

REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE PRECURSORES DE ETILFENOLES POR FORMACIÓN DE PIRANOANTOCIANOS VINILFENÓLICOS.

Benito, S.; Palomero, F.; Morata, A.; Calderón, F.; González, M. C.; Suárez-Lepe, J. A.
 Dpto. Tecnología de Alimentos. ETS Ingenieros Agrónomos
 Universidad Politécnica de Madrid.
 Ciudad Universitaria S/N. Madrid 28040. TF: 913365745
 e-mail: santiago.benito@upm.es
 VII FORO MUNDIAL DEL VINO . LOGROÑO, 12-14 MAYO 2010.



GI. Enología, enotecnia y biotecnología enológica
 Dpto. Tecnología de Alimentos



enotecUPM
 Dept. Food Technology
 ETS Ingenieros Agrónomos
 Universidad Politécnica de Madrid
 Ciudad Universitaria S/N
 Madrid 28040 SPAIN
 Tel. 0034 91 336 57 45
 Fax. 0034 91 336 57 46

INTRODUCCIÓN

Los géneros *Brettanomyces/Dekkera* son responsables de la aparición de aromas fenólicos [Figura 1]. Dichos olores son resultado de la evolución de ácidos hidroxicinámicos hacia etilfenoles como consecuencia de las actividades hidroxicinamato descarboxilasa (HCDC) y vinilfenolreductasa (VphR) de estos géneros [Figura 2]. El objetivo del trabajo fue facilitar la formación de piranoantocianos vinilfenólicos usando cepas de *Saccharomyces* HCDC+ (pero VphR-), con objeto de reducir el contenido inicial de ácidos hidroxicinámicos del vino durante la fermentación y prevenir de esta forma la formación de etilfenoles en caso de contaminación por *Brettanomyces/Dekkera*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Varias cepas de *Saccharomyces* con diferente actividad HCDC [Figura 3] fueron utilizadas en fermentaciones de mosto real, con objeto de favorecer la formación de piranoantocianos vinilfenólicos y la consiguiente eliminación de precursores de 4-etilfenol. La formación de antocianin-3-O-glucósidos (precursores de aductos vinilfenólicos), la descarboxilación de ácido *p*-cumárico y piranoantocianos vinilfenólicos fueron estudiados por HPLC-DAD-ESI/MS y la formación de 4-etilfenol fue determinada por SPME/GC/MS [1;2;3]. Después de la fermentación, los vinos fueron inoculados con elevadas poblaciones (10^4 ufc/ml) de *Dekkera bruxellensis* con objeto de forzar la producción final de 4-etilfenol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mostos reales de la variedad Tempranillo fueron fermentados con 2 levaduras 7VA (HCDC+) y S6U (HCDC-). Estos ensayos fueron realizados por triplicado y mostraron un contenido promedio de $0,47 \pm 0,07$ mg/l para el 4-etilfenol en el vino fermentado con la cepa 7VA [Tabla 1]. Esta concentración fue obtenida 31 días después de inocular con *Dekkera bruxellensis* D37. Este valor está por debajo del umbral de preferencia para 4-etilfenol establecido en $0,620$ mg/l. Además el mosto fermentado por la cepa S6U (HCDC-) manifestó fuerte carácter Brett con una concentración final de $1,10 \pm 0,06$ mg/l de 4-etilfenol (y $0,46 \pm 0,08$ mg/l de 4-etilguayacol) [Tabla 1]. Una elevada formación de malvidin-3-O-glucosido-4-vinilfenol fue detectada en los mostos fermentados con la cepa 7VA [Tabla 1] [Figura 4]. Este pigmento no fue detectado en el mosto fermentado por la cepa S6U. La formación de $0,8$ mg/l de malvidin-3-O-glucosido-4-vinilfenol y $0,3$ mg/l de malvidin-3-O-glucosido-4-vinilguayacol en los mostos fermentados por la cepa 7VA redujo en un 50% la producción final de 4-etilfenol y en más de un 75% la producción de 4-etilguayacol respecto de las fermentaciones de la cepa S6U después de la inoculación con *Dekkera bruxellensis* D37.

CONCLUSIONES

La actividad HCDC de las cepas fermentativas incrementó significativamente la formación de piranoantocianos vinilfenólicos y redujo la concentración final de 4-etilfenol y 4-etilguayacol generada por la actividad vinilfenolreductasa (VPhR) de *D. bruxellensis*. El uso de cepas de *Saccharomyces* con elevada actividad HCDC reduce la formación final de 4-etilfenol en vinos. Además, la eficacia de métodos terapéuticos para tratar vinos alterados por etilfenoles es limitada, ya que incluso en el mejor de los casos solo se obtienen mejoras moderadas y siempre acompañadas de notables cambios sensoriales en los vinos.

AGRADECIMIENTOS

A **Monserrat Iñiguez**, directora de la Estación Enológica de Haro, José Barcenilla del Instituto de Fermentaciones Industriales-CSIC, Juan Antonio Sánchez y Susana Somolinos, personal técnico del Laboratorio de Enología de ETSIAgrónomos por su valiosa colaboración. Y al MEC por la financiación: Proyecto AGL-2008-05603-C02-01/AGR

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Benito, S.; Palomero, F.; Morata, A.; Calderón, F.; Suárez-Lepe, J. A. 2009. Factors affecting the hydroxycinnamate decarboxylase/vinylphenol reductase activity of *Dekkera/Brettanomyces*: Application for *Dekkera/Brettanomyces* control in red wine making. *Journal of Food Science*, 74: M15-M22.
- [2] Benito, S.; Palomero, F.; Morata, A.; Calderón, F.; Suárez-Lepe, J. A. 2009. A method for estimating *Dekkera/Brettanomyces* populations in wines. *Journal of Applied Microbiology*, 106: 1743-1751.
- [3] Benito, S.; Palomero, F.; Morata, A.; Uthurry, C.; Suárez-Lepe, J. A. 2009. Minimization of ethylphenol precursors in red wines via the formation of pyranoanthocyanins by selected yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 132: 145-152.

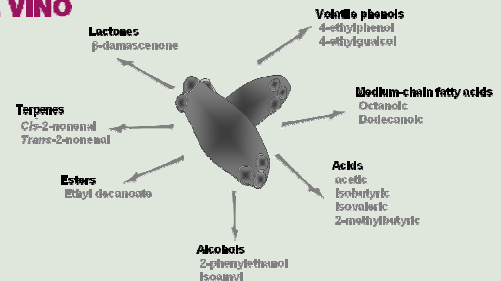


Fig. 1. Alteraciones vinicas atribuidas a *Dekkera/Brettanomyces*.

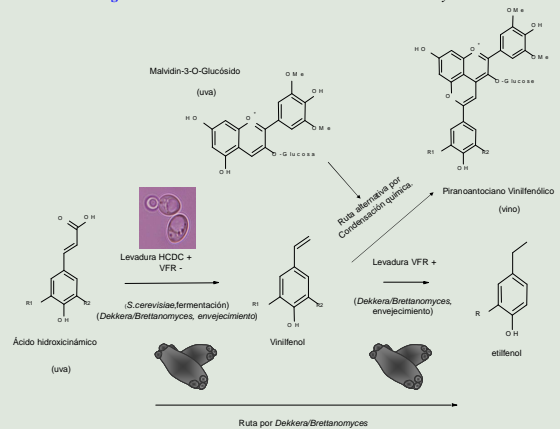


Fig. 2. Formación de Piranoantocianos vinilfenólicos durante la fermentación mediante el uso de levaduras seleccionadas con elevada actividad HCDC y influencia sobre la reacción vinilfenolreductasa clásica que da origen a los etilfenoles.

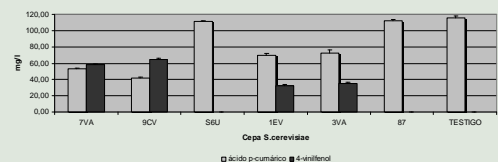


Fig. 3. Evaluación de la actividad HCDC en las diferentes cepas *Sacch. cerevisiae* empleadas durante el ensayo.

Tabla 1. Fermentación por *Brettanomyces* 7VA (HCDC+) y S6U (HCDC-) e inoculación post-fermentativa de *Dekkera D37* en mosto de la variedad Tempranillo. El mosto presentó un pH de 3,8 y 220 g/l de azúcares.

Cepa	Etapas de la fermentación				31 días después de la inoculación con <i>Dekkera bruxellensis</i> D37			
	VA	RPV	RPVF	RPVVF	VA	RPV	RPVF	RPVVF
7VA	172,1±16,0	59,2± 0	0,9±0,02	0,32±0,01	75,9±11,0	23,3±8,6	0,51±0,01	0,51±0,01
S6U	147,9± 6,5	54,0±9,5	nc	nd	74,5±6,8	24,0±5,0	nd	1,10±0,06*
7VA*	169,2±22,0	60,2± 8	0,04±0,01	0,3±0,03	65,7±20,5	20,0±10,7	0,79±0,02	0,27±0,01
S6U*	155,5±17,5	52,7± 5	nc	nd	69,8±6,0	22,8±1,1	nd	nd

Valores en mg/L de las fermentaciones. Nd no detectado. * control de la inoculación de *Dekkera*. R: A antocianos Totales. RPV: 4-etilfenol. RPVVF: 4-etilguayacol. RPV: malvidin-3-O-glucosido. RPVVF: malvidin-3-O-glucosido-4-vinilfenol. MS: malvidin-3-O-glucosido-4-vinilguayacol.

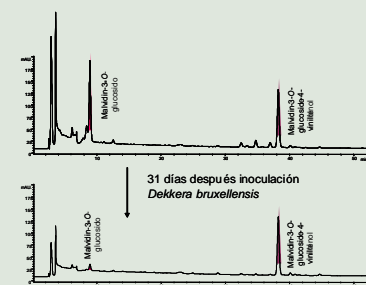


Fig. 4. Cromatogramas del contenido en antocianos (HPLC/DAD/ESI-MS) del fermentado 7VA antes y después de inoculación con *D.bruxellensis* D37.