

UTILIZACIÓN DE ENZIMAS DE MACERACIÓN EN VINIFICACIÓN EN TINTO

Antonio PALACIOS^{1y2}; Laura SANTIAGO²; David GUERRAND²

1. UNIVERSIDAD DE LA RIOJA; Complejo Científico Tecnológico, Dto. Agricultura y Alimentación. C/ Madre de Dios, 51. (apalacios@lallemand.com).
2. LALLEMAND SA, BP 59, 31702 Blagnac Cedex, Francia.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas pectolíticas utilizadas durante la maceración en vinificación en tinto facilitan la liberación del contenido celular de la baya de uva. El objetivo de este tratamiento es la obtención de vinos con más color, más rico en compuestos fenólicos e igualmente más fáciles de clarificar y filtrar.

Aunque todas las enzimas son producidas por el mismo microorganismo (*Aspergillus niger*), las preparaciones de pectinasas disponibles actualmente en el mercado enológico son muy distintas. Tanto la concentración en pectinasas de dichas preparaciones como la naturaleza de su actividad, dependen de la cepa de *Aspergillus*, de las condiciones de fermentación para la producción (medio sólido o líquido) y de la naturaleza del sustrato fermentado.

La distinta naturaleza de las pectinasas presentes en estas preparaciones y su nivel de actividad condicionan la eficacia de los productos. En la mayoría de los casos, la actividad enzimática de las preparaciones comerciales viene expresada en unidades propias de cada fabricante. Generalmente se trata de nomenclaturas globales que no hacen distinción entre las distintas pectinasas. Además se sabe que ciertas actividades secundarias presentes en las preparaciones enológicas, refuerzan la acción de las pectinasas en sentido estricto. La medida de estas actividades permite igualmente caracterizar mejor las preparaciones disponibles en el mercado.

Entre las pectinasas, se distinguen las actividades: poligalacturonasa (PG), pectin-esterasa (PE) y actividad pectiniliasa (PL). El modo de acción de estas enzimas y su interés enológico ya ha sido descrito con anterioridad (1). Otras actividades secundarias presentes en las preparaciones enzimáticas para enología son las actividades: celulasa, galactanasa y proteasa. Por último, es de interés la actividad β -glucosidasa. En efecto, debido a que numerosos antocianos presentes en la uva tinta son moléculas glicosiladas, las β -glucosidasas podrían teóricamente degradar estos pigmentos y conllevar una disminución de la coloración roja del vino (2).

FACTORES DE LOCALIZACIÓN Y EXTRACCIÓN DEL COLOR Y TANINOS:

El reparto de los distintos compuestos fenólicos en la célula según la materia prima es (Fig. 1 y 2):

- Contenido vacuolar: antocianos y flavonas + taninos libres
- Membrana vacuolar: taninos ligados a proteínas (taninos condensados)
- Membrana celular: taninos ligados a polisacáridos (taninos dulces).

También es muy importante considerar que la madurez no se desarrolla en la baya de forma simultánea en todas sus estructuras celulares y en años de climatología poco favorable puede haber un desfase entre la madurez de la pulpa, la madurez del hollejo y la madurez de las pepitas. Normalmente madura antes la pulpa que el hollejo y las pepitas. Por este motivo se hace imprescindible la cata de las uvas como factor determinante del momento óptimo de la vendimia. Debido a que la madurez del hollejo es determinante para desarrollar una buena maceración

durante la vinificación en tinto o para la maceración pelicular en uva blanca cuando se desea extraer aromas varietales en los vinos blancos.

Además, es necesario tomar en consideración los siguientes factores:

- La dificultad de extracción aumenta del interior al exterior de la baya de uva. Debido a esto, es importante realizar en el proceso de estrujado una abertura de la baya lo más grande posible pero sin romperla ni trocearla. Así todos los elementos de extracción que van a ser considerados en este trabajo, podrán actuar en las zonas donde se encuentran los polifenoles y los aromas propios de cada variedad, estando éstas muy cerca del hollejo.

- La dificultad de extracción es proporcional a la utilidad de los taninos y aromas. Los taninos mejor valorados son los taninos que se encuentran dentro de la pared celular vegetal, por lo que es importante degradar las celulosas y hemicelulosas para poder ser extraídos. De la misma forma, los taninos unidos a estructuras vacuolares proteicas están fuertemente retenidos en estas estructuras celulares. Estos taninos son necesarios para los vinos estructurados y que van a sufrir crianza. Solo el alcohol en alta concentración es capaz de liberar éstos compuestos en maceraciones largas.

- Las sustancias útiles, polifenoles y aromas varietales, son extraídas por las acciones del SO_2 , acciones mecánicas de remontados y bazuqueos, el alcohol y las actividades enzimáticas de la uva o de adición.

Tras la rotura de la baya comienza la extracción de los antocianos libres y de otros compuestos fácilmente extraíbles y oxidables. El SO_2 favorece esta extracción. La primera acción de la enzima es disgregar la pulpa y facilitar el acceso a la cara interna del hollejo. En esto consiste una mejor extracción del hollejo y difusión de su interior, obteniéndose mayor rendimiento en mosto y más compuestos interesantes para la calidad del vino, obteniéndose estos elementos desde el principio de la fermentación alcohólica. Este fenómeno es mucho más evidente en vendimias o variedades de uva de pulpa dura.

Sucesivamente la acción se desenvuelve en el hollejo: extracción de taninos nobles, ósea taninos condensados y ligados a polisacáridos. Sin enzimas se extraen únicamente en presencia del alcohol. La presencia de estos compuestos al principio de la fermentación alcohólica bloquea y estabiliza los antocianos fáciles de extraer, siendo entonces el color más estable. Se extraen también precursores de aromas gracias a la acción de las enzimas.

La acción de la enzima modifica el estado físico de la estructura del hollejo. Por tanto la extracción sucesiva en fase alcohólica se facilita. Posteriormente, y a lo largo de la maceración, la concentración de antocianos bloquea la acción de las enzimas. Las fases posteriores de la maceración son por acción del alcohol. La maceración de pepitas por acción del alcohol, ataca su revestimiento y realiza la extracción de su contenido en polifenoles. Los primeros estratos aportan características positivas. Seguidamente comienza la extracción de los taninos agresivos. Debido a esto, la eliminación de las pepitas durante la maceración en vinificación en tinto, debe ser considerada en estadios avanzados de la fermentación, cuando las pepitas no están maduras y el alcohol puede atacar las estructuras internas de las mismas, proporcionando amargor a los vinos.

El efecto del sulfuroso en la extracción facilita la salida de taninos de bajo peso molecular y antocianos libres. Sin embargo, con la utilización de enzimas con actividades pectinasas, celulosas y hemicelulasas se consiguen también la liberación de taninos unidos a polisacáridos, muy interesantes por la suavidad en boca y la estabilidad del color que proporcionan. Con el etanol, también se liberan preferentemente taninos vacuolares unidos a proteínas, siendo estos más reactivos.

En consecuencia a lo expuesto y diferenciando la extracción en fase acuosa y en fase alcohólica, podemos decir que las enzimas de maceración pueden acelerar y mejorar la extracción de todo

tipo de compuestos polifenólicos celulares, ayudando en la liberación de taninos durante las primeras fases de maceración, lo que supone una presencia simultánea de antocianos y taninos. Proporcionando más oportunidades de estabilizar el color si se realiza un programa de remontados con la presencia de aire en el vino, lo que permite una polimerización cruzada de ambos compuestos. De esta forma se evita la polimerización lineal de tanino-tanino y antociano-antociano que pueden perderse fácilmente por precipitación debido a la obtención de alto peso molecular y oxidación de estos polímeros.

Observando este proceso, podemos considerar que en líneas generales, lo que consiguen las enzimas es extraer lo más rápidamente posible durante la vinificación, los compuestos interesantes desde el punto de vista del color (antocianos) y de la estructura y cuerpo de los vinos (taninos). Así podemos extraer más compuestos fenólicos en maceraciones cortas. En el caso de maceraciones largas, la finalidad no es extraer más, sino extraer lo mismo, pero lo más próximo posible a la fase acuosa de la maceración, pues tendremos de esta forma más oportunidades de estabilizar lo extraído, realizando remontados con aireación, como en el caso del *delestage*, (Fig. 3).

NATURALEZA DE LAS ENZIMAS PECTOLÍTICAS:

La pared celular está formada por moléculas complejas y diferentes. La degradación de la pared celular requiere diferentes enzimas con acciones complementarias. Podemos imaginarnos que la pared celular de la uva es una pared construida con materiales de diferentes formas y naturaleza. Si deseamos derribar esta pared, seguramente necesitaremos herramientas diferentes para tratar los diversos materiales de construcción y romperlos para derribarla. Así, para poder abrir la pared celular, también necesitamos diferentes actividades enzimáticas que estén presentes en dicha acción de apertura celular. Por eso las enzimas pectolíticas y de maceración son cócteles enzimáticos con diferentes actividades específicas sobre la pared celular formulados según su composición (Fig. 4).

Dentro de las distintas actividades enzimáticas, en las enzimas de maceración podemos encontrar las siguientes:

Actividad pectolítica: la actividad pectinasa degrada exclusivamente la pectina. Es necesaria para la clarificación del mosto, ya que las pectinas mantienen en suspensión otras partículas que deseamos eliminar del mosto para la obtención de vinos blancos y rosados de calidad. Esta acción es también importante durante la maceración de tintos, porque participa en la ruptura de la pared de las células vegetales y permiten una mayor salida de color y aromas.

Existen tres actividades diferentes:

- Poligalacturonasa PG: rompe la pectina de bajo grado de metilación. Se distinguen: Endo-PG y Exo-PG según la zona de ataque en la cadena pectídica.
- Pectín-esterasa PE: rompe los enlaces del grupo metilo de los ácidos glucurónicos esterificados.
- Pectín-liasa PL: rompe las cadenas de pectina de elevado grado de metilación.

Estas actividades son complementarias: un elevado nivel de PG es muy eficaz en clarificación, pero precisa la acción previa de la PL. Por este motivo, las enzimas con alto contenido en PL son deseables cuando se requieren desfangados muy rápidos, para evitar problemas de oxidación del mosto, desarrollo de la microflora salvaje y desnutrición del mosto, (Fig. 5).

Las preparaciones muy concentradas en PE no son recomendables en enología, debido a que liberan metanol en el vino, existiendo reglamentación en cuanto a las concentraciones máximas de metanol en el vino. La actividad PL no necesita de la acción de la PG y PE, por lo que comporta una rápida caída de la viscosidad del mosto, permitiendo desfangados muy veloces. Interesa en

los procesos de clarificación, sobre todo en procesos continuos como la centrifugación o la flotación.

Actividades secundarias: las actividades secundarias presentes en las enzimas enológicas son:

- Ramno-galacturonasa RG: escinde la cadena lateral de la pectina. Se trata de una actividad complementaria a la pectinasa. Libera al mosto polisacáridos importantes (ramnogal II) de cara a la sensación en boca y la estructura de los vinos.

- Celulasa y Hemicelulasa C y HC: realizan la degradación de la pared celular y actúan sobre moléculas muy diversas (celulosa, mananos, galactanos, xilanos). Esta acción mejora la extracción del contenido celular, tanto en volumen como en solutos y moléculas en suspensión, hecho muy importante en las enzimas de maceración.

- Beta-Glicosidasa G: libera las moléculas aromáticas ligadas, tipo terpenos, norisoprenoides y fenoles volátiles, apareciendo aromas propios de cada variedad. Debido a su acción, estas moléculas llegan a ser volátiles y odorantes. Este mecanismo necesita de la acción previa de las otras enzimas, (Fig. 6). Esta enzima no se encuentra presente en la uva, sin embargo, existen levaduras seleccionadas e indígenas con capacidad de liberar enzimas de este tipo en el medio donde se encuentran fermentando. La capacidad cambia no solo a nivel de especie, pues existen cepas de levadura no *Saccharomyces* con elevada producción de beta-glicosidasa, sino también dentro de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, existen cepas con diferentes capacidades de expresión en esta actividad.

- Proteasa: actúa sobre las proteínas de membrana y mejora la extracción del contenido celular. Su acción es complementaria a otras actividades, sola sirve de poco. No es eficaz contra las proteínas que causan la inestabilidad proteica del vino.

- Cinamil-esterasa: hidroliza los ésteres de ácidos cinámicos, como el ácido hidroxicinamil-tartárico. Se forman ácidos cinámicos que mediante la acción de la cinamato-descarboxilasa de las levaduras tipo POF+ (levaduras polyphenolic off flavour), llevan a la formación de vinil-fenoles. Por acción de la levadura de contaminación *Brettanomyces* se pueden originar entonces los etil-fenoles volátiles, compuestos muy desagradables en el olfato que destruyen los aromas de los vinos, ya que tienen un umbral de detección olfativa muy bajo y pequeñas cantidades presentes solo aparecen ellos destruyendo los aromas varietales y afrutados fermentativos, mostrando aromas de gomas, caucho, aromas farmacéuticos y aromas de sudor de caballo, (Fig. 7).

Las cinamil-esterasas se pueden eliminar de los cócteles enzimáticos comerciales por ultrafiltración, debido a que tienen una masa molecular de 120 Kda., muy distinta a la de las pectinasas (25 – 50Kda). La actividad cinamil-esterasa (CE) está presente de forma natural en la mayoría de las pectinasas producidas por *Aspergillus niger*, aunque todas las cepas de *Aspergillus niger* no producen la misma cantidad de CE. Normalmente las cepas de *Aspergillus* que producen enzimas con amplio espectro de actividades secundarias, producen más CE. La presencia de CE puede incrementar la concentración de vinil-fenol en vinos y si hay riesgos de contaminación por microorganismos capaces de convertirlos en los etil-fenoles, es mejor utilizar enzimas libres de esta actividad.

RESULTADOS EXPERIMENTALES. EFICIENCIA DE LAS ENZIMAS DE MACERACIÓN EN LA VINIFICACIÓN DE VINOS TINTOS:

- Resultados de tres preparados comerciales con actividades diferentes:

Se han probado tres enzimas con formulaciones diferentes para verificar que tipo de acción es más recomendable según el estilo del vino a elaborar. La composición de estas tres enzimas se puede analizar en la Figura 8.

Las variedades de uva utilizadas en este ensayo de vinificación son Cabernet sauvignon, Sangiovese y Shiraz de la vendimia de 1998. Los resultados de las vinificaciones se representan en la Figura 9. En la variedad Cabernet sauvignon podemos observar que los valores en Intensidad de color (IC) del vino control sin enzimar, se corresponde con 2,16, la concentración en antocianos es de 1030 mg.L⁻¹; el Índice de Polifenoles Totales (IPT) es 48,5 y la concentración en taninos es 1,75 g.L⁻¹. Observando el gráfico vemos que en el vino tratado con la enzima tipo B se obtiene el mayor rendimiento en mosto, hasta un 11% más que el control. La enzima B es la que mayor actividad tiene en proteasa. Sin embargo para los valores de Intensidad de Color (IC) y concentración de taninos, la enzima tipo A es la que mejores resultados obtiene, hasta un 9% más de IC y un 20% más de taninos. La enzima A es la que más celulasa y hemicelulasa tienen en su formulación. No existieron diferencias a nivel de antocianos para las tres formulaciones, que ganaron un 1% frente al control.

En la misma figura se pueden observar los resultados en la variedad Sangiovese. El vino control obtuvo unos valores en Intensidad de Color de 1.37, una concentración de antocianos de 422 mg.L⁻¹; el Índice de Polifenoles Totales a DO 280 nm es de 33 y una concentración en taninos de 2.05 g.L⁻¹. En este caso, la enzima tipo A es la que obtuvo mejores resultados en todas las medidas, consiguiendo hasta un 40% más de rendimiento en mosto que el vino control sin enzimas, un 13% más de Intensidad Colorante (IC), un 10% más de antocianos y un 30 % más de taninos. Sin embargo en los resultados de polifenoles totales (IPT), no hubo grandes diferencias entre los enzimas probados, ya que todas obtuvieron valores aproximadamente a un 20% más que el vino testigo.

En los vinos de la variedad Syrah, las diferencias en los resultados son todavía más significativas. De nuevo la enzima tipo A es la que consigue mejores resultados en cuanto a rendimiento e Intensidad Colorante (IC), obteniéndose un 11% más de rendimiento y un 10% más de Intensidad colorante (IC) frente al testigo. No existieron diferencias en los polifenoles totales (IPT) en los diferentes tipos de enzimas, pero con la enzima tipo B se obtuvieron más antocianos, (hasta un 16% más que el control) y de taninos (hasta un 15% más que el control). Los resultados del vino control sin enzimas fueron, Intensidad de color (IC): 1.32, antocianos: 312 mg.L⁻¹, Índice de Polifenoles Totales a DO 280 nm (IPT): 27 y concentración de taninos: 0.98 g.L⁻¹.

Como resultados globales de estas experimentaciones, podemos decir que la enzima tipo A, más rica en celulasa y hemicelulasa y media en galactanasa, obtuvo muy buenos resultados frente a rendimientos e Intensidad de color (IC); mientras que la enzima tipo B, más rica en proteasa ácida, destacó en liberación de taninos. Por eso, según el estilo de vino a elaborar, la elección de una enzima con actividades específicas y equilibradas es una labor importante para el enólogo moderno. A partir de estas experimentaciones se desarrollaron dos preparados enzimáticos comerciales, La enzima Lallzyme OE que es la correspondiente a la enzima tipo A.

- Resultados de aplicación de enzimas de maceración de alta concentración:

La variedad de uva utilizada en estas vinificaciones es la Cabernet sauvignon en 1999: se realizó un seguimiento analítico de los vinos tras 1 año de conservación a 12 °C. En la Figura 10 se puede observar la estructura polifenólica de los dos vinos, el control sin enzimas y el enzimado con el preparado comercial Lallzyme OE. En dicha figura observamos que los valores de antocianos, taninos e Intensidad colorante (IC) son más elevados cuando se utiliza las enzimas y además, éstas diferencias se mantienen después de un año de conservación del vino. Para los resultados de la tonalidad es a la inversa, lo que demuestra que el vino enzimado evoluciona mucho más lentamente que el control. Esto también es verificable cuando observamos la evolución de los antocianos, mientras que en el vino control hay una caída muy fuerte de antocianos, en el vino enzimado, los antocianos permanecen más o menos inalterables un año después.

Los vinos de la variedad Garnacha tratados con la enzima Lallzyme OE muestran resultados parecidos, como se puede observar en la Figura 11. El vino con enzimas tiene valores superiores en taninos e Intensidad colorante (IC), aunque no en antocianos, donde el vino enzimado tiene los

mismos valores que el vino control, debido a que la variedad Garnacha no es muy rica en estos compuestos. Los resultados más significativos se obtuvieron en la concentración de taninos, mucho mayor en el vino enzimado, lo que es muy útil para este tipo de variedades frente a la estabilidad de color. De la misma forma, los valores de tonalidad también son más altas en el vino control, lo que muestra que evoluciona mucho más rápido. (Fig. 11).

Cuando se analizan los polifenoles pormenorizados mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), podemos observar que las principales diferencias se obtienen cuando se utilizó la enzima comercial OE en el encubado de los vinos, aumentando de forma significativa los antocianos y los taninos polimerizados. Por esta razón, tanto la estructura polifenólica como el color de los vinos, es más estable después de un año después de conservación a 12°C, principalmente en la variedad Cabernet sauvignon. En el vino de la variedad Garnacha no aumentan tanto como en el ejemplo anterior, pero en este caso también aumentan polifenoles de bajo peso molecular, como el ácido gálico y la catequina, (Fig. 12).

Respecto a la fracción aromática, en el vino de la variedad Cabernet sauvignon, podemos observar que la enzima incrementa los aromas de forma general y también de forma muy significativa la concentración de β -damascenona, que aporta aromas de melocotón, (Fig. 13). Dentro de la fracción floral, se han tenido en cuenta las concentraciones analizadas de β -damascenona, α -ionona y β -ionona. Para la fracción de frutas maduras: furaneol, homofuraneol y para el característico descriptor aromático de la variedad Cebernet sauvignon (pimiento verde) el isobutilmetoxipirazina (IBMP). Los datos de los gráficos se representan en % del incremento en los resultados obtenidos en el vino enzimado sobre el control. En estas vinificaciones se han utilizado uva de distinta madurez, unas con vendimia realizada en la 4ª semana de Septiembre y la otra en la 2ª semana de Octubre. El efecto de la enzima en la aparición de los aromas descritos es mucho más evidente en el caso de la uva más madura.

En los vinos de la variedad Garnacha se utilizaron dos enzimas diferentes: Lallzyme OE y EX. Las dos enzimas incrementaron los aromas analizados de las distintas fracciones aromáticas, que son los correspondientes a la fracción floral: fenil-etanol y vinil-guayacol; para la fracción frutal: alcoholes superiores y lactonas (notas a coco) y finalmente para la fracción especiada: zingerona (gingibre), vainillato de etilo, acetovainillona. La enzima OE ha incrementado estos aromas de forma mucho más considerable que la enzima EX que tiene aproximadamente la mitad de actividad enzimática que OE, por lo que de nuevo, las distintas formulaciones de los cócteles enzimáticos comerciales a utilizar deben ser conocidas para poder realizar una buena elección según el estilo de vino a elaborar.

- Influencia en el potencial antioxidante y en los polifenoles saludables del vino

Tanto las legumbres como la fruta, el té y el vino son productos derivados de vegetales con altos contenidos en polifenoles. Estos compuestos pueden ser beneficiosos para la salud al actuar como antioxidantes frente a los radicales libres, además de influir positivamente en la defensa frente a enfermedades cardio-vasculares, entre otras. Las vinificaciones que se realizaron en el ejemplo de la Figura 14, muestran que con la utilización de enzimas de maceración en la vinificación en tinto, se incrementa los polifenoles totales y el potencial antioxidante del vino. Se trata de un ejemplo de vino tomado de un ensayo en una bodega cooperativa en la D.O. La Mancha en el año 99.

CONSIDERACIONES PRÁCTICAS DE LAS ENZIMAS DE MACERACIÓN:

Para responder algunas preguntas prácticas respecto al uso de enzimas en bodega, realizamos las siguientes respuestas que a continuación se exponen:

¿ Cuál es el mejor momento para añadir las enzimas de maceración? y ¿ Como hacerlo ?

Las recomendaciones son las siguientes: diluir el enzima en una pequeña cantidad de agua fresca o mosto. No remover vigorosamente. Preparar cada día una solución fresca de enzimas y añadir tan pronto como sea posible, lo mejor es al principio de la maceración en el encubado, después de la adición del SO₂.

¿ Cuál es la dosis recomendada ?

Depende en la concentración del producto enzimático, tipo de aplicación y calidad de las uvas. La dosis media sugerida es de 2 g/hl, aunque existen preparados comerciales de alta concentración en materia activa que con solo 1 g/hl realizan una acción muy potente y rápida. Por este motivo, cuando se desean actuaciones de extracción muy rápidas, es aconsejable utilizar enzimas muy concentradas.

¿ Las enzimas son inhibidas por otros aditivos ?

La bentonita es un fuerte inhibidor de las enzimas: no se pueden utilizar al mismo tiempo. El SO₂ a dosis normales no inhibe la actividad de las enzimas, como se muestra en la Figura 15, donde una dosis de 100 mg/l no influye negativamente en la acción de la enzima. Sin embargo, no se debe preparar las soluciones de SO₂ y enzimas al mismo tiempo. Otras actividades no interfieren con las actividades enzimáticas.

¿ Que otros parámetros pueden influir en las actividades enzimáticas ?

En la misma Figura 15 se representan la influencia ejercida por el grado alcohólico del vino y el pH. Respecto al grado alcohólico, podemos observar como un grado alcohólico elevado de 15° v/v puede reducir a menos de la mitad la actividad pectín-liasa (PL) de las enzimas pectolíticas y a 20° v/v tan solo queda activa un 20% de la enzima. Por este motivo, no se debe disolver las enzimas en un medio alcohólico como es el vino, sino en agua o mosto a temperatura ambiente.

En relación al pH también podemos observar que ejerce un efecto muy importante en la actividad enzimática. Así, por debajo de pH 3, la actividad residual de la enzima es del 20%, mientras que a pH por encima de 4, estamos casi al 60%. En uva de alta acidez y bajo pH, se hace necesario incrementar la dosis de enzima para poder obtener buenos resultados en las acciones de las enzimas, (Fig. 15).

La temperatura también es determinante de cara a la velocidad de reacción enzimática y también dependiendo del tipo de actividad específica de las enzimas. Así podemos verificar como a 15 °C, la actividad pectín-liasa (PL) tiene una actividad de menos del 10%, mientras que la actividad poligalacturonasa (PG) tiene un 30% de actividad. Las temperaturas altas (28-30°C) en el comienzo de la vinificación, permiten una actividad del 45 y 60% respectivamente, (Fig. 15).

¿ Qué enzima y en qué aplicación utilizar en la elaboración de vinos tintos ?

Quizás esta es la pregunta más importante a responder, pues como en el mercado existen preparados, no solamente diferentes en los perfiles de actividades enzimáticas, sino que también en su concentración, existe confusión en el mercado de estos productos, por lo que es difícil realizar una buena elección de la enzima a utilizar sino se dispone de la información suficiente para conocer a fondo la enzima elegida, En la Figura 16 se muestran tres ejemplos de enzimas de maceración (Lallzyme EX, EXV y OE) con concentraciones y perfil de actividades enzimáticas diferentes. Donde se muestra que tipo de enzima según estos datos, es aconsejable para utilizar en estilos de vinos diferentes.

¿ Cómo inactivamos las enzimas de vinificación en el vino ?

Algunas enzimas que se utilizan en la elaboración de vino, son necesarias desactivarlas para que dejen de actuar una vez conseguidos los efectos deseados en el vino. Son por ejemplo las

enzimas del tipo beta-glicosidasa, beta-glucanasa y lisozima. Para el caso de la beta-glicosidasa y la lisozima empleada en vinos blancos, la desactivación se realiza con tratamientos de bentonita (dosis de 20-30 g/hl es suficiente), pero la clarificación con estos productos puede no ser suficiente para la desactivación total de la enzima, ya que es necesario realizar una filtración posterior para eliminar los complejos formados enzima-bentonita, que pueden permanecer activos en los fondos de los depósitos.

¿ Cómo manejar las enzimas ? y ¿ Cómo conservarlas ?

Manejo: Las enzimas pectolíticas están clasificadas bajo el Código Europeo R42 «puede causar sensibilización por inhalación». La mayoría de las pectinasas están disponibles en forma micro-granuladas para disminuir los riesgos sobre la salud del usuario. Se debe evitar respirar el polvo durante el manejo cuando se abren los paquetes.

Almacenaje: en corto periodo de tiempo (<1 año): almacenar a T^a por debajo de 25°C. Para largos periodos de tiempo (1-3 años): almacenar a T^a por debajo de 5°C. Siempre mantener guardados los paquetes sin abrir.

CONCLUSIONES

- Las enzimas son muy eficientes en relación coste-efectividad y es una herramienta segura para mejorar la calidad de los vinos tintos.
- La elección correcta de la enzima adecuada y la dosis a emplear (madurez, variedad de uva, condiciones del medio a nivel de pH y temperatura, concentración y perfil de actividades enzimáticas...), son aspectos importantes cuando se busca eficacia en los resultados y se proyecta desde el principio el estilo de vino a elaborar en al bodega.
- Las enzimas del mercado son muy diferentes unas de otras: es por lo tanto muy importante mejorar los conocimientos de los productos enzimáticos disponibles actualmente.
- Es necesario tener un buen conocimiento en la combinación de utensilios biológicos a utilizar en vinificación, refiriéndonos a las enzimas, cepas de levaduras y bacterias y nutrientes. Además de conocer los aspectos nutricionales del medio donde se va a desarrollar esta acción. Para poder desarrollar una tecnología de vinificación integrada, ya que todos los procesos que se desenvuelven desde la entrada de uva en bodega, como la fermentación alcohólica y maloláctica, están muy relacionados y condicionados por todos estos factores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Canal-Llaubères RM. Les enzymes industrielles dans la biotechnologie du vin. Revue des Oenologues, 53, 17-22. (1989).
- (2) Wightman JD, Wrolstad RE. Beta-glucosidase activity in juice –processing enzymes based on anthocyanin analysis. Journal of Food Science, 61, 3, 544-552. (1996)