

1

2 **Influencia de la maceración con las enzimas *Rapidase Extra Color* y *Rapidase Extra Fruit* en el pH,**
3 **la liberación de potasio, disminución de la acidez y color en vinificación clásica de uva**
4 **Tempranillo**

5

6

7

8

Miquel Puxeu¹, Anna Brull¹, Jordi Rosello¹, Enric Nart¹, Patrice Pellerin²

9

10

11

12 ⁽¹⁾ Parc Tecnològic del Vi, Carretera de Porrera Km. 1, 43730 Falset, Spain.

13 ⁽²⁾ OENOBANDS®, Parc Scientifique Agropolis II, bat 5, 2196 Blvd de la Lironde, 34397
14 Montpellier, France.

15

16

17

18 **Palabras clave:** pH, acidez, potasio, maceración, enzimas, tempranillo.

19

20

21 **Resumen**

22 En el presente trabajo se pretende estudiar la afectación del uso de la enzima *Rapidase Extra Color* y
23 *Rapidase Extra Fruit* de OENOBANDS® sobre el pH, acidez total, potasio y color en una vinificación
24 clásica de uva Tempranillo. Paralelamente, se evaluarán otros beneficios de las enzimas como la
25 extracción de polifenoles y color.

26 **Introducción**

27 La utilización de enzimas en diferentes países para la elaboración de vino es una práctica ampliamente
28 extendida con el fin de mejorar algunas características de los vinos como pueden ser color o aroma
29 (Piemolini-Barrento, L.T, et al. 2014): En la elaboración de vinos tintos el uso de enzimas se está
30 expandiendo hacia la obtención de otros beneficios a parte de los comunes como pueden ser el
31 incremento de rendimiento de prensado o clarificado. Actualmente, uno de los mayores intereses del uso
32 de enzimas en la elaboración de vinos tintos recae en el incremento de la extracción de antocianos y
33 polifenoles durante la etapa de maceración con las pieles. La permeabilidad de las paredes celulares de
34 las pieles de la uva puede verse incrementada mediante el uso de enzimas, que puede ayudar a la
35 hidrólisis parcial de los polisacáridos de las paredes celulares. Esta misma acción, puede incrementar o
36 modificar la composición de polisacáridos del vino (Ayestaran, B., et al. 2004; Doco, T., et al. 2007).

37 Los preparados comerciales de enzimas usados en el proceso de elaboración de vino normalmente son
38 complejas mezclas de diferentes enzimas con diferentes actividades en el vino (Fia, G. et al. 2014). Los
39 preparados de enzimas están indicados para aplicaciones específicas como pectinase, celulase,
40 glicosidase entre muchas otras (Gunata, Z. et al. 1996; Rensburg, P. van, et al. 2000; Ayestaran, B. et al.
41 2004; Bakker, J. et al. 1999; Guadalupe, Z., et al. 2007; Ducasse et al., 2010). Algunas de las anteriores
42 actividades descritas, han sido observadas en algunas cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, pero los
43 niveles de actividad o rendimiento son demasiado bajos como para jugar un rol significativo durante la
44 vinificación (Eschstruth, A., et al. 2011).

45 No siempre, como consecuencia del uso de enzimas se obtienen resultados positivos, estudios anteriores
46 han mostrado actividades cinnamoyl esterase en preparados de enzimas que contribuyen al incremento
47 de fenoles volátiles (Dugelay et al., 1993). Otro de los efectos negativos que se atribuyen al uso de
48 enzimas comerciales es la liberación de potasio en el medio, que repercute en un incremento de pH y
49 disminución de la acidez total de los vinos (Kodur. S., 2001).

50 El objetivo del presente estudio es la evaluación del impacto de las enzimas *Rapidase Extra Color* y
51 *Rapidase Extra Fruit* de OENOBANDS® en los parámetros de pH, acidez total tartárica, liberación de
52 potasio y Color durante la vinificación clásica de Tempranillo.

53

54 **Materiales y métodos**

55 El estudio se ha llevado a cabo en la bodega experimental de las instalaciones de VITEC (Falset,
56 Tarragona, Spain). La uva utilizada ha sido de la variedad Tempranillo procedente de la Denominación de
57 Origen Ribera del Duero. Se realizaron 3 ensayos de maceración: Control (en adelante Control),
58 maceración con la enzima *Rapidase Extra Color* y *Rapidase Extra Fruit*. Para cada microvinificación se
59 utilizaron 50kg de uva, que se maceraron en depósitos de acero inoxidable de 50 litros de capacidad total
60 durante 4, 8 y 12 días. La dosis de sulfuroso añadido al inicio de la maceración y fermentación alcohólica
61 no supero en ningún caso los 50 mg/l. La dosis de cada enzima añadida fueron las recomendadas por

62 Oenobrands, 3g/100 kg de uva en ambos casos. En la **Figura 1** se muestra un breve esquema del
63 protocolo de maceración.

64

65 Los análisis de pH y acidez total se han llevado a cabo según la metodología descrita por la Office
66 International de la Vigne et du Vin (OIV, 2014). El análisis de potasio se ha llevado a cabo mediante el
67 analizador enzimático Y15 (BioSystems, Barcelona). El análisis de color como Índice de Polifenoles
68 Totales (IPT) y Coordenadas CieLab se ha llevado a cabo según la metodología descrita por la OIV (OIV,
69 2014).

70

71 **Resultados y discusión**

72

73 *Efecto de la adición de enzimas sobre el pH*

74 Se ha estudiado el efecto de las enzimas *Rapidase Extra Color* y la *Rapidase Extra Fruit* sobre el pH en el
75 proceso de vinificación clásica de uva Tempranillo en las fracciones de Vino Escurrido y Vino Prensado.
76 En la **Figura 2** se puede observar la evolución de los valores de pH en la fracción Vino Escurrido. La
77 evolución de los valores de pH en el caso de la fracción Vino Prensado, muestran la misma tendencia. A
78 los tiempos 4 y 8 días de maceración los tratamientos con aplicación de las enzimas de estudio, muestran
79 valores de pH claramente inferiores a los valores de pH del tratamiento Control. Esta diferencia es más
80 evidente a 4 días de maceración que a 8 días. Al tiempo 12 días de maceración, el tratamiento *Rapidase*
81 *Extra Fruit* presenta un valor de pH igual que el tratamiento Control, mientras que el tratamiento *Rapidase*
82 *Extra Fruit*, presenta un pH ligeramente superior a los otros dos tratamientos.

83

84 *Efecto de la adición de enzimas sobre la Acidez Total Tartárica*

85 Se ha estudiado el efecto de las enzimas *Rapidase Extra Color* y la *Rapidase Extra Fruit* sobre el Acidez
86 Total Tartárica en la vinificación clásica de uva Tempranillo en las fracciones de Vino Escurrido y Vino
87 Prensado. En la **Figura 3** se puede observar la evolución de los valores de ATT en el vino escurrido. La
88 evolución de los valores de pH en el caso de la fracción Vino Prensado, muestran la misma tendencia. En
89 todos los casos, los valores de ATT de los tratamientos con adición de enzimas, *Color* y *Rapidase Extra*
90 *Fruit*, muestran valores superiores a los valores del tratamiento Control. Esta diferencia es mayor al
91 tiempo de maceración 4 días (1,5 y 1,4 g/l de diferencia para los tratamientos *Rapidase Extra Color* y
92 *Rapidase Extra Fruit* respectivamente) que a los tiempos 8 y 12 días (0,1 y 0,4 en el caso de 8 días de
93 maceración, y 0,6 en el caso de 12 días de maceración), siendo la diferencia superior 1.5 g/l y la inferior
94 0.1 g/l.

95

96 *Efecto de la adición de enzimas sobre la concentración de potasio*

97 Se ha estudiado el efecto de las enzimas *Rapidase Extra Color* y la *Rapidase Extra Fruit* sobre la
98 concentración de potasio en la vinificación clásica de uva Tempranillo en las fracciones de Vino Escurrido

99 y Vino Prensado. En la **Figura 4** se puede observar la evolución de los valores de concentración de
100 potasio en el vino escurrido. La evolución en la concentración de potasio en el caso de la fracción Vino
101 Prensado, muestran la misma tendencia. La concentración de potasio en los tratamientos con enzimas,
102 Rapidase Extra Fruit y Color, muestran al tiempo 4 días de maceración una concentración muy similar a
103 la del tratamiento Rapidase Extra Control. En el tiempo de 8 días de maceración, ambos tratamientos con
104 enzimas muestran concentraciones ligeramente inferiores a la del tratamiento Control, 117 y 174 mg/l en
105 los casos Rapidase Extra Fruit y Rapidase Extra Color respectivamente. Al tiempo de maceración 12
106 días, la tendencia observada anteriormente se invierte, mostrando los tratamientos Rapidase Extra Fruit y
107 Rapidase Extra Color 135 y 207 mg/l de potasio más que el tratamiento Control respectivamente. Este
108 resultado concuerda ligeramente con el obtenido en el caso de la ATT, en que a 12 días de maceración
109 los tratamientos con enzimas presentaban valores de ATT superiores a los del tratamiento Control. Una
110 maceración larga con tratamiento con enzimas, implica una mayor extracción de potasio y de ácidos
111 orgánicos que conllevan un incremento de la ATT.

112

113 *Efecto de la adición de enzimas sobre el Índice de Polifenoles Totales*

114 Se ha estudiado el efecto de las enzimas *Rapidase Extra Color* y la *Rapidase Extra Fruit* sobre el IPT y
115 color en la vinificación clásica de uva Tempranillo en la fracción de Vino Escurrido. En la **Figura 5** se
116 pueden observar los valores de IPT para cada uno de los tratamientos a 12 días de maceración. Se
117 puede apreciar fácilmente que los tratamientos en los que se ha practicado una maceración con la
118 aplicación de las enzimas Fruit y Color, presentan valores superiores de IPT. El IPT del tratamiento
119 control es de 45,8 mientras que las maceraciones con enzimas Rapidase Extra Fruit y Rapidase Extra
120 Color presentan valores de 49,5 y 48,5 respectivamente. Estos resultados indican que las enzimas
121 testadas favorecen la extracción de compuestos fenólicos de la pepita y las pieles de la uva. En la **Figura**
122 **6**, se muestra la naturaleza y concentración de los polifenoles de los diferentes vinos después de 12 días
123 de maceración en antocianos y taninos. Respecto a la concentración de antocianos es muy similar en los
124 tres tratamientos mientras que en el caso de los taninos, los tratamientos con las enzimas *Rapidase Extra*
125 *Color* y *Rapidase Extra Fruit* presentan concentraciones de taninos superiores a las del tratamiento
126 *Control*.

127

128 *Estudio de la adición de enzimas sobre las Características Cromáticas*

129 En la **Figura 7**, se observa la representación de los parámetros intensidad de Color, absorbancia a
130 420nm y a 520nm de los vinos después de 12 días de maceración. En los tres parámetros anteriores, los
131 ensayos con las enzimas *Rapidase Extra Color* y *Extra Fruit* presentan valores superiores a los del
132 tratamiento *Control*.

133

134

135

136

137 **Conclusiones**

138 Se ha evaluado el uso de las enzimas *Rapidase Extra Color* y *Rapidase Extra Fruit* en la vinificación
139 clásica de uva Tempranillo, valorando el efecto en diferentes parámetros como pH, ATT, potasio, IPT y
140 Color. Los tratamientos con enzimas presentan valores de pH inferiores a los valores de pH del
141 tratamiento Control en el caso de maceraciones cortas de 4 y 8 días. En el caso de la Acidez Total
142 Tartárica, los tratamientos con enzimas presentan valores de ATT superiores a los del tratamiento Control
143 ya se en maceraciones cortas, 4 y 8 días, o maceraciones largas de hasta 12 días. Las mayores
144 diferencias se encuentran en maceraciones cortas de 4 días. Respecto a la concentración de potasio, el
145 tratamiento con enzimas no presenta efecto a maceraciones muy cortas de 4 días, presenta
146 concentraciones de potasio inferiores a la del tratamiento Control en maceraciones de 8 días, y
147 concentraciones superiores al Control en el caso de maceraciones largas de hasta 12 días.

148 Respecto al Color, el uso de enzimas favorece el incremento de valores de IPT, Intensidad de Color,
149 Absorbancia a 420 y 520 nm, aunque los vinos obtenidos presentan una menor contribución de color rojo
150 en el color final del vino.

151 En resumen, en maceraciones cortas de 4 días el uso de enzimas favorece la disminución de valores de
152 pH, incremento de valores de ATT como consecuencia de la liberación de ácidos orgánicos y no influye
153 en la liberación de potasio. En maceraciones medias de 8 días el uso de enzimas continua favoreciendo
154 la disminución de valores de pH, incremento de valores de ATT y disminución de concentraciones de
155 potasio.

156 .

157

158

159 **Bibliografía**

160

161 Ayestaran, B., Guadalupe, Z., & Leon, D. 2004. Quantification of major grape polysaccharides
162 (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Analytica Chimica Acta*,
163 **513**:29-39.

164

165 Bakker, J., Bellworthy, S. J., Reader, H. P., & Watkins, S. J. 1999. Effect of enzymes during vinification on
166 color and sensory properties of port wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **50**:271-276.

167

168 Doco, T., Williams, P., & Cheynier, V. (2007). Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments
169 on wine polysaccharide composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:6643-6649.

170

171 Ducasse, MA., Canals-Llauberes, RM., de Lumey, M., Williams, P., et al. 2010. Effect of macerating
172 enzyme treatment on the polysaccharide composition of red wines. *Food Chemistry*, **118**:369-376.

173

174 Dugelay, I., Gunata, Z., Sapis, JC., et al. 1993. Role of cinnamoyl esterase-activities from enzyme
175 preparations on the formation of volatile phenols during winemaking. *Journal of Agricultural and Food*
176 *Chemistry*, **41**:2092-2096.

177

178 Eschstruth, A., & Divol, B. (2001). Comparative characterization of endo-polygalacturonase (Pgu1) from
179 *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* under winemaking conditions. *Applied*
180 *Microbiology and Biotechnology*, **91**:623-634.

181

182 Fia, G., Canuti, V. & Rosi, I., (2014). Evaluation of potential side activities of commercial enzyme
183 preparations used in winemaking. *International Journal of Food Science & Technology*. **49**, 1902-1911.

184

185 Guadalupe, Z., Palacios, A., & Ayestaran, B. (2007). Maceration enzymes and mannoproteins: A possible
186 strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines. *Journal of Agricultural and Food*
187 *Chemistry*, **55**:4854-4862.

188

189 Gunata, Z., Vallier, MJ., Sapis, JC., et al. (1996). Hydrolysis of monoterpenyl-beta-D-glucosidase by cloned
190 beta-glucosidases from *Bacillus polymyxa*. *Enzyme and Microbial Technology*, **18**:286-290.

191

192 Kdur, S. 2011. Effects of juice pH and potassium on juice and wine quality, and regulation of potassium in
193 grapevines through rootstocks (*Vitis*): a short review. *Vitis*. **50**:1-6.

194

195 Rensburg, P. van, Pretorius, IS. (2000). Enzymes in winemaking: harnessing natural catalysts for efficient
196 biotransformations – A review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, **21**. Special Issue.

197

198 Tatsch Piemolini-Barreto, L., Zacaria, J., Longaray Delamare, A.P., et al. (2014). Variation in phenolic
199 compounds, anthocyanins, and color in red wine treated with enzymatic extract of *Kluyveromyces*
200 *marxianus*. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, **30**:1541-1547.

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232 LISTA DE FIGURAS

233



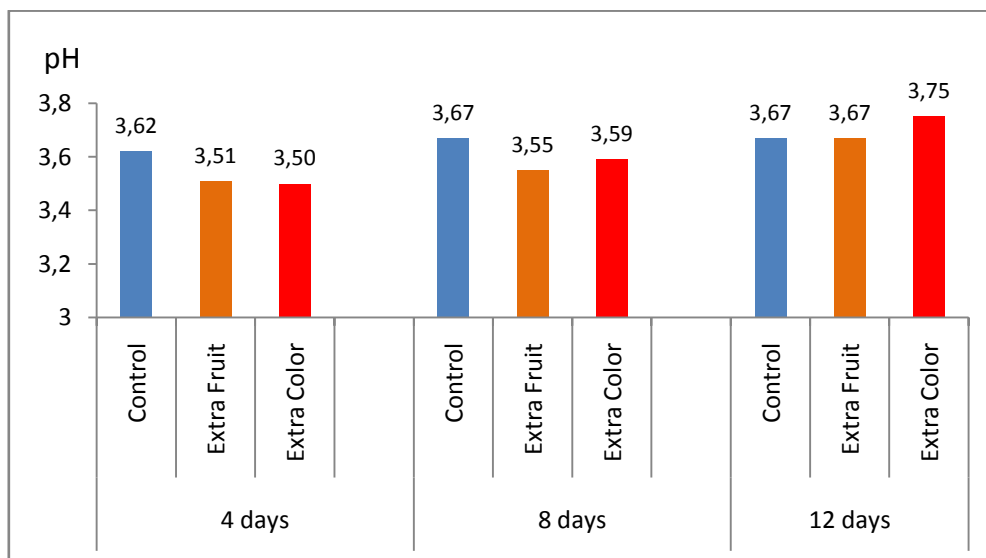
234

235 Figura 1. Protocolo de maceración seguido en los tres tratamientos de estudio *Control*, *Color* y *Fruit*.

236

237

238

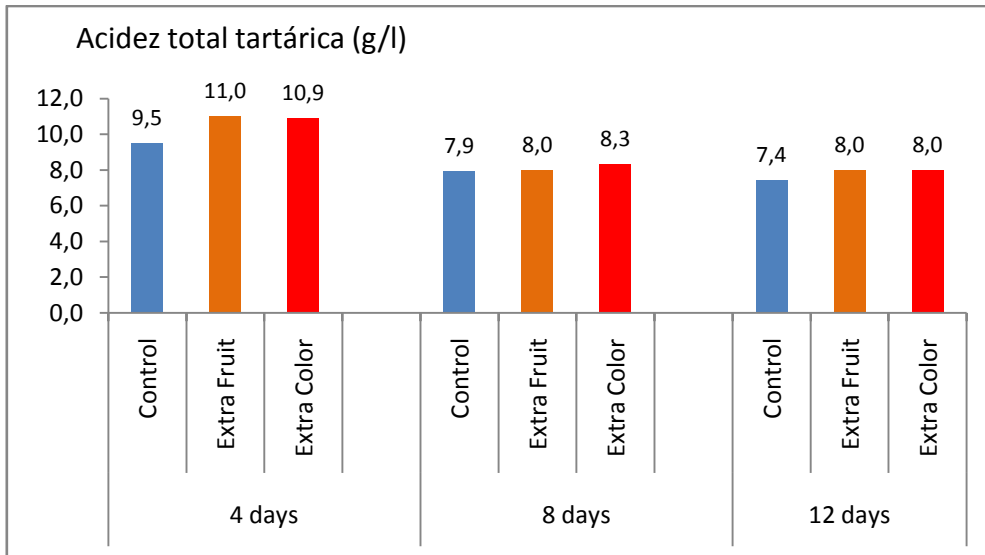


239

240 Figura 2. Evolución de los valores de pH para los tratamientos *Control*, *Color* y *Fruit* a los tiempos de maceración 4,
241 8 y 12 días.

242

243



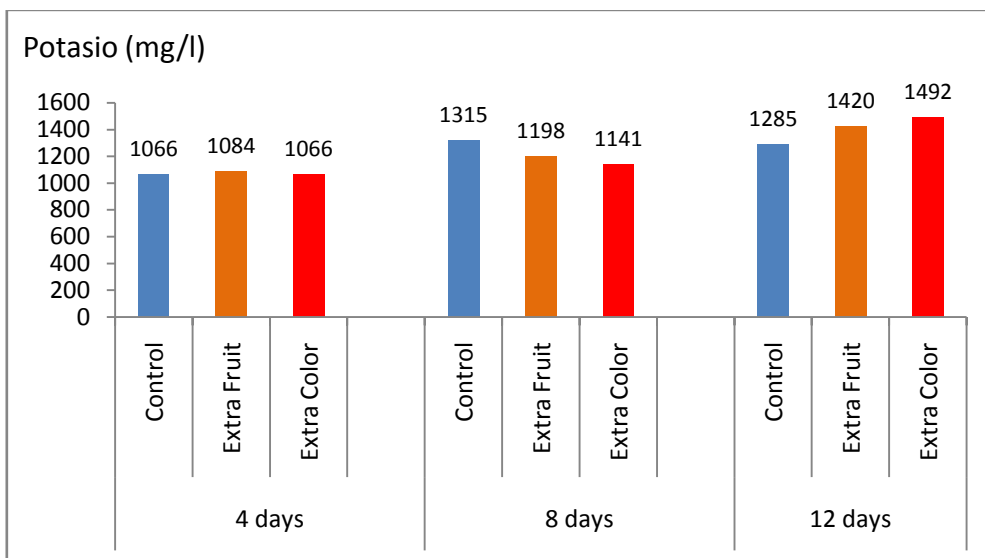
244

245

246

247

Figura 3. Valores de Acidez total tartárica en el vino escurrido, para cada tratamiento a los distintos días de maceración.



248

249

250

251

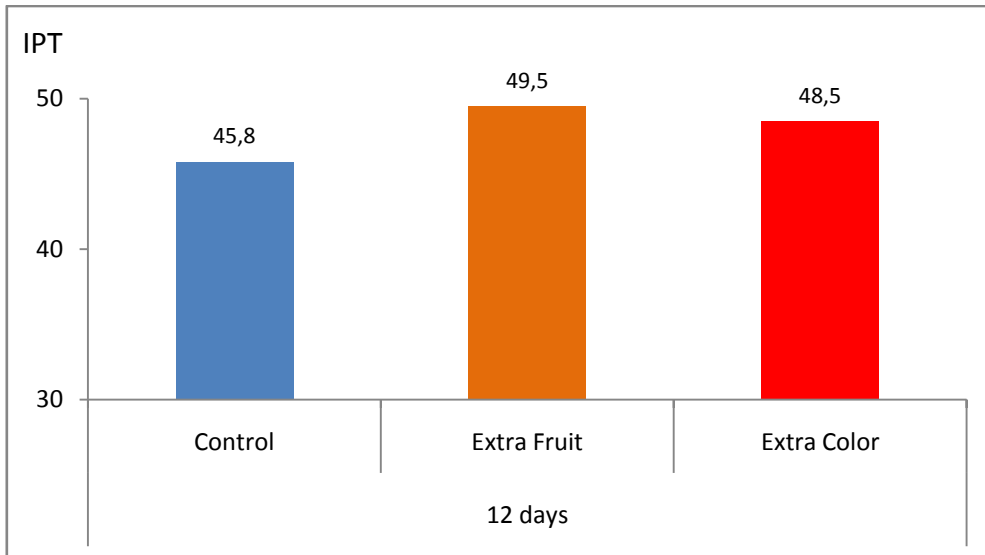
252

253

254

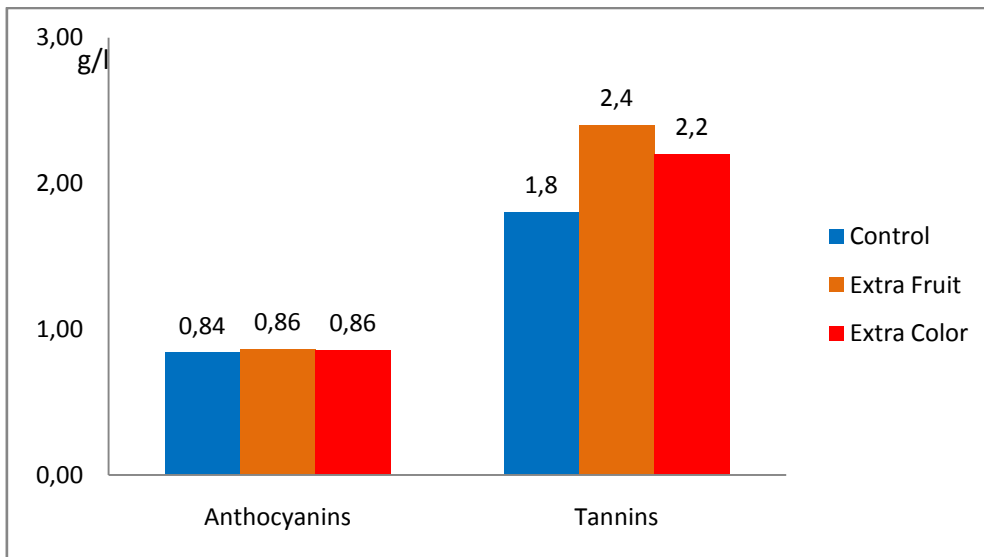
255

Figura 4. Evolución de la concentración de potasio para los dos tratamientos Control, Color y Fruit a 4, 8 y 12 días de maceración. Unidades en mg/l.



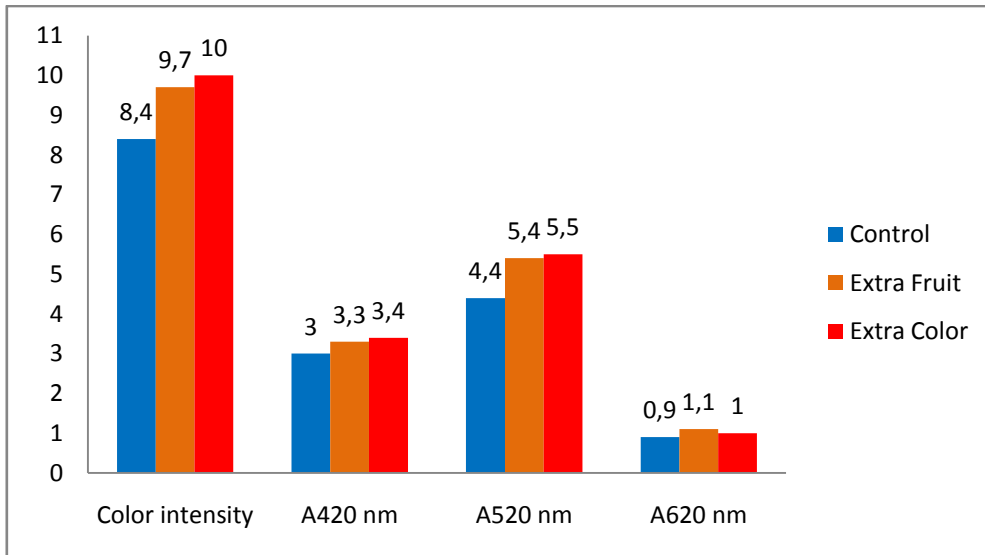
256
257
258

Figura 5. Valores de Índice de Polifenoles Totales para la fracción vino escurrido a los 12 días de maceración.



259
260
261
262
263
264

Figura 6. Concentración de antocianos y taninos a los 12 días de maceración.



265

266

Figura 7. Representación de los parámetros Intensidad de Color y Absorbancia a 420 y 520 nm.