

Proteine vegetali, esperienze di impiego

Tra le proteine vegetali disponibili sul mercato, quelle che riscuotono maggiore interesse derivano da frumento, pisello e lupino. In particolare tali proteine si sono dimostrate utili nel trattamento di mosti e vini bianchi in alternativa ai chiarificanti tradizionali. Nei vini rossi il glutine idrolizzato è un efficace sostituto della gelatina, grazie alla sua affinità ai tannini

di Maria Manara - Giusy Salvo

Verso la fine degli anni '90, il diffondersi dell'encefalopatia spongiforme bovina (Bse), ha posto interrogativi di ordine sanitario relativamente all'impiego di coadiuvanti proteici di origine animale, e ha stimolato lo studio e la messa a punto di valide alternative che consentissero agli enologi l'impiego di sostanze di diversa provenienza.

Con questi presupposti, Dal Cin ha avviato sin dal 1997 un ambizioso progetto di ricerca denominato "Phytokoll" che ha riguardato lo studio e la valutazione di diverse materie prime di origine vegetale e l'approfondimento dei meccanismi di azione sia a livello teorico che pratico.

In particolare sono state prese in esame proteine di diversa provenienza (lupino, soia, glutine, mais, riso, pisello) sia impiegate allo stato "nativo", che dopo trasformazioni quali ad esempio parziali idrolisi e/o solubilizzazioni. L'attenzione è stata focalizzata su alcune di esse che si sono dimostrate particolarmente interessanti per gli impieghi enologici: le proteine da frumento (glutine), da pisello e da lupino.

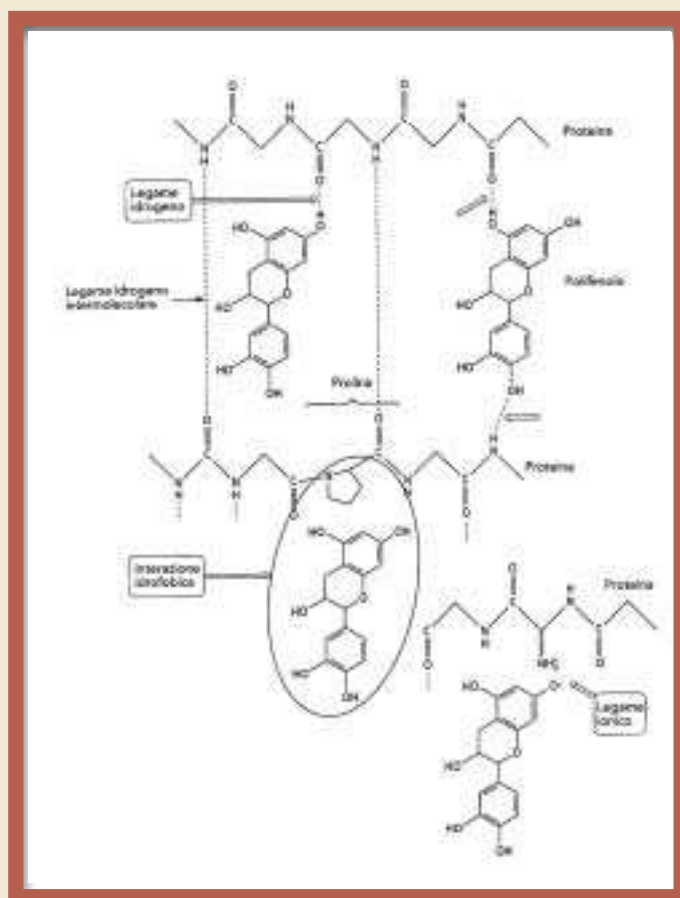
L'azione nel vino sembra essere principalmente dovuta alla loro capacità di interagire con i composti polifenolici ed in particolare i tannini per formare complessi stabili in soluzione, e alla presenza di numerosi cationi (Fe^{+++} , Ca^{++} , K^+ , ...) che come è noto favoriscono la flocculazione e quindi la successiva chiarificazione (1).

Interazione con i polifenoli

Le proteine presentano notevoli capacità di interazione con i composti polifenolici presenti in mosti e vini per formare dei complessi stabili. Il meccanismo con cui avviene questo legame non è tuttora completamente chiaro, anche se è

plausibile che le interazioni principalmente coinvolte siano di tipo idrofobico e legami a idrogeno (2,3). La composizione aminoacidica delle proteine svolge un ruolo importante nel determinare tale affinità: è dimostrato infatti che sono le proteine ricche nell'a.a. prolina che riescono ad instaurare legami più stabili in particolare con le sostanze tanniche (4). Questo sembra imputabile al fatto che la prolina, non consentendo la formazione delle alfa-eliche nella struttura terziaria delle proteine, permette di esporre le zone idrofobiche che sono più affini ai polifenoli (fig. 1). A titolo esemplificativo, in tab. 1 è riportata la composizione aminoacidica media di alcune proteine animali (gelatina e caseinato di potassio), della proteina estratta da pisello, e della proteina di frumento (glutine), che possiede una frazione "prolamminica" denominata gliadina, notevolmente ricca in prolina. Anche la lunghezza della catena proteica svolge un ruolo importante nel determinare la reattività delle proteine nei confronti dei tannini (5).

La reattività tra proteine e polifenoli può essere saggiata



▲ Fig. 1 - Interazione delle proteine con i polifenoli (Asano et al., 1982)

TABELLA 1 - Composizione aminoacidica media di alcune proteine di uso enologico e di alcune proteine vegetali

	Gelatina animale	Potassio caseinato	Glutine di frumento	Proteina da pisello
ac. aspartico + asparagina	5,72	4,83	2,78	11,77
ac. glutammico + glutammina	9,84	18,29	36,38	19,11
alanina	9,56	2,07	2,32	4,14
arginina	7,69	3,19	3,13	8,57
cisteina	tr	0,28	1,85	1,04
fenilalanina	2,12	3,8	4,63	5,27
glicina	23,15	2,67	2,90	3,86
idrossiprolina	11,26	-	-	-
isoleucina	1,3	5,26	2,90	4,43
istidina	0,6	2,42	1,85	2,54
leucina	2,93	9,92	6,14	8,19
lisina	3,5	6,47	1,51	7,25
metionina	0,54	2,5	1,51	1,13
prolina	13,16	8,37	10,20	4,14
serina	3,17	2,93	4,52	5,27
tirosina	0,2	4,29	2,90	3,67
treonina	2,01	3,71	2,43	3,67
triptofano	-	1,21	0,81	0,94
valina	2,36	6,13	3,24	4,90

preparando una soluzione acidulata di proteina e aggiungendo ad essa una soluzione diluita di tannino. L'evidente deposito che si forma è indice dell'interazione fra i due componenti. Anche se le reazioni tannini-proteine non sono stechiometriche, è possibile determinare un "indice di precipitazione del tannino" (6) che indica il tannino necessario a precipitare 1 g di proteina. In fig. 2 sono mostrati dei tubi da saggio in cui la soluzione di proteina è stata addizionata di una pari quantità di tannino, filtrata e successivamente addizionata di ulteriore tannino. Le proteine di lupino, pisello e glutine "nativo" mostrano un rapporto di combinazione tannino/proteina inferiore a 1, mentre il glutine idrolizzato e la



◀ Fig. 2 - Reattività delle proteine nei confronti del tannino. 1-gelatina animale, 2-glutine nativo, 3-glutine idrolizzato, 4-proteine da pisello, 5-proteine da lupino

gelatina animale impiegata nel test presentano un rapporto rispettivamente 4:1 e 5:1.

Esperienze pratiche di impiego

Nel corso dell'ultimo decennio, sono state condotte numerose esperienze relative all'impiego di proteine vegetali per il trattamento di mosti e vini, sia a livello di prove di laboratorio che su scala semi-industriale, e di seguito riportiamo sinteticamente i risultati ottenuti. I vari lavori hanno preso in considerazione diverse modalità di trattamento, impiegando le proteine sia in forma di polvere che disperse rapidamente in acqua prima dell'aggiunta nella massa.

Il trattamento dei mosti

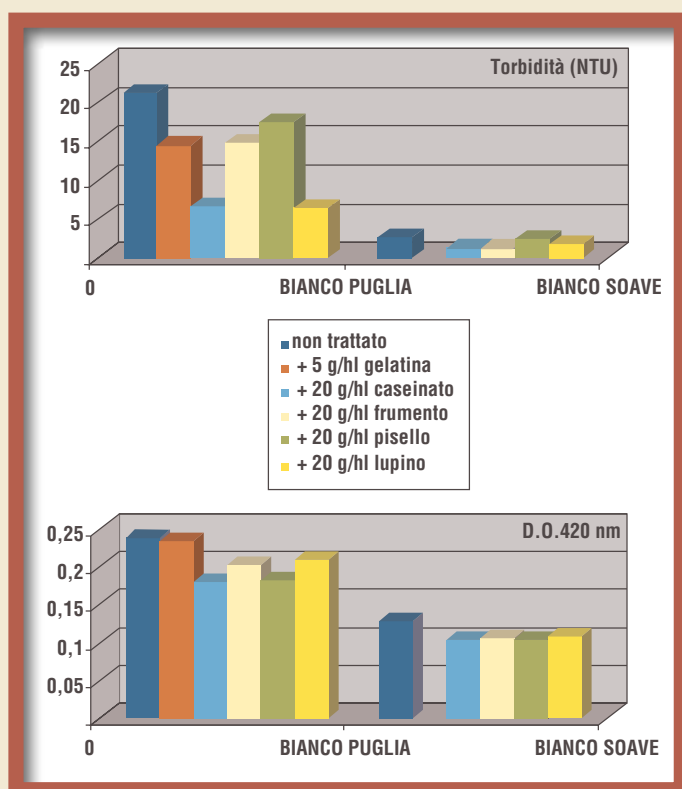
Le prime fasi di lavorazione dell'uva sono quelle che spesso incidono in modo più diretto sulla qualità del prodotto finito. Su mosti bianchi, subito dopo la pigiatura, è consuetudine intervenire con trattamenti mirati volti a migliorare la limpidezza del mosto e la sua stabilità, soprattutto a livello organolettico; tali trattamenti prevedono l'impiego di enzimi, coadiuvanti proteici (gelatina, caseinato) e minerali (bentoniti, sol di silice). L'impiego delle proteine vegetali in questa fase della vinificazione si è dimostrato particolarmente efficace, principalmente grazie alla loro capacità di favorire l'illimpidimento del mosto e di adsorbire composti fenolici quali flavani e catechine, in special modo quelli già ossidati o facilmente ossidabili, responsabili di precoci quanto indesiderabili deviazioni organolettiche. In tabella 2 sono mostrati i risultati ottenuti a seguito del trattamento di un mosto bianco con cinque diverse proteine, sia di origine animale che vegetale, seguito da un trattamento con bentonite (Superbenton) al fine di completare e accelerare la sedimentazione delle fecce. Tutte e cinque le proteine consentono di ottenere un mosto limpido dopo l'aggiunta di bentonite; i trattamenti con caseinato di potassio, con glutine di frumento e con proteina di pisello permettono però di ridurre in modo più significativo sia la Do a 420 nm che il contenuto in polifenoli totali, misurato come Do a 280 nm. Prove recenti hanno inoltre dimostrato la possibilità di impiegare il glutine in sostituzione della gelatina animale anche nei processi di separazione in continuo per flottazione, in alternativa al tradizionale processo di chiarificazione statica (7).

Il trattamento dei vini bianchi

Relativamente all'impiego su vini bianchi, le proteine vege-

TABELLA 2 - Mosto puglia trattato con proteine di origine animale o vegetale, ed addizionato di 50 g/hl di bentonite (Superbenton)

	Torbidità (NTU)	D.O. 420 nm	Polifenoli totali (D.O. 280 nm)
Mosto teste (centrifugato)	5,35	0,113	5,03
+ 10 g/hl gelatina animale	0,68	0,107	4,99
+ 20 g/hl caseinato di potassio	0,91	0,077	4,70
+ 20 g/hl glutine	0,61	0,080	4,71
+ 20 g/hl proteine di lupino	0,65	0,084	4,91
+ 20 g/hl proteine di pisello	0,83	0,073	4,71



▲ Fig. 3 - Effetto della chiarificazione di vini bianchi con proteine di diversa origine su torbidità e D.O. 420 nm

tali, in particolare il glutine ed in modo ancora più marcato la proteina estratta da pisello, si sono dimostrate efficaci soprattutto per quei vini con spiccata tendenza a fenomeni di tipo ossidativo, sia di tipo chimico (ossigeno, presenza di metalli), che di tipo enzimatico (ossidasi, perossidasi). A seguito di tali fenomeni si verifica nel vino, come è noto, un decadimento organolettico relativo a colore, aroma e gusto, legato principalmente alle ossidazioni che intervengono a carico dei polifenoli. La capacità di queste due proteine vegetali di adsorbire efficacemente alcuni polifenoli fra i più facilmente ossidabili, quali ad esempio le catechine, consente di intervenire in modo efficace sia a livello preventivo, che curativo. La proteina di lupino ha mostrato invece minore affinità per i composti ossidabili, ma si è dimostrata molto efficace nell'illimpidimento dei vini bianchi, evidenziando una minore tendenza a creare fenomeni di surcollaggio, anche in vini molto ricchi in colloidali e senza una successiva aggiunta di bentonite. In fig. 3 sono mostrati i risul-

tati di prove di chiarificazione effettuate su due diversi vini bianchi con differenti proteine di origine animale o vegetale.

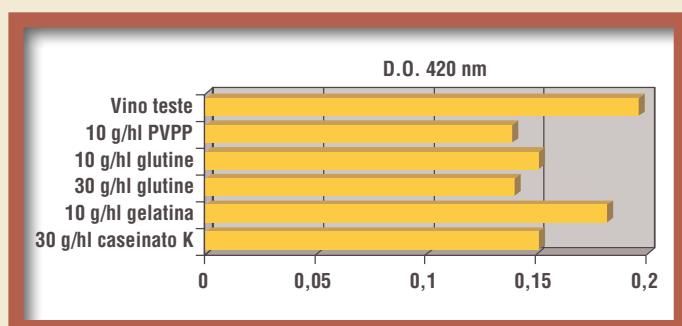
In fig. 4 è riportato invece l'effetto sulla Do a 420 nm a seguito del trattamento di un vino bianco con glutine nativo in forma di polvere, impiegato a due diversi dosaggi, paragonato con trattamenti che prevedono l'impiego di caseinato di potassio, gelatina, e Pvpp. In questo caso si nota come il trattamento con glutine consente di ottenere risultati sul colore molto simili a quelli ottenibili con trattamento con Pvpp, anche se con impiego di dosi più elevate.

A livello organolettico i vini trattati con proteine di pisello e di frumento (glutine) risultano di colore più scarico e con aroma e gusto sensibilmente più "freschi" rispetto al testimone non trattato; inoltre ripetendo le analisi a distanza di un anno, il vino trattato mostra una maggiore stabilità sia per quanto riguarda i parametri legati al colore, che per quanto riguarda gli altri aspetti organolettici.

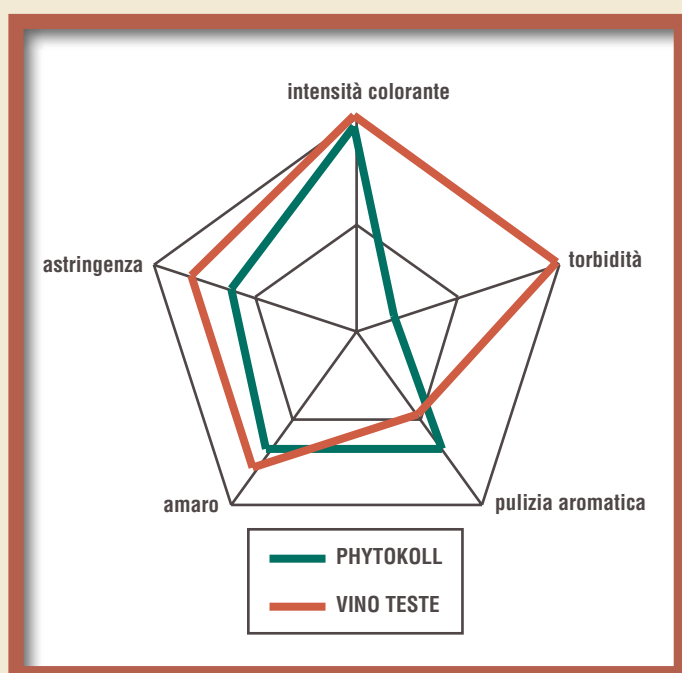
L'abbinamento in fase di chiarificazione di proteine di origine vegetale con bentonite permette di completare la sedimentazione e di facilitare la successiva fase di separazione, evitando in questo modo surcollaggi o presenza di eventuali residui di proteina nel vino trattato.

Il trattamento dei vini rossi

Nel caso di trattamento di vini rossi il glutine, ricco in prolina ed opportunamente idrolizzato per renderlo maggiormente reattivo con i composti tannici, ha fornito i risultati più interessanti. L'elevata reattività di tale proteina vegetale consente di ottenere innanzitutto un rapido effetto illimpidente,



▲ Fig. 4 - Riduzione della D.O. 420 nm dopo trattamento con glutine di frumento in forma polvere. (Vino bianco Cortese - documentazione Dal Cin, 1997)



▲ Fig. 5 - Effetto dell'impiego di un formulato a base di glutine su vino rosso. (Vino Barbera - documentazione Dal Cin, 2005)

sia impiegato da solo che in combinazione con altri coadiuvanti (bentonite, sol di silice ecc.). In secondo luogo la reattività del glutine sembra rivolta particolarmente verso tannini a medio peso molecolare (forme oligomeriche), che sono responsabili delle sensazioni di astringenza del vino, consentendo in questo modo di intervenire in modo mirato dal punto di vista organolettico.

È bene inoltre sottolineare come per il trattamento dei vini rossi siano sufficienti dosaggi di proteina mediamente più bassi rispetto a quelli impiegati per i vini bianchi, salvaguardando così anche la tenuta del colore e della struttura del vino.

In fig. 5 sono riassunti gli effetti ottenuti a seguito del trattamento di un vino rosso con 10 g/hl di un formulato a base di glutine idrolizzato.

Allergie e intolleranze alimentari

Sempre maggiore attenzione è prestata agli ingredienti e coadiuvanti tecnologici impiegati negli alimenti che rientrano nella categoria delle sostanze potenzialmente allergeniche.

Per le proteine vegetali considerate, tale attenzione è rivolta particolarmente verso la frazione prolaminica presente nel glutine, che è responsabile dell'intolleranza alimentare che insorge negli individui che soffrono di celiachia. Il trattamento del vino con glutine richiede quindi approfondite considerazioni in merito, che di seguito sintetizziamo:

– Le proteine vengono impiegate nel vino come coadiuvanti tecnologici, e non come ingredienti, quindi dopo aver esplicato la loro azione vengono allontanate dalla massa con le successive fasi di sedimentazione e filtrazione.

– Il glutine è di per sé una proteina poco solubile in acqua, quindi tende a non residuare disciolta nel vino. Nei vini bianchi inoltre, per completare la chiarificazione del vino e garantire l'eliminazione delle eventuali proteine surcollanti è sempre consigliabile una successiva aggiunta di bentonite

(analogamente a quanto generalmente si fa dopo un'aggiunta di gelatina animale o caseinato). Nei vini rossi la significativa presenza di tannini contribuisce all'eliminazione delle eventuali proteine da glutine residue.

– Un recente D. Lgs. italiano (8) esclude esplicitamente fino al 25 novembre 2007 gli "ingredienti" alimentari impiegati come chiarificanti nei vini (quali derivati a base di latte, uova o pesce) dalla lista degli allergeni alimentari da indicare obbligatoriamente in etichetta. Nulla ovviamente è stato detto riguardo al glutine, non ancora presente nella lista positiva dei prodotti consentiti in enologia.

– Infine in Italia il Ministero della Salute, non potendo escludere totalmente la presenza di glutine nei prodotti destinati all'alimentazione dei celiaci, con una circolare dell'ottobre 2003 ha fissato in via transitoria in 20 ppm il limite massimo di glutine tollerato per i prodotti dietetici per i celiaci (9). L'Associazione europea delle società celiache (AoeCs) suggerisce invece una soglia di 20 ppm (2 g/hl) per i prodotti privi di glutine "in origine", ed una soglia di 200 ppm (20 g/hl) per quelli contenenti amido di frumento: a livello di Comunità europea non è però ancora stato stabilito alcun limite in proposito. ■

Conclusioni

Dalle prove effettuate nell'ultimo decennio alcune proteine di origine vegetale si sono dimostrate particolarmente indicate per il trattamento di mosti, vini e bevande.

La proteina estratta da pisello ed in misura di poco inferiore il glutine, rivestono particolare interesse nel trattamento di mosti e vini bianchi, grazie alla loro spiccata affinità per i polifenoli in particolare quelli ossidabili, svolgendo un'azione di adsorbimento ed eliminazione molto simile a quella esercitata dal trattamento con caseinato di potassio e dal Pvpv. La proteina da lupino mostra invece un minore effetto sul colore ma una più spiccata azione illimpidente, con minori problemi di surcollaggio.

Nei vini rossi invece, è risultato interessante l'impiego della proteina di frumento (glutine), opportunamente idrolizzata, che ha dimostrato un'ottima reattività nei confronti dei tannini anche a dosaggi contenuti. Grazie all'azione rivolta preferenzialmente nei confronti dei composti tannici l'utilizzo di tale proteina consente un deciso illimpidimento del vino trattato, e la riduzione delle sensazioni di astringenza, con miglioramento dell'equilibrio organolettico generale.

All'inizio del corrente anno è stata messa a punto da Dal Cin Gildo Spa una completa gamma di chiarificanti a base di estratti proteici di origine vegetale, idonea a risolvere molteplici problematiche su succhi, aceti, mosti e su vini, sia bianchi che rossi.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Riberau-Gayon P. et al. (2003) - *Trattato di enologia II*. Edagricole.
- (2) Oh H.L. et al. (1980) - Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *J. Agric. Food Chem.*, 28, p. 394.
- (3) Haslam E. (1996) - Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *J. Nat. Prod.*, 59, 205.
- (4) Hagerman A.E., Butler L.G. (1981) - The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J. of Bio. Chem.*, 256, p. 4494.
- (5) Hagerman A.E., Butler L.G. (1980) - Determination of protein in tannin-protein precipitates. *J. Agric. Food Chem.*, 28, p. 944.
- (6) Codex Oenologique International (2003) - OIV - Edizione.
- (7) Marchal R. et al. (2003) - Clarification of Muscat musts using wheat proteins and the flotation technique. *J. Agric. Food Chem.*, 51, p. 2040.
- (8) D.Lgs. 08 febbraio 2006 n. 114, All. I, Sez. IV - Gazzetta Ufficiale n. 69 del 23 marzo 2006.
- (9) Nota, prot. 600.12/AG32/2861, del 2 ottobre 2003, del Ministero della Salute.