The Wine EXPERT

Información práctica sobre elaboración de vino

EL GLUTATIÓN Y SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DEL VINO

¿Qué es el glutatión?

El glutatión (L-γ-glutamil-L-cisteinilglicina) es un tripéptido que está compuesto por tres aminoácidos: el glutamato, la cisteína y la glicina.

En el mosto, el vino o incluso la levadura, el glutatión se puede encontrar en su forma reducida (GSH) u oxidada (GSSG), esta última formada por dos moléculas de glutatión unidas por un puente disulfuro.

Además de estar presente en alimentos y frutas como las uvas, también es el tiol no proteico más abundante en la mayoría de los organismos vivos, entre los que se incluye la levadura vínica *Saccharomyces cerevisiae*.

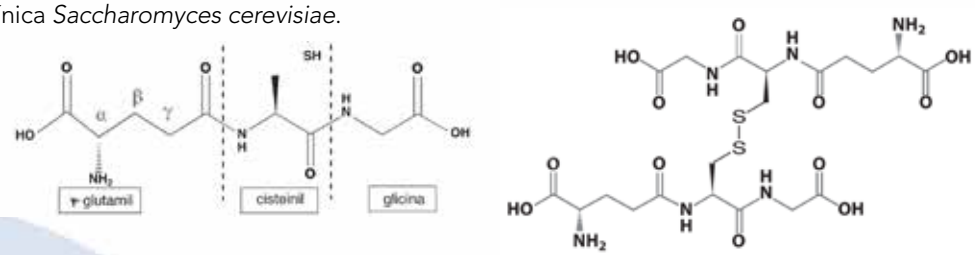

Figura 1: Estructuras moleculares del glutatión (GSH) y del disulfuro de glutatión (GSSG)

¿Por qué es importante en el vino?

El glutatión (GSH) es importante por su capacidad para neutralizar las orto-quinonas, que son las principales responsables del pardeamiento del vino y la pérdida de aroma derivados de los mecanismos de oxidación.

Puesto que tiene un potencial muy bajo de oxidación-reducción (E'_o=-250 mV at pH 7.0; E'_o=-40 mV at pH 3.0), puede actuar como un amortiguador importante en muchas de las reacciones redox de las células. Es sabido desde hace años que el glutatión es un antioxidante más potente que el ácido ascórbico (E'_o=+60 mV at pH 7.0 ; E'_o=+267 mV at pH 3.0). Por lo tanto, desempeña un papel fundamental en la prevención de la oxidación de los fenoles del mosto, ya que es capaz de reaccionar a través de su grupo –SH con el ácido caftárico, uno de los fenoles más sensibles a la oxidación en los mostos, y generar el llamado Grape Reaction Product (GRP) o producto de reacción de la uva, que es un compuesto estable e incoloro (Moutounet *et al*, 2001). Este mecanismo se ha demostrado particularmente en el caso del GSH, pero no en el de otros compuestos presentes en el mosto o en la levadura que poseen un grupo SH (como, por ejemplo, la cisteína o la glutamilcisteína).

El GSH también puede competir por las o-quinonas con varios tioles (compuestos aromáticos como el 3-mercaptohexanol (3MH), el acetato de 3-mercaptohexanol (3MH-A) y la 4-metil-4-mercaptopentanona (4MMP)) que se encuentran en los vinos en forma de precursores o moléculas aromáticas, protegiendo así ciertos aromas varietales (Dubourdieu *et al*, 2003). Hoy en día se conoce bien el efecto del GSH sobre el vino como un antioxidante natural que preserva su aroma y color.

¿Cómo influyen los niveles de glutatión en el mosto y el vino?

La presencia de altos niveles de glutatión en el vino es importante para la preservación de su aroma y color. El nivel de glutatión puede variar en el mosto dependiendo de las variedades de uva, las prácticas vitícolas y los métodos de elaboración del vino.

Dado que el glutatión no se puede añadir al mosto o a los vinos, el uso de levaduras inactivas específicas ricas en glutatión (LIE ricas en GSH como OptiWhite®, OptiMUM White® y Booster Blanc®) se convierte en una interesante alternativa natural para optimizar la calidad de los vinos. Las LIE ricas en GSH también varían en cuanto a la cantidad y calidad de GSH que contienen y en el modo en que se miden para reflejar dicha cantidad. El GSH más importante debe estar en la forma reducida, ya que ésta es la forma antioxidante activa.

¿Cómo influyen los niveles de glutatión en el mosto y el vino?

En la gama de productos de Lallemand, se escogen levaduras enológicas específicas para la producción de OptiWhite®, OptiMUM White® y Booster Blanc® (patente n° WO/2005/080543). Asimismo, el proceso de multiplicación de la levadura hasta la inactivación y el secado se adapta para obtener un alto contenido de glutatión reducido soluble en la biomasa correspondiente. La capacidad de la levadura inactiva de liberar GSH en el medio una vez adicionada también es un criterio importante. Por consiguiente, los criterios para conseguir la mejor SIY rica en glutatión son:

- El contenido medido de "GSH **real**"
- El GSH tiene que ser liberado rápidamente en el medio
- El GSH tiene que estar en su forma soluble y reducida → la única forma que puede ser activa y eficaz en los mecanismos de oxidación

Es necesario considerar algunos parámetros a la hora de utilizar LIE rica en GSH.

Demanda de nitrógeno de la levadura en fermentación:

Al ser un tripéptido, el GSH es una fuente de nitrógeno para la levadura. De este modo, en el caso de que disminuya la cantidad de nitrógeno en el mosto, la levadura puede valerse del GSH para su nutrición. Por lo tanto, es muy importante controlar la fermentación y proporcionar un aporte suficiente y equilibrado de nitrógeno para evitar la pérdida de GSH al ser absorbido por la levadura como fuente de nitrógeno. Esto resulta aún más importante si la levadura seleccionada demanda mucho nitrógeno. En tal caso, es preciso supervisar atentamente la fermentación alcohólica.

Momento de la adición:

El momento de la adición de la LIE rica en GSH es igualmente importante. Según el estudio llevado a cabo por Aguera *et al.* (2012) o de Kritzinger *et al.* (2012), el mejor momento para añadir una herramienta como OptiMUM White®, que posee el contenido más alto de GSH, es al principio de la fermentación alcohólica. Trataremos este tema en más detalle en The Wine Expert.

LOS RESULTADOS

PARTE 1 CONOCER EL NIVEL DE GSH EN LAS LEVADURAS INACTIVAS ESPECÍFICAS (LIE)

Wessel du Toit

El Dr. Wessel du Toit, del Departamento de Viticultura y Enología de la Universidad de Stellenbosch, está investigando sobre los antioxidantes y la oxidación en el vino. Además de su extensa colaboración con Lallemand en el pasado, ha publicado varios artículos sobre el efecto del oxígeno en el vino y se dedica a enseñar esta parte de la enología.

PALABRAS DE EXPERTO

Las LIE ricas en glutatión constituyen una interesante herramienta para suministrar glutatión al mosto y protegerlo contra la oxidación.

Las publicaciones sobre este tema y nuestra propia investigación han puesto de manifiesto diferencias en las cantidades de GSH liberadas por las distintas LIE.

Estas diferencias parecen estar relacionadas con los distintos procesos de producción. Nuestros resultados ilustran la variedad que existe entre las GSH-IDY (LIE ricas en glutatión) en términos de contenido de GSH. Además, muestran la importancia de distinguir entre el GSH y el contenido de GSH total, ya que su forma reducida es el antioxidante activo en el vino.

Estos datos permiten deducir que el proceso de producción de GSH-IDY-5 (OptiMUM White®, Lallemand) se ha optimizado hasta tal punto que contiene concentraciones mucho más elevadas de GSH. Este producto podría ser más eficaz en la reducción de los fenómenos de oxidación de los vinos en comparación con otras GSH-IDY empleadas en el estudio".

LOS RESULTADOS (PARTE 1)

Muchos productos de LIE disponibles en el mercado proclaman ser ricos en GSH. ¿Qué significa esto realmente? ¿Se habla de lo mismo en todos los casos?

Es importante comprender que el valor asociado con las diferentes LIE ricas en GSH guarda relación con el modo en que se mide el contenido de GSH. Si la medida se realiza mediante la clásica reacción química, se cuantificarán todas las moléculas con un grupo –SH liberado por la LIE y no específicamente el GSH en su forma reducida. El resultado se expresa en términos de "*equivalente de GSH" y no de "GSH real"*

Figura 2: Reacción química implicada en la determinación química clásica del "equivalente de GSH" en SIY ricas en GSH

La mejor manera de obtener una medida del glutatión real es aplicando un método especifico HPLC/UPLC que revele el contenido de GSH reducido, el cual, como ya se mencionó anteriormente, es la forma activa de GSH para preservar el color y el aroma del mosto y el vino. Paralelamente se pueden medir con precisión el glutatión oxidado (GSSG) y otros compuestos como la cisteína y la glutamilcisteína. La figura 3 muestra los resultados obtenidos por este método, que es el utilizado para medir el GSH en todas las LIE ricas en GSH para productos como OptiWhite®, OptiMUM White® y Booster Blanc®.

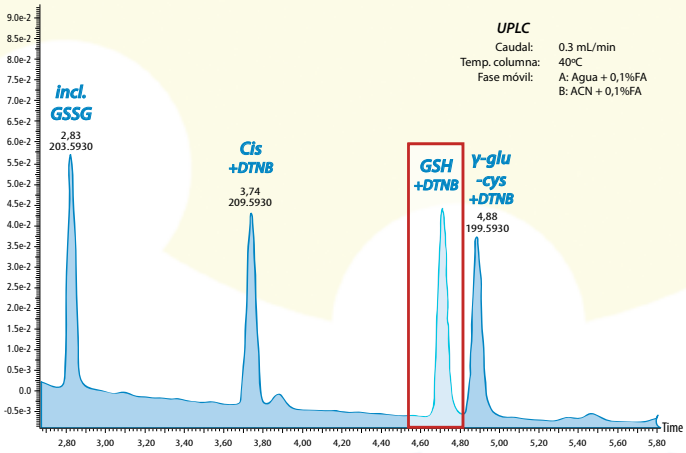

Figura 3: Ejemplo de cromatograma resultante de la técnica UPLC

La figura 4 ilustra los resultados del análisis de varias LIE ricas en GSH y las variaciones entre los métodos de análisis. Por ejemplo, el uso del método químico clásico (que mide todas las moléculas –SH y no solo el GSH reducido activo) y del método HPLC (que mide únicamente el GSH reducido activo) da lugar a interpretaciones diferentes. OptiWhite® y Booster Blanc® presentan el mismo perfil de contenido de GSH, mientras que OptiMUM White® tiene con mucho los niveles más altos de GSH real debido a la optimización del proceso, lo que significa que este producto será el más eficiente para proteger el color y el aroma del mosto y el vino.

Podemos apreciar que el producto Y posee el nivel más alto de "equivalente de GSH", pero también es el que presenta mayor contenido de cisteína, por lo que podría no ser el compuesto más interesante y apropiado en lo que se refiere a su impacto en la calidad del vino.

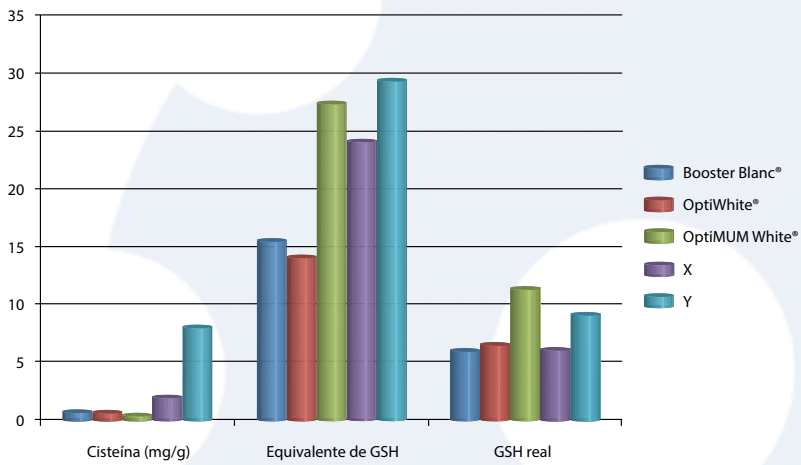

Figura 4: Análisis de cisteína y GSH (HPLC) y método químico clásico de equivalente de GSH de varias SIY ricas en GSH.

LOS RESULTADOS (PART 1)

En un estudio realizado por el Departamento de Viticultura y Enología de la Universidad de Stellenbosch (Kritzinger *et al.*, 2012), el análisis UPLC reveló las concentraciones de GSH total, reducido y oxidado, liberadas por diferentes LIE ricas en GSH en una solución modelo de vino.

En la figura 5 observamos que OptiMUM White® liberó el nivel más alto de GSH reducido en la solución modelo de vino, mientras que los otros cuatro productos liberaron una cantidad similar de GSH reducido en la solución modelo. Sin embargo, uno de los otros tres productos (producto 3) presenta un alto nivel de GSH total, si bien la mayor parte está en su forma oxidada (GSSG), la cual no es eficiente en el mosto y el vino. Estos resultados muestran claramente que OptiMUM White® liberó la mayor cantidad de glutatión necesario para proteger la calidad del vino.

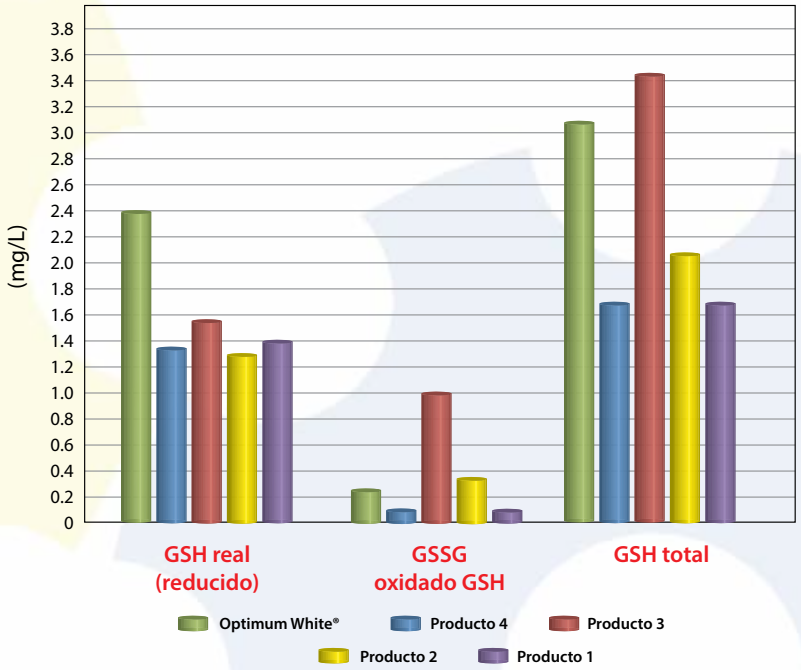

Figura 5: Contenido de glutatión reducido (GSH), oxidado (GSSG) y total (GSH reducido + oxidado) liberado por varias SIY ricas en GSH en una solución modelo de vino.

PARTE 2 EL IMPACTO DE LA LIE RICAS EN GSH EN LA CALIDAD DEL VINO

Jean-Michel Salmon

Jean-Michel SALMON, de 54 años, cursó estudios universitarios clásicos hasta la obtención de un Máster en Ciencias en Bioquímica Industrial y de los Alimentos (Escuela Superior ENSIA París VII, 1981). Tras doctorarse en microbiología en 1986 (Universidad de Montpellier) y haber realizado una estancia postdoctoral de un año en el CSIC de Madrid (laboratorio de C. Gancedo), se incorporó como científico al equipo de investigación en microbiología del INRA en Montpellier. Desde 2003 ha ejercido como Director de Investigación en este instituto y, desde hace dos años, dirige la unidad experimental de Pech Rouge del INRA. Su investigación se ha centrado principalmente en la fisiología de las levaduras (Saccharomyces cerevisiae) y, más concretamente, en el estudio de sus interacciones con el oxígeno durante la fermentación alcohólica y el envejecimiento de los vinos. Además, ha desarrollado un conocimiento práctico sobre el uso de cultivos mixtos de levaduras durante la fermentación alcohólica. Su producción científica abarca 76 artículos revisados por pares, 38 trabajos profesionales relacionados con el vino, 10 capítulos de libros, 50 conferencias orales internacionales, 37 carteles en congresos y 4 patentes.

PALABRAS DE EXPERTO

Hemos llevado a cabo trabajos de investigación en el marco del desarrollo de la aplicación de LIE ricas en GSH en la elaboración del vino. Concretamente, nos hemos centrado en la determinación del mejor momento de adición y el impacto de esta práctica en los tioles y otros compuestos aromáticos.

Nuestros resultados ponen de manifiesto el impacto positivo de la adición de LIE ricas en GSH sobre la estabilidad del color y la preservación de los tioles volátiles durante el envejecimiento, siempre que esta adición tenga lugar al principio de la FA. También pudimos observar que para la eficacia del tratamiento es muy importante que la fermentación alcohólica se gestione bien en lo que respecta a la elección de la levadura y los aspectos nutricionales (Aguera *et al.*, 2012).

LOS RESULTADOS (PARTE 2)

2.1 Gestión de la fermentación

Como se indicó anteriormente, la gestión de la fermentación es determinante cuando se utilizan LIE ricas en GSH como OptiMUM White®, ya que una levadura con una fuerte demanda de nitrógeno puede valerse de los aminoácidos de las LIE ricas en GSH como fuente de nitrógeno y, por lo tanto, reduce el impacto de la levadura inactiva que libera el GSH en el vino. Los resultados de la figura 6 muestran el impacto de la adición de OptiMUM White® en un vino Rosado Syrah y en un Garnacha, donde la levadura B, con una alta demanda de N, manifiesta el menor impacto en el nivel de tioles presentes en el vino a raíz de la adición de OptiMUM White®. El resto de levaduras, con una demanda baja-media de nitrógeno, sí muestran un impacto importante en la concentración de tioles en comparación con el vino al que no se agregó OptiMUM White®.

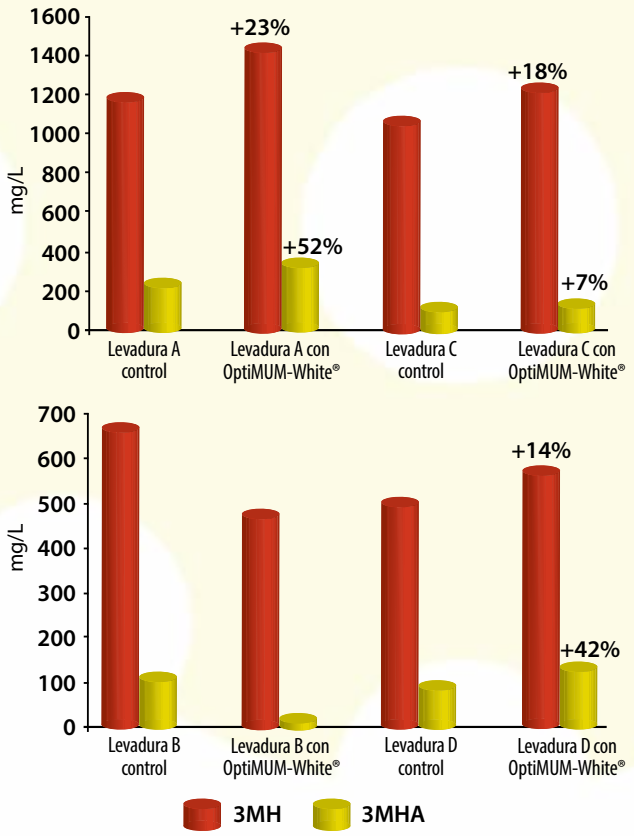

Figura 6: Nivel de tioles en vinos rosados Syrah (arriba) y Garnacha (debajo) con y sin LIE ricas en GSH (OptiMUM White®)

2.2 Momento de la adición

En un estudio llevado a cabo por Aguera *et al.* (2012), se estudió el impacto del momento de la adición de la LIE OptiMUM White® rica en GSH. OptiMUM White® se añadió durante la inoculación de la levadura al comienzo de la fermentación y al final de la FA. Los resultados (figura 7) mostraron que durante el envejecimiento acelerado se produjo un impacto positivo en la conservación de tioles cuando OptiMUM White® fue añadido al principio de la fermentación. Asimismo, se realizaron ensayos en vinos rosados Garnacha y Syrah en bodegas. Al analizar los vinos después de un año de envejecimiento, se apreció un aumento de los tioles varietales 3MH y 3MHA, que resultó tanto más significativo cuando se adicionó OptiMUM White® al principio de la fermentación.

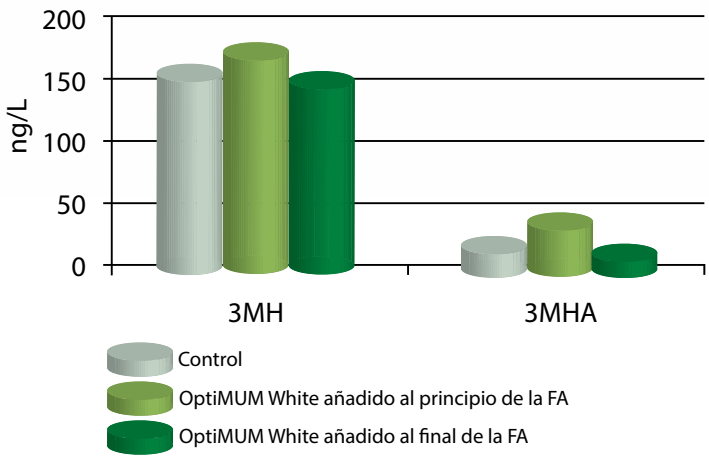

Figura 7: Nivel de tioles en Sauvignon blanc, expuesto a una simulación de envejecimiento oxidativo acelerado, después del tratamiento con OptiMUM White® con diferentes momentos de adición.

LOS RESULTADOS (PARTE 2)

2.3 El impacto aromático

Numerosos estudios han demostrado el impacto del glutatión en diversos aromas como los terpenos, los ésteres y, naturalmente, los tioles volátiles (Fragasso *et al.* 2010, Andùjar-Ortiz *et al.* 2010, Curtin, 2009). Algunos de los resultados aparecen ilustrados en la figura 8, donde se midieron diferentes compuestos aromáticos (ésteres y terpenos) en vinos de las variedades Roupeiro y Rabo de Ovelha (Portugal) tratados con OptiWhite® y OptiMUM White® comparados con un control. Los vinos tratados con OptiMUM White® presentaron una variedad significativamente mayor de ésteres y terpenos que el control y el vino tratado con OptiWhite.®

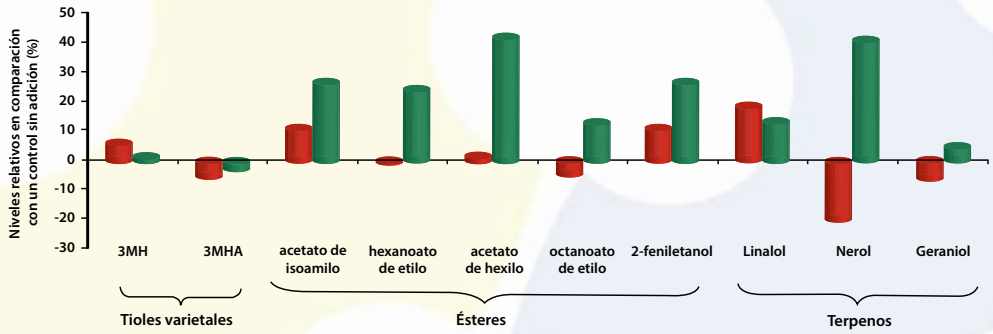

Figura 8: Análisis de las variaciones (%) en los compuestos aromáticos de vinos Roupeiro y Rabo de Ovelha (Portugal) tratados con Optiwhite® (rojo) y OptiMUM White® (verde) en comparación con un control sin adición (Aguera et al. *2012).*

Estas diferencias en la composición de compuestos aromáticos dieron lugar al impacto sensorial que se muestra (resultados no mostrados), donde el mismo vino tratado con OptiMUM White® presentó muchos más aromas positivos y un mejor equilibrio gustativo.

2.4. El impacto en la persistencia aromática

Los altos niveles de GSH que OptiMUM White® presenta en su forma más activa se reflejan en los resultados obtenidos con este producto en los vinos, sobre todo en lo que se refiere a su longevidad. Por ejemplo, la figura 9 muestra los resultados de un ensayo realizado en el Sauvignon blanc de Francia, donde, después de un año de envejecimiento, los vinos tuvieron unos niveles más elevados de tioles aromáticos como el 3-mercaptohexanol (3MH) y su acetato (3MHA) en comparación con el control sin adición de SIY ricas en GSH.

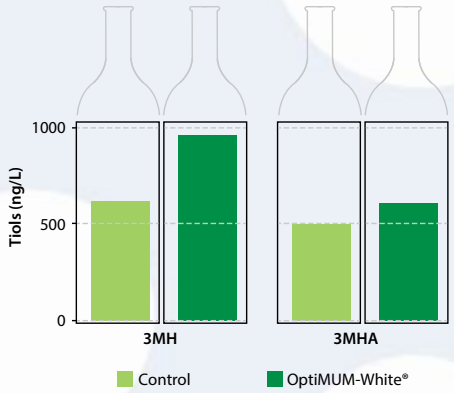

Figura 9: Niveles de tioles (3MH y 3MHA) en el Sauvignon Blanc tratado con OptiMUM White® un año después de su embotellado

UN BREVE RESUMEN

Las LIE ricas en GSH son herramientas naturales de vinificación que pueden emplearse para favorecer y mejorar la intensidad y persistencia aromática, así como para proteger el color de los vinos blancos y rosados. OptiMUM White® es una nueva levadura inactiva específica rica en glutatión que, gracias a su proceso de producción optimizado, aumenta la disponibilidad del glutatión reducido. Contiene el nivel más alto de la forma reducida de GSH, la más activa y eficaz. Este producto tiene un impacto positivo en el color, el contenido de tioles, los ésteres y los terpenos así como en las propiedades sensoriales del vino, además de preservar los compuestos aromáticos frente a la oxidación y su persistencia durante el envejecimiento.

En nuestro próximo número: "Coinoculación con bacterias enológicas seleccionadas."