

# APLICACIÓN DE ALTA PRESIÓN DE HOMOGENIZACIÓN EN MOSTOS COMO ALTERNATIVA A LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA DEL SULFUROSO

Puig, A.\*<sup>(1)</sup>, Olmos, P.<sup>(1)</sup>, Alibau, A.<sup>(1)</sup>, Guamis, B.<sup>(2)</sup> and Mínguez, S.<sup>(1)</sup>  
<sup>(1)</sup> Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI)-IRTA.

C/ Amàlia Soler, 29. 08720 Vilafranca del Penedès (Barcelona) (Spain).

Telf. +0034 93 890 02 11. Fax. +0034 93 890 03 54 e-mail: [apuigpujol@gencat.net](mailto:apuigpujol@gencat.net)

<sup>(2)</sup> Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XiT, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Edifici V, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, (Spain).

## RESUMEN

El sector elaborador de vinos tiene la necesidad de garantizar la calidad microbiológica de sus productos para asegurar su aceptación y dinámica comercial. Existen tratamientos de carácter físico como las altas presiones de homogenización que no repercuten en las propiedades nutricionales y organolépticas finales del alimento. El estudio que se presenta ha evaluado las posibilidades que ofrece esta técnica de reducir la flora autóctona natural que acompaña a los mostos y su efecto sobre las propiedades fermentativas y sensoriales de los mismos. Se han utilizado dos tipos de mosto: uno blanco de la variedad Parellada y uno tinto de la variedad Trepát.

Los resultados obtenidos demuestran la utilidad del procesado físico por alta presión de homogenización a 200 MPa para reducir la carga microbiana de los mostos a su entrada en bodega. Se detectaron poblaciones residuales de aerobios totales pero no se aislaron ni hongos, ni levaduras ni bacterias lácticas después del tratamiento en ambos mostos. Además, gracias a la disminución de la flora autóctona en el mosto, se mejoró la implantación de la levadura seleccionada para la fermentación alcohólica. A nivel sensorial se comprobó, tanto en el análisis organoléptico de mostos como de los vinos producidos, que las repercusiones del tratamiento son nulas.

## PALABRAS CLAVE

Alta presión de homogenización; mostos; vinos; población microbiana; análisis sensorial.

## INTRODUCCIÓN

La estabilización microbiológica de los vinos es una etapa importante en el proceso de su elaboración. La adición de sulfuroso que es el método que se utiliza habitualmente para reducir la carga microbiana de los mostos a su entrada en bodega y el tratamiento final en los vinos antes de su embotellado conduce, en algunos casos, a cambios organolépticos que empobrecen y deprecian el producto final, a parte de causar en algunos individuos posibles riesgos a reacciones alérgicas.

Por otro lado, las bodegas tienden cada vez más a elaborar sus vinos con inóculos de levaduras seleccionadas para poder controlar mejor el proceso de fermentación y mantener unas características aromáticas y gustativas secundarias de forma regular año

tras año. La intervención de microorganismos autóctonos (levaduras y bacterias) presentes en los mostos puede conducir a alteraciones no deseables. Por lo tanto, es necesario reducir al máximo su población microbiana inicial.

En las últimas décadas el sector alimentario ha desarrollado tecnologías físicas no térmicas para estabilizar microbiológicamente los productos y, por tanto, poder alargar su conservación. Uno de estos métodos consiste en la aplicación de altas presiones. Este tratamiento induce en los microorganismos cambios de tipo morfológico, bioquímico y genético. Además provoca trastornos en su funcionamiento y reproducción (Cheftel, J.C. 1992). Por otra parte, el principal atractivo de esta tecnología reside en que se pueden conservar los parámetros nutricionales y sensoriales del producto tratado.

En el sector enológico, este proceso sólo se ha probado en algunas ocasiones para preservar la calidad y durabilidad de los mostos (Daoudi, L. et al., 2002) y se han realizado varios estudios sobre su repercusión en la elaboración y conservación del vino (Lonvaud-Funel, A. et al., 1994) (Delfini, C. et al., 1995) (Puig, A. et al, 2003).

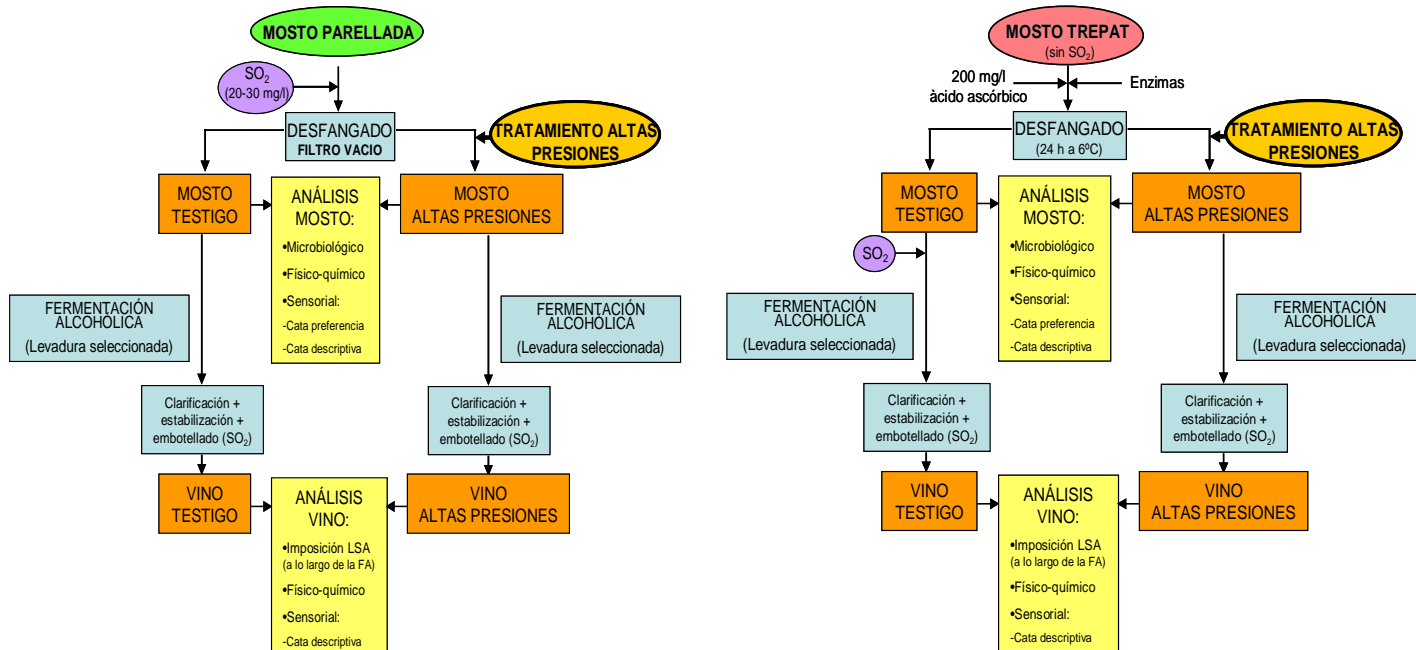
El objetivo de este trabajo ha sido observar las repercusiones del tratamiento por altas presiones sobre las características microbiológicas, enológicas y sensoriales y su aptitud para vinificación de dos tipos de mosto: uno blanco y uno rosado desfangados de distinta forma y comprobar así si su aplicación permitiría disminuir los niveles de sulfuroso que se añaden al inicio del proceso fermentativo y facilitar el arranque y desarrollo del mismo sin peligro de alteraciones microbianas debidas a la flora autóctona que acompaña a la uva.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tratamiento de los Mostos

Los mostos se obtuvieron de dos cooperativas vitícolas de la D.O. Penedès (mosto de la variedad blanca Parellada) y D.O. Conca de Barberà (mosto de la variedad tinta Trepát). El sistema de desfangado de los dos mostos fue distinto, tal y como se esquematiza en la Figura 1.

**Figura 1.** Procesamiento de los mostos y análisis realizados en mostos y vinos



El lote inicial de cada uno de los mostos (unos 40 L) se dividió en dos de 20 L. Uno de los sublotos (testigo), una vez desfangado, se sometió a una vinificación tradicional con levadura seleccionada a temperatura controlada entre 17 y 18°C. El otro sublote se trató por altas presiones y posteriormente se llevó a cabo la fermentación alcohólica como en el caso del testigo.

El tratamiento por altas presiones se efectuó en un equipo homogenizador modelo FPG 11300:350 (Hygienic homogeniser unit) Stansted Fluid Power, LTD (Stansted, Essex, UK) en la Planta de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona. Los mostos se trataron a 200 MPa (aproximadamente 2000 atmósferas) de presión a una etapa, con un caudal de trabajo de 120 L/h, a una temperatura de entrada de entre 6-8°C. En el interior del equipo, después del tratamiento, la temperatura sube 0,190°C/MPa aproximadamente, por lo que los mostos, a la salida se enfriaron inmediatamente a 18-20°C.

### **Análisis de parámetros enológicos, cromáticos y polifenoles**

Se registraron las características enológicas principales de los mostos testigos y tratados por altas presiones: grado Brix, grado alcohólico probable, acidez total, pH, nitrógeno fácilmente asimilable y ácido glucónico mediante análisis oficiales ((D.O.C.E., 1990). Así mismo se analizaron parámetros cromáticos como:  $A_{280}$ ,  $A_{420}$ ,  $A_{520}$ ,  $A_{620}$ , intensidad, tonalidad (Glories, Y., 1984), parámetros CIELAB (Bakker, J. et al., 1986) y compuestos polifenólicos: polifenoles totales, compuestos fenólicos no flavonoides (Kramling, T.E. and Singleton, V.L., 1969), antocianos (Somers, T.C. and Evans, M.E., 1977), catequizas (Vivas, N. et al., 1994) y ácidos hidroxicinámicos ( $A_{320}$ ) (Zoecklein, B.W., et al., 1995).

### **Análisis microbiológicos, estudio de la población de levaduras y evolución de la dinámica fermentativa**

Se analizaron, mediante medios y condiciones de crecimiento selectivos, los tres grupos mayoritarios de microorganismos que se encuentran presentes en la flora autóctona de la uva antes de llegar a la bodega: aerobios totales, levaduras y hongos y bacterias lácticas. El recuento de aerobios totales se realizó mediante crecimiento colonial sobre agar de recuento en placa (Scharlab) e incubación en condiciones aeróbicas a 28°C durante 48 h. Para las levaduras y hongos se utilizó agar Sabouraud con cloramfenicol (Scharlab) e incubación a 28°C durante 48 h. Para las bacterias lácticas se utilizó el medio MLO (*Oenococcus oeni* medium) (Scharlab) con un 2% de agar-agar y suplementado con nistatina (50 mg/L) después de su esterilización. Las condiciones de crecimiento se efectuaron a 30°C en una estufa con un 5% de CO<sub>2</sub> en su atmósfera durante 6 días.

El estudio de la cepa de levadura mayoritaria durante la fermentación alcohólica y por tanto, responsable de la misma, se realizó mediante el análisis del perfil de restricción del ADN mitocondrial (Querol, A. et al., 1992; Puig-Pujol, A. et al., 2002) de una representación de la población de levaduras presentes al inicio, mitad y final del proceso fermentativo, comparando los perfiles obtenidos con el perfil de la cepa de levadura comercial sembrada para realizar la fermentación alcohólica.

La cinética fermentativa se siguió a través de la medida de pérdida de densidad a lo largo del tiempo debida a la transformación del azúcar del mosto en alcohol en el vino mediante un aerómetro.

### **Análisis sensorial de mostos y vinos**

Para conocer el efecto que el procesado por altas presiones producía en el color, aroma y gusto de los mostos sometidos a este tratamiento y sus vinos resultantes, se realizaron catas descriptivas mediante un panel de 10 catadores expertos en la que se puntuaba en escala del 1 al 9 para mostos: el color, intensidad de aroma, aroma a fruta fresca, aroma a fruta cocida (como descriptor negativo), intensidad de gusto, gusto fresco, sensación final en gusto y valoración global del mosto catado. Para vinos los descriptores fueron: calidad del color, intensidad de aroma, aroma a fruta fresca, aroma a fruta cocida, aroma a reducción (estos dos últimos considerados como descriptores negativos), sensación ácida y valoración final.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Parámetros enológicos**

Los resultados de los parámetros enológicos analizados en ambos mostos de la partida sin tratar y del lote tratado por altas presiones se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Valores analíticos de los mostos de Parellada y Trepat testigo y tratado por altas presiones

MOSTO	PARELLADA		TREPAT	
	TESTIGO	ALTAS PRESIONES	TESTIGO	ALTAS PRESIONES
° BRIX	15,5	15	16,75	16,25
° ALCOHÓLICO PROBABLE (GAP)	8,1	7,8	8,9	8,6
ACIDEZ TOTAL (g/l ác. tartárico)	4,4	4,4	4,8	4,75
pH	3,43	3,43	3,51	3,52
NFA (mg/l)	100	86	112	108
ÁC.GLUCÓNICO (mg/l)	398	411	229	253

Cabe señalar la diferencia de 0,5 unidades en el °Brix (0,3 unidades en el GAP) entre el lote “testigo” y el lote “altas presiones” en ambas variedades de mosto. Esta diferencia puede explicarse por el arranque de fermentación por levaduras autóctonas en el mosto que pudo tener lugar durante el traslado a la Planta de Tecnología de los Alimentos justo antes de que el lote fuera tratado por altas presiones. Las diferencias en los otros valores analíticos se encuentran dentro del error del método de análisis.

Se analizaron también parámetros de color y polifenoles. Las únicas diferencias encontradas fueron, en la Parellada, un valor ligeramente más alto en la tonalidad del mosto tratado por altas presiones y una presencia más alta de ácidos hidroxicinámicos en el testigo, lo que le hace más susceptible a la oxidación. En el mosto de Trepát, los parámetros analíticos referentes al color rojo (Cielab (a) y  $A_{520}$ ) y también los antocianos fueron ligeramente superiores en el lote testigo.

### Estudio microbiológico y dinámica fermentativa de los mostos

El principal objetivo de este trabajo residía en observar qué consecuencias a nivel microbiológico se obtenían cuando los mostos eran tratados por altas presiones. Los resultados aparecen en la **tabla 2**.

**Tabla 2.** Niveles de microorganismos (UFC/ml) encontrados en los mostos de Parellada y Trepát sin tratar (testigo) y tratado por altas presiones

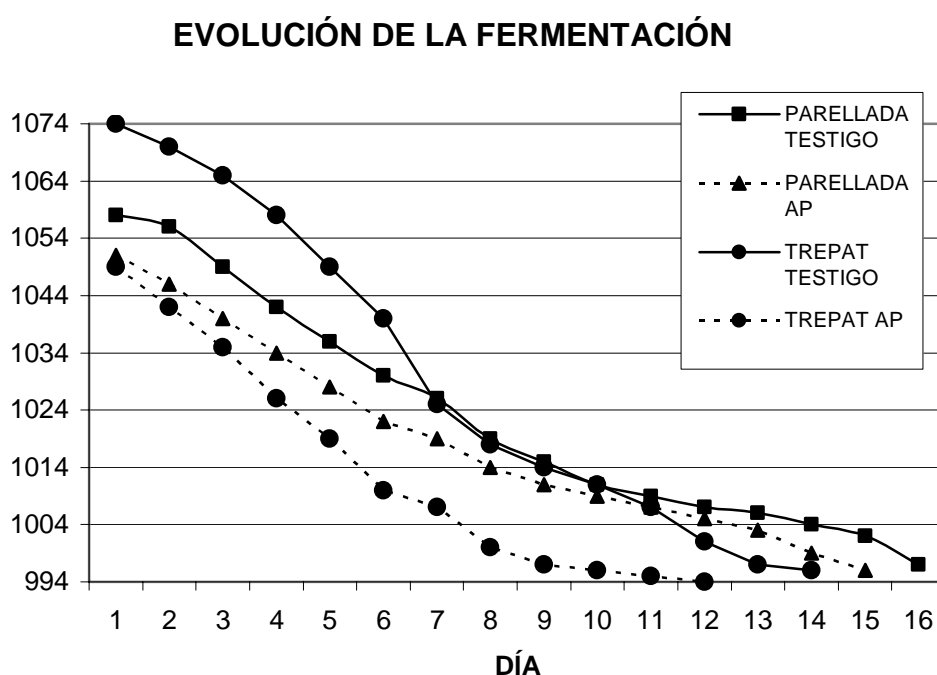
MOSTO	PARELLADA		TREPAT	
	TESTIGO	ALTAS PRESIONES	TESTIGO	ALTAS PRESIONES
AEROBIOS TOTALES	$2,7 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^0$	$1,1 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^1$
LEVADURAS Y HONGOS	$2,4 \cdot 10^3$	0	$1,2 \cdot 10^6$	0
BACTERIAS LÁCTICAS	$5,5 \cdot 10^3$	0	$2,8 \cdot 10^5$	0

Se detectaron poblaciones residuales de aerobios totales pero no se detectaron ni hongos, ni levaduras ni bacterias lácticas después del tratamiento por altas presiones en ambos mostos. En el mosto de Trepát se consiguieron 6 logaritmos de reducción en el caso de las levaduras, más de 5 log en las bacterias lácticas y más de 4 log en el grupo de los aerobios totales. El mosto de Parellada con menos población microbiana debido al proceso de desfangado más enérgico sufrido, se consiguieron hasta 3 logaritmos de reducción en todos los grupos analizados.

Las levaduras y los hongos son microorganismos muy sensibles, inactivándose a presiones de 200-300 MPa (Cheftel, J.C., 1995). Entre las bacterias, se ha descrito que existe una relación entre la morfología celular y la resistencia a la presión siendo las bacterias más sensibles las de forma bacilar (Ludwig, H. and Schreck, Ch., 1997) como el caso de las bacterias lácticas existentes en el mosto a la entrada en bodega.

Una vez realizado el tratamiento, estos mostos y los correspondientes testigos iniciaron la fermentación alcohólica mediante siembra de una levadura comercial. La evolución de la fermentación en las cuatro vinificaciones se muestra en la Figura 2.

**Figura 2.** Dinámica fermentativa de los mostos Parellada y Trepát testigo y tratado por altas presiones



El tratamiento efectuado no afectó a la cinética fermentativa de los mostos ya que evolucionaron del mismo modo que los correspondientes testigos. No existieron ralentizaciones al inicio de la FAL en las muestras sometidas a altas presiones, ni ningún tipo de desviaciones atribuibles al tratamiento.

Se quiso averiguar si la imposición de la levadura sembrada fue total en las cuatro fermentaciones. Para ello se recogieron muestras de los depósitos al inicio, mitad y final de la FAL. Una representación de la población de levaduras presentes en cada punto de muestreo se identificó a nivel de cepa mediante el análisis del perfil de restricción del ADN mitocondrial (Querol, A. et al., 1992; Puig-Pujol, A. et al., 2002) y se comparó con el perfil dado por la levadura inoculada. Los porcentajes de implantación en cada caso se detallan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Implantación (%) durante la fermentación alcohólica (FAL) de la levadura seleccionada.

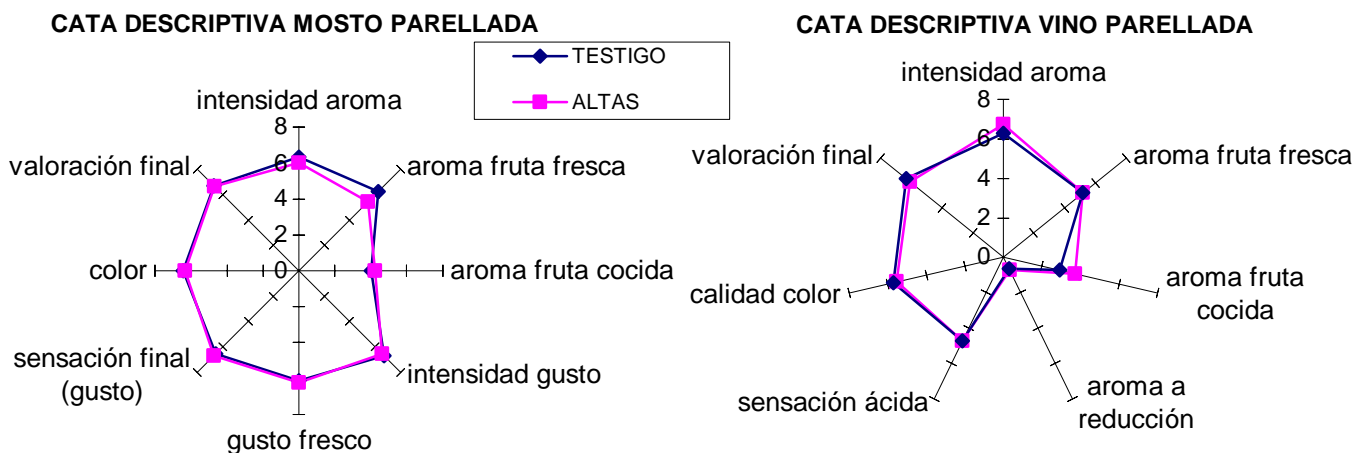
TRATAMIENTO	PARELLADA		TREPAT	
	TESTIGO	ALTAS PRESIONES	TESTIGO	ALTAS PRESIONES
INICIO FAL	100 %	100 %	60 %	100 %
MITAD FAL	100 %	100 %	70 %	100 %
FINAL FAL	100 %	100 %	92 %	100 %

La implantación de la levadura sembrada fue total excepto en el depósito la variedad Trepát que no había recibido ningún tratamiento. Cabe recordar que este lote, al iniciar la FAL, presentaba una concentración de levaduras y hongos autóctonos de  $1,2 \cdot 10^6$  UFC/ml. Así pues, en los primeros días de la fermentación alcohólica actuaron conjuntamente la levadura seleccionada (60 % de implantación) y la flora autóctona que acompañaba al mosto inicial, con las posibles consecuencias negativas que podía conllevar. No fue así el caso de los dos lotes tratados por altas presiones y en el lote testigo de Parellada, donde la cepa inoculada se implantó desde el inicio de la FAL.

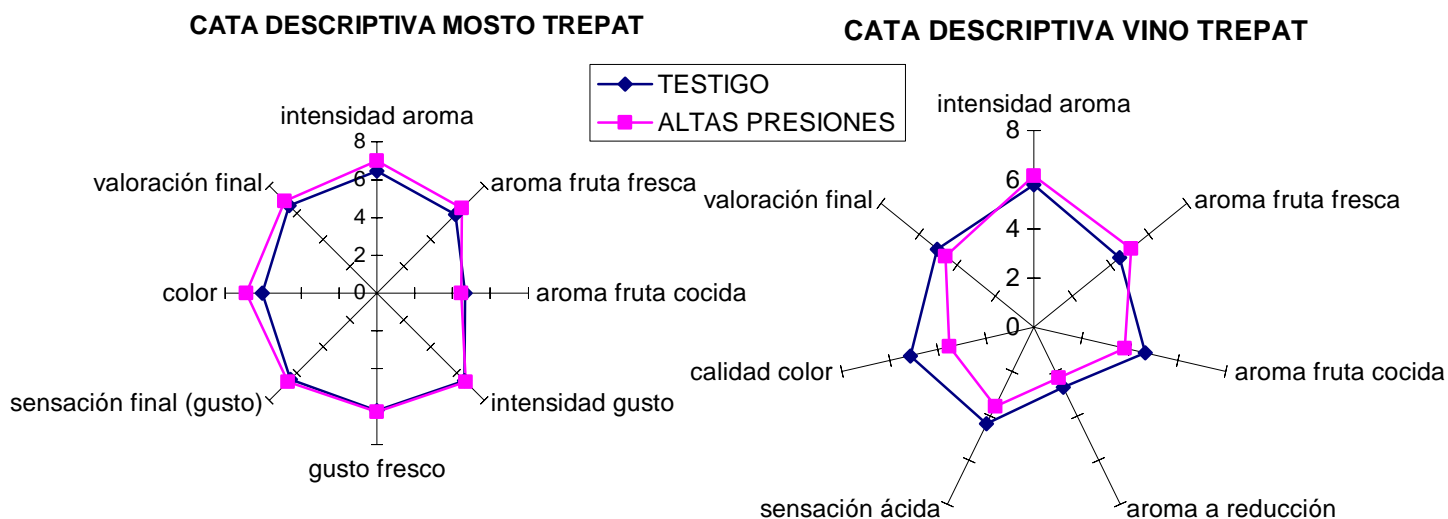
### Análisis sensorial de los mostos tratados por altas presiones y los vinos producidos

Los resultados de las puntuaciones medias de los catadores en las catas descriptivas para los distintos descriptores se grafican en la Figura 3 para Parellada y Figura 4 para Trepát.

**Figura 3.** Cata descriptiva del mosto y vino de la variedad Parellada del lote sin recibir tratamiento (testigo) y del lote procesado por altas presiones.



**Figura 4.** Cata descriptiva del mosto y vino de la variedad Trepát del lote sin recibir tratamiento (testigo) y del lote procesado por altas presiones.



En la variedad Parellada, el mosto testigo y el mosto tratado por altas presiones fueron puntuados de forma muy parecida. Existió una pequeña diferencia en el descriptor de aroma a fruta fresca en el que se puntuó ligeramente mejor el mosto testigo. Este factor se relaciona con la cata realizada en los vinos elaborados a partir de estos mostos, en la que la única diferencia en puntuación se atribuyó al descriptor aroma a fruta cocida, que, teniéndolo en cuenta como factor negativo para un vino joven, el mejor considerado al recibir menor puntuación fue el vino testigo.

En la variedad Trepát hubo algunas diferencias. En el mosto, el tratado por altas presiones recibió puntuaciones ligeramente superiores en todos los descriptores. En cambio, las opiniones de los degustadores variaron al catar el vino. En el aspecto visual, el vino testigo fue, con diferencia, el mejor puntuado. Ya se había observado en el análisis de polifenoles y color en mostos que este lote presentaba mejores características en este aspecto: más antocianos y valores superiores en Cielab (a) y A<sub>520</sub>. Sin embargo, en las características aromáticas el lote que había sido tratado por altas presiones recibió, en general, mejor calificación. La valoración final fue parecida en ambos casos. En general pues, respecto al análisis organoléptico, el procesado por altas presiones no presentó ningún tipo de repercusión ni en los mostos ni posteriormente en los vinos derivados de éstos.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la utilidad del procesado físico por altas presiones para reducir la carga microbiana de un mosto a su entrada en bodega, mejorando, en el caso de fermentaciones realizadas con siembra de una levadura seleccionada, la implantación de ésta. Esta técnica permite la posibilidad de reducir las dosis de un aditivo universal para el vino como es el dióxido de azufre, permitiendo

conservar el carácter natural del vino. Además se ha comprobado que sus repercusiones sensoriales son nulas, consiguiendo elaborar vinos con las mismas características que un vino sin haber recibido tratamiento pero con mayor seguridad microbiológica, evitando el riesgo de desviaciones organolépticas indeseadas y causadas por microorganismos que acompañan de forma natural a los mostos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bakker, J., Bridle, P. and Timberlake, C.F.(1986). Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis*, 25: 67-78.

Cheftel, J.C. (1992). Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: An overview. *High Pressure and Biotechnology*, C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans & P. Masson (ed). Editions John Libbey Eurotext, Montrouge. pp.195-209.

Cheftel, J.C. (1995). High-pressure, microbial inactivation and food preservation. (review). *Food Science and Technology International*, 1: 75-90.

Daoudi, L., Quevedo, J.M., Trujillo, A.J., Capdevila, F., Bartra, E., Mínguez, S. and Guamis, B. (2002). Effects of high pressure treatment on the sensory quality of white grape juice. *High Pressure Research*, 22: 705-709.

Delfini, C., Conterno, L., Carpi, G., Rovere, P., Tabusso, A., Cocito, C. and Amati, A. (1995). Microbiological stabilisation of grape musts and wines by high hydrostatic pressures. *Journal of Wine Research*, 6 n°2: 143-151.

D.O.C.E. (Diario Oficial de las Comunidades Europeas) (1990). Reglamento (CEE) n° 2676/90 de la Comisión de 17 de Septiembre. Métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino.

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. *Connaissance Vigne Vin*, 18 n°4: 253-271.

Kramling, T.E. and Singleton, V.L. (1969). An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20: 86-92.

Lonvaud-Funel, A., Dupont, G., Demazeau, G. and Bignon, J. (1994). Essais de mutage de vins blancs liquoreux par traitement aux hautes pressions. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28 n°1: 57-66.

Ludwig, H. and Schreck, Ch. (1997). The inactivation of vegetative bacteria by pressure. *High pressure Research in the Bioscience and Biotechnology*, (ed.) K. Heremans Leuven University Press, Leuven. Belgium. pp.221-224.

Puig-Pujol, A., Vilavella, M., Bartra, E. et Mínguez, 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* n°105, 33-36.

Puig, A., Vilavella, M., Daoudi, L., Guamis, B., Mínguez, S. (2003). Stabilisation microbiologique et biochimique des vins par application de la technique de hautes pressions. *Bulletin de l'O.I.V*, vol. 76 n° 869-870: 596 – 617.

Querol, A., Barrio, E., Huerta, T., y Ramón, D. (1992). Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2948- 2953.

Somers, T.C. and Evans, M.E. (1977). Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, "chemical age". *Journal of Science Food Agricultural*, 28: 279-287.

Vivas, N, Glories, Y., Lagune, L., Saucier, C. and Augustin, M. (1994). Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-diméthylaminocinnamaldéhyde. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28 n°4: 319-336.

Zoecklein, B.W., Fuselson, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995). *Wine analysis and production*. The Chapman and Hall Enology Library. New York, 452-455.