



speciale analisi in cantina

SILICIO POROSO

PER MISURARE IL GRADO ALCOLICO

GIUSEPPE ZEPPA*, MASSIMILIANO ROCCHIA**

UN PROTOTIPO CHE SFRUTTA LE PROPRIETÀ DEL SILICIO POROSO HA DATO PROVA DI RAPIDITÀ E AFFIDABILITÀ NELLA DETERMINAZIONE DEL GRADO ALCOLICO DEI VINI. GRAZIE ALLA SEMPLICITÀ D'USO, ORA SI PENSA ALLA PRODUZIONE INDUSTRIALE PER L'IMPIEGO IN CANTINA

Per il vino, così come per tutte le bevande ottenute dalla fermentazione alcolica di liquidi zuccherini, l'etanolo è senza dubbio il componente principale - in quanto prodotto primario della fermentazione stessa - ed è l'unico la cui concentrazione, oltre a dover

A Torino, grazie alla collaborazione tra Università e Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica, è stato messo a punto un prototipo di alcolometro a sensori in silicio poroso. La cella in Plexiglas visibile nella foto serve a contenere sia l'elemento sensibile sia il vino da analizzare.

essere riportata in etichetta, è spesso utilizzata quale parametro di valutazione economica del prodotto.

È quindi evidente l'importanza che la determinazione di questo componente riveste non solo ai fini tecnologici, ma anche commerciali e salutistici.

Tutto ciò ha portato alla definizione di numerosi metodi certificati dall'Oiv (*Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*), dall'Unione Europea o dalla Aoac (*Association of analytical chemistry*), i quali si avvalgono di differenti tecniche di analisi quali quelle densimetriche (che prevedono un pre-trattamento di distillazione del prodotto), gravimetriche, gas-cromatografiche, enzimatiche e spettrofotometriche.

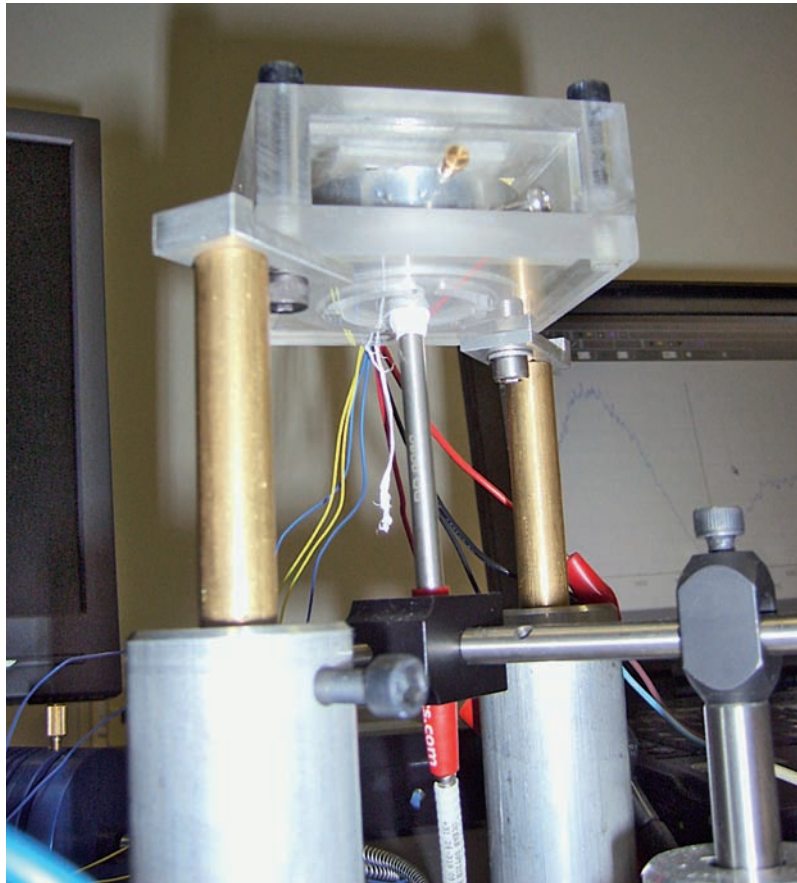
Nonostante l'elevata sensibilità e accuratezza, queste tecniche non sono in grado di soddisfare pienamente le richieste dell'industria in termini di velocità di analisi, automazione, facilità d'uso e costi contenuti.

Si tratta, infatti, di metodologie che richiedono spesso pre-trattamenti dei campioni, laboratori equipaggiati di strumentazione molto costosa e personale altamente qualificato. Molte di queste tecniche, inoltre, non sono applicabili per il controllo dei processi in fase di produzione (ovvero direttamente in azienda) e ciò ne costituisce un ulteriore limite.

La qualità del prodotto finito, infatti, deriva da un corretto andamento del processo fermentativo e quindi da un suo controllo ripetuto e rapido.

DAL SILICIO POROSO NUOVE OPPORTUNITÀ

Al fine di risolvere i problemi sopra descritti, negli ultimi anni sono stati condotti studi di fattibilità su nuove tecniche per la valutazione del contenuto di etanolo, basate in genere sull'utilizzo di bio-sensori elet-



Attualmente si sta lavorando al passaggio da prototipo a strumento analitico, puntando a ottenere un apparato compatto e dalla semplice interfaccia con l'utente finale.

trochimici e sensori ottici che possono essere utilizzati da personale non qualificato, data la loro semplicità d'uso, oltre ad avere costi contenuti.

I **biosensori** in genere sono basati sulla risposta di un elettrodo standard modificato con enzimi quali la alcol-ossidasi o l'alcol-deidrogenasi, e misurano la corrente gene-

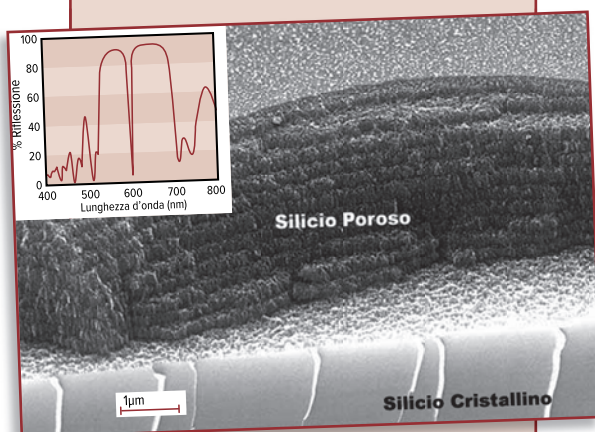
Peculiari caratteristiche tecnologiche

Correva l'anno 1956 quando A. Uhler e D.R. Turner, conducendo uno studio sui processi di elettrolucidatura del silicio cristallino, osservarono la formazione di un sottile film di colore scuro sulla superficie a specchio del silicio stesso; successivamente R. Memming e G. Schwandt dimostrarono che questo film colorato era costituito da un materiale con struttura porosa.

Il silicio poroso presenta un'elevata superficie specifica proprio perché poroso (un grammo di questo materiale può arrivare ad avere una superficie paragonabile a quella di un campo di calcio). Si può ottenere con una tecnica relativamente semplice ed è un materiale a basso costo, facilmente integrabile in dispositivi elettronici. Il silicio infatti è il materiale più diffuso nell'industria microelettronica odierna e le sue proprietà morfologiche, quali spessore e porosità, e ottiche (modulabilità dell'indice di rifrazione) possono essere definite in fase di produzione consentendo di ottenere un materiale dalle proprietà desiderate.

Come funziona il sensore

Il principio su cui si basa il sensore in silicio poroso è molto semplice, in quanto si misura l'entità dello spostamento di un filtro interferenziale, o microcavità Fabry Perot, fabbricato in SP dopo fisi/chemisorzione dei vapori del vino al suo interno: maggiore sarà lo spostamento, tanto più elevata



sarà la concentrazione di etanolo nel vino. Una microcavità Fabry Perot è una struttura ottica costituita da una successione periodica di strati sottili (dielettrici) il cui spessore ottico nXd (dove n e d sono rispettivamente l'indice di rifrazione e lo spessore fisico di ogni singolo strato) deve essere opportunamente progettato tenendo in considerazione la lunghezza d'onda a cui il filtro/microcavità deve trasmettere la luce. Il principio di funzionamento dei multistrati dielettrici, quali le microcavità, è basato sulle interferenze multiple costruttive e distruttive che la luce subisce quando viene riflessa dalle diverse interfacce tra i singoli strati. La foto sopra mostra un'immagine ottenuta con un microscopio a scansione elettronica in cui è possibile riconoscere la struttura a multistrati in SP che si è progettato e fabbricato, e il relativo spettro di riflessione nel visibile; le condizioni di spessore ottico scelte (nXd) hanno permesso di avere una microcavità con una finestra di trasmissione centrata a 600nm.

rata dal consumo di ossigeno o dalla elettro-ossidazione di composti derivanti dalla conversione selettiva dell'etanolo.

I **sensori ottici** sono basati invece sul cambiamento di colore di un colorante organico, generalmente immobilizzato in una matrice polimerica.

Entrambe le tipologie di sensori sono caratterizzate da elevate selettività e sensibilità, ma evidenziano problemi nella stabilità nel tempo: i bio-sensori elettrochimici sono operativi al massimo per 90 giorni se conservati a bassa temperatura in forma essiccata, mentre i sensori ottici possono degradarsi anche in sole 24 ore se utilizzati per misure in continuo.

Tutto ciò ne ha, di fatto, impedito la diffusione e l'utilizzo pratico.

In questo lavoro, viste le potenzialità insite nell'utilizzo di sensori *user-friendly* per l'analisi (quantitativa e/o qualitativa) di componenti specifici rispetto a complesse tecniche analitiche, si è verificata la possibilità di utilizzare un nuovo tipo di sensore per la determinazione dell'etanolo nei vini, basato su un materiale nanostrutturato: il silicio poroso (SP).

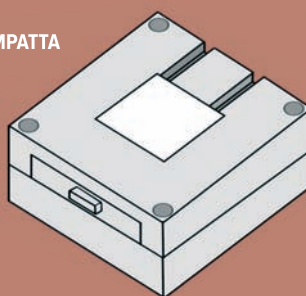
UN BREVETTO INTERNAZIONALE

Il silicio poroso è una particolare forma di silicio ottenuta per corrosione elettrochimica della forma cristallina e ha caratteristiche tali da essere considerato un ottimo materiale per applicazioni sensoristiche. Il maggiore inconveniente del SP come sensore risiede però nella sua instabilità all'aria la quale causa imprevedibili modificazioni delle sue proprietà intrinseche (ottiche, morfologiche ed elettriche). Questo materiale, quindi, deve essere opportunamente stabilizzato mediante modificazione della sua superficie, utilizzando processi di ossidazione controllati oppure ancorando molecole protettive quali idrocarburi saturi a lunga catena.

Lo studio di questo materiale per applicazioni sensoristiche in ambito enologico, che nasce da una collaborazione fra il Settore di Tecnologie alimentari del DiVaPRA (Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali) dell'Università di Torino e la Divisione di Elettromagnetismo-Programma Nanostrutture e Nanodispositivi dell'Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica di Torino, ha portato quindi alla messa a punto di un nuovo prototipo in

I COMPONENTI DELL'ALCOLOMETRO A SILICIO POROSO

VISTA COMPATTA



VISTA ESPLOSA

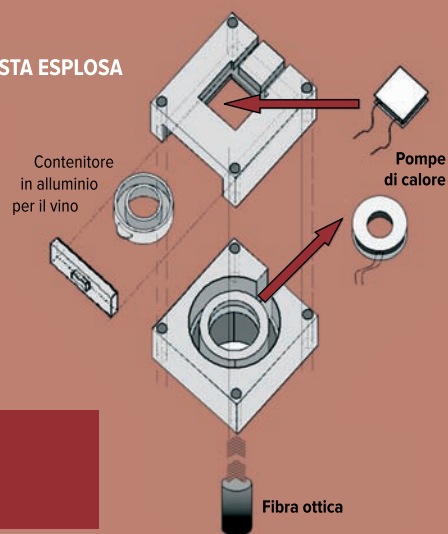


Figura 1

CURVA DI CALIBRAZIONE: CAMPIONI UTILIZZATI			
Codice	Vini	Contenuto alcolico (%)	
		Metodo Ufficiale	WineScan™ FT120 Basic
W1	Dolcetto d'Alba Doc	11.07	11.10±0.0058
W2	Barbera d'Alba Doc	12.47	12.52±0.0153
W3	Barbera d'Alba Doc	12.64	12.57±0.0153
W4	Barbera d'Alba Doc	12.92	13.01±0.0123
W5	Barbera d'Alba Doc	13.01	12.96±0.0153
W6	Barbera d'Alba Doc	13.04	13.01±0.0058
W7	Barbera d'Alba Doc	13.13	13.13±0.0058
W8	Nebbiolo d'Alba Doc	13.26	13.31±0.0012
W9	Nebbiolo d'Alba Doc	13.40	13.31±0.0015
W10	Barbera d'Alba Doc	13.55	13.54±0.0115
W11	Nebbiolo d'Alba Doc	13.79	13.69±0.0058
W12	Barbera d'Alba Doc	13.93	13.95±0.0062
W13	Barolo Docg	14.12	14.02±0.0065
W14	Nebbiolo d'Alba Doc	14.36	14.35±0.0059
W15	Nebbiolo d'Alba Doc	14.67	14.55±0.0055
W16	Barolo Docg	14.84	14.73±0.0067
W17	Rosso da tavola	15.01	14.88±0.0054

Tab. 1 - Campioni utilizzati per la fase di ottimizzazione dell'alcolometro e relativi contenuti alcolici determinati mediante il metodo ufficiale (distillazione e valutazione della densità del distillato) e mediante WineScan™ FT120 Basic.

grado di valutare il contenuto in etanolo dei vini, per il quale è stato depositato brevetto a livello sia nazionale, sia internazionale. Il principio su cui si basa il sensore è descritto nel relativo box.

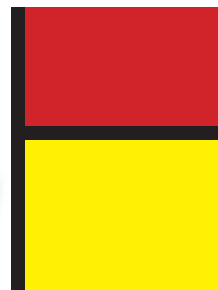
Il *sensing* è reso possibile dal fatto che, in presenza del vino in un sistema chiuso, i micro/nano pori del SP (inizialmente *pieni* d'aria) sono saturati dai vapori di alcol etilico, i quali successivamente liquefanno al loro interno per condensazione capillare.

La saturazione con vapori di etanolo genera un cambiamento dell'indice di rifrazione di ogni singolo strato (aria $n \approx 1$; etanolo $n \approx 1.33$) e quindi uno spostamento della finestra di trasmissione.

Dal momento che lo spostamento è direttamente proporzionale alla concentrazione dei vapori che condensano, è possibile correlarlo, mediante una curva di taratura, alla concentrazione di alcol etilico nei diversi vini.



Dall'impegno, dal lavoro e dalla grande esperienza dei soci dei **Vivai Cooperativi di Padergnone** vengono moltiplicate le barbatelle che contribuiscono alla nascita dei migliori vini italiani.



Barbatelle di qualità per un prodotto di qualità



In Trentino, in un territorio unico per posizione e clima, moltiplichiamo più di 120 varietà da vino e 20 varietà da tavola che danno origine con un'ampia gamma di selezioni clonali innestate sui principali portinnesti, ad oltre 500 combinazioni per ogni esigenza



VIVAI Soc. Coop. a.r.l.
COOPERATIVI
PADERGNONE

Via Barbazan, 13
38070 Padergnone (TN)
Tel. 0461 864142 Fax 864699
www.vicopad.it • info@vicopad.it

VERIFICA DELL'ALCOLOMETRO

Codice	Vini	Contenuto alcolico reale (%)	Shift (nm)	Contenuto alcolico determinato mediante l'alcolometro (%)
W18	Dolcetto d'Alba Doc	12.12	4.728±0.09391	12.10±0.2046
W19	Rosso da tavola	13.26	5.252±0.09391	13.28±0.2047
W20	Barbera d'Alba Doc	13.68	5.378±0.09391	13.56±0.2047
W21	Nebbiolo d'Alba Doc	14.36	5.772±0.1205	14.45±0.2340

Tab. 2 - Campioni utilizzati per la verifica dell'alcolometro e relativi contenuti alcolici valutati mediante il metodo ufficiale e l'alcolometro.

IL PROTOTIPO DI ALCOLOMETRO

L'alcolometro è costituito da due parti: una cella in Plexiglas dove vengono posizionate l'elemento sensibile e i vini da analizzare, mostrata in figura 1, e un apparato di lettura costituito da uno spettrofotometro a fibra ottica HR2000 (Ocean Optic Inc., Dunedin, FL, Usa), per monitorare lo spostamento della finestra di trasmissione della microcavità. Le due celle Peltier o pompe di calore sono posizionate a contatto sia della microcavità e sia del contenitore in alluminio per i vini. Le pompe di calore consentono un controllo di temperatura in un range sufficientemente ampio da 15 a 50 °C e il loro utilizzo permette all'alcolometro di funzionare in condizioni stabili e riproducibili in tutti gli ambienti, soprattutto nelle cantine, dove le temperature sono basse e potrebbero influenzare la risposta del sensore.

La parte inferiore della cella, così come il Peltier, è forata, per consentire il passaggio di una fibra ottica dalla doppia funzione: trasmettere la luce proveniente dalla sorgente, una lampada al tungsteno (HL 2000 dell'Ocean Optics Inc.) e raccogliere la luce riflessa dall'elemento sensibile che trasporta le informazioni.

LA SPERIMENTAZIONE

Al fine di verificare le funzionalità dell'alcolometro sono state utilizzate due serie di vini rossi. La prima, formata da 17 campioni (tabella 1) è stata utilizzata per predisporre la curva di calibrazione e la seconda, costituita da 4 campioni (tabella 2), è stata utilizzata per verificare la calibrazione e testare

la risposta dell'alcolometro. Il contenuto alcolico ufficiale dei vini è stato determinato mediante due tecniche di riferimento quale la distillazione con successiva valutazione della densità del distillato e l'analisi IR con un WineScan™ FT120 Basic (Foss Analytical A/S, Hillerød Denmark).

L'elemento sensibile



La microcavità Fabry-Perot viene prodotta utilizzando una cella elettrochimica (nella foto), resistente agli acidi minerali forti, per corrosione anodica di un silicio mono-cristallino (acquistato dalla Memc Electronic Materials di Novara) con orientazione cristallografica <100>.

La soluzione elettrochimica è una miscela 1:1 di acido fluoridrico (50% in acqua) e alcol etilico purissimo (> 99.9%). La microcavità, terminata la sintesi, viene immediatamente trasferita in un forno e stabilizzata per ossidazione.

La progettazione degli spessori ottici per ottenere la finestra di trasmissione alle lunghezze d'onda desiderate viene effettuata con un programma di simulazione ideato da W. Theiß, lo Scout.

Fase 1: ottimizzazione dell'alcolometro

La temperatura del vino in analisi e quella dell'elemento sensibile sono i due parametri chiave che definiscono le performance dell'alcolometro: regolano la concentrazione dei composti volatili nella fase gassosa e nei pori della struttura e influenzano i tempi d'equilibrio e di risposta.

Al fine di ottimizzare questi due parametri, la temperatura della pompa di calore inferiore è stata fissata a 38 °C, sulla base di risultati ottenuti precedentemente, mentre quella della microcavità è stata fatta variare in modo discontinuo da 20 °C a 35 °C in cinque step: 20 °C – 25 °C – 30 °C – 33 °C – 35 °C. A ogni step sono stati misurati gli spostamenti della finestra di trasmissione utilizzando tre soluzioni idroalcoliche di riferimento a titolo noto: 10%, 12.5% e 15%. Per ogni soluzione sono state effettuate cinque misurazioni.

I risultati migliori sono stati ottenuti con l'elemento sensibile a una temperatura di 35 °C, in corrispondenza della quale lo spostamento della finestra di trasmissione in valore assoluto è di circa 5-8 nanometri, ma lo spostamento relativo, differenza tra due concentrazioni vicine, è il più elevato (circa 2.5 nm). Inoltre la deviazione dal valore medio è la minore.

La temperatura di 35 °C fornisce un ulteriore vantaggio, in quanto garantisce il raggiungimento dell'equilibrio in tempi estremamente brevi (pochi secondi) favorendo l'evaporazione del vino in analisi; questo permette di aumentare il numero di misure nell'unità di tempo.

La temperatura dei vini in analisi è ovviamente la seconda variabile da considerare

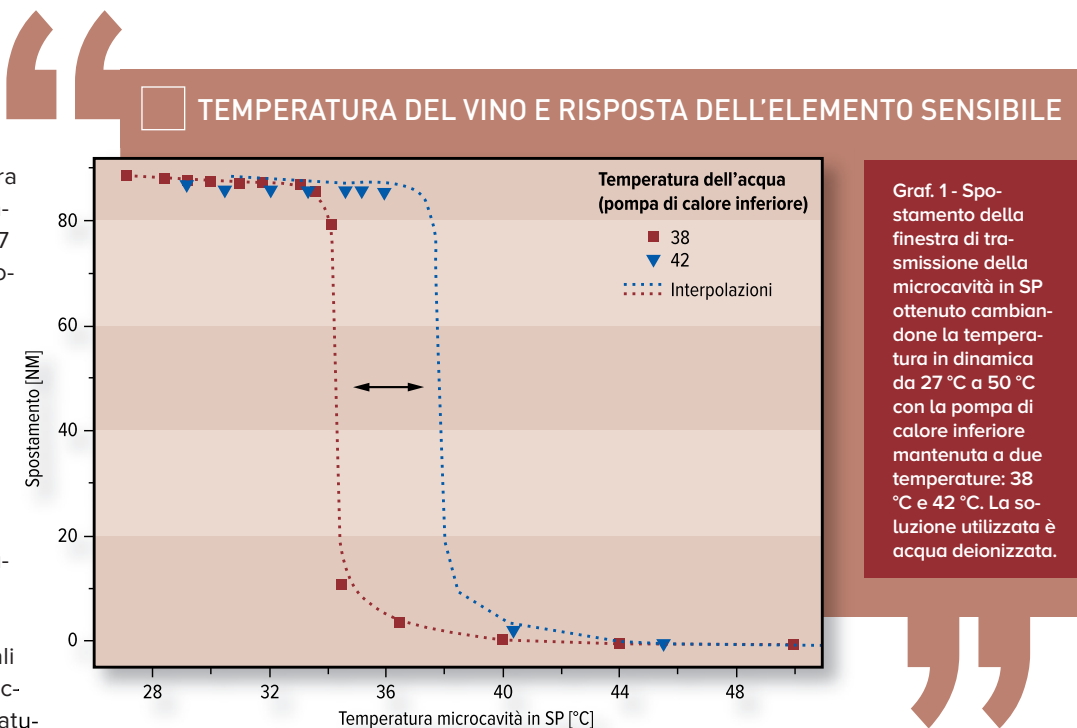
al fine di concludere l'ottimizzazione dell'alcolometro.

Questo obiettivo è stato raggiunto studiando lo spostamento della finestra di trasmissione a microcavità cambiando la temperatura in dinamica da 27 °C a 50 °C con la pompa di calore inferiore mantenuta a due temperature: 38 °C e 42 °C. La soluzione utilizzata per questa prova è acqua pura.

Come si evince dal grafico 1 la temperatura della soluzione in analisi influisce ma non cambia la risposta dell'elemento sensibile: l'andamento dello spostamento della finestra di trasmissione aumentando la temperatura è il medesimo.

Fase 2: taratura dell'alcolometro

Stabilite le condizioni operative ottimali per le due pompe di calore, la fase successiva è stata la definizione della taratu-



da più di cinquant'anni
conosciamo ogni
singola sfumatura
del vostro lavoro

per questo vi proponiamo una gamma ineguagliabile
di apparecchiature per i vostri vigneti votate all'eccellenza



www.martignani.com



**ELECTROSTATIC
SPRAY SYSTEM** ... dal 1981

kwh System...dal 1946

MARTIGNANI

Martignani s.r.l.

Via Fermi, 63 - Zona Industriale Lugo I - 48020 S.Agata sul Santerno (RA) Italy - Tel. +39 0545 230.77 - Fax 0545 306.64 - e-mail: martignani@martignani.com

ra dell'alcolometro, mostrata in grafico 2; in ascissa è riportato il contenuto alcolico dei vini di tabella 1, utilizzati per la calibrazione, determinato mediante il metodo ufficiale (distillazione con successiva valutazione della densità del distillato), e in ordinata lo spostamento della finestra di trasmissione della microcavità in SP. Le temperature scelte (35 °C per la microcavità e 38 °C per i vini/soluzioni) permettono di effettuare l'analisi di un singolo vino in soli tre minuti; tempo che comprende anche la fase di svuotamento. Ogni vino è stato misurato cinque volte e ha richiesto quindi complessivamente circa 15 minuti. Lo spostamento ha un andamento lineare e cresce all'aumentare della concentrazione di alcol etilico nel vino; l'equazione della retta riportata nel grafico 2, calcolata dal *fit* lineare dei valori indicati nel medesimo grafico, è lo strumento per calcolare il contenuto alcolico di un campione incognito di vino rosso.

Fase 3: determinazione del grado alcolico di vini incogniti

Una serie di campioni di vino incogniti (di cui non si conosceva il contenuto in alcol etilico)

è stato analizzato con l'alcolometro e il grado alcolico è stato calcolato utilizzando la calibrazione sopra descritta.

La tabella 2 mostra i valori degli spostamenti misurati e i rispettivi contenuti di alcol etilico calcolati inserendo nell'equazione di taratura lo spostamento in nanometri. Come si può osservare, i valori così determinati risultano essere molto simili a quelli ottenuti con il metodo ufficiale e le deviazioni standard risultano molto contenute.

Una misurazione semplice e accurata

La procedura per la misura del contenuto alcolico di un vino è estremamente semplice ed immediata poiché non richiede alcun pre-trattamento del campione e si può riassumere nei seguenti step:

- leggere la posizione della finestra di trasmissione della microcavità ($\approx 600\text{nm}$);
- introdurre due millilitri del vino in analisi nel contenitore in alluminio;
- inserire il contenitore nella cella di Plexiglas, chiudere la cella e attendere sino all'equilibrio del sistema (la frazione volatile del vino condensa all'interno dei pori del SP);
- leggere il nuovo valore della finestra di trasmissione dopo lo spostamento ($600\text{nm} + X\text{nm}$).

A questo punto è sufficiente inserire il valore rilevato di scostamento della microcavità nell'equazione di taratura per ottenere il contenuto alcolico del prodotto esaminato.

DA PROTOTIPO A STRUMENTO

L'alcolometro basato su una microcavità in silicio poroso è risultato capace di valutare il contenuto alcolico dei vini con un'elevata accuratezza e una spiccata semplicità d'uso, oltre che in tempi molto brevi (circa 15 minuti per cinque misurazioni su di un campione). Inoltre i vini analizzati non hanno richiesto alcun un pre-trattamento.

Concludendo, è evidente come questo nuovo strumento di misura possa rappresentare un'importante evoluzione nel mondo delle apparecchiature per la valutazione del contenuto alcolico dei vini e più in generale delle bevande fermentate.

Attualmente sono quindi in corso le ulteriori fasi che permetterebbero di passare da prototipo a strumento analitico: si sta lavorando sul miglioramento del packaging, al fine di poter disporre di un apparato compatto, e sulla semplificazione dell'interfaccia con l'utente finale.

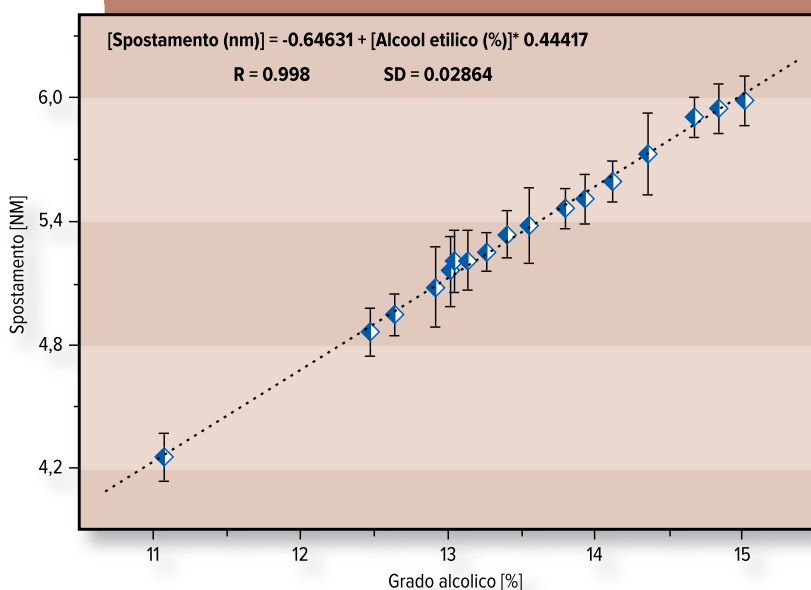
La Bibliografia può essere richiesta all'indirizzo costanza.fregoni@tecnichenuove.com

Si ringrazia il laboratorio di Analisi Enologiche Enocontrol Scarl di Alba (CN) per aver messo a disposizione i campioni esaminati e le relative composizioni.

* Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali, Settore Microbiologia agraria e tecnologia alimentare - Università di Torino

** Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica (INRIM) - Torino

CALIBRAZIONE DELL'ALCOLOMETRO



Graf. 2 - Curva di calibrazione dell'alcolometro e relativa retta di taratura.