

"ESPERIENZE DI PRODUZIONE DI VINI IN ASSENZA DI ANIDRIDE SOLFOROSA"

Claudio Riponi¹, Luigi Pirrone², Fabio Chinnici¹, Francesca Sonni¹, Nadia Natali¹

¹) Dipartimento Di Scienze degli Alimenti - Università di Bologna -

²) Sezione Industrie - Dipartimento di Ingegneria e Tecnologie Agro Forestali - Facoltà di Agraria -
Università di Palermo.

Riassunto

L'esigenza di eliminare, od anche solo ridurre, l'impiego di anidride solforosa nel processo di vinificazione, è conseguenza delle crescenti richieste dei consumatori di un prodotto più salutare e della recente legislazione europea in fatto di etichettatura di alimenti contenenti allergeni.

Dal punto di vista tecnologico, il raggiungimento di questo obiettivo rappresenta una formidabile sfida, tenuto conto delle molteplici funzioni che l'anidride solforosa svolge nelle varie fasi produttive e di stoccaggio.

Si tratta, in effetti, di risolvere i problemi di stabilità microbiologica e chimico-fisica dei mosti e dei vini ottenuti senza l'ausilio di questo additivo, utilizzato da più di un secolo dai produttori vinicoli di tutto il mondo.

Nel presente lavoro, sono illustrati i primi risultati relativi ad alcune esperienze di vinificazione di vitigni siciliani, (Inzolia e Nero d'Avola) in assenza di anidride solforosa. Tale ricerca si colloca nell'ambito di un progetto di ricerca finanziato dalla regione Sicilia, condotto dalle Università di Bologna e Palermo, avente per obiettivo la definizione di un protocollo tecnologico "sulphite free", idoneo alla vinificazione di uve da agricoltura biologica.

Sono stati considerati i prodotti ottenuti nel corso di diverse campagne vendemmiali, sia su scala di laboratorio che su scala industriale, per ciò che concerne gli aspetti di controllo dei fenomeni ossidativi, della stabilità nei confronti della fermentazione malolattica e del decorso fermentativo. Sono discusse le soluzioni tecnologiche adottate e le tematiche di ricerca e sperimentazione che potranno essere affrontate nei prossimi anni.

Premessa

Il crescente orientamento dei consumatori verso alimenti ad elevato contenuto salutistico, ha spinto la comunità europea a dotarsi di strumenti legislativi in grado di rispondere a tali esigenze e permettere al consumatore una scelta d'acquisto consapevole.

Recentemente, la direttiva 2003/89/CE ed il successivo Reg CE 1991/04, nel regolamentare le indicazioni d'etichetta per gli alimenti contenenti allergeni, hanno di fatto introdotto l'obbligo di evidenziare la presenza di quantitativi > ai 10 mg/L di solfiti nei vini.

La tossicità (cronica ed acuta) di quest'additivo è infatti nota, e l'OMS ha da tempo stabilito una DGA (dose giornaliera ammissibile) pari a 0,7 mg/Kg di peso corporeo.

L'individuazione di tecnologie idonee all'ottenimento di vini privi di anidride solforosa aggiunta potrebbe, quindi, rappresentare una valida risposta alle richieste del mercato, al contempo rendendo possibili etichette in cui sia indicata l'assenza di solfiti.

I vini ottenuti da uve da agricoltura biologica

Un secondo modo attraverso cui rispondere alla richiesta "salutistica" dei consumatori, potrebbe essere rappresentato dai prodotti provenienti dall'agricoltura biologica.

La comunità europea è stata la prima istituzione mondiale a dotarsi di un regolamento per tali produzioni (Reg. Ce 2092/91) ma, sebbene riguardi gli alimenti in tutte le fasi della filiera produttiva (dalla produzione delle sementi, alla coltivazione, alla trasformazione e commercializzazione del prodotto finito) non è applicabile al processo di vinificazione. Di fatto, quindi, con l'attuale normativa, per la vinificazione di uve provenienti da agricoltura biologica si applica la stessa regolamentazione vigente per le produzioni convenzionali, ivi comprendendo modalità e dosi di impiego dell'anidride solforosa. Una eccezione è rappresentata dall'esistenza di disciplinari a marchio privato, ad adesione volontaria, i quali pongono alcune restrizioni tecnologiche in cantina e, generalmente, ammettono quantitativi finali di SO₂ non superiori ad 80-100 mg/L.

Le problematiche derivanti dal mancato utilizzo dell'anidride solforosa in vinificazione

Le funzioni tecnologiche svolte dall'anidride solforosa, nei mosti e nei vini, sono molteplici. Tra queste, le più importanti sono legate alla capacità di impedire la proliferazione batterica indesiderata, al controllo della flora fermentante ed alle proprietà antiossidanti (azione diretta) ed antiossidasiche (azione indiretta) svolte sin dalle prime fasi di ammostamento dell'uva. In breve, l'SO₂ è lo strumento principe per il controllo della stabilità chimico-fisica e microbiologica in vinificazione e la sua sostituzione richiede la risoluzione di una serie di problemi di carattere tecnologico.

A causa della maggiore suscettibilità all'ossidazione, le vinificazioni in bianco in assenza di anidride solforosa possono essere particolarmente soggette a fenomeni di imbrunimento ossidativo a carico della frazione fenolica. Per queste, allo scopo di preservare le caratteristiche organolettiche del prodotto finale, appare inoltre indispensabile il controllo della fermentazione malolattica ed acetica.

Apparentemente più semplice è la situazione per i vini rossi, nei quali le dinamiche ossidative destano minori preoccupazioni, ma che trovano un punto critico nel controllo dello sviluppo acetico nel corso delle fasi di macerazione e pressatura. Anche in questo caso, poi, si rende necessaria una oculata gestione della fermentazione lattica, allo scopo di impedire decorsi eterofermentanti dannosi dal punto di vista sensoriale.

Comune alle due linee tecnologiche è, infine, l'esigenza di favorire l'instaurarsi di un processo fermentativo ottimale, prontamente condotto da lieviti selezionati, privilegiando ceppi che abbiano dimostrato basse produzioni di anidride solforosa in fermentazione.

Possibili soluzioni tecnologiche idonee alla vinificazione in assenza di anidride solforosa

In assenza di SO₂, i più importanti strumenti di controllo di *Acetobacter* e *Gluconobacter* sono senza dubbio la sanità delle uve, l'igiene della cantina (e delle sue attrezzature) e la minimizzazione dei fenomeni di dissoluzione di ossigeno nel mezzo. Utilizzare materia prima sana, infatti, significa abbattere significativamente la carica microbica iniziale mentre, limitando la presenza di ossigeno, è possibile impedire la diffusione e la proliferazione della popolazione acetica, sfruttando il fatto che in assenza di ossigeno tali batteri interrompono ogni processo di moltiplicazione cellulare (1).

Per quel che riguarda la gestione della flora lattica, già da qualche anno, il lisozima è stato proposto ed autorizzato in sede OIV, come valida alternativa all'anidride solforosa (2,3). Si tratta di un enzima ad attività glicolitica, in grado di interagire con la componente muramidasi della parete dei batteri Gram +, provocandone, appunto, la lisi. La sua efficacia è funzione della fase tecnologica in cui è utilizzato, dell'impiego di coadiuvanti con attività nei confronti delle proteine e del contenuto in polifenoli del mezzo (4). Il lisozima, contrariamente alla anidride solforosa, aumenta la propria attività con l'aumentare del pH del mezzo, e rappresenta perciò un valido complemento all'azione dell'SO₂ in vini ottenuti in zone viticole a clima caldo.

Per il controllo dei fenomeni ossidativi, è necessario individuare uno o più ausiliari in grado di sottrarre ossigeno al mezzo e di interferire con l'attività delle proteine enzimatiche. A questo scopo, esistono significative esperienze di utilizzo di preparati commerciali di tannino di differente origine e composizione, i quali hanno dimostrato una spiccata attività antiradicalica utile al blocco del processo ossidativo promosso dagli intermedi di reazione generati dall'ossigeno molecolare (5). L'utilizzo di tannini idrolizzabili può contribuire a ridurre l'ossigeno disciolto ed a stabilizzare le densità ottiche a 420 nm. Inoltre, in funzione dell'origine, il tannino dimostra una elevata reattività nei confronti delle proteine, suggerendo una possibile interferenza con l'azione degli enzimi ossidasi.

Infine, esperienze di conduzione della fermentazione di mosti non solfitati, mediante l'inoculo massiccio e precoce di lieviti del genere *Saccharomices*, hanno confermato la possibilità di imporre lo sviluppo pressoché completo di lieviti selezionati, ai danni della popolazione blastomicetica indigena (6). L'assenza di solfiti nel mezzo, può contribuire a ridurre il tempo di adattamento della popolazione inoculata, favorendo una rapida colonizzazione del mezzo ed un pronto sopravvento nei confronti dei lieviti indigeni.

Lo scopo della presente ricerca

Ci si è posti l'obiettivo di definire un protocollo tecnologico idoneo alla produzione di vini in assenza di anidride solforosa, a partire da uve provenienti dall'agricoltura biologica. Tale ricerca, che prevede il coinvolgimento di alcune realtà produttive locali, si colloca nell'ambito di un progetto di ricerca finanziato dalla regione Sicilia, ed è condotto in collaborazione fra le università di Bologna e di Palermo.

I metodi dell'Indagine

Vinificazioni

Le vinificazioni sono state eseguite negli stabilimenti delle Cantine Foraci (Mazara del Vallo – TP) e della Cantina San Francesco (Mazara del Vallo – TP) seguendo i protocolli di vinificazione riportati in **figura 1** e **figura 2** ed utilizzando uve cv Inzolia e Nero d'Avola. Le quantità di uva coinvolte nelle prove sono state di circa 400 q.li per ciascuna vinificazione. Per ciascuna tesi è stato predisposto un testimone, vinificato utilizzando il normale flusso produttivo aziendale.

Determinazioni Analitiche

La vinificazione e la conservazione delle tesi sono state monitorate attraverso le metodiche analitiche ufficiali CEE o, nel caso degli acidi organici, mediante l'utilizzo della tecnica HPLC abbinata a rivelatore UV, con l'obiettivo di porre in evidenza l'evoluzione dei parametri legati alla stabilità cromatica e microbiologica dei vini. Il lisozima è stato valutato utilizzando il metodo RP-HPLC-FLD messo a punto presso il Dip. di Scienze degli Alimenti dell'Università di Bologna (7).

Risultati

Uve cv Inzolia

Una grande parte dei dati sin qui ottenuti nell'ambito della sperimentazione riguarda la cv Inzolia. Se si eccettuano alcune indagini preliminari, per essa sono disponibili i dati di tre campagne vendemmiali, mentre i risultati ottenuti in una quarta vendemmia sono attualmente in corso di elaborazione.

Dalle **figure 3 e 4**, si evidenzia che nessuna differenza significativa fra tesi (enzimate o testimone), è stata riscontrata nel corso della fermentazione, per quanto riguarda la metabolizzazione dell'acido malico anche grazie all'efficace contenimento della flora batterica operato dal lisozima. Nel corso di prove di laboratorio ed si è potuto confermare che i componenti del mosto sono in grado di complessare una parte del lisozima ad esso aggiunto, causandone la precipitazione. A causa di ciò, già dopo 2 giorni dall'aggiunta, è stata riscontrata una importante riduzione del lisozima in sospensione (dal 65 all'80% in meno, pari a circa 50 e 100 mg/L residui, per le prove del primo e secondo anno rispettivamente) (Fig. 3 e 4), rendendo necessario il ricorso ad un seconda aggiunta di enzima con l'obiettivo di innalzare il tenore di proteina libera, nel mosto.

La frazione di lisozima complessata alla componente solida dei mosti, comunque, potrebbe mantenere parte della propria attività enzimatica. Nel corso di alcune prove di laboratorio e' stato riscontrato che i sedimenti ottenuti per centrifugazione dei mosti in corso di fermentazione, conservavano una attività litica anche dopo 20 giorni dall'aggiunta (dati non mostrati). E' ragionevole supporre, dunque, che anche la porzione di lisozima complessata ai solidi sospesi nel mosto in fermentazione, possa contribuire al contenimento dello sviluppo delle popolazioni lattiche (almeno fino al termine della fermentazione) e che la movimentazione di tali solidi, attuata nei primi giorni successivi all'inoculo, abbia un effetto positivo sulla parziale ridissoluzione della proteina complessata.

In una seconda prova di laboratorio, è stata valutata la possibilità della complessazione proteica attuata dal tannino enologico aggiunto in fase prefermentativa. Due mosti a diversa concentrazione di lisozima, sono stati aggiunti di dosi crescenti di tannino di galla e ne è stato valutato il quantitativo di proteina residua (**tabella 1**). Come i dati dimostrano, il tannino esercita una scarsa interazione con il lisozima, indipendentemente dalla quantità di quest'ultimo presente nel mosto e della percentuale di tannino aggiunto.

Al termine della fermentazione alcolica, le tesi enzimate avevano conservato pressoché inalterata la quantità di acido malico originariamente presente (**tabella 2**) a conferma della efficacia del lisozima, nel controllo della flora malolattica. Da notare che il primo anno, sono state riscontrati solamente 80 mg/L di lisozima libero e che tale quantitativo ha efficacemente contrastato lo sviluppo batterico.

Le piccole quantità di anidride solforosa presenti nei vini enzimate sono da addebitarsi al metabolismo dei lieviti.

In **figura 5** sono mostrati, a titolo di esempio, i parametri relativi alla fermentazione malolattica dopo 1 e 3 mesi, per le prove del terzo anno. Come è possibile vedere, il patrimonio in acido malico è rimasto inalterato per i tre mesi successivi al termine della fermentazione malolattica, grazie al contenimento della popolazione batterica operata dalla anidride solforosa (nella tesi testimone) e dal lisozima (nella tesi enzimata).

La situazione compositiva dei vini, dopo 6 mesi di conservazione sotto battente inerte è mostrato nella **tabella 5**. Per le prove del I° e II° anno, il patrimonio acidico è paragonabile fra le tesi, tutte soggette al completamento della fermentazione malolattica. La colonna relativa ai vini del III° anno, invece, dimostra che, per tale annata ed in entrambe le tesi, il controllo della stabilità batterica si è protratto per almeno 6 mesi, senza significative variazioni del quadro acidico complessivo. Vale la pena notare che la tesi testimone mostra un incremento del valore di acidità volatile, conseguenza dell'innalzato livello di popolazione acetica presente nei vini.

Complessivamente, i risultati illustrati dalla figura 5 e dalla tabella 5, suggeriscono che il controllo della fermentazione lattica può presentarsi problematico, in funzione dell'annata e delle condizioni di conservazione. In taluni casi, neanche la presenza di buoni livelli di anidride solforosa (tesi testimone) o lisozima, è sufficiente a garantire la preservazione del livello di acido malico originario oltre il terzo mese di conservazione (vedi I° e II° anno). In condizioni ed annate favorevoli, d'altro canto, le quantità proposte di lisozima, aggiunte sin dall'inizio del processo fermentativo, sono in grado di contrastare efficacemente la crescita batterica fornendo risultati non diversi dalle prove aggiunte di anidride solforosa.

Come testimoniato dalle D.O. a 420 nm, inoltre, l'intervento di aggiunta di tannini in fase prefermentativa ha permesso la protezione dai fenomeni di carattere ossidativo, anche se il test di maderizzazione ha rivelato una maggiore suscettibilità all'imbrunimento delle tesi prive di SO₂.

Seguendo l'ipotesi che il tannino possa interagire con gli intermedi radicalici generati dall'ossigeno molecolare, ossidandosi a sua volta, sarebbe interessante valutare l'effetto dell'allontanamento dei chinoni così ottenuti, sulla stabilità all'ossidazione dei vini.

Uve cv Nero d'Avola

Come già detto precedentemente, i dati relativi alla vinificazione di Nero d'Avola sono parziali e limitati ad una campagna vendemmiale.

I dati della tabella 6, mostrano che la tesi aggiunta di lisozima ha terminato la fermentazione mantenendo il patrimonio acidico iniziale. L'innescò della FML è stato rapido, così come il suo completamento. Discorso diverso è per la tesi testimone che ha protratto la fermentazione malolattica fino dopo il secondo mese, dall'ammestamento. E' interessante notare come, sebbene già dopo 24 ore dall'aggiunta di lisozima una grossa parte della proteina fosse stata complessata dai costituenti del mosto (85 mg/L residui, rispetto ai 300 mg/L aggiunti), non si sono avute fermentazioni lattiche indesiderate, probabilmente grazie all'attività residua che la proteina complessata ha dimostrato di mantenere. Una fase critica del processo di vinificazione in rosso è rappresentato dalle fasi di pressatura delle bucce al termine della macerazione. Le indagini microbiologiche, condotte nel corso di annate precedenti, hanno confermato un netto aumento della carica batterica nei pressati/torchiatati, sia a causa della cessione da parte delle bucce, sia a causa delle particolari difficoltà di sanificazione delle attrezzature. Entrambi i vini si presentano con tonalità ed intensità di colore elevato.

La vinificazione di uve rosse in assenza di anidride solforosa, potrebbe offrire inedite possibilità per ciò che concerne le pratiche di microossigenazione. In questi vini, infatti, l'ossigeno non verrebbe intercettato dalla SO₂ in soluzione e diffonderebbe in maniera più efficace e rapida incrementando la stabilità dei pigmenti antocianici. Altro aspetto da considerare è la presumibile maggiore disponibilità di acetaldeide (anch'essa non immobilizzata dall'anidride solforosa) a fungere da ponte etanale per la formazione di complessi stabili tannino-antociano. Aspetti sperimentali relativi a queste ultime possibilità, saranno oggetto di studio nel corso dei prossimi mesi.

Conclusioni

Il protocollo di vinificazione proposto si è dimostrato idoneo all'ottenimento di vini privi di SO₂. L'inoculo massiccio di lieviti selezionati ha permesso un rapido e completo decorso fermentativo. Il controllo della flora lattica è stato assicurato nelle fasi di fermentazione e fino ad almeno il secondo mese di conservazione tramite

aggiunte successive di lisozima ed il controllo della presenza di ossigeno in linea. Fondamentale, da questo punto di vista, è il contenimento della popolazione batterica sin dalle prime fasi del processo di vinificazione. Il mantenimento dell'efficacia litica del lisozima oltre il secondo/terzo mese è parso essere funzione dell'annata vendemmiale, in modo non dissimile da quanto registrato per l'anidride solforosa. Positivi anche i risultati relativi al contenimento della flora acetica, mai dimostratosi problematico nelle tre annate vendemmiali. Infine, per quanto riguarda la protezione dai fenomeni ossidativi, il tannino di galla costituisce una valida alternativa all'anidride solforosa, soprattutto in condizioni di oculata gestione della presenza di ossigeno.

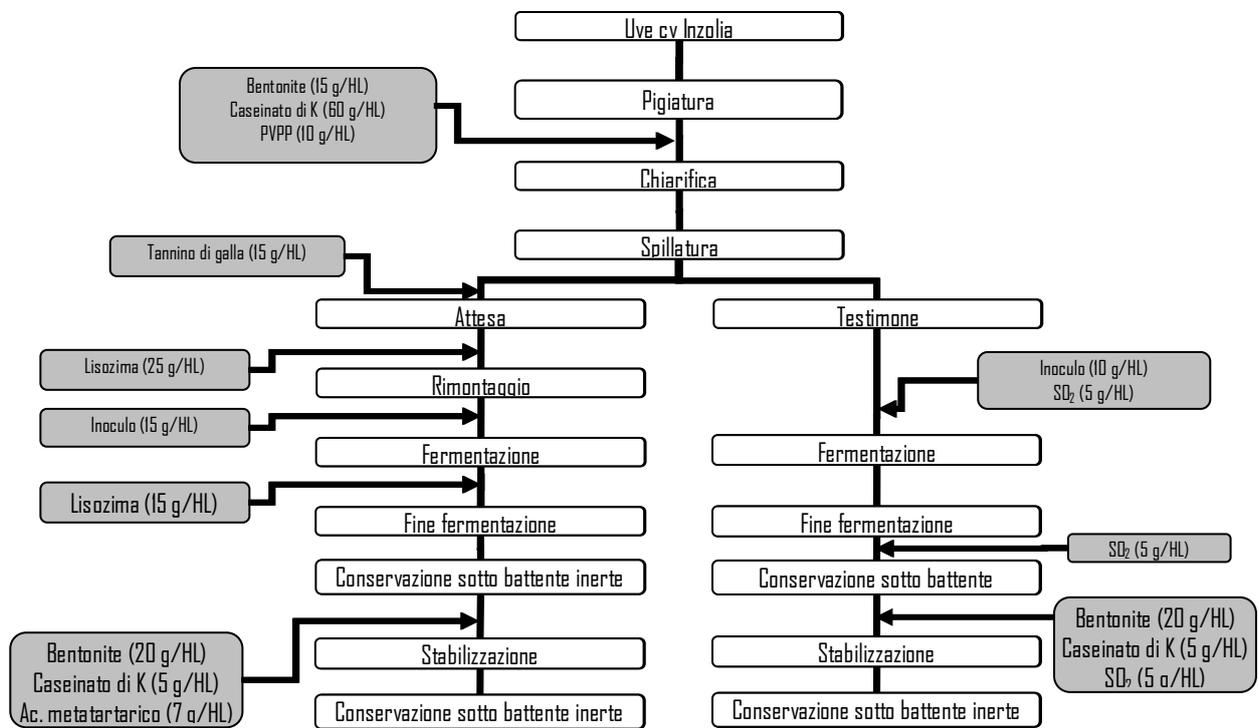


Figura 1: Schema sintetico del protocollo di vinificazione per i vini bianchi

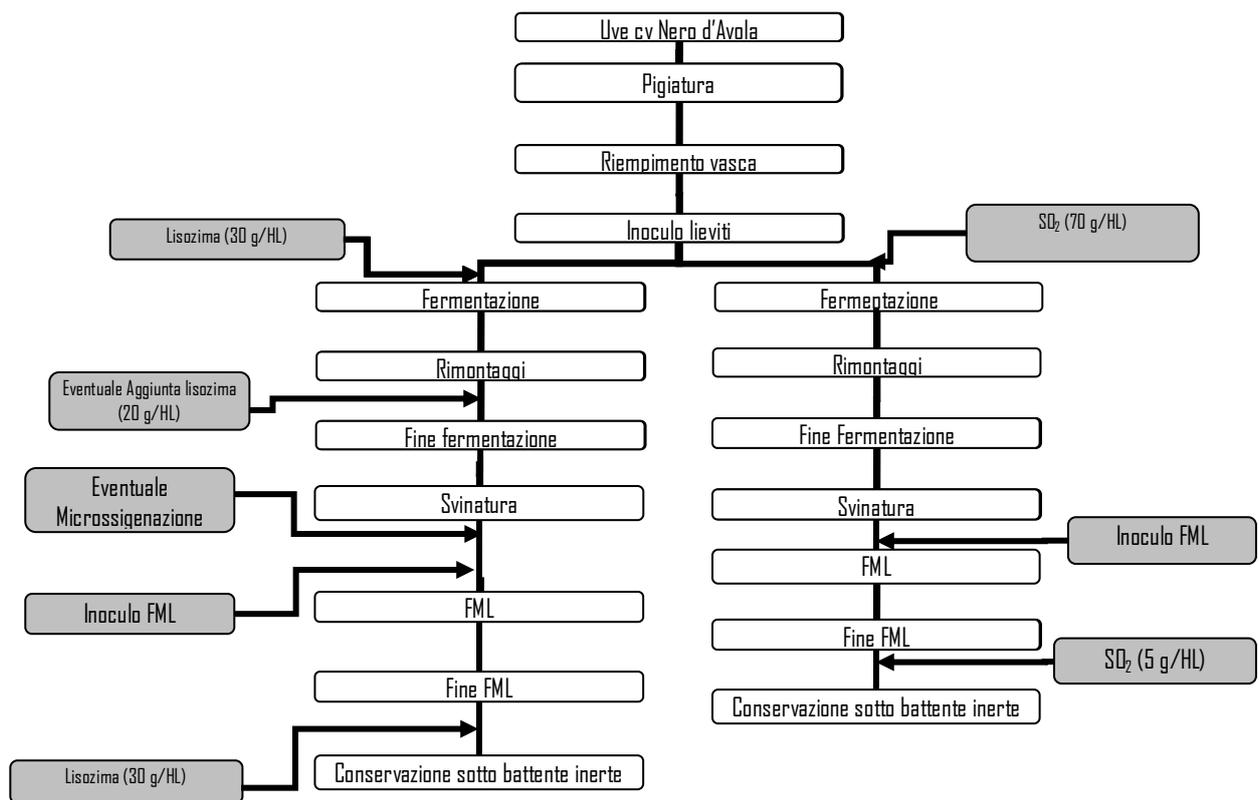


Figura 2: Schema sintetico del protocollo di vinificazione per i vini rossi

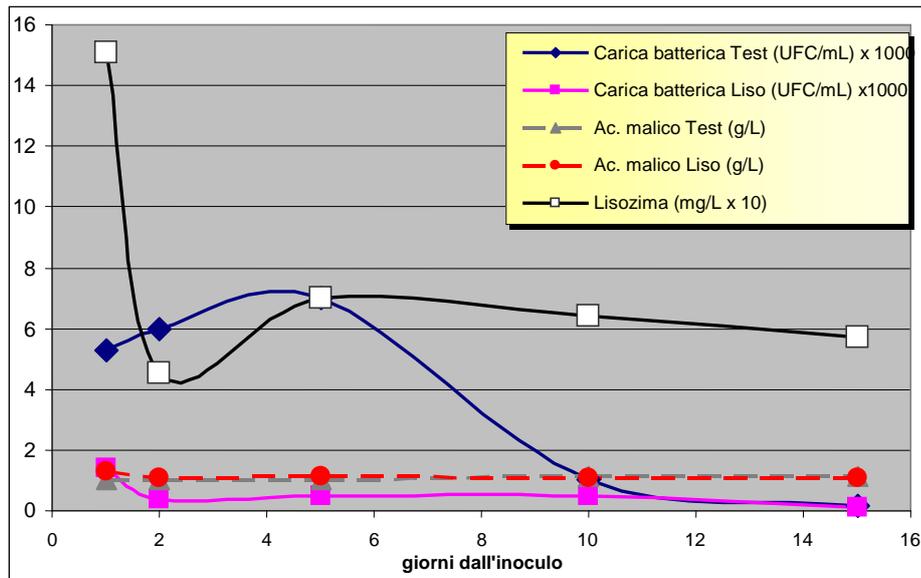


Figura 3: Inzolia - Evoluzione di alcuni parametri analitici durante la fermentazione

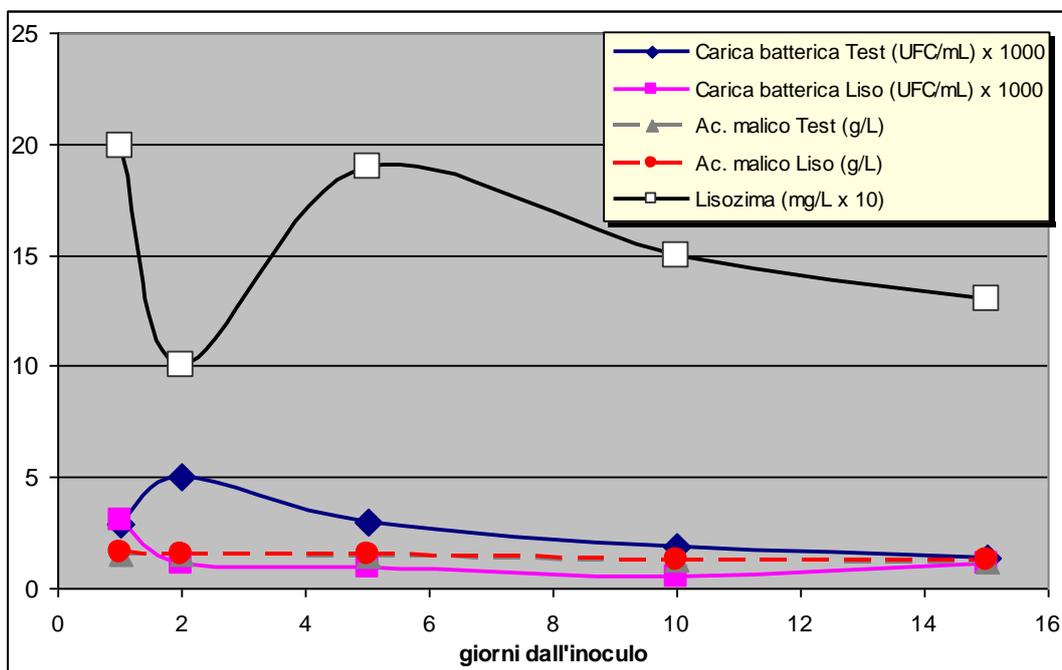


Figura 4: Inzolia - Evoluzione di alcuni parametri analitici durante la fermentazione

Dose di tannino (g/HL)	Lisozima residuo (mg/L)	
	Mosto A	Mosto B
0	146	454
1	126	442
3	123	445
5	121	437
7	120	426

Tabella 1: Enzima residuo in mosti bianchi trattati con dosi crescenti di tannino di galla

	I° anno		II° anno		III° anno	
	Liso	Test	Liso	Test	Liso	Test
Ac. malico (g/L)	0.94	1.03	1.40	1.40	1.29	1.25
Ac. lattico (g/L)	0.04	0.04	0.02	0.03	0.03	0.05
SO ₂ totale (mg/L)	2.6	104	7.2	115	4.9	99
SO ₂ libera (mg/L)	-	43.3	0.10	58.7	-	38
Lisozima (mg/L)	80	-	251	-	135	-

Tab. 2:Inzolia - Alcuni parametri compositivi dei vini al termine della fermentazione alcolica

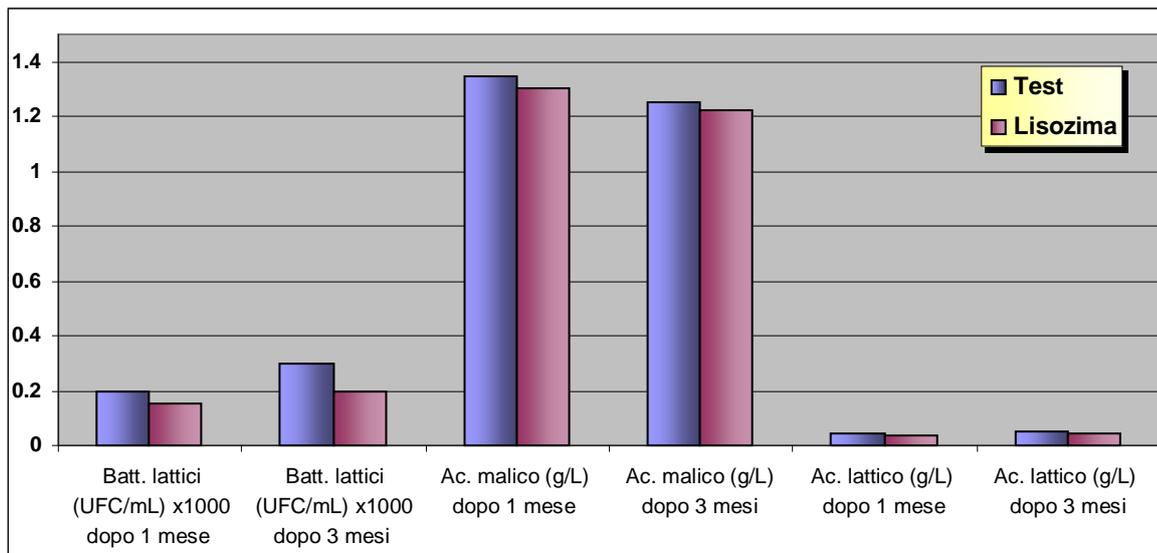


Fig. 5: III° anno – Inzolia - Evoluzione dei parametri legati alla fermentazione malolattica dopo 1 e 3 mesi di conservazione

	I° anno		II° anno		III° anno	
	Liso	Test	Liso	Test	Liso	Test
D.O. 420 nm	0.091	0.090	0.099	0.082	0.096	0.068
D.O. 420 nm (55°C x 48 h)	0.201	0.120	0.210	0.154	0.112	0.070
pH	3.63	3.66	3.47	3.58	3.33	3.46
Ac. totale (g/L ac. tart.)	3.51	3.38	3.75	4.25	4.3	4.38
Ac. volatile (g/L ac. acet.)	0.30	0.30	0.17	0.21	0.15	0.30
Ac. malico (g/L)	n.r.	n.r.	0.09	0.12	1.15	1.21
Ac. lattico (g/L)	1.25	0.69	0.80	0.80	0.05	0.05
Batteri lattici (UFC/mL)	2.28x10 ⁵	2.98x10 ³	1.12x10 ⁴	3.75x10 ⁴	3.21x10 ³	4.56x10 ³
Batteri acetici (UFC/mL)	<10	<10	<10	<10	<10	2.10x10 ²
SO ₂ Totale (mg/L)	-	101	-	94	8	122
Polifenoli totali (mg/L)	115	136	106	120	176	211
Ac. gallico (mg/L)	12.5	2.1	7.9	1.1	33.0	8.2
Lisozima (mg/L)	84	-	216	-	122	-

Tab. 5: Inzolia - Parametri compositivi dei vini dopo 6 mesi di conservazione

	1 giorno*		fine FA		2 mesi	
	Liso	Test	Liso	Test	Liso	Test
D.O. 420 nm	1.92	2.56	3.52	3.63	2.54	3.04
D.O. 520 nm	5.16	4.73	5.42	6.70	4.37	5.32
pH	3.60	3.66	3.58	3.61	3.66	3.70
Ac. totale (g/L ac. tart.)	4.12	4.20	6.29	5.48	5.48	4.97
Ac. volatile (g/L ac. acet.)	0.15	0.21	0.14	0.29	0.55	0.58
Ac. malico (g/L)	0.74	0.91	0.60	0.97	-	0.20
Ac. lattico (g/L)	0.03	0.03	0.09	0.10	0.42	0.12
SO ₂ Totale (mg/L)	2	112	11	88	16	108
Lisozima (mg/L)	85	-	-	-	-	-

Tab. 6: Nero d'Avola - Alcuni parametri compositivi dei mosti e dei vini (* giorni dall'inizio della macerazione)

- 1 Trattato di Enologia I. Microbiologia del vino - Vinificazioni. 2004. Edagricole Ed. Bologna.
- 2 Amati, A., Pitotti, A., Boschelle, O., Manzano, M., Zironi, R. (1988) Quaderni di Viticoltura ed Enologia, Università di Torino, 12, p. 71.
- 3 Amati, A., Chinnici, F., Piva, A., (1994), Industrie delle bevande, 23, p. 215
- 4 Amati, A., Chinnici, F., Piva, A., Arfelli G., Riponi, C. (1996), Vitic. Enol. Sci., 51, p. 59.
- 5 Vivas, N. (1997) Rev. Oenol., 84, p. 15.
- 6 Frezier, V. (1992) Tesi di Dottorato Università di BORDEAUX II.
- 7 Riponi, C., Natali, N., Chinnici, F., (2007), Am. J. Vitic. Enol. 58 (3) 405-409.