

ORIGINAL

Determinación de la tasa de consumo de oxígeno por parte de una levadura seca inactivada (LSI) seleccionada para proteger al vino de la oxidación

Pere Pons¹, José M. Heras², Nathalie Sieczkowski², Joan Miquel Canals¹, Fernando Zamora¹

1 Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología de Tarragona. Universidad Rovira i Virgili. C/ Marcel·lí Domingo 1. 43002-Tarragona.

2 Lallemand Bio S.L. C/ Galileu 303. 1ª planta. 08028-Barcelona.

Recibido 17 de octubre de 2018 / Aceptado 21 de noviembre de 2018 / Publicado 1 de enero de 2019

RESUMEN

Se ha determinado la tasa de consumo de oxígeno de una levadura seca inactivada (Pure-Lees™ Longevity. Lallemand) especialmente seleccionada para proteger al vino de la oxidación gracias a su alta capacidad de consumo de oxígeno. La tasa de consumo de oxígeno de determinó mediante una técnica luminiscente no invasiva en una solución modelo que se suplementaba con diferentes concentraciones de la levadura seca inactiva o de dióxido de azufre o de ácido ascórbico. Los resultados indican la LSI consume oxígeno a una tasa similar a la del dióxido de azufre a las concentraciones habituales de ambos antioxidantes.

PALABRAS CLAVE

Levadura Seca Inactivada, Consumo de oxígeno.

INTRODUCCIÓN

La crianza del vino sobre lías, especialmente de los blancos, es una práctica muy extendida en la enología actual [1]. La presencia de lías en contacto con el vino permite, gracias al fenómeno de la autólisis, un enriquecimiento del vino en polisacáridos y manoproteínas [2,3], lo que se traduce en un aumento de su volumen en boca [4,5] y en el caso de los vinos tintos en una suavización de su astringencia [3,6]. Asimismo, en el caso de los vinos espumosos, la presencia de estas macromoléculas favorece la integración del gas carbónico y la estabilidad de la espuma [7,8]. Finalmente, la presencia de manoproteínas favorece la estabilidad del vino frente a la quiebra proteica [9] y frente a la aparición de cristales de las sales del ácido tartárico [10].

Otro efecto positivo de la presencia de las lías ejerce sobre la calidad del vino es el hecho constado de que las lías consumen oxígeno [11,12], protegiendo de este modo al vino de la oxidación, tanto a nivel de su color como de sus aromas [4,13].

Sin embargo, la crianza del vino sobre las lías, además de ser laboriosa, entraña también ciertos riesgos como sería la aparición de olores de reducción [4], una mayor producción de histamina y otras aminas biógenas [14] o de desarrollo de microorganismos problemáticos como *Brettanomyces/Dekkera* [14,15].

Por esta razón, las levaduras secas inactivadas (LSI) se han empezado a utilizar en los últimos años como una fuente de manoproteínas y polisacáridos porque son útiles para enriquecer los vinos en dichas macromoléculas sin presentar ninguno de los inconvenientes mencionados [3,16]. Más recientemente se han propuesto que ciertas LSI pueden actuar como protectores de la oxidación de mostos y vinos debido a su riqueza en glutatión [17] y también a que algunas pueden directamente consumir oxígeno [18].

Dado el interés existente en la búsqueda de antioxidantes alternativos al dióxido de azufre para la protección del vino frente a la oxidación, el objetivo de este estudio fue el de determinar la capacidad para consumir oxígeno de una LSI (Pure-Lees™ Longevity. Lallemand), especialmente seleccionada por su alta capacidad para consumir oxígeno, en comparación con los dos aditivos antioxidantes más utilizados el dióxido de azufre y el ácido ascórbico.

MATERIAL Y MÉTODOS

La tasa de consumo de oxígeno de determinó mediante una técnica luminiscente no invasiva de acuerdo con la metodología descrita por Pascual et al, (2017) [19]. La **Figura 1** sintetiza el protocolo experimental, En unas botellas transparentes (0,75 l) se les enganchó en su interior un sensor (PreSensPrecisionSensing GmbH, ordercode: SPPSt3-NAU-D5-CAF; batchnumber: 1203-01_PSt3-0828-01, Regensburg, Alemania) para medir el oxígeno disuelto. Los sensores eran pegados en el centro del interior de la botella que se llenaba con una solución

Figura 1. Esquema del procedimiento experimental


modelo compuesta por 12 % de etanol, 4 g de ácido tartárico/l, 3 mg de Hierro (III)/l y 0,3 mg de cobre (II)/l . El pH se ajustaba a 3,5. Esta solución se saturaba de oxígeno mediante burbujeo con aire durante 10 minutos. En dichas botellas se añadían 0, 50, 100 y 150 mg/l de SO_2 o de ácido ascórbico, o 200, 400 y 600 mg de la levadura

seca inactiva (Pure-Lees™ Longevity. Lallemand). Las botellas eran después herméticamente cerradas y se mantenían a la temperatura de 20 oC. Las medidas de la concentración de oxígeno se comenzaron una hora después y se realizaron periódicamente hasta el completo consumo del oxígeno.

Determinación de la tasa de consumo de oxígeno por parte de una levadura seca inactivada (LSI) seleccionada para proteger al vino de la oxidación

Figura 2. Consumo de oxígeno

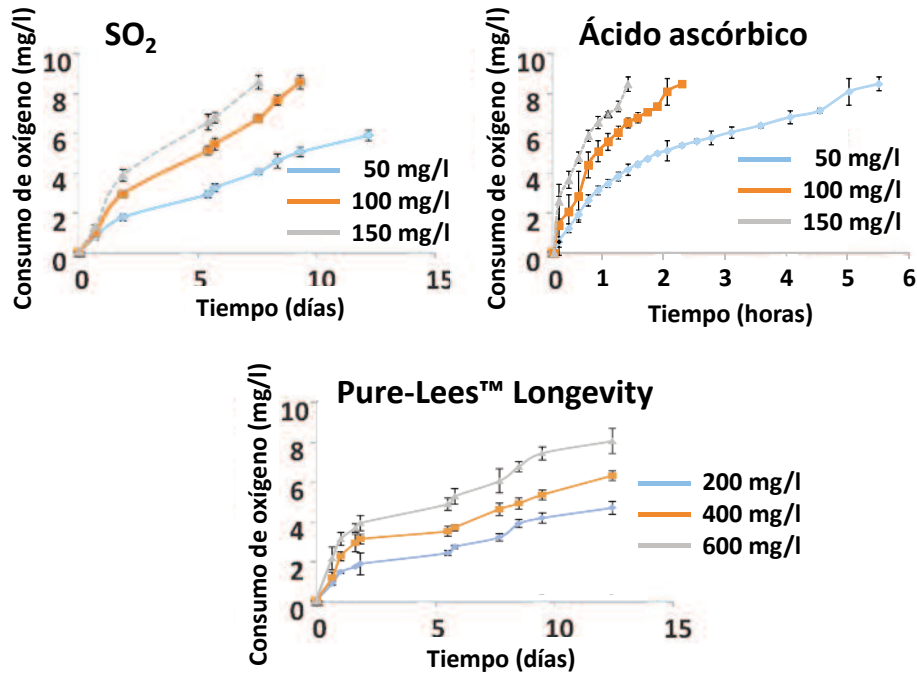


Figura 3. Modelización del consumo de oxígeno

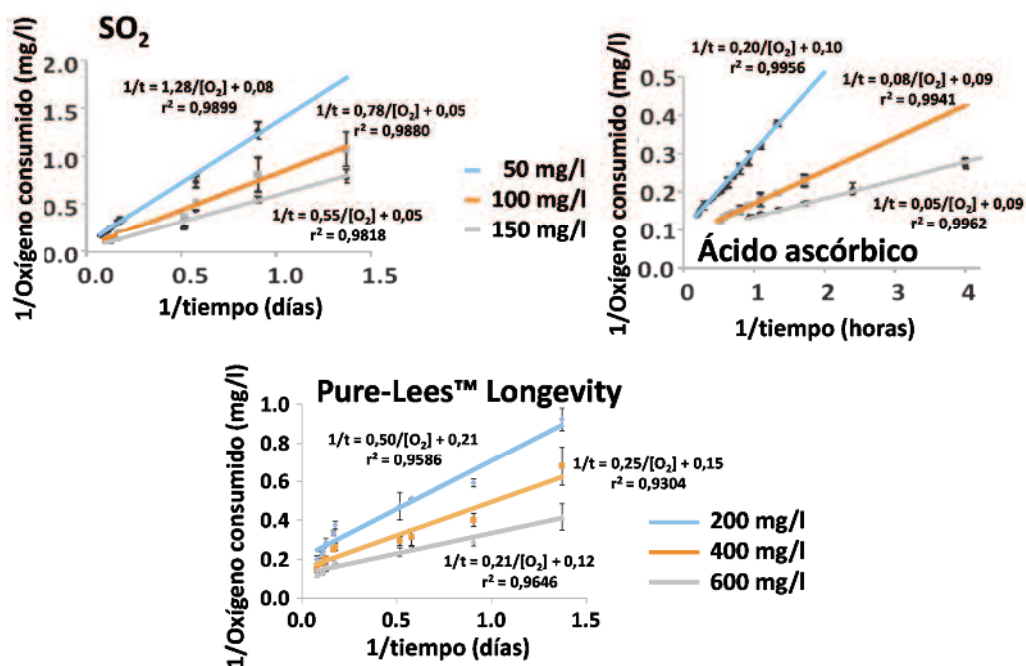
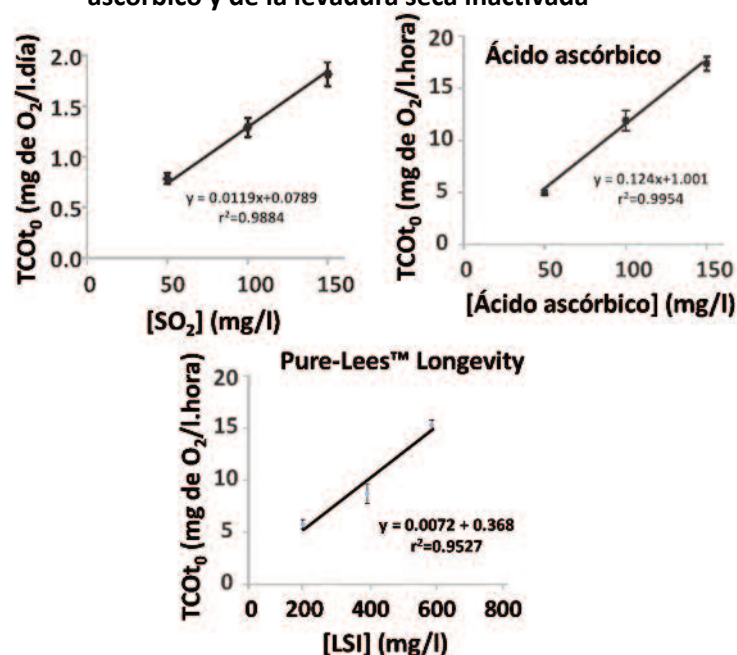


Figura 4. Cálculo de la tasa de consumo de oxígeno a tiempo cero (TCOt₀)

1. Despejar [O ₂]	2. Primera derivada	3. Para t = 0
$\frac{1}{[O_2]} = \frac{A}{t} + B$	$[O_2] = \frac{t}{A + Bt}$	$\frac{d[O_2]}{dt} = \frac{A}{A^2 + 2ABt + B^2t^2}$
\longrightarrow		\longrightarrow
$\frac{d[O_2]}{dt} = \frac{1}{A} = TCO_{t_0}$		

Figura 5. Tasa de consumo de oxígeno (TCOt₀) del SO₂, del ácido ascórbico y de la levadura seca inactivada


RESULTADOS

La **Figura 2** muestra el consumo de oxígeno del SO₂, del ácido ascórbico y de la levadura seca inactivada a lo largo del tiempo. En dichas gráficas se puede ver claramente que los tres antioxidantes, SO₂, ácido ascórbico y la levadura seca inactivada consumen oxígeno a lo largo del tiempo. Es necesario señalar que el ácido ascórbico consume el oxígeno mucho más rápido que el SO₂ y la levadura seca inactivada ya que la escala de su gráfica está representada en horas mientras que la de los otros dos antioxidantes viene reflejada en días.

Con el propósito de modelizar la cinética de consumo de oxígeno y poder parametrizarla se probaron diferentes modelos de ajuste siendo la representación de la inversa del oxígeno consumido frente a la inversa del tiempo el modelo que mejor ajuste lineal proporcionó. La **Figura 3** muestra los resultados obtenidos. Se puede observar que se obtuvieron coeficientes de regresión

lineal satisfactorios, lo que confirma que este modelo matemático funciona bastante bien. De acuerdo con esta modelización, se puede establecer la siguiente ecuación.

$$1 / [O_2] = A / t + B.$$

Esta ecuación describe la relación entre el oxígeno consumido en función del tiempo, lo que permite, tras realizar la primera derivada y considerar tiempo cero, obtener la tasa de consumo de oxígeno (TCO) que corresponde a la inversa de la pendiente de la ecuación. La **Figura 4** ilustra estos cálculos.

Con las pendientes obtenidas aplicando el modelo de ajuste se puede determinar la relación entre concentración de SO₂, ácido ascórbico o la levadura seca inactivada y la tasa de consumo de oxígeno a tiempo cero (TCOt₀). La **Figura 5** muestra el resultado.

Determinación de la tasa de consumo de oxígeno por parte de una levadura seca inactivada (LSI) seleccionada para proteger al vino de la oxidación

Tabla 1. Tasa de consumo de oxígeno (TCOt₀) del SO₂, del ácido ascórbico y de la levadura seca inactivada

Antioxidante	Tasa de consumo de oxígeno (TCOt ₀)			
		mg O ₂ /día		
Ácido Ascórbico	mg O ₂ /mg ácido ascórbico.día	[Ác. Asc.] = 50 mg/l	[Ác. Asc.] = 100 mg/l	[Ác. Asc.] = 150 mg/l
	2.976	148.8	297.6	446.4
SO ₂	mg O ₂ /mg SO ₂ .día	[SO ₂] = 20 mg/l	[SO ₂] = 40 mg/l	[SO ₂] = 60 mg/l
	0.0119	0.24	0.48	0.71
Pure-Lees™ Longevity	mg O ₂ /mg LSI.día	[LSI] = 20 g/hL	[LSI] = 40 g/hL	[LSI] = 60 g/hL
	0.0072	0.14	0.29	0.43

Los resultados muestran que existe una buena relación lineal entre el consumo de oxígeno y la concentración de los tres antioxidantes. Las pendientes de las rectas de regresión corresponderían con la tasa de consumo de oxígeno tal y como se refleja en la **Tabla 1**. En dicha tabla se puede ver que el ácido ascórbico presenta una tasa de consumo de oxígeno mucho mayor que la del dióxido de azufre o la de las levaduras secas inactivadas (alrededor de 300 veces más rápido). No obstante hay que tener en cuenta que el ácido ascórbico genera peróxido de hidrógeno y que su uso sin la adición de SO₂ puede generar una mayor oxidación tras un cierto tiempo de conservación [20]. En cambio, la levadura seca inactivada Pure-Lees™ Longevity consumió el oxígeno a la dosis de 40 g/hl a una velocidad de 0,29 mg de oxígeno/día. Este valor es muy similar al de una dosis de 20 mg/l de dióxido de azufre (0,24 mg de oxígeno/día) por lo que su efectividad puede ser considerada como muy semejante a la del SO₂ a las dosis habituales de uso.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la levadura seca inactivada Pure-Lees™ Longevity consume oxígeno en un medio modelo a una velocidad similar a la del dióxido de azufre y que por tanto puede ser una herramienta muy interesante para tratar de disminuir la dosis de SO₂ sin desproteger al vino de la oxidación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por CDTI (Programa CIEN) "Nuevas estrategias vitivinícolas para la sostenibilidad y el incremento de la competitividad del sector en

el mercado internacional (VINySOST 2014).

BIBLIOGRAFÍA

- Zamora F. (2002) La crianza del vino tinto sobre lías; Una nueva tendencia. *Enólogos*, 19, 24-29.
- González, E., Urtasun, A., Gil, M., Kontoudakis, K., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J.M., Zamora, F. (2013) Effect of yeast strain and supplementation with inactive yeast during alcoholic fermentation on wine polysaccharides. *Am. J. Enol. Vitic.*, 64, 268-273.
- González-Royo, E., Esteruelas, M., Kontoudakis, N., Fort, F., Canals, J.M., Zamora, F. (2017) The effect of supplementation with three commercial inactive dry yeasts on the color, phenolic compounds, polysaccharides and astringency of a model wine solution and red wine. *J. Sci. Food Agric.*, 97, 172-181.
- Fornairon-Bonnefond, C., Camarasa, C., Moutounet, M., Salmón, J.M. (2002) New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: A bibliographical review. *J. Int. Vigne Vin* 36, 49-69.
- Del Barrio-Galán, R., Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., Williams, P., Doco, T. (2011) Effect of aging on lees and of three different dry yeast derivative products on verdejo white wine composition and sensorial characteristics. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 12433-12442.
- Quijada-Morín, N., Williams, P., Rivas-Gonzalo, J.C., Doco, T., Escribano-Bailón, M.T. (2014) Polyphenolic, polysaccharide and oligosaccharide composition of tempranillo red wines and their relationship with the perceived astringency. *Food Chem.*, 154, 44-5.
- Esteruelas, M., González-Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canals, J.M., Zamora, F. (2015)

Pere Pons, José M. Heras, Nathalie Sieczkowski, Joan Miquel Canals, Fernando Zamora

Influence of Grape Maturity on the Foaming Properties of Base Wines and Sparkling Wines (Cava). *J. Sci. Food Agric.*, 95, 2071-2080.

8. González-Royo, E., Pascual, O., Kontoudakis, N., Estrelas, M., Esteve-Zarzoso, B., Mas, A., Canals, J.M., Zamora, F. (2015) Oenological consequences of sequential inoculation with non-Saccharomyces yeasts (*Torulaporadelbrueckii* or *Metschnikowiapulcherrima*) and *Saccharomyces cerevisiae* in base wine for sparkling wine production. *Eur. Food Res. Technol.*, 240, 999-1012.

9. Lubbers, S., Leger, B., Charpentier, C., Feuillat, M. (1993) Effect des colloïdes-protecteurs d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'un vin modèle. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 27,13-22.

10. Waters, E.J., Pellerin, P. Brillouet, J.M. (1994) A saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydr. Polym.*, 23,185-191.

11. Fornairon, C., Mazauric, J.P., Salmon, J.M., Moutounet, M. (1999) Observations sur la consommation de l'oxygène pendant l'élevage des vins sur lies. *J. Int. Vigne Vin*, 33, 79-86.

12. Salmon, J.M., Mazauric, J.P., Fornairon, C. Y Moutounet, M. (2001) L'enjeu œnologique de l'élevage sur lie des vins rouges. I – Les lies de levure et la consommation d'oxygène. En "Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques. *Burdeos*, pp 39-42.

13. Salmon, J.M., Fornairon-Bonnefond, C., Mazauric, J.P., Moutounet, M. (2000) Oxygen consumption by wine lees: impact on lees integrity during wine ageing. *Food Chem.*, 71, 519-528.

14. Pérez-Serradilla, J.A., Luquede Castro, M.D. (2008) Role of

lees in wine production: A review. *Food Chem.*, 111, 447-456.

15. Oelofse, A., Pretorius, I.S., du Toit, M. (2008) Significance of *Brettanomyces* and *Dekkera* during Winemaking: A Synoptic Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 29, 128-144.

16. Pozo-Bayón, M.A., Andujar-Ortiz, I., Alcaide-Hidalgo, J.M., Martín-Álvarez, P.J., Moreno-Arribas, M.V. (2009) Characterization of commercial inactive dry yeast preparations for enological use based on their ability to release soluble compounds and their behavior toward aroma compounds in model wines. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 10784-10792.

17. Andujar-Ortiz, I., Chaya, C., Martín-Álvarez, P.J., Moreno-Arribas, M.V., Pozo-Bayón, M.A. (2014) Impact of using new commercial glutathione enriched inactive dry yeast enological preparations on the aroma and sensory properties of wines. *Int. J. Food Prop.*, 17, 987-1001.

18. Pons, P., Heras, J.M., Sieczkowski, N., Canals, J.M., Zamora, F. (2018) Determinación de la tasa de consumo de oxígeno por parte de una levadura seca inactivada (LSI); Comparación con el ácido ascórbico y con el dióxido de azufre. Comunicación al XIV Congreso Nacional de Investigación Enológica. *GIENOL 2018*.

19. Pascual, O., Vignault, A., Gombau, J., Navarro, M., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Canals, J.M., Hermosín-Gutiérrez, I., Teissedre, P.L., Zamora, F. (2017) Oxygen consumption rates by different oenological tannins in a model wine solution. *Food Chem.*, 234, 26-32.

20. Peng, Z., Duncan, B., Pocock, K.F., Sefton, M.A. (1998) The effect of ascorbic acid on oxidative browning of white wines and model wines. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 4, 127-135.