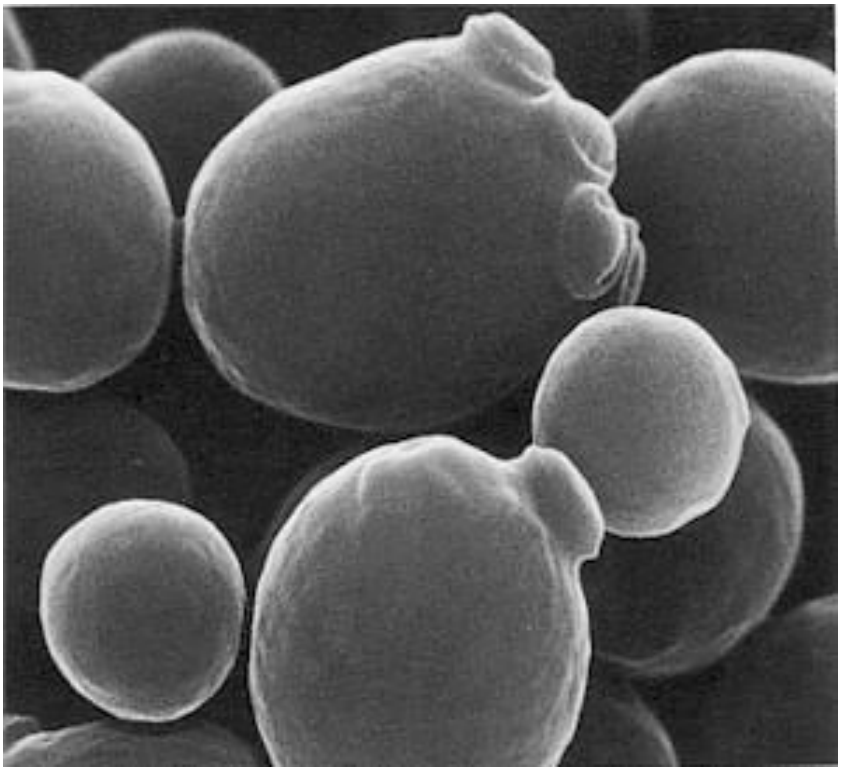
I.T.A.S. “Gian Battista Cerletti” Conegliano

LIEVITI E COMPOSTI DELLO ZOLFO



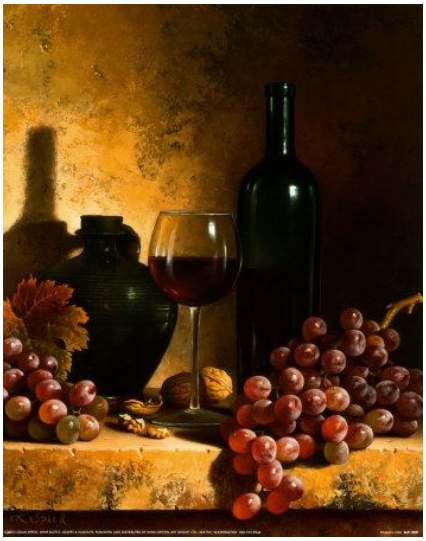
LORENZETTO RAFFAELE

CLASSE 6^ VB
ANNO:2010/2011
TESINA FINALE

Introduzione

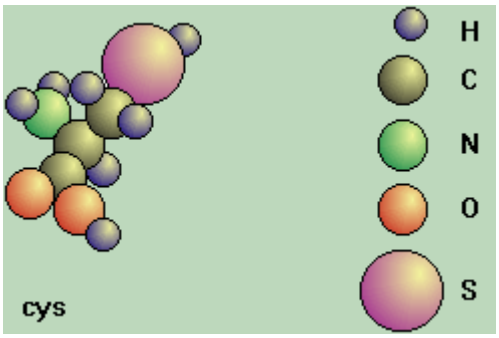
All'inizio degli anni '60 in Germania un produttore tedesco mise in commercio un vino dichiarandolo privo di anidride solforosa (che effettivamente lui non aveva impiegato).
Analisi eseguite in seguito da laboratori di controllo della repubblica federale di Germania dimostrarono che nel prodotto in questione era riscontrabile la presenza di anidride solforosa in quantità ben determinabile. Di conseguenza il produttore fu denunciato per aver fatto una dichiarazione contraria alla verità e processato.
Costui in sede processuale insistette nel proclamarsi innocente, apparentemente sincero.
Si stabilì allora di chiedere il parere ad una persona di grande esperienza, l'enologo Zang, il quale accertò la buona fede del produttore (poi assolto) addossando la responsabilità della produzione di SO_2 ai lieviti agenti della fermentazione e ai trattamenti con anticrittogamici a base di ditiocarbammati.

Durante gli ultimi anni l'interesse verso questo fenomeno è aumentato notevolmente ed è ormai diventato un fattore importantissimo nella selezione dei ceppi di lievito che dovranno portare a compimento la fermentazione.
L'obiettivo comune è sempre quello di limitare al minimo indispensabile la presenza dell'anidride solforosa nel prodotto finito, cercando comunque sempre di garantire un equilibrio chimico e microbiologico durante la conservazione, compatibilmente ad una garanzia verso la salute del consumatore.
E' quindi indispensabile conoscere i fenomeni che portano alla produzione di biossido di zolfo da parte dei lieviti agenti della fermentazione, legata inoltre strettamente a quella di idrogeno solforato, altro composto degno di attenzione per mantenere una certa qualità nel nostro vino.
Importante è perciò sapere esattamente gli effetti che derivano dalla presenza di questi composti solforati ed il loro comportamento nel mezzo. Solo così sarà possibile averne un controllo e poter effettuare aggiunte consapevoli di anidride solforosa, per ottenere il massimo risultato con il minimo sforzo, ma soprattutto con il minimo rischiosi danneggiare il prodotto e la gente che lo consuma.



1. Riduzione assimilativa dei solfati

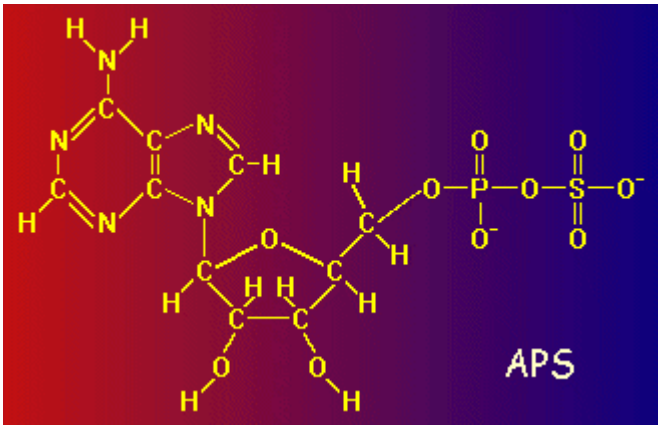
Lo ione solfato è il composto solforato più abbondante a disposizione degli organismi, ma deve essere ridotto prima di essere incorporato in molecole organiche; lo zolfo è infatti presente, come gruppo –SH, in alcuni amminoacidi, nel coenzima A ed in altri composti organici.
Il salto tra questi due stati di ossidazione (+6 e -2) è elevato, come pure la differenza tra i relativi potenziali redox; è logico che la riduzione del solfato comporti varie tappe, con trasferimento di numerosi elettroni e che il processo sia fortemente endoergonico.
Per poter entrare a far parte di molecole organiche il solfato, per ragioni termodinamiche, viene attivato da un residuo adenilico AMP ceduto dall'ATP, per formare adenosin fosfosolfato o adenilsolfato APS, forma metabolicamente attiva del solfato.



Il processo comporta una considerevole spesa energetica, ma abbassa la differenza di potenziale tra la forma ossidata e la ridotta (potenziali_redox_dello_zolfo).
Il primo composto organico stabile che si forma è l'amminoacido cisteina CYS, dal quale derivano le altre molecole organiche contenenti zolfo.
La riduzione assimilativa dei solfati a solfuri e successivamente la sintesi degli amminoacidi solforati è peculiarità del regno vegetale.

1.1 Potenziali redox dello zolfo

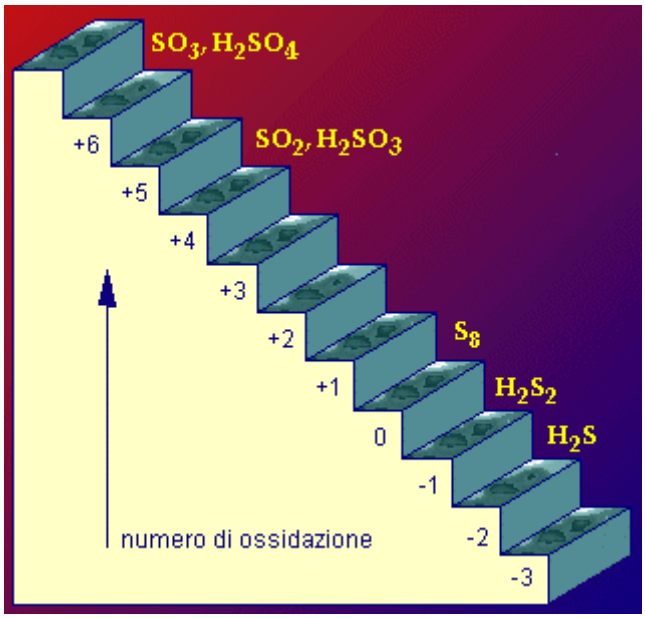
Il potenziale redox della coppia SO4=/SO3= è infatti -0,51 V, troppo negativo per accettare elettroni da un donatore metabolico.
Il potenziale APS/SO_3= è invece – 0,06 V, molto meno negativo e adatto perciò per accettare elettroni da riducenti metabolici come NADH.
La formula in figura rappresenta l'adenosin fosfosolfato o adenilsolfato APS, che è la forma metabolicamente attiva del solfato.



2. Riduzione disassimilativa dei solfati

Lo ione solfato può essere usato come ossidante.
Questo tipo di respirazione anaerobica (schema_di_respirazione_anaerobica) ha caratteristiche particolari in quanto è condizionato dai potenziali notevolmente negativi degli intermedi di ossidoriduzione dei composti ossidati dello zolfo (stati_di_ossidazione_dello_zolfo).
Come nella riduzione assimilativa, anche nella disassimilativa lo ione solfato deve essere attivato mediante l'aggiunta di un residuo adenilico.
Il potenziale redox della coppia APS/SO_3=, – 0,06 V è invece abbastanza poco negativo per permettere ad APS di accettare elettroni da riducenti metabolici, come NADH, con una certa resa energetica.
La riduzione disassimilativa dei solfati nei terreni viene effettuata da un ristretto numero di specie batteriche appartenenti ai generi desulfovibrio_e_desulfatomaculum.

STATI DI OSSIDAZIONE DELLO ZOLFO



3. Produzione di SO2

Durante la fermentazione alcolica i lieviti producono naturalmente anidride solforosa (SO_2) come intermedio metabolico nella riduzione dei solfati.
I ceppi di lievito si possono classificare in ***basso produttori di SO_2*** *(*e.g. *Saccharomyces Cerevisiae)* e in ***alto produttori*** (e.g. *Saccharomyces bayanus*).
Alcuni ceppi di lievito, meno frequenti ma non rari, possono produrre fino a 300-500 mg/L di SO_2 durante la fermentazione, livelli assolutamente sorprendenti.
Dott e Trüper (1976) hanno descritto che la solfito reduttasi dei ceppi di lieviti che producono solfiti potrebbe essere alterata.
Come conseguenza i solfiti (SO_2) si accumulerano nella cellula e infine potranno essere rilasciati nel mosto. Ulteriori evidenze sulle mutazioni come possibile spiegazione per la produzione dei solfiti non sono state confermate. Oggi i produttori di lievito disidratato considerano questa importante proprietà del lievito durante il processo di selezione. Solo se il produttore di vino vuole indurre una fermentazione spontanea, non c'è garanzia sulle proprietà del lievito.

L'anidride solforosa di origine biologica non è diversa da quella aggiunta; al termine della fermentazione dei mosti la si ritrova allo stato combinato ed è determinabile con gli stessi metodi di analisi. I solfiti prodotti dai lieviti si sommano quindi a quelli aggiunti.
Il fatto che ceppi del tutto privi di questa capacità non siano stati trovati, indica che **l'anidride solforosa, in quanto prodotta dagli agenti della fermentazione alcolica, è un normale componente dei vini**, inevitabilmente e spontaneamente presente in quantità molto variabili.

Per il suo controllo nei vini è quindi strategica la scelta del ceppo di lievito per la vinificazione.
Come è già stato detto precedentemente tutti i ceppi di lievito sono produttori di SO_2, ma essi presentano performance di fermentazione diverse.
Attuali ricerche hanno perciò studiato la possibilità di sfruttare tale produzione endogena di solfiti per evitarne l'aggiunta.
Si può osservare chiaramente una differenza in questa capacità tra le distribuzioni degli isolati naturali e dei ceppi commerciali. I lieviti ecotipici risultano per la maggior parte medi produttori di SO_2, mentre i ceppi commerciali si distribuiscono pressoché equamente tra medi produttori(50%) e alti produttori(49%).
Ci sono notevoli diversità anche nelle attitudini. Alcuni ceppi, sia ecotipici che commerciali, smettono quasi completamente di produrre SO2 già quando la concentrazione iniziale della stessa è 25 mg/l.
Comportamento completamente diverso si verifica in altri commerciali, la cui produzione di SO_2 risulta persino aumentare al crescere della dose di solfito iniziale.

4. Produzione di H_2S

L'idogeno solforato è l'ultimo prodotto della riduzione dei composti inorganici dello zolfo da parte dei lieviti.
Questa capacità è molto comune in Saccharomyces cereviseae e sono pochi, poco più dell'uno per cento, i ceppi totalmente privi di tale capacità. In questi ceppi l'incapacità di produrre idrogeno solforato è comunque da ricercarsi in difetti di natura genetica a carico del "locus" specifico della **solfito reduttasi**, a causa dei quali l'enzima non viene sintetizzato o lo è in maniera errata; la totale mancanza di solfito reduttasi non consente la riduzione dei solfiti a idrogeno solforato, mentre la solfito reduttasi difettosa dà luogo a una produzione di idrogeno solforato appena sufficiente al fabbisogno delle cellule. **In quest'ultimo caso, che sembra essere il più frequente, il ceppo non ha esigenze nutritive particolari e generalmente produce rilevanti quantità di ANIDRIDE SOLFOROSA.**
L'incapacità di produrre H_2S è carattere stabile ed ereditario che viene trasmesso ai discendenti secondo le leggi della ereditarietà mendeliana.
Nei ceppi che producono idrogeno solforato il carattere mostra, sotto l'aspetto quantitativo, una grande variabilità: ci so no ceppi dai quali il composto è prodotto in piccolissime quantità, a livello di pochi microgrammi per litro, mentre da parte di altri, a parità di condizioni, la produzione è molto più alta, a livello di 4-5 mg per litro. In Saccharomyces cereviseae tale capacità produttiva è un carattere stabile; tuttavia esso è largamente influenzato dal mezzo nutritivo e in particolare dalla disponibilità di alcuni fattori di accrescimento quali la piridossina e l'acido pantotenico e dalla presenza di amminoacidi, fra i quali in prima linea quelli solforati e dalla composizione azotata in generale.
In mezzi nutritivi molto ricchi, come il mosto d'uva, la produzione di idrogeno solforato non assume comunque proporzioni clamorose anche se la fermentazione è provocata da ceppi che possiedono questa capacità ai più alti livelli.
Al riguardo va precisato che **la produzione di grandissime quantità di idrogeno solforato che talvolta si verificano durante la fermentazione del mosto, non è ascrivibile al particolare ceppo di lievito agente della fermentazione stessa, bensì alla presenza nel mosto di zolfo elementare residuo dei trattamenti antioidici**: zolfo elementare che tutti i lieviti riducono intensamente ad H_2S con un meccanismo diverso da quello dei solfati.

5. Parte sperimentale: confronto tra diversi ceppi di lievito per valutarne la produzione di SO_2 e H_2S

Ho avuto modo di verificare personalmente, con l'utilizzo di appositi terreni di coltura, l'effettiva differenza nella produzione dei due composti solforati da parte di diversi ceppi di lievito.

5.1 Differenze nella produzione di idrogeno solforato

La capacità di produrre idrogeno solforato da solfati può essere messa bene in evidenza mediante l'impiego di alcuni terreni nutritivi particolari: si tratta dei **substrati ABY e BIGGY (1 g/l di estratto di lievito, 10 g/l di glicina, 10 g/l di glucosio, 3 g/l di solfito di Na, 5 g/l di ammonio citrato di bismuto, 3 g/l di agar)**.
In questi terreni i ceppi non produttori danno origine a strisci stabilmente bianchi, i ceppi produttori H_2S invece a strisci scuri, da bruno a neri.

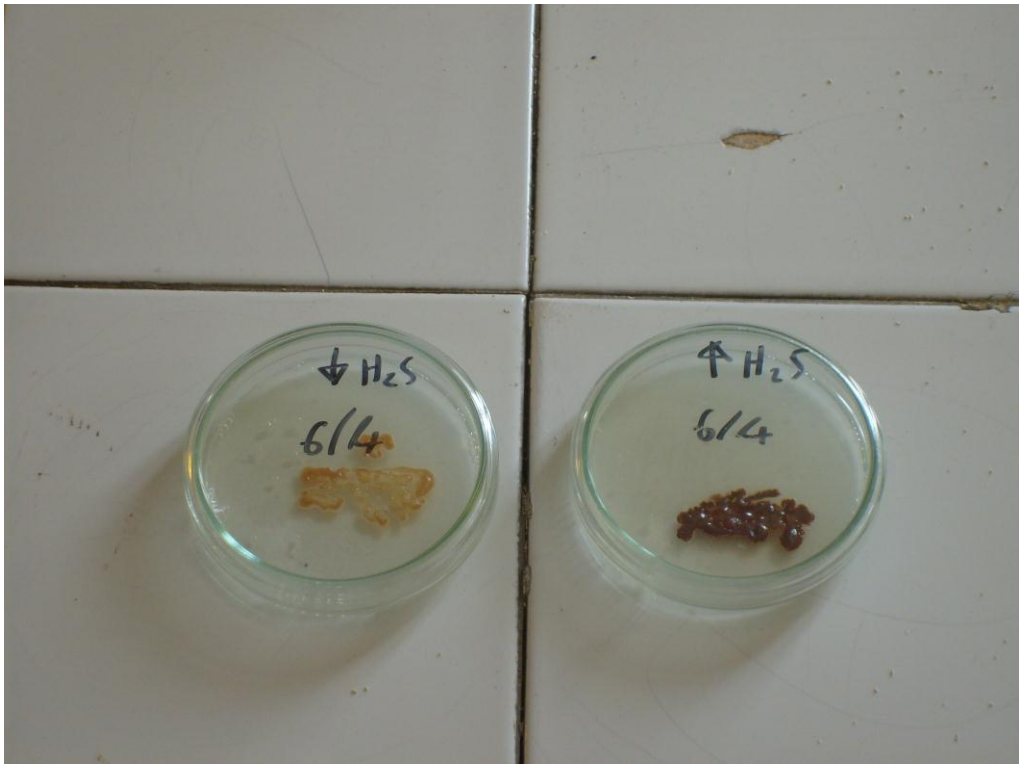


Figura 1 Ceppi di lievito forniti dall'università di Padova, presentano una notevole differenza nella produzione di idrogeno solforato, si individua una visibile diversità nel colore delle strisce.

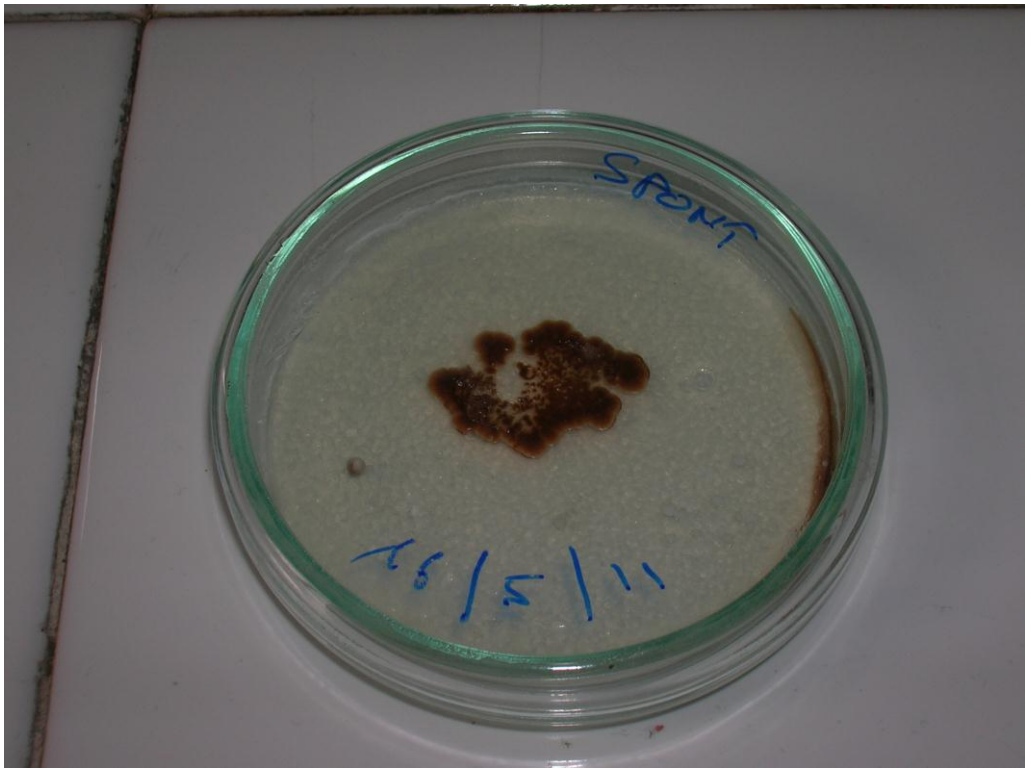


Figura 2 Molto evidente l'elevata produzione di idrogeno solforato da parte di lieviti derivanti da fermentazione spontanea.

5.2 Differenze nella produzione di biossido di zolfo

Si potrà notare ora che i ceppi presi in esame presentanti alte produzioni di H_2S si attestano invece su basse produzioni di SO_2 e viceversa.
La capacità di produrre anidride solforosa da solfati può essere messa bene in evidenza mediante l'impiego di terreni **YM Agar con fucsina (3 g/l di Estratto di lievito, 3g/l di estratto di malto, 5 g/l di peptone, 10 g/l di destrosio, 20 g/l di agar, 20 µg /ml di fucsina).**
A differenza dei terreni BIGGY qui i lieviti alto produttori di SO_2 daranno origine a colororazioni più chiare, mentre i basso produttori rimarranno su colorazione più tendenti al fucsia.

Figura 3 Ceppo di lievito alto produttore fornito dall'università di Padova, si può notare una colorazione più chiara delle strisce.

Figura 4 Ceppo di lievito basso produttore fornito dall'università di Padova, si può notare una coloazione più scura delle strisce.

6. Effetti della presenza dei composti solforati nel vino

6.1 H_2S

L'idogeno solforato è un composto che influisce direttamente e indirettamente sulla qualità dei vini. Per la fermentazione dei mosti sono preferibili i ceppi producenti H2S, ma ai livelli più bassi perché quelli privi di questa capacità generalmente accumulano molta anidride solforosa e quelli invece che producono molto idrogeno solforato possono dare origine nei vini a composti solforati sgradevoli.
Una concentrazione troppo elevata può dar luogo a odori natura di difetti nel prodotto finito, il classico "ridotto", ovvero odore di uova marce.

6.2 SO_2

La sua azione nel vino è molto ampia

- ANTIMICROBICA, porta alla morte dei i microrganismi penetrando nelle cellule ed interferendo con le molecole di ATP, NAD e FAD danneggiandole.

  Per i lieviti è tossica, essi per difesa emettono acetaldeide (composto organico che forma legami molto stabili, quasi irreversibili con l'SO_2). Naturalmente solo l'SO_2 libera agisce sui lieviti.
  Può avere 2 tipi di azione: fungicida, uccide i lieviti, utile per mutizzare; fungistatica, per impedire ad esempio le rifermentazioni in bottiglia, però in questo caso non devono essere già in attività fermentativa.
  Utilizzata all'inizio della fermentazione in piccole quantità ha azione selettiva sui vari ceppi di lievito, ad esempio favorisce i Saccharomyces cereviseae rispetto agli apiculati.
  Bisogna fare attenzione perché la SO_2 in fermentazione aumenta la resistenza di questi microrganismi verso di essa. Bisogna perciò in questa fase evitare le aggiunte.

  Agisce anche sui batteri lattici (LAB) e acetici. Sui LAB in parte agisce anche la SO_2 combinata. L'azione verso i batteri acetici è invece più debole.
  Nei vini bianchi in genere si solfita quindi per evitare la fermentazione malolattica, nei vini rossi invece per fermarla o ritardarla.

- ANTIOSSIDANTE, si lega con l'ossigeno evitando così l'ossidazione di altre molecole. Alcuni composti infatti con l'ossidazione diventano radicali liberi (perossidi instabili). E' il caso dell'acido ascorbico (usato come coadiuvante) che legato all'ossigeno forma acqua ossigenata (perossido). La SO_2 è quindi importante nell'evitare **ossidazioni chimiche**.

- ANTIOSSIDASICA, evita anche l'**ossidazione enzimatica**. Inibisce gli enzimi catalizzatori delle ossidazioni: tirosinasi (già presente nelle uve) e laccasi(derivante dalla Botrytis cinerea). Agisce legandosi ai cataboliti e impedendo la polimerizzazione ossidativa. La laccasi è più resistente alla SO_2.

- MODIFICA SAPORE E COLORE DEL VINO.
  L'SO_2 ha **potere solvente**: favorisce l'estrazione del colore danneggiando le cellule della buccia, perciò nella produzione di vini bianchi è meglio non solfitare durante la pigiatura.
  Appena aggiunta anidride solforosa si lega al catione flavilio (antociani) formando un composto incolore, però tale legame è facilmente reversibile.
  Si verifica anche un'influenza sul sapore, è in grado di migliorare il gusto di un vino

mediocre e mantiene la freschezza favorendo un ambiente riducente, essendo un antiossidante.
Si combina inoltre con alcune sostanze di odore o sapore pungente, come l'acetaldeide e l'acido piruvico, rendendoli non più percettibili all'assaggio.

- CHIARIFICANTE, l'SO_2 ha infine una blanda azione chiarificante, in quanto favorisce la coagulazione delle sostanze colloidali, incrementando il fenomeno della precipitazione spontanea delle fecce.

7. Aggiunte di SO_2 in enologia

Bisogna innanzi tutto tener conto che a possedere le proprietà principali è la SO_2 molecolare, invece l'HSO_3 ha un'azione molto più moderata. Il rapporto percentuale tra le due segue la legge di azione di massa e può variare conseguentemente a diversi fattori: il pH, nell'intervallo di pH del vino (3-4) più ci si avvicina al 3 e più alta sarà la percentuale di SO_2 rispetto all'HSO_3; la TEMPERATURA, a grado alcolico costante aumentando la temperatura aumenta la pKa e quindi diminuisce la Ka, ne consegue uno spostamento della reazione di dissociazione più a favore della SO_2 rispetto all'HSO_3; il GRADO ALCOLICO, stesso principio dell'incremento di temperatura.
In generale si considera **SO2 libera** la somma di tutte le frazioni di SO_2 attiva e ione bisolfito presenti in soluzione, parte che possiede tutte le proprietà desiderate al momento dell'aggiunta.
L'**SO_2 combinata** è rappresentata dallo ione bisolfito che si lega ad altre molecole aventi il gruppo carbonilico (C=O), è rappresentata da un'alta percentuale dell'SO_2 totale (anche più del 50%), essa ha azione praticamente nulla.
L'SO_2 si può legare con: l'acetaldeide, forma legami molto stabili (acido aldeidosolforoso), quasi irreversibili perché la Ka è molto bassa; acidi chetonici (piruvico e chetoglutarico) formati in condizioni particolari, inceppamenti di reazione che danno origine ad accumuli, la combinazione è abbastanza stabile e eventualmente si aggiunge la vitamina B1(tiamina); zuccheri, l'SO_2 non si combina facilmente perché la quantità è relativamente bassa e quelli presenti per la maggior parte sono in forma ciclica, senza gruppo carbonilico e perciò poco favorevoli al legame; molecole dicarboniliche (gliossale e metilgliossale) prodotte dalla Botrite, combinano molta SO_2 ma il legame è facilmente reversibile; molecole fenoliche, procianidine (derivanti dai tannini) e antociani (catione flavilio), in quest'ultimo avviene un cambiamento fisico, si forma un composto incolore che si dissocia però facilmente variando pH e temperatura; altre molecole con il gruppo carbonolico, ad esempio acetoino e diacetile.

7.1 In vinificazione

Il diossido di zolfo è efficace se viene aggiunto prima della fermentazione. Se una parte dell'uva inizia a fermentare prima di essere stata solfitata, essa è definitivamente sottratta all'azione della SO_2 poiché in essa avviene la reazione istantanea della SO_2 con l'etanale prodotto dal lievito in fermentazione.
Se si considera la rapidità con la quale avviene il consumo di O_2 nel mosto d'uva, quando si desideri avere una protezione veramente efficace nei confronti delle ossidazioni occorre che ciascuna aliquota di pigiato o frazione di mosto ricevano la dose necessaria di diossido di zolfo nei primi minuti che seguono la pigiatura o la pressatura dell'uva.
Sulla base di quanto detto, l'unico metodo razionale di solfitazione in vinificazione consiste:
per le uve bianche, nell'introdurre con regolarità una soluzione di solforosa nel mosto man mano che avviene la sua estrazione, non è consigliabile solfitare il pigiato poiché questo comporta il rischio di aumentare i fenomeni di macerazione;
per le uve rosse, nel corso della pigiatura.

In entrambi i casi è conveniente aggiungere la SO_2 in forma sufficientemente diluita, in modo che possa adeguatamente miscelarsi al mosto.

Nella scelta della dose da aggiungere all'uva si deve tener conto del grado di maturità, lo stato sanitario, dell'acidità dell'uva, della temperatura e dei rischi di contaminazione.
La tabella 1 fornisce alcuni valori indicativi.

Tab. 1 – Dosi di impiego del diossido di zolfo in vinificazione nelle zone a clima temperato

Vinificazione in rosso	
Uve sane, mediamente mature, con elevata acidità	5g/hl di vino finito
Uve sane, ben mature, con una debole acidità	5-8g/hl di vino finito
Uve ammuffite	8-10g/hl di vino finito
Vinificazione in bianco	
Uve sane, mediamente mature, con elevata acidità	5g/hl di mosto
Uve sane, ben mature, con una debole acidità	5-8g/hl di mosto
Uve ammuffite	8-10g/hl di mosto

La diffusione dei sistemi di refrigerazione delle uve, la cura nella pulizia delle cantine, la protezione sanitaria del vigneto contro il marciume insieme alla maggiore conoscenza delle proprietà del diossido di zolfo, permettono di ridurre le dosi di impiego in vinificazione.
Può essere utile aumentare le dosi di impiego della SO_2 con il procedere della raccolta, allo scopo di compensare l'aumento della carica microbica, in particolare batterica, dovuto allo sviluppo dei microrganismi sulle attrezzature, sulle pareti delle vasche e sui muri delle cantine.

7.2 Conservazione e imbottigliamento

Durante la conservazione sono necessari, da principio, apporti di diossido di zolfo per proteggere il vino dall'ossidazione. Si può approssimativamente ritenere che i rischi di ossidazione si manifestino nel corso di una conservazione prolungata, per concentrazioni inferiori a 5-10 mg/l per i vini rossi, 20 mg/l per i vini bianchi da uve sane e 30 mg/l per i vini bianchi da uve più o meno ammuffite.
Dal punto di vista microbiologico, la solfitazione durante la conservazione dei vini secchi consente di evitare lo sviluppo dei lieviti e batteri. Nei vini bianchi secchi e e nei vini rossi dopo fermentazione malolattica, le dosi impiegate per la protezione dalle ossidazioni sono generalmente sufficienti ad evitare lo sviluppo microbico.
La solfitazione consente anche di evitare la rifermentazione dei vini dolci, provocata generalmente dai ceppi dei lieviti resistenti alla SO_2. Il rischio di rifermentazione non dipende dal tenore in zuccheri, ma dalla gradazione alcolica dei vini. Si può ritenere che, in soddisfacenti condizioni di conservazione, siano necessari 50 mg/l di SO_2 libera per assicurare la conservazione di vini dolci a bassa gradazione alcolica (11% vol) e 30 mg/l per vini dolci ad elevata gradazione alcolica (13% vol).
Bisogna sempre tenere presente l'entità della popolazione di lieviti per valutare l'efficacia di una solfitazione. Tutte le operazioni (collaggio, filtrazione) che provocano l'eliminazione di una parte dei lieviti, permettono di diminuire la dose di SO_2 libera necessaria alla conservazione di un vino dolce.
La possibilità di abbassare la dose di SO_2 libera per la stabilizzazione dei vini dolci, deriva dagli sforzi compiuti per conservare i vini, in condizioni di pulizia tali da ridurre la popolazione contaminante. Queste regole igieniche devono riguardare sia il prodotto che i locali, i recipienti e le attrezzature, possibili fonti di contaminazione.
La tabella 2 riporta i tenori di diossido di zolfo libero che possono essere raccomandati nelle diverse situazioni.

Tab. 2 – Tenori in diossido di zolfo libero da mantenere nei vini (valori espressi in mg/l)

		mg/l
Dosi per la conservazione	Vini rossi	20-30
	Vini bianchi secchi	30-40
	Vini bianchi dolci	40-80
Dosi per il consumo (o all'imbottigliamento)	Vini rossi	10-30
	Vini bianchi secchi	20-30
	Vini bianchi dolci	30-50
Dosi per la spedizione (in fusti o in container)	Vini rossi	25-35
	Vini bianchi secchi	35-45
	Vini bianchi dolci	80-100

7.3 Il dosaggio del biossido di zolfo

Il procedimento che consente di ottenere i risultati più precisi consiste nell'effettuazione di una prova preliminare su diversi campioni del medesimo vino a cui vengono aggiunte dosi crescenti di SO_2 al fine di tracciare una curva SO_2 combinata / SO_2 libera. Si tratta di un'operazione lunga e delicata e quindi non sempre realizzabile.
Se si desidera aumentare il contenuto di SO_2 libera in un vino che già ne contiene, si può considerare, come regola generale che i due terzi di un'aggiunta supplementare restano allo stato libero ed un terzo si combina.
Es: aggiungendo 30mg di SO_2 /l, l'aumento di SO_2 libera sarà di 20mg/l.
Nella pratica si raccomanda fortemente, trascorso qualche giorno dall'aggiunta di SO_2, di verificare che la dose di SO2 libera corrisponda effettivamente alla dose ricercata.

Sulla quantità di SO_2 da impiegare nei vini si sono sollevate numerose questioni. Occorre assolutamente evitare dosi eccessive per ragioni salutistiche; dosi elevate, inoltre, possono interferire anche sull'aroma del vino, provocando l'attenuazione del profumo; dosi ancora superiori trasmettono difetti caratteristici, quali un odore soffocante ed irritante, odori di idrogeno solforato e di mercaptani ed una sensazione di bruciore a fine degustazione.

I notevoli progressi nella conoscenza della chimica del diossido di zolfo e delle sue proprietà hanno permesso di razionalizzare il suo impiego nel vino e di diminuire in maniera considerevole le dosi di impiego.

Nella tabella 3 sono indicati i valori limite indicati dall'UE.

Tab. 3 – Valore limite in mg/l del tenore di diossido di zolfo in funzione del tipo di vino. Regolamento dell'UE

Tipo di vino	SO_2 in mg/l
Vini rossi (zuccheri < 5g/l)	160
Vini bianchi e rosati (zuccheri < 5g/l)	200
Vini rossi (zuccheri > 5g/l)	175
Vini bianchi e rosati (zuccheri > 5g/l)	250

Soltanto i vini speciali, ricchi in zuccheri, conservano la possibilità di impiego di dosi maggiori: rappresentano tuttavia bassi volumi di produzione, generalmente costituiti da vini di qualità, consumati in quantità moderate.

Nella pratica le dosi di impiego sono ancora più basse.
Attualmente, in particolare per motivi di salute del consumatore, si ricerca la possibilità di un'ulteriore riduzione dei contenuti.
Se si considera la molteplicità degli effetti totalmente differenti che il diossido di zolfo possiede, è poco probabile immaginare l'esistenza di un'altra sostanza in grado di assolvere alle medesime funzioni, senza presentare inconvenienti. Al contrario, si può ipotizzare l'esistenza di sostanze in grado di completare l'effetto della SO_2 limitatamente ad alcune delle sue proprietà.

8. Prodotti usati per la solforazione dei vini

Le aggiunte al vino sono sempre espresse in mg/l o in g/hl di SO_2 qualunque sia la forma impiegata.

Le forme impiegate

a) Anidride solforosa liquida: gas di odore pungente facilmente liquefacibile, molto di più in soluzioni idroalcoliche, si trova sottoforma liquida a temperatura ambiente, alla pressione di 3 bars. Contenuta in bombole metalliche, viene impiegata in questa forma per effettuare aggiunte a dosi elevate. Le grandi cantine dispongono di impianti automatici di distribuzione della SO_2 liquida.
b) Soluzione liquida al 5 o all'8% in acqua o mosto, per aggiunte a piccoli volumi.
c) Soluzione liquida al 10-18% di bisolfito di potassio $KHSO_3$: si manipola più facilmente, ma essendo più concentrate, si miscelano con maggiore difficoltà.
d) Metabisolfito di potassio $K_2S_2O_5$, si presenta sia in polvere cristallina, sia in cristalli di varia grandezza, oggi la polvere presenta lo stesso grado di purezza dei cristalli ed è favorita per la sua rapidità di solubilizzazione. Teoricamente 100 g di metabisolfito di K dovrebbero svilupparne 54 di SO_2 ma in pratica se ne sviluppa meno (intorno al 50%). Se si vuole un effetto immediato si deve ricorrere alla sua solubilizzazione in acqua. Il $K_2S_2O_5$ a contatto con gli acidi del vino si decompone liberando SO_2. Attualmente è la forma più utilizzata.
e) Solfito di Ca, sviluppa circa il 40% di SO_2, da sconsigliarsi nei vini bianchi per l'arricchimento conseguente in Ca.
f) Zolfo puro, è il metodo più antico, un tempo veniva impiegato per la solfitazione dei mosti facendolo bruciare in appositi fornelli. Attualmente viene adoperato esclusivamente per la conservazione delle botti in legno, data la grossa difficoltà di misurarne esattamente la quantità che si solubilizza nel vino.

In definitiva per ottenere 10 g di SO_2 occorrono:

- 5 g di zolfo puro
- 10 g di anidride solforosa liquida
- 18 g di metabisolfito di K
- 25 g di solfito di Ca.

9. Effetti della ingestione di prodotti solforati sulla salute umana

L'anidride solforosa e i suoi derivati (solfiti) rappresentano un gruppo di additivi da lungo tempo utilizzati nell'industria alimentare. Gli additivi sono composti addizionati a numerosi prodotti alimentari, così come a farmaci e cosmetici, volontariamente, cioè per decisione del produttore, nella maggior parte dei casi la loro presenza deve essere riportata in etichetta. Alcuni di questi composti possono evidenziare manifestazioni cliniche di una preesistente malattia atopica, ovvero, occasionalmente, essere, loro stessi causa di sensibilizzazione allergica. Infatti gli alimenti tal quali o gli additivi contenuti possono provocare, per ingestione, in soggetti sensibili condizioni morbose anche gravi, per ragioni e attraverso meccanismi diversi. Tra i principali additivi che in letteratura vengono indicati come responsabili di crisi allergiche sono: solfiti, silicati, benzoati, gomme vegetali, glutammato monopodico, acido formico, alcuni aromi come vanillina e coloranti come la tartrazina e il rosso carminio. Nelle commissioni mediche a difesa della salute del consumatore i solfiti sono conosciuti come agenti allergici da una decina di anni ma solo quando queste intolleranze colpiscono un certo numero di soggetti (5 x mille) allora si prendono provvedimenti, quali denunciare alle istituzioni preposte di prendere provvedimenti come l'imposizione di scrivere in etichetta CONTIENE SOLFITI. Tra le sostanze che possono causare patologie in soggetti sensibili vi è il gruppo dei cosiddetti solfitanti che comprende vari additivi a base di solfito inorganico (E 220- 223-224-228) tra cui il solfito di sodio, il bisolfito di potassio e il metabisolfito, contenente biossido di zolfo. Inoltre all'interno dell'apparato digerente si assiste ad una formazione continua di solfiti nel corso della metabolizzazione degli amminoacidi contenenti zolfo. Il principale effetto negativo dell'anidride solforosa in individui non affetti da ipersensibilità consiste: nell'azione degradativa a carico della vitamina B1(tiamina), la cui carenza nell'uomo può provocare significative alterazioni a carico del metabolismo degli zuccheri (diabete); nell'alterazione delle pareti cellulari nelle cellule dello stomaco; in un rallentamento della crescita di individui ancora in via di sviluppo. Nei soggetti sensibili ai solfiti possono scatenare, asma, difficoltà respiratoria, fiato corto, respiro affannoso e tosse. Tali soggetti devono limitarne il più possibile l'ingestione perché le conseguenze di una ingestione eccessiva possono essere particolarmente gravi e in alcuni casi fatali. La conversione dei solfiti in solfati avviene durante il passaggio attraverso l'apparato digerente. Nello stomaco, dove il pH è molto basso in fase di digestione, l'ossidazione è molto lenta, mentre risulta assai più rapida nell'intestino e nel sangue (pH subalcalino). L'irritazione gastrica dipende dal fatto che i solfiti, a reazione decisamente acida, liberano anidride solforosa, che provoca una sensazione dolorosa accompagnata a vomito se la dose di anidride solforosa ingerita supera i 3,5 mg/kg di peso (avvelenamento acuto). La trasformazione dei solfiti in solfati avviene grazie all'intermediazione di una emoproteina (solfito-ossidasi) che contiene molibdneno, abbondante soprattutto nel fegato e nei reni. La sensazione del famoso cerchio alla testa che si può verificare dopo ingestione di una dose significativa di anidride solforosa sembrerebbe proprio legata all'azione di questa emoproteina che impiegando sia pure in quantità limitate l'ossigeno nella formazione di solfati, delimiterebbe l'afflusso al cervello, che reagisce con la nota sintomatologia dolorosa.

Si possono distinguere due tipi di tossicità:

- TOSSICITA' ACUTA, dovuta all'assunzione di una grossa quantità di SO2 in una volta sola;
- TOSSICITA' CRONICA, data da un accumulo per consumo costante.

10. Legislazione esistente

Il vino, pur essendo un prodotto alimentare complesso (coltivazione, vinificazione, imbottigliamento e sottoposto a lavorazioni con uso di molte sostanze chimiche) fino ad ora ha goduto di una favorevole impunità essendo stato esente dall'elencare gli ingredienti in etichetta, come altresì imposto a tutti gli altri prodotti alimentari. Attualmente però a seguito della normativa italiana, con il D.Lgs. 114/2006, modifica del D.Lgs. 109/92, ha recepito la Direttiva 2003/89/CE, detta la Direttiva allergeni, entrata in vigore il 25 novembre 2003, si obbliga i produttori del settore alimentare a presentare in etichetta tutti i prodotti allergeni (e tossici), tra cui l'anidride solforosa e i suoi derivati (-formula chimica SOx - internazionalmente siglati con E220-E221-E222-E223-E224-E226-E227-E228). La normativa prevede che vengano riportati i solfiti in concentrazioni superiori a 10mg/l o 10mg/kg.
In realtà però non permette al consumatore di scegliere vini a basso contenuto di solforosa, in quanto la dicitura è imposta sia per vini che contengono 11 mg/l di SO2, che per vini che ne contengono 200 mg/l.
Fra tutti gli additivi e coadiuvanti di uso enologico, l'anidride solforosa è l'unico di cui si siano verificati gli effetti tossicologici.
L'OMS ha fissato il limite massimo di SO2 assumibile giornalmente a 0,7 mg/kg di peso corporeo, perciò per un uomo di 80 kg equivale a 56 mg giornalieri.
Decisamente più ampio è invece il limite posto ai produttori dall'unione europea, ovvero: 200 mg/l per i vini bianchi e i rosati, 160 mg/l per i vini rossi secchi e 175mg/l per i vini rossi con più di 5 g/l di residuo zuccherino.
Supponendo quindi che un vino contenga la massima quantità di SO2 consentita dall'unione europea (cosa comunque rara al giorno d'oggi), il consumo di mezza bottiglia di un bianco (375 ml) comporterebbe l'assunzione di 75 mg di anidride solforosa, si supera così il limite salutistico dell'OMS previsto per un uomo di peso medio (80 kg).
E' perciò auspicabile un aumento nella severità legislativa da parte della UE in questo campo, soprattutto in vista delle moderne tecniche produttive in campo enologico che permettono di diminuire drasticamente l'utilizzo di questo, ancora insostituibile, additivo.

Conclusioni

E' stato dimostrato quindi che produrre un vino senza anidride solforosa è impossibile, in quanto essa fa parte della naturale composizione del vino.
Entra però qui in gioco l'importanza vitale del vinificatore, la cui responsabilità è limitare il più possibile l'utilizzo di questo fondamentale additivo, utilizzando tutte le strategie possibili che l'evoluzione tecnica e l'esperienza ci permette, ad esempio: l'igiene, l'utilizzo di uve sane, una lavorazione in riduzione, il controllo delle temperature di fermentazione e conservazione, cercare di proteggere il vino dalla luce. Importanti sono le sostanze e i processi coadiuvanti l'anidride solforosa:

- ACIDO SORBICO, antimicotico, presenta tossicità anche se in maniera inferiore rispetto all'SO_2;
- ACIDI GRASSI A CORTA CATENA, acidi ottanoico e decanoico, non tossici ma non ancora ammessi dalla UE, inibiscono lo sviluppo dei lieviti;
- LISOZIMA, enzima che attacca alcuni ceppi batterici, i GRAM +, catalizza la lisi del peptidoglicano (maggior costituente della parete cellulare dei batteri lattici), nullo sui batteri acetici, usato per ritardare la fermentazione malolattica;
- ACIDO ASCORBICO, precursore della vitamina c, antiossidante;
- DIMETILDICARBONATO (DMDC), il cui impiego nei vini è stato di recente permesso dall'unione europea, antisettico utilizzabile per garantire la stabilità microbiologica finale dei vini.

Non bisogna assolutamente sottovalutare la produzione di SO_2 da parte dei lieviti, come si è visto precedentemente la quantità può essere irrisoria ma anche sorprendentemente alta. Se ne deduce che prima di effettuare aggiunte è d'obbligo tenere in considerazione questo fattore, in quanto si rischiano grossi accumuli che non solo possono portare al superamento dei limiti legali, ma mettono soprattutto a rischio la nostra salute e la nostra stessa vita. La selezione dei ceppi di lievito adatti si dovrà basare quindi anche su questa proprietà, la produzione di SO_2 e H_2S in quanto strettamente collegate tra loro devono essere il più possibile equilibrate.
Il tutto si basa sullo studio e su un impegno che comprenda tutti senza eccezioni, con lo scopo di produrre un vino buono, che non nuoce alla salute, quindi sano. Solo così sarà possibile continuare a consumare tranquillamente, anche se sempre con consapevole moderazione, questa sacra e antica bevanda.

Bibliografia

Carlo Zambonelli, Microbiologia e biotecnologia dei vini, I processi biologici e le tecnologie di vinificazione, Edagricole

Maik Werner, Doris Rauhut, Philippe Cottereau, Codice di buone pratiche per la viticoltura e l'enologia biologica

Ribereau-Gayon P. , Trattato di enologia 1, Edagricole

Silvia Baratta, Mensile "VigneVini" n.9 settembre 2010, Lieviti che consentono di ridurre i solfiti

www.mondobiologicoitaliano.it

www.salutebenessere.wordpress.com

Ringraziamenti

E' doveroso un ringraziamento particolare al mio professore di microbiologia Nicola Zanetti che fin dall'inizio mi ha accompagnato e sostenuto nello svolgimento di questa tesina, nonché alle professoresse Valentina Tonin e Ornella Santantonio per i numerosi consigli e indicazioni ricevute.