto diffuso il trattamento alla bentonite sui mosti allo scopo di ridurre poi il trattamento sui vini. Oggi si ritiene più rispettoso dal punto di vista della qualità il trattamento mirato a vino finito.
Il trattamento a mosto è ancora consigliabile nel caso di vini da rapida rotazione, che dopo vinificazione devono essere velocemente preparati all'imbottigliamento e per i quali dunque non è previsto nessun tipo di permanenza a contatto con fecce fini; o nel caso di mosti derivanti da uve alterate non sane, ove una buona pulizia prima dell'avvio alla fermentazione giova sicuramente alla qualità. Nel caso di trattamenti al mosto si consiglia di orientarsi su bentoniti di tipo calcico, dotate quindi di elevato potere chiarificante e buona capacità di decantazione, ma non molto deproteinizzanti.
In tutti gli altri casi conviene fare un trattamento il più mirato possibile, in termini di dosaggio, a vino finito con una buona bentonite sodica.
Sull'effetto deproteinizzante delle bentoniti, oltre alla tipologia ed alla qualità delle stesse, giocano un ruolo determinante la tecnica di preparazione in cantina ed il pH del vino.
Una corretta reidratazione deve prevedere la risospensione della bentonite in rapporto 1:20 in acqua di fonte a temperatura ambiente (intorno a 20 °C), per un periodo di 10-12 ore. Temperature più basse o più alte e periodi di reidratazione più brevi ne fanno diminuire il rigonfiamento e la capacità di scambio, quindi il potere deproteinizzante.
Per quanto riguarda l'effetto del pH del vino si deve fare riferimento alle precedenti considerazioni circa la variazione della carica elettrica delle proteine e della sua intensità al variare del pH del mezzo in cui

sono disperse. Come illustrato nella figura 2, il pH del vino influisce considerevolmente sulla dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione proteica di uno stesso vino, nella fattispecie uno stesso Sauvignon nel quale è stato fatto variare appositamente solo il pH.

Figura 2:

| Influenza del pH sulla dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione proteica di un vino di Sauvignon blanc | |
|---|---|
| pH | Dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione proteica |
| 3,4 | 50 |
| 3,6 | 70 |
| 3,8 | 80 |
| 4 | 100 |

Valutando la stabilità del vino con iL test a caldo, si vede come mentre a pH 3,4 la dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione sarebbe di 50 g/hL, a pH 3,6 ne occorrerebbero 70 g/hL ed a pH 4,0 una dose di bentonite pari a 100 g/hL non sarebbe del tutto sufficiente.
A pH 4,0 infatti una porzione non trascurabile di proteine instabili risulta priva di carica pertanto non adsorbibile e non asportabile con la bentonite.

**Influenza di alcuni fattori tecnologici sulla dose di bentonite**

Sono molti i parametri enologici che possono influire sulla stabilità proteica del vino, quindi sulla dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione, vediamo di elencarne alcuni.
Iniziando dal momento dell'ammostamento e dalle operazioni prefermentative è stato messo in evidenza su uve Sauvignon blanc che la macerazione pellicolare porta ad un forte aumento della carica proteica dei mosti. La presenza di anidride solforosa durante la macerazione ne accentua ulteriormente l'estrazione. La pressatura di uve diraspate porta ad un aumento di proteine, mentre la presenza di raspi durante la pressatura permette di ottenere mosti meno carichi di proteine termoinstabili. I succhi di pressa sono più ricchi di proteine dei succhi di sgrondo o dei succhi delle prime pressate.

Dopo fermentazione alcolica la conservazione del vino sulle fecce porta ad un miglioramento della stabilità proteica. Diversi studi hanno mostrato che questo miglioramento é essenzialmente imputabile ad una mannoproteina particolare definita MP32 che corrisponde ad un frammento di invertasi *(Moine-Ledoux et Dubourdieu).*

Da un punto di vista pratico il miglioramento della stabilità proteica nel corso della maturazione di un vino bianco a contatto con le fecce é fortemente influenzata da differenti parametri: la durata della conservazione, la quantità delle fecce presenti, la frequenza delle operazioni di risospensione dei lieviti e l'età del fusto se l'affinamento è fatto in legno. A Bordeaux, per esempio, si deve attendere il mese di giugno perché il vino conservato sulle fecce totali in barrique di un anno abbia bisogno, per essere reso stabile, di meno di 40 g/hL di bentonite. In questo momento contiene da 15 a 18 mg/L di MP32, quantità sufficiente per diminuire del 75% la dose di bentonite.

Questo miglioramento spontaneo della stabilità proteica del vino nel corso della sua maturazione risulta più veloce in fusti usati che in fusti nuovi ed é accelerato dalla frequenza delle risospensioni *(batonnages).* Se da novembre a giugno si procede a risospensioni delle fecce con cadenza settimanale, in fusti nuovi, si permette una riduzione della dose di bentonite del 40%; se nelle stesse condizioni la risospensione viene fatta ogni due settimane la riduzione della dose di bentonite risulta essere solo del 20%. Controllando con diversi metodi, in una prova pratica di conservazione di un vino bianco in barrique su fecce, l'evoluzione del grado di instabilità proteica e la conseguente dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione, si sono raccolti i dati riportati in tabella 1. Questi dati sono egregiamente esemplificativi di quanto affermato in precedenza.

| Tipo di test | Evoluzione ΔNTU nel tempo | | |
|---|---|---|---|
| | Fine FA | 4 mesi su fecce | 11 mesi su fecce |
| A caldo | 45 | 34 | 34 |
| A caldo + tannino | 58 | 64 | 76 |
| Bentotest | 70 | 103 | 166 |
| | Evoluzione dose di bentonite nel tempo (g/hL) | | |
| | Fine FA | 4 mesi su fecce | 11 mesi su fecce |
| A caldo | 140 | 100 | 60 |
| A caldo + tannino | 140 | 100 | 60 |
| Bentotest | 180 | 220 | 300 |

*Tabella 1: Differenze di torbidità (ΔNTU ) e dosi di bentonite necessarie alla stabilizzazione determinate con differenti test su vino Sauvignon nel corso dell'affinamento sulle fecce.*

Al passare del tempo a contatto con le fecce, infatti, la stabilità proteica tende a migliorare, il che comporta una riduzione della dose di bentonite necessaria alla stabilizzazione. Se il controllo viene però eseguito con un metodo di denaturazione delle proteine per via chimica si rischia di interpretare in modo completamente contrario le cose: sembra infatti che sia piuttosto l'instabilità ad aumentare, il che comporterebbe un aumento della dose di bentonite in questo caso fino a 300 g/hL. Un trattamento di questa portata porterebbe sicuramente all'annullamento di tutti i benefici effetti ottenuti con la conservazione sulle fecce.

Durante la lavorazione poi l'impiego di coadiuvanti tecnologici, quali il lisozima, induce un aumento dell'instabilità proteica; questo effetto è tanto più evidente quanto più il trattamento viene eseguito tardivamente a ridosso dell'imbottigliamento.

All'imbottigliamento la qualità della filtrazione può influire anche sulla stabilità proteica del vino. Una filtrazione molto stretta, che vada incontro ad un forte colmataggio del mezzo filtrante potrebbe portare ad un impoverimento del vino in colloidi con funzione di protettori nei confronti della "casse proteica", il risultato sarebbe un vino filtrato più instabile del vino prima della filtrazione.

In bibliografia si registrano anche casi in cui la qualità del sughero naturale impiegato per la tappatura ha influito sulla stabilità proteica del vino. La cessione da parte del sughero di tannini potrebbe infatti indurre una precipitazione più o meno evidente di materiale proteico.

Infine la temperatura di trasporto e conservazione devono essere

previste e monitorate in modo da evitare che in queste fasi il vino venga sottoposto a stress più severi di quelli applicati durante i test di verifica della stabilità proteica.

*b) Azione chiarificante.*

J. Ribéreau-Gayon, che tutti consideriamo, senza limiti di frontiere, il nostro più autorevole maestro, ha definito la bentonite "un chiarificante assai irregolare nei suoi risultati, talvolta uguale a quelli proteici, ma più spesso nettamente inferiore".

E cita a questo proposito le esperienze di De Rosa (1955), in cui su 18 campioni di bentoniti italiane ed estere soltanto sei dimostrarono di essere dei buoni chiarificanti.

Un siffatto giudizio sulla bentonite, quale mezzo di chiarificazione, da parte dello studioso francese e di altri suoi insigni collaboratori, potrebbe a tutta prima far sorgere qualche perplessità, dato che si parla "genericamente" di bentonite e che il raffronto viene fatto con i chiarificanti proteici (gelatina, albumina, caseina), ciascuno dei quali ha composizione e caratteri fondamentalmente omogenei.

Diversamente la bentonite è un minerale a base montmorillonitica, ma che presenta varietà molto eterogenee, diversissime tra loro per origine, caratteristiche e comportamento.

Noi sappiamo che, enologicamente parlando, "tutte" le bentoniti, quando siano tali, posseggono in vario grado tipiche proprietà deproteinizzanti, mentre soltanto "alcuni" tipi di esse mostrano evidenti o eccellenti attitudini chiarificanti.

Il che si verifica, in particolare, quando la bentonite, di buona formazione montmorillonitica, rigonfia abbondantemente in acqua (potere di solvatazione), caratteristica questa propria delle bentoniti sodiche, siano esse naturali che attivate.

**POTERE DI RIGONFIAMENTO IN ACQUA (1% LAURIL SOLFATO) DI ALCUNE BENTONITI**
**(G. Dal Cin - Ronchi)**

| BENTONITE | Rigonfiamento (2 g/100 ml) |
|---|---|
| B. sodica naturale asiatica | ml 34 |
| B. calcica attivata | ml 25 |
| B. sodica americana (granulare) | ml 30 |
| B. calcica italiana attivata | ml 28 |
| Gelbentonite DC+5 | ml 36 |

Test di rigonfiamento di una bentonite: 2 g di bentonite si introducono lentamente (in circa 2 ore), a spaglio, in un cilindro graduato contenente 100 ml di acqua distillata. Dopo alcune ore di completo riposo si fa il rilevamento del volume del sedimento o gel formatosi. Le migliori bentoniti sodiche possono assorbire fino a 15-20 volumi d'acqua.

Rammentiamo, per inciso, che si dicono sodiche quelle bentoniti il cui cristallino è occupato prevalentemente, con legami polari, dal catione sodio ($Na^{+}$), fortemente solvatabile.
Per contro le bentoniti a predominante presenza di ioni calcio ($Ca^{++}$) o altre bentoniti ancora, aventi scarse proprietà colloidali e flocculanti, non hanno o hanno in misura imperfetta azione chiarificante vera e propria. Sovente anzi possono aggravare le condizioni di torbidità del prodotto trattato.

Pertanto i buoni o i cattivi risultati, nel trattamento di chiarificazione, non dipendono dalla bentonite qualunque essa sia, in quanto il mosto o il vino possono essere per composizione o per effetto protettivo inadatti a tale intervento, ma piuttosto dal "tipo" di bentonite impiegata, vale a dire dalla sua particolare natura, comportamento, grado di purezza, oltre che dalla dose e modalità di impiego della stessa.

Per quanto ci riguarda non ci siamo mai posti, in tanti anni, il problema della supremazia, come mezzo di chiarificazione, della bentonite rispetto ai classici chiarificanti organici e viceversa. Sono due "strumenti" tecnicamente preziosi, che a seconda delle esigenze e situazioni, possono essere accortamente utilizzati, onde sfruttarne le diverse e complementari caratteristiche.
Potremmo, infatti, paragonare la bentonite alla gelatina e nello stesso tempo al suo opposto, cioè al tannino. A tale proposito si suole portare l'esempio del vino bianco, assai povero in tannino, che addizionato di bentonite si comporta di fronte ad una aggiunta, anche forte, di gelatina, nello stesso modo di un vino rosso, ricco di materia tannica.

Detto questo sorge spontanea la domanda: c'è rapporto, parallelismo tra

flocculazione (cioè proprietà chiarificante) ed adsorbimento proteico, a seguito del trattamento bentonitico? Senz'altro no, in considerazione del diverso meccanismo d'azione che si verifica tra i due fenomeni, anche se questi si influenzano reciprocamente. Tanto è vero che una bentonite con elevato potere chiarificante è sicuramente anche un ottimo prodotto deproteinizzante.
La flocculazione della bentonite nel mosto e nel vino è, come sappiamo, provocata non soltanto dall'adsorbimento di materie colloidali, di segno opposto, come le proteine ("flocculazione reciproca"), ma dalla presenza di cationi, in particolare plurivalenti ($Ca^{++}$ , $Mg^{++}$ , $Fe^{+++}$ ecc.).
Come nel caso della deproteinizzazione anche la flocculazione e quindi il processo di chiarificazione è favorito dai bassi pH e da temperature non troppo basse o alquanto elevate (15-30°C) delle masse.
Va ancora osservato che la composizione salina (durezza) dell'acqua nella quale viene fatta rigonfiare la bentonite prima del suo impiego ha sovente una non trascurabile influenza sul comportamento flocculante della bentonite stessa aggiunta al vino.

**INFLUENZA DELLA DUREZZA DELL'ACQUA SULLA ATTIVITÀ CHIARIFICANTE DELLA BENTONITE ATTIVA (M. Dal Cin)**

| Durezza acqua (gradi francesi) | Colore residuo dopo il tratt. (520 nm) | Torbidità residua dopo il tratt. (NTU) |
|---|---|---|
| 78.70 | 92 | 1.25 |
| 35.98 | 87 | 0.62 |
| 17.05 | 86 | 0.60 |
| 0.00 | 85 | 0.53 |
| vino teste | 100 | 11.10 |
| acqua distillata | 0 | 0.00 |

Infatti la formazione del "gel" in acque molto povere di sali assicura le migliori condizioni per l'attività deproteinizzante e specialmente chiarificante del prodotto.
In modo analogo la bentonite viene influenzata dai valori di pH dell'acqua di rigonfiamento, come mostrato nella tabella seguente.

**INFLUENZA DELL'ACQUA NELLA PREPARAZIONE E ATTIVITÀ DELLA BENTONITE (attivata) (G. Dal Cin - Ronchi)**

| Tipo di acqua o zona di provenienza | pH acqua | pH del «gel bentonitico» | tempi di scorrimento del «gel» | N totale mg/l vino tratt. g 100/hl | Differenze |
|---|---|---|---|---|---|
| Bidistillata | 6,82 | 9,33 | 8" 4/10 | 154,0 | —16,8 |
| Demineralizzata | 7,40 | 8,92 | 8" 6/10 | 165,2 | — 5,6 |
| Milano | 7,35 | 8,73 | 8" | 161,35 | — 9,45 |
| Prov. Milano | 7,51 | 8,72 | 8" | 159,80 | —11,0 |
| Prov. Verona | 7,55 | 8,72 | 8" | 160,4 | —10,4 |
| Prov. Piacenza | 7,22 | 8,40 | 7" 8/10 | 163,5 | — 7,3 |
| Prov. Modena | 6,90 | 8,25 | 7" 7/10 | 163,5 | — 7,3 |
| Prov. Foggia | 7,57 | 8,64 | 7" 8/10 | 161,6 | — 9,2 |
| Vino teste | — | — | — | 170,8 | — |

Come stabilire l'effettivo potere chiarificante di una bentonite?
Non tanto dal grado di viscosità del "gel" bentonitico in acqua (per consuetudine ci si orienta su una concentrazione del 5 per cento, cioè 5 g di bentonite in esame in 100 ml d'acqua), influenzato non poco, tra l'altro, dal pH (tendenzialmente alcalino) della bentonite stessa, quanto dalla capacità di espansione e successiva flocculazione del granulo bentonitico a contatto con il vino o mosto, dopo l'aggiunta del "gel". In parole povere dal volume del sedimento formatosi a chiarificazione avvenuta.
Grosso modo possiamo affermare che quanto più una bentonite, a parità di dosi e con lo stesso vino, forma depositi abbondanti, tanto più la sua attitudine chiarificante è elevata e ne consegue che la dose della stessa può venire proporzionalmente ridotta, almeno entro certi limiti.
Così un particolare tipo di bentonite (Gelbentonite), possiede una capacità di illimpidimento di 3-4 volte superiore a quella di una normale bentonite sodica (tipo americano o attivata). Il che limita la dose a 15-25 g/hl. Tali bentoniti, ad eccezionale attività, possono presentare qualche inconveniente pratico per via del sedimento molto soffice e leggero, quando non si disponga di un tempo di riposo sufficientemente lungo, onde consentire un lento, progressivo schiacciamento o riduzione dello stesso.
In questi casi l'addizione contemporanea di qualche grammo/ettolitro di gelatina o meglio ancora di albumina è senz'altro raccomandabile.
Il principale fattore, già ricordato, che contrasta il processo di flocculazione è, anche nel trattamento bentonitico, rappresentato dalla forte presenza di colloidi polisaccaridi o "protettori", vale a dire gomme, materie mucillaginose, pectine e soprattutto il β-glucano, come abbiamo visto.

Per diretta esperienza ci riesce difficile dire se, nella normalità dei casi, detti colloidi agiscano negativamente in misura maggiore sulla flocculazione dei chiarificanti proteici, in particolare la gelatina, o su quella del chiarificante bentonitico. Molto dipende anche dal pH e dalla temperatura delle masse destinate alla chiarificazione. E noi sappiamo che per quanto concerne

l'influenza di detti fattori, tra i rapporti tanno-proteici e quelli bento-proteici, la situazione è del tutto opposta.
Riesce tuttavia sommamente utile, quando esistono particolari difficoltà di chiarificazione, un sapiente e ben dosato intervento mediante bentoniti molto attive e gelatina oppure albumina, o meglio ancora addizioni successive di sol di silice/gelatina/bentonite, soprattutto con mosti o vini bianchi giovani, provenienti da uve botritizzate, previa addizione di 1-3 grammi/ettolitro di β-glucanasi, come spiegheremo più avanti.

In generale quando si debbano trattare vini bianchi è preferibile aggiungere prima la gelatina e poi la bentonite, nel caso invece di vini rossi prima la bentonite e poi la gelatina.
Il trattamento bentonitico, qualunque esso sia, può rendere più difficoltosa la successiva filtrazione, quando la decantazione non proceda regolarmente o quando nelle operazioni di travaso e filtrazione il sedimento venga parzialmente rimesso in sospensione. La eventuale filtrazione o centrifugazione del deposito feccioso risulta sempre piuttosto difficile, anche operando oculatamente e con mezzi adeguati.
Il trattamento abbinato bentonite-chiarificanti proteici conferisce invece alla massa flocculante uno stato fisico più amorfo e poroso, eppertanto più favorevole alla filtrazione.

Chiudiamo questo particolare non facile discorso sull'impiego della bentonite nei vini con una personale annotazione. Secondo nostre esperienze l'abbinamento bentonite-gelatina (questa ultima in dosi correnti) in vini bianchi, giovani, anche ricchi in proteine naturali, non solo non modifica negativamente l'effetto deproteinizzante della bentonite impiegata, ma sembra anzi che tale effetto venga sensibilmente esaltato.

*c) Azioni ed interventi diversi.*
Ci siamo soffermati sin qui sugli aspetti deproteinizzanti e su quelli chiarificanti del trattamento bentonitico nei vini.
Ci limiteremo ora ad una sintetica elencazione di altri interventi con la bentonite, sempre nei riguardi del vino, che possono avere un particolare interesse pratico o sperimentale; anche se qualcuno di essi non può dirsi attinente al tema che stiamo trattando in queste note, quello cioè della elaborazione e stabilizzazione dei vini.

- Rottura o "casse" rameosa.

Nel precedente capitolo abbiamo parlato in dettaglio di questa "casse", che a differenza delle altre (ferrica, fosfato-ferrica, ossidasica) si manifesta per un fenomeno di riduzione.
Abbiamo detto ancora che la presenza, seppur minima, di proteine e l'azione di elettroliti favoriscono in misura determinante l'insorgere dell'intorbidamento rameoso.

Perchè ciò avvenga per i vini bianchi o talvolta rosati sono spesso sufficienti tenori in rame di 0,5 mg/1 o appena superiori.
Un buon trattamento bentonitico, eliminando le ultime frazioni proteiche, previene quasi sicuramente la turbe rameosa, anche nel caso di vini con contenuti in rame di 2 mg/1 (Ribéreau-Gayon). Rottura tanto più insidiosa se si considera che colpisce il vino imbottigliato (per assenza d'aria), specialmente quando la bottiglia si trova esposta alla luce solare (per l'effetto riducente della luce).

- Adsorbimento di materie polifenoliche e di polisaccaridi.

Sulle prime ci siamo intrattenuti nel capitolo precedente, a proposito della possibilità di impoverimento nei vini di materie coloranti e fenoliche condensate, allo stato colloidale, instabili, facilmente ossidabili. Alcune bentoniti, ad elevata attitudine chiarificante, riescono ad asportare più o meno significative frazioni di tali sostanze coloranti o polifenoliche, in relazione alla natura e composizione chimica delle stesse. Questo fatto assicura una buona stabilizzazione del colore nei vini rossi ed una più viva luminosità dello stesso.
Secondo Ejov la bentonite riduce altresì il tenore in polisaccaridi "neutri" (ivi compresi quelli a maggiore effetto intasante) del 10-15 per cento; mentre il trattamento combinato bentonite-freddo appare molto più efficace a tale scopo.

- Deferrizzazione con ferrocianuro di potassio.

Abbiamo osservato nel secondo capitolo che la flocculazione del ferrocianuiro ferrico o blu di Prussia (elettronegativo), nel trattamento deferrizzante, si verifica regolarmente e sollecitamente in presenza di proteidi (elettropositivi).
Per tale ragione il trattamento bentonitico va effettuato dopo quello deferrizzante, meglio ancora se preceduto da addizione minima di gelatina.
L'aggiunta della bentonite (d'ottima qualità) asseconda e completa perfettamente la caduta del complesso blu di Prussia-proteina, assicurando nel contempo, nella normalità dei casi, una ottima chiarificazione.
È stato ancora dimostrato, anche da noi, che l'intervento bentonitico riduce fortemente i rischi, estremamente gravi, di tardive reazioni, per eventuali tracce di ferrocianuro di potassio rimaste in soluzione, con formazione di blu di Prussia nei vini finiti, particolarmente bianchi e giovani.

- Eliminazione di ammine biogene.

Il trattamento bentonitico nei vini può avere anche lo scopo di ridurre tenori in eccesso di ammine fisse o biogene o pressorie come istamina e tiramina, sostanze queste che si formano nel processo di degradazione malolattica, forse per decarbossilazione di alcuni amminoacidi, come l'istidina.
L'eliminazione può, con il ricorso a buone bentoniti e a dosi adeguate, raggiungere il 90% (Cerutti, 1972-77). Ricordiamo che oltre i 3-4 mg/1

queste ammine possono nuocere all'organismo umano (disturbi epatici, intossicazioni, ecc.).
La formazione di ammine biogene, in misura pericolosa, è più probabile nei vini prodotti nelle regioni più a nord.

- Effetti detartarizzanti in fase di refrigerazione.

È stato provato sperimentalmente che nei vini in corso di refrigerazione una piccola (20 g/hl) addizione di "gel" ben disperso di ottima bentonite contribuisce non poco ad una più sollecita e completa caduta del cremortartaro (Cerin, 1979).

- Vini destinati alla spumantizzazione.

I vini, possibilmente ottenuti da fermentazioni in presenza di bentonite, quindi trattati ancora con bentonite altamente selezionata ed attiva prima di essere sottoposti alla rifermentazione in autoclave, danno prodotti spumanti di più intenso e delicato bouquet e più stabili in colore e limpidezza; nella spumantizzazione in bottiglia ("metodo Champenois") si ha una più regolare rifermentazione e viene altresì favorita nettamente la pratica del "remuage" e del "dégorgement". Sono sufficienti, per raggiungere questi risultati, dosi di ottima bentonite estremamente basse (3-5 g/hl).

- Surcollaggio.

Si ha "surcollaggio" quando, come abbiamo già visto, frazioni di proteine, in conseguenza di chiarificazioni proteiche, irrazionalmente praticate o per le condizioni inidonee del mezzo (bassi pH, alte temprature, ecc.), permangono in soluzione, più o meno instabile, nel vino trattato.
In tutti questi casi l'intervento con la bentonite, in dosi normali, risolve perfettamente la situazione di rischio, asportando ogni più piccola traccia di gelatina o di altro chiarificante azotato, allo stato di solubilità colloidale.

## La bentonite in vinificazione

Il trattamento bentonitico in vinificazione, ossia praticato sui mosti, in bianco o in presenza della vinaccia, destinati alla fermentazione, ha assunto da parecchi anni a questa parte un grande interesse. Possiamo anche dire che l'impiego della bentonite si sta vieppiù spostando dal vino al mosto.
E questo un fatto sintomatico quando si ponga mente che la tecnica enologica più progredita tende ad intervenire di preferenza sul mosto e sulla fermentazione, sì da ottenere vini migliori e più stabili, ai quali riservare il minimo di interventi, possibilmente di natura fisica. Vi si aggiunga ancora che l'intervento di nuove tecniche di vinificazione, in modo particolare con la "macerazione a caldo" o termovinificazione, il ricorso alla bentonite sembra assumere un ruolo nuovo e provvidenziale, come diremo fra breve.
Lo stesso può dirsi per quanto riguarda la preparazione dei cosiddetti "vini novelli" dopo la macerazione carbonica, con aggiunte di ottime bentoniti in fase fermentativa.

*Regolatrice della fermentazione*

Limiteremo il discorso, anche per non ripeterci in molte cose e per non annoiare oltre misura il nostro paziente lettore, ai trattamenti bentonitici in vinificazione, più strettamente connessi con il problema della stabilizzazione dei vini; lo faremo in modo schematico.

Introduciamo l'argomento con una nota personale, che vuole essere soltanto una obiettiva precisazione... storica. Vogliamo dire che lo scrivente e Lamberto Paronetto, in stretta collaborazione, condussero nell'autunno del 1953 una serie di esperienze di laboratorio e di cantina, addizionando alcuni tipi di bentoniti a mosti diversi in avvio di fermentazione. Le osservazioni dedotte in quell'occasione vennero riportate in un volume apparso nella primavera del 1954 .

Per quanto ci consta quelle prove rappresentano il primo importante tentativo di impiegare la bentonite in vinificazione.

La fermentazione alcolica dei mosti in presenza di bentonite è una pratica di grande interesse per i molteplici vantaggi che si possono ottenere (lo stesso pH dei mosti, sensibilmente più basso rispetto a quello dei vini ottenuti, consente un migliore sfruttamento delle proprietà adsorbenti e stabilizzanti della bentonite). Trattasi, oltretutto, di una operazione assai semplice ed economica.

Ciò non significa, tuttavia, che questa tecnica trovi tutti concordi; le riserve e le critiche, qua e là nei diversi paesi vitivinicoli, non mancano. Anche se con il tempo si fanno sempre più rade.

Quali, in sintesi, i possibili vantaggi?

Anzitutto la bentonite addizionata ai mosti funge, nel la maggioranza dei casi, da regolatore, da "volano" della fermentazione.

Così se le masse tendono a fermentare troppo rapidamente la presenza della bentonite ne smorza, ne frena alquanto il moto fermentativo, che si prolungherà di qualche giorno (2-3 mediamente); nel caso invece di mosti provenienti da uve guaste o che presentano comunque difficoltà a fermentare regolarmente, la bentonite si comporta molto spesso da attivante, favorendo così il completamento del processo fermentativo. In tutti i casi si ha, quasi sempre, un piccolo guadagno di alcol (da 0,5 a 3 e più decimi di grado), per una migliore utilizzazione degli zuccheri residui. La spiegazione di questa azione regolatrice della bentonite non è facile, quando si consideri la complessità del fenomeno fermentativo, nonché le condizioni e i fattori che vi influiscono.

Da un lato la bentonite manifesta attività antilievito per l'adsorbimento di larghe frazioni azotate, di sostanze o fattori di crescita (tiamina, acido nicotinico, riboflavina, ecc.) o di enzimi ad azione idrolitica (proteasi), dall'altro lato interviene in senso pro-lievito, fissando composti antibiotici (botriticina, nisina, patulina) ed enzimi ossidanti (polifenolossidasi, perossidasi, ecc.), elaborati dalle muffe che accompagnano l'uva, nonché

sostanze tossiche proprie del metabolismo cellulare (autotossine, agonine, putrescine, ecc.) ed eventuali residui inibitori della fermentazione derivanti dai trattamenti anticrittogamici.

È stato osservato ancora che l'attività enzimatica del lievito, in presenza di bentonite, non viene affatto rallentata ma al contrario stimolata.
Secondo il bulgaro Titchev alcuni cationi ($Na^+$, $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, ecc.) fissati alle particelle bentonitiche in fase di scambio ionico, esaltano l'azione catalitica degli enzimi del fermento (zimasi).
Sicché la bentonite nei mosti fermentanti assume, in certo modo, il ruolo di un attivo depuratore o se vogliamo dello ... spazzino, che provvede alla pulizia dell'ambiente, dove le cellule del lievito possono meglio svilupparsi ed agire.
La sottrazione di sostanze azotate, in gran parte non direttamente utilizzabili (proteine, polipeptidi) può, è vero, rappresentare un "handicap" alla moltiplicazione ed all'avvicendamento della popolazione blastomicetica, quando il mezzo (mosto) sia povero di tali sostanze; ma in questi casi sono sufficienti aggiunte al mosto di normali dosi di sali ammoniacali (solfato o soprattutto fosfato di ammonio).
Circa la riduzione del patrimonio vitaminico, indispensabile allo sviluppo dei fermenti, in particolare tiamina e riboflavina, la cosa non dovrebbe preoccupare eccessivamente, secondo le nostre osservazioni. Del resto la stessa solforazione e la decantazione dei mosti hanno effetti depauperanti ben maggiori a tale riguardo (Jaulmes, Peynaud).

*Deproteinizzazione dei mosti*
Altra fondamentale conseguenza dell'intervento in vinificazione con la bentonite è la deproteinizzazione precoce, vale a dire l'ottenimento di vini perfettamente stabili alle proteine.
Cosa che, da un punto di vista tecnologico, rappresenta un fatto di notevole importanza, specialmente nel caso di vini bianchi e anche rosati.
Il procedimento, a questo scopo, che prevede l'immissione della bentonite prima o alla partenza della fermentazione, lasciandola a contatto con la massa fermentante fino alla svinatura o al primo travaso, è quello che assicura i migliori risultati.

A questo proposito ci fu, diversi anni fa, una sorta di polemica a distanza fra lo studioso yugoslavo Milisavljevic, che sosteneva la validità del trattamento all'avvio della fermentazione e il nostro Usseglio-Tomasset. Quest'ultimo aveva dimostrato che verso la fine della fermentazione si verificava una forte autolisi del lievito, per cui il vino nuovo si arricchiva di sensibili tenori in proteine (20-30 mg/1).
Quando si pensi che è sufficiente qualche milligrammo/litro di proteina per provocare opalescenze nel vino il trattamento con la bentonite prima o agli

inizi della fermentazione tumultuosa non poteva garantire alcuna stabilizzazione proteica del vino stesso.
Avevano ragione tutti e due; infatti le proteine emesse dai lieviti per autolisi sono di natura polipeptica, dosabili però come proteidi, perfettamente termostabili (Moretti e Berg).

## Alcuni aspetti particolari della bentonite

*Azione antiossidasica nei mosti*
Abbiamo nel precedente capitolo analizzato il comportamento antiossidasico della bentonite. Ossia la capacità del minerale di fissare prontamente alcune frazioni di polifenolossidasi, in modo radicale la tirosinasi (o catecolasi), in misura invece esigua, nel caso di uve botritizzate, la laccasi, enzima fortemente ossidasico.
L'asportazione di quest'ultimo enzima da parte della bentonite, secondo Kovac (1978), non supera il 20-30 per cento. Va altresì evitata la contemporanea aggiunta ai mosti, trattati con bentonite, di caseina (o caseinato), che ne limiterebbe ancor più l'effetto adsorbente sulla laccasi.
Sappiamo ancora che la $SO_2$ è un potente inibitore e inattivatore di questi enzimi.
Pertanto il trattamento combinato $SO_2$-bentonite rappresenta un ottimo ed indispensabile mezzo di intervento in pigiati o mosti ottenuti da vendemmie non sane.
Un trattamento che va fatto, insistiamo ancora, con tempestività, cioè all'atto stesso della pigiatura o allo sgrondo se si tratta di vinificazioni in bianco.
Non staremo a ripeterci.
Ci sembra invece non superfluo chiarire che gli enzimi, qualunque essi siano, vengono adsorbiti e fissati dalla bentonite. Tuttavia essi rimangono inalterati e tornano ad essere attivi quando fossero eluiti (Nilow).
Pertanto può essere improprio parlare di inattivazione enzimatica da parte della bentonite. L'adsorbimento degli enzimi è anch'esso legato ai processi di superficie del cristallino bentonitico.

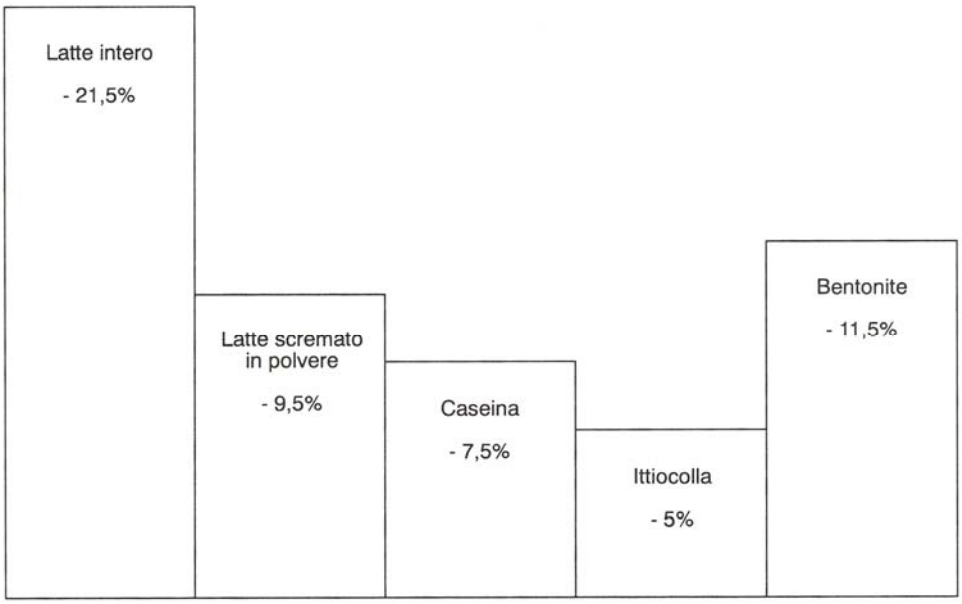
*Adsorbimento di pigmenti e polifenoli*
Altra interessante conseguenza della presenza della bentonite nei mosti in fermentazione è la eliminazione di importanti frazioni di pigmenti (antocianine) e di polifenoli, in stato di progredita polimerizzazione, eppertanto in soluzione instabile.
Anche questo argomento è stato più volte toccato in precedenza.
I vini che si ottengono mostrano un colore particolarmente vivo ed attraente, più resistente all'insidia delle ossidazioni, anche se nel caso di fermentazioni in rosso i vini risultano alquanto meno coloriti.
Chi scrive rimase molto sorpreso da un fatto occorsogli nella prima lontana esperienza di fermentazione del mosto addizionato di bentonite (1953).

*Azione deodorante in fermentazione*

La constatazione cioè, a fermentazione avvenuta, della completa scomparsa dal campione trattato di un fortissimo sapore di tela, che si era trasmesso al mosto ricavato dalla spremitura di alcuni chilogrammi d'uva, con l'aiuto di un telo di canapa nuovo, ancora apprettato. Per contro il vino teste conservava nettamente, anche se alquanto attenuato, il sapore sgradevole del mosto di partenza.

Le prove vennero, per una conferma di questa particolare attitudine della bentonite, più volte ripetute; molti altri sperimentatori negli anni successivi ne confermarono i risultati.

Pertanto la bentonite (di ottima qualità), presente nel mosto in fermentazione, elimina perfettamente gli eventuali odori e sapori estranei più ricorrenti, come quelli di raspo, muffaticcio, marcino, mercaptani, rancido e perfino (entro certi limiti!) di ... nafta. Anche per tale motivo i vini ottenuti rivelano un profumo ed un sapore più netti e delicati.




Variazione di concentrazione di sostanze volatili con diversi trattamenti chiarificanti

Secondo studiosi tedeschi la bentonite in fermentazione riduce la formazione di acetaldeide ($CH_3CHO$), fino a150 per cento; è più efficace a questo riguardo nei mosti rossi. Se così è, ciò riveste notevole importanza dal lato tecnologico.

Come si spiegherebbe questo fatto? Probabilmente perché l'acetaldeide tende a legarsi a proteine e polifenoli, più o meno condensati, che la bentonite fissa e trascina con sè.

È risaputo che al termine della fermentazione in presenza di bentonite si ha una pronta e vistosa decantazione, con notevole effetto chiarificante della massa. Tale evento agevola non poco la separazione del mosto-vino dalla feccia di fermentazione o dalla vinaccia, nel caso di vinificazione in rosso.

*Azione chiarificante a fine Fermentazione*

Va sottolineato che in questa decantazione la bentonite, dopo aver esaurito la sua complessa attività adsorbente, trascina al fondo il torbido feccioso ancora abbastanza ricco di enzimi ossidanti, di materie coloranti e polifenoliche instabili e di altro ancora, eppertanto spoglia anche per questa via il fermentato di sostanze indesiderabili ai fini della perfetta stabilità dei nuovi vini (Cassignard e Sudraud).

Altro fatto molto significativo è che la feccia di fermentazione, ottenuta nella vinificazione in bianco, in presenza di bentonite, può essere filtrata abbastanza agevolmente, senza difficoltà particolari.

Evidentemente la bentonite, nel prolungato contatto con il mosto durante il processo fermentativo, finemente sminuzzata e dispersa dal violento svolgersi della $CO_2$, per saturazione completa delle sue capacità adsorbenti dà luogo ad una flocculazione amorfa e pressochè priva di residui caratteri colloidali. Tale constatazione ci porta a pensare che le possibilità di adsorbimento del prodotto bentonitico vengono sfruttate al massimo in vinificazione.

## Riserve e critiche nei confronti della bentonite

Nonostante le buone intenzioni di sfrondare ... ci accorgiamo che il discorso sulla bentonite si è protratto un po' troppo a lungo; un discorso fors'anche disuguale qua e là, certamente appassionante per noi. La bentonite è in fondo un nostro vecchio cavallo di battaglia!

A conclusione ci chiediamo quali riserve o critiche sono state mosse nel passato al trattamento bentonitico, sia in vinificazione che direttamente nei vini. Qualche accenno, a questo proposito, è stato fatto nelle pagine precedenti, per esempio nei riguardi dell'adsorbimento di alcune vitamine necessarie alla crescita dei lieviti (tiamina, riboflavina). Alcuni autori si sono invece soffermati sulla riduzione della carica amminoacidica ed azotata in genere, a seguito dell'impiego della bentonite nei mosti o nei vini, sia per motivi connessi con la dinamica fermentativa, sia per quanto riguarda la formazione del bouquet dei vini, che ne esalta la qualità.

Così sulla opportunità di addizionare la bentonite ai mosti si sono pronunciati negativamente alcuni studiosi californiani.

La bentonite asporterebbe notevoli frazioni di azoto assimilabile, in primo luogo amminoacidi, sottraendoli alla nutrizione dei lieviti; a parte questo fatto gran parte delle capacità deproteinizzanti della bentonite verrebbe male utilizzata nei mosti, in quanto molte proteine fissate dal minerale sarebbero state ugualmente precipitate durante il processo fermentativo.

Il secondo motivo ha dato luogo alle maggiori perplessità. Gli amminoacidi liberi o altre forme azotate, che con la degradazione enzimatica danno origine a nuovi amminoacidi, concorrono attraverso processi di trasformazione (decarbossilazione, idrogenazione, ecc.) a formare i componenti del bouquet

del vino; pertanto un impoverimento di amminoacidi, conseguente all'aggiunta di bentonite, potrebbe avere riflessi negativi sui caratteri qualitativi del prodotto.
Ma non è tutto; lo stesso depauperamento degli enzimi che presiedono alla trasformazione degli amminoacidi o alle fermentazioni secondarie, come quella malolattica o ancora ai processi di esterificazione e così via, influirebbe non poco sulla maturazione e affinamento del vino.
Per questa ragione alcuni sperimentatori hanno al contrario consigliato di impiegare la bentonite in fermentazione anziché nel vino, onde evitare di impoverire troppo il vino di amminoacidi e di enzimi utili alla sua maturazione (Nilow, Poux, De Francesco).
C'è invece chi, come Jakob, è stato più propenso ad un compromesso, riservando cioè al mosto e successivamente al vino un doppio trattamento bentonitico in dosi ponderate, a seconda della situazione e, in ogni caso, ridotte; sì da sommarne, in qualche modo, i vantaggi e limitarne gli inconvenienti.

La debolezza intrinseca di queste deduzioni, probabilmente ineccepibili da un punto di vista teorico, sta nel fatto che sembrano non avere alcun effettivo riscontro nella pratica o mancano, in ogni caso, di uno studio comparato sotto l'aspetto degustativo (Wucherpfennig, Milisavljevic, Amerine, Jakob).

## Sostanze pectiche e loro demolizione

Descritti gli interventi per la stabilizzazione delle proteine presenti nei vini e nei mosti (gomma arabica, proteasi, bentonite) affrontiamo ora sommariamente l'intervento destinato alla eventuale demolizione delle sostanze pectiche.
Questo secondo gruppo colloidale, che risulta tra i meglio conosciuti e definiti, entra nella composizione dell'uva matura e di conseguenza nel mosto.
I tenori delle pectine nei mosti freschi possono, come abbiamo visto in precedenza, variare moltissimo in relazione al vitigno, ambiente pedoclimatico, stato di maturazione dell'uva, tecnica di vinificazione e via elencando.

### *Enzimi pectolitici industriali*

Diciamo subito che il modo migliore e più sollecito per giungere alla stabilizzazione dei mosti e dei vini caratterizzati da una forte presenza di pectine è il ricorso agli enzimi pectolitici di produzione industriale (esogena), i quali permettono di sopperire alla insufficiente attività degli enzimi naturali (poligalatturonasi, pectinmetilesterasi). Pertanto l'uva, e di conseguenza il mosto, sono naturalmente forniti di enzimi specifici o pectasi endogene, capaci di avviare, a seconda della composizione e condizioni del mosto e

delle modalità di vinificazione, un lento processo di degradazione delle pectine, degradazione enzimatica che avviene progressivamente per gradi nel modo già illustrato nelle pagine antecedenti.
Un siffatto intervento con enzimi pectolitici di natura esterna si propone semplicemente di rafforzare, intensificare l'effetto delle pectasi naturali, allo scopo di portare a compimento in maniera rapida e razionale il predetto processo di idrolisi, in relazione alle molteplici esigenze imposte dalla tecnologia vinicola. Ci sembra superfluo soffermarci sull'iter delle ricerche delle attività di questi enzimi industriali a carattere pectolitico, estratti da alcuni microrganismi quali l'Aspergillus. Ci limiteremo a qualche accenno.

Le prime esperienze risalgono al 1940 (Kickinbohan e Williams).
Altri studi vennero intrapresi, da parte di alcuni americani, negli anni successivi.
L'estensore di queste note (ce ne scusiamo, sono reminiscenze d'una lontana stagione!) ricorda la sua lunga, intensa collaborazione (1948), a fianco dei Proff. Politi e Treccani, presso l'Istituto di Microbiologia dell'Università di Milano, indirizzata alla ricerca, realizzazione e sperimentazione di enzimi pectolitici (Biozim e Fructozim) per il settore dell'enologia e dei succhi di frutta.
Furono quelle, se ben ricordiamo, le prime concrete esperienze del genere condotte in Italia, anche con l'ausilio esterno di Lamberto Paronetto. Quali i risultati? Nel complesso discreti, talvolta contraddittori o incerti.
Quasi sicuramente, a parer nostro, tali insufficienze derivavano in buona parte dalla carente purificazione dei prodotti citati.

Ci furono negli anni che seguirono altri tentativi per una più rigorosa messa a punto, certamente complessa difficile, di questi specifici ed interessanti prodotti enzimatici; i preparati industriali risultavano spesso contenere tracce, più o meno apprezzabili, di enzimi diversi (cellulasi, emicellulasi, proteasi, nonchè enzimi di natura ossidativa), in relazione anche alle tecniche di produzione.
Negli anni settanta i progressi furono tuttavia decisivi, in particolare sotto l'aspetto purezza e specificità enzimatica.
Le critiche, piuttosto frequenti, in quegli anni nei confronti di questi preparati, di cui appariva chiaro l'interesse nel campo frutti-vinicolo, vertevano principalmente su due questioni negative: la tendenza dei vini bianchi trattati con l'enzima pectolitico a fenomeni di lenta ossidazione e la formazione di alcol metilico, conseguente alla degradazione pectica, con tenori talora inaccettabili.
Si faceva l'ipotesi che i fenomeni di ossidazione dovessero derivare dalla presenza, seppur in tracce, nel preparato pectolitico di enzimi a carattere ossidativo (tipo polifenolossidasi).
Ipotesi in seguito sfatata da Castino (1976) in quanto il fatto doveva essere imputato alla esistenza nel vino dell'acido poligalatturonico proveniente, in

cospicui tenori, dalla degradazione delle pectine; infatti tale acido è uno dei responsabili, come è stato accennato nel precedente capitolo, di reazioni di tipo ossidativo nel vino.
L'incremento, specialmente nei mosti di uve rosse e di conseguenza nel vino, dell'alcol metilico rimane tuttora il tallone d'Achille di questo enzima; incremento che può oscillare dal 5 a140 per cento, in rapporto alle varietà del vitigno e ai tempi di macerazione. Va detto che attualmente disponiamo di enzimi pectolitici altamente selezionati, dotati di elevatissima attività: basti pensare che dalle dosi di 10-50 g/hl di molti anni fa si è oggi passati a 1-3 g/hl.

Quali vantaggi si possono conseguire con l'impiego di questo enzima?
Distinguiamo anzitutto tra mosti bianchi e pigiati o mosti di uve rosse.
Nel primo caso la demolizione delle sostanze pectiche avviene quasi completamente nel corso della fermentazione per il solo effetto degli enzimi naturali; pertanto le masse (derivate da uve sane) tendono ad una normale decantazione del torbido.
L'addizione di enzimi pectolitici industriali a questi mosti accentua nettamente la chiarificazione al termine del processo fermentativo, grazie anche alla diminuzione della viscosità, con filtrazioni meno intasanti.

Nella pressatura delle uve, in questo modo, si ottengono incrementi di resa in mosto fiore, oltre ad una più marcata estrazione di sostanze aromatiche primarie.

Nella vinificazione in rosso la situazione, a questo riguardo, tende a complicarsi: infatti le pectasi naturali, per la presenza delle vinacce e quindi della elevata concentrazione tannica, nel corso della fermentazione alcolica vengono pressochè neutralizzate anche se talora incrementate; soltanto alla separazione del nuovo vino dalla vinaccia l'enzima (naturale) riprende la sua attività idrolitica, che può persistere per alcuni mesi, fino alla completa scomparsa delle pectine.

Ora l'aggiunta al pigiato di uve rosse di una buona carica di enzima pectolitico di produzione industriale assicura non soltanto una più alta resa in mosto fiore, ma persistendo l'attività idrolitica anche durante la fermentazione si avrà una più incisiva e pronta estrazione del colore, a seguito della disgregazione dei tessuti cellulari della buccia, con la possibilità di accorciare i tempi di macerazione.

Un particolare questo che dipende molto dalla varietà delle uve rosse; più sensibili alla cessione enzimatica del colore si rivelano le uve dove prevalgono i pigmenti diidrossilati (Castino, Ubigli, Bella 1978-79).
Sottolineiamo ancora che, a seguito del trattamento con enzimi pectolitici, la torchiatura delle vinacce sia di uve bianche che rosse si fa più facile e soffice,

con la possibilità di un migliore sfruttamento delle stesse.

*Alcol metilico e disturbi organolettici*

Come si vede i vantaggi evidenziati sono numerosi ed interessanti; ma, come in tutte le cose di questo mondo non c'è medaglia che non abbia il suo rovescio. Ebbene, come è stato appena accennato ed in particolare con la vinificazione in rosso, si possono avere nei prodotti trattati aumenti pericolosi d'alcol metilico e talvolta modificazioni, non sempre gradite, dei caratteri qualitativi dei vini. Soprattutto quando trattasi di prodotti di grande pregio.
Per tali ragioni il trattamento con enzimi pectolitici dei mosti o vini deve essere, a nostro giudizio, effettuato con molta discrezione e dopo preventive prove sperimentali, nonché impiegando preparati di ottima qualità ed estrema purezza.

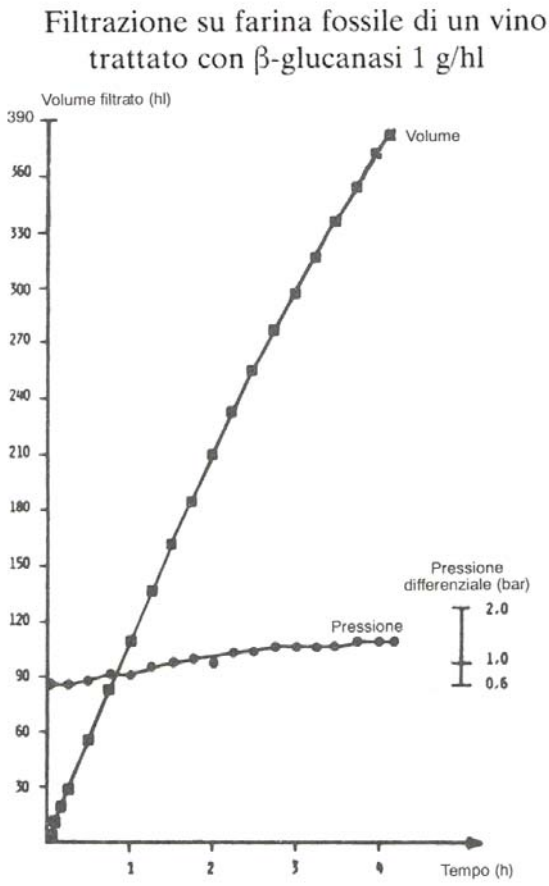
## Un enzima importante: la β-glucanasi

Concludiamo questo capitolo sui colloidi naturali del vino o del mosto con una breve analisi relativa alla β-glucanasi, un enzima altamente specifico e, come vedremo di seguito, di rilevante interesse per il nostro settore.
Annotiamo che tale enzima è stato in modo definitivo messo a punto negli anni ottanta; in particolare vi si sono dedicati alcuni valenti studiosi, quali Dubourdieu (1981), Villataz (1982) ed altri ancora.
La posta si presentava certamente difficile ed importante; si trattava di risolvere, per via enzimatica, uno dei problemi più ardui del settore enologico (e non soltanto enologico), vale a dire la degradazione di quei colloidi, come il β-glucano, di cui ci siamo occupati precedentemente, di elevato peso molecolare ed estremamente stabili, che agiscono, nel caso dei mosti e dei vini provenienti soprattutto da uve botritizzate, da potenti fattori di protezione e di intasamento tali da ostacolare o inibire, a tenori anche modesti, qualunque forma di chiarificazione e filtrazione.

Dunque un vecchio, spinoso problema che per decenni specialmente in certe annate a decorso umido e piovoso, favorevole alle infezioni botritiche, è stata la preoccupazione e talvolta l'incubo degli operatori di cantina.
Chi scrive, ora è un trentennio (tempus fugit!), tentò inutilmente degli approcci negli Stati Uniti e altrove, nella speranza (forse ingenua) di poter individuare una soluzione di natura enzimatica, che ritenevamo l'unica possibile a questo riguardo.
Abbiamo voluto ricordare la circostanza per sottolineare l'importanza che a quel tempo e negli anni successivi presentava ed urgeva una simile questione.
Nella pratica allora, soprattutto nelle situazioni peggiori, non rimaneva che affidarsi alle tradizionali operazioni di chiarificazione e filtrazione, adottando casomai opportuni e talora esasperanti accorgimenti, alla ricerca d'un qualche spiraglio, quasi sempre con rilevanti perdite di tempo e costi impossibili.
Con l'avvento della β-glucanasi (1-3), enzima o più precisamente un

complesso enzimatico estratto da colture di un fungo del genere Trichoderma, specifico nei processi di idrolisi del polisaccaride β-glucano, si è potuta attuare la soluzione tanto agognata e certamente brillante sotto ogni aspetto.

Molto è stato scritto negli anni più recenti su tale realizzazione non soltanto nuova nella storia della biotecnologia vinicola, ma, diciamolo pure, rivoluzionaria. Forse (è questa una nostra impressione) il settore di cui ci occupiamo non ha ancora recepito come merita l'avvenimento.
Dobbiamo rammentare quanto anche in queste note è stato precisato, ossia che il β-glucano non deriva soltanto dalla Botrytis cinerea (compresa quella "nobile"), ma viene spesso sintetizzato sia pure in tenori ridotti ed in forme di norma più semplici, anche da ceppi di lievito nel corso della fermentazione, indipendentemente dal fatto che siano mosti botritizzati o sani. La chiarificazione spontanea o provocata delle masse, imperfetta o stentata che sia in presenza pur di piccole concentrazioni di β-glucano (10-20 mg/1), non ne riduce menomamente l'effetto protettivo ed intasante; la stessa constatazione vale per le filtrazioni sgrossanti e correnti, in quanto le micelle del colloide (β-glucano) attraversano abbastanza agevolmente o in larga misura questi tipi di strati filtranti, mentre tendono ad intasare rapidamente quelli più stretti, rendendone difficile o impossibile l'operazione, in particolare quando trattasi di microfiltrazione.
Questo fatto può verificarsi anche quando la massa prima della filtrazione si presentasse quasi perfettamente limpida: fenomeno che sovente trae in inganno l'operatore di cantina.
Ciò significa, in altri termini, che la carica di β-glucano pur presente in tenori significativi, anche dopo un lungo riposo delle masse o dopo difficili filtrazioni sgrossanti o brillantanti, rimane quasi intatta nel vino. Diversamente gli stessi vini, dopo il trattamento con l'enzima β-glucanasi, consentono nelle filtrazioni su strati filtranti sterilizzanti oppure su membrane microporose rendimenti quanto meno normali e costanti.
Ciò che conta è operare correttamente, con prodotti enzimatici altamente qualificati e nelle dosi più appropriate, in relazione alla composizione e situazione delle masse da trattare e tenendo presente alcuni fattori a carattere limitante.




Così i pH bassi tendono a ridurre l'attività della β-glucanasi; a pH 3 la caduta dell'attività idrolitica è notevole. Per tale ragione le dosi di enzima vanno aumentate tanto più il valore piaccametrico risulta basso (da 3,3 a 2,9).

La temperatura mostra invece di non influire sensibilmente sull'efficacia degradante dell'enzima dai 10 ai 30°C. Sotto gli 8-10°C si hanno invece rallentamenti nei riguardi della velocità d'azione, per cui in questi casi è opportuno attendere più a lungo, ad es. dai 5-6 giorni per 20°C ai 10 giorni per 6-8°C.

Anche la $SO_2$ nelle dosi normali di impiego non modifica in maniera apprezzabile il quadro di attività delle β -glucanasi.

Lo stesso dicasi per la presenza dell'alcol nei vini, quando questo non superi i 14-15 gradi. Un rilevante tenore in β-glucano ed una forte concentrazione in polifenoli possono influire sulla situazione legata all'attività dell'enzima. In questi casi si consiglia di procedere a prove in piccolo prima di passare al trattamento sulle masse.

Altra viva raccomandazione è di evitare in modo assoluto il ricorso alla bentonite prima che il trattamento enzimatico abbia completato la sua azione, tenuto conto che, come risaputo, la bentonite fissa ed inattiva gran parte degli enzimi.

Concludiamo questo ventaglio di osservazioni ricordando che la β-glucanasi esercita appieno tutta la sua carica idrolitica soprattutto sui mosti e sui vini provenienti da uve nettamente "botritizzate".

Il preparato enzimatico β-glucanasi, dopo particolare purificazione, è posto

sul mercato in forma di polvere solitamente solubile oppure allo stato liquido. Talvolta viene commercializzato in combinazione con la pectinasi o enzima pectolitico, sì da manifestare una duplice azione concomitante, idrolisi del β-glucano e delle pectine.
Le dosi di impiego vanno normalmente da 1 a 3 g/hl, raramente fino a 4-5 g. È bene rammentare che il prodotto va conservato in luogo fresco ed asciutto.
Le forme in polvere, a temperatura ambiente, conservano una perfetta stabilità durante un anno; la forma liquida andrebbe invece mantenuta a +4°C per assicurare la stessa durata di stabilità. Caso diverso la perdita d'attività è ragionevolmente valutata sul 15% annuo.

## Conclusioni

Dopo questa lunga maratona sui colloidi vorremmo concludere con una breve annotazione. Anzitutto, come abbiamo osservato all'avvio del capitolo, il vino va considerato un vero e proprio "sistema colloidale", la cui importanza, da un punto di vista strutturale, qualitativo e degli equilibri, è essenziale. Aggiungiamo ancora che, secondo alcuni Autori, non esisterebbe tanto una generica questione di sostanze colloidali presenti in differenti tenori e forme nel vino, quanto lo stato degli equilibri colloidali che caratterizzano un determinato vino.
Ora una sconsiderata e spinta eliminazione delle sostanze colloidali (eccesso di chiarificazioni, microfiltrazioni a flusso tangenziale, ultrafiltrazioni, ecc.), ritenute spesso un impedimento e ostacolo alla elaborazione e stabilizzazione dei vini, sarebbe, enologicamente parlando, un grave errore.

Alcuni interventi, a tale riguardo, si rendono tuttavia indispensabili: tra questi la stabilizzazione delle proteine instabili e la possibilità di degradare, come abbiamo visto dianzi, alcuni colloidi fortemente intasanti, onde consentire la chiarificazione e la filtrazione spinta delle masse.
Interventi, comunque, da attuare con raziocinio e molta prudenza.
I colloidi naturali, infatti, conferiscono al vino non soltanto una particolare nota di armonicità e di gradevolezza gustativa, ma costituirebbero, secondo alcune esperienze (Feuillat 1987), importanti fattori di supporto per le materie odorose volatili (esteri, aromi, bouquet, ecc.).
Tali principi odorosi verrebbero, in questo modo, fissati e protetti nel tempo dalle sostanze colloidali; quali siano poi i meccanismi di siffatte interazioni non è dato ancora di conoscere.