

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**CARACTERIZACIÓN DEL ANHÍDRIDO SULFUROSO Y NUEVAS
ALTERNATIVAS EN LA ELABORACIÓN DE VINOS**

POR

TULLIO NICOLAS MOSSO NEIRA

**MEMORIA PRESENTADO A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN –CHILE
2024**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN DEL ANHÍDRIDO SULFUROSO Y NUEVAS
ALTERNATIVAS EN LA ELABORACIÓN DE VINOS**

POR

TULLIO NICOLAS MOSSO NEIRA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesor Asistente Guillermo Pascual Aburto
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr.

Guía

Profesor Asociado Antonio Pinto Rodríguez
Ing. Agrónomo, Mg. Eco, PhD.

Asesor

Profesor Asociado Ignacio Serra Stepke
Ing. Agrónomo, MSc, PhD.

Asesor

Profesor Asociado Guillermo Wells Moncada
Ing. Agrónomo, Mg. Sc.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	1
Summary.....	1
Introducción.....	2
Desarrollo.....	3
Conclusiones.....	25
Referencias.....	26
Anexos.....	31

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

		Página
Figura 1	Forma estructural del SO ₂	6
Figura 2	Ecuación química del anhídrido sulfuroso.....	6
Figura 3	Especies de SO ₂ en solución acuosa y su representación en porcentaje del SO ₂ total en todo el intervalo de pH.....	7
Figura 4	Diagrama que muestra la inactivación por campo eléctrico pulsado (PEF) de los microorganismos causantes del deterioro del vino (T se refiere a la temperatura, que es inferior a 40 °C para un proceso no térmico).....	14
Figura 5	Diagrama que muestra la inactivación de los microorganismos causantes del deterioro del vino mediante el tratamiento a alta presión (HPP).....	16
Tabla 1	Resumen de las alternativas protectoras naturales probadas en los vinos.....	22

CARACTERIZACIÓN DEL ANHÍDRIDO SULFUROSO Y NUEVAS ALTERNATIVAS EN LA ELABORACIÓN DE VINOS.

CHARACTERIZATION OF SULFUR ANHYDRIDE AND NEW ALTERNATIVES IN WINE PRODUCTION.

Palabras índices adicionales: Antimicrobianos, SO₂, Salud, Alternativas, (conservantes)

RESUMEN.

El dióxido de azufre es esencial en la vinificación debido a su capacidad antimicrobiana, antioxidante y su habilidad para prevenir el pardeamiento no deseado en el vino. Aunque se extrae de diversas fuentes y se utiliza como aditivo en la elaboración de vinos bajo regulaciones específicas, la industria vinícola busca reducir su uso debido a preocupaciones concernientes a la salud humana. Se exploran alternativas como tecnologías térmicas y no térmicas, aunque ninguna ha igualado su efectividad conjunta hasta el momento. Simultáneamente, los consumidores valoran la sostenibilidad y naturalidad en los alimentos, incluyendo el vino. Prefieren la agricultura libre de químicos y la producción de vinos naturales, orgánicos y biodinámicos. A pesar de las investigaciones, el SO₂ sigue siendo la mejor opción para tres propiedades clave en la producción de vinos, pero se espera que futuros avances científicos encuentren alternativas más saludables y sostenibles para la industria vinícola. Según lo recopilado en esta monografía una alternativa viable al sulfuroso podría ser los extractos ricos en compuestos fenólicos, ya que se puede presentar como una opción natural y ecológicamente responsable en lugar de utilizar dióxido de azufre en la producción de vinos. De todas maneras, se debe continuar generando investigación en la búsqueda de vinos con menos adiciones de anhídrido sulfuroso.

SUMMARY

Sulfur dioxide is essential in winemaking due to its antimicrobial, antioxidant and its

ability to prevent undesirable browning in wine. Although it is extracted from various sources and used as an additive in winemaking under specific regulations, the wine industry is seeking to reduce its use due to health concerns. Alternatives such as thermal and non-thermal technologies are being explored, although none have matched their combined effectiveness so far. Simultaneously, consumers value sustainability and naturalness in food, including wine. They prefer chemical-free agriculture and the production of natural, organic and biodynamic wines. Despite research, SO₂ remains the best choice for three key properties in wine production, but future scientific advances are expected to find healthier and more sustainable alternatives for the wine industry. According to what has been compiled in this monograph, a viable alternative to sulfur dioxide could be extracts rich in phenolic compounds, since they can be presented as a natural and ecologically responsible option instead of using sulfur dioxide in wine production. In any case, research should continue in the search for wines with fewer sulfur dioxide additions.

INTRODUCCIÓN

Los sulfitos son compuestos que contienen el ión sulfito (SO₂⁻). El dióxido de azufre, con un largo historial de aplicación desde tiempos antiguos, es conocido por sus cualidades como agente de limpieza, desinfectante y purificador. Además de estas propiedades, los sulfitos desempeñan varios roles tecnológicos esenciales, ejemplificados por su uso como antioxidantes, agentes blanqueadores, agentes para el tratamiento de la harina y conservantes (Lien *et al.*, 2016). En la esfera alimentaria, se permite la presencia de sulfitos en diversos productos tales como los frutos secos, el vino, la cerveza, los zumos de frutas y zumos de verduras, bebidas aromatizadas a base de agua (Wu *et al.*, 2022). Su adopción en la industria alimentaria tiene como finalidad conservar el color natural de los alimentos, extender su vida útil y prevenir el desarrollo de microorganismos perjudiciales (Lien *et al.*, 2016). El dióxido de azufre en el vino puede estar presente como endógeno, formado durante los procesos de fermentación mediante la transformación enzimática de sustancias que contienen azufre como, por ejemplo, aminoácidos, tales como la cisteína, cistina, metionina, glutatión, sulfatos, azufre elemental por acción de *Saccharomyces cerevisiae*, por lo que estas levaduras pueden producir

pequeñas cantidades de SO_2 durante la fermentación que, por lo general, son inferiores a 10 mg L^{-1} , pero existen casos en donde pueden superar los 30 mg L^{-1} (Zara & Nardi, 2021).

Por otro lado, existe los sulfitos exógenos añadidos en los procesos de elaboración de los vinos (Kubáň et al., 2018). Sus propiedades lo convierten en una ayuda indispensable en la elaboración del vino. Tal vez algunos vinos puedan elaborarse en ausencia total o parcial de SO_2 , pero sería poco racional afirmar que todos los vinos producidos en las distintas bodegas del mundo puedan elaborarse de esta manera (Ribéreau-Gayon et al., 2012). Aun así, se utiliza en más del 99 % de las vinificaciones a nivel mundial, alrededor del 15 % de las más de 15.000 patentes para el estudio biológico del SO_2 están relacionadas con el vino (Considine & Foyer, 2015).

Las fases en las que se aconseja la adición de SO_2 en el vino para evitar la oxidación y el deterioro microbiano son, en la vendimia, en caso de vendimia mecánica, especialmente en vinos blancos y rosados, en las fases prefermentativas (uva y mosto), al final de la fermentación alcohólica o de la fermentación maloláctica, así como también en el acondicionamiento en botella o en el degüelle de los vinos espumosos antes del encochado final (OIV, 2020).

Debido a la importancia del uso del anhídrido sulfuroso durante el proceso de elaboración vinos, sumado a las tendencias de mercado y su efecto en la salud, se hace necesario detallar sus efectos en el vino e investigar la disponibilidad de productos alternativos a su uso. Con este fin, se realizó una revisión bibliográfica atinente al uso y las características del sulfuroso en la elaboración de vinos, las posibles alternativas existentes y los efectos en la salud humana.

DESARROLLO Y DISCUSION

Capítulo I. Datos históricos de uso del anhídrido sulfuroso en la enología

El dióxido de azufre (SO_2), un compuesto que se origina tanto de manera natural, por las erupciones volcánicas, como también por la intervención humana (Poujol, 2019). La historia del azufre está estrechamente vinculada a su combustión desde tiempos antiguos, descubierto de manera casual cuando el azufre caía en el fuego,

dando lugar a la formación de dióxido de azufre, su etimología se deriva de "sulfurium", término en latín que se traduce como "piedra ardiente" (Kutney, 2023).

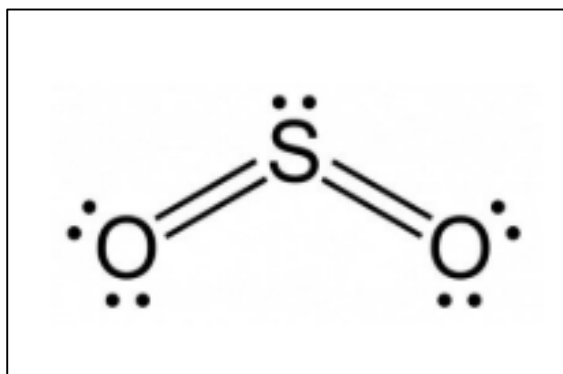
Este componente se encuentra en diversas industrias, inicialmente siendo suministrado principalmente por Sicilia, y más tarde se identificó un depósito subterráneo significativo en Florida, donde se implementó una técnica innovadora para su extracción (Fediuk et al., 2020; Flores Lequilgua, 2014; Katz, 2011). La producción a gran escala de dióxido de azufre se inició en el siglo XX, destacando el método de proceso de contacto, generando dióxido de azufre altamente purificado (Ashar, 2016). Variadas técnicas, como la tostación de gas y la oxidación del azufre, se emplean para obtener dióxido de azufre en estado líquido, y compuestos como sulfito sódico y metabisulfito de potasio se generan mediante procesos específicos, en donde se mezclan con soluciones que contiene sodio o hidróxido de potasio, respectivamente. (Shamsuddin, 2021; Kisielewski & Robertson, 2011; Tessengerlo Kerley, 2019). La historia del anhídrido sulfuroso, con registros de uso desde el 2000 a.C., destaca su empleo por los egipcios en procesos de blanqueo y la descripción de Homero (900 a.C.) que lo considera como un desinfectante (Poujol, 2019). La primera constancia documentada que hace referencia al empleo específico del azufre en el proceso de vinificación se encuentra en un decreto real alemán difundido en el año 1487 (Howard, 2016). En 1765, se crearon los "fósforos holandeses" para tratar barricas en el Medoc bordelés. Hacia finales del siglo XVIII y comienzos del XIX, el SO₂ se usaba para inhibir fermentación y prevenir deterioro y defectos en vinos. Hasta principios del siglo XX, los efectos en microorganismos y enzimas, junto a diversas técnicas de sulfitación, fueron estudiados y comprendidos (Poujol, 2019). Hoy en día, existe una lista relacionada al anhídrido sulfuroso y sus sales que están permitidas para su uso en los alimentos tales como el dióxido de azufre (E 220), el sulfito sódico (E 221), bisulfito de sodio (E 222), metabisulfito de sodio (E 223), metabisulfito de potasio (E 224), sulfito de calcio (E 226), bisulfito de calcio (E 227) y bisulfito de potasio (E 228) (Li et al., 2023). El dióxido de azufre y los sulfitos están aprobados como aditivos alimentarios bajo el Reglamento (CE) N° 1333/2008. Evaluados por FAO, OMS y JECFA en 1986 y 1998, también por SCF en 1994 y EFSA en 2004, 2014 y 2022. En la elaboración del vino,

el dióxido de azufre es ampliamente usado y debe cumplir con criterios de pureza según el Reglamento (UE) N° 231/2012 (Charrier et al., 2021). Las diferentes formas que se utilizan en las elaboraciones de vinos, se indican en la Tabla 2 del Anexo 1, en el que se expone el estado, forma de SO₂, utilización, ventajas y desventajas.

Capítulo 2. Química del anhídrido sulfuroso

El dióxido de azufre (INS 220) posee un peso molecular de 64,06 g mol⁻¹. Los sinónimos más utilizados de SO₂, anhídrido ácido sulfuroso, y óxido sulfuroso (Stockley et al., 2021). El dióxido de azufre es un gas incoloro, no inflamable, con un fuerte olor acre y sofocante. Es soluble en agua (110 g L⁻¹ a 20 °C) y etanol (114 v en 1 v) (EFSA Panel on Food additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2016). En la Figura 1 se representa su fórmula estructural.

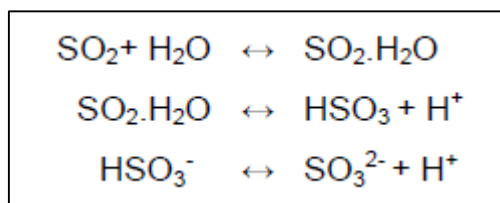
Figura 1. Forma estructural del SO₂.



Fuente: Adaptada de Stockley et al. (2021).

El SO₂ es uno de los productos enológicos más utilizados en vinificación, por su actividad antioxidante, antioxidásica y antimicrobiana. El SO₂ se adiciona principalmente en la etapa pre-fermentativa sobre la uva o mosto, una vez finalizada la fermentación y antes de embotellar los vinos (Marchante-Cuevas, 2022). Una vez que se añade dióxido de azufre al vino o en cualquier solución acuosa, se disocia en tres especies moleculares, SO₂ molecular (SO₂ H₂O), bisulfito (HSO₃⁻) y sulfito (SO₃⁻²) (Divol et al., 2012). En Figura 2 se muestran las equivalencias químicas para las distintas formas de SO₂ presentes en el vino.

Figura 2. Ecuación química del anhídrido sulfuroso.

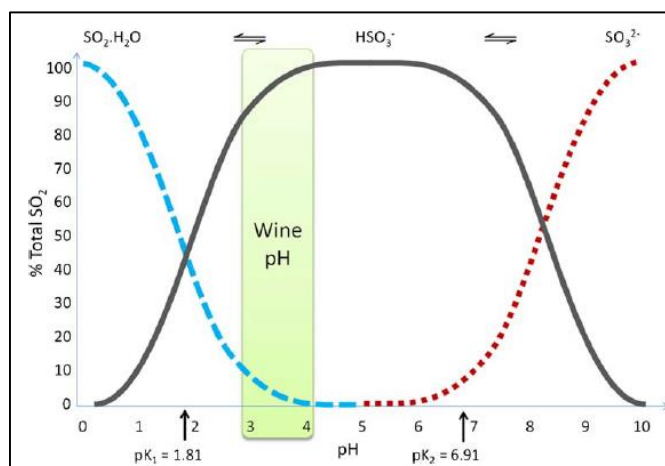


Fuente: Adaptada de Duckitt.(2012).

El pH del vino influye en el equilibrio químico entre las especies. El SO₂ molecular predomina en pH 0 - 2 (pK₁ = 1,81), el bisulfito aniónico en pH 2 - 7 (pK₂ = 6,91) y el sulfito en pH 7-10. Dado que los vinos suelen tener pH 3 - 4, el bisulfito HSO₃⁻ es dominante (>90 %), el SO₂ molecular contribuye 0 - 5 %, y el sulfito es insignificante (Duckitt, 2012; Lisanti et al., 2019) (Figura 3). Estas tres especies moleculares se conocen como “SO₂ libre” (Tedesco et al., 2022). El grado alcohólico y la temperatura también afectan el equilibrio entre bisulfito y el SO₂ molecular, por lo que, a mayor temperatura y mayor concentración de alcohol, aumenta el SO₂ molecular (Lisanti et al., 2019). La concentración de SO₂ libre en el vino es crucial, ya que solo esta fracción posee propiedades antimicrobianas y antioxidantes, siendo el SO₂ molecular 100 a 500 veces más potente contra la inhibición de microorganismos que el ion bisulfito (Divol et al., 2012).

Numerosos compuestos relacionados con el vino pueden unirse a las formas reactivas de bisulfito y sulfito que se encuentran en el vino, HSO₃⁻ y SO₃²⁻, respectivamente (Duckitt, 2012), su notable actividad en estas reacciones se debe a su capacidad para realizar adiciones nucleófilas sobre grupos carbonilo, dobles enlaces carbono-carbono, enlaces disulfuro de cisteína, grupos piridina, residuos de pirimidina y compuestos aromáticos (Garcia-Fuentes et al., 2015). Estos componentes electrofílicos incluyen biomoléculas tales como azúcares, proteínas, nucleótidos, lípidos, vitaminas, coenzimas, cofactores, grupos prostéticos, fitoquímicos y otras moléculas orgánicas pequeñas como los aldehídos, cetonas, polifenoles (Divol et al., 2012; Li et al., 2023).

Figura 3. Especies de SO₂ en solución acuosa y su representación en porcentaje del SO₂ total en todo el intervalo de pH.



Fuente: Adaptada de Divol et al. (2012).

En términos de unión a otras moléculas, se observa una combinación tanto reversible como irreversible. En el caso de la fracción de SO₂ ligada al acetaldehído, su utilidad en la protección del vino es limitada debido a la alta estabilidad e irreversibilidad de esta unión. Por otro lado, la formación de enlaces entre el SO₂ y especies como el ácido pirúvico y el cetoglutarato son reversibles (Lisanti et al., 2019). Estos enlaces débiles formados por el SO₂ unido permite que se desprenda de las moléculas para volver a agregarse a la concentración de SO₂ libre o volver a unirse a otra molécula (Pezley, 2015). Por lo tanto, la suma de las formas combinadas y la suma de SO₂ molecular, HSO₃⁻ y SO₃²⁻ sin combinar se llama SO₂ total (Raposo, 2017).

1. Mecanismo de acción del SO₂

1.1 Antimicrobiano

La forma química del dióxido de azufre (SO₂) es el factor clave en su actividad antibacteriana. El SO₂ molecular presenta la mayor eficacia antimicrobiana, seguido por el HSO₃⁻, mientras que el SO₂ ligado tiene una influencia antimicrobiana limitada (Ribéreau-Gayon et al., 2006). El SO₂ en forma molecular puede fácilmente penetrar los microorganismos y convertirse principalmente en HSO₃⁻. Esta conversión continúa hasta que la cantidad de SO₂ es igual en ambos lados de la membrana

celular (Divol et al., 2012; Zara & Nardi, 2021). Por un lado, este fenómeno desencadena el deterioro de la membrana celular, la liberación de metabolitos intracelulares, la alteración del pH intracelular y la disminución del suministro de oxígeno en las células de los microorganismos (Li et al., 2023). Por otro lado, una vez que el SO_2 penetra en la célula, interactúa con diversos componentes intracelulares debido a sus propiedades nucleofílicas. Entre estos componentes se encuentran proteínas, sistemas enzimáticos, ácidos nucleicos y vitaminas, ejerciendo así un impacto significativo en las funciones celulares y en los procesos metabólicos (Divol et al., 2012). Específicamente, puede reaccionar con los enlaces disulfuro y los grupos tiol de proteínas o enzimas, formando S-sulfonatos, lo que conlleva a una posible modificación de las estructuras proteicas. Como resultado, se inactivan enzimas y proteínas que desempeñan un papel crucial en procesos clave del ciclo de vida de los microorganismos, como el gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), la ATPasa y la NAD^+ -glutamato deshidrogenasa (Li et al., 2023). Además, varias coenzimas microbianas, cofactores y grupos prostéticos como el NAD^+ , flavina, tiamina, ácido fólico y piridoxal, también puede afectar a metabolitos celulares estos podrían ser atacados nucleofílicamente por el SO_2 (Divol et al., 2012).

De manera global, el dióxido de azufre (SO_2) efectivamente suprime la proliferación de microorganismos al entorpecer las funciones internas celulares. Lamentablemente, los microbios han generado resistencia al SO_2 . Un ejemplo es la levadura, que ha aumentado la expresión de genes relacionados con proteínas específicas de la membrana celular y enzimas vinculadas a la producción de lípidos, así como a la asimilación y flujo del SO_2 (Zara & Nardi, 2021).

1.2 Protección contra oxidación

La clasificación de la oxidación y el pardeamiento del vino se divide en dos categorías: enzimático y no enzimático. La oxidación enzimática tiene lugar en el mosto de uva, mientras que la no enzimática se desarrolla en la uva, el mosto y el vino. Durante el procesamiento de la uva, las polifenoloxidasas (PPO) desempeñan un papel central, seguidas por la lacasa y la peroxidasa (POD) de la uva, generando

el oscurecimiento enzimático (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). El SO₂ puede inhibir el pardeamiento enzimático por medio de tres posibles enfoques: inactivación irreversible de PPO, reducción de *o*-quinonas y la adición a *o*-quinonas para prevenir la formación de pigmentos oscuros (Kuijpers et al., 2012).

En el caso del pardeamiento no enzimático, el SO₂ interactúa con grupos carbonilo, formando un compuesto intermedio que interrumpe la reacción de Maillard. La 3,4-dideoxi-4-sulfohexosulosa (DSH) es un producto de reacción del SO₃⁻² y actúa como inhibidor del pardeamiento de Maillard (Li et al., 2023). En términos de oxidación química, el SO₂ actúa como antioxidante al reaccionar con peróxido de hidrógeno y reducirlo a agua. Esta reacción ralentiza la formación de pigmentos oscuros al interactuar con quinonas y semi-quinonas, evitando la polimerización (Raposo, 2017).

1.3 Efecto disolvente

La presencia de SO₂ libre en la vinificación de vino tinto juega un papel fundamental al facilitar la extracción de diversos compuestos, incluyendo minerales, ácidos orgánicos y especialmente compuestos fenólicos como antocianos y taninos (Raposo, 2017). Este efecto solvente se atribuye a la ruptura de las células de la piel de la uva, permitiendo que sus componentes solubles se liberen más fácilmente. Este proceso es especialmente eficaz en la extracción de pigmentos de la uva durante la maceración con sulfitos (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). Los sulfitos descomponen las estructuras celulares, especialmente en la piel de la uva, permitiendo que los componentes pasen al mosto. En una vinificación estándar, esto tiene poco impacto debido a las dosis y la fracción molecular limitada del anhídrido sulfuroso. Sin embargo, se vuelve relevante en técnicas como la termomaceración con dosis altas de anhídrido sulfuroso y altas temperaturas, y en la maceración sulfítica pre-fermentativa (Hidalgo-Togores, 2011).

1.4 Efecto sobre aromas y gusto

El uso excesivo de dióxido de azufre (SO₂) puede perjudicar la calidad del vino, generando sabores y aromas indeseables, y empañando su estado durante el

almacenamiento. Dosis elevadas eliminan el aroma del vino, mientras que cantidades mayores causan un olor a lana mojada que rápidamente se torna asfixiante y molesto, acompañado de una sensación de quemazón en el retrogusto (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). El SO_2 puede reaccionar con diversos compuestos del vino, como acetaldehído, ácido pirúvico, ácido 2-oxoglutárico, ácidos hidroxicinámicos y azúcares reductores. Estas reacciones reducen la velocidad de la polimerización fenólica provocando cambios en el color y sabor del vino durante el envejecimiento (Raposo, 2017). El SO_2 se combina con el acetaldehído para generar ácido sulfuroso aldehído, compitiendo con el peróxido de hidrógeno para prevenir la formación no deseada de sabor a acetaldehído en el vino (Yıldırım & Darıcı, 2020). El acetaldehído tiene una importancia crucial, al ser la molécula intermedia en la reacción de polimerización entre antocianinas y flavonoles (Raposo, 2017). La sulfatación generalmente realza el sabor del vino, especialmente en casos de uvas en descomposición o variedades menos nobles, y también conserva ciertos sabores en vinos jóvenes. Esto es importante cuando condiciones como la fermentación anaeróbica estricta, especialmente en lías de levadura, pueden derivar en la generación de sulfuro de hidrógeno y mercaptanos a partir del SO_2 añadido (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). En el Anexo 2 se resume los principales mecanismos de acción (antimicrobiano, pardeamiento, y antioxidativo) del SO_2 en alimentos.

Capítulo 3: Salud

La industria vinícola actualmente se enfrenta al desafío de responder a la demanda de los consumidores de reducir la cantidad de dióxido de azufre (SO_2) añadida a los vinos, especialmente debido a las asociaciones con riesgos para la salud, como reacciones alérgicas en individuos sensibles a los sulfitos, por lo que se estima que aproximadamente el 1 % de la población presenta una sensibilidad elevada a los sulfitos (Gutiérrez-Escobar, 2023). El SO_2 puede metabolizarse y excretarse en el organismo, pero una ingesta excesiva o en personas sensibles puede causar efectos tóxicos. La deficiencia o disfunción del SO_2 es común en humanos y es la causa principal de hipersensibilidad y toxicidad por SO_2 (Li et al., 2023). La

exposición excesiva al SO_2 afecta a sistemas como el respiratorio, cardiovascular, nervioso y digestivo, causando irritación en membranas mucosas de nariz, garganta y pulmones, además de dolores de cabeza, náuseas y asma (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). Li et al. (2023) señalan que el SO_2 podría actuar como promotor de tumores o cocarcinógeno, posiblemente al activar protooncogenes e inhibir la expresión de genes supresores de tumores. La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) señaló que, en disolución, existe un equilibrio entre dióxido de azufre y los iones bisulfito y sulfito, favoreciendo iones bisulfito en niveles de pH estomacal y sulfito en niveles fisiológicos como en el intestino delgado. Por tanto, se consideró que, una vez ingeridos estos aditivos, su capacidad de formar iones sulfito puede ser extrapolada y tratados como grupo. A través de la reevaluación más reciente de SO_2 realizada por Younes et al. (2022) se estableció un nuevo límite de confianza inferior de 38 mg de equivalentes de $\text{SO}_2 \text{ kg}^{-1}$ de peso corporal al día, menor al punto de referencia anterior de 70 mg kg^{-1} de peso corporal al día. Esta disminución se basó en nuevos hallazgos que respaldan los efectos neurotóxicos de los sulfitos, particularmente la prolongación de la latencia del potencial evocado visual (PEV). Basado en este valor, para un consumidor de 60-80 kg de peso, la dosis diaria aceptable oscila entre 42 y 56 mg por litro/día. Es importante notar que un consumidor que beba solo medio litro de vino podría fácilmente exceder este valor (Yıldırım & Darıcı, 2020).

Con la comprensión de los efectos adversos del SO_2 , se han introducido regulaciones y normas legales en la legislación nacional/internacional relacionadas con el SO_2 utilizado en los vinos. En la legislación de la Unión Europea, los fabricantes están obligados a especificar en la etiqueta que "contiene sulfitos", en el caso de contenido de sulfitos superior a 10 mg L^{-1} en los alimentos (Reglamento CE nº 203/2012) (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). Según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), estos límites son de 150 mg L^{-1} para vinos tintos y vinos blancos es de 200 mg L^{-1} (Santos et al., 2012). En Chile según el decreto N° 78 en donde fija normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres, indica que todas las bebidas fermentadas que contengan a lo menos 30 g L^{-1} de azúcares totales, se les permitirá un máximo

de 400 mg L⁻¹ de anhídrido sulfuroso total y 100 mg al estado libre, y tratándose de sulfatos, 4 g L⁻¹ en sulfato de potasio. En el Anexo 3 se resumen los límites máximos de SO₂ de acuerdo a la cantidad de azúcar en el vino, por diferentes regulaciones.

Capítulo 4: Alternativas del anhídrido sulfuro

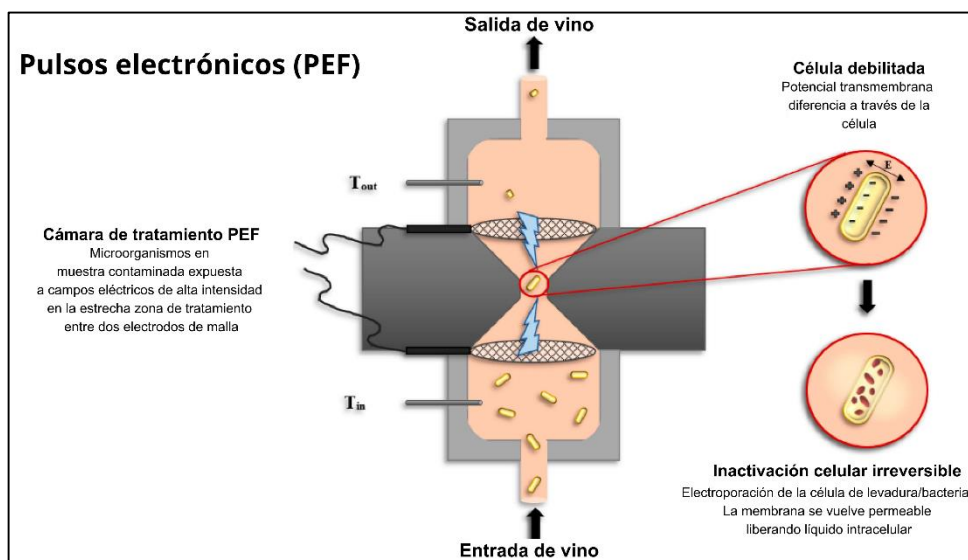
En los últimos tiempos, se ha intensificado la investigación acerca de reducir la presencia de dióxido de azufre en el vino tinto, explorando aditivos alternativos. En este sentido, la regulación vitivinícola permite la incorporación de diversas moléculas, algunas de las cuales son potenciales reemplazos o complementos al dióxido de azufre. Además, se está llevando a cabo una continua búsqueda de nuevos productos con el objetivo de contrarrestar los efectos del SO₂ (Giacosa et al., 2019).

El desarrollo de alternativas de SO₂ durante la producción de vino deben cumplir con una serie de criterios esenciales tales como: i) La salud humana no debe verse afectada negativamente; ii) Debe estar fácilmente disponible y ser barato; iii) Debe tener propiedades antimicrobianas y antioxidantes; iv) Las sustancias o técnicas no deben causar cambios muy grandes en la calidad del vino (Yıldırım & Darıcı, 2020). Estas alternativas se clasifican en dos grupos, tecnología térmicas y no térmicas. El empleo de tecnologías térmicas resulta inadecuado en el contexto de la industria vitivinícola (Silva & van Wyk, 2021). Dependiendo de los tratamientos estas temperaturas pueden variar entre 35-45 °C hasta los 70 °C, como consecuencia la temperatura podrían tener un efecto adverso sobre los compuestos fenólicos del vino sensibles al calor y otros componentes bioactivos, ya que estos pueden estar sujetos a degradación térmica al aplicar calor excesivo (Yıldırım & Darıcı, 2020). Estas tecnologías térmicas pueden provocar alteraciones en el sabor, aroma y color del vino, lo cual es perjudicial para su calidad. Por esta razón, el uso de tecnologías no térmicas para la producción, envejecimiento y conservación del vino ha suscitado un gran interés. La aspiración es que estas técnicas permitan reducir la dependencia del aditivo SO₂ en la producción vinícola, manteniendo o mejorando las cualidades inherentes al vino (Silva & van Wyk, 2021). Dentro de las alternativas no térmicas se encuentran las técnicas de pulsos eléctricos, ultrasonidos, luz ultravioleta y alta

presión hidrostática, como opciones viables al SO₂ en el contexto de la elaboración de vinos (Santos et al., 2012).

Pulsos electrónicos (PEF): Se presenta como una alternativa innovadora en el control microbiológico durante el proceso de vinificación. Su viabilidad ha sido confirmada tanto en mostos como en vinos, logrando la desactivación de levaduras y bacterias lácticas (Yıldırım & Darıcı, 2020). Esta metodología involucra la emisión de pulsos eléctricos breves (μs) de alto voltaje (hasta 70 kV cm^{-1}) a productos dispuestos entre dos electrodos (Figura 4) (Silva & van Wyk, 2021). Adicionalmente, la aplicación del tratamiento PEF a las uvas ha demostrado ser una estrategia eficaz para facilitar la liberación de componentes aromáticos. Esta técnica contribuye a la mejora de la composición volátil y los elementos aromáticos presentes en el producto. Asimismo, puede potenciar la extracción de precursores moleculares aromáticos alojados en la piel de la uva, lo que en última instancia contribuye a realzar el perfil aromático de los vinos terminados (Chen et al., 2022).

Figura 4: Diagrama de inactivación por campo eléctrico pulsado (PEF) de los microorganismos causantes del deterioro del vino (T se refiere a la temperatura, que es inferior a 40 °C para un proceso no térmico).



Adaptado por Silva & van Wyk (2021).

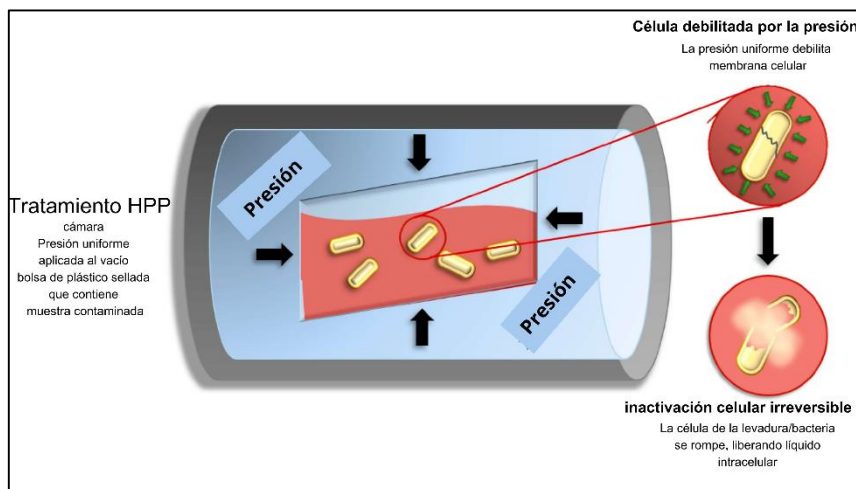
Ultrasonido (HPU): La utilización de ultrasonidos representa un método de control de microorganismos en productos alimenticios a través de la emisión de ondas sonoras con frecuencias superiores a 14-16 kHz. En el contexto de la vinificación, la aplicación de ultrasonidos de alta potencia (HPU) ha demostrado ser efectiva en la inhibición del deterioro del vino, en la inactivación de microorganismos no deseados, como la levadura *S. cerevisiae* en zumo de uva tinta, la aceleración del envejecimiento y la mejora de la extracción de compuestos fenólicos (como antocianinas y taninos) presentes en la uva (Tiwari et al., 2010; Lisanti et al., 2019). Jiranek et al. (2008) han propuesto que la tecnología HPU puede ser empleada para desactivar microorganismos indeseados sin impactar el color y sabor del vino. Además, Masuzawa et al. (2000) observó que la utilización de ultrasonidos puede aumentar la presencia de ciertos compuestos fenólicos en vinos tintos.

Otros estudios han evaluado el efecto de los ultrasonidos en el tratamiento de flujo continuo, demostrando que la aplicación de HPU mediante un procesador ultrasónico (400 W, 24 kHz, 100 μ m de amplitud), a distintas temperaturas del vino (30 y 40 °C), tiene como resultado una reducción significativa en el número de levaduras *Brettanomyces* y bacterias lácticas (BAL) en los vinos. Los resultados indicaron una disminución satisfactoria de las levaduras *Brettanomyces* (89,1 % - 99,7 %) y de las bacterias lácticas (71,8 % - 99,3 %). Es esencial tomar precauciones para mantener las propiedades sensoriales del vino intactas durante la aplicación de la tecnología HPU (Yıldırım & Darıcı, 2020).

Presión hidrostática (HP): La alta presión hidrostática (HP) es una técnica no térmica que somete productos a presiones instantáneas y uniformes entre 100 y 1.000 MPa, independientemente de su tamaño y geometría (Figura 5). La HP es considerada una tecnología ecológica debido a su uso eficiente de agua como medio de compresión y su alta eficiencia energética (Santos et al., 2012). Mediante esta técnica, se logra inhibir el crecimiento microbiano al afectar las membranas celulares, desnaturalizar proteínas y causar la pérdida de solutos (Gutiérrez-Escobar, 2023). Por su forma de acción, puede utilizarse para inactivar microorganismos no deseados en el vino y el mosto, como bacterias del ácido

acético, bacterias del ácido láctico, mohos y levaduras, contribuyendo positivamente a la calidad del vino (Yıldırım & Darıcı, 2020).

Figura 5: Diagrama que muestra la inactivación de los microorganismos causantes del deterioro del vino mediante el tratamiento a alta presión (HPP).



Adaptado por Silva & van Wyk (2021).

Aunque la aplicación de alta presión puede tener sutiles efectos en las propiedades sensoriales y químicas del vino blanco y tinto, bajo ciertas condiciones no se observan diferencias significativas en la calidad sensorial ni en las propiedades antioxidantes y fenólicas (Silva & van Wyk, 2021).

Luz UV: La radiación ultravioleta (UV) puede emplearse como un tratamiento no térmico para reducir la carga microbiana en alimentos y materiales relacionados con la alimentación. El espectro de radiación electromagnética de la UV abarca longitudes de onda de 100 a 400 nm (Santos et al., 2012). Entre estas, las longitudes de onda más efectivas para la actividad antimicrobiana se sitúan entre 200 y 280 nm. Específicamente, la longitud de onda de 254 nm (UV-C) ha demostrado ser eficaz para inhibir bacterias acidificantes como las del ácido láctico y el ácido acético. Cabe destacar que esta tecnología UV no afecta otros parámetros de calidad del producto, como el pH, el contenido de ácido tartárico y el nivel de alcohol (Yıldırım & Darıcı, 2020).

La inactivación de microorganismos, tanto bacterias como levaduras, a través de la radiación UV se atribuye a las alteraciones inducidas en su ADN, lo que les impide reproducirse. Las levaduras tienden a mostrar mayor resistencia que las bacterias, siendo las bacterias Gram (-) más susceptibles (Lisanti et al., 2019). Por lo tanto, los microorganismos presentes en las uvas y los vinos blancos tienden a ser más susceptibles a la inactivación mediante irradiación UV en comparación con aquellos en uvas y vinos tintos. Esto se debe a la influencia de factores como la absorción, el color, la densidad, los sólidos solubles y los materiales en suspensión en las bebidas, que impactan en la penetrabilidad y la eficacia de la UV-C (Silva & van Wyk, 2021).

En la búsqueda por reducir la necesidad de emplear niveles elevados de dióxido de azufre (SO₂) en la elaboración del vino, se ha explorado una variedad de conservantes químicos. Se ha propuesto recientemente la utilización de compuestos químicos con la capacidad de prevenir la oxidación del vino y de inhibir el crecimiento de microorganismos no deseables en este proceso (Yıldırım & Darıcı, 2020). Entre las alternativas consideradas se destacan la incorporación de dicarbonato de dimetilo (DMDC), complejos de plata, quitosano, glutatión y extractos vegetales ricos en compuestos fenólicos. Además de estas opciones, también se ha investigado la viabilidad de sustitutos bioquímicos, como bacteriocinas, lisozima y levaduras no *Saccharomyces* (Gutiérrez-Escobar, 2023).

Dicarbonato de dimetilo (DMDC): Es un compuesto con la capacidad de ejercer una inhibición sobre microorganismos mediante la reacción irreversible con grupos amino en los sitios activos de enzimas celulares, en particular alcohol deshidrogenasa y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Lisanti et al., 2019). Para su uso como aditivo en vinos, se establece un límite de 200 mg L⁻¹, lo cual ha sido respaldado por aprobaciones tanto de la Unión Europea como de Estados Unidos (Santos et al., 2012). Su incorporación se realiza en vinos con contenidos residuales de azúcares iguales o superiores a 5 g L⁻¹, y se precisa que esta adición se efectúe poco antes del embotellado (Divol et al., 2012). La efectividad antimicrobiana del DMDC en el vino está condicionada por factores como la temperatura, el contenido de etanol, el pH y, de manera esencial, las cepas y la

concentración de microorganismos inicial (Santos et al., 2012). Si bien la dosis máxima legalmente permitida de DMDC resulta ser un conservante eficaz para controlar las tasas bajas de contaminación por levaduras, muestra su ineficacia contra las bacterias del ácido láctico y acético presentes en los vinos. Adicionalmente, la acción del DMDC es de carácter temporal, lo cual desaconseja su empleo para el almacenamiento prolongado del vino (Yıldırım & Darıcı, 2020). Este producto se considera tóxico por inhalación y nocivo por ingestión, por lo que para degustaciones de vinos con DMDC deben llevarse a cabo únicamente cuando el compuesto no sea detectable (Gutiérrez-Escobar, 2023).

Complejos de plata: A lo largo de la historia, se ha reconocido el potencial antimicrobiano de la plata. En la actualidad, los nanomateriales de plata se emplean en la industria alimentaria tanto para la purificación del agua como en la creación de nuevos materiales de envasado con propiedades antimicrobianas. Estos materiales han demostrado su efectividad frente a una amplia gama de bacterias, tanto Gram negativas como Gram positivas (Garde-Cerdán et al., 2014). Aunque el mecanismo exacto de acción aún no se ha entendido por completo, las pruebas experimentales existentes apoyan diferentes mecanismos correlacionados con las propiedades fisicoquímicas de estos materiales, como el tamaño y la superficie, que les permiten interactuar o atravesar las paredes o membranas celulares, afectando directamente a los componentes intracelulares. En experimentos se ha constatado que una dosis de 1 g kg^{-1} en uva puede controlar el crecimiento de bacterias acéticas y bacterias lácticas, permitiendo que el crecimiento de la levadura *S. cerevisiae* se desarrolle a tasas comparables a las observadas con el uso de SO_2 (Tedesco et al., 2022).

Las regulaciones del OIV establecen un máximo permitido de 1 g hL^{-1} en la utilización de estos complejos de plata, junto con un valor residual máximo de plata en el vino tratado de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (OIV, 2021). Es relevante señalar que los complejos de plata presentan la limitación al reemplazar o sustituir al SO_2 , ya que carecen de propiedades antioxidantes. Por lo tanto, su aplicación requiere de la combinación con antioxidantes autorizados para evitar desequilibrios en el proceso (Gutiérrez-Escobar, 2023).

Quitano: Es un polisacárido derivado de la quitina, constituye uno de los biopolímeros más predominantes en la naturaleza después de la celulosa. Esta sustancia se encuentra principalmente en crustáceos y moluscos. Aunque la quitina es insoluble en solventes comunes, es obtenido mediante la eliminación del grupo acetilo, presenta una mayor solubilidad (Tedesco et al., 2022). Sin embargo, la solubilidad del quitano puede verse afectada en condiciones ácidas, pudiendo ser mejorada mediante el uso de ciertos ácidos orgánicos, como el ácido acético. El quitano también exhibe una elevada viscosidad y la capacidad de coagular proteínas a pH elevados. En la vinificación, el quitano puede desempeñar un papel como agente protector contra el deterioro bacteriano. Al añadirse al vino, sus principales objetivos son controlar la presencia de *Brettanomyces spp.*, bacterias lácticas, y la eliminación de micotoxinas y metales como hierro, plomo, cadmio y cobre (Gutiérrez, 2023).

En el proceso de vinificación, se ha permitido la utilización de quitano derivado de hongos, especialmente del *Aspergillus niger*. Es importante tener en cuenta que existen dosis máximas permitidas para diferentes propósitos en la elaboración del vino. Por ejemplo, la dosis máxima autorizada de quitano es de 10 g L⁻¹ cuando se utiliza para reducir la población de *Brettanomyces spp.*, 100 g L⁻¹ como clarificante para disminuir las concentraciones de metales como hierro, plomo, cadmio y cobre, con el objetivo de prevenir precipitaciones férricas y cúpricas, y 500 g hL⁻¹ para reducir los niveles de la micotoxina ocratoxina A (OIV, 2021).

Bactericidas: Las bacteriocinas son péptidos con propiedades antimicrobianas que previenen la degradación bacteriana en los alimentos. Estas sustancias se producen fuera de las células por diversos tipos de bacterias, incluyendo tanto las de tipo Gram positivo como Gram negativo. Dos bacteriocinas ampliamente empleadas en la industria alimentaria son la nisina y la pediocina, ambas producidas por ciertas bacterias ácido lácticas específicas (Yıldırım & Darıcı, 2020). La nisina es la única bacteriocina comercialmente disponible y ha demostrado ser eficaz para inhibir el crecimiento de bacterias causantes de alteraciones en el vino (Santos et al., 2012). Su espectro inhibitorio abarca una variedad de bacterias Gram positivas y ha sido evaluada como inhibidora tanto de bacterias enológicas como ácido lácticas

(*Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, y *Pediococcus*), bacterias acéticas y levaduras, tanto individualmente como en combinación con etanol y SO₂. Las bacterias Gram positivas, particularmente *Oenococcus oeni*, demostraron mayor sensibilidad en comparación con las bacterias Gram negativas, mientras que las levaduras mostraron mayor resistencia (Gutiérrez-Escobar, 2023).

La pediocina ejerce efectos inhibitorios tanto por sí misma como en combinación con dióxido de azufre o etanol, sobre el crecimiento de las bacterias ácido lácticas. Entre ellas, *Oenococcus oeni* resulta ser particularmente sensible a la pediocina, en comparación con otras especies de bacterias ácido lácticas. No obstante, se ha observado que la pediocina producida por estas bacterias no resulta eficaz contra las levaduras (Yıldırım & Darıcı, 2020).

El uso de bacteriocinas presenta algunas limitaciones, ya que aún no han sido autorizadas por la OIV. Además, se requiere destreza en la técnica de preparación y aplicación. Se necesitan más investigaciones para comprender el efecto de bacteriocinas como la nisina, pediocina o plantaricina en el vino, así como en el crecimiento de bacterias enológicas, tanto individualmente como en combinación con otros conservantes que puedan complementar su falta de actividad antioxidante. Esto es esencial para asegurar la conservación del vino a lo largo de su proceso de producción, almacenamiento y maduración (Gutiérrez-Escobar, 2023).

Lisozima: La lisozima, una proteína derivada de la albúmina del huevo, ha demostrado ser un agente antimicrobiano eficaz en diversos alimentos, y su aplicación en la vinificación se debe a su óptima estabilidad y actividad en un rango de pH entre 2,8 y 4,2 (Santos et al., 2012). Su capacidad para actuar contra microorganismos depende de la estructura de la pared celular, lo que la hace altamente efectiva frente a bacterias Gram positivas, pero con una acción limitada contra las bacterias Gram negativas y nula contra las células eucariotas. Por lo tanto, la lisozima no puede controlar las levaduras de deterioro, como las *Dekkera/Brettanomyces* y las bacterias del ácido acético (AAB), que son Gram negativas (Lisanti et al., 2019). Estudios han demostrado que la actividad de la lisozima es más pronunciada en vinos blancos que en tintos, posiblemente debido

a la presencia de una mayor cantidad de componentes fenólicos en los tintos que pueden interactuar con la lisozima (Santos et al., 2012). Aunque la lisozima ha mostrado ser eficaz contra varios microorganismos en el vino, especialmente ciertas cepas de bacterias lácticas, las cepas de *Lactobacillus* y *Pediococcus* han demostrado una mayor resistencia incluso a concentraciones más altas de lisozima (Yıldırım & Darıcı, 2020).

En los vinos tratados con lisozima, no se han observado cambios significativos en el aroma, y se ha constatado una menor acidez volátil y contenido de aminas biógenas (Santos et al., 2012). Además, la combinación de lisozima con otros compuestos, como la nisina y los taninos hidrolizables, no solo ha mantenido la actividad antimicrobiana contra las bacterias ácido-lácticas, sino que también ha mejorado la calidad sensorial en comparación con los vinos tratados con SO₂ (Gutiérrez-Escobar, 2023). La lisozima demuestra una mayor actividad a medida que el pH del vino experimenta un aumento, especialmente en condiciones más alcalinas dentro de su rango de efectividad, lo que la convierte en un apoyo valioso para la protección antimicrobiana en mostos y vinos con pH elevado. Sin embargo, debido a su falta de propiedades antioxidantes y a su actividad limitada contra AAB y levaduras, la lisozima no puede reemplazar por completo al SO₂ (Lisanti et al., 2019). En relación a la seguridad, su uso en la producción de vino podría representar un riesgo para los consumidores alérgicos al huevo de gallina, por lo que es esencial mencionar la presencia de lisozima en las etiquetas de las botellas de vino (Yıldırım & Darıcı, 2020). Por último, la OIV establece que la dosis acumulada de lisozima no debe exceder los 500 mg L⁻¹ (OIV, 2021).

Glutathion (GHS): Se trata de un tripéptido compuesto de tres aminoácidos (ácido glutámico, cisteína y glicina), este se encuentra principalmente en forma reducida. Los niveles de glutathion presentes en las bayas están relacionado a factores como variedad, ubicación y añada. Se origina durante la maduración de la uva, aumentando significativamente después del envero (Martínez et al., 2019). En el mosto, su contenido esta influenciado por factores, como son la exposición al oxígeno, la actividad tirosinasa, y el tiempo de maceración prefermentativa (Gabrielli et al., 2017). Además, el glutathion también desempeña un papel en las respuestas

de estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, pudiendo ser asimilado o liberado durante el proceso de fermentación alcohólica (Martínez et al., 2019). El glutatión es un antioxidante natural procedente de la uva o del metabolismo de la levadura, desempeña rol crucial en vinificación, desde conservación de aromas varietales hasta prevención de pardeamiento y sabores no deseados en vinos (Gutiérrez, 2023).

El glutatión es un compuesto clave en la reducción de la oxidación, ya que interactúa con las o-quinonas del ácido cafeoil tartárico. Esta interacción da lugar a un tioéter denominado 2-S-glutationil-trans-cafeoil tartárico, conocido también como el producto de reacción de la uva (GRP) (Cornejo Lorca & Gleisner, 2023). Además, atrapa las ortoquinonas en una forma incolora, evitando la creación de polímeros marrones. Su empleo en la vinificación fue aprobado por la OIV en 2015, con una dosis máxima de 20 mg L⁻¹ (Gutiérrez-Escobar, 2023). Dada su alto costo, se consideran levaduras secas ricas en GSH como alternativas más económicas (Giménez et al., 2023).

La adición de GSH beneficia la producción de vino blanco al conservar carácter varietal y color (Nikolantonaki et al., 2018). Sin embargo, carece de propiedades antimicrobianas. En búsqueda de alternativas al SO₂, GSH se combina con métodos como altas presiones (HP), reduciendo SO₂ en vinos hasta 40-60 mg L⁻¹. Por otro lado, se ha observado la aparición de sulfuro de hidrógeno y de metilmercaptano durante el almacenamiento en botellas de vino de cepa de Sauvignon blanc con tratamientos de GSH y cobre por lo que estos compuestos podrían afectar sensorialmente los vinos (Gutiérrez-Escobar, 2023).

Extractos vegetales ricos en compuestos fenólicos: En la actualidad, los consumidores muestran una creciente preferencia por alimentos que incorporen conservantes naturales en lugar de productos químicos. Como respuesta a esta tendencia, surge una alternativa muy prometedora a los sulfitos en la producción vinícola con la utilización de extractos naturales de plantas (Yıldırım & Darıcı, 2020). Durante las dos últimas décadas, se han investigado las cualidades antioxidantes y antimicrobianas de los extractos fenólicos derivados de diversas fuentes vegetales. Además, algunos de estos extractos han demostrado la capacidad no solo de inhibir

el crecimiento de las bacterias lácticas enológicas, sino también de retrasar la fermentación maloláctica en vinos tintos a nivel de laboratorio (Gutiérrez-Escobar, 2023). Se ha observado que los vinos tratados con estos extractos ricos en fenoles presentan una protección antioxidante que supera a la del SO₂ y proporcionan una experiencia sensorial enriquecedora. Entre las pruebas realizadas, se incluye la incorporación de compuestos fenólicos como el ácido cafeico, la catequina y los taninos al vino, así como extractos vegetales como los de piel de eucalipto y almendra, subproductos de la vinificación como el orujo de uva (pepitas y hollejos) y extractos de vid y madera de roble (Tabla 1) (Yıldırım & Darıcı, 2020).

Tabla 1. Resumen de las alternativas protectoras naturales probadas en los vinos.

Tratamientos	Contribución en la calidad del vino	Actividad microbiana	desventajas
Vinificación por productos (hollejos y semillas) extractos	Inhibición enzimática, Actividad de eliminación de radicales libres, El proceso de fermentación no se ve afectado negativamente.	Bacillus cereus, Campylobacter jejuni, E. coli, L. monocytogenes, Salmonella entérica, S. aureus, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas spp., bacterias lácticas.	La adición de taninos enológicos (gallotanen y procianidina) para mostrar un mayor valor de color amarillo en los vinos tintos.
Chips de madera de roble y extractos, sarmientos de vid extractos	Mejor carácter organoléptico. Elevada actividad antioxidante, La contribución de los componentes volátiles al perfil sensorial y aromático. Alta puntuación en color y aspectos sensoriales.	Bacterias acéticas y bacterias patógenas.	Menos eficaz en los vinos blancos que en los tintos. La existencia de un número limitado de estudios.

Extractos de plantas (eucalipto y pieles de almendra aceite esencial de tomillo, hidroxitirosol)	Prevención de la oxidación, Aumento de la composición aromática.	E. coli O157:H7, Salmonella enteritidis, L. monocytogenes, Salmonella poona, Bacillus cereus, Saccharomyces cerevisiae y Candida albicans, bacterias lácticas.	Se necesitan más estudios con diferentes concentraciones y condiciones de almacenamiento más prolongadas.
--------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: adaptado por Yildirim & Darıcı (2020).

Capítulo 5: Mercado

En las últimas décadas, los consumidores han incrementado su conciencia acerca de los impactos medioambientales de la agricultura convencional. Esta tendencia ha llevado a un enfoque más responsable en la elección de alimentos, considerando atributos que fomenten la sostenibilidad del sistema de producción (Vecchio et al., 2023). Simultáneamente, el público se ha vuelto más consciente de la relación entre alimentación y salud, así como de los efectos negativos de las prácticas tradicionales de producción en los recursos medioambientales. Esto ha generado un cambio en la actitud de los consumidores, quienes ahora son más selectivos y prestan mayor atención a los componentes e ingredientes presentes en sus alimentos diarios (Vecchio et al., 2021). Según la investigación de Román et al. (2017), la naturalidad de los alimentos es esencial para la mayoría de los consumidores. Por lo tanto, descuidar este aspecto en la industria alimentaria podría tener implicaciones significativas. La importancia de la naturalidad se divide en tres categorías: el cultivo de los alimentos, el proceso de producción y las propiedades del producto final. Fuentes et al. (2021) identifican tres principales tipos de vinos ecológicos en España: natural, orgánico y biodinámico. Estos tipos pueden incluir logotipos adicionales o normativas de origen privado en los que se resumen sus características en el Anexo 4 en donde se definen estos 3 tipos de vinos.

Aunque el vino natural carece de una definición estandarizada, generalmente implica la producción de vino sin residuos químicos ni aditivos enológicos, a veces permitiendo dosis mínimas de sulfitos. Este tipo de vino, junto con el ecológico y el

biodinámico, está ganando popularidad entre consumidores en países tradicionales y no tradicionales (Vecchio et al., 2023).

Los resultados de Vecchio et al. (2023) indican que los consumidores están dispuestos a pagar más por vinos sostenibles en comparación con vinos tintos convencionales. En el estudio de Gazzola et al. (2023) sobre el impacto del vino natural en Italia, en donde se realizó una encuesta, que fue respondida por propietarios y empleados que operan en el sector alimentario en toda Italia. La muestra incluyó a propietarios de restaurantes, bares, vinotecas y otros establecimientos relacionados con la industria alimentaria., en el que encontró que el 65,5% del gasto promedio por persona, se sitúa entre 20 y 50 euros, mientras que el 6,9% supera los 100 euros. Además, el 59,38% de los encuestados considera crucial la agricultura libre de productos químicos, una característica primordial para considerar que un vino es natural. Esto sugiere que las marcas de reconocimiento son menos prioritarias, mientras que se valoran más las particularidades vinculadas al proceso de producción. Por lo tanto, el 38,8% de la población considera más relevante la presencia de pequeños productores y la ausencia de dióxido de azufre y filtración.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a la información recopilada en el curso de esta investigación, se ha llegado a la conclusión de que el anhídrido sulfuroso continúa siendo la opción óptima para lograr las tres propiedades más esenciales en la producción de vinos. Estas propiedades incluyen su efectividad como agente antimicrobiano, su capacidad antioxidante y su habilidad para prevenir el oscurecimiento no deseado en el producto. A pesar de que su uso puede conllevar a cambios en las características organolépticas y también plantear ciertas preocupaciones sobre sus efectos en la salud humana, hasta el momento, ninguna de las alternativas disponibles ha logrado igualar estas tres propiedades de manera simultánea. Esto se debe a que muchas de las opciones funcionan en términos individuales, en contraste con el amplio espectro de efectividad que caracteriza al anhídrido sulfuroso. No obstante, es importante destacar que alternativas como los extractos

de compuestos fenólicos de origen vegetal muestran un potencial considerable como reemplazos del anhídrido sulfuroso. Aunque los experimentos realizados hasta el momento se han llevado a cabo en una escala reducida, estos extractos presentan propiedades prometedoras para cumplir con las funciones deseadas.

PROPUESTAS Y PERSPECTIVAS A FUTURO.

1. Asegurar buenas prácticas higiénicas desde la recolección del viñedo hasta el proceso final de la vinificación, manteniendo una limpieza completa de todos los equipos para evitar posibles contaminaciones microbianas.
2. En Chile aún no existe una legislación concreta sobre los límites máximos de anhídrido sulfuroso en vinos orgánicos o naturales, por lo que muchos de los viticultores se rigen por estándares y límites de anhídrido sulfuro de países extranjeros.
3. El campo investigativo enológico se encuentra constantemente buscando alternativas al uso del anhídrido sulfuro, motivados por los efectos negativos que tiene este conservante en la salud humana, también están muy relacionados con la actitud positiva que tiene los nuevos consumidores de vinos que son muy interesados, curiosos y dispuestos a consumir alimentos más saludables.

REFERENCIAS

1. Ashar, N. G. (2015). *Advances in Sulphonation Techniques: Liquid Sulphur Dioxide as a Solvent of Sulphur Trioxide*. Springer International Publishing.
2. Chen, X., Ma, Y., Diao, T., Leng, Y., Lai, X., & Wei, X. (2022). Pulsed electric field technology for the manufacturing processes of wine: A review. *Journal of Food Processing & Preservation*, 46(8), 1–12.
3. Considine, M. J., & Foyer, C. H. (2015). Metabolic responses to sulfur dioxide in grapevine (*Vitis vinifera* L.): Photosynthetic tissues and berries. *Frontiers in Plant Science*, 6(FEB), 1–10.
4. Cornejo Lorca, J. T., & Gleisner, L. (2023). *Efecto del dióxido de azufre y glutatión reducido sobre el pardeamiento oxidativo de mostos de uva Carménère*. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.

5. Divol, B., Du Toit, M., & Duckitt, E. (2012). Surviving in the presence of sulphur dioxide: Strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95, 601–613.
6. Duckitt, E. (2012). *Investigating the impact of sulphur dioxide on Brettanomyces bruxellensis at a molecular and cellular level*. Stellenbosch: Stellenbosch University.
7. EFSA Panel on Food additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2016). Scientific Opinion on the re-evaluation of sulfur dioxide (E 220), sodium sulfite (E 221), sodium bisulfite (E 222), sodium metabisulfite (E 223), potassium metabisulfite (E 224), calcium sulfite (E 226), calcium bisulfite (E 227) and potassium bisulfite. *EFSA Journal*, 14(4), 4438.
8. Fediuk, R., Mugahed Amran, Y. H., Mosaberpanah, M. A., Danish, A., El-Zeadani, M., Klyuev, S. V., & Vatin, N. (2020). A Critical Review on the Properties and Applications of Sulfur-Based Concrete. *Materials (Basel, Switzerland)*, 13(21).
9. Flores Lequilgua, V. (2014). Elaboración azufre humectable para uso agrícola, en la cooperativa Unión Progreso, Potosí-Bolivia.
10. Fuentes, R., Lanero, A., & Vázquez, J. L. (2021). Are official certifications a relevant aspect in the consumption of natural wines? A prospective study among Spanish producers/consumers. *Trakia Journal of Sciences*, 19, 393–398.
11. Gabrielli, M., Alexandre, J., Kilmartin, P., Sieczkowski, N., & du Toit, W. (2017). Additions of Glutathione or Specific Glutathione-rich Dry Inactivated Yeast Preparation (DYP) to Sauvignon blanc Must: Effect on Wine Chemical and Sensory Composition. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 38, 18–28.
12. Garcia-Fuentes, A. R., Wirtz, S., Vos, E., & Verhagen, H. (2015). Short review of sulphites as food additives. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 5(2), 113–120.
13. Garde-Cerdán, T., López, R., Garijo, P., González-Arenzana, L., Gutiérrez, A. R., López-Alfaro, I., & Santamaría, P. (2014). Application of colloidal silver versus sulfur dioxide during vinification and storage of Tempranillo red wines. *Australian Journal of Grape & Wine Research*, 20(1), 51–61.

14. Gazzola, P., Pavione, E., Grechi, D., & Scavarda, F. (2023). Natural wine as an expression of sustainability: an exploratory analysis of Italy's restaurant industry. *British Food Journal*, 125(13), 390–409.
15. Giacosa, S., Río Segade, S., Cagnasso, E., Caudana, A., Rolle, L., & Gerbi, V. (2019). *Chapter 21 - SO₂ in Wines: Rational Use and Possible Alternatives* (A. B. T.-R. W. T. Morata (Ed.); pp. 309–321). Academic Press.
16. Giménez, P., Just-Borras, A., Pons, P., Gombau, J., Heras, J. M., Sieczkowski, N., Canals, J. M., & Zamora, F. (2023). Biotechnological tools for reducing the use of sulfur dioxide in white grape must and preventing enzymatic browning: glutathione; inactivated dry yeasts rich in glutathione; and bioprotection with *Metschnikowia pulcherrima*. *European Food Research and Technology*, 249(6), 1491–1501.
17. Guerrero, R. F., & Cantos-Villar, E. (2015). Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in Food Science & Technology*, 42(1), 27–43.
18. Gutiérrez-Escobar, R. (2023). *Estilbenos como una alternativa sostenible al anhídrido sulfuroso en vinos*. Tesis Doctoral, Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos. Universidad de Cádiz. Cádiz. España
19. Hidalgo Togoires, J. (2011). *Tratado de enología: tomo II (2a. ed.)*.
20. Howard, C. (2016). Sulfur in wine - a snapshot of Australian trends. *Wine & Viticulture Journal*, 31(4), 25–31.
21. Katz, M. (2011). Guía didáctica: Azufre. *Colección Encuentro Ine*, 8–15.
22. Kisiielewski, J., & Robertson, D. (2011). *Process for production of sodium bisulfite*.
23. Kubáň, V., Fic, V., Marcinčák, P., Kráčmar, S., & Golian, J. (2018). CONTENT OF ENDOGENOUS SULFUR DIOXIDE IN WINES. *Slovak Journal of Food Sciences / Potravinarstvo*, 12(1), 241–247.
24. Kuijpers, T. F. M., Narváez-Cuenca, C.-E., Vincken, J.-P., Verloop, A. J. W., van Berkel, W. J. H., & Gruppen, H. (2012). Inhibition of enzymatic browning of chlorogenic acid by sulfur-containing compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(13), 3507–3514.
25. Kutney, G. (2023). *Sulfur: History, Technology, Applications and Industry*. Elsevier Science.

- 26.Li, Z., Huang, J., Wang, L., Li, D., Chen, Y., Xu, Y., Li, L., Xiao, H., & Luo, Z. (2023). Novel insight into the role of sulfur dioxide in fruits and vegetables: Chemical interactions, biological activity, metabolism, applications, and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–25.
- 27.Lien, K.-W., Hsieh, D. P. H., Huang, H.-Y., Wu, C.-H., Ni, S.-P., & Ling, M.-P. (2016). Food safety risk assessment for estimating dietary intake of sulfites in the Taiwanese population. *Toxicology Reports*, 3, 544–551.
- 28.Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 18(2), 455–479.
- 29.Marchante Cuevas, L. (2022). *Diferentes estrategias para disminuir el empleo de SO₂ en la fase prefermentativa. Influencia en la calidad de los vinos.*
- 30.Martínez, J., García, S., & Alti, L. (2019). Evaluation of glutathione content in white grape varieties. *Vitis*, 58, 21–24.
- 31.Nikolantonaki, M., Julien, P., Coelho, C., Roullier-Gall, C., Ballester, J., Schmitt-Kopplin, P., & Gougeon, R. D. (2018). Impact of glutathione on wines oxidative stability: A combined sensory and metabolomic study. *Frontiers in Chemistry*, 6, 182.
- 32.OIV. (2020). *Oiv-oeno 631-2020. Review of practices for the reduction of so₂ doses used in winemaking. November*, 1–12.
- 33.OIV. (2021). *International code of oenological practices*. OIV Paris.
- 34.Pezley, M. (2015). Production of free sulfur dioxide by wine yeasts. *Interdisciplinary Undergraduate Research Journal*, 1(1), 27–32.
- 35.Poujol, E. (2019). Special case of sulfur dioxide. *Gases in Agro-Food Processes*, 75–85.
- 36.Raposo, O. M. R. (2017). *Alternativas al anhídrido sulfuroso en la elaboración de vinos: antioxidantes de naturaleza fenólica procedentes de subproductos de la industria oleícola y enológico*. Memoria presentada para optar al título de Doctor. Córdoba, España, Universidad de Córdoba.
- 37.Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., & Lonvaud, A. (2012). *Traité d'œnologie. 6ème édition*, 704 p.

38. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B. B., Lonvaud, A. A., Darriet, P., & Towey, J. (2006). The Microbiology of Wine and Vinification. In *Handbook of Enology* (Vol. 1).
39. Román, S., Sánchez-Siles, L. M., & Siegrist, M. (2017). The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, *67*, 44–57.
40. Santos, M. C., Nunes, C., Saraiva, J. A., & Coimbra, M. A. (2012). Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: Review of their potentialities and limitations. *European Food Research and Technology*, *234*(1), 1–12.
41. Shamsuddin, M. (2021). Roasting of Sulfide Minerals BT - Physical Chemistry of Metallurgical Processes, Second Edition (M. Shamsuddin (Ed.); pp. 39–68). Springer International Publishing.
42. Silva, F. V. M., & van Wyk, S. (2021). Emerging Non-Thermal Technologies as Alternative to SO₂ for the Production of Wine. *Foods*, *10*(9).
43. Stockley, C., Paschke-Kratzin, A., Teissedre, P. L., Restani, P., Tejedor, N. G., & Quini, C. (2021). *Oiv collective expertise document SO₂ and wine: a review 1 march 2021 SO₂ and wine: a review*.
44. Tedesco, F., Siesto, G., Pietrafesa, R., Romano, P., Salvia, R., Scieuzo, C., Falabella, P., & Capece, A. (2022). Chemical Methods for Microbiological Control of Winemaking: An Overview of Current and Future Applications. *Beverages*, *8*(3).
45. Tessengerlo Kerley, I. (Phoenix, A. (2019). Sulfur dioxide scrubbing system and process for producing potassium products.
46. Vecchio, R., Annunziata, A., Parga Dans, E., & Alonso González, P. (2023). Drivers of consumer willingness to pay for sustainable wines: natural, biodynamic, and organic. *Organic Agriculture*, *13*(2), 247–260.
47. Vecchio, R., Parga-Dans, E., Alonso González, P., & Annunziata, A. (2021). Why consumers drink natural wine? Consumer perception and information about natural wine. *Agricultural and Food Economics*, *9*(1), 1–16.
48. Wu, W., Fu, G., Xuan, R., Zhai, L., Lu, Y., Tang, M., Liu, J., Zhang, C., Chen, H., & Wang, F. (2022). Food additive sodium bisulfite induces intracellular imbalance of biothiols levels in NCM460 colonic cells to trigger intestinal inflammation in mice. *Toxicology Letters*, *359*, 73–83.

- 49.Yıldırım, H. K., & Darıcı, B. (2020). alternative methods of sulfur dioxide used in wine production. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(4), 675–687.
- 50.Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K., Fowler, P. J., Frutos Fernandez, M. J., Fürst, P., Gundert-Remy, U., Gürtler, R., Husøy, T., Manco, M., Mennes, W., Moldeus, P., Passamonti, S., Shah, R., Waalkens-Berendsen, I., Boon, P., Cheyns, K., Crebelli, R., & FitzGerald, R. (2022). Follow-up of the re-evaluation of sulfur dioxide (E 220), sodium sulfite (E 221), sodium bisulfite (E 222), sodium metabisulfite (E 223), potassium metabisulfite (E 224), calcium sulfite (E 226), calcium bisulfite (E 227) and potassium bisulfite (E 228). *EFSA Journal*, 20(11), 1–139.
- 51.Zara, G., & Nardi, T. (2021). Yeast metabolism and its exploitation in emerging winemaking trends: From sulfite tolerance to sulfite reduction. *Fermentation*, 7(2).

ANEXOS

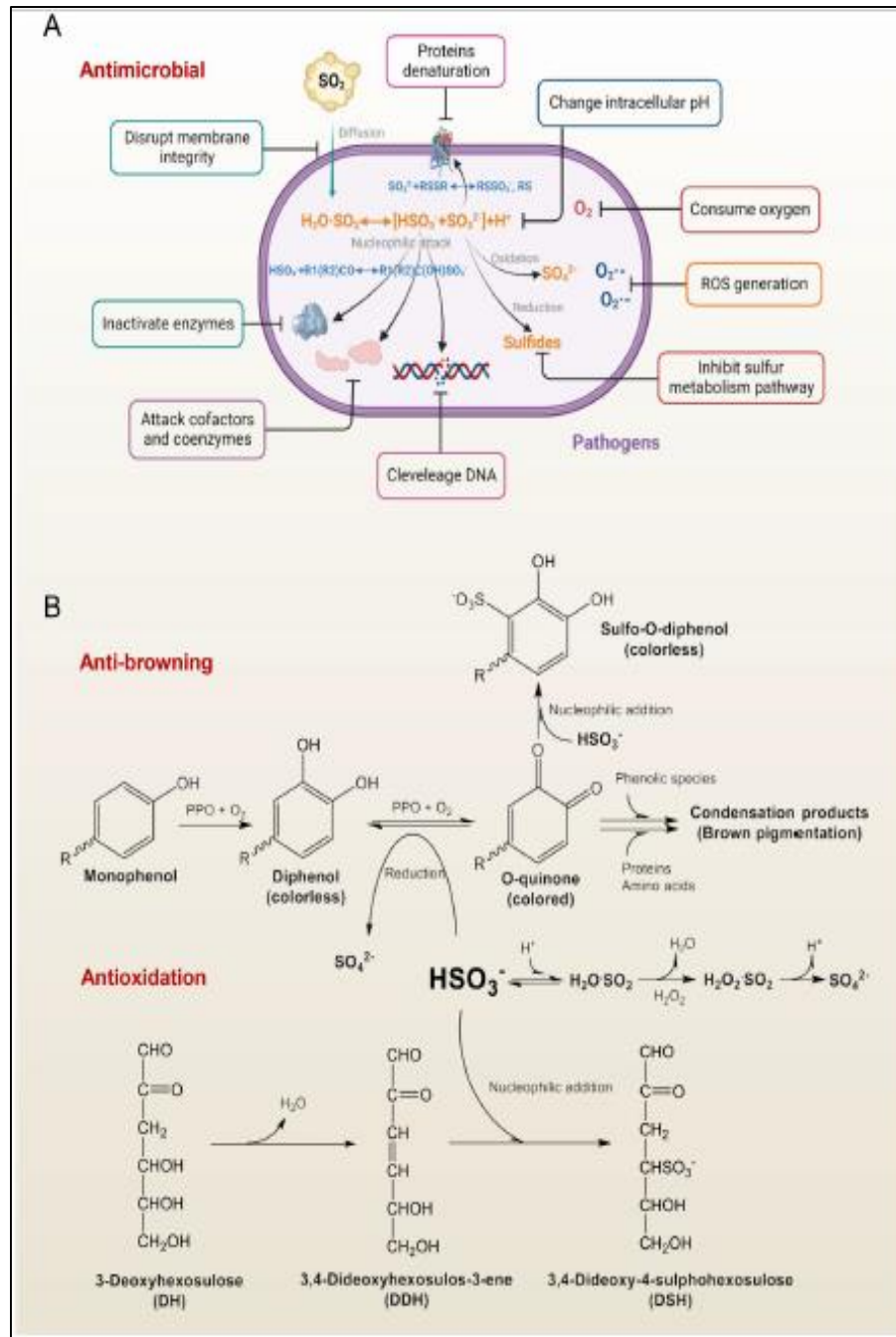
Anexo 1. Tabla N°2. Formas y usos de los productos enológicos utilizados para el sulfitado.

Estado	Formas de SO ₂	Utilización	Ventajas	Desventajas
Sólido	Azufre combustible (S): mechas, pastillas. El S se convierte en SO ₂ gaseoso en la combustión, luego en H ₂ SO ₃ en solución acuosa en contacto con el vino.	Recipientes de madera: barricas, toneles.	Sencillo, puro, se combina bien con el vino. Para pastillas, sin depósito al fondo del barril.	Dosificación poco precisa, desagradable de usar, sólo se necesitan pequeñas dosis. En el caso de las mechas, pérdida por fusión parcial del azufre que cae al fondo del barril.
Líquido	Solución de azufre. Bisulfito de potasio. Bisulfito de amonio. SO ₂ molecular en soluciones acuosas.	Riego por goteo de las uvas cosechadas. Incorporación al vino con homogeneización.	Versátil, puro para soluciones de azufre del 5 al 18%. Relativamente estable para el bisulfito de potasio. Muy estable e inodoro para el bisulfito de amonio.	Preparación desagradable, título de la solución inestable. Adición de potasio. Adición de amonio. utilizado exclusivamente en mosto.

Gas licuado	SO ₂ molecular en forma gas.	Incorporación por el sulfidizante (el SO ₂ se convierte en gas a presión ambiente y luego en H ₂ SO ₃ en contacto con el vino).	Sencillo, preciso, muy puro y económico.	Peligroso para el usuario, utilizar con precaución.
Solido	Metabisulfito de potasio Polvo o comprimidos efervescentes 1 g de metabisulfito de potasio da 0,5 g de SO ₂ .	Vendimia en la parcela. Vaciado de cubas Asepsia de las chimeneas de los depósitos. Reajustar. pequeños contenedores (barriles).	Fácil de utilizar. Permite sulfitar sólo el mosto de la cosecha. Para pastillas, dosificación precisa y homogeneización eficaz.	Aporte de potasio.

Adaptada por Charrier et al. (2021).

Anexo 2. Figura N°6: Mecanismo general de acción del SO₂ en productos hortofrutícolas durante su procesado y almacenamiento, incluyendo (A) antimicrobiano, y (B) pardeamiento y antioxidante.



Fuente: Adaptado por Li et al.(2023).

Anexo 3. Tabla N°3. Límites máximos de SO₂ acuerdo al contenido de azúcar en vino.

Tipo de vino	Límites de SO ₂ para vinos convencionales en regulación EC No 606/2009	Límites de SO ₂ para vinos convencionales en Canadá	Límites de SO ₂ para vinos orgánicos en la regulación EC No 203/2012	Límites para vinos orgánicos en Canadá y USA
Vinos tintos con azúcar residual <5gL ⁻¹	150 mg L ⁻¹	350 ppm	100mgL ⁻¹ con azúcar residual <2gL ⁻¹ 120mgL ⁻¹ con azúcar residual >2gL ⁻¹ y <5gL ⁻¹	100 ppm
Vinos tintos con azúcar residual >5gL ⁻¹	200 mg L ⁻¹	350 ppm	170 mgL ⁻¹	100 ppm
Vinos blancos y rosados con azúcar residual <5gL ⁻¹	200mg L ⁻¹	350 ppm	150mgL ⁻¹ con azúcar residual <2gL ⁻¹ 170mgL ⁻¹ con azúcar residual >2gL ⁻¹ y <5gL ⁻¹	100 ppm
Vinos blancos y rosados con azúcar residual >5gL ⁻¹	250 mg L ⁻¹	350 ppm	220 mgL ⁻¹	100 ppm

Adaptado por Yıldırım & Darıcı.(2020).

Anexo 4. Tabla N°4. Diferencia entre los vinos Naturales, Orgánicos y Biodinámicos.

	Vino natural	Vino orgánico	Vino biodinámico
Definición	Bodega: vino procedente de uvas certificadas ecológicas o biodinámicas y sin ningún tratamiento ni uso de aditivos o coadyuvantes. Uva: ecológica certificada o biodinámica mínima.	Bodega: vino procedente de uva ecológica certificada conforme a la normativa y elaborado conforme a la normativa y permisos coadyuvantes. Uva: procedente de un certificado conforme a la normativa.	Bodega: Elaboración según métodos holísticos y con aditivos y coadyuvantes autorizados. Uva: procedente de un viñedo con certificación ecológica siguiendo la metodología holística.
Principios fundamentales	Nada añadido, nada quitado.	Pureza del producto utilizando ingredientes no sintetizados.	Sanidad agraria holística.
Uvas	Elaborado con uvas 100% ecológicas.	Con el nivel más bajo posible de sulfitos para evitar el deterioro y la contaminación bacteriana.	Uvas ecológicas y holísticas.
Regulación sulfitos	No es estricto Contiene como máximo, 10 mg/l de azufre total si es rojo, 25 mg/l de azufre total si es blanco.	Certificado Contiene sulfitos (30 mg/L menos de sulfitos totales que el vino convencional).	Certificado Contiene sulfitos (la media de la última añada de sulfuroso total en vinos biodinámicos).
Fertilizantes orgánicos	Evitado.	Evitado.	Evitado.

Adaptado por Fuentes et al. (2021).