

Estudio microbiológico, químico y sensorial de vinos tipo *fino* obtenidos de solera con 14% v/v de etanol

Microbiological, chemical and sensory study of *fino* type wines obtained from solera with 14% v/v ethanol

María Trinidad Alcalá-Jiménez¹, Juan Carlos García-García¹, Raquel Muñoz-Castells¹, Juan Carbonero-Pacheco¹, Jaime Moreno-García¹, Teresa García-Martínez¹, Rafael A. Peinado¹, Juan Moreno¹ y Juan Carlos Mauricio¹

¹Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología (Edificios C3 y C6). Campus de Excelencia Internacional (ceiA3) Universidad de Córdoba, Córdoba, España

Resumen. Los vinos especiales tipo “Fino” se caracterizan por largos periodos de crianza biológica durante los cuales se desarrolla una bio-película denominada “velo de flor” formada principalmente por cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y otras levaduras no-*Saccharomyces*. La legislación establece para estos vinos un contenido en etanol del 15- 17 % v/v y sin embargo, el mercado actual demanda vinos con menor contenido. Esta comunicación presenta los resultados de análisis realizados en velos y vinos de barriles de la solera con 14 % v/v en alcohol, seleccionados en una bodega de la DOP Montilla-Moriles y en otra de la DOP Jerez. El estudio microbiológico de vinos de la solera con diferente contenido alcohólico a los 10 meses de crianza no presentó grandes diferencias entre ellos, siendo *Torulaspota delbrueckii*, la especie aislada con mayor frecuencia entre las no-*Saccharomyces*. Se observaron cambios en el contenido de ciertos alcoholes superiores, compuestos carbonílicos, ésteres etílicos y polioles en las dos bodegas. La evaluación sensorial realizada por los expertos catadores de ambos Consejos reguladores solo mostró diferencias significativas entre las muestras de vinos con el contenido habitual y los vinos con menor alcohol en la limpidez en los vinos de Jerez y en el carácter frutal en vinos de Montilla-Moriles.

Abstract. The main characteristic of the production of special “Fino” type wines is the long biological aging period, under a biofilm called “flor velum” developed in their surface, which is formed by *Saccharomyces cerevisiae* strains and other non-*Saccharomyces* yeasts. The current legislation establishes an ethanol content about 15-17% v/v for these wines. Nevertheless, current market demands wines with a lower ethanol content. This communication shows the results obtained for the velum and wine samples from selected solera barrels with near to 14% v/v ethanol contents from one winery in the PDO Montilla-Moriles and another in PDO Jerez. The microbiological study of solera wines with different alcoholic contents at 10 months of aging does not present great differences between them, being *Torulaspota delbrueckii* the most frequently isolated species from no-*Saccharomyces*. Changes in the content of certain higher alcohols, carbonyl compounds, ethyl esters and polyols were observed in the two wineries. The sensory evaluation made by the expert judges from both Regulatory Councils only showed significant differences between the wine samples with the usual content and the wines with less alcohol in the clarity visual attribute in Jerez winery and in fruit attribute only in wines from Montilla-Moriles winery.

1 Introducción

Los vinos blancos de velo tipo “Fino” andaluces se elaboran tradicionalmente en las Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) de Jerez, Manzanilla de Sanlúcar, Montilla-Moriles, Málaga, Condado de Huelva y Lebrija. Estos vinos se diferencian de otros por su característico proceso de crianza biológica, que consiste en el desarrollo y mantenimiento en su superficie, de un biofilm o velo de flor durante al menos 2 años, en barriles

de roble americano llenos hasta 4/5 partes de su capacidad. [1,2].

El velo de flor está formado principalmente por cepas de *Saccharomyces cerevisiae* que se desarrollan sobre la superficie del vino formando agregados multicelulares [3,4,5]. El metabolismo oxidativo de estas levaduras confiere al vino un aroma, sabor y color propios de este tipo de crianza biológica. La actual legislación establece

un contenido en etanol de 15-17,0% (v/v) para el caso de los vinos finos fortificados y de 14,5 – 17,0% (v/v) para los no fortificados.

Las actuales tendencias del mercado, las recomendaciones sobre el consumo responsable y las preferencias de los consumidores más jóvenes han contribuido, durante los últimos años, a un aumento notable de la demanda de vinos más ligeros, con un contenido en etanol moderado o bajo [5]. El elevado contenido en etanol de los vinos Finos, junto a las tendencias actuales del mercado imponen innovaciones en el proceso de crianza biológica con objeto de aumentar la sostenibilidad del sector.

En esta comunicación se exponen los resultados de trabajos realizados en bodegas de Jerez y de Montilla durante 10 meses sobre vinos con un contenido en etanol en torno al 14% (v/v), con objeto de establecer un modelo de crianza biológica que permita elaborar sin riesgos nuevos tipos de vino Fino con menor contenido en etanol.

2 Material y métodos

2.1 Selección de vinos y toma de muestras

Los vinos objeto de estudio se tomaron de barriles ubicados en las soleras de dos bodegas: una de ellas de la DOP Montilla-Moriles y otra de la DOP Jerez-Xérès-Sherry. En ambas bodegas se seleccionaron barriles conteniendo vinos de tipo Fino con el mismo tiempo de crianza y contenido en etanol comprendido entre 13,5 - 14,0% v/v y vinos de barriles con el contenido en etanol del 15- 15,5% v/v. Las muestras de los primeros barriles constituirán lo que de ahora en adelante se denominará “ensayos” y los segundos se denominarán “control”, ya que representan un testigo con el que comparar la evolución de la crianza conducida mediante el procedimiento habitual de la bodega. Se tomaron muestras de las levaduras del velo que cubría la superficie del vino y 3 botellas de 750 mL de cada barril en la primavera del año 2021 y después de 10 meses se tomaron muestras de los mismos barriles siguiendo el mismo protocolo. Durante el tiempo de estudio no se ejecutaron las operaciones de saca, rocío o encabezado típico del proceso de crianza dinámico, con objeto de comparar el efecto del contenido en etanol sobre el desarrollo de las levaduras que forman el velo de flor y la composición del vino.

2.2 Métodos de análisis

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo de la siguiente manera: se tomaron con una espátula estéril y en condiciones asépticas muestras del velo de las botas seleccionadas y se pasaron a tubos Falcon de 50 mL. Las muestras se transportaron rápidamente en frío al laboratorio donde se realizaron diluciones decimales seriadas para su aislamiento. Los medios de cultivo usados fueron agar YPD (2% glucosa; 2% peptona; 1% extracto de levadura; 2% agar), medio agar lisina (OXOID CM0191), medio agar WL (OXOID CM0501), medio para detección de actividad β-glucosidasa, medio para

caracterizar fenotipo killer. La identificación se realizó mediante MALDI-Biotyper [6].

Los análisis químicos de etanol, acidez titulable y volátil, y pH se realizaron siguiendo los métodos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino [7]. Las absorbancias a 280, 420, 520 y 620 nm se midieron en un espectrofotómetro Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, Estados Unidos). Los compuestos volátiles mayoritarios y polioles se cuantificaron por Cromatografía de gases en columna capilar en un cromatógrafo Agilent 6890 (Agilent Technologies, Santa Clara, Estados Unidos) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y siguiendo el método de Peinado et al. [8].

El análisis sensorial se realizó por los jueces expertos de cada DOP, que usaron las fichas de cata aprobadas en cada una de ellas. La ficha de cata de Montilla-Moriles evalúa 24 atributos relacionados con el color, olor y sabor de los vinos mientras que la de Jerez evalúa 12 atributos. Los resultados se sometieron a análisis estadístico con el programa Panel Check.

3 Resultados y Discusión

Los análisis microbiológicos se centraron en el aislamiento, identificación y caracterización de levaduras no-*Saccharomyces*. Estas levaduras se han detectado en todos los ambientes de las bodegas [6]. El estudio microbiológico comparativo entre botas de vinos con diferente contenido alcohólico no difirió en gran medida, siendo la especie *Torulaspota delbrueckii*, la levadura no-*Saccharomyces* que más se detectó. Estas cepas se han caracterizado para su potencial aplicación en Enología debido al ambiente extremo donde se han aislado (Tabla 1).

Tabla 1. Número de aislados en medio lisina (no-*Saccharomyces*), medio con arbutina (presencia actividad β-glucosidásica), fenotipo killer (%), primera muestra y 10 meses después. Se representan las medias y desviaciones de al menos dos barriles.

Bodegas	Medio Lisina		Prueba de Arbutina		Fenotipo killer (%)	
	Ensayo	Control	Ensayo	Control	Ensayo	Control
A (MM)	14 ± 2	9 ± 2	5 ± 2	3 ± 0	72	72
B (Jerez)	15 ± 2	18 ± 3	6 ± 1	12 ± 3	81	82
A (MM) 10 meses	11 ± 3	3 ± 1	2 ± 0	0	41	50
B (Jerez) 10meses	12 ± 1	9 ± 2	4 ± 1	2 ± 0	54	61

Los parámetros enológicos analizados al comienzo del estudio y a los 10 meses, muestran diferencias entre los vinos sometidos a ensayos y el vino control (Tabla 2). Destaca una oscilación de ±0,5% del contenido en etanol de los vinos en los barriles de ensayo y una disminución de -0,5% en los vinos control. Para la bodega B, el contenido en etanol disminuye 1,2% en los barriles de ensayo y aumenta 0,15% en el control. La acidez volátil, acidez titulable disminuyen en los ensayos con vinos de 14 % de contenido inicial en etanol mientras que en los

vinos con 15,7% de etanol inicial aumentan ambos tipos de acidez. La bodega B disminuye sus valores de acidez volátil y titulable tanto en los ensayos como en el control. Los valores de disminuyen en torno a 0,2 unidades en la bodega A y aumentan en torno a 0,1 unidad en la bodega B. Todos los vinos presentan valores de pH de 3,3±0,2 unidades.

Tabla 2. Incremento de contenidos en etanol (% v/v), acidez volátil (g ácido acético/L), acidez total (g de ácido tartárico/L) y pH obtenidos a los 10 meses de crianza en los vinos de bajo contenido en etanol y en los vinos control.

Bodega	Etanol inicial	Δ EtOH	Δ A.V.	Δ A.T.	Δ pH
A (MM)	13,5 - 14,0	± 0,5	- 0,10	- 0,7	- 0,15
	15,7	- 0,5	+ 0,30	+ 0,5	- 0,2
B (Jerez)	14,2 - 14,4	- 1,2	- 0,15	- 1,5	+ 0,1
	15,1	+ 0,15	- 0,09	- 0,2	+ 0,07

La intensidad de color, medida como la suma de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm, es similar entre los ensayos y el control. En la bodega A la diferencia entre ensayo y control es de - 0,04 unidades de absorbancia y en la bodega B ocurre lo contrario, en el control es más baja que en el ensayo, con una diferencia de + 0,06. El IPT no sufre apenas cambios, alcanzando valores de 11 aproximadamente.

Las concentraciones de los compuestos volátiles mayoritarios y polioles después de 10 meses de estudio se muestran en las Figs. 1 y 2. La mayoría de los compuestos cuantificados en ambas bodegas, muestran diferencias significativas, tanto entre las dos bodegas, como entre los vinos de bajo contenido en etanol y los vinos control. Compuestos como acetaldehído y glicerina, relacionados con el metabolismo de la levadura de flor, presentan importantes cambios. El aumento de acetaldehído y la disminución de glicerina entre el ensayo y el control se debe a una mayor actividad de las levaduras que forman el velo. Acetoína y 1,1-dietoxietano, que son derivados de las reacciones del acetaldehído, experimentan también un aumento de sus contenidos [1]

Se observa como la concentración de lactato de etilo disminuye tanto en la bodega A como en la bodega B con respecto al control, probablemente a causa del metabolismo de la levadura de flor u otros agentes microbianos presentes en el velo. Sin embargo, [9,10] observaron un aumento del contenido en este compuesto en experimentos de crianza biológica bien controlados.

En el caso de los polioles se obtiene una disminución del contenido en glicerina, que las levaduras utilizan como fuente de carbono, al igual que el etanol, durante la crianza biológica [11, 12]. También los ensayos conducidos en la bodega B presentan un aumento del contenido en 2,3-butanodiol (*levo* y *meso*), con respecto al control.

Algunos alcoholes superiores como 1-Propanol, Isobutanol, 2-Feniletanol y los alcoholes isoamílicos

(2-Metil-1-butanol y 3-Metil-1-butanol) no mostraron diferencias significativas entre el ensayo y el control.

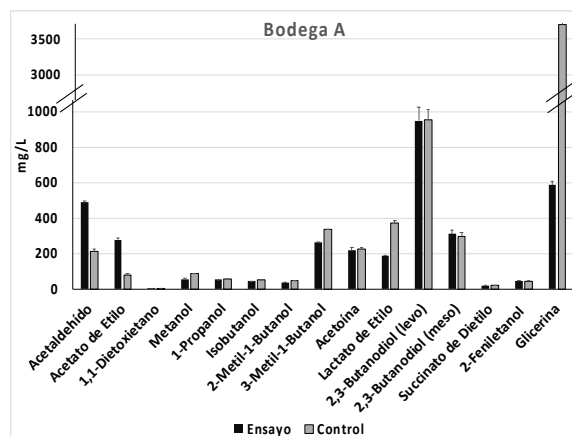


Figura 1. Compuestos volátiles mayoritarios y polioles cuantificados en botas ensayo y control de la bodega A.

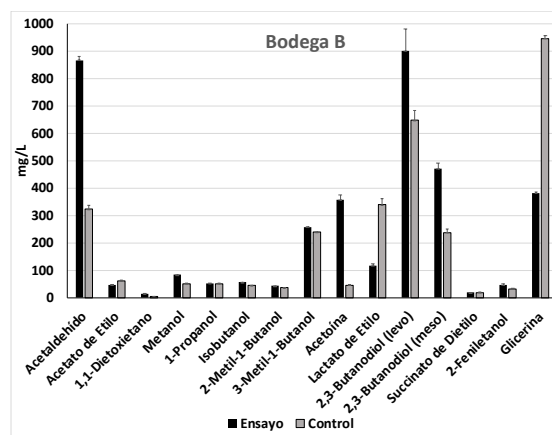


Figura 2. Compuestos volátiles mayoritarios y polioles cuantificados barriles ensayo y control de la bodega B.

Después de 10 meses de crianza de los vinos control y de los vinos seleccionados por su menor contenido en etanol, generalmente se observan diferencias no significativas en las puntuaciones de la mayoría de los atributos evaluados mediante análisis sensorial (Fig. 3 y 4). Cada DOP evalúa atributos diferentes observándose una gran similitud entre los perfiles de los vinos sometidos a ensayo y el vino control. Únicamente se obtienen diferencias estadísticamente significativas a un nivel $p \leq 0,05$ para el aroma frutal en la bodega A de Montilla (Fig. 3), y en el atributo de turbidez en el aspecto visual en la bodega B de Jerez (Fig. 4). Esta última diferencia es explicable por la temperatura de conservación hasta la fecha de cata, ya que se trata de vinos no filtrados, sin tratamiento de acabado.

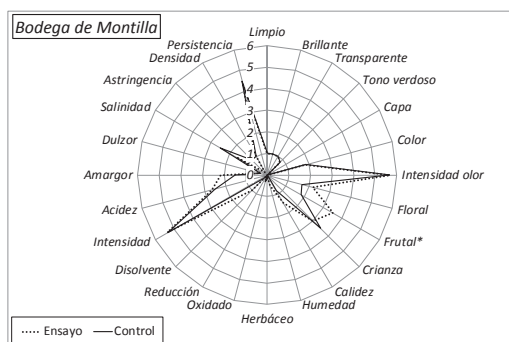


Figura 3. Análisis sensorial tras 10 meses de crianza. Bodega A.

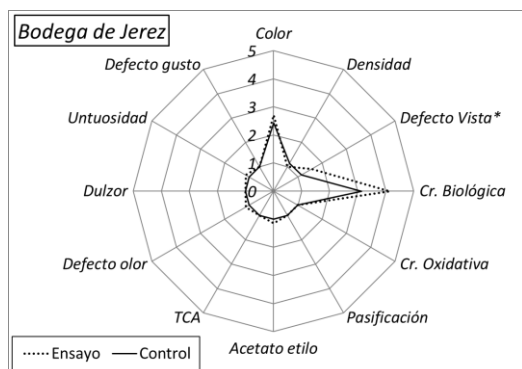


Figura 4. Análisis sensorial tras 10 meses de crianza. Bodega B.

4 Conclusiones

Los vinos con un contenido inicial en etanol de 13,5-14% v/v, evolucionan más rápidamente que los vinos control, durante el periodo estudiado, por un consumo mayor de etanol y glicerina. No se han observado desviaciones importantes del proceso de crianza biológica que puedan comprometer la calidad del vino por contaminación microbiológica o alteraciones de tipo químico. Al finalizar el estudio, los vinos de contenidos iniciales en etanol menores de 15%, muestran características sensoriales similares a los vinos control. Son necesarios más estudios que establezcan límites precisos al contenido en etanol de los vinos sometidos a crianza biológica, para obtener vinos finos ajustados a los estándares de calidad de las DOP Andaluzas.

A la Junta de Andalucía. Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad por la financiación del Proyecto: A1122062E0_AGROMIS. CEIA3-UCO 2019 (AGR-146). Instrumento estratégico hacia un tejido productivo Agroalimentario Moderno, Innovador y Sostenible: motor del territorio rural andaluz. Sublínea: SL2111.

Al personal técnico y dirección de las Bodegas Pérez-Barquero de Montilla y González-Byass de Jerez.

Referencias

1. E. Durán-Guerrero, R. Castro, M.V. García-Moreno, M. C. Rodríguez-Dodero, M. Schwarz, D. Guillén-Sánchez. *Foods*. **10**(4) (2021)
2. R.A. Peinado, J.C. Mauricio. Biologically Aged Wines. *In Wine Chemistry and Biochemistry*, 81-101 (2009)
3. J.L. Legras, J. Moreno-García, S. Zara, G. Zara, T. García Martínez, J.C. Mauricio, I. Mannazu, A.L. Coi, M.B. Zeidan. S. Dequin, J, Moreno, M. Budroni. *Front. Microbiol.* **7** (2016)
4. V. David-Vaizant, H. Alexandre. *Front. Microbiol.* **9** (2018)
5. R. Bernabéu, M. Olmeda, M. Díaz. *Economía Agraria y Recursos Naturales.* **5**(9) (2011)
6. J. R. Carbonero-Pacheco, J. Moreno-García, J. Moreno, T. García-Martínez, J.C. Mauricio. *Front. Microbiol.* **12** (2022)
7. OIV. 2021. Disponible *online*: <https://www.oiv.int/en> (acceso 1 May 2022)
8. R. A. Peinado, J. A. Moreno, D. Muñoz, M. Medina, J. Moreno. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 6389–6393 (2004)
9. J. Moreno, J. Moreno-García, B. López-Muñoz., J.C. Mauricio, T. García-Martínez. *Food Chem.* **213**, 90–97 (2016)
10. M.J. Valcárcel-Muñoz, M. Guerrero-Chanivet, M.C. Rodríguez-Dodero, M.V. García-Moreno, D.A. Guillén-Sánchez. *Molecules.* **27**(2) (2022)
11. J. Moreno-García, R. Raposo, J. Moreno. *Food Res. Int.* **54**, 285-292 (2013)
12. M. Marin-Menguiano, S. Romero-Sanchez, R.R. Barrales, J., I. Ibeas. *Int. J. Food Microbiol.* **244**, 67–73 (2017)