

Fermentación

# Influencia del alcohol en potencia y de la concentración inicial de sulfuroso en la formación de sulfitos durante la fermentación de vinos blancos

POR JOSEP MARTÍNEZ<sup>1</sup>, CAMILO CHIRIVELLA<sup>1</sup>,  
JOSÉ LUIS ALEIXANDRE-TUDÓ<sup>2</sup> Y JOSÉ LUIS ALEIXANDRE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Viticultura y Enología de Requena  
(Valencia, España)

<sup>2</sup>Department of Viticulture and Enology  
(Stellenbosch University, South Africa)

<sup>3</sup>Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo  
(Universitat Politècnica de Valencia, España)

Tradicionalmente, en el sector vinícola el sulfuroso se ha utilizado para controlar el desarrollo de microorganismos no deseados así como para inhibir la oxidación enzimática mediante la acción de la polifenol-oxidasa (PPO). De este modo se controla el proceso oxidativo del vino así como la aparición de fermentaciones alternativas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Debido al riesgo que puede suponer para la salud, también existe un interés creciente en la investigación y desarrollo de alternativas al sulfuroso. Dichas alternativas deben asegurar la protección del medio, tanto frente a ataques microbianos como frente a la acción oxidativa, manteniendo intactas o alterando mínimamente las características organolépticas del vino (Aleixandre y Alvarez, 2003).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia del alcohol en potencia y de la concentración inicial de sulfuroso sobre la producción de sulfitos durante la fermentación de un vino blanco.

## Materiales y métodos

Para la elaboración de los vinos blancos, una vez separado el mosto de los hollejos y pepitas se depositó en recipientes de acero inoxidable de diferentes volúmenes (10, 30 y 50 L) para realizar el desfangado. Se adicionaron las enzimas pectolíticas (Novoclar Speed, poligalacturonasa, Lamothe Abiet, 2019), y la proteína de guisante (Green Fine Must, Lamothe Abiet, 2019) según las dosis especificadas por el fabricante para cada caso. El

mosto se dejó reposar en una cámara frigorífica a -3 °C de temperatura durante 24-48 horas. Transcurrido este tiempo, se trasegó con una bomba manual a los recipientes de vidrio donde se llevó a cabo la fermentación, previa siembra de levaduras Excellence STR (Lamothe Abiet, 2019) y adicionando previamente el piro sulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, vE-224, Lamothe Abiet, 2019).

Las determinaciones analíticas realizadas en los vinos obtenidos fueron: grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, pH, y sulfuroso total, azúcares residuales, ácidos cítrico, málico y láctico y glicerol (OIV, 2019). Todas las experiencias se realizaron por triplicado y los análisis se repitieron dos veces para reforzar la validez de los resultados y permitir la reproducibilidad del experimento.

La primera experiencia consistió en determinar la influencia del alcohol en potencia en la producción de sulfitos durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Semillon. El mosto se homogeneizó previamente en un tanque y las muestras se pusieron en recipientes de vidrio de 2 litros de capacidad, añadiéndoles de forma individual las cantidades de sacarosa establecidas en la experiencia (16,15 g/L, 32,30 g/L y 48,45 g/L).

La segunda experiencia consistió en determinar la influencia de la concentración inicial de sulfuroso en la producción de sulfitos durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Macabeo. El mosto inicial se trasegó a un depósito de 50 L, se homogeneizó y se distribuyó posteriormente en tres garrafas de vidrio de 10 L donde se sulfitó con piro sulfito de potasio (rendimiento en sulfuroso del 50%) en diferentes dosis (5, 10, 15, 20, 30, 40, y 50 mg/L) según el ensayo a realizar.

**Tabla 1. Valores medios de los parámetros analizados en los vinos de la Experiencia 1**

Parámetros	Semillon-0	Semillon-1	Semillon-2	Semillon-3
Grado alcohólico (% vol)	10,68±0,08	11,69±0,02	12,64±0,02	13,55±0,03
Acidez Total (g/L ac. tartárico)	6,06±0,65	5,40±0,02	5,40±0,01	5,34±0,05
Acidez volátil (g/L ac. acético)	0,72±0,33	0,40±0,01	0,42±0,00	0,42±0,01
pH	3,45±0,02	3,46±0,01	3,46±0,01	3,46±0,01
SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	5,47±0,60	5,73±1,55	5,73±1,85	0,00±0,01
Azúcares residuales (g/L)	0,35±0,21	0,33±0,11	0,55±0,13	1,09±0,12
Ácido cítrico (g/L)	0,11±0,05	0,21±0,02	0,26±0,01	0,28±0,01
Ácido málico (g/L)	0,37±0,14	0,22±0,02	0,17±0,03	0,10±0,04
Ácido láctico (g/L)	2,06±0,10	2,15±0,02	2,16±0,02	2,12±0,02
Glicerol (g/L)	6,02±0,12	5,77±0,12	5,89±0,10	5,78±0,15

## Resultados y discusión

Todos los datos de los resultados experimentales obtenidos fueron sometidos a tratamiento estadístico para determinar su representatividad. Así pues, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA simple) para cada experiencia y cada rango de valores, tomando diferentes intervalos de confianza, de más amplio a más estricto, desde un 95 % hasta un 99,9 %, esto es, tomando un nivel de significación  $\alpha$  desde 0,05 hasta 0,001. Para todos los casos se obtuvo un *p-valor* menor al nivel de significación fijado en cada caso, con lo que se determinó que todos los valores experimentales eran estadísticamente significativos, es decir, que no existían diferencias significativas debidas al azar.

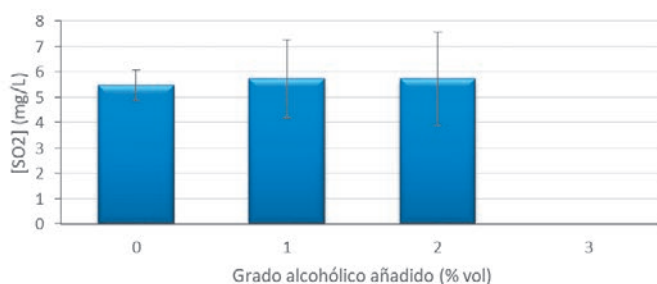
### Experiencia 1:

Los valores medios de los parámetros analizados en los vinos obtenidos en la Experiencia 1 vienen expuestos en la Tabla 1.

Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso total de la Experiencia 1 se recogen en la Gráfica 1. Se observa que no existen diferencias notables entre las tres pri-

meras muestras (grados alcohólicos de +0, +1 y +2), con contenidos en etanol de 10,68, 11,69 y 12,64 % v/v respectivamente, y valores de sulfuroso total oscilando alrededor de 5,5 mg/L. No obstante, para el caso de la muestra de grado alcohólico +3, con una concentración de alcohol del 13,55 %, la concentración de sulfuroso total detectada es nula. En la muestra +3 se tiene aproximadamente 1 g/L de azúcares residuales, mientras que en las demás muestras los valores de azúcares residuales son menores de 0,5 g/L. Además, los datos experimentales de los grados alcohólicos reflejan que la diferencia entre las tres primeras muestras es, efectivamente, de 1 grado alcohólico entre muestras sucesivas, corroborando que el diseño experimental es correcto. Por el contrario, la diferencia entre grados alcohólicos experimentales de las muestras +2 y +3 es ligeramente inferior a la unidad (0,9 % vol), con lo que se puede deducir que, junto con los datos de azúcares residuales, la fermentación alcohólica de la muestra +3 ha tenido mayores dificultades para su finalización que las otras tres. Este comportamiento se puede observar en la

**Experiencia 1 - Grado alcohólico [SO<sub>2</sub>] total**



**Gráfica 1.** Concentraciones de sulfuroso total de los vinos de la Experiencia 1.



Polígono 33 Parcela 254, El Muladar  
46370 Chiva, Valencia

Tel: +34 96 178 82 70  
secna@secna.com  
www.secna.com

Gráfica 2, donde se relaciona el contenido en azúcares residuales con el grado alcohólico producido, evidenciando que a mayor contenido de etanol las dificultades para la finalización de la fermentación son mayores.

Este hecho también se puede corroborar si se observan los datos experimentales de la evolución de las fermentaciones de la Experiencia 1 (Gráfica 3).

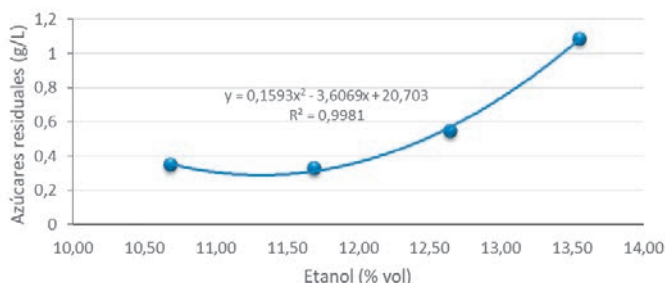
Si se tiene en cuenta que la producción de sulfuroso por parte de las levaduras ha sido independiente del grado alcohólico en las fermentaciones con menor contenido de azúcar inicial (ensayos +0, +1 y +2% vol), y que cuando se ha alcanzado un cierto nivel de etanol (ensayo +3% vol) las levaduras han tenido dificultades para la finalización de la fermentación, paralizándose la producción de sulfuroso. Cabría suponer que el contenido en etanol puede llegar a inhibir la actividad sulfato-reductora de las levaduras, debido a la fuerte inhibición que han sufrido las levaduras por el alto nivel de etanol en el medio, entrando en fase de decadencia, y siendo imposible recurrir a la actividad sulfato-reductora para obtener energía, como sí pueden hacer cuando se agotan los azúcares y no están todavía en fase terminal.

Además, en los datos de la Tabla 1 se puede comprobar que el contenido final de etanol ha influido en varios parámetros tales como la acidez volátil y las concentraciones de ácido cítrico y málico.

Por su importancia, en lo que a la calidad sanitaria del vino se refiere, hay que destacar que la acidez volátil de todas las fermentaciones está comprendida entre 0,39 y 0,43 g/L. Asimismo, se observa que las concentraciones de ácido cítrico en estas fermentaciones son las más bajas de todas, aumentado la concentración de cítrico con el etanol final del vino como se muestra en la Gráfica 4, por lo que es lógico pensar que niveles bajos de etanol favorecen la acción de algún microorganismo indeseable, que ataca al ácido cítrico dando origen a la producción de ácido acético, degradando el vino y haciéndolo inapropiado para el consumo.

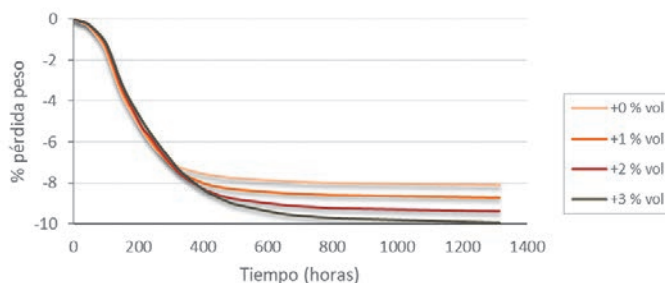
A su vez, en la Tabla 1 se puede observar una disminución del contenido de ácido málico

### Experiencia 1 - Grado alcohólico. Azúcares residuales vs. Etanol



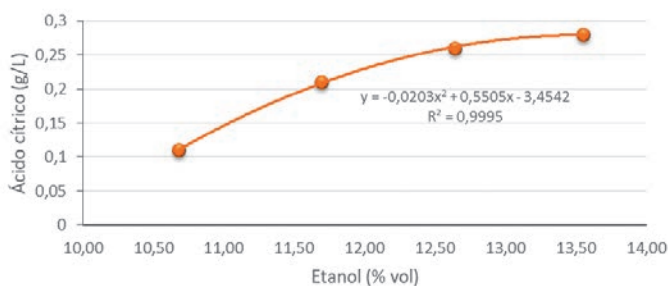
**Gráfica 2.** Correlación entre la concentración de azúcares residuales y de etanol al final de la fermentación de la Experiencia 1.

### Experiencia 1 - Grado alcohólico. Evolución fermentaciones



**Gráfica 3.** Evolución de las fermentaciones de la Experiencia 1.

### Experiencia 1 - Grado alcohólico. Ácido cítrico vs. Etanol



**Gráfica 4.** Correlación entre la concentración de ácido cítrico y de etanol al final de la fermentación de la Experiencia 1.

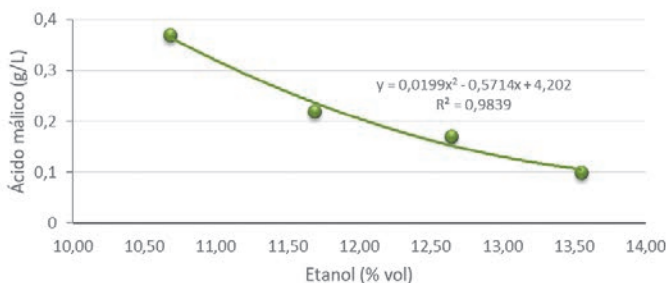
co con el aumento del etanol, cuya correlación se muestra en la Gráfica 5.

Así pues, todo parece indicar que el etanol es capaz de favorecer la acción de las bacterias lácticas, aumentando la degradación del ácido málico y por lo tanto disminuyendo su concentración en el vino.

De esta experiencia se podría concluir que la liberación de sulfuroso al medio por parte de las levaduras se ve dificultada con

un grado alcohólico elevado, mientras que para grados alcohólicos bajos y en ausencia de sulfuroso añadido se puede facilitar la acción de microorganismos indeseables que pueden perjudicar seriamente la calidad organoléptica del vino. Sería interesante poner a punto técnicas que permitiesen la elaboración de vinos de baja graduación alcohólica sin la adición de sulfuroso por vía externa.

### Experiencia 1 - Grado alcohólico. Ácido málico vs. Etanol



Gráfica 5. Correlación entre la concentración de ácido málico y de etanol al final de la fermentación de la Experiencia 1.

#### Experiencia 2:

Los valores medios de los parámetros analizados en los vinos se recogen en la Tabla 2.

Los valores de las concentraciones de sulfuroso total de los vinos de la Experiencia 2 se vienen en la Gráfica 6. Se observa que, para la muestra de 0 mg/L de sulfuroso inicial, se tienen unos 5 mg/L de sulfuroso total al final de la fermentación alcohólica, generados por las levadu-

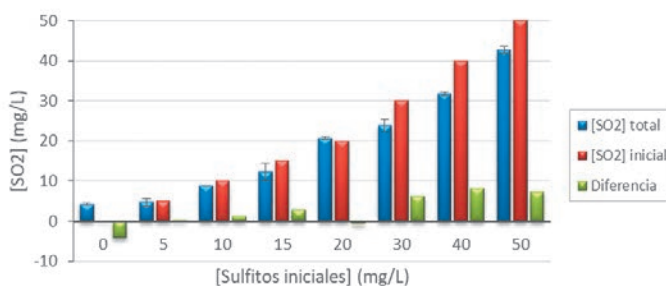
ras. Para las muestras desde 5 hasta 20 mg/L de sulfuroso inicial, la cantidad de sulfuroso total es prácticamente la misma que la concentración inicial de partida, mientras que para las muestras desde 30 hasta 50 mg/L hay una disminución entre la concentración inicial y la final de entre 6 y 8 mg/L de sulfuroso total.

Asumiendo, por tanto, que una parte del anhídrido sulfuroso inicial va a desaparecer del

Tabla 2. Valores medios de los parámetros analizados en los vinos de la Experiencia 2

Parámetros	Macabeo-0	Macabeo-5	Macabeo-10	Macabeo-15	Macabeo-20	Macabeo-30	Macabeo-40	Macabeo-50
Grado alcohólico (% vol)	12,51±0,04	12,51±0,02	12,49±0,02	12,44±0,06	12,45±0,03	12,47±0,04	12,50±0,04	12,52±0,04
Acidez Total (g/L ac. tartárico)	5,08±0,05	5,03±0,05	5,06±0,04	5,01±0,03	5,04±0,01	4,85±0,06	4,84±0,04	5,34±0,04
Acidez volátil (g/L ac. acético)	0,42±0,02	0,39±0,03	0,41±0,01	0,39±0,01	0,41±0,01	0,33±0,01	0,33±0,00	0,30±0,00
pH	3,54±0,01	3,52±0,01	3,53±0,01	3,52±0,02	3,52±0,01	3,50±0,01	3,50±0,01	3,44±0,01
SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	4,13±0,33	4,67±0,94	8,80±0,00	12,27±2,07	20,67±0,33	23,73±1,49	31,73±0,41	42,67±0,83
Azúcares residuales (g/L)	0,99±0,36	0,87±0,27	0,79±0,26	1,12±0,49	1,42±0,74	0,82±0,33	0,85±0,13	0,76±0,12
Ácido cítrico (g/L)	0,34±0,02	0,33±0,02	0,33±0,02	0,34±0,02	0,35±0,01	0,36±0,02	0,36±0,01	0,40±0,01
Ácido málico (g/L)	0,34±0,02	0,33±0,02	0,38±0,02	0,38±0,04	0,40±0,02	0,39±0,02	0,41±0,03	1,26±0,07
Ácido láctico (g/L)	1,72±0,02	1,69±0,01	1,71±0,02	1,70±0,02	1,71±0,02	1,70±0,01	1,66±0,02	1,01±0,06
Glicerol (g/L)	6,36±0,05	6,65±0,11	6,72±0,07	6,82±0,15	6,73±0,09	6,67±0,12	6,30±0,10	5,86±0,15

### Experiencia 2 - Sulfitos iniciales [SO<sub>2</sub>] total



Gráfica 6. Concentraciones en sulfuroso total de la Experiencia 2.

medio por evaporación y por recombinación con otras moléculas (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006), es importante poner de manifiesto que para concentraciones iniciales de hasta 20 mg/L las levaduras son capaces de reponer ésta pérdida hasta prácticamente alcanzar la concentración inicial de partida. Suponiendo que para todos los casos la cantidad de anhídrido sulfuroso que se disipa del medio es constante, puesto que las características del mosto son las mismas, y que la cantidad de sulfitos generada por las levaduras sea similar a la muestra de 0 mg/L de partida (es decir, unos 5 mg/L), resulta significativo que, para concentraciones iniciales de sulfuroso superiores a 30 mg/L, las levaduras no sean capaces de liberar sulfitos al medio, lo que explicaría que la diferencia entre las concentraciones iniciales y finales de sulfuroso total en estos casos sean prácticamente constantes. Así pues, se puede decir que la levadura utilizada en estas fermentaciones es capaz de producir sulfuroso mientras que la concentración inicial sea inferior a 30 mg/L.

### Conclusiones

Cuando las levaduras agotan los azúcares sin haber estado expuestas durante largo tiempo a la acción biocida del etanol pueden recurrir a la vía sulfato-reductora para producir energía con el consiguiente aumento del nivel de sulfitos en el medio. Respecto al efecto de la concentración de sulfuroso inicial sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las levaduras son capaces de producir y/o liberar sulfitos al medio siempre que la concentración inicial sea inferior a 30 mg/L.

### Agradecimientos

Nuestro agradecimiento al Servicio de Producción Ecológica, Innovación y Tecnología de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural de la Generalitat Valenciana por habernos dado la oportunidad de realizar el trabajo en sus instalaciones

de la Bodega Experimental del Instituto Tecnológico de Viticultura y Enología de Requena (Valencia).

### Bibliografía

- ALEIXANDRE BENAVENT, J. L., ÁLVAREZ CANO, I. (2003). Tecnología enológica (Manuales científico-técnicos). Madrid. Ed. Síntesis.
- LAMOTHE-ABIET (2019). Visto el 27 de junio de 2019, <https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-levaduras> (clarificantes, enzimas, estabilizadores)/
- OIV (2019). Métodos de análisis, visto el 27 de junio de 2019, <http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis/>
- RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A. (2006). Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications. 2nd edition. Chichester. Ed. John Wiley & Sons, Ltd.

**MultiFiltr**  
Especialistas en filtración y procesos

[www.multifiltr.com](http://www.multifiltr.com)  
info@multifiltr.com Telf. 977 653 135