

# Claristar™

Un nuovo ingrediente  
per la stabilizzazione tartarica



Céline BAJARD-SPARROW

Mylène CAUSSETTE

Céline FAUVEAU

Phil LATHAM

Patrice PELLERIN

Peter LANKHORST

**DSM Food Specialties**

**Parc Scientifique Agropolis II**

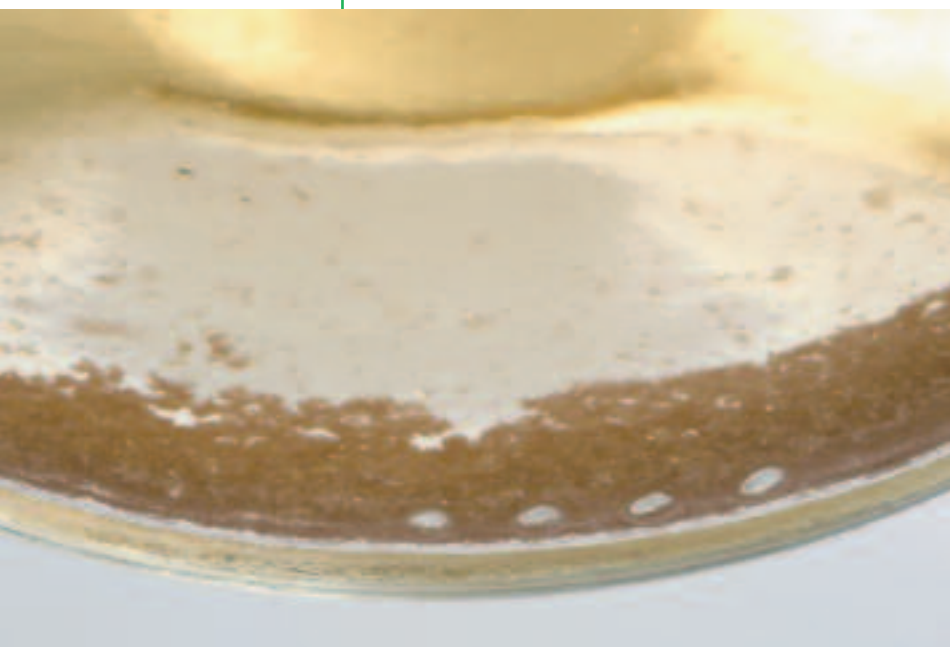
**Bât 5, Bd de la Lironde,**

**34397 MONTPELLIER**

**FRANCE**

La proprietà di protezione delle mannoproteine sulla cristallizzazione tartarica continua ad essere di notevole interesse per l'industria vinicola. Tuttavia, fino ad oggi, poca attenzione è stata accordata alla diversità delle mannoproteine di lievito e alla qualità dei loro effetti nel vino. Le mannoproteine di lievito sono veramente una grande famiglia di molecole; le loro specifiche composizioni e configurazioni conferiscono loro particolari funzionalità e stabilità al vino. Con oltre un secolo di esperienza nella tecnologia dei lieviti e nel commercio degli ingredienti per il vino, DSM ha recentemente identificato una frazione di mannoproteina che ha ottime funzionalità contro la cristallizzazione tartarica. Questa tecnologia è alla base di un nuovo ingrediente per il vino, commercializzato sotto la denominazione Claristar™.

In questo periodo di crescente preoccupazione per l'ambiente, Claristar™ fornisce un'alternativa naturale ai trattamenti fisici esistenti come la stabilizzazione a freddo o l'elettrodialisi, senza alcun fabbisogno energetico né idrico supplementare né produce effluenti. Claristar™ è un ingrediente liquido che può essere aggiunto direttamente nel vino prima dell'imbottigliamento, così aumenta l'efficacia e minimizza i cambiamenti di processo. Per quanto riguarda le prestazioni, il prodotto è stato testato in modo dettagliato dagli esperti in stabilizzazione tartarica. Questo articolo illustra alcuni risultati della ricerca.



## **Claristar™, la soluzione naturale per la stabilità tartarica**

I vari studi con vino affinato su fecce fini hanno evidenziato che il lievito, dopo la fermentazione alcolica, rilascia numerosi residui quali le mannoproteine, i peptidi, gli amminoacidi e gli acidi nucleici. Lubbers *et al.* hanno rilevato che le mannoproteine hanno un effetto positivo sulla stabilità tartarica. Successivi studi hanno confermato che il vino affinato per alcuni mesi sulle fecce fini diventa relativamente stabile alla precipitazione tartarica e quindi non necessita di una stabilizzazione a freddo (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000 b). Dopo numerosi anni di ricerca e sviluppi in questo campo, i ricercatori e gli enologi della DSM hanno migliorato le conoscenze e sviluppato un nuovo prodotto per

impedire la precipitazione tartarica nei vini; in questo modo lo studio della biochimica delle mannoproteine e dei loro effetti nel vino è stato molto più completo. La sfida è stata lo sviluppo di un processo efficace per estrarre determinate frazioni di mannoproteine dal lievito.

In precedenza, le mannoproteine utilizzate in enologia erano solitamente ottenute in due modi:

- **un metodo fisico** che consiste nel trattamento termico delle pareti cellulari del lievito a temperatura molto elevata (ad es. 120 °C).
- **un metodo enzimatico** con idrolizzazione delle pareti cellulari di lievito ad opera della  $\beta$ -glucanasi per liberare le mannoproteine.

Entrambi i metodi possono risultare insoddisfacenti. Le mannoproteine così isolate sono parzialmente insolubili e/o con impurità insolubili. Un rimedio dopo trattamento sarebbe di rimuovere tutto il materiale insolubile nel vino tramite filtrazione, con il rischio di rimuovere le mannoproteine funzionali. Oltre ai citati problemi, la frazione di mannoproteina ottenuta con questi metodi ha spesso limitato l'efficacia contro la cristallizzazione del bitartrato del potassio (KHT). La tecnologia sviluppata dalla DSM permette ora l'isolamento delle frazioni di mannoproteine perfettamente solubili che sono molto attive nella prevenzione della cristallizzazione del KHT. In questa procedura, le cellule intere di lievito sono idrolizzate per ottenere un estratto di lievito e un materiale insolubile.

Le mannoproteine selezionate sono poi isolate dall'estratto di lievito per ultrafiltrazione. Per concludere, la frazione di mannoproteine può essere ulteriormente purificata per migliorarne la solubilità e ottimizzarne l'efficacia nel vino.

Per mantenere le loro proprietà specifiche, le mannoproteine della DSM sono conservate allo stato liquido naturale, per facilitarne l'uso per gli enologi.

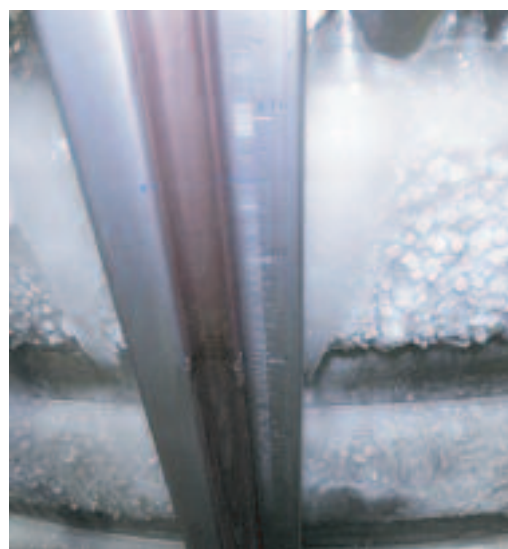
## Stabilità tartarica, meccanismi e trattamenti attuali

Il **bitartrato di potassio** è solubile in determinate condizioni di temperatura e di pressione. Nel vino, questo sale è instabile per la sovrassaturazione che può condurre in certe condizioni alla formazione di cristalli, ad es. le basse temperature. Questo fenomeno è conosciuto come precipitazione tartarica o cristallizzazione.

La **stabilità del vino** è influenzata da vari fattori: contenuto in acido tartarico, concentrazione in potassio e in ioni di calcio, pH, concentrazione in etanolo, temperatura e presenza di colloidali. Oggi sono utilizzati vari trattamenti per impedire la precipitazione dei sali di tartrato.

Il più vecchio, descritto da Scazzola E. (1956), consiste nell'aggiunta nel vino instabile di acido metatartarico. Questa molecola impedisce lo sviluppo dei cristalli di KHT. Tuttavia, la sua azione è limitata nel tempo per la sua graduale idrolisi in acido tartarico libero. Ciò provoca un aumento della sovrassaturazione che favorisce la cristallizzazione del tartrato di potassio (Carafa, 1958).

La **stabilizzazione a freddo**, altra tecnica comunemente utilizzata, è caratterizzata dalla lunga conservazione del vino (per settimane) a bassa temperatura. Il freddo induce la formazione di cristalli di tartrato di potassio. Questa tecnica può essere accelerata con l'aggiunta di cremortartaro (soluzione di microcristalli di tartrato di potassio) che svolge il ruolo di germi di cristallizzazione.

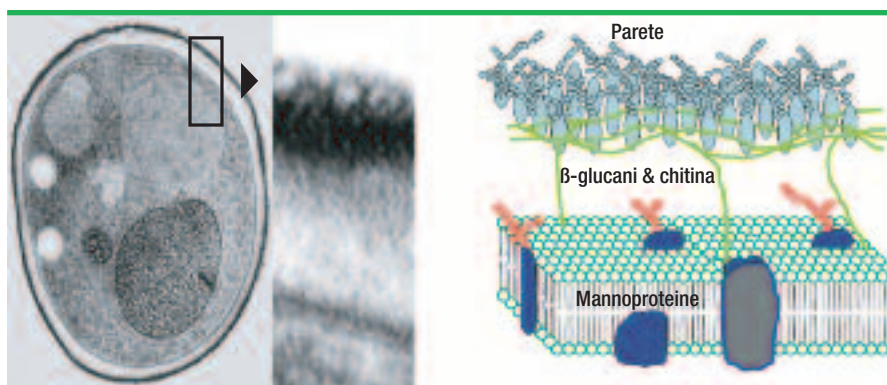


Una **volta formati**, i cristalli si sviluppano e saranno poi rimossi tramite filtrazione. Il metodo più recente è basato sulla tecnologia dell'elettrodialisi. Il vino è riciclato fra le piastre.

La differenza del potenziale elettrico fra queste piastre forza la migrazione delle molecole tramite una membrana selettiva e rimuove il materiale ionico dal vino (Saint Pierre et al., 1995).

## Mannoproteine, definizione e proprietà

Le mannoproteine sono dei componenti naturali della parete cellulare del lievito (fig. 1). La parete cellulare di *Saccharomyces cerevisiae* è composta al 90% di polisaccaridi (glucani e mannani) e di proteine, lipidi, fosfati, chitina e minerali. L'architettura della parete cellulare del lievito è stata ampiamente aggiornata da Kapteyn et al. (1999) e da Lipke et al. (1998). Le mannoproteine sono rilasciate nel vino, in primo luogo durante la fermentazione alcolica e poi durante l'autolisi del lievito mentre il vino si affina su fecce fini.

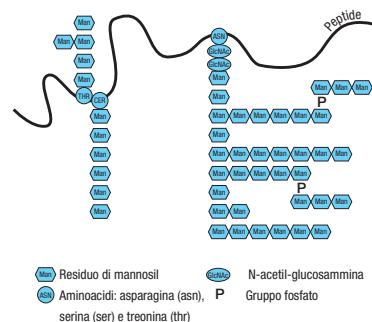


**Figura 1:** immagine al microscopio elettronico di una cellula di lievito e rappresentazione schematica della parete cellulare del lievito.

Naturalmente prevalenti nel vino, le mannoproteine rappresentano la seconda famiglia più grande di polisaccaridi nel vino (Vidal et al., 2003).

Le mannoproteine sono strutture di residui di mannosio molto ramificate, collegate dai vari legami glicosidici e da una catena di polipeptidi. Il loro peso molecolare può raggiungere 800 kDa. Benché tutte le mannoproteine abbiano una struttura comune (fig. 2), presentano una grande diversità nella loro composizione, nel tipo di legami glicosidici e nell'organizzazione. Queste differenze caratterizzano le loro proprietà e gli effetti nel vino, dal miglioramento della sensazione in bocca alla stabilità tartarica indotta.

L'effetto colloidale protettivo delle mannoproteine è ben noto in vinificazione. L'aumento della stabilità nel vino affinato su fecce fini è stato osservato da anni. Sono state descritte



**Figura 2:** rappresentazione dell'organizzazione strutturale delle mannoproteine.

ulteriori proprietà delle mannoproteine: stabilizzazione della cassa proteica (Ledoux *et al.*, 1992; Waters *et al.*, 1994), altre prove sulla stabilità del tartrato del potassio (Lubbers *et al.*, 1993; Moine-Ledoux e Dubourdiou, 1997; Moine-Ledoux e Dubourdiou, 1999).

Le mannoproteine sembrano impedire la formazione di cristalli. È stato osservato che un'eliminazione parziale o totale dei colloidali protettivi durante il processo di vinificazione genera una modifica dell'equilibrio del vino che conduce alla perdita di stabilità tartarica. Il meccanismo di azione è descritto sulla base di una inibizione competitiva, che limita la formazione di cristalli (Moutounet *et al.*, 1999).



Si concorda generalmente che le mannoproteine inibiscono la nucleazione (prima fase della formazione di cristalli, mentre il loro effetto sullo sviluppo dei cristalli è meno importante).

Di conseguenza, la protezione del vino contro l'instabilità tartarica può essere realizzata soltanto, quando non ci sono cristalli nel vino (Moutounet *et al.*, 1999).

## Materiale e metodi

Le prove di convalida descritte in questo articolo sono state eseguite con vini delle annate 2004 e 2005.

### Materiali

#### Vino

- *Assemblaggio Cannonau bianco e Viognier 2004 con un DIT del 18 % (lotto A) e del 22,5 % (lotto B).*
- Sauvignon bianco 2005 con un DIT del 22 %.

### Mannoproteine

*Claristar™ prodotto dalla DSM. Questo prodotto può essere utilizzato per la stabilizzazione tartarica del vino conformemente al Codice enologico internazionale dell'OIV e al regolamento (CE) n° 2165/2005 del 20 dicembre 2005.5.*

### Metodi

*Il vino è stato diviso in due lotti da 10 litri per ogni assemblaggio di Cannonau bianco/Viognier e da 35 hl per il Sauvignon. Il primo lotto era di controllo, non trattato, e il secondo è stato trattato con 20 g/hl di Claristar™ espressi in materia secca. Tutti i vini erano stati in precedenza chiarificati con 30 g/hl di bentonite e sono stati filtrati con farina fossile bianca.*

### Metodi di analisi del vino

Sono state effettuate le seguenti analisi sui vini di controllo e dopo l'aggiunta di Claristar™

- Concentrazione in potassio (misurata con fotometria).
- Concentrazione in acido tartarico (misurata con HPLC per cromatografia ionica).
- Torbidità (misurata per nefelometria).
- Conducibilità (con un riferimento a 20 °C).
- pH
- V max (portata di filtrazione a 1 bar su membrana di Ø 25 mm e pori di Ø 0,65 mm).
- Indice di filtrazione (portata di filtrazione a 2 bar su membrana di Ø 25 mm e pori di Ø 0,65 mm).
- DIT: 4 g/l di cristalli di KHT standard sono stati aggiunti al vino al -4 °C, con l'agitazione regolare a 500 giri/mn (modello basato sul trattamento per contatto applicato in cantina). La conducibilità è stata controllata per 4 ore ed i dati sono stati rilevati fino all'equilibrio. L'instabilità è stata espressa in percentuale di riduzione della conducibilità. La maggior parte dei vini commerciali ha un DIT del 20-25 % al momento dell'imbottigliamento.

### Metodi per misurare la stabilità del vino

- Stabilizzazione a freddo: il vino è stato conservato a - 4 °C. La limpidezza del vino è stata controllata giornalmente fino al momento in cui i cristalli non fossero più visibili (0 nessun cristallo, \* sospetto di cristalli, \*\* cristalli visibili). Un vino commerciale è considerato generalmente stabile se non c'è formazione di cristalli nei primi 6 giorni.
- ISTC 50: 50 mg di KHT sono stati disciolti in 100 ml di vino. Il vino è stato raffreddato a - 4 °C con l'agitazione regolare a 500 giri/mn e la conducibilità è stata misurata.

	Grenache - Viognier 2004 Lotto A		Grenache - Viognier 2004 Lotto B		Sauvignon 2005	
	Prima	Dopo	Prima	Dopo	Prima	Dopo
Grado alcolico	13.08	13.06	12.59	12.61	-	-
pH	3.43	3.43	3.42	3.42	3.39	3.37
Torbidità (NTU)	0.8	0.9	2	3.6	0.5	0.7
Conducibilità $\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C	1638	1645	1836	1843	1708	1725
Acido tartarico (g/l)	-	-	-	-	1.85	1.7
K+ (mg/l)	-	-	-	-	753	768
V max	-	-	-	-	4872	1044
Indice di filtrazione	-	-	-	-	8	36
DIT	18 %	18.6 %	22.5 %	20 %	22 %	20.4 %

**Tabella 1:** composizione nel vino.

I risultati sono espressi in tempo necessario per ottenere una diminuzione della conducibilità. La prova è paragonabile a quella della stabilizzazione a freddo a -4°C, ma dà una risposta più rapida. Un vino commerciale è generalmente considerato stabile quando se non c'è formazione di cristalli entro 180 minuti per i vini rossi e rosati o entro 120 minuti per i vini bianchi.

## Risultati e discussione

### Effetto sulla composizione nel vino

Il grado alcolico, il pH, la torbidità, la conducibilità, la concentrazione in acido tartarico, la concentrazione in potassio, la velocità massima, l'indice di filtrazione e il DIT sono stati misurati su tre vini diversi prima e dopo l'aggiunta di Claristar™.

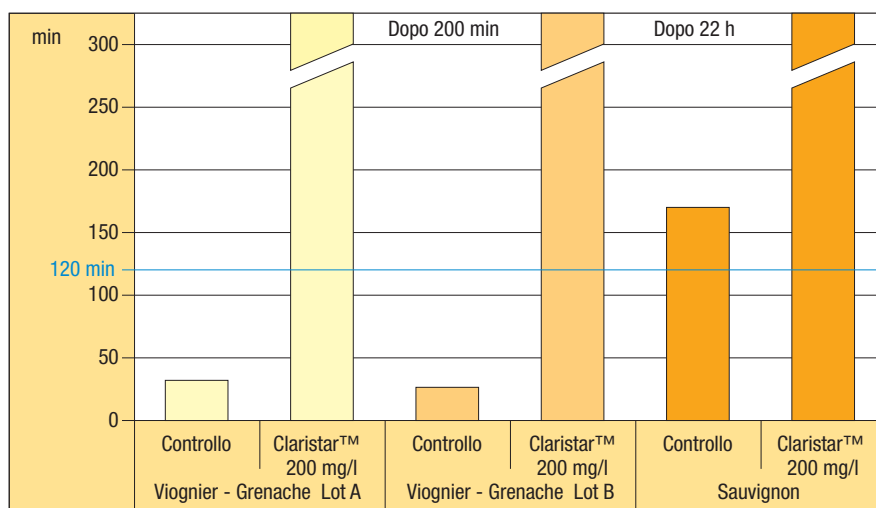
I risultati sono presentati nelle tabelle 1 e 2.

■ Il Claristar™ non ha modificato la composizione del vino né la torbidità (tab.). L'aggiunta di Claristar™ ha avuto effetto sulla V max e sull'indice di filtrazione entro limiti accettabili per i processi d'imbottigliamento commerciali

### Effetto sul profilo aromatico del vino

Il Claristar™ è stato aggiunto ad una dose di 200 mg/l (materia secca) al Sauvignon e allo Chardonnay. Ogni vino è stato assaggiato e paragonato a quello di controllo.

■ Una prova triangolare (n = 42) ha permesso di concludere che non sono state rilevate delle differenze significative nel profilo aromatico dell'uno o dell'altro vino (rischio  $\beta$  50 % dello 0,1% e < 0,01%).



### Effetto su stabilità del vino

Le prove di stabilità a -4 °C e l'ISTC 50 sono state effettuate su entrambi i vini prima (controllo) e dopo l'aggiunta di Claristar™ (T0 = subito dopo il trattamento del vino, T12 = dopo 12 mesi di conservazione a 18 °C). Le analisi dopo 12 mesi sono state effettuate soltanto sul Sauvignon 2005.

■ La figura 3 mostra l'effetto di Claristar™ sull'ISTC 50 sul Viognier Cannonau e sul Sauvignon. I risultati sono espressi in tempo necessario per ottenere una diminuzione della conducibilità. Un vino è considerato generalmente stabile, quando il tempo per rilevare il calo di conducibilità è superiore a 120 minuti.

**Figura 3:**

ISTC 50 (esperimenti eseguiti dall'INRA). Tempo (minuti) in cui la conducibilità diminuisce in funzione del tipo di vino



	Grenache - Viognier Lotto A		Grenache - Viognier Lotto B		Sauvignon	
	Controllo	Claristar™ at 200 mg/l	Controllo	Claristar™ 200 mg/l	Controllo	Claristar™ 200 mg/l
Giorno 1	*	0	*	0	0	0
Giorno 2	**	0	**	0	*	0
Giorno 3	-	-	-	-	**	0
Giorno 4	-	-	-	-	**	0
Giorno 5	**	0	**	0	**	0
Giorno 6	**	0	**	0	**	0
Giorno 7	**	0	**	0	**	0
Giorno 8	**	0	**	0	**	0
Giorno 9	**	0	**	0	**	0
Giorno 10	**	0	**	0	-	-
Giorno 16	-	-	-	-	-	-
Giorno 29	**	0	**	0	**	0
Giorno 33	**	0	**	*	-	-
Giorno 34	**	0	**	**	-	-
Giorno 36	**	0	**	**	-	-
Giorno 37	**	0	**	**	-	-

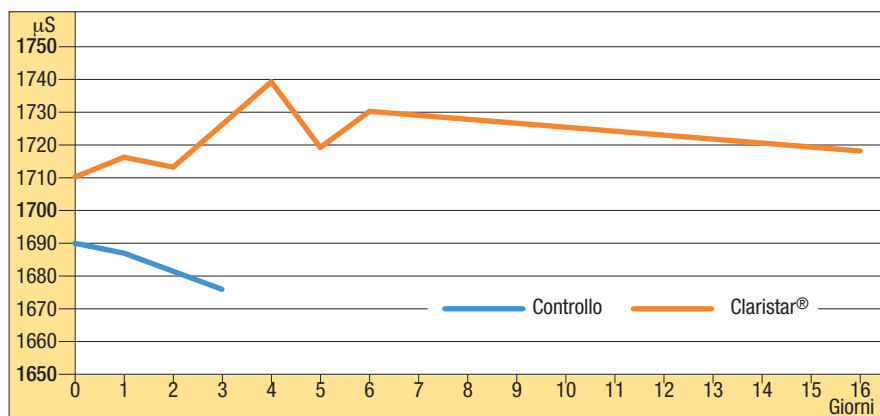
**Tabella 2:** effetto di Claristar™ sulla cinetica della comparsa di cristalli.

■ La figura 3 evidenzia che tutti i vini non trattati erano instabili (25 minuti per Viognier - Cannonau e 160 minuti per il Sauvignon). Tutti i vini trattati con Claristar™ erano stabili (periodi che eccedono 120 minuti).

■ La tabella 2 mostra l'efficacia di Claristar™ controllata con la prova di stabilizzazione a freddo a - 4 °C.

■ La tabella 2 indica che i cristalli sono comparsi nel vino di controllo in 1 o 2 giorni. Tuttavia, quando è stato aggiunto Claristar™, la comparsa dei cristalli è stata ritardata di oltre 29 giorni a - 4 °C. L'aggiunta di Claristar™ ha quindi migliorato la stabilità di questi vini altamente instabili.

■ È stata osservata una significativa diminuzione di conducibilità il terzo giorno, nel vino non trattato. Nessuna diminuzione di conducibilità è stata osservata nel vino trattato con Claristar™ nei primi 16 giorni a -4 °C. Questo risultato è conforme alle osservazioni visive e conferma l'effetto protettivo di Claristar™.



**Figura 4:** conducibilità (µS) in tempo.

### Effetto su conducibilità del vino

La conducibilità è stata misurata in tempo per il Sauvignon 2005. I risultati sono presentati nella figura 4.



		controllo		Claristar™ 200 mg/hl	
		Conducibilità	Visivo	Conducibilità	Visivo
ISTC 50 in minuti		110		>300	
Conducibilità in $\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C	Giorno 0	1702	-	1718	-
	Giorno 1	1717	0	1735	0
	Giorno 2	1719	0	1737	0
	Giorno 3	1702	*	1761	0
	Giorno 4	1654	**	1746	0
	Giorno 5	1620	**	1738	0
	Giorno 6			1734	0
	Giorno 7			1724	0
	Giorno 8			1739	0
	Giorno 9			1739	0
	Giorno 16			1719	0

**Tabella 3:** conducibilità ( $\mu\text{S}$ ) ed osservazione visiva a -4 °C in funzione del tempo e dell'ISTC 50 dopo 12 mesi, conservati a 18 °C.

## Stabilità del vino nel tempo

La stabilità del Sauvignon è stata controllata dopo 12 mesi di conservazione a 18 °C.

I risultati sono presentati nella tabella 3.

L'osservazione visiva, le misure di conducibilità e l'ISTC 50 sono stati ripetuti.

■ I risultati indicano che anche dopo 12 mesi di conservazione il vino trattato con Claristar™ è rimasto stabile (ISTC 50 > 300 mn e nessuna formazione di cristalli osservata nei primi 16 giorni a -4°C). In conclusione, il Claristar™ è stato molto efficace per la stabilità a lungo termine contro la cristallizzazione di KHT.

## Conclusioni

Questi studi sono il risultato dell'insieme delle prove effettuate sul nuovo ingrediente di manno proteina, Claristar™.

Questa specifica frazione di manno proteina è stata molto efficace contro la cristallizzazione tartarica su tutti i vini esaminati per un periodo di almeno 18 mesi. Prove di stabilità su questo vino sono ancora in atto. Inoltre, Claristar™ non ha modificato la composizione né il gusto nel vino. Gli studi stanno proseguendo compreso la valutazione comparativa con le altre tecniche attuali di stabilizzazione tartarica. I risultati fin qui ottenuti confermano che Claristar™ è una soluzione molto efficace e facile da usare per risolvere il problema della precipitazione tartarica. Ulteriori risultati saranno pubblicati questo anno.



- "Un nuovo ingrediente per la stabilizzazione tartarica", *Vignevini* n°11- 2007. Delphine BOUISSOU, Alain SAMSON, Bernard SAINT-PIERRE, INRA - Unité expérimentale de Pech Rouge - Gruissan - France. Céline BAJARD-SPARROW, Mylène CAUSSETTE, Céline FAUVEAU, Phil LATHAM, Patrice PELLERIN, Peter LANKHORST, DSM Food Specialties.
- SCAZZOLA E., 1956. Sur un produit inhibiteur de la cristallisation du tartre dans les vins. *Ann. Falsif., Fraudes*, 49, 159.
- CARAFA P., 1958. L'acido metatartarico in enologia. *Rivista Vitic. Enol.*, 11, 363.
- KAPTEYN J.C., VAN DEN ENDE H., KLIS F.C., 1999. "The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall", *Biochim. Biophys. Acta* 1426, 373-383.
- LIPKE P.N. and OVALLE R., 1998. "Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges", *J. Bacteriol.* 180 (15), 3735-3740.
- LEDOUX V., DULAU L., DUBOURDIEU D., 1992. "Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies." *J. Int. Sci. Vigne et Vin* 26: 239-251.
- LUBBERS S., LEGER B., CHARPENTIER C., FEUILLAT M., 1993. Effet colloïde-protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'une solution hydro-alcoolique modèle. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 27, 13-22, 65-66.
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1997. "Interprétation moléculaire de l'amélioration de la stabilité protéique des vins blancs au cours de leur élevage sur lies."
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1999. An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *J. Sci. Food Agric* 79 :537-543.
- MOUTOUNET M., BATTLE J. L., SAINT PIERRE B., ESCUDIER J. L., 1999. Stabilisation tartrique. Détermination du degré d'instabilité des vins. Mesure de l'efficacité des inhibiteurs de cristallisation. *Œnologie* 99. 6e symp. int. d'Œnologie.
- RIBEREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A., DUBOURDIEU D., 1998. *Traité d'œnologie. Tome I : Microbiologie du vin. Vinifications. Traité d'œnologie.* Dunod. Bordeaux.
- SAINT PIERRE B., BATTLE J., ESCUDIER JL., MOUTOUNET M., 1995. *Symposium International d'œnologie de Bordeaux.*
- VIDAL S., WILLIAMS P., DOCO T., MOUTOUNET M. et PELLERIN P., 2003. The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterisation. *Carbohydrate Polymers*, 54, 439-447.
- WATERS E., PELLERIN P., BRILLOUET J.-M., 1994. A Saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrate Polymers* 23, 185-191.
- Vmax and coating index:  
web reference:  
<http://www.matevifrance.com/visualisation.asp?rub=7&ch=75&pg=130>.

