



Comprender y manejar los problemas de reducción en el vino

**VICENTE FERREIRA, Ernesto Franco-Luesma,
Eduardo Vela, Purificación Hernández-Orte**
laboratorio de Análisis del Aroma y Enología-LAAE
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Procesos de reducción

1. En el mundo del vino “reducción” parece estar ligado a cualquier aroma con azufre
2. La reducción es el proceso químico opuesto a la oxidación
 - Si una molécula se oxida, pierde electrones (Fe a Fe_2O_3)
 - Si una molécula se reduce, gana electrones (Fe_2O_3 a Fe en alto horno)
3. La oxidación es causada por el oxígeno ¿y la reducción?
 1. Para explicarlo necesitamos el concepto “potencial redox”
 2. El potencial redox del vino, en ausencia de oxígeno, mide la relación entre Fe^{2+} (reducido) y Fe^{3+} (oxidado)
 3. Fuera del contacto con aire, el potencial redox del vino espontáneamente baja (se hace más reductor, más Fe^{2+} y menos Fe^{3+})
4. Un aroma de reducción es, por definición, un aroma que se forma o libera cuando el vino se hace más reductor
5. Los aromas de reducción más importantes son el H_2S y el MeSH . El DMS no es un aroma de reducción



- H_2S : ácido sulfhídrico o sulfuro de hidrógeno

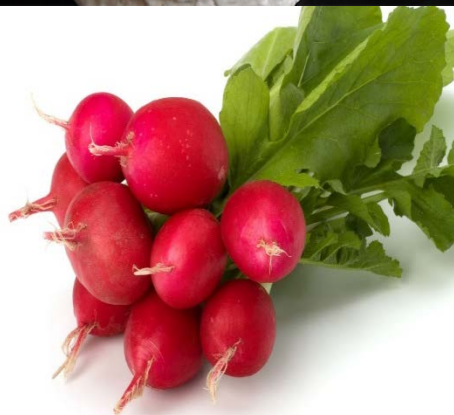


1. Muy volátil, de hecho es un gas (Punto ebullición $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$), valor umbral 1-2 ppb
2. En vino la única fuente de formación realmente documentada es la fermentación (síntesis/degradación de aminoácidos azufrados)
3. Se pierde en gran medida por arrastre con CO_2 y en remontados
4. Cuando el vino reposa sin contacto con el aire puede volver a aparecer, sobretodo en los vinos en los que este problema se sintió con más fuerza en la fermentación



MeSH: metanotiol o metilmercaptano

- Esta molécula se asocia con el olor a coliflor y/o ajo podridos



- En su formación sigue una pauta parecida al H_2S , reapareciendo en procesos de reducción. En pequeñas cantidades su presencia es normal, luego contribuye a olores vegetales y en concentraciones más altas da notas nauseabundas.

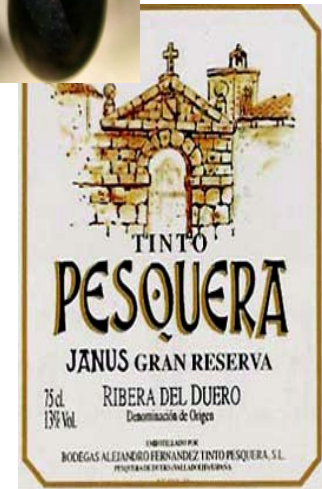


DMS: dimetilsulfuro

- Esta molécula es muy poco soluble en agua y en vino, de olor muy fuerte y característico, contribuyente esencial al aroma de muchos alimentos. Su valor umbral también es muy bajo, en torno a 1 ppb.

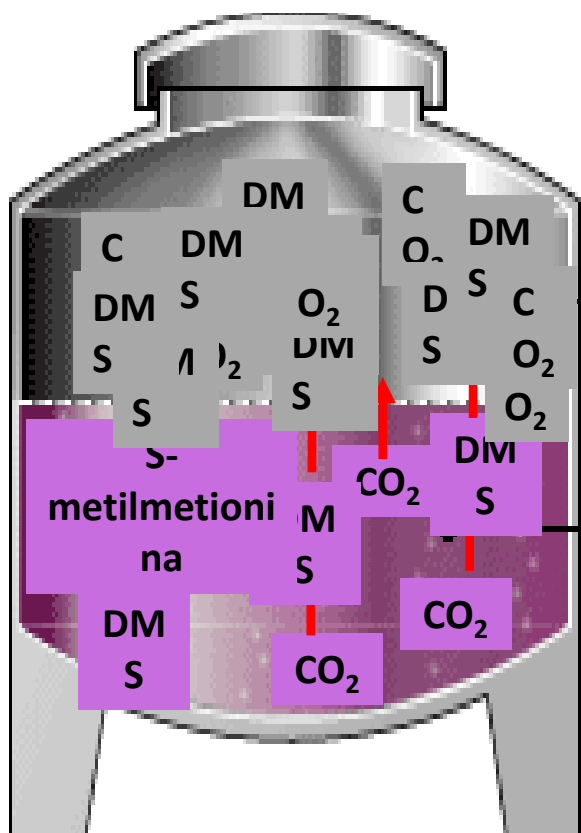


- Papel muy controvertido en el vino y en los alimentos. En las concentraciones y contextos adecuados esta molécula le da al vino una distinción única.



DMS: dimetilsulfuro

Se clasifica con H_2S y MeSH porque en la naturaleza aparecen junta en algunos olores y lugares y se analizan por el mismo método. Pero el DMS procede mayoritariamente de la uva. El precursor es la S-METILMETIONINA, conocida como VITAMINA U

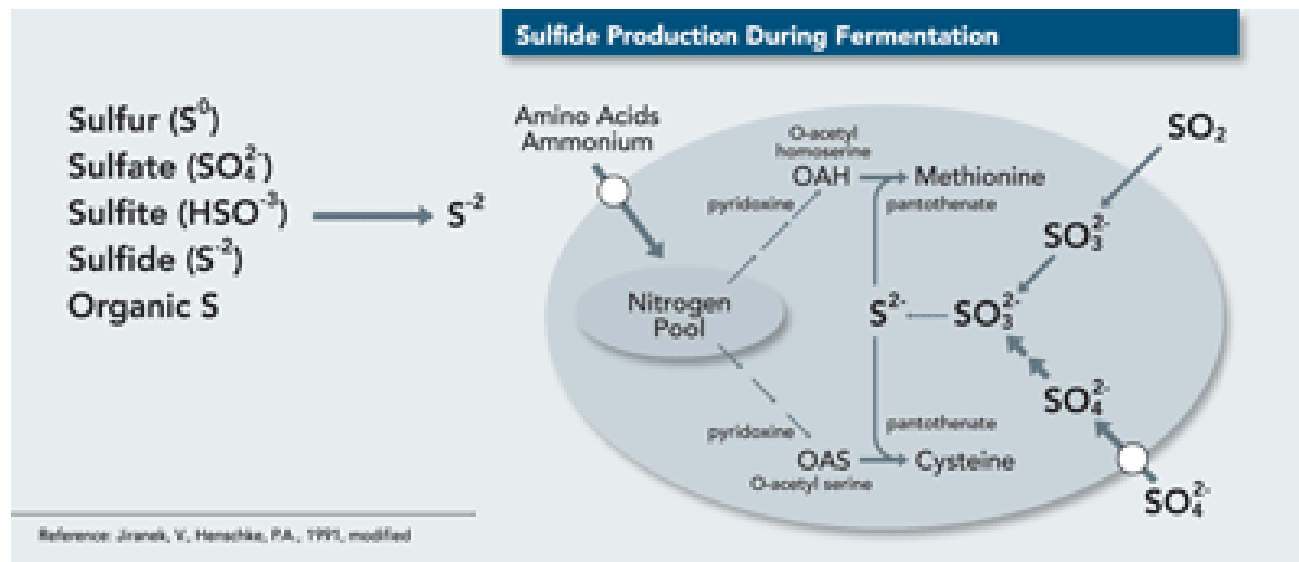


Se va formando a lo largo del envejecimiento, no por reducción, sino por **HIDRÓLISIS QUÍMICA** (como β -damascenona o linalol). Es mucho menos reactivo que SH_2 y MeSH

Una parte del DMS se forma del precursor durante la fermentación y se pierde por arrastre del CO_2 , pero otra parte del precursor permanece en el vino



Aromas de reducción “common knowledge”



Bruce Zoecklein

“Wine will always contain sulfide precursors because these are normal constituents of fermentation, **with an almost endless array of SLO (Sulfur Like Off-odors) in various states of oxidation and reduction.** As a function of redox potential, these may manifest themselves in various forms post-fermentation”

El vino contiene siempre precursores de azufrados porque son compuestos normales de la fermentación, **existiendo un inmenso abanico de malos olores azufrados en varios estados de oxidación y reducción.** En función del potencial redox se manifestarán de varias formas en post-fermentación



Aromas de reducción “common knowledge”

“La idea de que un vino con defectos azufrados puede ser siempre arreglado por oxidación es errónea. Surge de algunos cambios sensoriales obvios en ciertos casos. Si el H_2S está presente, se oxidará a azufre así:



Esto deja azufre elemental en el fondo del tanque que debe eliminarse o la reacción se revertirá”



B. Zoecklein



methanethiol
sensory threshold 0.2 ppb

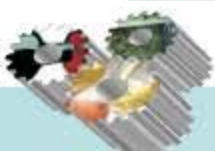
reduction

dimethyl disulfide
sensory threshold 12



Jeff McCord

“Si el Cobre se añade demasiado pronto tras una aireación, en lugar de unirse a los mercaptanos libres actuará como catalizador formando disulfuros. Si estos disulfuros se llegan a formar, los tioles reaparecerán más tarde en la vida de ese vino”



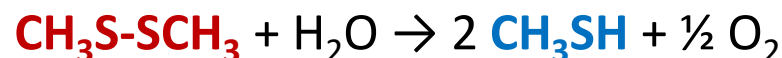
Aromas de reducción “common knowledge”

Esto es, se piensa que el problema de reducción está causado por precursores de nulo o bajo poder olfativo (azufre elemental y disulfuros) que se reducen químicamente a mercaptanos de alta potencia aromática



Sin olor

Huevos podridos
(umbral 0.5 ppb)



Cebolla, col
(umbral 15 ppb)

Col/ajo podridos
(umbral 0.2 ppb)

No decimos que no, pero lo cierto es...

1. Que rara vez observamos disulfuros en los vinos
2. Que nadie ha demostrado hasta la fecha que el azufre elemental permanezca y se reduzca en las condiciones del vino
3. Que el O_2 no reacciona con los mercaptanos directamente, sino a través de los fenoles
4. Que con ayuda de herramientas diferentes hemos descubierto otros hechos que podrían dar una explicación más sencilla



Aromas de reducción “common knowledge”

Esto es, se piensa que el problema de reducción está causado por precursores de nulo o bajo poder olfativo (azufre elemental y disulfuros) que se reducen químicamente a mercaptanos de alta potencia aromática



Sin olor



dos
ob)

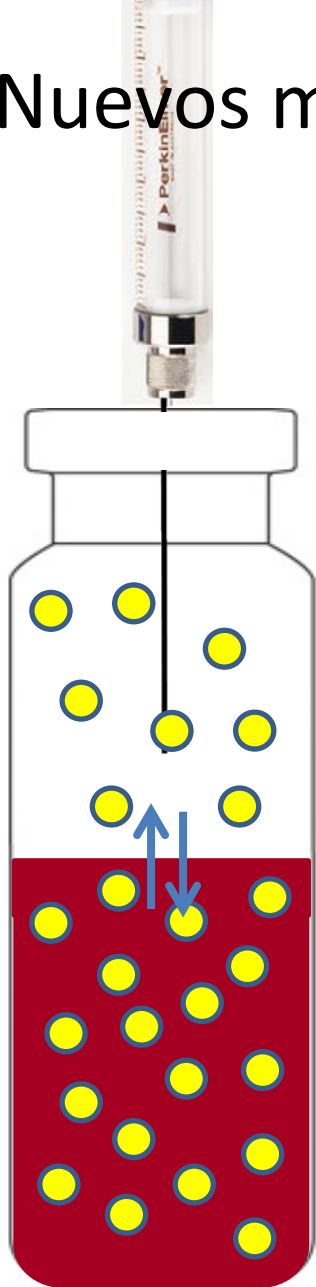
**¡Todo esto simplemente no es cierto!
¡por lo menos no es toda la verdad!**

No decimos

1. Que rara
2. Que nac
permanezca y se reduzca en las condiciones del vino
3. Que el O₂ no reacciona con los mercaptanos directamente, sino a través de los fenoles
4. Que con ayuda de herramientas diferentes hemos descubierto otros hechos que podrían dar una explicación más sencilla



Nuevos métodos para nuevos descubrimientos



El método clásico de análisis de VSCs por espacio de cabeza en equilibrio

Publicado en:

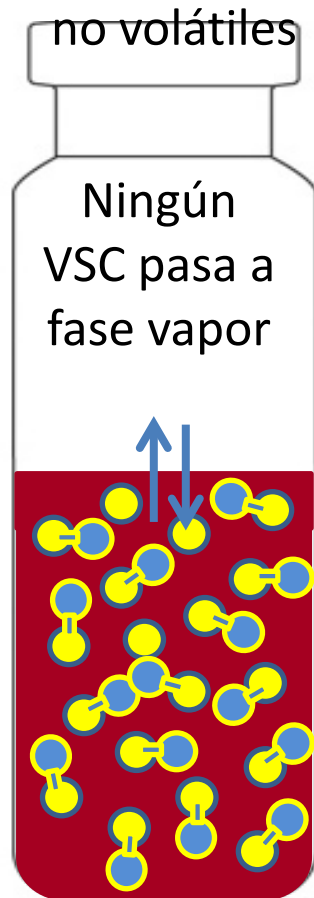
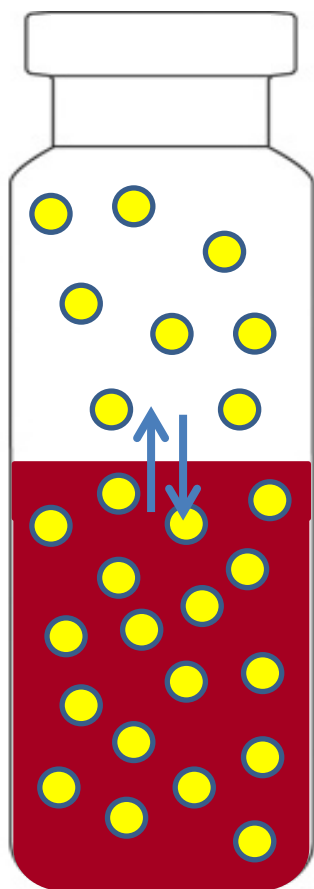
Franco-Luesma and Ferreira, J Chromatogr. A, 2014, 1359: 8-15



Nuevos métodos para nuevos descubrimientos

Situación normal

Si el H_2S y los mercaptanos formaran complejos no volátiles



¡El método de espacio de cabeza clásico nos diría que el vino no contiene VSCs!

La estrategia clásica sólo ve formas libres!

Necesitamos romper los complejos primero si queremos ver VSCs totales

¡Y eso es lo que hacemos!!

Combinamos la estrategia clásica para formas LIBRES con una segunda estrategia que nos da las formas TOTALES; donde
TOTALES= LIBRES + LIGADOS

Franco-Luesma and Ferreira, J Chromatogr. A, 2014, 1359: 8-15

Primer descubrimiento:

	H ₂ S			CH ₃ SH		
	Libre	Total	%bonded	Libre	Total	%bonded
Tinto 1	0.0	31	100%	0.0	1.1	100%
Tinto2	2.9	12	76%	1.3	1.9	29%
...	...	...	...	...	...	...
Tintos Promedio (n=16)	1.1	21	94%	1.0	2.3	56%
Blancos promedio (n=8)	2.0	27	92%	1.5	2.5	43%

1.- El vino contiene H₂S, MeSH y otros mercaptanos en formas no volátiles e inodoras. Estas formas se pueden transformar fácilmente en formas volátiles (si no, no las podríamos detectar)

Franco-Luesma and Ferreira, J Chromatogr. A, 2014, 1359: 8-15



Segundo descubrimiento:

Recuperaciones (en %) de H_2S y MeSH añadidos a dos vinos distintos y analizados por ambos métodos, el de formas LIBRES y el de TOTALES

Recuper. (%)		H_2S		CH_3SH	
		Libre	Total	Ligado	Total
Vino 2	after spike	108%	105%	101%	100%
	2 days latter	53%	103%	84%	100%
Vino 3	after spike	0.0%	92%	62%	100%
	2 days latter	0.0%	20%	6.6%	95%

El vino 3 parece que se come los mercaptanos que añadimos, que desaparecen inmediatamente del espacio de cabeza

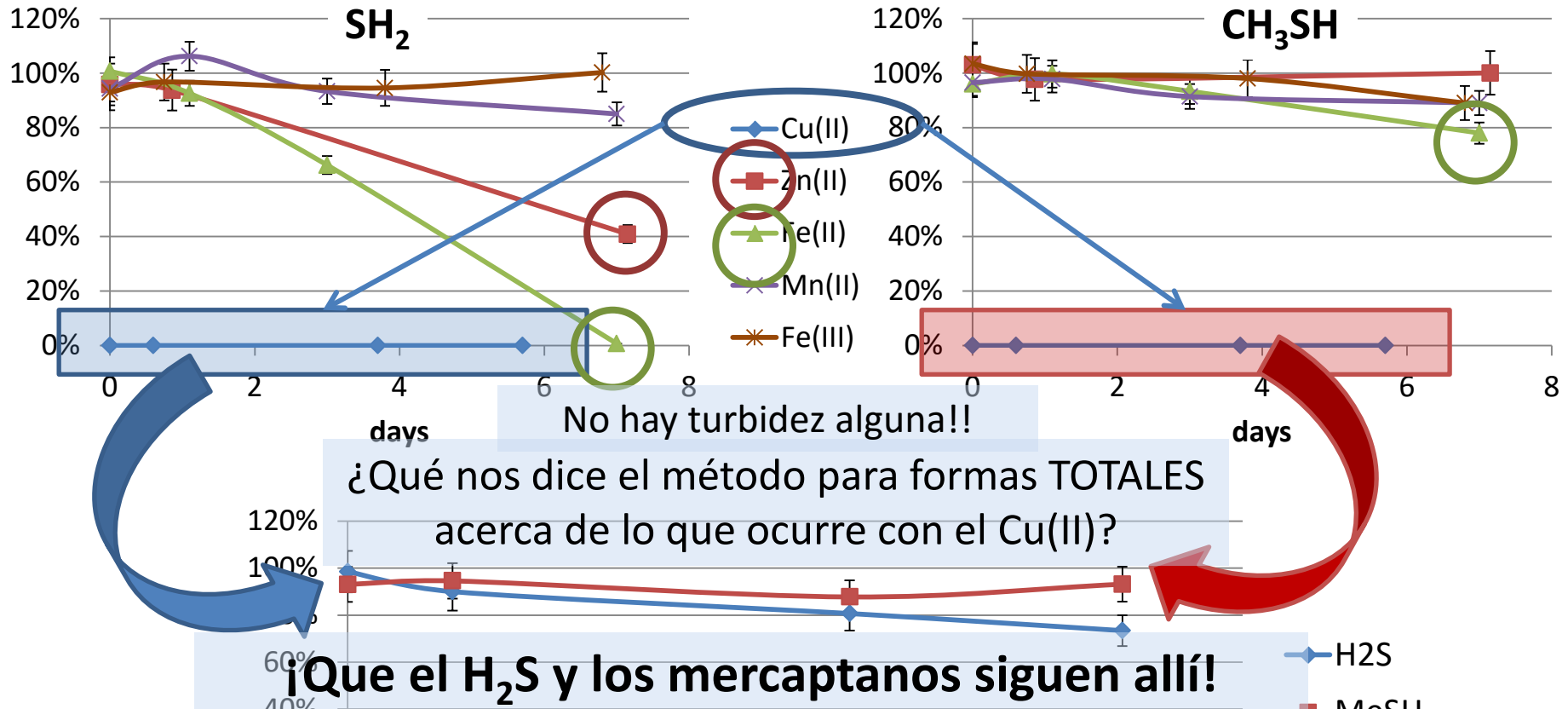
Pero el método para formas TOTALES nos dice que los mercaptanos siguen allí!! (con el tiempo reaccionan)

2.- Cada vino tiene una capacidad específica para unirse de manera reversible al H_2S y a los mercaptanos

Franco-Luesma and Ferreira, *J Chromatogr. A*, 2014, 1359: 8-15

Tercer descubrimiento:

Áreas de mercaptano que quedan en el espacio de cabeza tras la adición de distintos cationes metálicos (**0.5 ppm**) a vinos sintéticos con VSCs



3.- El H₂S y los mercaptanos NO PRECIPITAN sino que forman complejos estables, reversibles y solubles con algunos cationes, notablemente con el Cobre (II)

¿Significa este descubrimiento que los profesores de Química estaban equivocados?

Nos enseñaron que las sales de **Cu(II)** precipitan con H_2S y MeSH como sulfuros (**CuS** and **(MeS)₂Cu**). Sabemos que esas sales son muy insolubles ($K_{ps} < 10^{-36}$). Esto es cierto **PERO, los químicos antiguos no podían saber lo que ocurría cuando las concentraciones eran muy pequeñas. Sus instrumentos no eran tan sensibles como los actuales**

HOY, sabemos que los sulfuros “insolubles” de muchos elementos (cobre, hierro, zinc, pueden existir en disolución como :

1. **Formas solubles neutras (moléculas)**
2. **Nanopartículas en suspensión**
3. **Coloides**

Todas estas formas permanecen EN la disolución y NO PUEDEN eliminarse por filtración. Muy recientemente se ha descubierto que estas formas juegan papeles muy importantes en la naturaleza:

1. **Son empleadas por algunos organismos para detoxificar los metales pesados**
2. **Explican por qué los sulfuros pueden existir incluso en aguas de montaña**
3. **Explican cómo algunos metales se mueven en los océanos**

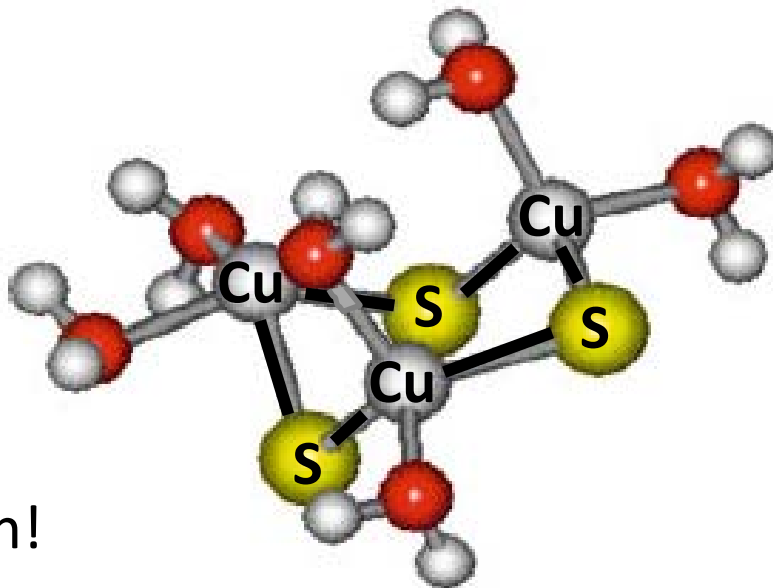


Cu y S en el vino

Estudios recientes sugieren que el Cu(II) y el sulfuro S(-II) en agua no forman el precipitado sólido CuS, sino la forma molecular soluble:



En la que los 3 átomos de Cu y los 3 de S se alternan en un hexágono muy estable



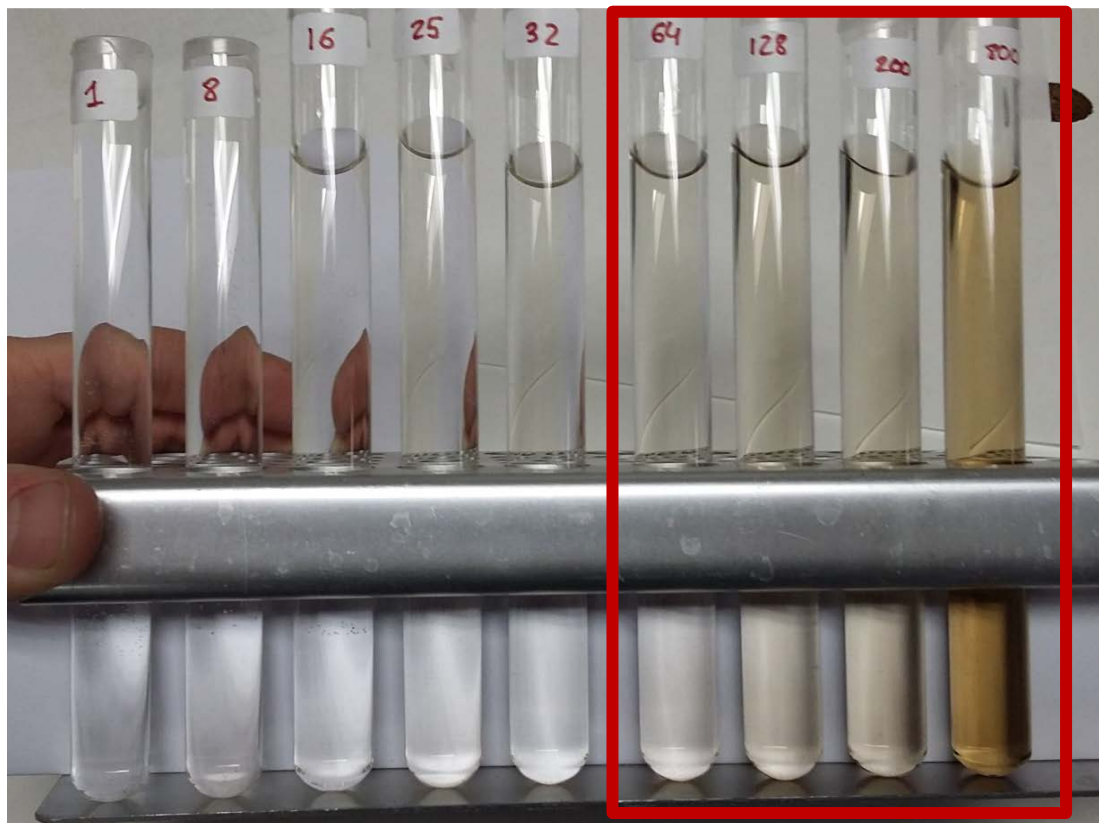
En el vino también!



Demostración de la no existencia de CuS precipitado

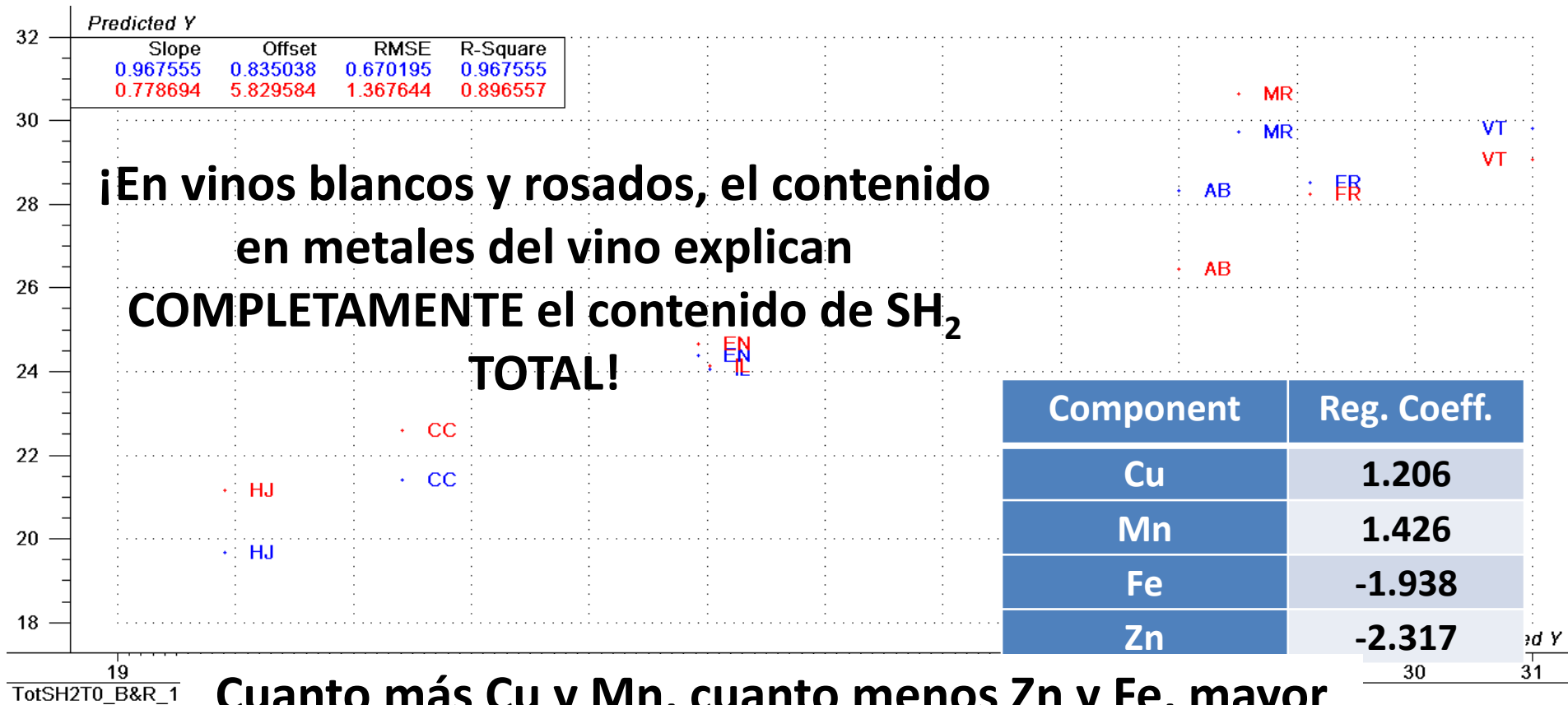
Tubos conteniendo cantidades equimolares de sulfato de cobre y H_2S en vino sintético

	1	8	16	25	32	64	128	200	800
Cu (ppm)	0,06	0,50	1,0	1,57	2,0	4,0	8,0	12,6	50,4
H_2S (ppm)	0,034	0,27	0,54	0,85	1,09	2,18	4,35	6,8	27,2



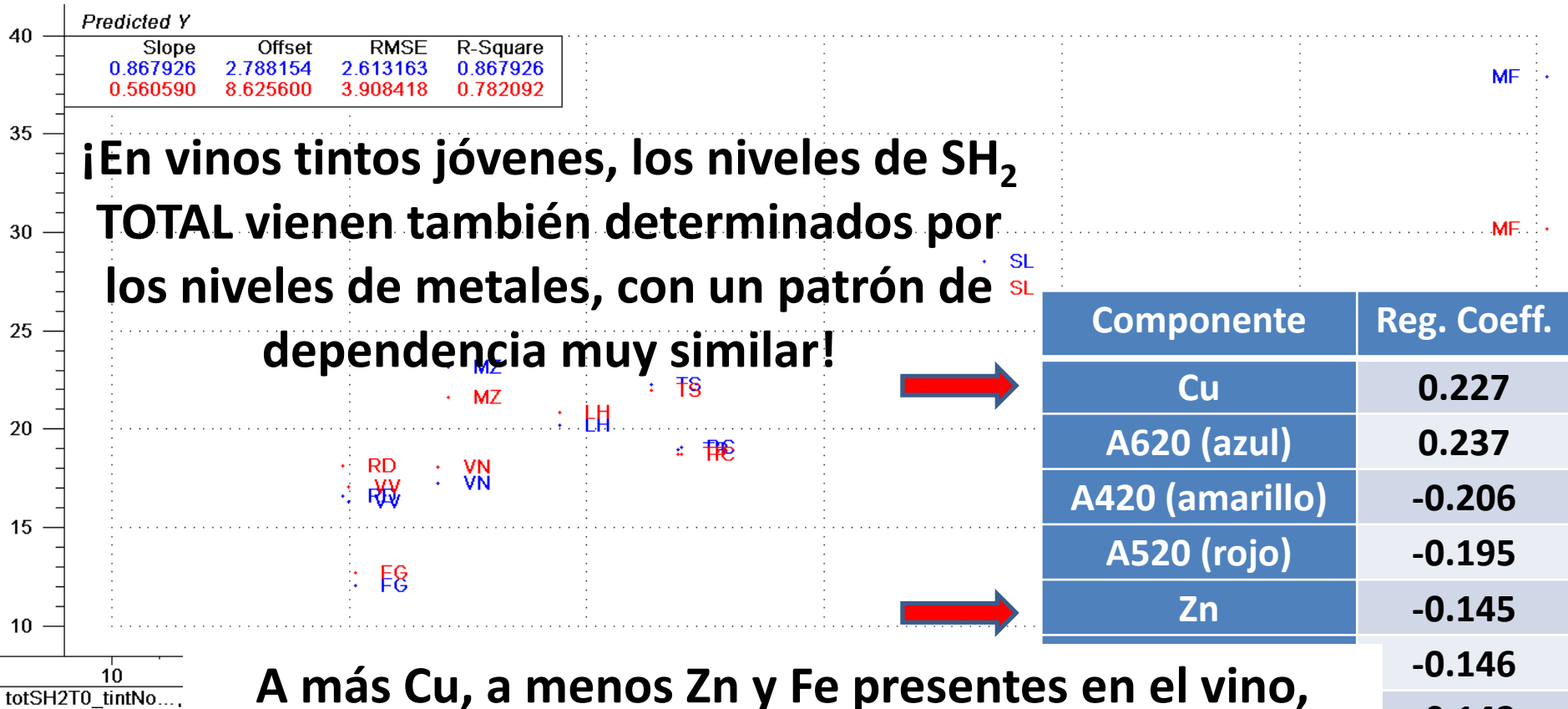
Cuarto descubrimiento :

Modelos multivariable explicando y prediciendo el contenido **TOTAL EN H₂S** de vinos blancos y rosados a partir de su composición química



Cuarto descubrimiento:

Modelos multivariable explicando y prediciendo el contenido en **H₂S TOTAL** de vinos tintos no muy viejos (<5 años) en función de su composición química



A más Cu, a menos Zn y Fe presentes en el vino, mayores niveles de H₂S TOTAL

Cuarto descubrimiento:

Component	Reg. Coeff.
Cu	1.206
Mn	1.426
Fe	-1.938
Zn	-2.317

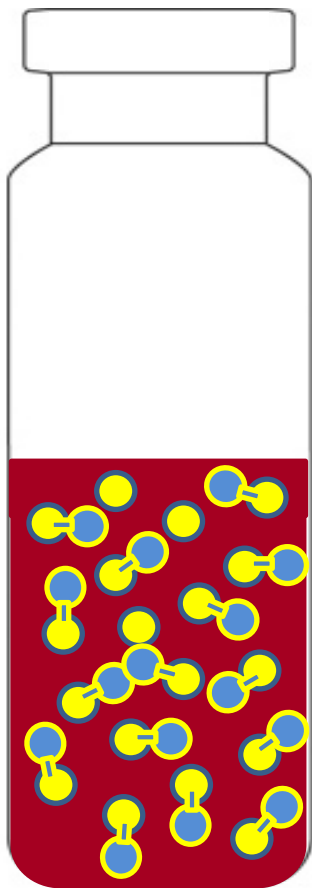
Component	Reg. Coeff.
Cu	0.227
A620 (blue)	0.237
A420 (yellow)	-0.206
A520 (red)	-0.195
Zn	-0.145
Methionine	-0.146
Cysteine	-0.143
Fe	-0.075

4.- Los niveles de H₂S TOTAL del vino están fuertemente relacionados con sus niveles de Cu

Podemos suponer que el Cu²⁺ atrapa el H₂S según se forma en fermentación, evitando su coevaporación con CO₂

Los otros metales y aminoácidos son probables determinantes del H₂S formado en la fermentación

Franco-Luesma and Ferreira, Food Chem, 2016, 199: 42-50



Por tanto, el vino contiene H₂S, MeSH y en ocasiones otros mercaptanos bajo formas no-volátiles e inodoras, en particular como complejos estables, solubles y reversibles con Cu(II)

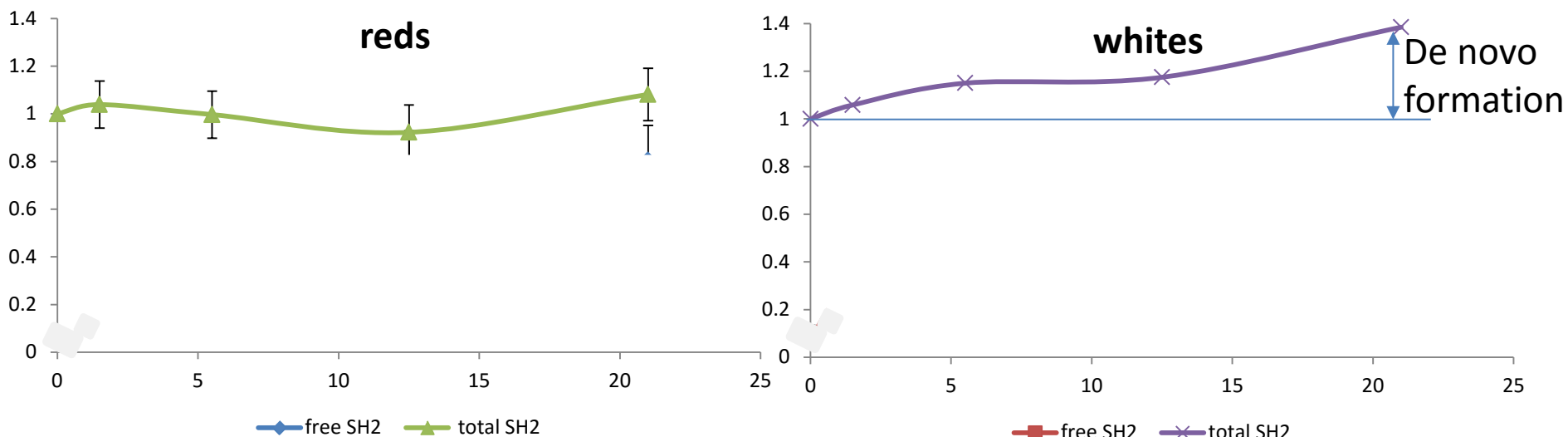
Las sales de Cu(II) no precipitan con H₂S y mercaptanos, por el contrario, constituyen la forma natural de atraparlos y almacenarlos de manera protegida

Si todo esto es cierto, no debería extrañarnos entonces lo que ocurre si guardamos un vino en anoxia...



Quinto descubrimiento

Niveles promedio de H_2S TOTAL de 16 vinos tintos y 8 blancos y rosados almacenados en anoxia completa a 50°C



1. El H_2S TOTAL no aumenta en vinos tintos (no hay formación de novo)
2. En blancos y rosados hay un pequeño aumento (40%)
3. Las formas LIBRES aumentan de manera continua e intensa
4. Lo mismo se observa en el MeSH, con un aumento mayor de TOTALES

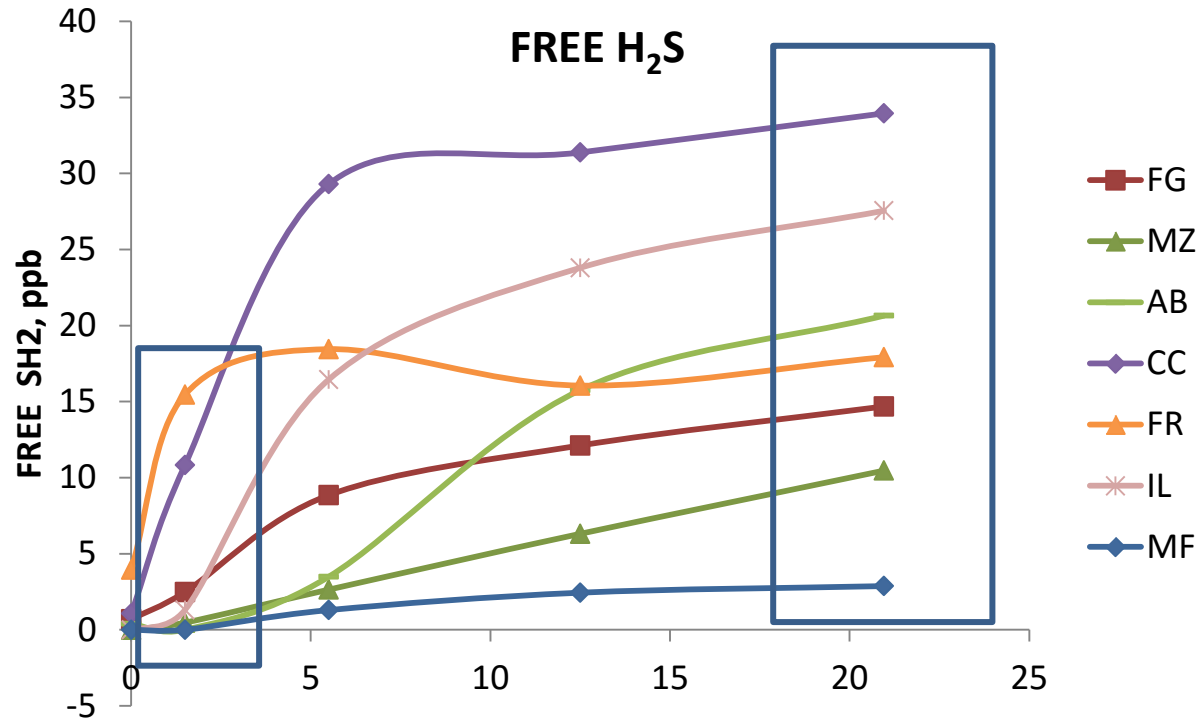
5.- Los incrementos de H_2S libre observados al almacenar un vino en anoxia se deben mayormente a la liberación de las formas complejas. Para MeSH, la formación de novo es más importante

Con un poco más de detalle

1. La aparición de problemas de reducción causados por acumulación de H_2S libre en vinos tintos embotellados se debe >95% a la liberación de las formas complejas
2. En blancos y rosados, también se observa una formación “de novo”, sobre todo a temperaturas de almacenamiento altas
3. En el MeSH;
 1. Tintos: 50% liberación, 50% formación de novo;
 2. Blancos/rosados: 30% liberación, 70% formación de novo
4. Las diferencias entre vinos pueden ser muy importantes:



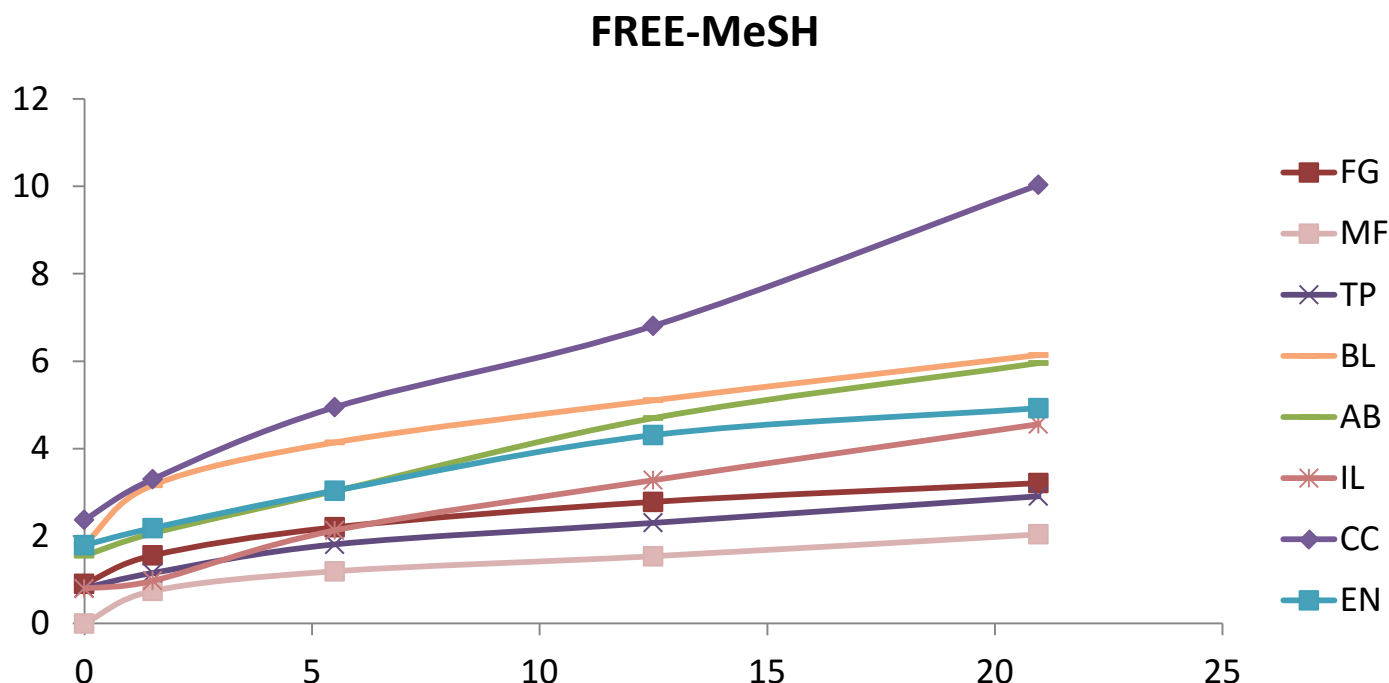
Diferencias entre vinos en la liberación de SH₂ libre



1. Los aumentos siguen distintas tendencias y ritmos
2. Las diferencias entre vinos pueden ser de hasta 15x



Diferencias entre vinos en acumulación de formas libres de MeSH

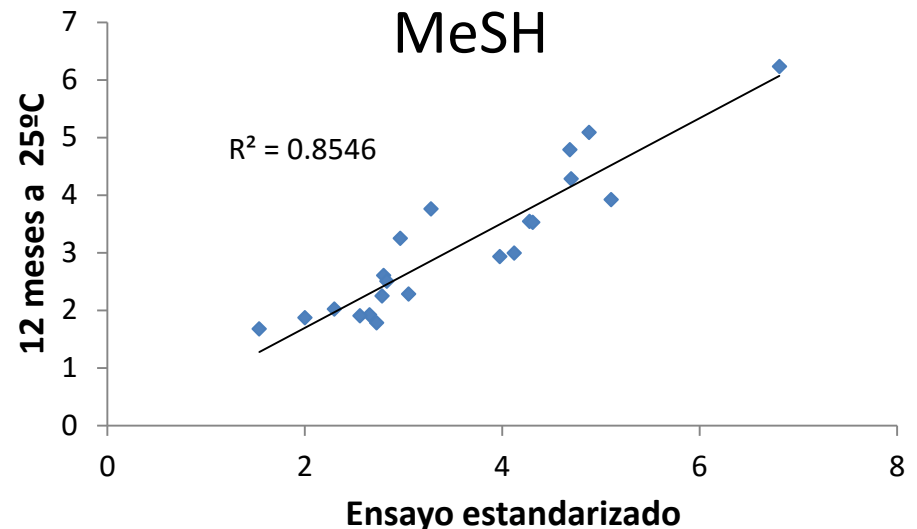
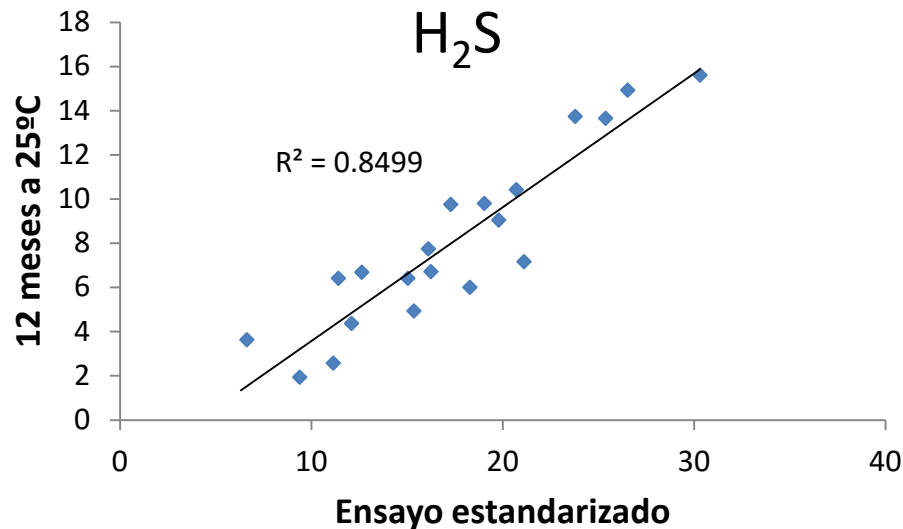


1. Patrones muy similares, pero velocidades muy distintas
2. Los incrementos a largo plazo debidos a formación de novo de moléculas (los complejos se liberan rápido)
3. Las diferencias entre vinos de hasta 5x



Sexto descubrimiento

Comparación entre la cantidad de H₂S y MeSH formados tras algo más de un año en botella totalmente anóxica con la medida con nuestro ensayo



6.- Podemos predecir con un ensayo estandarizado a 50°C la cantidad de H₂S y MeSH que formará un vino tras un largo envejecimiento en botella

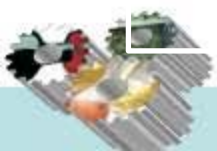
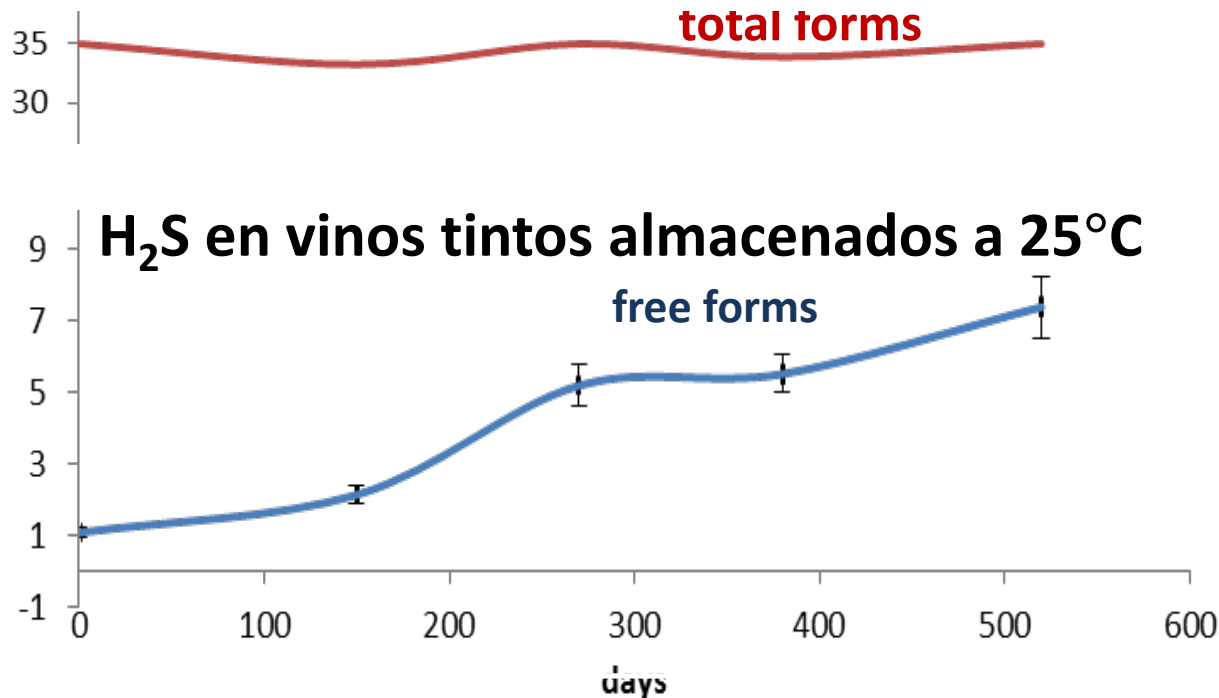


Sexto descubrimiento

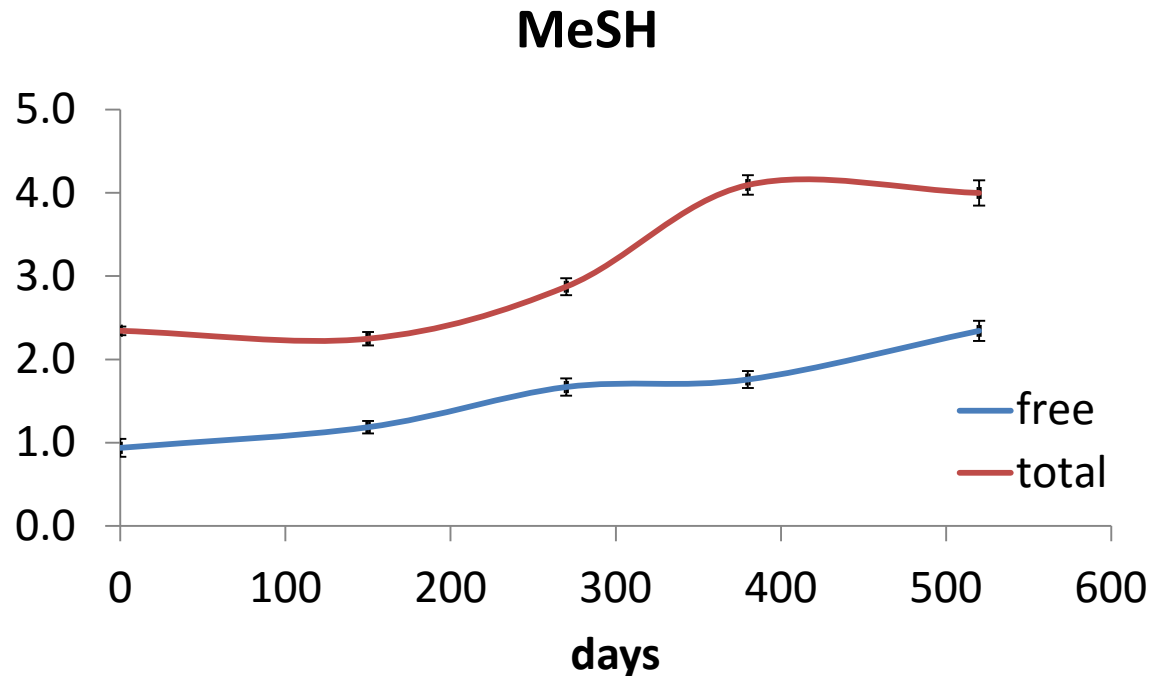
También a Tª ambiente los incrementos en H₂S libre en almacenamiento anóxico son causados por liberación de formas complejas

Un vino tinto normal libera alrededor de 0.4 µg/L de H₂S libre al mes; un blanco o un rosado alrededor de 0.7 µg/L al mes

Las diferencias entre vinos pueden superar el orden de magnitud



Sexto descubrimiento



Confirmamos que los niveles de MeSH aumentan tanto por liberación como por formación de moléculas “de novo” (a partir de metionina)

En promedio, en un vino tinto normal los niveles de MeSH libre aumentan $1 \mu\text{g/L}$ al año. En blancos/rosados, unos $1.7 \mu\text{g/L}$

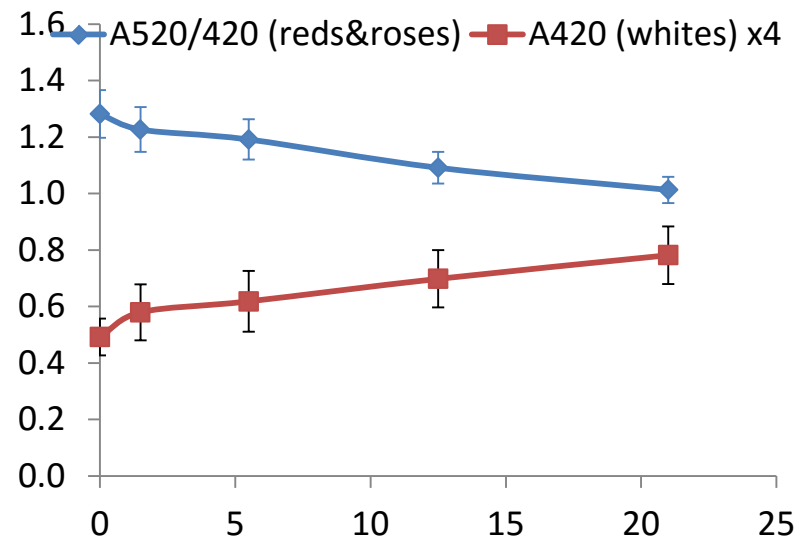
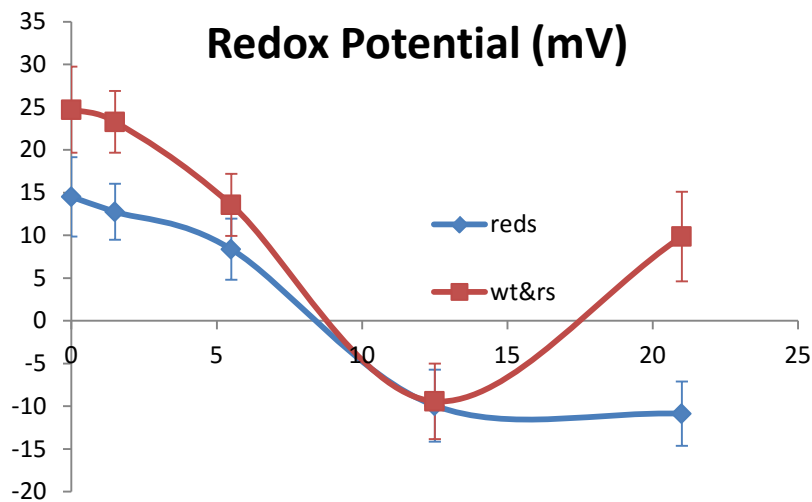
Las diferencias entre vinos pueden ser al menos de 6x



Séptimo descubrimiento:

Otros cambios importantes que tienen lugar durante envejecimiento sin aire:

- Importante disminución del potencial redox
- Blancos: ¡¡¡Aumento de la Absorbancia a **A420**!!!
- Rosados y tintos: ¡¡¡Disminución de la relación **A520/A420**!!!



Séptimo descubrimiento

Disminución fuerte del potencial redox



Como el potencial redox está dominado por la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, Fe^{3+} está siendo reducido a Fe^{2+}



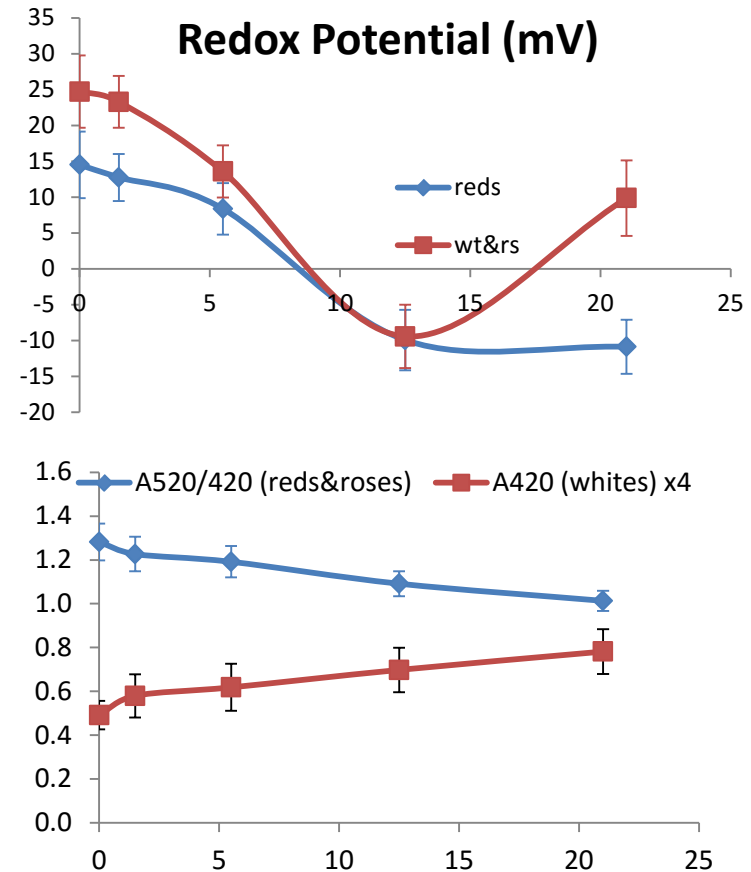
Algo está siendo oxidado y bombea electrones al sistema



Los cambios en Absorbancia sugieren que los polifenoles se oxidan espontáneamente a formas más conjugadas



7.- Ya que la mayor parte de H_2S está ligado al Cu^{2+} , podemos postular que la liberación de H_2S libre tiene lugar a causa de la reducción del Cu^{2+} causada por la oxidación espontánea de polifenoles



Séptimo descubrimiento:

Modelo explicando la velocidad de liberación de SH₂ libre en el envejecimiento anóxico de tintos

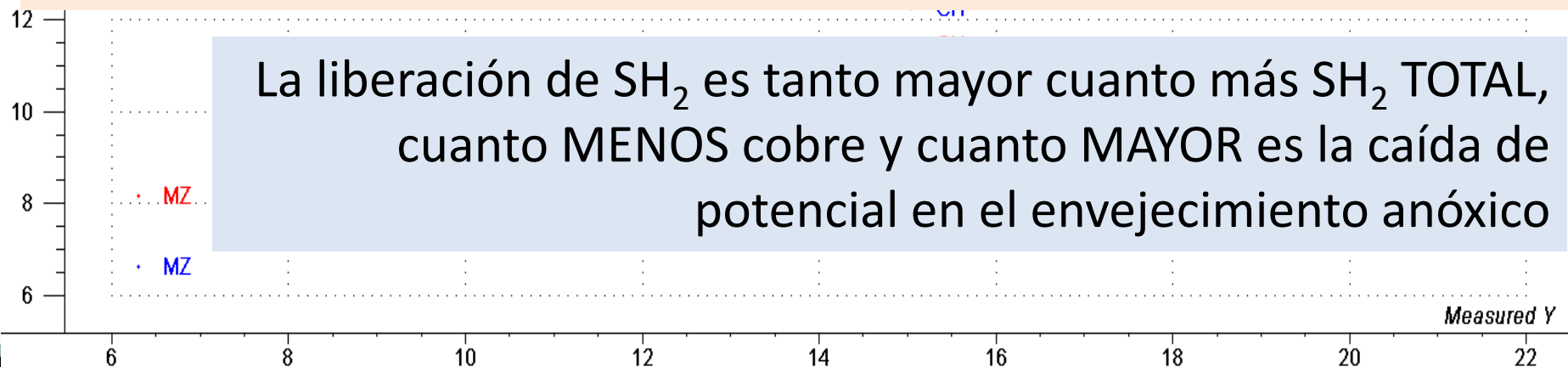
Predicted Y			
Slope	Offset	RMSE	R-Square
0.800055	1.466776	1.280470	0.800055

$$\text{Velocidad liberación SH}_2 = k_1 + k_2 \times (\text{SH}_2)_{\text{tot}}/\text{Cu} - k_3 \times \Delta\text{mV}$$

El cobre no elimina H₂S y mercaptanos, sino que los atrapa haciendo su liberación más difícil!

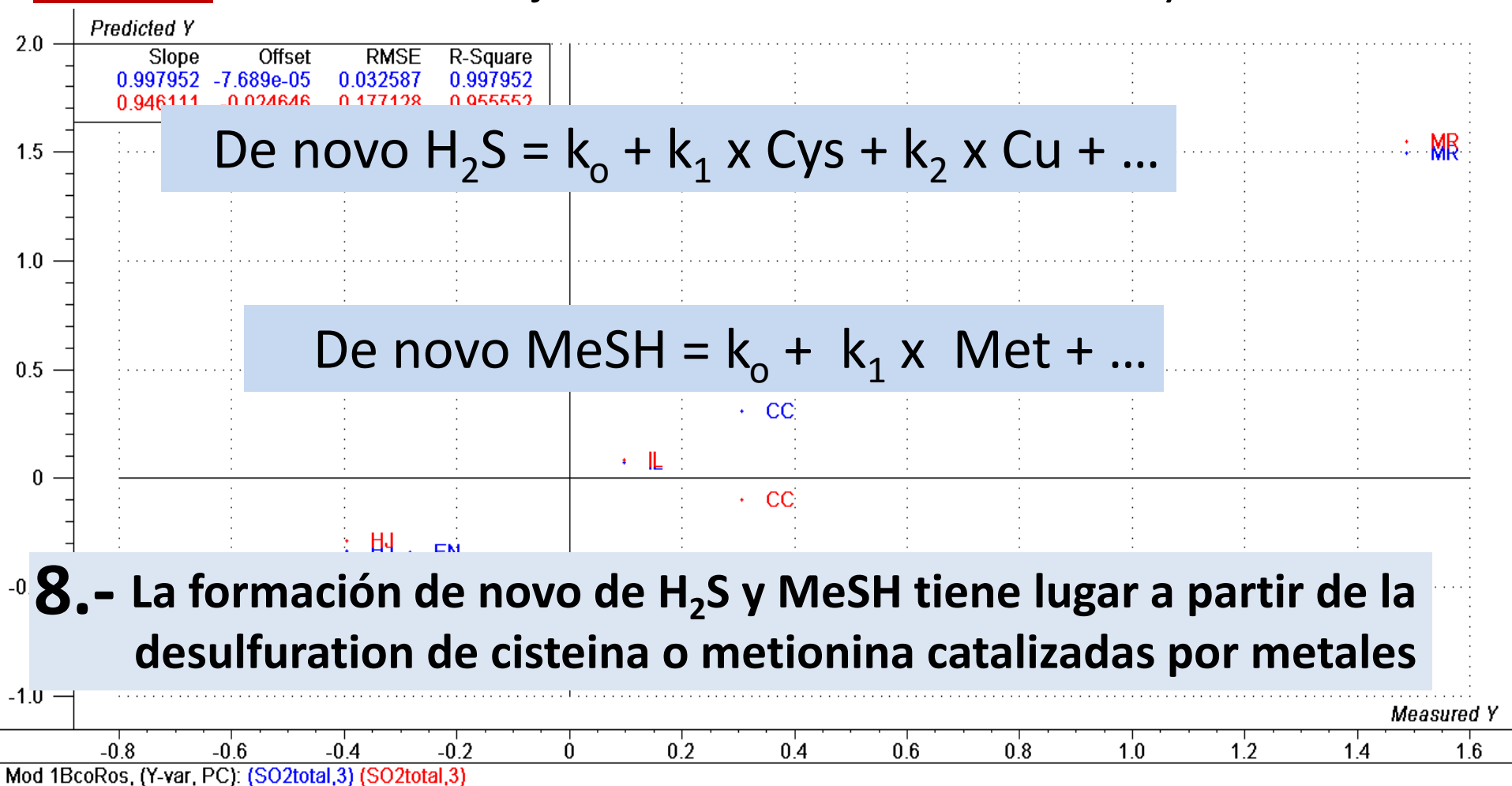
7.-Puede asumirse que el Cu actúa como un sistema de acumulación y que libera los mercaptanos atrapados sólo al reducirse Dicha reducción es más difícil con niveles altos de cobre

La liberación de SH₂ es tanto mayor cuanto más SH₂ TOTAL, cuanto MENOS cobre y cuanto MAYOR es la caída de potencial en el envejecimiento anóxico



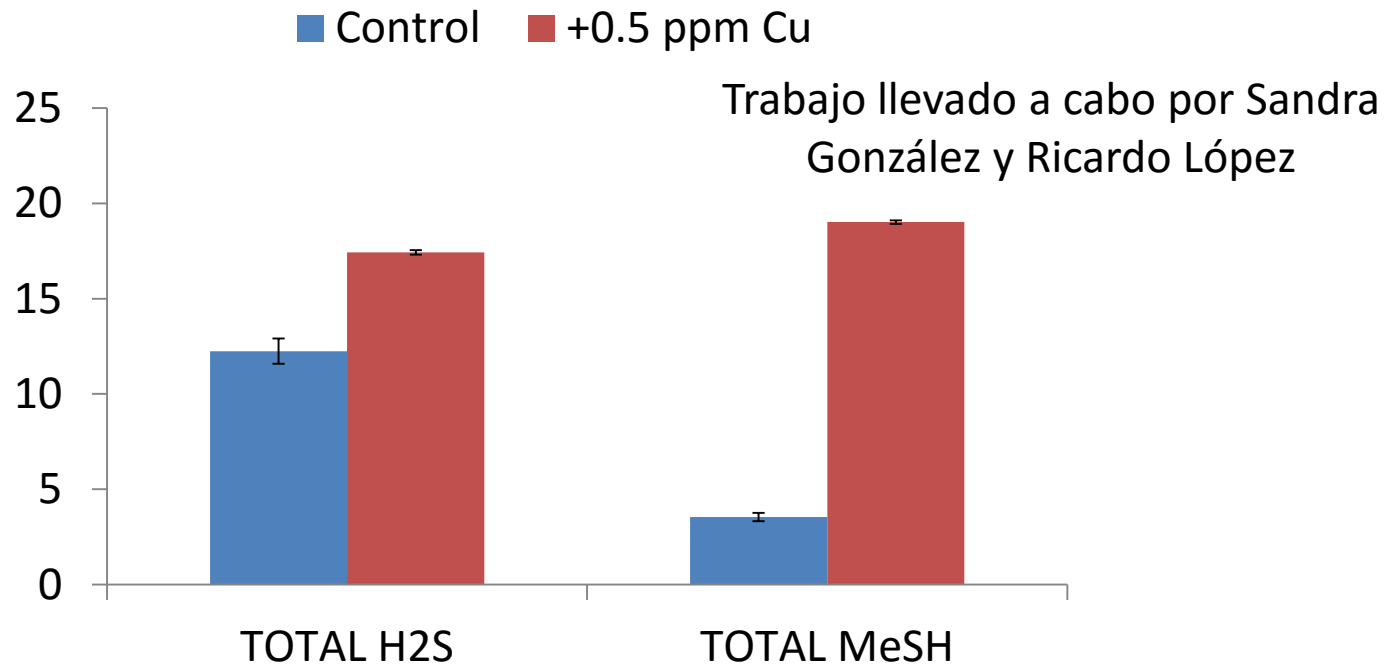
Octavo descubrimiento:

Modelo explicando y prediciendo la cantidad de H₂S y MeSH formada de novo durante el envejecimiento anóxico de blancos y rosados



Octavo descubrimiento

Efectos de la presencia de Cobre en los contenidos de H_2S y MeSH TOTALES de una disolución sintética conteniendo aminoácidos, metales y polifenoles incubada varias semanas a 50°C



Aunque las formas libres no se detectaron en el espacio de cabeza, la experiencia demuestra que el cobre induce la formación de novo de **H_2S y MeSH** en esas condiciones



Noveno descubrimiento

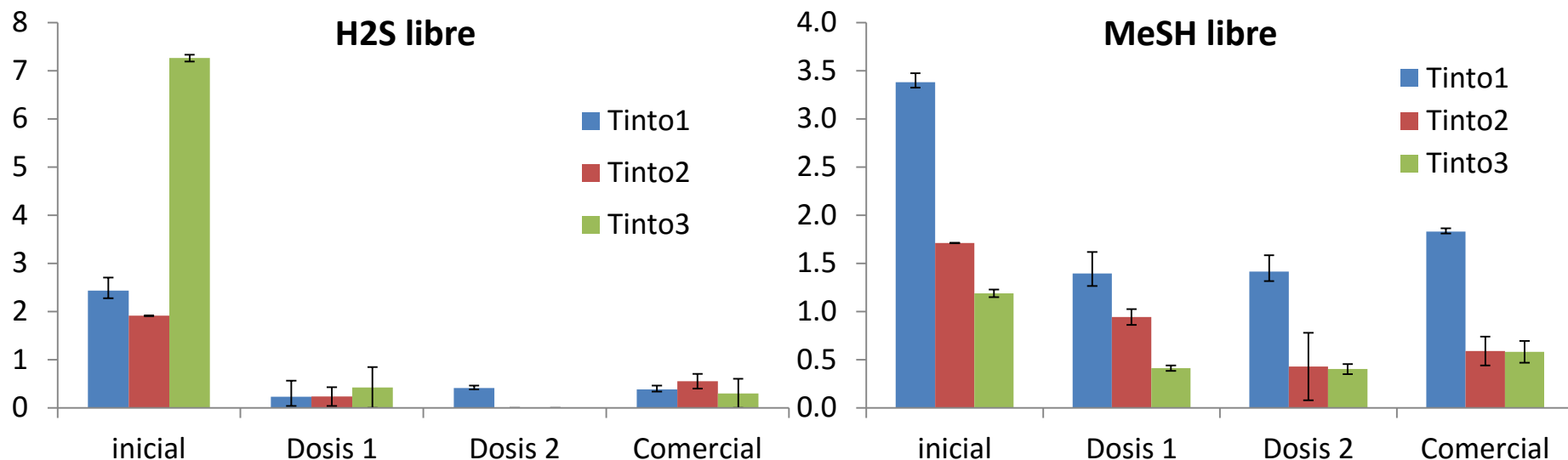
Sales de cobre 1. Efecto sobre las formas libres

Tres tintos de distintas variedades con problemas de reducción

Tratamientos estándar con CuSO_4 a dos dosis (60 y 500 ppb) y con un conocido producto comercial a dosis recomendada (equivalente a 60 ppb cobre)

1 semana de contacto, luego centrifugación

Se miden: H_2S libre y total, MeSH libre y total y ensayo de reducción acelerada



9.1 Todos los aditivos son muy eficientes eliminando del espacio de cabeza H_2S y algo menos eliminando MeSH



Noveno descubrimiento-2

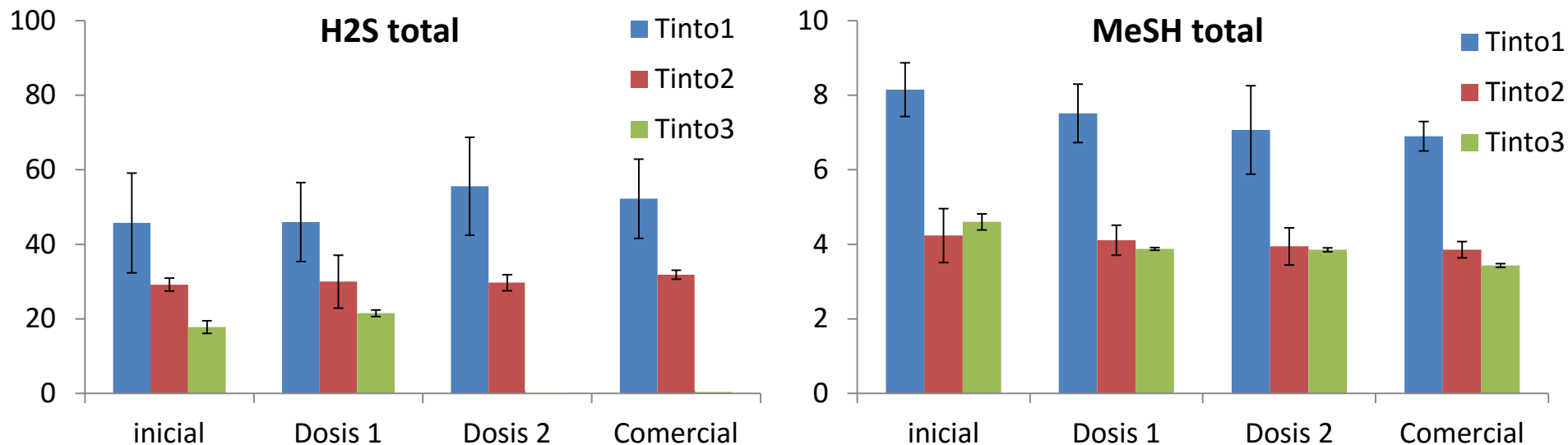
Sales de cobre. Efecto sobre las formas totales

Tres tintos de distintas variedades con problemas de reducción

Tratamientos estándar con CuSO_4 a dos dosis (60 y 500 ppb) y con un conocido producto comercial a dosis recomendada (equivalente a 60 ppb cobre)

1 semana de contacto, luego centrifugación

Se miden: H_2S libre y total, MeSH libre y total y ensayo de reducción acelerada



9.2 Ningún aditivo elimina las formas complejas de H_2S y MeSH
¡¡En uno de los casos incluso hay un aumento!!



Noveno descubrimiento-3

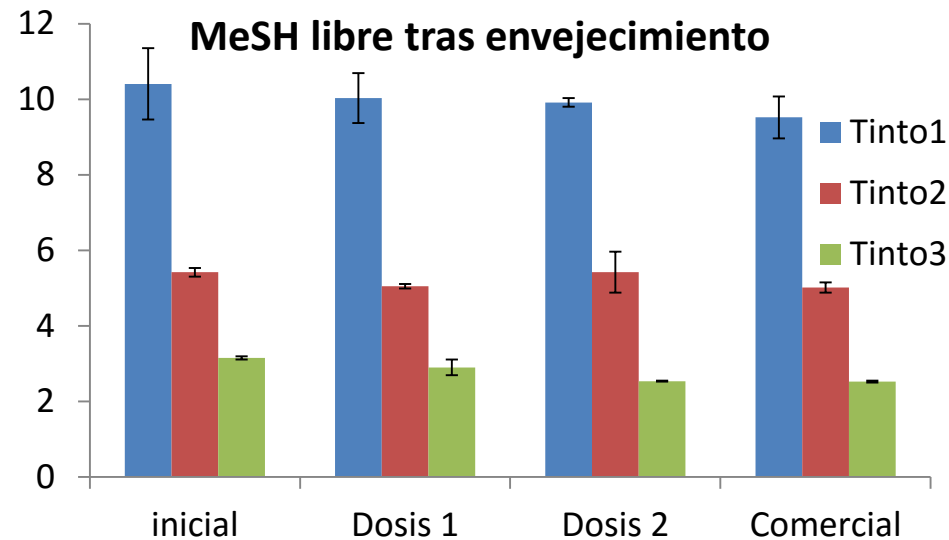
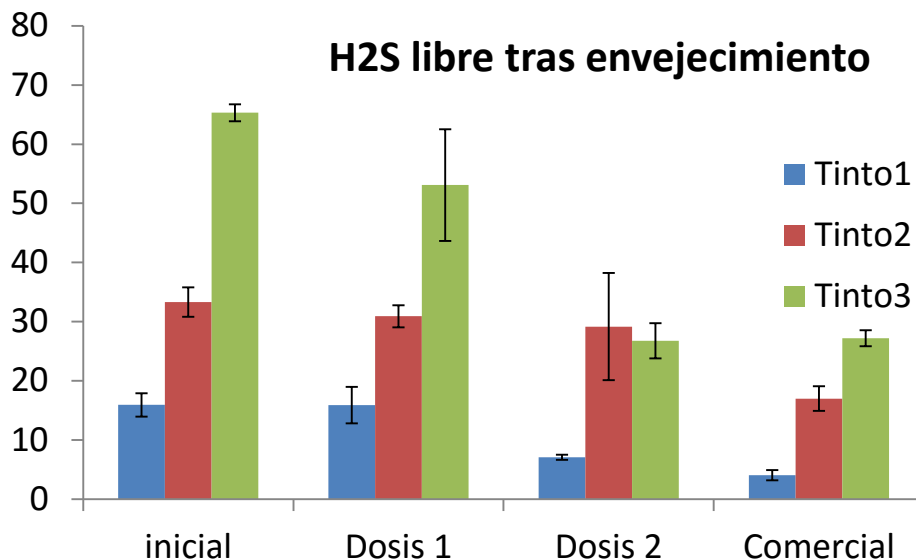
Sales de cobre. Efecto sobre la tendencia reductora

Tres tintos de distintas variedades con problemas de reducción

Tratamientos estándar con CuSO_4 a dos dosis (60 y 500 ppb) y con un conocido producto comercial a dosis recomendada (equivalente a 60 ppb cobre)

1 semana de contacto, luego centrifugación

Se miden: H_2S libre y total, MeSH libre y total y ensayo de reducción acelerada



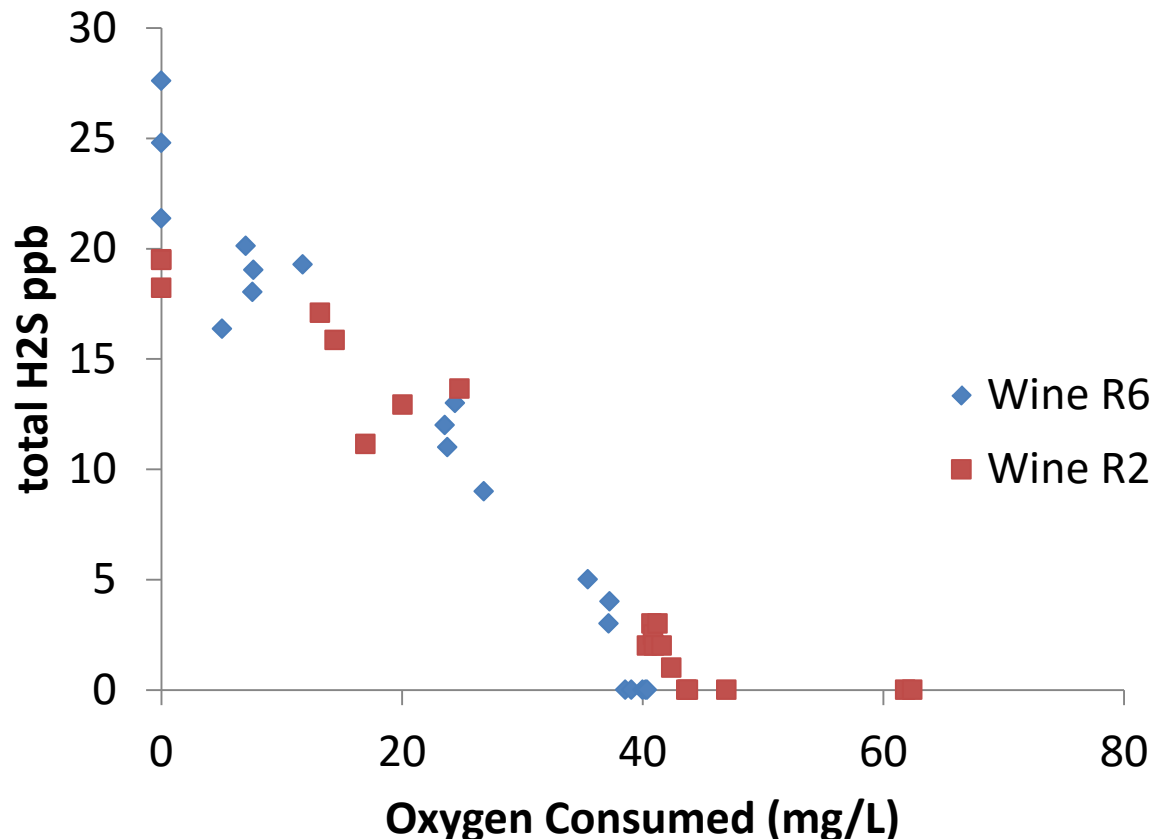
9.3 La eficiencia de los tratamientos sobre H_2S a largo plazo es limitada y es NULA en el caso de MeSH



Décimo descubrimiento

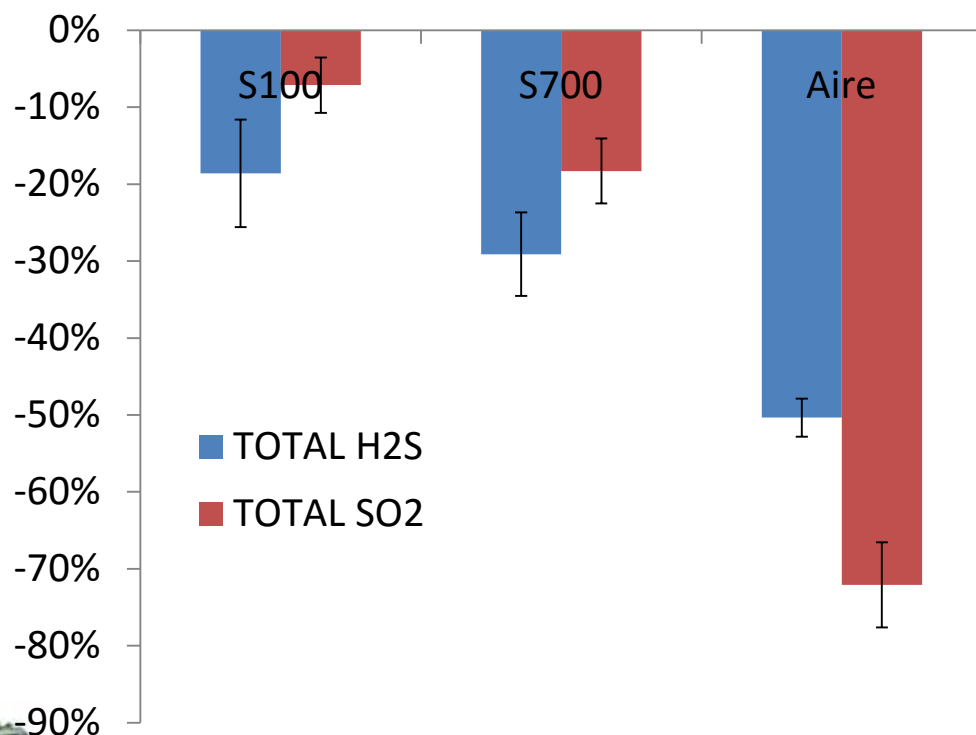
No todo el oxígeno es igualmente eficiente a la hora de eliminar los mercaptanos

Microoxigenación: Efectos del O₂ consumido a lo largo de 6 meses sobre los niveles de H₂S total de vinos tintos



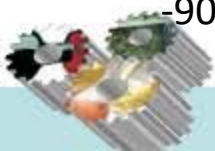
Décimo descubrimiento

- La aireación no es efectiva en tanto que las formas complejas están protegidas de la oxidación. Sólo las formas libres reaccionan
- El uso de O_2 sobre mercaptanos protegidos provoca la oxidación de otros componentes



Reducción promedio en los niveles de H_2S y SO_2 totales tras 4 meses bajo distintos regímenes de oxidación

Cuanto más lenta es el suministro de oxígeno, mayor es la proporción de H_2S eliminado, a causa del tiempo requerido por los equilibrios



Décimo descubrimiento

- Sólo el O_2 consumido a ritmos bajos ($\approx 6-7$ mg/L/mes) y durante suficiente tiempo (>3 meses) parece ser realmente capaz de eliminar H_2S y MeSH
- ¿Por qué?

Porque el H_2S y el MeSH ligados están en realidad protegidos de la oxidación. Sólo las formas libres reaccionan

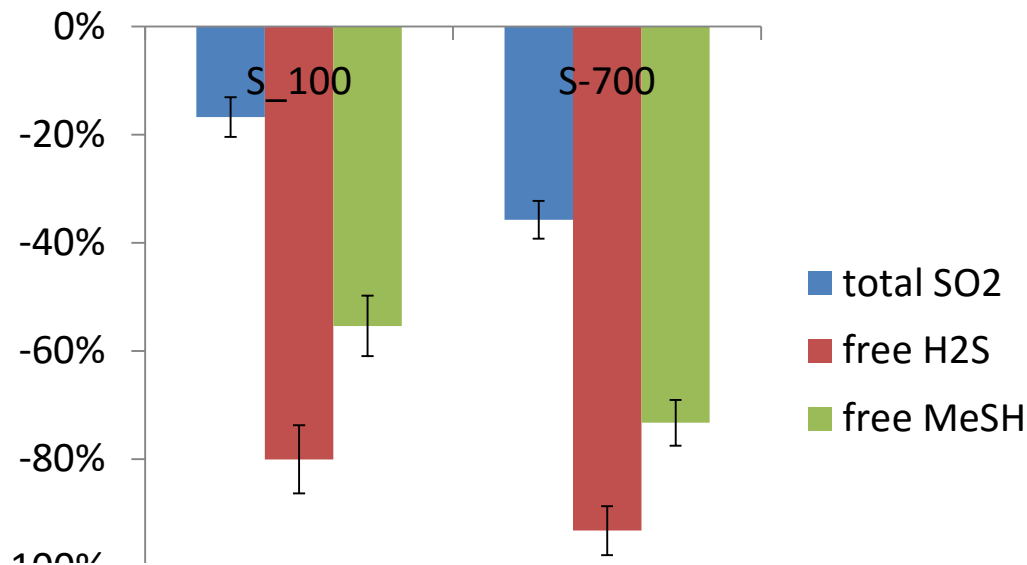
- ¿Qué ocurre con el O_2 suministrado durante un remontado con aireación?

Simplemente se emplea en oxidar SO_2 y polifenoles



El tapón es una forma efectiva de limitar el problema

Reducción promedio en los niveles de H_2S y MeSH libres y en los de SO_2 total (4 vinos distintos almacenados 1 año bajo dos corchos distintos y en comparación con un control en anoxia)



Los dos tapones son efectivos en mantener niveles bajos de las formas libres

Los efectos sobre el SO_2 son mucho mayores para el más permeable
Los niveles de formas totales de H_2S y MeSH no cambiaron!

Conclusiones

1. **SH₂ y MeSH son subproductos naturales de la fermentación y también de la degradación catalítica (metales y polifenoles) de los aminoácidos azufrados**
2. **SH₂ y MeSH se acumulan en el vino como complejos estables con cationes metálicos, sobre todo Cu(II)**
3. **Las operaciones tradicionales de tratamiento con Cu no las eliminan, sino que aplazan su aparición. Los tratamientos son poco efectivos en el control del MeSH a largo plazo y podrían incrementar los niveles de H₂S total**
4. **Una vez que los complejos se han formado, la aireación no tiene efecto en su eliminación**
5. **Las formas ligadas se liberarán lentamente cuando el vino se almacene en anoxia, posiblemente porque el Cu(II) se reduzca a Cu°. La velocidad a la que las formas libres se liberan es proporcional a la cantidad de formas complejas e inversamente proporcional al contenido en cobre**
6. **La microoxigenación es efectiva en la eliminación de las formas totales**
7. **Los tapones muy herméticos deben evitarse**
8. **Medir la tendencia del vino a reducirse es hoy posible** www.LAAE.es





Agradecimientos



Este trabajo contiene material de la tesis doctoral de Ernesto Franco
Financiado por MINECO (projects AGL2010-22355 and AGL2014-59840);
Más en www.LAAE.es

