

ESTABILIDAD FÍSICO-QUÍMICA DEL VINO

Introducción

La principal inestabilidad física de los vinos embotellados sigue siendo la precipitación de las sales tartáricas: bitartrato de potasio (KHT) y tartrato de calcio (CaT). Es recomendado evitar esta precipitación en los vinos embotellados ya que los consumidores no lo aceptan, siendo esto señal de un mal control de calidad. La precipitación de estas sales se debe a una o varias razones, tales como la estabilización incompleta en la bodega, el uso de una muestra no representativa para el ensayo de estabilidad, la separación de sustancias coloidales en la filtración final, que hayan impedido previamente la precipitación, y los cambios químicos naturales, especialmente la polimerización de pigmentos fenólicos. La inestabilidad inicial es causada por niveles de sobresaturación en mostos, que se ve incrementada por la disminución de la solubilidad debida a la formación de etanol y a las bajas temperaturas usadas en la conservación del vino (Boulton et al., 2002).

Otras inestabilidades físicas comunes, pero esporádicas, incluyen la precipitación de coloides, tales como proteínas, péptido-tanino y turbidez debida a polisacáridos. El color rosado de algunos vinos blancos, el pardeamiento rápido de algunos blancos y rosados y la oxidación de todos los vinos son ejemplos de cambios químicos (Boulton et al., 2002).

Estabilidad al tartrato

Respecto a la precipitación de sales tartáricas, los vinos todavía son tratados de manera que hay precipitación incompleta aun después de haberlos mantenido a temperaturas bajas durante cinco días o más. El principal problema con cristalizaciones no provocadas es que los niveles bajos de sobresaturación logran escasa o ninguna nucleación espontánea, dando lugar a un crecimiento lento y limitado de los cristales. Si hay pocos núcleos, el área de cristal utilizable para crecimiento será también pequeña y la velocidad reducida de acuerdo con ello. Algunos vinos tienen cantidades de coloides naturales, como polisacáridos, complejos péptico-tánico, y proteínas, que se depositan sobre los nuevos núcleos o los cristales en crecimiento, dando lugar al cese del crecimiento del cristal y en consecuencia a la precipitación, aun cuando exista en el vino algún nivel de sobresaturación (Boulton et al., 2002).

Se han propuesto un gran número de tratamientos alternativos para aumentar la superficie del cristal y causar una interacción mayor entre el fluido y el sólido. La mayor parte comprende agitación y siembra de cristales, algunos cuentan con la formación de hielo (que ayude a la nucleación natural) (Boulton et al., 2002), (Iland et al., 1993).

Pruebas de previsión de la estabilidad del bitartrato de potasio

Hay tres criterios usados habitualmente para la verificación de la estabilidad del bitartrato de potasio en vinos (Boulton et al., 2002):

1. los valores de CP recomendados por DeSoto y Yamada (1963), Berg y Akiyoshi (1971) o semejantes (Boulton et al., 2002)

2. el ensayo de congelación o mantenimiento en frío, en el que la muestra se enfría alrededor o por debajo de su punto de congelación, en que se mantiene durante un tiempo y después de descongelar se comprueba visualmente la presencia de cristales (Boulton et al., 2002), (Iland et al., 1993), (Ribéreau-Gayon et al., 2002)
3. el ensayo de conductividad, que comprueba el cambio en la conductividad de una muestra sembrada con cristales a una temperatura determinada para indicar inestabilidad y determinar la composición final que da las condiciones de saturación (Boulton et al., 2002), (Iland et al., 1993), (Ribéreau-Gayon et al., 2002)

Ensayos con frío (prueba efectuada en la Escuela de Vitivinicultura)

Dichos ensayos se refieren a la formación de cristales luego de mantener el vino a una temperatura muy baja durante cierto período de tiempo. El ensayo con frío es menos severo que el ensayo de congelación, pero entonces son necesarios varios días para lograr la formación de cristales (Boulton et al., 2002).

Esta prueba tradicional es algo empírica; la muestra (100 a 200mL aproximadamente) es un vino a tratar o que acaba de ser tratado mediante frío artificial. La muestra se filtra mediante membrana de 0,45 μ m y se almacena en frío a -4°C durante 4 días. Después de ese tiempo se observa la presencia eventual de cristales.

Para los vinos destinados a la formación de espuma, es conveniente el agregado de alcohol a fin de aumentar la graduación alcohólica de 1,3 a 1,5% vol.; de esta manera se simulan las consecuencias de la formación de espuma y se aprecia la estabilidad tartárica de la muestra al estado de vino terminado (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

Críticas

La prueba tiene la ventaja de ser sencilla y cómoda. Tiene en cambio el inconveniente de ser esencialmente cualitativa. No dice exactamente si el vino es poco o muy inestable; pero tiene sobre todo el inconveniente de ser prolongada e incompatible con las tecnologías de estabilización corta de contacto, que exigen una respuesta rápida para apreciar la eficacia del tratamiento en curso (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

Finalmente, esta prueba es poco confiable, poco repetible, pues recurre al fenómeno de cristalización espontánea, es decir no inducida, fenómeno lento y aleatorio (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

Existen algunas variantes propuestas para el ensayo de frío (Boulton et al., 2002), (Ribéreau-Gayon et al., 2002) pero también están sujetas a críticas; ensayos que toman en cuenta la conductividad (Boulton et al., 2002), (Ribéreau-Gayon et al., 2002),

Estabilidad proteica

La prevención de la formación de precipitados proteicos en vinos blancos es de mucha importancia para los elaboradores. A menos que sean separadas, estas proteínas se desnaturalizan con facilidad para formar un precipitado blanco en el vino envasado.. En vinos tintos estas proteínas reaccionan con taninos precipitando durante la fermentación

y por lo tanto no ocasionan problema en el producto terminado. Sin embargo, vinos rosados y tintos livianos secos deberían ser sometidos a pruebas de estabilidad proteica ya que podrían no presentar suficientes taninos para precipitar todas las proteínas inestables. (Iland et al., 1993)

Aunque los primeros estudios estuvieron dedicados al contenido total de proteínas y a la desnaturalización por el calor, hoy la inestabilidad más frecuente de proteínas ocurre a veces después del embotellado y del almacenamiento y aparece principalmente debida a la solubilidad de algunas fracciones, más que a la desnaturalización térmica (Boulton et al., 2002).

Las proteínas llegan a ser cationes a pH bajo y aniones a pH alto, debido a la ionización de sus componentes (grupos carboxilo y amino). El valor de pH al cual no llevan ninguna carga se denomina punto isoeléctrico (pI) y es esencialmente el mismo que el punto isoiónico de la mayoría de las proteínas. La importancia del pI es que constituye también el valor de pH al cual su solubilidad es mínima. Muchas proteínas experimentan un aumento notable de solubilidad al cambiar el pH en 0,2 unidades en soluciones salinas de poca fuerza. El cometido de la fuerza salina hasta 20mM/L es favorecer la solubilidad de distintas proteínas en solución acuosa. Ya que muchos vinos tienen fuerzas salinas en el intervalo de 40 a 60mM/L es de esperar que las proteínas del vino se hagan más solubles debido a este efecto. La presencia de etanol ejerce una influencia contraria, pero la extensión en el cual se reduce el efecto en el vino tiene todavía que ser estudiado (Boulton et al., 2002).

Se sabe relativamente poco sobre los factores que influyen en la velocidad de nucleación y agregación de la forma insoluble. Por analogía con la solubilidad de sales orgánicas, las proteínas parecen capaces de permanecer en estado sobresaturado durante mucho tiempo antes de que precipiten. Esto produce algunas dificultades en el desarrollo de ensayos de estabilidad que resulten adecuados (Boulton et al., 2002).

Las proteínas del vino tienen puntos isoeléctricos comprendidos entre 2,5 y 8,7 (Yokotsuka et al., 1977), (Anelli, 1977) y pesos moleculares entre 20000 y 40000Da. Parecen ser subunidades de proteínas celulares de las uvas, rotas por el cambio de pH cuando se estrujan las uvas. Polipéptidos (<10000Da) procedentes de la autólisis de las levaduras son térmicamente estables en el vino (Bayly and Berg, 1967).

Parece ser que las proteínas responsables de la inestabilidad de los vinos blancos provienen exclusivamente de la uva y presentan masas moleculares relativamente pequeñas comprendidas entre 12000 y 35000Da (Boulton et al., 2002), (Ribéreau-Gayon et al., 2002). Sin embargo, la naturaleza de esas proteínas, su grado de glicosilación y su termosensibilidad varían según el cepaje (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

Pruebas de previsión de la estabilidad proteica del vino

Los ensayos de estabilidad se pueden clasificar en cuatro grupos principales (Boulton et al., 2002):

1. ensayos de proteínas totales (como el Biuret, azul de Coomassie y reactivo de proteínas Pierce)

2. tratamientos para la desnaturalización química (como el ácido tricloroacético TCA, o el fosfomolibdico)
3. ensayos de desnaturalización por calor (en condiciones que oscilan entre 90°C durante una hora y 50°C durante 24 horas)
4. ensayos de solubilidad (con participación del etanol)

Ensayos como el 1 y 2 son eficaces y simples de proteínas brutas y de nuevo muestran poca relación con la solubilidad o estabilidad de las fracciones inestables no siendo entonces recomendables (Boulton et al., 2002).

Ensayos con frío (prueba efectuada en la Escuela de Vitivinicultura)

Estos ensayos dan las condiciones para la desnaturalización térmica de proteínas y su uso se limita a la precipitación de fracciones de proteínas debida a la solubilidad (Boulton et al., 2002).

La muestra (50mL es suficiente) se filtra mediante membrana de 0,45µm y se determina la turbidez inicial con turbidímetro (NTU_i). Se calienta a baño maría a 80°C durante 30 minutos. Luego se enfría la muestra tratada con agua y se determina la turbidez final (NTU_f). Se considera que los vinos son estables si el enturbiamiento adicional provocado en estas condiciones es inferior a 2NTU (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

$$NTU_f - NTU_i < 2$$

También se proponen variantes para este método (Boulton et al., 2002), (Ribéreau-Gayon et al., 2002), pero las condiciones operatorias así definidas son las mejor adaptadas para prevenir la quiebra proteica durante la conservación del vino (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

Críticas

Las propiedades de la desnaturalización térmica de una fracción proteínica no están relacionada con su pI y las fracciones indicadas en estos ensayos pueden ser muy solubles en el vino en condiciones normales (Boulton et al., 2002).

Identificación de turbios y depósitos en el vino

Posible compuesto	Examen visual/microscopio	Soluble en:	Otros comentarios
Bitartrato de potasio (KHT)	Cristalino	Agua caliente	Test para potasio por llama
Tartrato de calcio (CaT)	Cristalino	Agua caliente	Test para calcio por llama
Color/tanino	Amorfo	Etanol 50% vol.	----
Proteína	Amorfo	NaOH 1M	----
Hierro o cobre	Amorfo	HCl 25% vol.	Test para cobre o hierro
Microbiológico	Células	No aplicable	Confirmación con examen microscópico

Bibliografía:

- Anelli, G. 1977. The proteins of musts. *Am. J. Enol. Vitic.* 28: 200-203.
- Bayly, F. C.; Berg, H. W. 1967. Grape and wine proteins of white wines varietals. *Am. J. Enol. Vitic.* 18: 1832.
- Boulton, R. B.; Singleton, V. L.; Bisson, L. F.; Kunkee, R. E.; *Teoría y práctica de la elaboración del vino*; ACRIBIA S.A.: Zaragoza, España, 2002.
- Iland, P.; Ewart, A.; Sitters, J.; *Techniques for Chemical Analysis and Stability Tests of Grape Juice and Wine*: Adelaide, South Australia., 1993.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D.; *Química del vino. Estabilización y tratamiento de los vinos.*; Hemisferio Sur: Buenos Aires, Argentina, 2002; Vol. 2.
- Yokotsuka, K.; Yoshi, M.; Aihara, T. 1977. Isolation and characterization of proteins from juices, musts and wines from Japanese grapes. *J. Ferm. Technol.* 55: 510-515.