LA PRODUCCIÓN DE SO_2 POR LEVADURAS ENOLÓGICAS DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

¿Qué es el dióxido de azufre?

El dióxido de azufre es una molécula comúnmente conocida como SO_2. Se usa como agente antimicrobiano en muchos frutos secos (higos, uvas pasa, albaricoques, etc.) y los Romanos la comenzaron a usar para la elaboración de vinos cuando descubrieron que la quema de candelas de azufre dentro de envases de vino vacíos los mantenía frescos y libres de olor a vinagre.

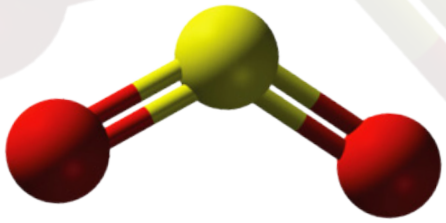

Figura 1. Estructura molecular del dióxido de azufre (SO_2)

¿Por qué es importante en el vino?

El dióxido de azufre se usa en varias etapas del proceso de vinificación. Se agrega durante la elaboración del vino, para prevenir el desarrollo no deseado de microorganismos, como antioxidante, como antioxidásico para inhibir las polifenol oxidasas (lacasa y tirosinasa), como disolvente.

Sin embargo, los sulfitos pueden tener un impacto negativo en las propiedades organolépticas del vino, retrasar el inicio de la fermentación maloláctica y llegar a ser nocivos para la salud si se encuentran en altas concentraciones en el vino. Por ello, las concentraciones de SO_2 en el vino están reglamentadas. Cuando su concentración excede los 10 mg/L, el « contenido de sulfitos » debe aparecer en la etiqueta de la botella de vino. Por ende, es importante controlar y dirigir el contenido de SO_2 en el vino en el proceso de vinificación para mantener su concentración lo más baja posible conservando al mismo tiempo sus buenas propiedades.

El SO_2 puede agregarse en vinos de diferentes maneras, como gas líquido, solución de SO_2, metabisulfito de potasio o tabletas efervescentes. El SO_2 no sólo es un compuesto exógeno, puede también ser producido por la levadura como lo explicaremos más adelante.

¿Las múltiples formas del SO_2

El dióxido de azufre puede encontrarse en vinos en múltiples formas y ello tendrá un impacto en la concentración final encontrada en el producto. Es importante comprender la naturaleza de la forma que toma en el vino y sus consecuencias.

- SO_2 libre: forma activa de los sulfitos encontrados en vinos. Esta es la forma que será activa como agente antimicrobiano y antioxidante. Se llama libre porque no está ligado ó unido a ningún otro compuesto.
- SO_2 combinado: cuando se agrega SO_2 al vino o al mosto, una parte se ligará a los azucares y aldehídos (como el acetaldehído) y a las cetonas. Esta forma de SO_2 no es activa.
- SO_2 total: SO_2 libre + SO_2 combinado
- SO_2 molecular o activo: el SO_2 molecular es la forma más activa del SO_2 libre. Esta forma de SO_2 es más exacta que el SO_2 libre en cuanto al grado de protección que le proporciona al vino. Se calcula con una fórmula que toma en cuenta el pH, la temperatura, el % de alcohol y el SO_2 libre. El pH del vino es uno de los factores principales que intervienen en el equilibrio entre SO_2 total, libre y molecular. Generalmente, una concentración de SO_2 molecular de entre 0,35 mg/L y 0,60 mg/L le proporcionará una protección adecuada al vino.

Formación de SO_2 durante la fermentación

La levadura enológica *Saccharomyces cerevisiae*, ya sea seleccionada o espontánea, producirá SO2. Las levaduras enológicas pueden producir desde pocos mg/L de sulfitos hasta más de 90 mg/L, dependiendo de las condiciones de fermentación y de la cepa de levadura. El dióxido de azufre es un metabolito intermedio en la ruta de asimilación de sulfatos (figura 2) que conduce a la síntesis de los aminoácidos azufrados. Bajo ciertas condiciones, puede ser sintetizado en exceso y luego excretado en el medio. Además, los sulfitos son precursores para la síntesis del sulfuros, un subproducto muy indeseable. Aunque la ruta de asimilación de sulfatos ha sido ampliamente estudiada, se sabe poco sobre los parámetros que influencian la producción de sulfitos y todavía no se ha identificado la base molecular responsable de las diferencias entre las cepas de levadura enológica.

La mejor estrategia para evitarlo es seleccionar una levadura enológica que produzca muy poco SO2, para así saber si la levadura que ha seleccionado tiene una alta demanda en nitrógeno durante la fermentación y para dirigir adecuadamente la fermentación alcohólica en consecuencia.

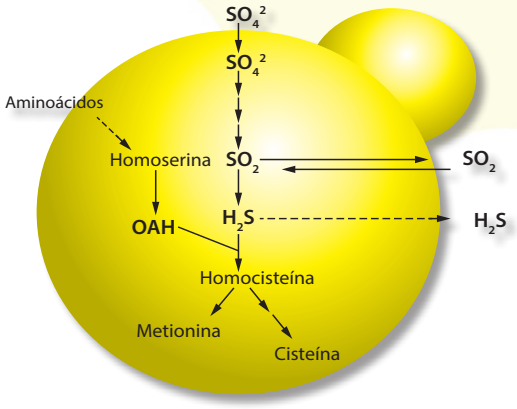

Figura 2. La ruta de asimilación del sulfato en la levadura enológica

LOS RESULTADOS

Los parámetros que influencian la producción de compuestos azufrados por la levadura son:

1. La temperatura: se ha demostrado que a bajas temperaturas (16 ° C), la producción de azufre es mayor que con una temperatura de 28 ° C (figura 3).

2. La levadura enológica utilizada: sabemos que la producción de SO_2 por la levadura enológica es genética y ambientalmente determinada. Todas la levaduras enológicas, sean seleccionadas o espontáneas, produ-cirán diferentes concentraciones de SO_2. (figura 4).

Se caracterizaron muchas levaduras enológicas a partir de su producción de SO_2 en un medio sintético. La figura 4 ilustra la gama de concentraciones producidas por las diferentes levaduras enológicas, que van desde la más baja de 5 mg/L hasta la más alta de 90 mg/L. Las concentraciones de SO_2 fueron producidas intrínsecamente por las levaduras enológicas puesto que no hubo adición de azufre en el mosto sintético. Cuando se selecciona una levadura para la elaboración del vino, tomando en cuenta las condiciones del mosto y el nivel de SO_2 añadido, entonces se puede considerar este factor en base a la elaboración del vino escogida y el estilo de vino deseado.

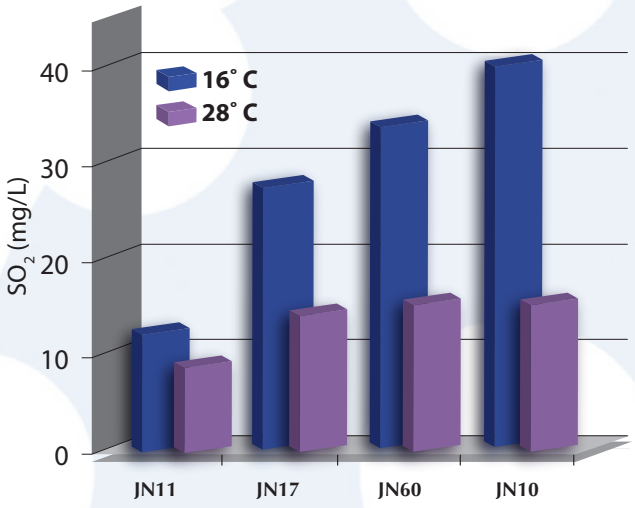

Figura 3 Producción de SO_2 por las diferentes cepas de levadura enológica a distintas temperaturas.

LOS RESULTADOS

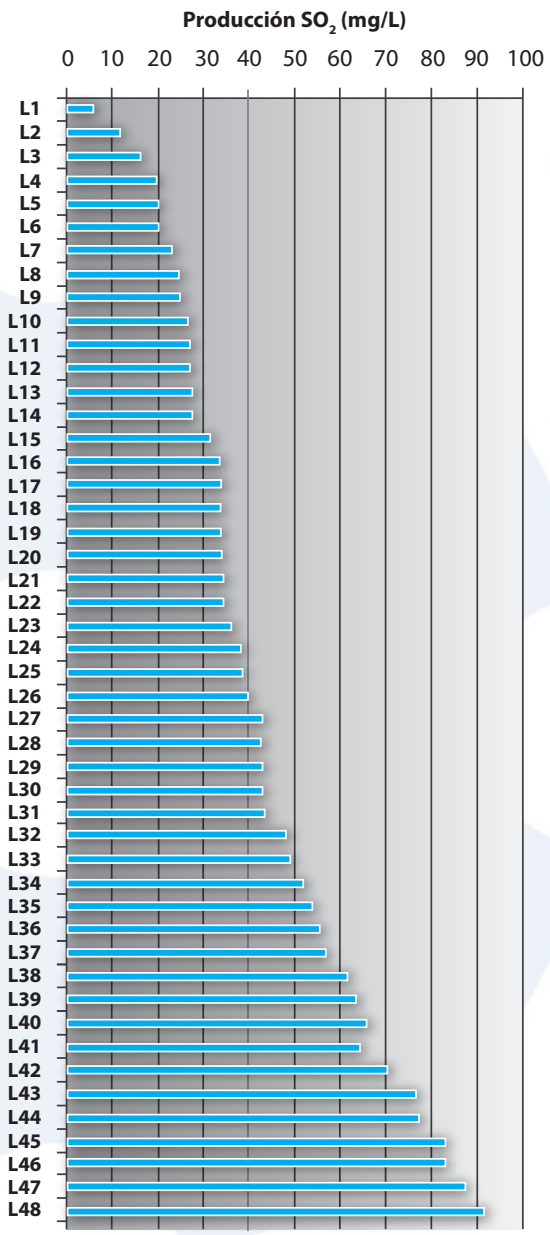

Figura 4. Producción total de SO_2 por la levadura enológica en el medio sintético MS 300

Por ejemplo, si se busca la fermentación maloláctica, conociendo la sensibilidad de la bacteria enológica al SO_2, se puede entonces seleccionar una levadura enológica que produzca una menor concentración de sulfito. Últimamente, la selección de levaduras enológicas se ha concentrado en la búsqueda de microorganismos capaces de reducir la producción de SO_2. Durante una colaboración entre Lallemand, el Institut Coopératif du Vin (Francia) y el SupAgro INRA (Francia), se obtuvo una levadura enológica natural con una estrategia de hibridación dirigida. La Lalvin ICV oKay®, que produce concentraciones muy bajas de SO_2, H_2S y acetaldehído (un compuesto que se combina al SO_2). Esta levadura enológica ha mostrado bajo muy diversas condiciones, una producción más baja de SO_2, como se ve en la figura 5. En los diferentes vinos, y en algunos casos específicos, Lalvin ICV oKay® no producía SO_2, como se muestra cuando no hay una columna roja para esta levadura en particular. Las propiedades enológicas y organolépticas de la Lalvin ICV oKay® han demostrado ser muy positivas para la producción de vinos de calidad. Por otra parte, como esta levadura enológica produce poco o ningún SO_2 durante la fermentación alcohólica, es compatible con la fermentación maloláctica, cuando esta es deseada.

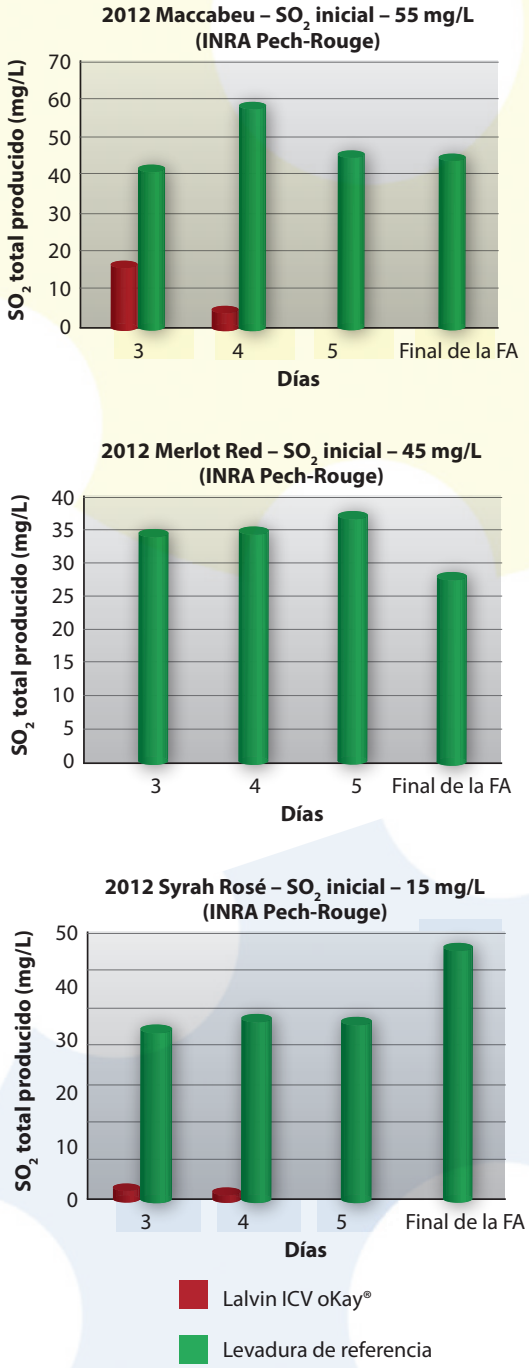

Figura 5. Producción total de SO2 durante la fermentación alcohólica en tres vinos comparando la Lalvin ICV oKay® con la levadura de referencia

Bruno Blondin

Bruno Blondin tiene un doctorado en Ciencias Alimentarias por la Universidad de Montpellier (Francia) y es profesor y Director Científico en SupAgro (INRA Montpellier). El señor Blondin es experto en el metabolismo de las levaduras. Es autor de 42 publicaciones y 2 patentes. Es también experto en la Organización internacional de la viña y el vino (OIV) y es miembro del consejo científico del Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV). Sus actividades de investigación con el grupo de microbiología del INRA UMR Ciencias de la enología UM1 Montpellier SupAgro se centran en el estudio de la genómica funcional de las levaduras enológicas, en particular la genética de los compuestos azufrados producidos durante la fermentación. Su trabajo ha llevado al entendimiento del origen y la producción de los compuestos azufrados y ha ayudado a un mejor control en su formación. Es responsable de las clases de microbiología y biotecnología del diploma en Viticultura y enología en el Montpellier SupAgro.

PALABRAS DE EXPERTO: EL SO_2

Los aportes exógenos de SO_2 no son los únicos involucrados en el contenido final del SO_2 de los vinos, pues las levaduras enológicas pueden también producirlo en cantidades para nada desdeñables. En el metabolismo de la levadura, el SO_2 es un compuesto intermedio de la síntesis de los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína). Esta vía está particularmente activa durante la fase de crecimiento después del agotamiento de los aminoácidos azufrados, presentes en cantidades ínfimas en los mostos de uva, para responder a la demanda anabólica de la síntesis proteica. Sin embargo, ciertas levaduras pueden producir cantidades de SO_2 superiores a sus necesidades o capacidades de asimilación, entonces el exceso es excretado en el medio. Su producción puede variar según las cepas desde algunos milígramos a más de 100 mg/l.

Las bases moleculares responsables de las diferencias de producción entre las cepas de levadura eran, hasta ahora, muy poco conocidas. Hace poco, un nuevo estudio permitió descubrir algunos genes responsables del control de la producción de SO_2, y también de H_2S y de acetaldehido (combinando fuertemente el SO_2): son los genes *MET2* y *SKP2*. Nuevos alelos de estos genes fueron descubiertos en una cepa muy poca productora de SO_2 gracias a un estudio genético destinado a revelar las regiones del genoma implicadas en este fenotipo: la cartografía de un QTL.

Los dos alelos descubiertos son responsables de un control particularmente potente de la producción de SO_2 y actúan en dos etapas claves del metabolismo del azufre. En las fases iniciales, limitando su síntesis, el alelo del gen *SKP2* controla la eficacia de una enzima involucrada en la síntesis del SO_2 a nivel postraduccional. Y en las finales, el alelo del gen *MET2* aumenta su asimilación permitiendo una mayor síntesis de los precursores carbonados.

UN BREVE RESUMEN

La mejor estrategia en el manejo del SO_2 es el mantenimiento de los menores niveles de eficiencia del SO_2 respetando los requerimientos legales y de salud. Sabiendo que la producción de SO_2 por parte de la levadura enológica es parte del manejo apropiado

La producción de SO_2 por las levaduras enológicas no está regulada por el mosto, por las condiciones de fermentación o por factores de estrés, sino más bien por características intrínsecas, genéticamente determinadas, que varían de una levadura enológica a otra. Gracias a un amplio estudio para comprender y caracterizar la levadura enológica seleccionada, podemos mostrar los diferentes niveles de SO_2 que una levadura enológica puede producir. Cuando este factor es importante para la fermentación del vino, ya sea por compatibilidad maloláctica, para el estilo de vino ó debido a necesidades del mercado, el uso de la levadura enológica puede convertirse en un criterio para una vinificación específica. La nueva levadura enológica Lalvin ICV oKay® es una buena elección para la fermentación alcohólica cuando existe preocupación por la producción de SO_2. Lalvin ICV oKay® es una selección de levadura innovadora (patente en trámite PTC/IB220131050623) particularmente interesante para vinos blancos y rosados, que asegura bajos niveles de acidez volátil y favorece la producción de esteres aromáticos. Además, brinda frescura y equilibrio en boca.