

## IMPATTO DELL' ACIDO FUMARICO NELL' ANALISI FTIR DEI VINI

### STATO DELL'ARTE

L'acido fumarico è un acido organico largamente diffuso in natura e prende il suo nome dalla pianta in cui è stato originariamente scoperto, la *Fumaria Officinalis* (Fam: *PAPAVERACEAE*). Viene ampiamente utilizzato nel settore alimentare ed industriale, estratto principalmente da funghi del genere *Rhizopus Nigricans*, *Oryzae*, etc. (Fam: *MUCORACEAE*) oppure sintetizzato tramite isomerizzazione dell'acido maleico.

Secondo la nomenclatura IUPAC assume il nome di "acido *Trans*-Butendioico" (*p.m.* = 116.07 g/mol).

Presenta due funzioni acide ( $pK_{a1} = 3.03$  e  $pK_{a2} = 4.44$ ) e due insaturazioni in posizione  $\alpha$  e  $\beta$ .

Solo recentemente è stato autorizzato il suo utilizzo in enologia dalla normativa UE 2022/68 del 08/02/2022 per:

- Controllare la proliferazione di batteri lattici e la fermentazione malolattica (FML).
- Favorire, come effetto indiretto, la conservazione dell'acido malico.
- Coadiuvante per la riduzione del tenore di anidride solforosa nei vini.

Ad oggi la normativa non fornisce indicazioni né sulle dosi massime consentite di utilizzo né sull'aggiunta ripetuta nel tempo, al contrario indica con 30-60 gr/HL il range di dosi sufficiente a contrastare un elevato tenore di batteri lattici o addirittura capace di bloccare una FML in corso.

Se ne consiglia caldamente l'utilizzo a fermentazione alcolica ultimata, in quanto l'acido fumarico è coinvolto, in tutti gli organismi aerobici, nel ciclo di Krebs. Ragion per cui il *Saccharomices Cerevisiae*, il principale lievito responsabile della fermentazione alcolica, potrebbe metabolizzare l'acido fumarico e produrre in proporzioni diverse acido malico e acido succinico con conseguente scomparsa dell'acido fumarico e della sua efficacia.

Per le sue proprietà chimico-fisiche potrebbe essere paragonato all'acido tartarico, il principale acido organico di mosti e vino, ma da un punto di vista pratico il suo utilizzo è molto limitato perché scarsamente solubile in acqua (6.3 g/L a 25°C) anche se essa migliora nel vino grazie alla presenza dell'alcol (54.5 g/L a 29,7°C in etanolo) anche se non raggiungerà mai valori paragonabili a quelli dell'acido tartarico.

Grazie a queste peculiarità e alla sua facile reperibilità, l'utilizzo dell'acido fumarico nel settore enologico si sta rapidamente diffondendo e di conseguenza la sua presenza nei diversi vini da analizzare. Ecco che la sua determinazione, nonché il suo impatto sugli altri parametri enologici come alcol, acidi organici e gusto diventano di primario interesse e studio. Sulla base di alcune osservazioni da parte di tecnici del settore è emerso come il "fumarico" influenzi la determinazione di diversi parametri chimici dei vini tramite analisi FTIR. In particolare nel seguente studio si sono osservate alterazioni nella determinazione dell'acido malico, dell'acidità totale, dell'acido tartarico e della volatile dopo aggiunta di diverse dosi di "fumarico". Lo strumento utilizzato per questo studio sfrutta la tecnologia dell'FTIR ed è stato acquistato dalla Steroglass (i.e. *Bacchus*).

### MATERIALI E METODI

#### *Preparazione dei campioni*

Per lo studio sono state utilizzate tre tipologie diverse di vino: un Glera, un Sangiovese e un Pinot Grigio; I loro parametri chimici, ottenuti tramite analisi FTIR sono riportati in **TAB 1**.

Per la preparazione della sospensione concentrata di acido fumarico sono stati sciolti 200mg di acido in 100mL di vino modello (10% Etanolo e 1% di acido citrico) al fine di ottenere una concentrazione di 200gr/HL, la sospensione è stata agitata per 10' alla temperatura di 50°C per aumentare la solubilizzazione dell'acido.

Nella prova preliminare sono stati aggiunti a 50mL di Glera e Sangiovese delle dosi crescenti di "fumarico" in modo da ottenere una concentrazione finale pari a 0-20-40-60gr/HL, in seguito i campioni sono stati agitati delicatamente per 30' a temperatura ambiente (20-25°C), filtrati con filtro siringa (0.45µm) ed infine sgasati e caricati sul Bacchus per l'analisi (circa 10mL). Una volta svolto lo studio preliminare sono stati preparati

campioni di Pinot Grigio (100mL) a concentrazioni crescenti di “fumarico”: 10,20,30,40,50,60,70,80,90, 100 gr/HL più il tal quale (TQ), ovviamente privo di acido fumarico. Ogni singolo preparato è stato suddiviso a metà (50mL): una metà è stata analizzata subito, l'altra è stata conservata in cella frigo a 8°C per 7gg ed infine analizzata.

La procedura di preparazione per l'analisi è stata la stessa utilizzata per la prova preliminare.

### *Procedura di analisi*

Lo strumento a disposizione in azienda sfrutta la tecnologia FTIR ed è composto da 4 unità separate. L'unità principale, che costituisce l'interferometro, è la parte più importante dell'intero strumento in quanto è quella in cui viene generato il raggio laser che attraversa la cella di analisi del campione di vino; la seconda unità è composta dalla parte idraulica che permette il ricircolo del campione all'interno dello strumento; la terza unità è formata dal campionatore dotato di braccio meccanico con ago cavo per l'aspirazione dei liquidi ed un rotore a 110 pozzetti su cui vengono inserite le provette per l'analisi; infine l'ultima unità è rappresentata dal computer in cui è installato il software per l'elaborazione degli spettri. A seconda del tipo di matrice di campione: mosto, particolarmente denso per la presenza elevata di zuccheri e l'assenza di alcol oppure mosto in fermentazione o vino, il software permette l'elaborazione degli spettri attraverso la trasformata di Fourier ed ottenere così dei dati numerici per i principali parametri d'interesse del vino come alcol, zuccheri, acido lattico e malico, etc.

La procedura di analisi è piuttosto semplice, l'aspetto più importante sta infatti nella preparazione del campione stesso. Tre sono gli aspetti principali da prendere in considerazione: Il contenuto di anidride carbonica, che può influire nell'elaborazione degli spettri, la limpidezza del campione e la temperatura.

Seguendo questo schema i vini utilizzati in questo studio sono stati preparati come spiegato nel precedente sotto capitolo e quindi preventivamente portati a temperatura ambiente (20-25°C), filtrati (0.45µm) ed infine sgasati a mano o tramite agitatore prima di essere caricati sullo strumento. In questo caso i campioni utilizzati per l'analisi sono essenzialmente vini, quindi il protocollo utilizzato è per l'appunto il “Metodo Vino”.

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

### *Studio preliminare*

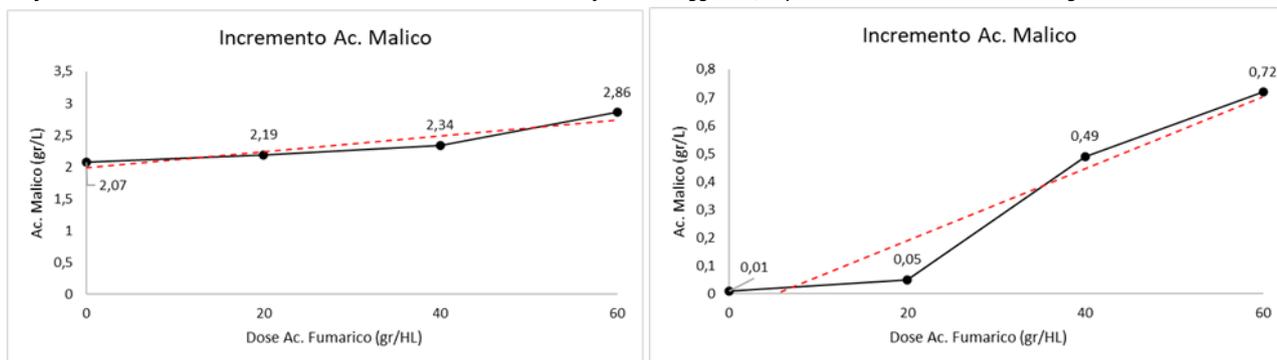
L'FTIR è una tecnologia che sfrutta la banda dell'infrarosso (IF) ed un software d'interpretazione degli spettri per analizzare molteplici parametri contemporaneamente utilizzando un'unica provetta di vino. Ormai è largamente diffusa nel mondo enologico grazie alla sua grande rapidità di analisi e la possibilità, attraverso diversi tipi di campionatori, di analizzare più campioni contemporaneamente.

Queste caratteristiche non fanno eccezione nemmeno in questo studio ed è possibile mettere a confronto allo stesso tempo diversi campioni e di conseguenza confrontare diversi parametri contemporaneamente.

In particolare, sia nei campioni di Glera che in quelli di Sangiovese è possibile osservare un aumento di acido malico all'aumentare della dose di acido fumarico. Nel Glera rispettivamente passa da +0.12 g/L alla dose minore fino a +0.79 g/L alla dose maggiore, sebbene al campione di vino non sia stato aggiunto altro malico. Seppur meno evidente la stessa tendenza è osservabile anche sul vino rosso, rispettivamente +0.04 g/L e +0.71 g/L (**Grafico 1**). Date le caratteristiche chimico-fisiche dell'acido fumarico, anch'esso un acido organico come l'acido malico e tartarico, è possibile ipotizzare che una volta che il campione nella cella venga attraversato dal laser, il fumarico emetta uno spettro paragonabile o simile a quello dell'acido malico, ne consegue un aumento proporzionale del valore come risultante dell'effetto (malico + fumarico). L'influenza del “fumarico” non si ferma qui, anzi sembrerebbe che altri parametri come l'acidità totale (anche se significativa solo in Sangiovese), acidità volatile ed acido tartarico, vengano alterati (dati non riportati). Quest'ultimo mostra un comportamento opposto rispetto agli altri parametri, infatti diminuisce anziché aumentare al crescere della dose di acido fumarico presente: passa da 2.48 g/L a 2.11 g/L nel vino bianco e da 2.40 g/L a 2.04 g/L nel vino rosso (dati non riportati). Non è tuttavia possibile determinare se questo effetto sia dato da un contributo diretto del “fumarico” o un'interpretazione per “sottrazione dello spettro” da parte

dello strumento o del software, causato dall'aumento di acido malico, visto che i due parametri sono strettamente correlati.

**Grafico 1.** Incremento di acido malico al crescere della dose di acido fumarico aggiunta, rispettivamente in vino Glera e Sangiovese.



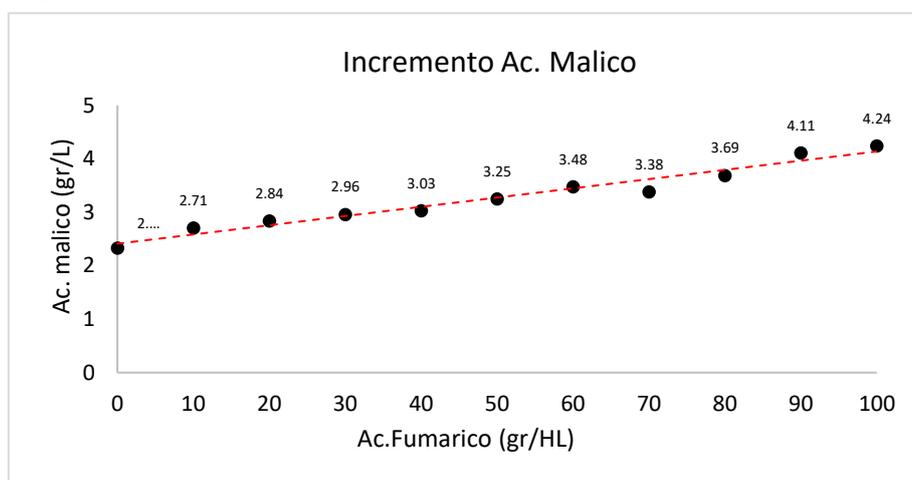
**Tab1.** Parametri chimici dei vini utilizzati nello studio.

VINO	Z (g/l)	Alcol (%)	AT (g/L)	pH	AV (g/L)	Malico (g/L)	Lattico (g/L)	Tartarico (g/L)
GLERA	0.50	9.90	5.50	3.32	0.17	2.07	0.00	2.48
SANGIOVESE	1.25	13.09	5.09	3.63	0.52	0.01	0.90	2.40
PINOT GRIGIO	0.46	12.26	5.68	3.28	0.25	2.33	0.00	1.50

*Studio Conclusivo*

Una volta ultimato lo studio preliminare, l'indagine è proseguita andando ad aggiungere al vino altre dosi di acido fumarico, passando dai tre punti del precedente studio ai ben dieci di quello attuale. In questo modo il bagaglio di informazioni è più ampio ed è possibile approfondire gli effetti dell'acido organico in esame. Contrariamente ai precedenti dati gli effetti dell'acido fumarico sono apprezzabili già alla dose più bassa, cioè 10gr/HL, fino a raggiungere un valore pressoché doppio alla dose più alta (**Grafico 2**). Osservando il grafico 2, il rapporto tra i due acidi sembra essere direttamente proporzionale e molto vicino a 1, cioè ad una concentrazione di 1 gr/L di acido fumarico aggiunta corrisponde un aumento proporzionale di 1 gr/L di acido malico, nel caso specifico il valore è di 0,82. Inoltre, dato lo scarso potere di solubilizzazione dell'acido fumarico possiamo ipotizzare che la concentrazione reale nel vino non corrisponda esattamente a quella riportata, anzi è più probabile che sia più bassa, per cui questo rapporto Fumarico/Malico (i.e. 0,82) è probabilmente più alto e davvero prossimo ad 1. Quest'informazione avvalora ancor di più l'ipotesi che i due acidi contribuiscono allo stesso modo nello spettro di analisi FTIR dei vini.

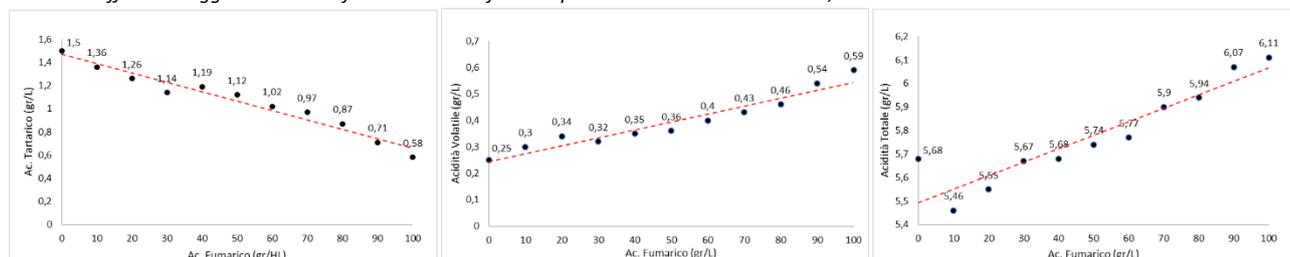
**Grafico 2.** Incremento dei valori di Ac. Malico al Crescere della concentrazione di Ac. Fumarico in Pinot Grigio.



Per quanto riguarda gli altri parametri presi in esame come acidità totale, acidità volatile e acido tartarico, gli effetti dell'acido fumarico sono molto più importanti rispetto a quelli visti nello studio preliminare (**Grafico**

3). In particolare gli effetti sull'acido tartarico sono più marcati ed è possibile confermare un comportamento contrario a quello visto con l'acido malico, contrario anche a quelli osservabili per l'acidità totale e volatile, i quali mostrano un andamento crescente al crescere della concentrazione di acido fumarico aggiunto nel vino. Bisogna però sottolineare che questo incremento non è paragonabile a quello che avviene per l'acido malico.

**Grafico 3.** Effetti dell'aggiunta di acido fumarico nei confronti rispettivamente di acido tartarico, dell'acidità volatile e dell'acidità totale.



Il passaggio finale prevede l'analisi di questi campioni dopo 5gg. I risultati sono paragonabili a quelli ottenuti in precedenza, quindi non è emerso alcuno spunto di discussione (dati non riportati).

## CONCLUSIONE

A causa della ricerca di un prodotto sempre più salubre dal contenuto di solfiti e altri additivi sempre più bassi, l'acido fumarico rappresenta una buona opportunità per raggiungere tale scopo, data la sua capacità di controllare la fermentazione malolattica e mantenere, in questo modo, bassi i tenori di solforosa nei vini. Ecco che nasce la necessità d'identificare e quantificare in modo corretto il contenuto di questo acido nei nostri vini. Avere un'ampia visione dei suoi effetti sui diversi parametri del vino non solo ci permette di valutarne il relativo effetto, ma ci permette di ottenere dei risultati analitici sempre accurati e precisi.

Con questo studio abbiamo messo in evidenza come l'acido fumarico influenzi in modo significativo diversi parametri analitici dei vini, soprattutto quelli strettamente legati agli acidi organici con particolare attenzione ad acido malico e tartarico. Chiaro che la tecnologia utilizzata è solo una delle molteplici tecniche utilizzabili per determinare questi composti, ma può porre le basi per migliorare ed implementare una tecnologia, quella FTIR, che è ormai una certezza nel settore enologico. Questo studio richiede ulteriori approfondimenti andando a lavorare per esempio sull'effetto nel tempo o utilizzando altre tipologie di prodotto o andando ad approfondire nello specifico l'influenza sugli spettri infrarosso con lo scopo di mettere a punto dei protocolli specifici che prendono in considerazione gli effetti dell'acido fumarico emersi in questo, ma anche in altri studi simili.