

Claristar™

Nuevo producto
para la estabilización tartárica



Céline BAJARD-SPARROW

Mylène CAUSSETTE

Céline FAUVEAU

Phil LATHAM

Patrice PELLERIN

Peter LANKHORST

DSM Food Specialties

Parc Scientifique Agropolis II

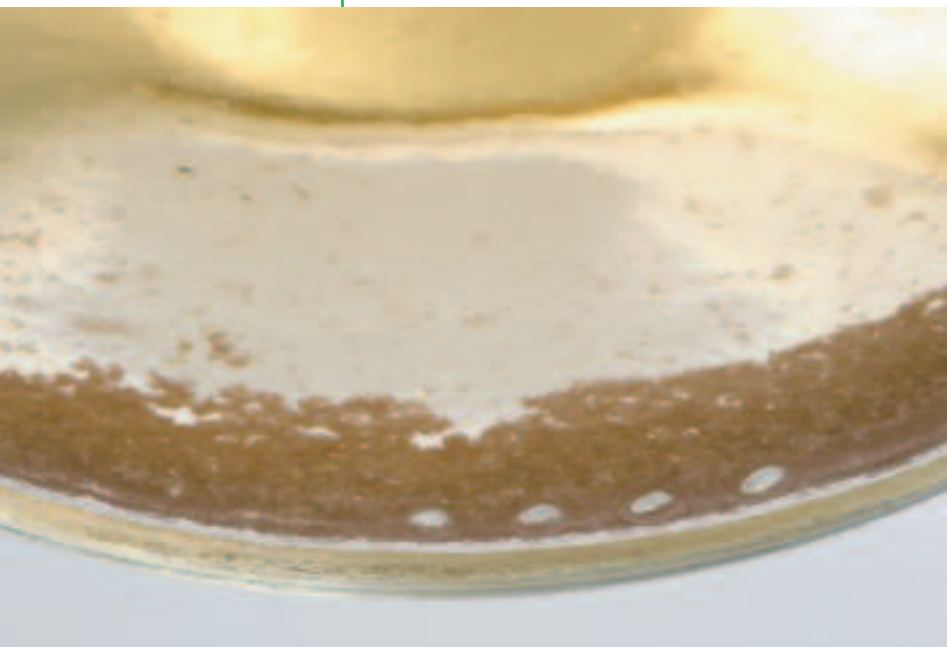
Bât 5, Bd de la Lironde,

34397 MONTPELLIER

FRANCE

La acción preventiva de las manoproteínas sobre la cristalización tartárica de los vinos está despertando un interés cada vez mayor. Sin embargo, todavía es escaso el conocimiento que se tiene acerca de la diversidad de manoproteínas de levadura y su efecto sobre los vinos. Las manoproteínas de levadura forman una gran familia de moléculas; su composición y configuración específicas les confieren una particular funcionalidad y estabilidad en el vino. Gracias a su experiencia de más de un siglo en tecnología de la levadura y biotecnología de la vinificación, DSM ha identificado recientemente la fracción de manoproteínas funcionalmente específicas para la prevención de la cristalización tartárica. Estos nuevos conocimientos son la base de un nuevo auxiliar de vinificación, comercializado bajo la marca Claristar™.

En este periodo de creciente preocupación por el medio ambiente, Claristar™ representa una alternativa natural a los actuales tratamientos entre los que se incluyen la estabilización por frío o la electrodiálisis. La utilización de Claristar permite reducir el consumo de agua y de energía así como disminuir la producción de efluentes. La presentación en forma líquida de Claristar™ permite su adición directa al vino antes del embotellado, ofreciendo de esta forma una eficacia y una flexibilidad de tratamiento óptimas. Con respecto a los resultados el producto ha sido sometido a numerosas pruebas, efectuadas por expertos en estabilización tartárica. Este artículo presenta los resultados obtenidos durante estos trabajos.



Claristar™, la solución natural para la estabilidad tartárica

Numerosos trabajos relativos a la crianza de vinos sobre lías han demostrado que, tras la fermentación alcohólica, la levadura libera compuestos que incluyen manoproteínas, péptidos, aminoácidos y ácidos nucleicos. Estos compuestos tienen diferentes efectos en el vino; los trabajos de Lubbers et al. mostraron el efecto de las manoproteínas sobre la estabilidad tartárica de los vinos. El vino criado varios meses sobre las lías, es más estable frente a las precipitaciones tartáricas y puede no necesitar un tratamiento suplementario de estabilización (Ribéreau-Gayon et al., 2000 b). Esta constatación ha permitido a los investigadores y enólogos de DSM desarrollar un producto innovador que previene la precipitación

tartárica de los vinos. Para ello hizo falta, por un lado desarrollar los conocimientos relativos a la bioquímica de las manoproteínas y a sus propiedades en el vino y, por otro, desarrollar un proceso eficaz de extracción de la fracción objetivo a partir de *Saccharomyces cerevisiae*.

Las manoproteínas utilizadas en enología, en general, son obtenidas de dos formas :

- **por un método físico** que consiste en tratar las paredes celulares de la levadura a temperaturas muy elevadas (120 °C).

- **por un método enzimático** en el que la hidrólisis de las paredes celulares de la levadura libera manoproteínas por acción de β -glucanasas. Estos dos métodos pueden proporcionar productos inadecuados. En efecto, se encontró que las manoproteínas aisladas por estos métodos son parcialmente insolubles y/o contienen impurezas insolubles. Para evitar estos problemas, sería necesario filtrar el vino para eliminar las sustancias insolubles a través de un post-tratamiento, con el riesgo de eliminar también manoproteínas funcionales.

Por consiguiente, la eficacia de la fracción de manoproteínas obtenida por estos métodos es a menudo limitada para prevenir la cristalización del bitartrato de potasio (KHT).

La tecnología desarrollada por DSM permite aislar las fracciones de manoproteínas de alta solubilidad, muy activas en la prevención de la cristalización del KHT. Este proceso hidroliza células enteras de levadura produciendo por una parte un extracto de levaduras y por otra un residuo insoluble. Las manoproteínas seleccionadas son, a continuación, aisladas por ultrafiltración y luego purificadas para mejorar su solubilidad y optimizar su acción sobre el vino. Con el fin de preservar sus propiedades únicas, las manoproteínas de DSM son conservadas en forma líquida, proporcionando de hecho un producto muy fácil de usar.

La estabilidad tartárica, mecanismos y tratamientos actuales

El bitartrato de potasio es soluble en determinadas condiciones de temperatura y de presión. En el vino, esta sal se encuentra en un estado inestable de sobresaturación, lo que puede, en determinadas condiciones, provocar la formación de cristales (por ejemplo bajas temperaturas). Este fenómeno se llama 'precipitación tartárica' o 'cristalización'.

La estabilidad del vino está influida por diversos factores: el contenido de ácido tartárico, la concentración de iones potasio y calcio, el pH, la concentración de etanol, la temperatura y la presencia de coloides llamados protectores.

Hoy en día existen varios tratamientos para prevenir la precipitación de sales de tartrato.

El más antiguo, descrito por Scazzola E. (1956), consiste en adicionar ácido metatartárico al vino inestable. Esta molécula previene el crecimiento de los cristales de KHT (bitartrato de potasio). Su acción, sin embargo, es limitada en el tiempo, a causa de su hidrólisis progresiva en ácido tartárico libre. Esto da lugar a un aumento del estado de sobresaturación que favorece la cristalización del tartrato de potasio (Carafa, 1958).

La estabilización por frío, este tratamiento, frecuentemente utilizado, consiste en la conservación del vino a baja temperatura durante varias semanas. El frío provoca la formación de cristales de tartrato de potasio. Esta técnica puede ser acelerada gracias a la adición de crémor tártaro (solución de microcristales de tartrato de potasio) que desempeñan la función de iniciador de la cristalización. Una vez formados, los cristales crecen y a continuación se les elimina por filtración.

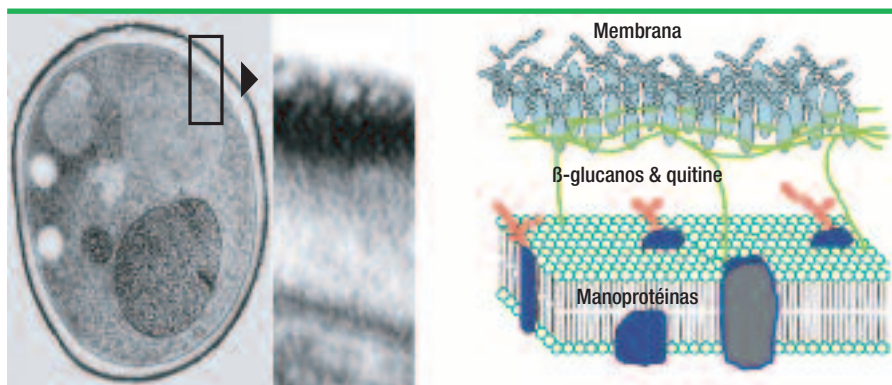
La electrodiálisis es un método más reciente. El vino circula entre dos placas de diferente potencial eléctrico. Esta diferencia de poten-

cial eléctrico provoca la migración de las moléculas a través de una membrana selectiva, reduciendo de esta forma la carga iónica del vino (Saint Pierre *et al.*, 1995).

Las manoproteínas, definición y propiedades

Las manoproteínas son unos compuestos naturales de la pared celular de la levadura (figura 1). La pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* está compuesta por un 90 % de polisacáridos (glucanos y mananos) pero también contiene proteínas, lípidos, fosfatos, quitina y minerales. La arquitectura de la pared celular de la levadura fue analizada con todo detalle por Kapteyn *et al.* (1999) y por Lipke *et al.* (1998). Las manoproteínas son liberadas en el vino, en un primer tiempo durante la fermentación alcohólica, luego durante la crianza sobre las lías del vino por autólisis de las levaduras. Las manoproteínas constituyen la segunda gran familia de polisacáridos presentes naturalmente en el vino. (Vidal *et al.*, 2003).

Figura 1: Célula de levadura vista al microscopio y representación esquemática de la pared celular de la levadura.



Las manoproteínas son estructuras ramificadas de residuos de manosa unidos por enlaces glucosídicos y una cadena polipeptídica. Sus masas molares son muy variables y pueden alcanzar los 800 kDa. Aunque algunos de sus elementos estructurales pueden ser esquematizados (figura 2), las manoproteínas presentan una gran diversidad de composición, de tipo de enlace glucosídico y de organización. Estas diferencias son el origen de sus propiedades funcionales y de sus efectos sobre el vino, que van desde la mejora del volumen en boca hasta la inducción de la estabilidad tartárica.

El rol de coloide protector de las manoproteínas es bien conocido en vinificación (Lubbers *et al.*, 1993; Moine-Ledoux & Dubourdieu, 1997; Moine-Ledoux & Dubourdieu, 1999).

Otras propiedades han sido evidenciadas, como por ejemplo el uso de manoproteínas para estabilizar la turbidez proteica (Ledoux *et al.*, 1992; Waters *et al.*, 1994).

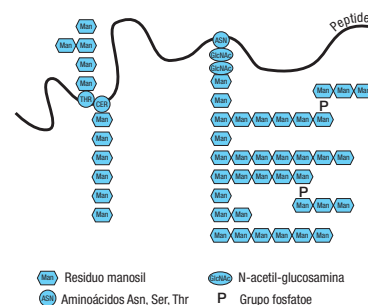


Figura 2: Representación de la organización estructural de las manoproteínas.



Las manoproteínas previenen la formación de cristales; la eliminación parcial o completa de los coloides protectores presentes en los vinos genera una modificación del equilibrio que lleva a una disminución de la estabilidad tartárica. El mecanismo de acción se define como un tipo de inhibición competitiva, limitando la formación cristalina (Moutounet *et al.*, 1999). Las manoproteínas inhiben la nucleación de los cristales (etapa inicial de la formación cristalina), su efecto sobre el crecimiento cristalino es menos importante. Por tanto, la protección de un vino frente a la inestabilidad tartárica es efectiva sólo en ausencia de cristales (Moutounet *et al.* 1999).



Material y métodos

Los ensayos de validación aquí demostrados, fueron realizados en la Estación Experimental de Enología del INRA Pech Rouge, con vinos de 2004 y 2005.

Material

Vinos

- Mezcla de Grenache blanc y Viognier 2004 con un Grado de Inestabilidad Tartárica (DIT) del 18 % (Lote A) y del 22,5 % (Lote B).
- Sauvignon blanc 2005 con un DIT del 22 %.

Manoproteínas

Claristar™ puede ser utilizado para la estabilización tartárica del vino, de conformidad con el Codex Enológico Internacional de la OIV y el reglamento del Consejo Europeo CE No 2165/2005 de 20-12-2005.

Métodos

El vino fue dividido en dos lotes de 10 l de una mezcla de Grenache blanc / Viognier y 35 hl de Sauvignon.

El primer lote sirvió de testigo, sin tratar y el segundo fue tratado con Claristar™ a razón de 20 g/hl expresados como materia seca. Todos los vinos fueron previamente clarificados con bentonita a razón de 30 g/hl y luego filtrados con tierra blanca Kieselguhr.

Métodos de caracterización del vino

Los análisis siguientes fueron efectuados en el lote testigo y en el lote con agregado de Claristar™:

- Concentración de potasio (determinada por fotometría).
- Concentración de ácido tartárico (determinada por cromatografía HPLC iónica).
- Turbidez (determinada por nefelometría).
- Conductividad (referencia a 20 °C).
- pH.
- Vmax (flujo de filtración a 1 bar con una membrana de 25 mm de diámetro y una porosidad de 0,65 µm).
- Índice de colmatación (flujo de filtración a 2 bar con una membrana de 25 mm de diámetro y una porosidad de 0,65 µm).
- DIT : 4 g/l de cristales de KHT estándar fueron adicionados al vino a - 4 °C, bajo agitación constante de 500 tr/min. (Modelo basado en el tratamiento "de contacto" utilizado en las bodegas). La conductividad fue controlada durante 4 horas y los datos hasta el equilibrio fueron extrapolados. La inestabilidad fue expresada como porcentaje de disminución de la conductividad.

La mayor parte de los vinos comercializados presentaron un DIT de 20-25 % durante el embotellado.

Métodos de determinación de la estabilidad del vino

- Estabilización frío: el vino es conservado a - 4 °C.

La apariencia visual del vino es controlada cotidianamente hasta la aparición de los cristales (0 ausencia de cristales, * presencia probable de cristales, ** presencia visible de cristales).

En ausencia de cristales al cabo de seis días, un vino comercial es considerado como estable.

- ISTC 50 : 50 mg de KHT son disueltos en 100 ml de vino. El vino es enfriado a - 4 °C bajo agitación constante de 500 tr/min y luego se determina la conductividad. Los resultados son expresados como tiempo necesario (min) para obtener una disminución de la conductividad. Esta prueba es comparable a la prueba de estabilización por frío a -4 °C pero ofrece una respuesta más rápida.

Un vino tinto o rosado que debe ser comercializado, es considerado en general estable con ausencia de cristales tras 180 min, frente a 120 min para un vino blanco.

	Grenache / Viognier 2004 Lote A		Grenache / Viognier 2004 Lote B		Sauvignon 2005	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Contenido de alcohol	13.08	13.06	12.59	12.61	-	-
pH	3.43	3.43	3.42	3.42	3.39	3.37
Turbidez (NTU)	0.8	0.9	2	3.6	0.5	0.7
Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C	1638	1645	1836	1843	1708	1725
Ácido tartárico (g/l)	-	-	-	-	1.85	1.7
K+ (mg/l)	-	-	-	-	753	768
V max	-	-	-	-	4872	1044
Índice de colmatación	-	-	-	-	8	36
DIT	18 %	18.6 %	22.5 %	20 %	22 %	20.4 %

Tabla 1 : composición del vino antes y después del tratamiento con Claristar™.

Resultados y discusión

Efecto sobre la composición del vino

El contenido de alcohol, el pH, la turbidez, la conductividad, la concentración de ácido tartárico, la concentración de potasio, el Vmax, el índice de colmatación y el DIT fueron determinados en tres vinos antes y después de la adición de Claristar™. Los resultados están presentados en las Tablas 1 y 2.

■ Claristar™ no afectó la composición ni la turbidez del vino (Tabla 1). Los efectos de la adición de Claristar™ sobre el Vmax y el índice de colmatación son compatibles con las técnicas de embotellado.

Efecto sobre el perfil aromático del vino

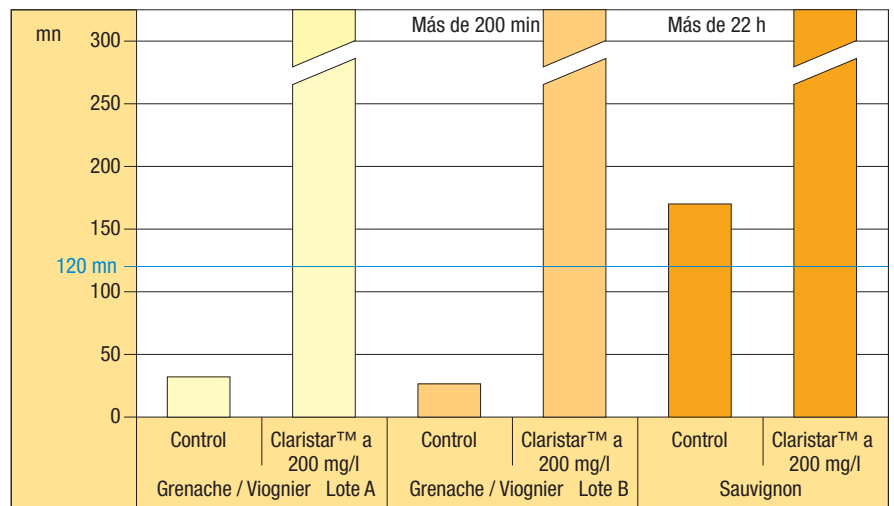
Una dosis de 20 g/hl (m.s.) de Claristar™ fue adicionada a un Sauvignon y a un Chardonnay. Cada uno de los vinos fue sometido a un test y comparado con un vino testigo.

■ Según las conclusiones de una cata triangular (n = 42) no se detectó ninguna diferen-

cia significativa en el perfil aromático de los vinos. (Riesgo β 50 % de 0,1 % y <0,01 %).

Efecto sobre la estabilidad del vino

Se efectuaron pruebas de estabilidad a -4 °C y ISTC 50 con los dos vinos antes (control) y después de la adición de Claristar™ (T0 = justo después del tratamiento del vino, T12 = tras 12 meses de conservación a 18 °C). Los análisis tras 12 meses fueron efectuados solamente con el Sauvignon 2005.



■ La Figura 3 ilustra el efecto de Claristar™ sobre el ISTC 50 del Viognier / Grenache y del Sauvignon. Los resultados fueron expresados como tiempo necesario para obtener una disminución de la conductividad. Un vino es considerado estable, en general, cuando se necesitan más de 120 min para percibir una disminución de la conductividad.

■ Todos los vinos sin tratar eran inestables (25 min para el Viognier-Grenache y 160 min para el Sauvignon), los vinos tratados con Claristar™ fueron todos estables con tiempos superiores a los 120 min.

Figura 3 : ISTC 50 (experimentaciones llevadas a cabo en el INRA). Tiempo antes de la disminución de la conductividad (min) en función del tipo de vino.



	Grenache / Viognier Lote A		Grenache / Viognier Lote B		Sauvignon	
	Control	Claristar™ a 200 mg/l	Control	Claristar™ a 200 mg/l	Control	Claristar™ a 200 mg/l
Día 1	*	0	*	0	0	0
Día 2	**	0	**	0	*	0
Día 3	-	-	-	-	**	0
Día 4	-	-	-	-	**	0
Día 5	**	0	**	0	**	0
Día 6	**	0	**	0	**	0
Día 7	**	0	**	0	**	0
Día 8	**	0	**	0	**	0
Día 9	**	0	**	0	**	0
Día 10	**	0	**	0	-	-
Día 16	-	-	-	-	-	0
Día 29	**	0	**	0	**	-
Día 33	**	0	**	*	-	-
Día 34	**	0	**	**	-	-
Día 36	**	0	**	**	-	-
Día 37	**	0	**	**	-	-

Tabla 2 : Efecto de Claristar™ sobre la cinética de aparición de cristales.

■ La Tabla 2 demuestra la eficacia de Claristar™, controlada mediante una prueba de estabilidad por frío a -4 °C :

■ los cristales aparecieron al cabo de uno o dos días en los vinos testigos, mientras que tras la adición de Claristar™ la aparición de los cristales se retrasó más de 29 días.

Por consiguiente, el agregado de Claristar™ permitió que estos vinos muy inestables puedan ser considerados como estables.

Efecto sobre la conductividad

Se determinó la conductividad del Sauvignon 2005. Los resultados están presentados en la Figura 4.

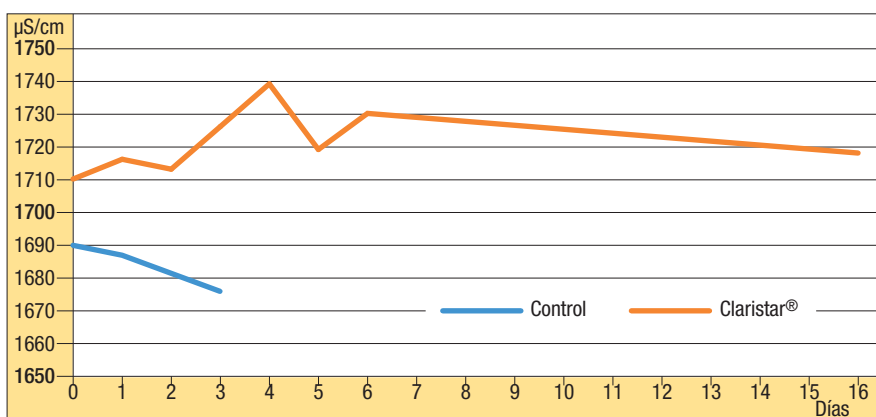


Figura 4: Conductividad en función del tiempo.

■ Se observó una disminución importante de la conductividad a partir del 3er día en el vino no tratado. No se observó ninguna disminución de conductividad en el vino tratado con Claristar™ tras 16 días a -4 °C. Este resultado es acorde con las observaciones visuales que confirman el efecto protector de Claristar™.



Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C	Control		Claristar™ a dosis de 200 mg/hl		
	Conductividad	Visual	Conductividad	Visual	
	ISTC 50 min	110	>300		
	Día 0	1702	-	1718	-
	Día 1	1717	0	1735	0
	Día 2	1719	0	1737	0
	Día 3	1702	*	1761	0
	Día 4	1654	**	1746	0
	Día 5	1620	**	1738	0
	Día 6			1734	0
	Día 7			1724	0
	Día 8			1739	0
	Día 9			1739	0
	Día 16			1719	0

0: ausencia de cristales,
*: presencia probable de cristales,
**: presencia visible de cristales.

Tabla 3: Conductividad y observación visual a -4 °C en función del tiempo y ISTC 50 tras 12 meses de conservación a 18 °C.

Estabilidad del vino en el tiempo

La estabilidad del Sauvignon fue verificada tras 12 meses de conservación a 18 °C. Los resultados están presentados en la Tabla 3.

La observación visual, las determinaciones de la conductividad y del ISTC 50 fueron repetidas.

■ Los resultados indican que incluso tras 12 meses de conservación, el vino tratado con Claristar™ conservó su estabilidad (ISTC 50 > 300 min y que no se observó ningún cristal después de 16 días a -4 °C). En conclusión, Claristar™ ha resultado ser muy eficaz sobre la estabilización del KHT del vino a largo plazo.

Conclusión

Estos estudios muestran la indiscutible eficacia de las manoproteínas Claristar™. Esta fracción específica de manoproteínas demostró ser muy eficaz contra la cristalización tartárica en todos los vinos estudiados durante un periodo de al menos 18 meses.

Las pruebas de estabilidad de los vinos continúan actualmente.

Claristar™ no modificó la composición ni las características organolépticas de los vinos. Estos trabajos prosiguen a través de comparaciones con las otras técnicas de estabilización tartárica.

Los resultados confirman ya que Claristar™ es una solución sencilla y muy eficaz para el problema de la precipitación tartárica.



Referencias

- "Un nuovo ingrediente per la stabilizzazione tartarica", *Vignevini* n°11- 2007. Delphine BOUISSOU, Alain SAMSON, Bernard SAINT-PIERRE, INRA - Unité expérimentale de Pech Rouge - Gruissan - France. Céline BAJARD-SPARROW, Mylène CAUSSETTE, Céline FAUVEAU, Phil LATHAM, Patrice PELLERIN, Peter LANKHORST, DSM Food Specialties.
- SCAZZOLA E., 1956. Sur un produit inhibiteur de la cristallisation du tartre dans les vins. *Ann. Falsif., Fraudes*, 49, 159.
- CARAFA P., 1958. L'acido metatartarico in enologia. *Rivista Vitic. Enol.*, 11, 363.
- KAPTEYN J.C., VAN DEN ENDE H., KLIS F.C., 1999. "The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall", *Biochim. Biophys. Acta* 1426, 373-383.
- LIPKE P.N. and OVALLE R., 1998. "Cell wall architecture in yeast: new struture and new challenges", *J. Bacteriol.* 180 (15), 3735-3740.
- LEDOUX V., DULAU L., DUBOURDIEU D., 1992. "Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies." *J. Int. Sci. Vigne et Vin* 26: 239-251.
- LUBBERS S., LEGER B., CHARPENTIER C., FEUILLAT M., 1993. Effet colloïde-protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'une solution hydro-alcoolique modèle. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 27, 13-22, 65-66.
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1997. "Interprétation moléculaire de l'amélioration de la stabilité protéique des vins blancs au cours de leur élevage sur lies."
- MOINE-LEDOUX V., DUBOURDIEU D., 1999. An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *J. Sci. Food Agric* 79 :537-543.
- MOUTOUNET M., BATTLE J. L., SAINT PIERRE B., ESCUDIER J. L., 1999. Stabilisation tartrique. Détermination du degré d'instabilité des vins. Mesure de l'efficacité des inhibiteurs de cristallisation. *CEnologie* 99. 6e symp. int. d'Enologie.
- RIBEREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A., DUBOURDIEU D., 1998. *Traité d'œnologie. Tome I : Microbiologie du vin. Vinifications. Traité d'œnologie.* Dunod. Bordeaux.
- SAINT PIERRE B., BATTLE J., ESCUDIER JL., MOUTOUNET M., 1995. *Symposium International d'œnologie de Bordeaux.*
- VIDAL S., WILLIAMS P., DOCO T., MOUTOUNET M. et PELLERIN P., 2003. The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterisation. *Carbohydrate Polymers*, 54, 439-447.
- WATERS E., PELLERIN P., BRILLOUET J.-M., 1994. A Saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrate Polymers* 23, 185-191.
- Vmax and coating index:
web reference:
<http://www.matevifrance.com/visualisation.asp?rub=7&ch=75&pg=130>.

