

Laffort - info

ENZIMI

Applicazione

Gli enzimi da macerazione servono per favorire l'estrazione dei composti utili (antociani, tannini, polisaccaridi, composti aromatici, loro precursori ...) contenuti nei vacuoli delle cellule della buccia dell'uva, operando in maniera delicata, naturale e selettiva.

Si tratta di formulati dotati di differenti attività pectolitiche, affiancate da attività collaterali (cellulasi, emicellulasi,...), che agiscono sui polisaccaridi delle pareti cellulari dell'uva indebolendone la struttura.

Questa azione inoltre favorisce sia la liberazione del succo, aumentando le rese di vino fiore, che le successive operazioni di pressatura delle vinacce. Nella pratica il preparato enzimatico deve essere incorporato il prima possibile all'uva avviata alla vinificazione, nella dose di 2-5 g/100 Kg.

L'azione enzimatica deve coinvolgere omogeneamente tutto il volume d'uva, pertanto si consiglia di operare in uno dei seguenti modi:

- fare ricorso ad una pompa dosatrice che distribuisca la soluzione enzimatica sul flusso d'uva che alimenta la pigiadiraspatrie oppure sul prodotto in uscita dalla stessa;
- impiegare un contenitore dotato di rubinetto gocciolatore, che posto in posizione strategica sul flusso in entrata o in uscita dalla pigiadiraspatrie distribuisca progressivamente la soluzione sulla massa;
- aggiungere a più riprese la soluzione in vasca di macerazione durante il suo riempimento.

Una volta incorporato l'enzima

si deve procedere come in una normale vinificazione in rosso gestendo le temperature ed i rimontaggi.

Si dovranno adattare i parametri dose dell'enzima e tempo di contatto (durata macerazione) in funzione della maturità o qualità dell'uva e del vino che si vuole ottenere.

Gli effetti che si riscontrano nell'ambito di una vinificazioni in rosso in presenza di enzimi, a parità di altri parametri, sono di seguito brevemente riportati.

* Migliore estrazione in termini quantitativi, qualitativi e di tempo dei composti cellulari desiderati, questo grazie all'effetto di indebolimento delle strutture cellulari che comporta una più facile dissoluzione dei composti in esse contenuti; il vino che si ottiene risulta quindi più concentrato.

* L'indebolimento delle strutture cellulari inoltre facilita la liberazione del succo. Ne deriva che già al momento della svinatura se ne recupera un maggiore volume, il che significa maggiori rese in vino fiore.

* Si riscontra sempre una minore presenza di zuccheri residui nei vini di pressa.

* La diminuzione della viscosità della fase liquida, conseguente l'idrolisi delle pectine, induce un significativo miglioramento dell'illimpidimento spontaneo dei vini. La minore torbidità alla svinatura e dopo i primi travasi permette di avere vini più puliti in tempi più brevi.

* La minor presenza di zuccheri residui e la maggiore pulizia aiutano nell'azione di prevenzione da contaminazioni microbiche indesiderate (*Brettanomyces in primis*).

Enzimi da macerazione nella vinificazione in rosso: conferme e nuove acquisizioni.

Mentre nella vinificazione in bianco l'impiego di enzimi pectolitici in fase di estrazione dei succhi e di chiarifica dei mosti è un fatto ormai consolidato, grazie all'evidente ed inequivocabile effetto sulla separazione delle fecce ed illimpidimento dei mosti, sia in decantazione statica che in flottazione, l'applicazione degli enzimi da macerazione nella vinificazione in rosso incontra qualche resistenza in più, se non addirittura qualche sintomo di abbandono, alimentato da non pochi dubbi e carenze di riscontri facilmente misurabili. Eppure i lavori volti a dimostrarne l'utilità non mancano. Di seguito cerchiamo di fare una breve review sull'argomento soffermandoci sugli ultimi interessanti risultati.



Gli enzimi non hanno nessun effetto estrattivo nei confronti dei vinaccioli. L'estrazione indesiderata di tannini dai vinaccioli è da attribuirsi ad inadeguate ed eccessive azioni meccaniche, soprattutto se operate in presenza di elevato alcool svolto. Gli enzimi che invece permettono di accelerare l'estrazione consentono di ridurre la durata della macerazione evitando di estrarre in fase alcoolica avanzata.

Sulla base di queste conoscenze pratiche nel corso degli anni i nostri studi sono continuati per capire sempre meglio i meccanismi d'azione degli enzimi, migliorarne l'applicazione e la formulazione.

Approfondimento 2000

Gli enzimi da macerazione agiscono sui polisaccaridi della parete cellulare. L'effetto della loro azione può dunque essere messo in evidenza indagando sui polisaccaridi nella buccia. Il reattivo di Schiff, che colora in rosa i polisaccaridi, risulta essere un buon strumento per mettere in evidenza l'azione dei preparati enzimatici. L'assenza di colorazione al reattivo di Schiff è sintomo di una concentrazione estremamente bassa o nulla di polisaccaridi, indice della loro scomparsa per idrolisi.

Dopo macerazione le bucce provenienti dal testimone non trattato enzimaticamente (Figura 1 A) possiedono una dozzina di strati di cellule intatte. Il contenuto di queste cellule è infatti ancora visibile e le pareti di colore rosa intenso sono ricche di polisaccaridi. È dunque evidente come qui gli enzimi endogeni dell'uva non hanno permesso l'idrolisi dei polisaccaridi parietali. Di conseguenza una parte importante del loro contenuto polifenolico non viene estratto.

Con un trattamento enzimatico di 3g/100 Kg d'uva (Figura 1B) pochi strati di cellule si colorano al reattivo di Schiff. Gli strati sottostanti hanno solo qualche traccia di colorazione rosa. Gli enzimi esogeni hanno agito su un maggior numero di strati di cellule, idrolizzando i polisaccaridi della loro parete. Queste pareti non sono completamente distrutte, infatti sono ancora visibili, ma certamente indebolite.

Aumentando la dose a 6 g/100 Kg d'uva (Figura 1C) la colorazione rosa diminuisce ancora. Solo gli spazi intercellulari e la parte interna della parete di alcune

cellule risultano ancora colorate. L'aumento della dose di enzima ha indotto la depectinizzazione di un numero maggiore di strati di cellule, le cui pareti non sono distrutte ma fortemente indebolite.

L'aumento della dose di enzima permette di andare più in profondità nella buccia, favorendo il rilascio dei composti utili. Risulta chiaro come gli enzimi agiscano dall'interno dell'acino verso l'esterno.

Dopo alcuni mesi di conservazione i vini ottenuti sono stati analizzati. I risultati delle analisi chimiche, espressi come percentuale di variazione rispetto al testimone (Figura 2), confermano le osservazioni precedenti.

Il preparato enzimatico ha favorito, in modo significativo, la diffusione nel vino dei composti della buccia. L'aumento della dose di enzima permette di aumentare in modo proporzionale l'estrazione. È dunque possibile regolare l'intensità dell'estrazione variando la dose di enzima.

Gli antociani situati in strati meno profondi sono più facilmente estraibili dunque, in confronto al vino testimone, fanno registrare variazioni meno importanti rispetto ai tannini.

La concentrazione dei polisaccaridi nei vini enzimatici aumenta in maniera spettacolare. Gli enzimi, idrolizzando parzialmente le pareti cellulari, liberano i polisaccaridi (Doco T et al., 1995).

L'uso di enzimi da macerazione permette di aumentare in modo duraturo la concentrazione di diversi composti qualitativi. Inoltre la capacità degli enzimi di estrarre tannini in maggiore quantità ne migliora il rapporto con gli antociani, il che facilita il fenomeno di copigmentazione (Mirabel et al., 1999) e la formazione di combinazioni tannini/antociani stabili.

Approfondimento 2010

Queste ed altre osservazioni hanno indotto i nostri ricercatori ad approfondire le indagini sull'effetto ed i meccanismi d'azione che diversi enzimi hanno sull'estrazione dei polisaccaridi dalla bacca dell'uva, in modo da mettere a punto preparati enzimatici di ultima generazione (LAFASE HE GRAND CRU) utili anche in questa direzione.

I polisaccaridi sono una delle principali famiglie di composti presenti nel vino, di grande importanza sia

Figura 1 : sezioni di buccia di Cabernet Sauvignon trattate con reattivo di Schiff dopo macerazione (A : testimone, B : 3g/100kg, C : 6g/100kg).

Il reattivo di Schiff colora i polisaccaridi, l'assenza di colorazione mette in evidenza l'azione degli enzimi. L'aumento della dose di enzima permette di andare più in profondità nella buccia. L'enzima agisce dall'interno verso l'esterno della bacca.

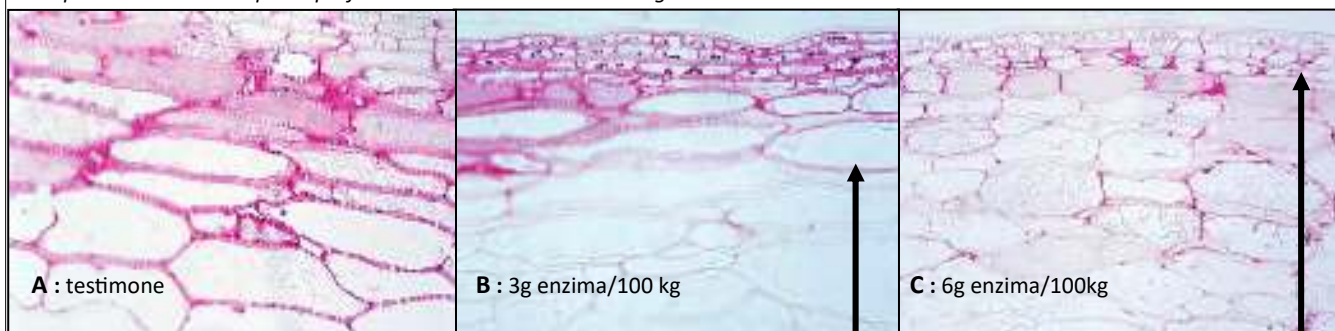
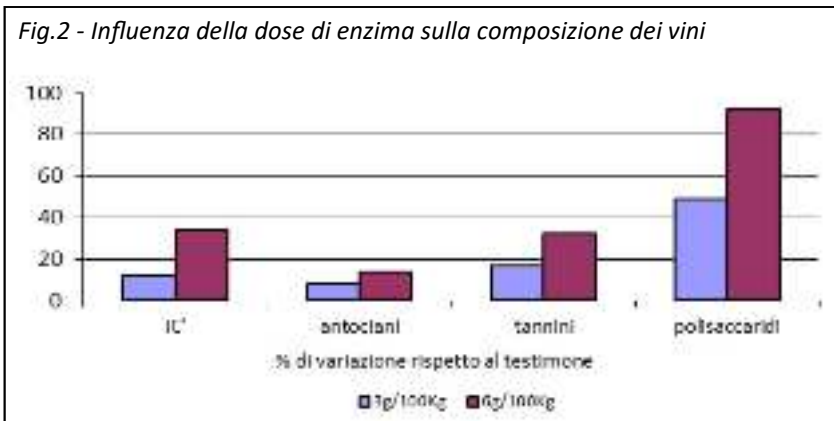


Fig.2 - Influenza della dose di enzima sulla composizione dei vini



dal punto di vista tecnologico che sensoriale, grazie alle proprietà derivanti dalla loro natura colloidale. Considerando la matrice complessa da cui provengono, la grande diversità compositiva, dimensionale e di proprietà fisiche, non tutti sono da considerarsi positivi. Alcuni possono tuttavia giocare un importante ruolo nella stabilità colloidale dei vini. Alcuni autori hanno dimostrato come i polisaccaridi del tipo RGII (Ramno-Galatturonani II) favoriscono l'aggregazione dei tannini, stabilizzandoli nel mezzo. E' stato poi dimostrato che gli stessi RGII interagendo con i tannini ne inducono una diminuzione dell'astringenza. Sono inoltre noti per inibire la cristallizzazione del bitartrato di potassio, contribuendo dunque alla stabilità naturale dei vini. Altri autori ne hanno anche messo in evidenza la capacità di bloccare molecole di metalli pesanti quali il piombo.

Nelle vendemmie 2004-2006, per tre annate consecutive, in collaborazione con l'INRA di Montpellier, sono state dunque condotte prove e studi mirati, applicando enzimi da macerazione durante la vinificazione di uve, Merlot provenienti da una stessa parcella sperimentale della zona di Bordeaux, controllando differenti parametri.

Per quanto riguarda la frazione polisaccaridica (Figura 3), l'analisi HPLC del vino ottenuto dal campione trattato enzimaticamente rispetto al testimone non enzimato evidenzia un'invariata concentrazione di manno-proteine, una diminuzione di polisaccaridi tipo PRAG (polisaccaridi ricchi di arabinosio e galattosio), ritenuti poco qualitativi, mediamente del 50%, ed un forte aumento della frazione RGII, mediamente del 70%.

I dati ripetuti sulle tre annate confermano pienamente questa tendenza

Approfondimento 2017

Per avanzare ulteriormente sulla conoscenza della struttura della parete cellulare dell'uva in modo da poter sempre meglio comprendere il meccanismo d'azione degli enzimi da macerazione nel 2013 sono stati intrapresi nuovi studi in collaborazione con l'Università di Stellenbosh che si sono protratti su 3 annate ed hanno visto l'applicazione di nuove metodologie di indagine e nuovi strumenti di analisi.

Si sono messe in gioco tecniche di "profilage" dei polisaccaridi basate sull'uso di anticorpi monoclonali specifici. Questi anticorpi sono in grado di riconoscere e legarsi a famiglie specifiche di polisaccaridi (Ramno Galatturonani, Mannani, Arabino Galattani, Glucani e Xiloglucani, ecc) facenti parte della struttura della parete cellulare dell'uva, permettendo dunque di individuarne la presenza, riconoscerli e dosarli singolarmente.

Applicando questi metodi di analisi a bucce fresche oppure dopo fermentazione e macerazione, in assenza o presenza di preparati enzimatici, è stato possibile per differenza capire cosa viene rilasciato dalla matrice vegetale durante la macerazione e qual'è il ruolo degli enzimi.

Questi lavori hanno inoltre permesso agli autori di fare nuove importanti acquisizioni sulla specifica struttura pectica delle pareti cellulari epidermiche dell'acino.

Tralasciando questi ultimi aspetti vediamo brevemente i risultati di interesse enologico.

Per fare questo prendiamo in considerazione la parte del lavoro che partendo da un piano sperimentale abbastanza complesso ed articolato ha messo a confronto, su uve di uno stesso vitigno Cabernet Sauvignon, 3 differenti preparati enzimatici (Lafase HE Grand Cru, Lafase Fruit, e Lafase XL Extraction) ed un testimone non enzimato su parcelle che raggiungevano alla raccolta 3 gradi diversi di maturità. Per ognuno dei 12 campioni sono state eseguite 4 repliche, ognuna delle quali sottoposta all'analisi di "profilage" dei polisaccaridi, infine l'insieme dei risultati elaborato statisticamente per cercare di cogliere il massimo delle informazioni.

L'analisi con il metodo degli anticorpi monoclonali dei residui di pareti insolubili all'alcool mette chiara-

Fig. 3 - risultati analisi HPLC del dosaggio delle 3 famiglie di polisaccaridi sulle tre annate

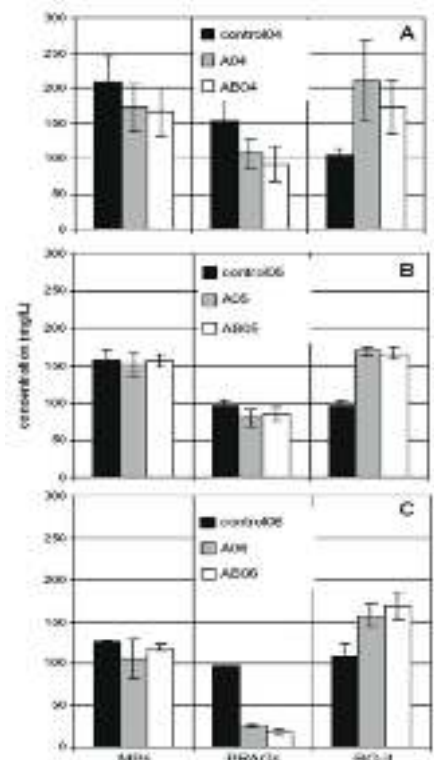
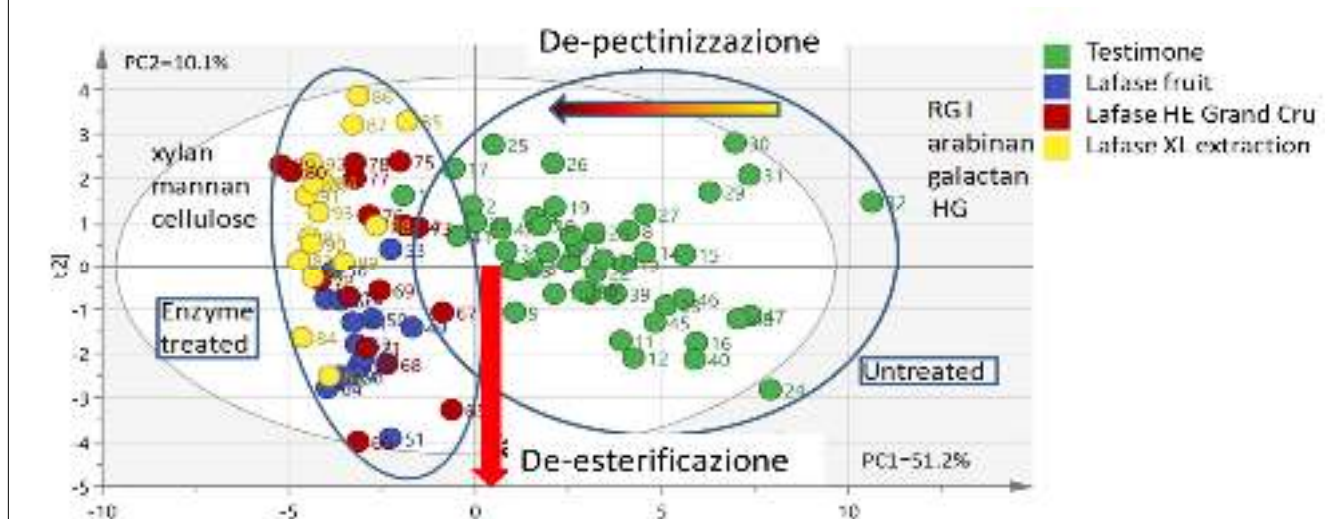


Fig. 4 - Rappresentazione sul piano fattoriale dei risultati ACP dell'insieme dei diversi campioni



mente in evidenza una diversa composizione delle bucce trattate o non trattate enzimaticamente. Le strutture trattate enzimaticamente risultano nettamente meno ricche di pectine residue, dunque molto più depectinizzate e proporzionalmente più ricche di residui di emicellulosa, non idrolizzata enzimaticamente.

L'analisi statistica ACP (Analisi Componenti Principali) dell'insieme dei dati analitici ci fornisce un'immagine molto significativa dell'insieme dei vini ottenuti dalle diverse prove di vinificazione.

L'osservazione della dislocazione dei diversi campioni sul piano fattoriale che spiega più del 60% della variabilità tra i campioni (Figura 4), mette in evidenza, come si può cogliere dal grado di espansione del-

la nuvola verde, di una grande diversità tra i campioni non trattati enzimaticamente. Il diverso grado di maturazione dell'uva induce ad una diversa depectinizzazione e de-esterificazione tra i campioni, che enologicamente si traduce in vini strutturalmente molto diversi. Questa variabilità sembra essere fortemente ridotta, almeno sull'asse orizzontale, per quanto riguarda i campioni trattati enzimaticamente. Inoltre possiamo ancora notare come il Lafase HE Grand Cru (punti rossi) presenta una certa ampiezza di spettro, mentre il Lafase Fruit (punti blu) tende a raggruppare molto i campioni spostandoli nella direzione della de-esterificazione. Possiamo infine notare come tra le modalità non trattate enzimaticamente, anche i campioni provenienti dalle parcelle più mature non eguagliano i campioni trattati.

Conclusioni

L'applicazione degli enzimi durante la fase di macerazione nella vinificazione in rosso è un ottimo strumento che permette di semplificare e velocizzare alcune operazioni, migliorando la resa del processo e la qualità del prodotto, permettendo di realizzare economie.

Negli ultimi anni gli enzimi ad uso enologico sono stati molto migliorati, sono stati purificati dalle attività indesiderate e arricchiti di attività utili ai fini enologici.

E' dimostrato come l'impiego di preparati enzimatici in vinificazione in rosso contribuisca, in maniera sensibile, a migliorare l'estrazione dal frutto dei composti preziosi per la composizione, struttura e tipicità del vino, trasferendoli nel prodotto vino.

In particolare si mette in evidenza il contributo di enzimi di ultima generazione quali il Lafase HE Grand Cru a migliorare la composizione della frazione polisaccaridica dei vini, riducendo la presenza di composti a peso molecolare elevato, meno qualitativi e meno stabili (PRAG), facendo aumentare per contro la frazione a minor peso molecolare enologicamente più interessante (RGII).

Infine i più recenti studi, alla conclusione dei quali si potranno trarre altre più interessanti indicazioni, ci dimostrano come l'azione degli enzimi da macerazione sia innegabile, così come il loro peculiare modo di agire. Appare evidente come l'uso di enzimi permetta sempre di migliorare l'estrazione dall'uva, ovviando anche a piccole carenze intrinseche nella materia prima, come poteva essere in questo caso un più basso grado di maturità. Questo ci deve far pensare che quando alcuni parametri non possono essere ottimali (maturità dell'uva, tempi di macerazione, attrezzature di cantina,...) l'impiego degli enzimi da macerazione ci aiuta sempre ad estrarre il meglio e, quando tutti i parametri sono ottimali, ci permettono di ottenere qualcosa di più, valorizzando al meglio la materia prima proveniente dal vigneto.