

SEGUIMIENTO DE LA AUTOLISIS ACELERADA DE LÍAS DE LEVADURAS POR PECTINASAS Y β -GLUCANASAS

Oscar Fernández¹; Rocío Rodríguez¹, Domingo Rodríguez¹, José Barrau¹, Jose M^a Ryan²,
Zenaida Guadalupe¹, Belén Ayestarán¹

¹Departamento de Agricultura y Alimentación. Universidad de la Rioja, C/Madre de Dios 51, 26006 Logroño, La Rioja, España; Tel: +34 941 299 722,
E-mail: zenaida.guadalupe@unirioja.es

²Bodega Cvne Viña Real, C/ Carretera Logroño-Laguardia, Km 4.8, Laguardia, Alava, España

Resumen:

El uso de enzimas comerciales para acelerar la autólisis de las lías produjo un incremento en la liberación al medio de polisacáridos totales con respecto a las lías control. Las diferencias más significativas se alcanzaron en la manosa y en la glucosa, azúcares constituyentes de manoproteínas y glucanos, obteniéndose diferencias de hasta un 35% y 112% respectivamente. Esta fuerte liberación se produjo sobre todo durante los primeros 21 días del proceso de autólisis. La acidificación de las lías sin combinación de enzimas no tuvo ningún efecto sobre los glucanos parietales de las lías.

Palabras clave: autólisis acelerada, enzimas, lías y polisacáridos.

1. INTRODUCCIÓN

La crianza sobre lías es una técnica, que aunque laboriosa, en la actualidad se está utilizando para la elaboración de vinos blancos y tintos por sus efectos positivos. Existen ventajas a nivel organoléptico, como son la reducción de astringencia, mayor redondez del vino o persistencia aromática [1]. Otro efecto positivo que se consigue es una mayor estabilidad físico-química, debido a la presencia de moléculas como las manoproteínas, que juegan un papel importante como coloides protectores [1].

Las lías están compuestas por microorganismos que han completado la fermentación, además de residuos orgánicos y sales tartáricas [2]. Durante la crianza, al poner el vino en contacto durante un tiempo prolongado con las lías, éste se enriquece en distintos compuestos intracelulares y en polisacáridos parietales como son los glucanos y manoproteínas. Esto es debido a la autólisis de dichas lías, en la que se produce una desorganización del sistema de membrana, liberándose enzimas hidrolíticas y componentes celulares al exterior [3].

El proceso de autólisis es un proceso lento que puede durar desde meses a años, por lo que en la actualidad se utilizan distintas técnicas para acelerar dicho proceso. La adición de enzimas comerciales intensifica la acción de las enzimas endógenas, enriqueciendo el medio más rápidamente y/o en mayor cantidad con los compuestos cedidos por los microorganismos. Este tipo de tratamiento es habitual en bodega, pero no se realiza un seguimiento de lo que ocurre durante la lisis de las lías.

El objetivo de este trabajo es analizar los cambios que se producen en la distribución y contenido de los polisacáridos liberados durante la autólisis de las lías con adición de un preparado enzimático comercial, compuesto por pectinasas y β -glucanasas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En la Bodega Cvne Viña Real se realizaron vinificaciones de *Vitis vinifera* var. *Tempranillo*. Tras la fermentación alcohólica se eliminaron las lías gruesas y se realizó una fermentación maloláctica sobre las lías finas. Finalizada la fermentación maloláctica, se seleccionaron los mejores vinos y se recuperaron sus lías finas, que se mezclaron en depósitos de 1000 litros, donde se sulfitaron hasta 40 mg/l de SO₂ y se acidificaron con ácido tartárico (2.5g/l). Las lías se distribuyeron entonces en barricas usadas y a la mitad de las mismas se les añadieron 15 g/Hl de una mezcla comercial de pectinasas y β -glucanasas (LE o lías con enzimas), a la otra mitad de las lías no se les aplicó este tratamiento enzimático (LC o lías control). Todas las barricas, que se giraron diariamente, se mantuvieron a una temperatura de 10°C y con nivel de SO₂ libre de 25 mg/l. Se tomó una primera muestra de las lías en los depósitos de mezcla de 1000 litros y posteriormente se tomaron muestras de las lías en las barricas, a los 21 días de su introducción en barricas y a los 59 días.

La distribución de pesos moleculares de los polisacáridos parietales liberados se realizó mediante HRSEC con columnas Shodex OHpack KB-803 y KB-805 (30 x 0.8 cm, Showa Denko, Japan). El método analítico para la cuantificación de polisacáridos se realizó según el método descrito por Ayestarán et al. [4]. Los polisacáridos se aislaron del resto de macromoléculas por precipitación en frío con etanol-ácido. La composición de los residuos glicosídicos se determinó por GC-FID y GC-MS de sus trimetilsilil-éster O-metil glicosidos (TMS) tras una metanolisis ácida y derivatización.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

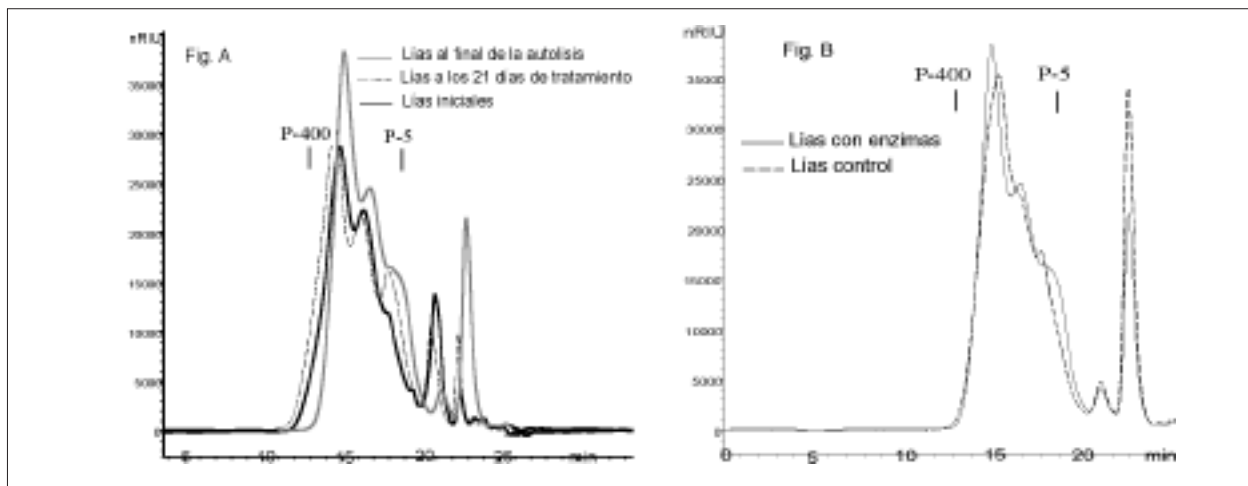
La Fig. 1 muestra la distribución de los pesos moleculares de los polisacáridos liberados en las distintas mues-



tras de lías. Se observa la presencia de 5 picos que eluyen aproximadamente a los 15, 16.7, 18, 21.3 y 22.8 minutos. Los tres primeros picos, que corresponden a moléculas con un peso molecular comprendido entre P-400 (404 kD) y P-5 (5.9 kD), son atribuidos tanto a la presencia de polisacáridos parietales procedentes de las levaduras, como mananos y ma-

noproteínas, como a otros polisacáridos de la uva como arabinogalactanos, arabinogalactano-proteínas y ramnogalacturananos tipo II dímeros [4]. Los dos últimos picos poseen pesos moleculares menores a P-5 (5.9 kD) y son debidos a la presencia de polisacáridos de bajo peso molecular o fragmentos de otras moléculas.

Fig. 1. Distribución de pesos moleculares de los polisacáridos mediante HRSEC con columnas Shodex OHpack KB-803 y KB-805. A) Evolución durante el proceso de autólisis. B) Diferencias entre tratamientos al final del proceso de autólisis



La Fig. 1A muestra la distribución de los pesos moleculares de los polisacáridos liberados a lo largo del proceso de autólisis. Se puede ver como con el transcurso del tiempo, el medio se fue enriqueciendo en polisacáridos, fundamentalmente de alto peso molecular. Esto es debido a la autólisis de las lías donde se ceden polisacáridos parietales al medio como manoproteínas y glucanos [5].

La Fig. 1B muestra la distribución de los pesos moleculares de los polisacáridos liberados al final del proceso de autólisis, tanto en las lías tratadas con enzimas como en las control. Las lías con enzimas poseen una mayor respuesta de moléculas con alto peso molecular que las lías sin tratamiento enzimático, indicando que las enzimas comerciales adicionadas hidrolizaron en mayor grado las moléculas de mayor peso molecular.

Las diferencias observadas con la distribución de los pesos moleculares de los polisacáridos se aprecian también en la Fig. 2, que muestra la evolución en el contenido de polisacáridos totales en las lías con enzimas y en las control durante todo el tiempo de muestreo. Durante los primeros 21 días de autólisis, en ambos casos se produjo una importante cesión de polisacáridos al medio (56-75%), que continuó de forma más atenuada hasta el final de la autólisis. Si comparamos los dos tratamientos en la última fecha de muestreo, se observa como el contenido de polisacáridos fue un 15% más elevado en las lías con adición de enzimas comerciales.

Entre los azúcares constituyentes de los polisacáridos, la manosa y la glucosa fueron los monosacáridos principales, constituyendo un 60% y un 17% del total respectivamente en las lías con enzimas, y un 51% y un 8% en las lías control (datos no mostrados). La presencia de estos azúcares puede utilizarse como indicativa de la canti-

dad de manoproteínas y glucanos en el medio, ya que la cantidad de manosa es una estimación de la cantidad de manoproteínas [4] y la glucosa de la de glucanos.

En la Fig. 3 se observa la evolución de la concentración de manosa y glucosa en las lías estudiadas. Las lías iniciales presentaron una cantidad muy superior de manosa en el medio que de glucosa, indicando un fuerte predominio de las manoproteínas sobre los glucanos. Durante el proceso de autólisis se produjo además una fuerte liberación de estos coloides al medio, tanto en las lías con enzimas como en las control, aunque fue más acusada en las lías con adición de enzimas comerciales (Fig. 3A). El caso de la glucosa fue algo distinto ya que la liberación de este azúcar al medio fue prácticamente nula en las lías control durante todo el proceso de autólisis, pero no así en las lías con enzimas, donde se produjo un incremento de un 240% (Fig. 3B). Este hecho indica que la sola acidificación de las lías no produce ningún efecto sobre los glucanos de las paredes celulares de las lías y que es necesaria la adición de preparados enzimáticos comerciales con β -glucanasas para romper estos polisacáridos.

Al final del proceso de autólisis, las lías con adición de enzimas comerciales presentaron un 35% más de manosa y un 112% más de glucosa que las lías control. Estas diferencias fueron ya perceptibles a los 21 días de la autólisis, indicando que el proceso de autólisis acelerada podría reducirse considerablemente en el tiempo.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. DOCO, T.; VUCHOT, P.; CHEYNIER, V.; MOUOUNET, M. 2003. **Structural modification of wine arabinogalactans during aging on lees.** *Am J. Enol. Vitic.* 54:3, 150-157.

2. FORNAIRON-BONNEFOND, C.; SALMON, JM. 2003. **Impact of oxygen by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees.** *J. Agric. Food Chem.* 51, 2584-2590.
3. BABAYAN, T. L.; BEZRUKOV, M. G.; LATOV, V.; BELIKOV, V.; BELAVTSEVA, E.; TITOVA, E. 1981. **Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects, rheological effects and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products.** *Curr. Microbiol.* 5, 163-168.
4. AYESTARÁN, B.; GUADALUPE, Z.; LEÓN, D. 2004. **Quantification of major grape polysaccharides (*Tem-***

- pranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process.** *Anal. Chim. Acta* 513, 29-39.
5. CHARPENTIER, C.; DOS SANTOS, A.M.; FEUILLAT, M. 2004. **Release of macromolecules by *Saccharomyces cerevisiae* during ageing of French flor sherry wine "Vin jaune".** *Int. J. Food Microbiol.* 96, 253-262.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación del Proyecto API06/B03 de la Universidad de La Rioja.

Fig. 2. Evolución de los polisacáridos totales (mg/l) de las lías con enzimas (LE) y las lías sin tratamiento enzimático (LC)

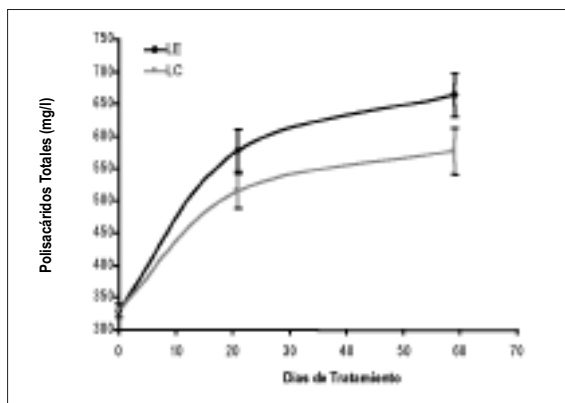


Fig. 3. Evolución del contenido en A) manosa (mg/l) y B) glucosa (mg/l) de las lías con enzimas (LE) y las lías sin tratamiento enzimático (LC)

