

COMPORTAMIENTO ENOLÓGICO DE CEPAS DE LEVADURA EN DISTINTOS FORMATOS DE INMOVILIZACIÓN

Anna Puig ⁽¹⁾, Eva Bertran ⁽¹⁾, M. Carme Masque ⁽¹⁾, Teresa García-Martínez ⁽²⁾, Rafael Andrés Peinado ⁽³⁾, Juan José Moreno ⁽³⁾, Juan Carlos Mauricio ⁽²⁾

⁽¹⁾ INCAVI-IRTA (Institut Català de la Vinya i el Vi) Estació de Viticultura i Enologia. Secció d'Investigació Enològica. Vilafranca del Penedès. (Barcelona). Telf: 938900211; e-mail: apuipuig@ogencat.cat

⁽²⁾ Departamento de Microbiología. Universidad de Córdoba. Telf: 957218640; e-mail: pujomal@uco.es

⁽³⁾ Departamento de Química Agrícola y Edafología. Universidad de Córdoba. Telf: 957218636; e-mail: ra.hnovillo@uco.es

INTRODUCCIÓN

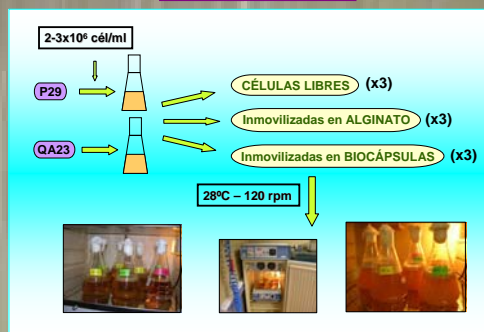
El estudio de sistemas de inmovilización celular para vinificación está recibiendo una gran atención en los últimos años por sus ventajas técnicas y económicas. Los sistemas de inmovilización aumentan la productividad, reducen los costes de proceso debido a la posibilidad de recuperación y reutilización de las células y también influyen en el metabolismo de las levaduras y, en consecuencia, en las características organolépticas del producto final. En la mayoría de sistemas conocidos y testados, las células son inmovilizadas de una manera artificial. En la industria vinica el sistema de inmovilización más utilizado ha sido la encapsulación de levaduras en alginato cálcico, compuesto orgánico que se obtiene de algas marinas y que se usa tanto en el sector alimentario como en el farmacéutico. La utilización de levaduras encapsuladas en esferas de alginato se ha aplicado sobretodo en el proceso de elaboración de vino espumoso ya que presenta grandes ventajas en la etapa de clarificación y degüelle de las botellas, por la rapidez con que sedimentan las levaduras en el cuello de éstas. En estos casos, las levaduras no se encuentran en su estado natural y, dependiendo del daño causado por el procedimiento de inmovilización, su viabilidad puede verse alterada y su metabolismo puede sufrir desviaciones que repercuten en las características organolépticas del producto fermentado. No obstante, existen microorganismos que, espontáneamente, en determinadas condiciones, producen inmovilizaciones naturales.

Recientemente se ha puesto a punto un nuevo procedimiento de inmovilización natural que favorece la co-inmovilización espontánea entre un hongo filamentososo de la especie *Penicillium chrysogenum* (cepa H3) y cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en ausencia de soportes inertes externos. Mediante este procedimiento se obtienen esferas huecas de los dos microorganismos denominadas biocápsulas de levaduras.

El objetivo del trabajo que se presenta ha sido estudiar el comportamiento fermentativo a escala de laboratorio para su posterior uso a escala industrial de dos cepas de *S. cerevisiae* presentadas en tres formatos de uso para vinificación: células libres y dos tipos de inmovilización: encapsuladas en esferas de alginato cálcico e inmovilizadas en forma de biocápsulas.

MATERIALES Y MÉTODOS

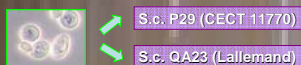
FERMENTACIONES



CONTROLES ANALÍTICOS



MICROORGANISMOS

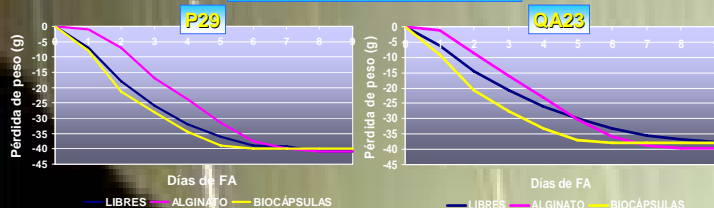


FORMATOS



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CINÉTICAS FERMENTATIVAS



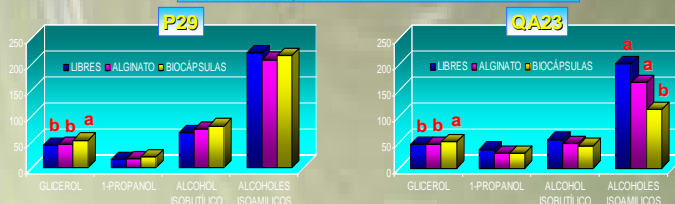
Partiendo del mismo inoculo inicial, la inmovilización en biocápsulas en ambas cepas presentó la velocidad de fermentación más rápida: en 5 días se consumió todo el azúcar del mosto de partida. Los formatos de células libres e inmovilizadas en alginato cálcico siguieron un comportamiento paralelo, fermentando el mosto en 6-7 días en el caso de la P29 y en 7-8 días en el de la QA23. Aunque los tres formatos, antes de la inoculación en el mosto, se sometieron a un periodo de adaptación en un mismo medio de cultivo (YPD) para partir de las mismas condiciones iniciales, en ambas cepas la inmovilización en alginato retardó el inicio de fermentación 1 día. Las biocápsulas se hincharon durante la fase tumultuosa de la fermentación debido a la emisión de CO₂, pero recuperaron su diámetro y forma original pasada esta etapa. Esto demuestra las propiedades elásticas de esta forma de inmovilización.

PARÁMETROS ENOLÓGICOS

	P29				QA23			
	GAV (%vol)	Azúcares totales (G+F) (g/L)	pH	Ac. volátil (g/L ac. acético)	GAV (%vol)	Azúcares totales (G+F) (g/L)	pH	Ac. total (g/L ac. tartárico)
LIBRES	10.18±0.08	0.1±0.00	3.25±0.01	0.54±0.03	10.05±0.00	0.5±0.31	3.21±0.00	0.43±0.03
ALGINATO	10.37±0.03	0.5±0.00	3.23±0.01	0.57±0.06	10.35±0.00	0.5±0.00	3.20±0.01	0.44±0.01
BIOCÁPSULAS	9.95±0.10	0.3±0.00	3.27±0.01	0.57±0.13	9.95±0.00	0.3±0.00	3.26±0.02	0.48±0.05

No existieron diferencias notables en el grado alcohólico (GAV) entre cepas pero sí entre formatos: las levaduras inmovilizadas en alginato tuvieron una eficiencia fermentativa un poco superior a los otros dos formatos probados. También hubo un ligero incremento en la acidez total en la P29 y QA23 inmovilizadas en esferas de alginato. Entre cepas se detectó un nivel de acidez volátil algo superior en la P29, pero siempre por debajo del umbral de detección organoléptico.

GLICEROL y ALCOHOLES SUPERIORES



Contenido en glicerol (g/L) y alcoholes superiores (mg/L) en los mostos fermentados (media aritmética de tres fermentaciones) en los tres formatos testados. El valor de glicerol representado corresponde al valor real (x10).

Se observaron diferencias significativas (P<0,01) en la producción de glicerol en las levaduras inmovilizadas en biocápsulas: en general su concentración fue más elevada, tanto en la cepa P29 como en la QA23. Una mayor concentración de glicerol favorece la untuosidad y, en general, la estructura de los vinos. También se detectaron diferencias en la cepa QA23 en el nivel de alcoholes isoamilicos: las fermentaciones con biocápsulas produjeron menor cantidad de este grupo de compuestos, hecho que favorece organolépticamente a los vinos producidos. En el resto de alcoholes superiores analizados no se observaron diferencias significativas. No se detectaron ni 1-butanol ni 2-butanol en ninguna de las 18 fermentaciones analizadas.

Los resultados obtenidos muestran un uso potencial en primera fermentación alcohólica de las levaduras inmovilizadas y un buen comportamiento enológico del nuevo sistema de inmovilización en biocápsulas. La reutilización durante varias fermentaciones consecutivas de estos formatos y su uso en segunda fermentación para la producción de vino espumoso son los objetivos de estudio actuales.

BIBLIOGRAFÍA

- Peinado, R.A.; Moreno, J.J.; Villalba, J.M.; González-Royes, J.A.; Ortega, J.M.; Mauricio, J.C. 2006. Yeast biocapsules: A new immobilization method and their applications. *Enz Microb Technol*, 40: 79-84.
- Kandyliis, P.; Goula, A.; Koutinas, A.A. 2008. Corn Starch Gel for Yeast Cell Entrapment. A View for Catalysis of Wine Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 12037-12045.
- García-Martínez, T.; Peinado, R.A.; Maestro, O.; Moreno, J.; Mauricio, J.C. 2008. Fermentación de mostos con elevado contenido en azúcares mediante biolmovilización de levaduras. *Boletín de l'OIV*, 832-934: 559-568.
- Peinado, R.A.; Moreno, J.J.; Maestro, O.; Mauricio, J.C. 2005. Use of a novel immobilization yeast system for winemaking. *Biotechnology Letters*, 27: 1421-1424.
- Sabidry, J.M.; Barro, P.; Grenier, P. 1997. Design of laboratory automatic system for studying alcoholic fermentations in anisothermal enological conditions. *Biotechnol Tech*, 1: 181-184.
- Puig, A.; Vilavella, M.; Bartra, E.; Minguez, S. 2002. Suivi de la dynamique de la population de levures dans des fermentations viniques industrielles au travers de l'étude de l'ADN mitochondrial. *Revue des Oenologues*, 105: 53-58.
- E.C. 1990. Official report of European Community nº 267/90, L-272. Madrid, Madrid-Prensa.
- Berneyer, H.U. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación al Proyecto RTA2008-00056-C02-01 del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICI). Agradecemos a la empresa Prensol la encapsulación en alginato cálcico de las cepas.