

Microvinificación con levaduras nativas y uvas Isabella cultivadas en Misiones

Lab scale winemaking with native yeast and Isabella grape's raised in Misiones

Juan Esteban Miño Valdés¹, José Luis Herrera², Erenio González Suárez³.

¹ Master Ing. Qco. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Misiones. Argentina

Dirección: Rosas 325. 3300 Obera. Misiones. Email: minio@fio.unam.edu.ar

² Dr. Ing. Qco. Facultad de Ciencias Exactas Qcas. y Naturales. Universidad Nacional de Misiones

³ Dr. Sc. Erenio González Suárez. Facultad de Química Farmacia. Univ. Central de las Villas. Cuba.

Resumen

Se ha estudiado la elaboración de vino blanco a partir de *Isabella tinto* (*Vitis labrusca* x *Vitis vinifera*?) uva de meza cultivada en Misiones, con las levaduras indígenas que contiene. La práctica enológica aplicada a escala laboratorio fue fermentación espontánea con levaduras nativas. La metodología analítica aplicada fue la aprobada por el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV Argentina). Las fermentaciones isotérmicas realizadas a 18°C, 22°C, 26°C y 30°C duraron 15, 12, 10 y 9 días respectivamente. La Actividad Fermentativa AF (en g. azúcar.día⁻¹) fue mejor a 30°C con 18,6 que a 26°C con 16,8, a 22°C con 14 y a 18°C con 11,2. El Poder Fermentativo PF (etanol obtenido/etanol teórico en % v/v) fue mejor a 26°C con 90,9 que a 30°C con 90,8 y a 22°C y 18°C con 89,8. El Rendimiento Fermentativo RF (en g azúcar inicial / °Alcohol obtenido) fue mejor a 26° y 30°C con 18,66 que a 18° y 22°C con 18,87. Fue viable obtener vino blanco a partir de uva *Isabella tinto* y levaduras indígenas de las mismas bayas. Todos los vinos obtenidos cumplieron con los requisitos del (INV Argentina) para consumo humano.

Palabras claves: fermentación alcohólica, levaduras nativas, uva *Isabella*, mosto

Abstract

The elaboration of white wine has been studied starting from *Red Isabella* (*Vitis labrusca* x *Vitis vinífera*?) table grape cultivated in Misiones, with the indigenous yeasts that it contains. The practical enological applied to scale laboratory was spontaneous fermentation with native yeasts. The applied analytic methodology was the one approved by the National Institute of Vitivinicultura (INV Argentina). The isothermic fermentations carried out at 18°C, 22°C, 26°C and 30°C lasted 15, 12, 10 and 9 days respectively. The Fermentative Activity AF (in g. azúcar.día⁻¹) he went better at 30°C with 18,6 that at 26°C with 16,8, at 22°C with 14 and at 18°C with 11,2. The Fermentative Power PF (ethanol theoretical obtenido/etanol in% v/v) he went better at 26°C with 90,9 that at 30°C with 90,8 at 22°C and 18°C with 89,8. The Fermentative Yield RF (in g initial sugar / obtained °Alcohol) he went better at 26°C and 30°C with 18,66 that at 18°C and 22°C with 18,87. It was viable to obtain he came white starting from grape *Red Isabella* and indigenous yeasts of the same berries. All the obtained wines fulfilled the requirements of the INV for human consumption.

Keywords: alcoholic fermentation, *Isabella* grape's, native yeast, must.

Introducción

La fermentación alcohólica en enología se efectúa en condiciones muy específicas (anaerobiosis, alta concentración de azúcares, bajo valor de pH) lo que explica el poco número de trabajos llevados a cabo en este ámbito para las *Vitis viníferas*, y la ausencia de los mismos para uvas de mesa no viníferas como *Isabella tinto* [1]. La fermentación alcohólica, que es la conversión de los principales azúcares de la uva, glucosa y fructosa, en etanol y dióxido de carbono, se lleva a cabo por levaduras del género *Saccharomyces*, por lo general *S. cerevisiae* y *S. bayanus*, que difieren en la fermentación de galactosa (*S. cerevisiae* es positiva) [2]. La uva en el viñedo es pobre en levaduras nativas, contiene de 1.10³ a 1.10⁵ cél./baya. Las levaduras indígenas o nativas presentes son principalmente de los géneros *Kloeckera*, *Metschnikowia*, *Hansenula*, *Candida* y *Hanseniaspora*; *Saccharomyces* se encuentra en los viñedos donde sea práctica común esparcir los residuos de la bodega; también se encontraron levaduras poco fermentativas como *Rhodotorula* y *Pichia* [3]. La flora nativa de la uva depende de muchos factores, tales como la lluvia, la humedad, el régimen de riego del viñedo, la altitud, los insectos, la fertilización nitrogenada y de cómo se tratan los residuos en las bodegas. [4]

Las *Vitis no viníferas* que se adaptaron muy bien al clima subtropical de Misiones y se cultivan para uva de mesa son *Niágara*, *Isabella* y *Venus* [5]; la producción de estas uvas de mesa lograron abastecer el mercado misionero en el año 2009 con 0,61 kg.hab⁻¹ [6]. La cosecha de uvas nov/10-feb/11 alcanzó unas 800 Tn, de ese total el 80-85% se comercializó como fruta fresca y con algo del remanente unos 45-50 productores rurales elaboraron vino casero para autoconsumo [7], utilizando fermentación espontánea con levaduras nativas sin control de los parámetros de proceso y obteniendo vinos de muy variada calidad en cada elaboración, sin conocer su aptitud para el consumo [8].

El problema planteado fue la falta de información tecnológica para la elaboración de vino blanco con mostos de uvas no viníferas de Misiones como *Isabella tinto* en fermentación espontánea utilizando las levaduras nativas contenidas en su piel.

Por ello el objetivo general del trabajo fue elaborar vino en blanco a 18°, 22°, 26° y 30°C (a escala laboratorio) con mostos de uva *Isabella tinto* y levaduras nativas contenidas en sus bayas. Los objetivos específicos fueron conocer los parámetros indicadores de proceso, evaluar el desempeño de las levaduras indígenas (en mosto no vinífero) en

función de las temperaturas de fermentación y la aptitud de los vinos obtenidos para el consumo humano.

MATERIALES Y METODOS

Uva y Viñedo: la uva seleccionada fue la variedad *Isabella tinto* del viñedo del lote 39-40 de Olegario V. Andrade – Misiones [8]. **Índices de Madurez:** se utilizaron los de Cillis-Odifredi = °Brix / (acidez total en g L⁻¹ de ácido tartárico) y de Van Rooyen-Ellis-Du Plessi = °Brix . pH [9]

Determinaciones:

Peso de las Bayas: se pesaron 200 bayas sanas por muestra sin peciolo; previamente se lavaron y secaron. Se usó una balanza Marca Pocket, modelo TH 500; con capacidad 500 g ± 0,1 g. [9]

Volumen de las Bayas: se introdujeron 200 bayas secas en una probeta graduada de 1.000 mL y se determinó el volumen por desplazamiento del líquido. [9]

Rendimiento en Mosto de las Bayas: se prensó la uva manualmente y se filtró. Se midió el volumen de mosto extraído con probeta graduada de 1.000 mL. Esta medición permitió estimar el rendimiento, sobre la base del volumen de mosto obtenido por kg de uva y expresarlo en porcentaje. [9]

Azúcares reductores en g L⁻¹: se midió por titulación con el método del Licor de Felhing-Causse-Bonnans. Tolerancia: para valores <20 g L⁻¹ (± 0,3 g L⁻¹) y para valores >20 g L⁻¹ (± 10%). [9]

Alcohol % v/v: se utilizó el método del Alcohómetro; el etanol separado de la muestra por destilación es medido con un alcoholímetro. Tolerancia: ± 0,3 % v/v. [10]

Acidez total en ácido tartárico en g L⁻¹: se midió por titulación con NaOH y azul de bromotimol como indicador. Tolerancia ± 0,2 g L⁻¹ [10]

Acidez volátil en ácido acético en g L⁻¹: se eliminó el CO₂ de la muestra y se midió por titulación del destilado con NaOH (indicador fenoftaleína). Tolerancia ± 0,2 g L⁻¹ [10]

pH: se midió con un potenciómetro calibrado con solución tampón a pH 4, se expresaron con 2 cifras decimales. [9] **Temperatura en °C:** se utilizó un

termómetro digital (T ± 0,1). [9]

Recuento de Levaduras: La técnica utilizada fue la Cámara de Neubauer. [9]

SO₂ libre y total en mg L⁻¹: se midió por titulación con el método de Rippert. T ± 35 [10]

Preparación del Mosto: por cada 5 kg de uva *Isabella tinto* se preparó una muestra. Se prensó manualmente sin escobajo, se recibió el mosto con borra en un recipiente aforado. Se agregó 2 g hL⁻¹ de enzimas pectolíticas y 3 g hL⁻¹ de SO₂ (solución de metabisulfito de potasio al 10%). Los envases se obturaron con válvula de agua y se dejaron decantar 24 h. La borra formada fue separada en cada muestra. Se utilizó 2,50 L de mosto para cada vinificación. [9]

Inóculo de Levadura nativa: se utilizó como inóculo el 3 % v/v de un pie de cuba de fermentación espontánea de 2 días, preparado con 2 kg de uva *Isabella tinto* macerada; se agregaron 2 g hL⁻¹ de enzimas pectolíticas. [9]

Fermentación: se realizaron por triplicado las fermentaciones isotérmicas a 18°, 22°, 26° y 30°C, utilizándose en cada ensayo 2,5 litros de mosto. Se inocularon con levaduras nativas y un coadyuvante (1 g hL⁻¹ de fosfato de amonio); la concentración inicial del mosto inoculado fue de 1,2.10⁴ levaduras nativas mL⁻¹. Los envases se mantuvieron obturados con válvula de agua para producir condiciones de anaerobiosis y se iniciaron simultáneamente las fermentaciones a las cuatro temperaturas mencionadas en cámaras isotérmicas. Cada fermentación finalizó cuando la densidad se mantuvo constante dos días consecutivos; y en ese momento, se efectuó el primer trasiego. A cada vino obtenido se le agregó 6 g hL⁻¹ de anhídrido sulfuroso para su conservación y se guardó en botellas limpias y desinfectadas de 750 mL, tapadas con corchos cónicos. Las botellas se almacenaron paradas en cámara refrigerada a 0°C por tres semanas. Luego se trasegó a botellas limpias y desinfectadas de 750 ml y se corrigió el SO₂ libre llevándolo a 35 mg L⁻¹ de vino; se obturaron con corchos cilíndricos y se almacenaron en posición horizontal en espera de los análisis fisicoquímicos. [9]

Desempeño de las levaduras: se utilizaron el PF que expresa el porcentaje de alcohol etílico formado

respecto del alcohol etílico esperado cuando la fermentación ha concluido; la AF que expresa el cociente entre los gramos de azúcar fermentada por la duración de la fermentación y el RF que expresa el cociente entre los gramos iniciales de azúcar y el grado de etanol obtenido [9].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las uvas *Isabella tinto* se cosecharon en diciembre del 2009 y sus características fisicoquímicas fueron: color de las bayas: negro; peso de 200 bayas = 559 g.; volumen ocupado por 200 bayas = 410 mL.; rendimiento en mosto = 51,88 % (p/p) (kg mosto/kg uva); densidad del mosto a (15/15) = 1.074 g L⁻¹ mosto; °Brix = 17,8 % p/p de sacarosa; contenido de azúcares = 168 g azúcar L⁻¹ mosto; °Alcohólico probable = 9,9 % (v/v) a 20 °C; acidez total = 6,375 g ácido tartárico L⁻¹ mosto; pH inicial del mosto = 3,45; índice de madurez de Cillis-Odifredi = 2,8 y de Van Rooyen-Ellis-DuPlessis = 61,43.

..... 15/15) en (g.L⁻¹), °Brix (% p/p de sacarosa a 20°C) y pH respectivamente en función del tiempo para fermentaciones isotérmicas a 18°, 22°, 26° y 30°C con mostos de *Isabella* y sus levaduras nativas.

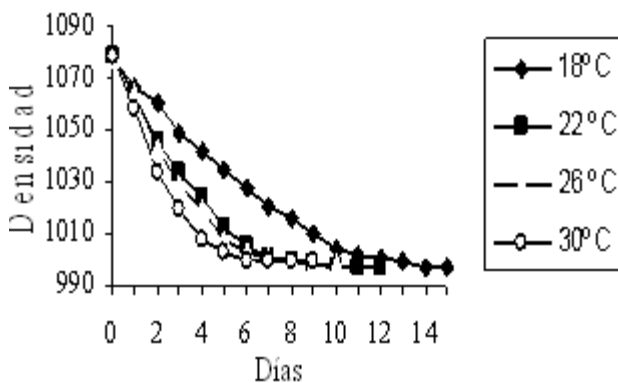


Figura 1. Densidad vs Tiempo de fermentación en *Isabella tinto* con levaduras nativas

La densidad y los °Brix del mosto están directamente relacionados con la cantidad de azúcar e indican el grado de avance de la fermentación [11], como era de esperar estos valores (Figura 1 y 2) disminuyeron por el consumo de azúcar fermentable; la densidad lo hizo desde 1.079 hasta 997 a 18° y 22°C, hasta 998 a 26°C y hasta 999 a 30°C, mientras los °Brix lo hicieron desde 17,5 hasta 5,7 a 18° y 22°C; hasta 5,5 a 26°C y hasta 6,3 a 30°C

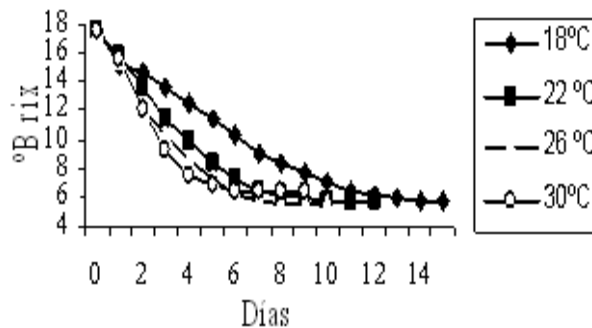


Figura 2. °Brix vs Tiempo de fermentación en mostos de uva *Isabella tinto* con levaduras nativas

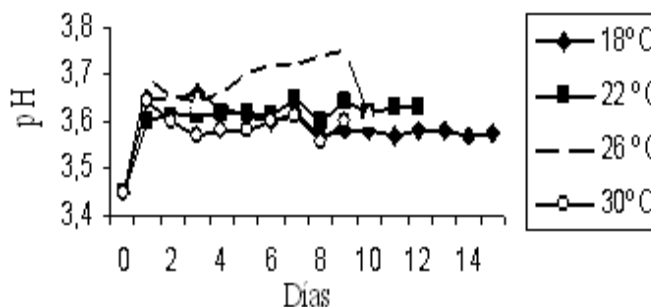


Figura 3. pH vs Tiempo de fermentación en mostos de uva *Isabella tinto* con levaduras nativas

El pH (Figura 3) a todas las temperaturas estudiadas varió entre 3,4 y 3,8; resultando ser valores aptos para la vinificación de uvas no viníferas.

Las duraciones de las fermentaciones isotérmicas fueron de 9, 10, 12 y 15 días a 30°C, 26°C, 22°C y 18°C respectivamente. No se conocía la duración de las fermentaciones aunque era de esperar que a mayores temperaturas fueran menores los tiempos de fermentación isotérmica; por tal motivo estos valores fueron novedad científica de significación tecnológica.

Desempeño de las Levaduras Nativas

En la Tabla 1 se presentan los valores de PF, AF y RF para las fermentaciones isotérmicas con inóculos de levaduras nativas en mostos de uva *Isabella tinto*.

Tabla 1. PF, AF y RF de levaduras nativas en mostos de uva *Isabella tinto*

Fermentación Isotérmica	Etanol % v/v (corregido a 20 ° C)		¹ (PF)	¹ (AF)	¹ (RF)
	esperado	obtenido	% etanol obtenido (a 20° C)	g azúcar día	g azúcar °Alcohol
18° C	9,9	8,9	89,8	11,2	18,8
22° C	9,9	8,9	89,8	14	18,8
26° C	9,9	9	90,9	16,8	18,6
30° C	9,9	9	90,8	18,6	18,6

¹Esto fue novedad científica de significación tecnológica.

Bordeu considera que en enología un rango óptimo de fermentación alcohólica está entre 22°-27°C, uno razonable entre 15°-30°C con temperaturas límites de 9° y 35°C (12).

De acuerdo a los resultados de la Tabla 1 comparando los parámetros obtenidos a las temperaturas estudiadas podemos expresar que: la AF fue mejor a 30°C con 18,6 g. azúcar.día⁻¹; el PF y el RF fueron mejores entre 26°C-30°C con 90,9-90,8 (% v/v etanol obtenido/etanol teórico) y 18,6 (g. azúcar inicial / °Alcohol obtenido), respectivamente. Estos resultados se explican por la mayor actividad de la membrana plasmática en torno a 30°C que provocó un aumento en su velocidad de intercambio de sustratos por productos con el medio, de acuerdo a las referencias bibliográficas [1] y [4].

Aptitud fisicoquímica de los vinos elaborados para el consumo humano

En la tabla 2 se presentan los parámetros globales del vino blanco obtenidos a diferentes temperaturas de vinificación isotérmica.

Los vinos elaborados presentaron menos de 10 % v/v de etanol, por ser uvas no viníferas puras.

De acuerdo a los resultados de la Tabla 2 todos los vinos blancos se ajustan a las exigencias de los parámetros globales del INV para el consumo humano.

Conclusiones

El desempeño de las levaduras nativas fue satisfactorio desde el punto de vista del PF, AF y RF a las temperaturas de fermentación isotérmicas 18°, 22°, 26° y 30°C en mostos de uva *Isabella tinto* (no vinífera pura) cultivada en Misiones; los mejores valores obtenidos del PF, la AF y el RF, para las levaduras indígenas fueron a 26° y 30°C respecto de 18° y 22°C.

Fue viable elaborar vino blanco apto para el consumo humano a partir de mostos de uva *Isabella tinto* y sus levaduras nativas, desde el punto de vista del °Alcohólico, el pH, el SO₂ (libre y total) y la acidez (total y volátil) exigidas por el INV de Argentina, a las temperaturas estudiadas.

Tabla 2. ¹Vino Blanco obtenido con levaduras nativas y uva *Isabella tinto*

Vino obtenido	mg SO ₂ L ⁻¹			g ácido L ⁻¹		
	Temperatura a (°C)	pH	°Alcohol (% v/v)	* libre	total (tartárico)	total volátil (acético)
18	3,57	8,9	16,6	96	6,52	0,98
22	3,63	8,9	12,8	119	6,07	0,78
26	3,61	9	14	102,4	6,07	1,04
30	3,60	9	8,9	115,2	7,05	0,84
Circulación Libre (10)	< 4			180 ± 35		1 ± 0,2
**Valores sugeridos (10)	3-4	< 14	25-35	180 ± 35	4 - 8	< 1,2

* SO₂ libre: todas las concentraciones se llevaron a 35 mg L⁻¹ antes de guardar el vino a 0°C. ** Para *Vitis vinifera*

¹Esto fue novedad científica de significación tecnológica

Recomendaciones

Se recomienda continuar los estudios con las vides no viníferas de Misiones y sus levaduras nativas a fin de encontrar mostos y cepas con buen potencial para fermentación alcohólica en condiciones enológicas.

en Enología. Maestría de Viticultura y Enología Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza Argentina. 1ra Ed. Univ. Pp.56.

Referencias Bibliográficas

- 1.Flanzy C., “Enología Fundamentos Científicos y Tecnológicos”. 2da. Edición Vol. 1, Ed. AMV y Mundi Prensa. Madrid, España. (2003).
- 2.Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E., “Principles and Practices of Winemaking”. Ed Acibia S.A. pag 109-111. Zaragoza, España (2002).
- 3.Blouin J., Peynaud E., “Enología Práctica: Conocimiento y Elaboración del Vino”, pag 43-46 4ta. edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid España (2006).
- 4.Flanzy C., “Enología Fundamentos Científicos y Tecnológicos”. 1ra Edición. Vol. 1, Ed. AMV y Mundi Prensa. Madrid, España. (2000).
- 5.INTA EEA. 2007. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria -Estación Experimental Cerro Azul Misiones. [Http://www.inta.gov.ar/cerroazul/actividad/pr.frut.htm](http://www.inta.gov.ar/cerroazul/actividad/pr.frut.htm) (acceso 20/07/2007).
- 6.Bakos P., “Uvas para todo Misiones”, Diario el Territorio, Posadas (09/12/2010) Suplemento económico pp.8 Misiones Argentina. (2010).
- 7.Piekun A., “Estimaron que la cosecha de uva fue de 800 tn”, Diario el Territorio, Posadas (28/03/2011). Suplemento económico pp.9. Misiones Argentina. (2011).
- 8.Miño Valdés J.E.; 2010. Microvinificación en blanco de *Isabella tinto* y *Niágara rosada* cultivadas en Misiones. 1ra edición. Editorial Universitaria UNaM. pp 25-31. Bs.As. Argentina.
- 9.Pszczolkowski P., Bordeu E., 2006. “Manual de Microvinificación”. Ed. Univ. Católica de Chile, pag. 5-21. Chile.
- 10.Instituto Nacional de Vitivinicultura INV, 2009. Mendoza. Argentina
[Http: www.inv.gov.ar/normativas.php.ind=2](http://www.inv.gov.ar/normativas.php.ind=2) (acceso 26/07/2009).
- 11.Pardo Gonzalez J.E., “El Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC) en la Industria del Vino” Ed. AMV Ediciones y Mundi Prensa, pág. 40-42 Madrid España (2005).
- 12.Bordeu E., 2006. Fermentaciones Alcohólicas