

# ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

————— SASSARI —————

*DIRETTORE: G. RIVOIRA*

*COMITATO DI REDAZIONE: M. DATILO - S. DE MONTIS - F. FATICHENTI  
C. GESSA - L. IDDA - F. MARRAS - P. MELIS - A. MILELLA - A. PIETRACAPRINA  
R. PROTA - A. VODRET*

## studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



Istituto di Microbiologia agraria e tecnica dell'Università di Sassari

(Direttore: Prof. F. Faticenti)

G.A. FARRIS - F. FATICHENTI - P. DEIANA

## PRODUZIONE DI ANIDRIDE SOLFOROSA DA PARTE DEI LIEVITI NEL CORSO DELLA FERMENTAZIONE ALCOLICA \*

### RIASSUNTO

*È stata valutata la produzione di SO<sub>2</sub> da parte di 29 ceppi di Saccharomyces cerevisiae, nel corso della fermentazione alcolica.*

I risultati ottenuti consentono di poter affermare che tutti gli stipiti esaminati appartengono alla categoria dei «basso-produttori di SO<sub>2</sub>»; infatti gli stipiti che hanno prodotto le dosi più elevate non hanno superato la soglia dei 70 mg/l.

### SUMMARY

*SO<sub>2</sub> production by yeast during alcoholic fermentation. Determinations were made of SO<sub>2</sub> produced during must fermentation by 29 strains of Saccharomyces cerevisiae. After 2 days of fermentation, only 4 reached a 50 - 70 mg/l SO<sub>2</sub> production; on the 4th day only 2; and on the 7th day only 1. All proved to belong to the low SO<sub>2</sub> producer category.*

### INTRODUZIONE

L'impiego della SO<sub>2</sub> in enologia si perde nella notte dei tempi, anche se il suo uso razionale risale solo agli inizi del 19° secolo; si può dire che oggi essa venga utilizzata in tutto il mondo nell'industria enologica. Purtroppo però sono ancora scarse le conoscenze che ne consentono l'uso più razionale, sicché se le dosi sono eccessive la SO<sub>2</sub> provoca nel vino un gusto anomalo e dei possibili effetti tossici per l'uomo; se, al contrario, le dosi sono basse, l'azione antisettica risulta insufficiente.

La maggior parte della SO<sub>2</sub> che si trova nel vino è di origine esterna, nel senso che è stata in qualche modo aggiunta dall'uomo, ma una certa quantità di solfiti (e an-

\* Lavoro eseguito con il contributo del Ministero Pubblica Istruzione.

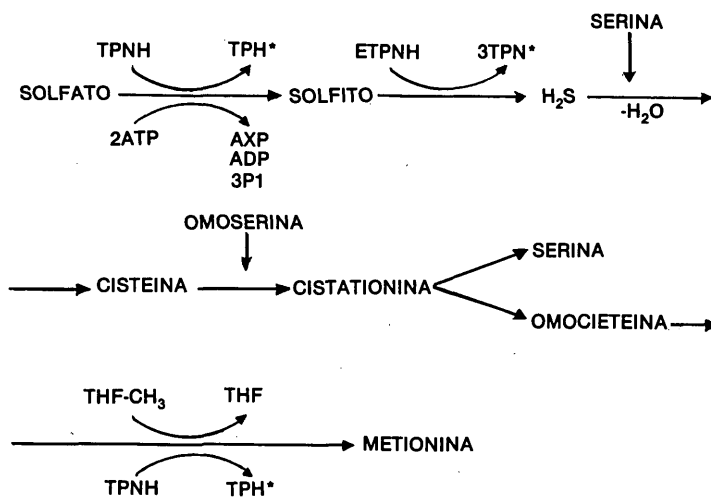
che di idrogeno solforato) può essere formata dai lieviti nel corso della fermentazione alcolica.

La maggior parte dei lieviti opera la riduzione enzimatica dei solfati per produrre idrogeno solforato, necessario per la sintesi degli aminoacidi solforati (1, 2, 3). L' $H_2S$ , che possiamo considerare allo stesso tempo come il prodotto finale della riduzione assimilatoria dei solfati e quello iniziale della sintesi degli aminoacidi, viene normalmente prodotto in quantità eccedente e quindi liberato nel mezzo. Naturalmente la quantità secreta varia da ceppo a ceppo ed è influenzata da numerosissimi fattori.

L'anidride solforosa rappresenta invece un prodotto intermedio del processo riduttivo, dovuto ad una strozzatura genetica a livello dell'enzima solfitoriduttasi (4).

La capacità da parte dei lieviti a produrre  $SO_2$  e  $H_2S$  è regolata dal loro corredo genetico (3, 5, 6) e dipende anche dalla composizione del mezzo e dalle condizioni di fermentazione (1, 7, 8).

Sono state formulate diverse ipotesi per spiegare le reazioni attraverso le quali i composti ossidati dello zolfo vengono ridotti ad  $SO_2$  e  $H_2S$ . La più attendibile, comunque, sembra essere la seguente (9):



Come detto, la produzione di  $\text{SO}_2$  è un carattere legato al ceppo, per cui i lieviti si possono distinguere in «basso-produttori o non produttori di  $\text{SO}_2$ » e «alto-produttori di  $\text{SO}_2$ » (7-10).

Avere a che fare con lieviti del secondo tipo (alto-produttori) è sostanzialmente solo fonte di problemi. L'idrogeno solforato infatti è piuttosto persistente nel vino e conferisce ad esso un odore sgradevole; la  $\text{SO}_2$  prodotta dai lieviti, invece, non è di alcuna utilità, poiché oltre ad essere rilasciata nel mezzo in quantità sempre variabile, viene prodotta troppo presto ed in forma combinata (11).

Ne consegue che bisogna evitare di affidarsi ai lieviti selvaggi e condurre, invece, la fermentazione con ceppi sicuramente selezionati anche per il carattere «basso-produttori di  $\text{SO}_2$ ».

Ci è sembrato quindi opportuno indagare sui livelli di  $\text{SO}_2$  prodotti da un certo numero di ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* di interesse enologico della Collezione del nostro Istituto.

## MATERIALI E METODI

*Mosto impiegato.* Per lo studio è stato utilizzato mosto d'uva Nuragus, non solfitato, lavorato nella Cantina Sperimentale del Consorzio Interprovinciale per la Frutticoltura di Cagliari. Esso aveva la seguente composizione: Zuccheri 18%, Acidità Totale 5‰, pH 3,78.

*Lieviti.* Sono state impiegate le seguenti colture pure di *Saccharomyces cerevisiae* della collezione del nostro Istituto: ceppi 1083, 1086 e 1088, isolati da mosti della zona di Oristano; ceppi 1134, 1236, 1139, 1141 e 1142, isolati da mosti della Gallura; ceppi 1153, 1154, 1155, 1159 e 1161 isolati da mosti della zona di Oliena; ceppi 1163, 1164, 1168 e 1170, isolati da mosti della zona di Sorso; ceppi 1185, 1186, 1187, 1196, 1203, 1206 e 1212, isolati da mosti della zona di Alghero; ceppi 1217 e 1218 isolati da mosti della zona di Castiadas; ceppi 1219, 1220 e 1221 isolati da mosti della zona di Tertenia.

*Determinazioni analitiche.* Le analisi della  $\text{SO}_2$  sono state eseguite a 2, 4 e 7 giorni dalla semina, utilizzando il metodo di Diemair *et al.* (12).

Per valutare l'attività fermentativa di ciascun lievito è stato allestito il dispositivo con la valvola Müller. Essa è stata seguita quotidianamente fino al 7° giorno.

*Procedimento operativo.* Il mosto Nuragus, preventivamente arricchito con l'1‰ di

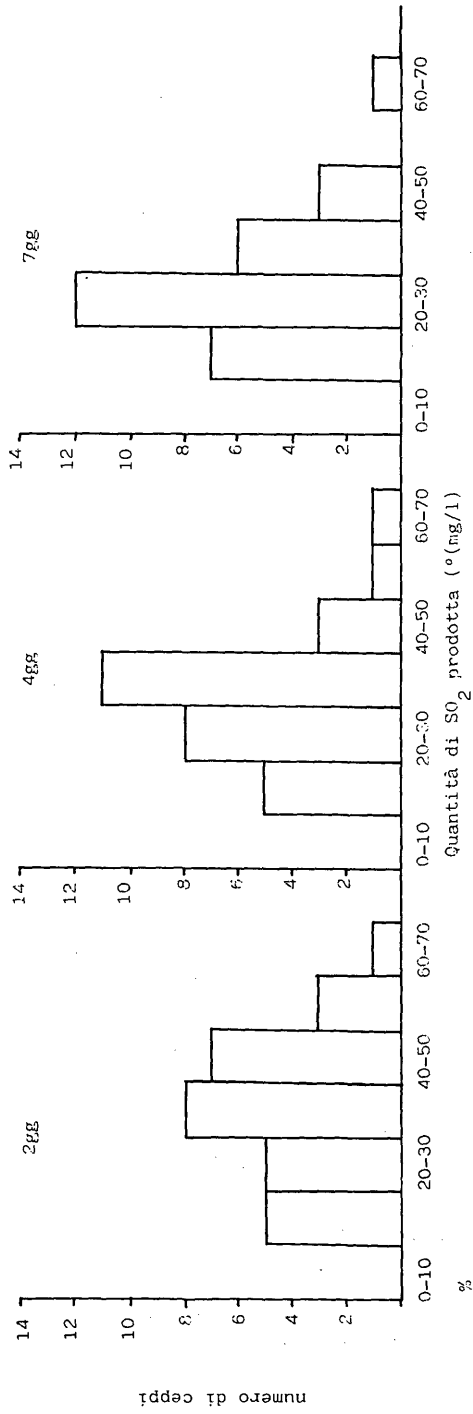


Fig. 1 - Produzione di SO<sub>2</sub> da parte di 29 ceppi di *Sacch. cerevisiae* a 2, 4 e 7 gg.  
 SO<sub>2</sub> production by 29 strains of *Sacch. cerevisiae* at 2, 4 and 7 days.

estratto di lievito, l'1‰ di fosfato bioammonico, è stato sterilizzato con membrana Millipore da 0,22µm.

Gli inoculi sono stati fatti, per ciascuno stipite, impiegando il 4% di una coltura di 48 ore in glucosio, peptone, estratto di lievito (GYEP), contenente, approssimativamente 5.10<sup>8</sup> cellule/ml.

Ciascuna prova è stata allestita in triplo per cui i dati riportati nelle figure rappresentano la media di tre valori.

La capacità a produrre SO<sub>2</sub> è stata valutata a 2, 4 e 7 giorni dalla semina.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Dall'esame della Fig. 1 si evince che al 2° giorno otto ceppi (pari al 27,59%) hanno prodotto da 30 a 40 mg/l di SO<sub>2</sub>; sette ceppi (pari al 24,14%) da 40 a 50 mg/l; cinque ceppi (17,24%) da 10 a 20 mg/l; cinque ceppi da 20 a 30 mg/l, tre ceppi (10,34%) da 50 a 60 mg/l e un ceppo soltanto da 60 a 70 mg/l di SO<sub>2</sub>.

Al 4° giorno dodici ceppi (pari al 37,93%) hanno prodotto da 30 a 40 mg/l di SO<sub>2</sub>; otto ceppi (27,59%) da 20 a 30 mg/l; cinque ceppi (17,24%) da 10 a 20 mg/l; tre ceppi (10,34%) da 40 a 50 mg/l, un ceppo (3,45%) da 50 a 60 mg/l e un ceppo da 60 a 70 mg/l.

Al 7° giorno dodici ceppi (41,38%) hanno prodotto da 20 a 30 mg/l di SO<sub>2</sub>; sette ceppi (24,14%) da 10 a 20 mg/l; sei ceppi (20,69%) da 30 a 60 mg/l; nessun ceppo da 50 a 60 mg/l e un ceppo (3,45%) da 60 a 70 mg/l.

Ad un esame piú ravvicinato dell'andamento fermentativo è stato verificato che tre dei 29 ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* (pari al 10,34%) hanno provocato nel corso della fermentazione un aumento di SO<sub>2</sub>, e ben quindici (51,72%) una diminuzione (in media dopo il 2° giorno); degli altri, quattro (13,99%) hanno dimostrato una produzione pressoché costante, tre (10,34%) una produzione massima alla 2<sup>a</sup> analisi e gli ultimi tre (13,99%) una produzione minima alla seconda analisi. Inoltre è stato verificato che non esiste una correlazione tra la produzione di SO<sub>2</sub> e la quantità di zuccheri fermentati.

I risultati hanno dimostrato nel loro complesso che i ceppi esaminati sono da considerare «basso-produttori di SO<sub>2</sub>».

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ESCHENBRUCH R., 1972a. Zur Substratabhängigkeit der H<sub>2</sub>S und SO<sub>2</sub>-Bildung bei *Saccharomyces cerevisiae* Stämmen. *Wein - Wiss*, 27, 40.
- 2) LAWRENCE W.C., COLE E.R., 1969. Yeast sulfur metabolism and the formation of hydrogen sulfide in brewery fermentation. *Wallerstein Lab. commun.*, 31, 95.

- 3) ZAMBONELLI C., DEL CUPOLO L., 1971. Factors Affecting the production of sulfur dioxide and hydrogen in *Sacch.* *Ann. Micr.*, 21, 113.
- 4) ZAMBONELLI C. 1980. La biosintesi degli aminoacidi solforati nei lieviti. Influenza sulla vinificazione. *Atti «Symposium di Enologia»*, 335. S. Michele all'Adige, Trento.
- 5) ZAMBONELLI C. 1964. Ricerche genetiche sulla produzione di idrogeno solforato in *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus*. *Ann. Micr.*, 14, 153.
- 6) ZAMBONELLI C. 1965. Ricerche genetiche sulla produzione di idrogeno solforato in *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus*. *Nota II. Ann. Micr.*, 15, 89.
- 7) MINARIK E., NAVARA A. 1974. Effect of sulphate and Sulphure Amino Acid Levels on Sulphite an Sulphide formation by wine yeasts. *Ann. Micr.*, 24, 21.
- 8) WEEKS C. 1969. Production of sulfur dioxide-binding compounds and of sulfur dioxide by two *Saccharomyces* yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.*, 20, 32.
- 9) DELFINI C., GAIA P., BOSIA P.D. 1976. Formazione di anidride solforosa ed acido solfidrico da parte dei lieviti nel corso della fermentazione alcolica. *Vini d'Italia*, 18(103), 251.
- 10) ESCHNBRUCH R. 1974. Sulfide and sulfite formation during winemaking. A Review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 25, 157.
- 11) PAUL F. 1974. Evoluzione dell'anidride solforosa durante la fermentazione e possibilità tecniche della misura di SO<sub>2</sub> richiesta dai vini. *Atti «XIV Congrès International de la Vigne et du Vin»*. Sez. II, n° 18, O.I.V. 1-11, Bolzano - Trento, Italia.
- 12) DIEMAIR W., KOCH J., HESS D. 1960. Zur Bestimmung der gesamten freien schwefligen säure in wein. *Z. Analyt. Chem.*, 178, 321.