



**Los compuestos azufrados volátiles del vino**

Los compuestos azufrados volátiles constituyen una de las fracciones olfativas del vino más evidentes tanto para el enólogo como para el consumidor.

Desde el punto de vista químico son compuestos de naturaleza muy distinta que se clasifican según su punto de ebullición en compuestos ligeros y pesados (según temperatura de ebullición mayor o menor a 90°C, respectivamente). Como denominador común presentan un umbral de percepción bajo que disminuye según aumenta su peso molecular. Dentro de ellos se encuentran tióles, sulfuros y tioesteres (Tabla 1).

Desde el punto de vista enológico se diferencian los de contribución sensorial positiva que forma parte de la identidad varietal del vino y los de naturaleza sensorial negativa donde se encuentran los temidos caracteres de reducción que constituyen el problema más habitual tanto en vinificación como en vino embotellado y que ocultan las características frutales y varietales de los vinos.

Compuestos azufrados volátiles y riesgos de reducción en vinos

Eva Navascués López-Cordón

Doctora en Ciencias Biológicas.  
enavascues@agrovin.com

**Contribución positiva: compuestos azufrados varietales**

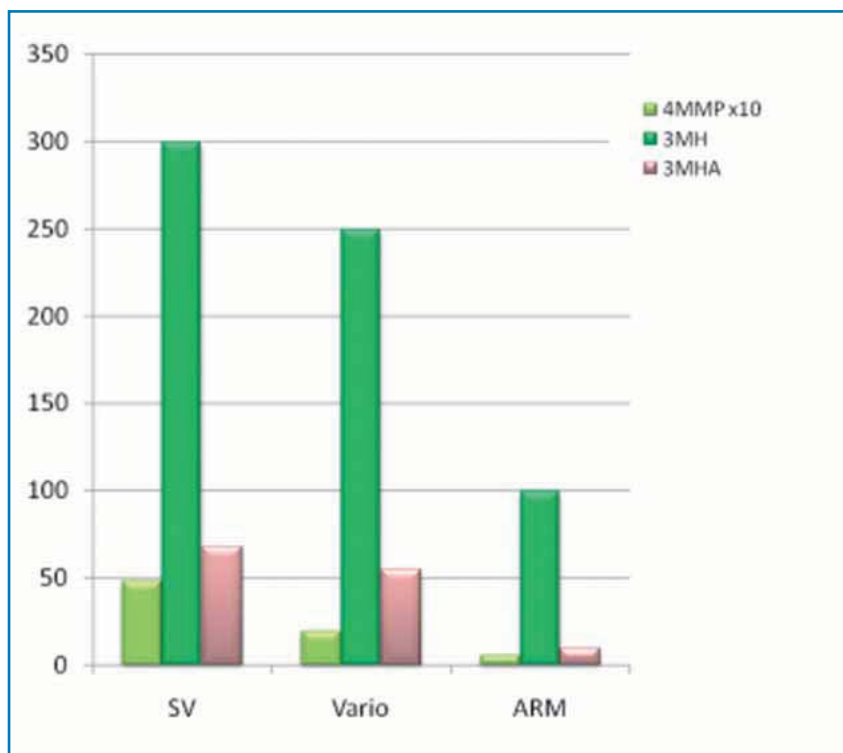
Los compuestos tiólicos, derivados de la cisteína (4-metil 4-mercaptopentan-2-ona, 3-mercaptohexanol y acetato de mercaptohexanol) son determinantes y característicos de algunas variedades blancas (Sauvignon Blanc, Verdejo) aportando aromas característicos a boj, pomelo, fruta de la pasión y notas cítricas. Recientemente se ha descubierto que también forman parte importante del aroma varietal de vinos rosados y tintos, aportando notas de casis. Las variables vitícolas que influyen en su concentración en vinos es la añada, la parcela y la maduración.

Estos compuestos se encuentran en la uva en forma de precursores y son liberados durante la fermentación al-

cohólica mediante la actividad β-liasa que presentan las levaduras. Existen variaciones importantes en su liberación dependiendo de la cepa (Figura 1), de tal forma que es posible seleccionar y emplear aquellas con elevada expresión de esta actividad para obtener la máxima expresión del potencial aromático varietal. La formación de 3 mercaptohexanol (3MH) se produce desde el inicio de la fermentación, pero en algunas cepas se produce una degradación importante al final de la fermentación alcohólica, lo que marca diferencias notables entre unas y otras cepas. Así en la Figura 2, se observa la diferente cinética de liberación de tióles volátiles en fermentación en dos cepas: la cepa SV, altamente liberadora de precursores y la cepa ARM que degrada al final de FA.

Tabla 1.- Clasificación de los principales compuestos azufrados volátiles en función de su origen y peso molecular (ligeros/pesados).

	Origen	Valores medios en vino	Umbral de percepción	Olor	
Disulfuro de carbono	fermentativo	2-2,5	30 µg/L	-	↑ Compuestos azufrados volátiles ligeros
Sulfuro de hidrógeno (H2S)	fermentativo	0,3-17 µg/L	1 µg/L	Huevo podrido	
metanotiol	fermentativo	0-5 µg/L	0,3 µg/L	Huevo podrido col hervida.	
Etanotiol (etil mercaptano)	fermentativo	0-10 µg/L	0,1 µg/L	Huevo podrido, cebolla, gas	
dimetildisulfuro	fermentativo oxidacion	0-2,5 µg/L	2 µg/L	Cebolla	
dimetilsulfuro	varietal	0-500 µg/L	25 µg/L	Trufa, oliva, esparrago frambuesa, escabeche	
2-metiltiopropanol (metionol)	fermentativo	150-2400 µg/L	1500 µg/L	Cebolla	↑ Compuestos azufrados volátiles pesados
2-mercaptoetanol	fermentativo	70-125 µg/L	130 µg/L	Cuadra	
acetato de metiltiopropanol	fermentativo	1-15 µg/L	1200 µg/L	Fruta	
3-metil tiopropanoato de etilo	fermentativo	1-6 µg/L	-	Piña	
4-metil-4-mercaptopentan-2-ona	varietal	0-50 ng/L	0,8 ng/L	boj	
3-mercaptohexanol	varietal	10-5000 ng/L	60 ng/L	pomelo	
acetato de mercaptohexanol	varietal	0-400 ng/L	4 ng/L	citricos	
Furfuriltiol	Fermentativo /barrica	0-50 ng/L	0,4 ng/l	Madera ahumada	
Bencenometanotiol		????	30-400 ng/L	0,3 ng/L Ahumado	



**Figura 1.-** Presencia de 4MMP, 3MH y MHA en función de la cepa de levadura. Ensayos sobre Verdejo, 2008. 4MMP: 4-mercaptometilpenta nona (boj, retama) Umbral de percepción: 0,8ng/L, 3MH: 3-mercapto hexanol (pomelo, fruta de la pasión) Umbral de percepción :60 ng/L, 3MHA: acetato de 3 mercapto etanol (cítricos). Umbral de percepción: 4ng/l.

La adición de amonio en exceso al inicio de la fermentación limita la entrada del precursor al interior de la levadura y por consiguiente la producción de 3MH. Para conseguir la máxima expresión varietal conviene evitar la adición de sales de amonio al inicio de la fermentación y corregir las carencias nitrogenadas con nitrógeno de tipo orgánico (aminoácidos).

A lo largo de la crianza y conservación, se produce la oxidación de los tióles en disulfuros, más o menos rápida dependiendo del potencial redox del vino. Algunas prácticas de bodega ayudan al mantenimiento de los tióles volátiles, la crianza sobre lías y la adición de glutatión que, aunque no está aún autorizado, está en comisión de estudio por la OIV. Actualmente es posible la incorporación de glutatión mediante el empleo de levaduras inactivas enriquecidas en este tripéptido.

El furfuriltiol está presente en vinos con crianza o fermentación en madera, con un umbral de percepción muy bajo (0,4 ng/L), que proporciona aromas ahumados, café y ciertos tostados. Su origen es fermenta-

tivo a partir de furfural de la madera y  $\text{SH}_2$ . Su presencia en vinos está influida por el origen, tostado y la edad de la madera.

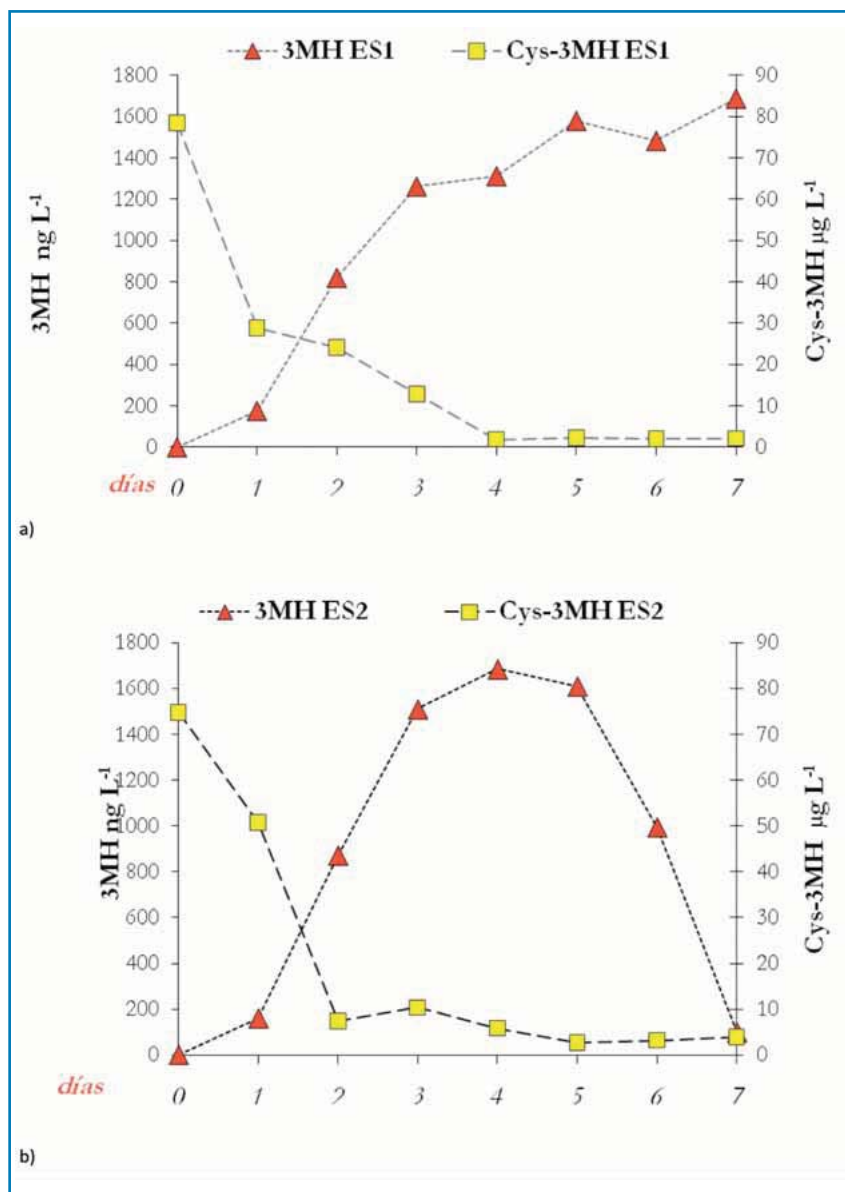
### Contribución negativa: compuestos reductores: caracteres de reducción en vino.

Los temidos caracteres de reducción constituyen el problema más habitual tanto en elaboración, como en vino embotellado por ocultar las características frutales y varietales de vinos blancos y tintos. Su incidencia es habitual en regiones cálidas y años secos.

Los compuestos que caracterizan los olores "a reducción" en vinos son todos derivados del sulfhídrico ( $\text{SH}_2$ ) (sulfuros, mercaptanos, tioles y ésteres tiólicos). Todos aportan sensaciones olfativas desagradables. La descripción más característica de estos compuestos es el huevo podrido, pero también se describen como verdura cocida, col, escabeche o conserva, aceituna, almazara, neumático, frenazo. Afectan a la percepción sensorial en boca, disminuyendo las sensaciones en boca y aumentando astringencia. Su umbral de percepción es muy bajo (50-80ug/L).

La presencia de  $\text{SH}_2$  en el vino se debe a su producción por levaduras fermentativas (*Saccharomyces cerevisiae*) y está directamente relacionado

**A lo largo de la crianza y conservación, se produce la oxidación de los tióles en disulfuros, más o menos rápida dependiendo del potencial redox del vino. Algunas prácticas de bodega ayudan al mantenimiento de los tióles volátiles, la crianza sobre lías y la adición de glutatión**



**Figura 2.-** Cinética de formación de tioles volátiles en fermentación alcohólica. Liberación de 3MH a partir de su precursor conjugado con cisteína Cys-3MH. Ensayos sobre Verdejo, 2008. a) Ensayo 1(ES1) cepa Viniferm SV, b) Ensayo 2 (ES2) cepa Viniferm ARM.

con la carencia de nitrógeno asimilable. La mayor o menor concentración de este compuesto depende de la cepa, (puede variar entre 10-300 µg/L), la disponibilidad de compuestos azufrados, las condiciones de fermentación y, sobre todo, la concentración de nitrógeno y determinados aminoácidos. La producción de SH<sub>2</sub> tiene lugar durante la síntesis de los aminoácidos

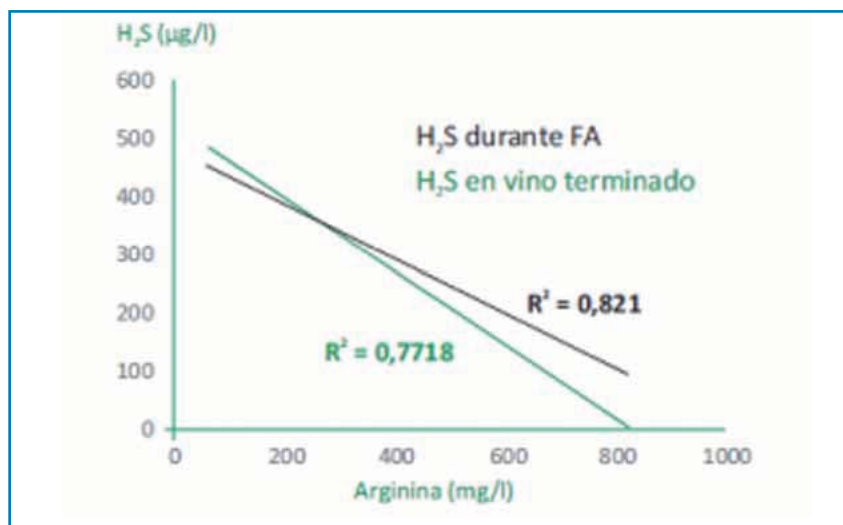
cisteína y metionina en fermentación alcohólica, mediante el metabolismo de reducción del sulfato (SRS, Figura 3) donde el SH<sub>2</sub> actúa como intermediario. En situación de carencia de nitrógeno, esta molécula no puede combinarse y se acumula en el interior de la célula, incorporándose posteriormente a la matriz del vino.

La producción de SH<sub>2</sub> por levaduras puede tener lugar durante la fase exponencial y en la fase final de la fermentación alcohólica, cada una con sus peculiaridades:

1. Fase exponencial de fermentación alcohólica, ligada al metabolismo del nitrógeno. La célula necesita dos aminoácidos azufrados (cisteína y metionina), esenciales para la formación de proteínas y péptidos. Durante las primeras etapas de la fermentación, la célula toma sulfitos y sulfatos procedentes del mosto para formar estos aminoácidos. Si no hay disponibilidad de nitrógeno, los aminoácidos no pueden sintetizarse y los iones sulfuro pasan al exterior en su forma reducida SH<sub>2</sub>. Por ello, la producción de SH<sub>2</sub> en esta fase está estrechamente relacionada con el contenido de nitrógeno asimilable. Para evitar la formación de H<sub>2</sub>S se han de vigilar los niveles de NFA del mosto.
2. Durante el fin de la fermentación, el SH<sub>2</sub> formado no se elimina tan fácilmente con el carbónico, por lo que queda mayor concentración remanente en el vino y su percepción es más evidente. Pero además, la cantidad de SH<sub>2</sub> formado en esta fase no está relacionada con la disponibilidad total de nitrógeno, sino con la carencia de determinados aminoácidos (metionina, lisina, arginina y fenilalanina). Para evitar la formación de H<sub>2</sub>S en esa fase se ha de equilibrar el contenido en aminoácidos del mosto, muy especialmente de arginina, al inicio de la FA.

En el vino terminado o durante la crianza sobre lías pueden apreciarse de olores de reducción como consecuencia de la liberación de los compuestos azufrados presentes en las lías o de la ruptura de compuestos azufrados no volátiles presentes en el vino, pero siempre su origen está en la producción de SH<sub>2</sub> por le-





**Figura 5.-** Relación entre producción de SH<sub>2</sub> por levaduras y presencia del aminoácido arginina en fermentación alcohólica. Seung, Boulton, Noble 2000.

ción variable y sufren una gran variación entre antes y después de la fermentación alcohólica (Figura 4). El más abundante en mostos es la arginina (la prolina no es asimilable). Transcurrido el primer tercio de fermentación alcohólica, la incorporación de aminoácidos se ralentiza, y de entre ellos, solo la arginina se sigue consumiendo hasta el final. El papel desempeñado por la arginina es fundamental, no solo por ser el aminoácido mayoritario, sino por contener cuatro unidades de nitrógenos en su molécula, de las cuales se incorporan al ciclo del nitrógeno al menos dos. La arginina constituye por tanto el nitrógeno de resistencia de las levaduras durante la fermentación alcohólica, pues es el único que disponen al final de ésta. Así la presencia del aminoácido arginina tiene una incidencia directa en la limitación de la producción de SH<sub>2</sub> por levaduras (Figura 5), especialmente como se ha visto antes, al final de la fermentación alcohólica.

Un mayor consumo de amonio en el inicio acelera la multiplicación celular, mientras que el consumo de aminoácidos aunque proporciona poblaciones menos numerosas, da lugar a células más resistentes a las con-

diciones adversas del final de la fermentación. Si se corrige de forma externa el nitrógeno con amonio (fosfato o sulfato de amonio) se retarda la ingesta de aminoácidos y se consiguen poblaciones más numerosas pero menos resistentes. Por ello es preferible esperar a un tercio de la fermentación alcohólica para la incorporación de sales de amonio. Los aminoácidos debido a que son utilizados en función de las carencias, pueden aplicarse desde un principio. En Enología, la incorporación de aminoácidos complementaria se realiza en forma de levaduras inactivas.

A modo de conclusión, para evaluar y corregir la calidad nutricional del mosto con objeto de reducir o eliminar problemas de reducción se debe considerar no solo la cantidad de nitrógeno asimilable (NFA), sino la calidad de ese nitrógeno: la proporción de nitrógeno orgánico, es decir de aminoácidos y dentro de estos la cantidad de arginina.

Por último y también como tratamiento preventivo, es posible el empleo de levaduras no productoras de SH<sub>2</sub>. Estas cepas presentan inactivado el gen que codifica a la enzima sulfito reductasa, de tal forma que resulta incapaz de reducir el sulfato a azufre

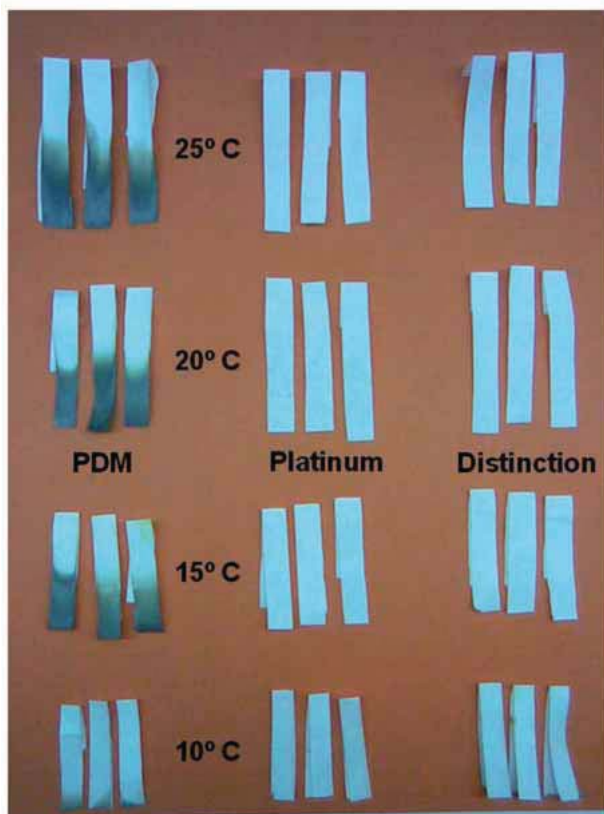
elemental (ver Figura 3) y, por tanto, incluso en condiciones de carencia de nitrógeno, no se forma sulfhídrico. El proceso de selección de estas cepas ha sido complejo, a partir de una selección en laboratorio sobre medios selectivos (Biggy Agar), que luego deben comprobarse en microfermentación y a nivel industrial. Esta actividad es estable independientemente de la temperatura (Figura 6 a y b).

## Bibliografía

- 1.-Cordente A.G., Heinrich, A. Pretorius I.S. Swigers J.H. (2009) Isolation of sulfite reductase variants of a commercial wine yeast with significantly reduced hydrogen sulfide production. FEMS Yeast Research. 1-14.
- 2.-Giudici, P. and R. E. Kunkee. 1994. The effect of nitrogen deficiency and sulfur-containing amino acids on the reduction of sulfate to hydrogen sulfide by wine yeasts. Am. J. Enol. Vitic. 45: 107-112.
- 3.-Henschke PA, Jiranek V (1991) Hydrogen sulfide formation during fermentation: effect of nitrogen composition in model grape must. Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine, Seattle, USA. American Society for Enology and Viticulture, Davis, CA, pp 172-184.
- 4.-Jiranek, V., P. Langridge, and P. Henschke. 1995. Regulation of hydrogen sulfide liberation in wine-producing *Saccharomyces cerevisiae* strains by assimilable nitrogen. Appl. Environ. Microbiol. 61: 461-467.
- 5.-Linderhom, A.L., Findleton, Gagandeep, K, Hong, Y, Bisson L. Identification of genes affecting hydrogen sulfide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. (2008) Applied and Environmental Microbiology, 74, 5, 1-10.
- 6.-Mendes-Ferreira, A., A. Mendes-Faia, and C. Leão. 2002. Survey of hydrogen sulphide production by wine yeasts. J. Food Protec. 65: 1033-1037.



a)



b)

**Figura 6.-** Micro fermentaciones con levaduras sin actividad sulfitoreductasa (tira de papel sin colorear), en relación a la cepa control que si posee esta actividad (tira de papel oscura). a) Aspecto visual del experimento, b) actividad a diferentes temperaturas de fermentación. PDM: Control; Distinction, Platinum: levaduras sin actividad sulfito reductasa.

7.-Monk, P.R. Formation, utilization and excretion of hydrogen sulfide by wine yeast. (1986) Wine Industry Journal, November 10-16.

8.-Moreno-Arribas, V.; Pueyo, E.; Polo, M.C.; Martín-Álvarez, P.J. 1998. Changes in the amino acid composition of the different nitrogenous fractions during the aging of wine with yeast. J. Agric. Food Chem. 46:4042-4051.

9.-Park, S. K., R. B. Boulton, and A. C. Noble. 2000. Formation of hydrogen sulfide and glutathione during fermentation of white grape musts. Am. J. Enol. Vitic. 51: 91-97.

10.-Seung K. P., Boulton, R-B., Noble A. C. Formation of Hydrogen Sulfide and Glutathione During Fermentation of White Grape Musts Am. J. Enol. Vitic. 51:2:91-97 (2000).

11.-Schenieder, R., Charrier, F., Razungles, A., Baumes, R. (2006) Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. Analytica Chimica Acta 563, 58-64.

12.-Schutz, M. and R. E. Kunkee. 1977. Formation of hydrogen sulfide from elemental sulfur during fermentation by wine yeast. Am. J. Enol. Vitic. 28: 137-144.

13.-Swiegers, J.H., Bartowsky, E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S. (2005) Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor. Australian Journal of Grape and Wine Research 11, 139-173, 2005.

14.-Swigers, J.H., Pretorius I.S. Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeasts. Appl. Microbiol. Biotechnol. 74:954-960.

15.-Thomas, C. S., R. Boulton, M. W. Silacci, and R. Miller. 1993. Changes in elemental sulfur residues on Pinot noir and Cabernet Sauvignon grape berries during the growing season. Am. J. Enol. Vitic. 44: 205-210.

16.-Thomas, C. S., R. Boulton, M. W. Silacci, and W. D. Gubler. 1993. The effect of elemental sulfur, yeast strain, and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. Am. J. Enol. Vitic. 44: 211-216.