

MODULACIÓN DEL PERFIL AROMÁTICO DEL VINO VERDEJO MEDIANTE INOCULACIÓN SECUENCIAL DE *Wickerhamomyces anomalus* y *Saccharomyces cerevisiae*

Josefina Vila-Crespo¹, Lorena López-Enríquez¹, Violeta Ruipérez¹, José M. Rodríguez-Nogales², Encarnación Fernández-Fernández²

RESUMEN

El estudio de la dinámica poblacional de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* desarrollado en fermentaciones espontáneas realizadas a partir de uva de la variedad Verdejo, procedente de viñedos ecológicos de la Denominación de Origen Rueda, permitió aislar dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y una cepa de *Wickerhamomyces anomalus*. Factores como la abundancia en las diferentes etapas del proceso de vinificación, el comportamiento fermentativo y la identificación de actividades enzimáticas relevantes relacionadas con la liberación de aromas y con la tecnología de elaboración determinaron su selección. Estas cepas se utilizaron para el desarrollo de vinificaciones experimentales, combinando mediante inoculación secuencial la cepa de *W. anomalus* con las dos cepas de *S. cerevisiae*. El estudio de los compuestos volátiles de los vinos obtenidos mostró una fuerte influencia de *W. anomalus* sobre el perfil aromático, dando lugar a vinos con nuevas características aromáticas en la inoculación secuencial frente a las inoculaciones únicas con *S. cerevisiae*.

INTRODUCCIÓN

La calidad, tipicidad y singularidad de un vino dependen de múltiples factores relacionados con todos los procesos, desde la obtención de la uva hasta la elaboración del vino. Las poblaciones de levaduras vínicas que definen los ecosistemas fermentativos son uno de los factores clave en la composición y características organolépticas del vino. La utilización de cepas seleccionadas de levaduras autóctonas permite asegurar el desarrollo de la fermentación, además de definir un perfil organoléptico propio en el vino.

El objetivo de este estudio fue evaluar la inoculación secuencial de *W. anomalus*/*S. cerevisiae*, en mosto de uva Verdejo, estudiando su comportamiento fermentativo y el perfil organoléptico de los vinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron dos cepas autóctonas seleccionadas de *S. cerevisiae* (Sc01 y Sc02) y una cepa autóctona no-*Saccharomyces* (*W. anomalus*, Wa).

Las microvinificaciones se realizaron en la bodega experimental de la E.T.S. Ingenierías Agrarias (Palencia), a partir de 4 L de mosto de uva de la variedad Verdejo. Las inoculaciones mixtas se realizaron de forma secuencial, empezando con el inóculo Wa y completando la secuencia a las 48 h con el inóculo Sc. Las combinaciones ensayadas fueron Wa/Sc01 y Wa/Sc02. También se incluyeron fermentaciones control con la inoculación única de cada cepa de Sc. Todas las vinificaciones fueron realizadas por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las inoculaciones secuenciales Wa/Sc01 y Wa/Sc02 presentaron cinéticas fermentativas semejantes a las inoculaciones únicas de Sc01 y Sc02 (Tabla 1, Figura 1). Sin embargo, sus perfiles aromáticos demostraron un comportamiento claramente diferenciado en relación a las fermentaciones control (Figura 2).

Tabla 1. Análisis fisicoquímico de los vinos obtenidos.

	Sc01	Wa/Sc01	Sc02	Wa/Sc02
Azúcares reductores (g/L)	2,1 ± 0,8	2,9 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,1
pH	3,29 ± 0,01	3,26 ± 0,01	3,28 ± 0,01	3,26 ± 0,01
Acidez total (g/L)	6,3 ± 0,0	6,7 ± 0,6	6,1 ± 0,1 ^a	6,7 ± 0,0 ^b
Acidez volátil (g/L)	0,66 ± 0,01 ^a	1,03 ± 0,05 ^b	0,51 ± 0,05	0,91 ± 0,33
SO₂ libre (mg/L)	21 ± 1	16 ± 1	19 ± 1	17 ± 1
SO₂ total (mg/L)	57 ± 8	56 ± 1	52 ± 2	48 ± 0
Grado alcohólico (% v/v)	15,3 ± 0,0	15,3 ± 0,0	15,4 ± 0,1	15,2 ± 0,1

Las letras en subíndice indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en los parámetros analizados entre la inoculación secuencial y la inoculación única (control).

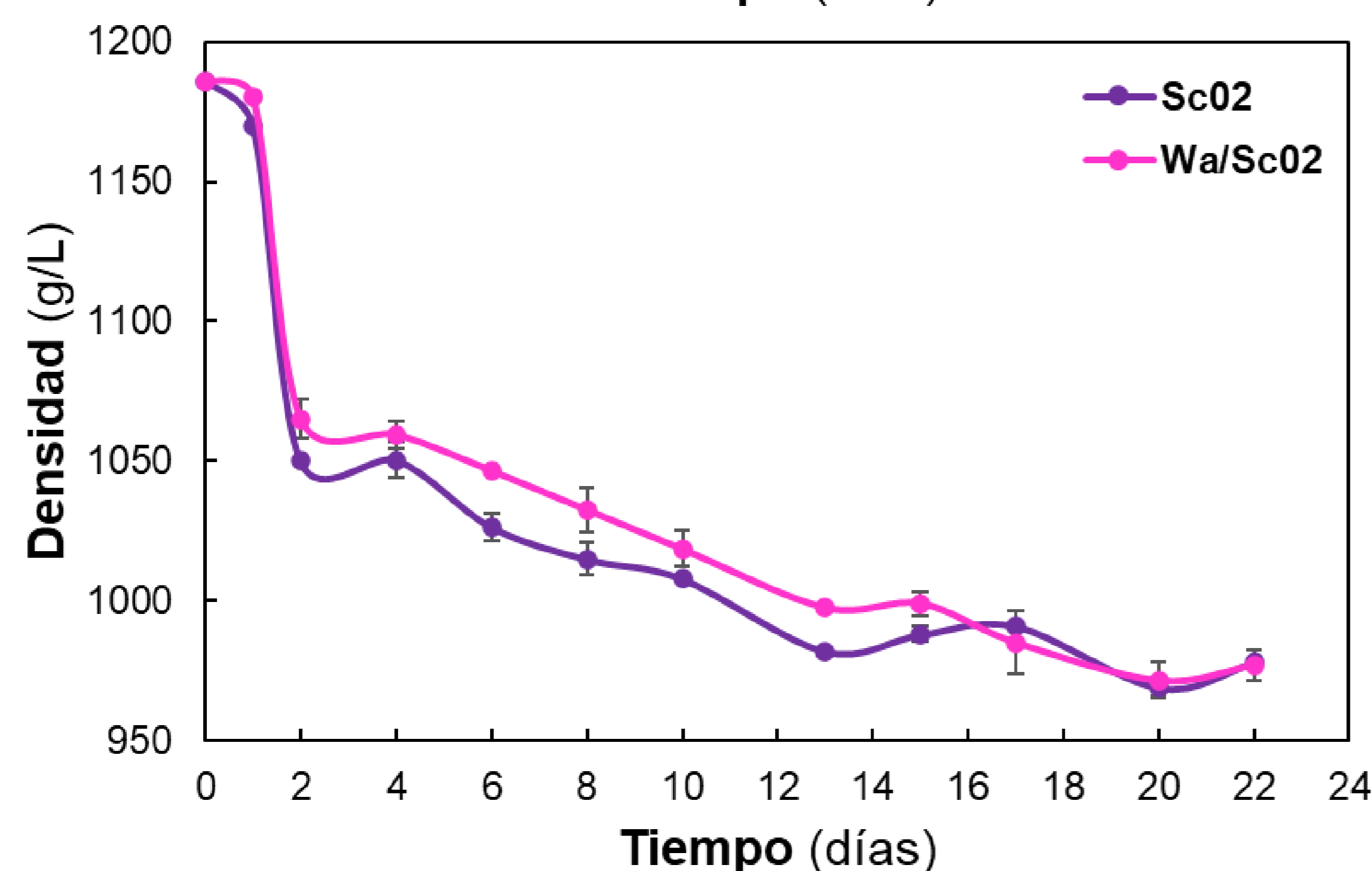
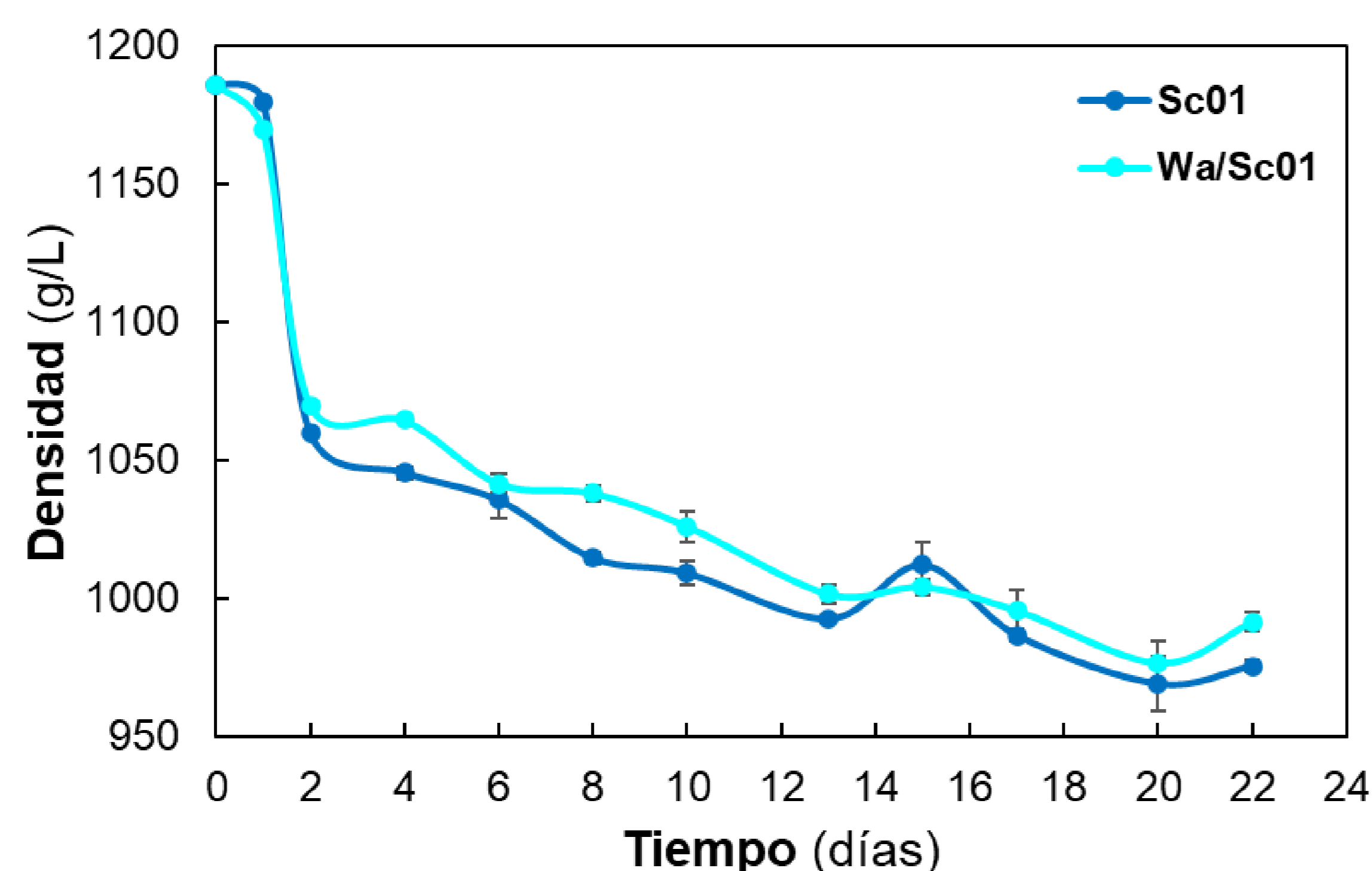


Fig. 1. Comparación de las cinéticas fermentativas de las inoculaciones secuenciales Wa/Sc y las inoculaciones únicas (Sc01 y Sc02).

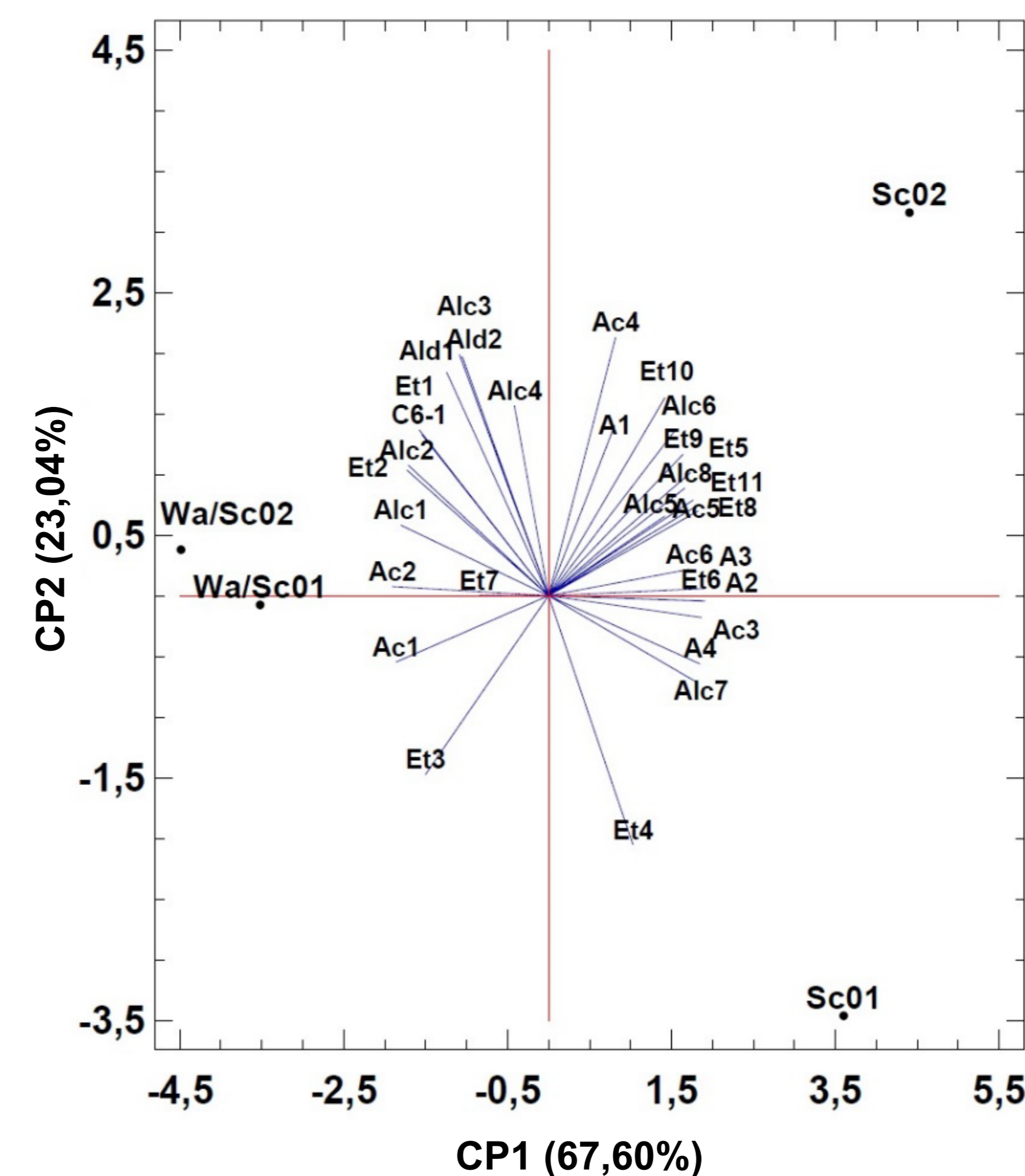


Fig. 2. Perfil aromático de los vinos representado mediante análisis de componentes principales (ACP). A: acetatos, Et: ésteres etílicos, Alc: alcoholes superiores, Ac: ácidos grasos, Ald: aldehídos.

El seguimiento de las poblaciones inoculadas permitió determinar un porcentaje de implantación del 100 % (Tabla 2), en todas las fermentaciones experimentales y en las dos fases de toma de muestra (48 h y FF).

Tabla 2. Control molecular de implantación de las cepas inoculadas.

Cepas inoculadas	Fase	Nº aislados	PCR Interdelta	Secuenciación	Crecimiento agar Lisina
Sc01	48 h	6	Sc01	-	-
Sc01	48 h	6	Sc01	-	-
Sc02	48 h	6	Sc02	-	-
Sc02	48 h	6	Sc02	-	-
Wa	48 h	6	-	<i>W. anomalus</i>	Positivo
Wa	48 h	6	-	<i>W. anomalus</i>	Positivo
Sc01	FF	3	Sc01	-	-
Sc01	FF	3	Sc01	-	-
Sc02	FF	3	Sc02	-	-
Sc02	FF	3	Sc02	-	-
Wa/Sc01	FF	3	Sc01	-	Negativo
Wa/Sc01	FF	3	Sc01	-	Negativo
Wa/Sc02	FF	3	Sc02	-	Negativo
Wa/Sc02	FF	3	Sc02	-	Negativo

Se tomaron muestras de los duplicados de fermentación de cada condición, en dos fases: a las 48 h desde el inicio de la inoculación (48 h) y en el final de la fermentación (FF). Las cepas de *S. cerevisiae* se confirmaron mediante el método PCR-Interdelta. En las inoculaciones secuenciales la presencia de *W. anomalus* se determinó a las 48 h, antes de la inoculación de las cepas de Sc01 y Sc02, mediante el crecimiento en agar lisina y su posterior confirmación a nivel de especie mediante secuenciación de la región D1/D2 del gen 28S del ARN.

CONCLUSIONES

- Las cepas autóctonas seleccionadas mostraron una adecuada implantación y cinética fermentativa en el mosto de la variedad Verdejo, demostrando ser buenas candidatas como cultivos iniciadores.
- Las inoculaciones secuenciales *W. anomalus*/Sc01 y *W. anomalus*/Sc02, en comparación con las inoculaciones únicas, no afectaron a la cinética fermentativa, a la concentración final de azúcares reductores o al grado alcohólico de los vinos elaborados.
- La cepa de *W. anomalus* inoculada ejerce una notable influencia en la síntesis de los compuestos volátiles y permite la elaboración de vinos con un perfil aromático característico y diferenciado.