EFECTOS DE LA ADICIÓN DE MICROORGANISMOS LÁCTICOS EN LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO DE UVA

Lucero Carmona Mejía

Unidad de Ciencias Ambientales y Agropecuarias
Instituto de Educación Técnica Profesional de Roldanillo - INTEP

Email: lcarmona_docente@intep.edu.co

Resumen. El objetivo principal de este estudio fue determinar los efectos de la adición de microorganismos lácticos, en la etapa de fermentación lenta para la elaboración de vino tinto de uva, con el fin de mejorar el proceso de fermentación maloláctica. Para ello se realizaron muestras de vino con procesos de fermentación natural y otros con 3 porcentajes diferentes de inoculación (0,0142% – 0,0285% – 0,0428%) de bacterias ácido lácticas, a las cuales se realizaron análisis físico – químicos, organolépticos y microbiológicos, comparando los resultados de las muestras inoculadas con los de la muestra de vino que no se inoculó. Los resultados de estos análisis demostraron que, en los vinos inoculados, no varió el nivel de pH, se incrementó el porcentaje de ácido tartárico, disminuyó el grado de acidez, aumentaron los grados Brix y el porcentaje de alcohol se mantuvo dentro de los límites establecidos en la norma NTC 708, entre 12 y 16 grados.

En conclusión, se determinó que la muestra que se inoculó al 0,0142% demostró mejor aceptación organoléptica y mejores parámetros de calidad, en sus características físico-químicas.

Palabras clave: enología, fermentación, maloláctica, alcohol, bacterias acido lácticas, vinos.

Abstract. The main objective of this study was to determine the effects of the addition of lactic microorganisms, in the slow fermentation stage for the production of red grape wine, in order to improve the malolactic fermentation process. For this, wine samples were made with natural fermentation processes and others with 3 different percentages of inoculation (0.0142% - 0.0285% - 0.0428%) of lactic acid bacteria, to which physical-chemical analyzes were carried out. organoleptic and microbiological, comparing the results of the inoculated samples with those of the wine sample that was not inoculated. The results of these analyzes showed that, in the inoculated wines, the pH level did not change, the percentage of tartaric acid increased, the degree of acidity decreased, the Brix degrees increased and the alcohol percentage remained within the established limits. in the NTC 708 standard, between 12 and 16 degrees.

In conclusion, it was determined that the sample that was inoculated at 0.0142% showed better organoleptic acceptance and better quality parameters, in its physical-chemical characteristics.

Keywords: oenology, fermentation, malolactic, alcohol, lactic acid bacteria, wines.

Introducción

La presente investigación hace referencia a los efectos de la adición de microorganismos lácticos, en la etapa de fermentación lenta para la elaboración de vino tinto de uva. Por diversas causas, en los últimos años la industria enológica ha sufrido una transformación importante, convirtiéndose en un sector de constantes cambios e innovaciones, esto debido a que las características organolépticas en los vinos son resultado de procesos largos, que requieren de prolongados periodos de tiempo de elaboración, fermentación y almacenamiento, lo que ha promovido el estudio y desarrollo de diferentes tecnologías para llevar a cabo mejoras en el proceso de elaboración y en las características mismas de los vinos, estudios realizados han demostrado que la inoculación con bacterias ácido lácticas no solo disminuyen los tiempos de elaboración sino que mejoran las características organolépticas de los vinos, según advierte Berbegal (2012).

El control de la fermentación maloláctica, mediante inoculación de bacterias lácticas seleccionadas ayuda a preservar la calidad de los vinos, ya que previene el desarrollo de las levaduras indeseables del género Brettanomyces.

Según Gerbaux (2013), gracias a las mejoras en el proceso de fermentación maloláctica, se consigue una rápida estabilización del vino, lo que reduce el tiempo disponible para el crecimiento de Brettanomyces, estas mejoras se logran con la inoculación del vino en la etapa de fermentación lenta, ya que añade la ventaja de que la completa ausencia de azúcares incrementa la estabilidad microbiológica del vino, además, el tiempo en el que se realiza la fermentación maloláctica, es mucho más corto en vinos inoculados, que en los vinos tradicionales. Esto implica otra importante ventaja porque el vino alcanza sus características en un menor tiempo y así no está tan expuesto al posible desarrollo de microorganismos indeseables.

Es así, que para el presente estudio se realizó inoculación del vino tinto de uva en la etapa de fermentación lenta con porcentajes correspondientes a 0,0142 – 0,0285 y 0,0428 porciento de bacterias lácticas (Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus), para lo cual se hicieron tres réplicas (repeticiones) para el análisis de la varianza.

Con lo anterior se estableció que; en los vinos inoculados, no varió el nivel de pH, se incrementó el porcentaje de ácido tartárico, disminuyó el grado de acidez, aumentaron los grados Brix y el porcentaje de alcohol se mantuvo dentro de los límites establecidos en la norma NTC 708, entre 12 y 16 grados.

2. Materiales y métodos

Para el desarrollo de la investigación “Análisis de los efectos en la adición de microorganismos lácticos para la elaboración de vino tinto de uva en la empresa Agroindustrias del Valle ubicada en el

municipio de La Unión, Valle del Cauca", se necesitaron tres escenarios; el primero de ellos la planta de producción de vinos Agroindustrias del Valle, en donde se realizaron las muestras de los vinos, el segundo los laboratorios de Ciencias Básicas y microbiología del Instituto de Educación Técnica Profesional de Roldanillo, Valle - INTEP, en donde se realizaron los análisis físico-químicos y microbiológicos a los vinos objeto de la investigación. El tercero y para llevar a cabo el análisis de preferencia de las 4 muestras de vino, se aplicaron 36 encuestas, en la granja CEDEAGRO de Roldanillo Valle, con estudiantes de IV semestre de Procesos Agroindustriales, IV semestre de Producción Agropecuaria y I semestre de Tecnología Ambiental.

2.1. Elaboración de los vinos

Se realizaron 4 ensayos, el primero se realizó con muestras de 20 litros de vino bajo los parámetros comunes de elaboración de vinos.

Los otros tres ensayos se realizaron igualmente con una muestra de 20 litros de vino, que fueron co-inoculados en la etapa de fermentación lenta con porcentajes de cultivo correspondientes a 0,0142 % – 0,0285 %. – 0,0428% de bacterias lácticas *(Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus),* para lo cual se hicieron tres réplicas (repeticiones).

2.2. Determinación de las características físico-químicas y organolépticas de los vinos (muestra vino natural y vinos inoculados)

Una vez iniciado el proceso de elaboración de vinos, se realizaron los análisis de control de calidad, se tomaron muestras de un litro, a los que se analizaron:

pH: Se determinó usando un pH-metro

Acidez: se determinó por acidez títulable

Grado de alcohol: destilación y alcoholímetro

Solidos solubles (°Brix): con la ayuda de un refractómetro

2.2.1. Determinación del pH

Este análisis se realizó con repetición a 10 muestras de cada unidad experimental de vino para garantizar la confiabilidad del resultado, para ello se utilizó un pH metro marca waterproof, que se introdujo en cada muestra hasta que el registro de pH se mantuvo estable. Para la realización de este análisis se consultó la Norma Técnica Colombiana 55114 de 2003 y para la validación del resultado se tuvo como referencia la Norma Técnica Colombiana 708 bebidas alcohólicas. Vinos de frutas.

2.2.2. Determinación de la Acidez

Para la realización de este análisis también se necesitó 1 litro de cada unidad experimental de vino, a los cuales se hizo una repetición del análisis de 10 veces para garantizar la confiabilidad del resultado, este análisis se realizó de la siguiente manera:

a) Determinación de la acidez total se adicionan 0,5 ml de fenolftaleína a 20 ml de agua destilada en erlenmeyer de 250 ml de capacidad y 5 ml de muestra desgasificada y titular con solución de NaOH 0,1 N hasta el punto final, coloración rosa.

Calculo Acidez total, en g de ácido tartárico por un litro o dm3 de vino = V x N x 0,075 x 1000/Va

en donde V = volumen de NaOH gastado N = normalidad Va = alícuota de la muestra.

2.2.3. Determinación de los grados de alcohol:

Para la realización de este análisis también se necesitó 1 litro de cada unidad experimental de vino, a los cuales se hizo una repetición del análisis de 10 veces para garantizar la confiabilidad del resultado, este análisis se realizó de la siguiente manera:

Utilizando un matraz aforado adecuado (normalmente de 250 ml), se llena casi hasta la marca con la muestra y se coloca en el baño de temperatura constante a 20 °C por una hora. Manteniéndolo en el baño, se completa a volumen con la cantidad necesaria de muestra, a 20 °C (lo mejor es colocar al mismo tiempo una cantidad adicional de muestra en el baño de temperatura constante).

Teniendo instalado el aparato de destilación, se vierte en el matraz con la ayuda un embudo, la muestra contenida en el balón aforado; se lava el recipiente que contenía la muestra y el embudo, con tres porciones de 15 ml de agua destilada, las cuales se añaden al matraz de destilación, se retira el embudo, se agrega una pequeña cantidad del regulador de ebullición, se tapa y se comienza la destilación, recogiendo el destilado en el mismo matraz en que se midió la muestra. El matraz en el que recoge la muestra debe tener previamente 10 ml a 20 ml de agua, en los que se sumerge la punta de un tubo que prolonga el refrigerante. El calentamiento debe regularse en tal forma que la destilación ocurra sin sobresaltos, de manera lenta pero continua. En los climas muy cálidos o si la temperatura del laboratorio es alta, el matraz en que se está recogiendo la muestra debe estar sumergido en agua con hielo. Se continúa la destilación hasta que el destilado llegue, aproximadamente, hasta los hombros del matraz. Se suspende la destilación, se retira el tubo colocado en la parte inferior del refrigerante y se lava con agua, por dentro y por fuera, sobre el mismo matraz, pero sin llegar al cuello de éste. Se coloca el matraz en el baño de temperatura constante a 20 °C por una hora y, entonces, sin retirarlo del baño, se completa a volumen con agua a 20 °C. 2.1.4 Estimación del grado alcohol métrico Rápidamente, se llena la probeta del alcoholímetro y se introduce éste, teniendo cuidado de asegurar su libertad de movimiento, se hunde y se deja flotar dos o tres veces; luego se hace girar suavemente y se deja en reposo para que se estabilice y se hace la lectura por el menisco inferior.[1]

2.2.4. Determinación de los °Brix

Para la realización de este análisis también se necesitó 1 litro de cada unidad experimental de vino, a los cuales se hizo una repetición del análisis de 10 veces para garantizar la confiabilidad del resultado, este análisis se realizó de la siguiente manera:

[1] NTC 5113. Instituto Técnico Colombiano de Normas y Certificaciones (INCONTEC). Bebidas alcohólicas Bebidas alcohólicas método para determinar el contenido de alcohol. (25, marzo., 2013)

1. Toma una muestra del vino con la pipeta para depositarlo, en forma de gotas, sobre el prisma del refractómetro.

2. Medición a través del ocular, ajustando la sombra en el punto medio de la cruz para leer en la escala numerada superior el índice de refracción. El valor leído se anota en grados Brix.

3. La lectura irá siempre acompañada de la temperatura a la que se ha realizado

2.2.5. Análisis de las características organolépticas

Para el análisis de preferencia de las 4 muestras de vino, se aplicaron 36 encuestas, en la granja CEDEAGRO de Roldanillo Valle, con estudiantes de IV semestre de Procesos Agroindustriales, IV semestre de Producción Agropecuaria y I semestre de Tecnología Ambiental; el análisis se hizo el día sábado 6 de agosto a las 8:30 a.m. Los criterios que se evaluaron fueron, color, sabor, olor e intensidad alcohólica.

Para el análisis se utilizó la siguiente escala de valoración:

Tabla 1. Escala de valoración para las características evaluadas en el vino

Calificación	Descripción
1	Me disgusta muchísimo
2	Me disgusta moderadamente
3	Me disgusta poco
4	Me gusta poco
5	Me gusta moderadamente
6	Me gusta mucho

Fuente: Autora de la investigación

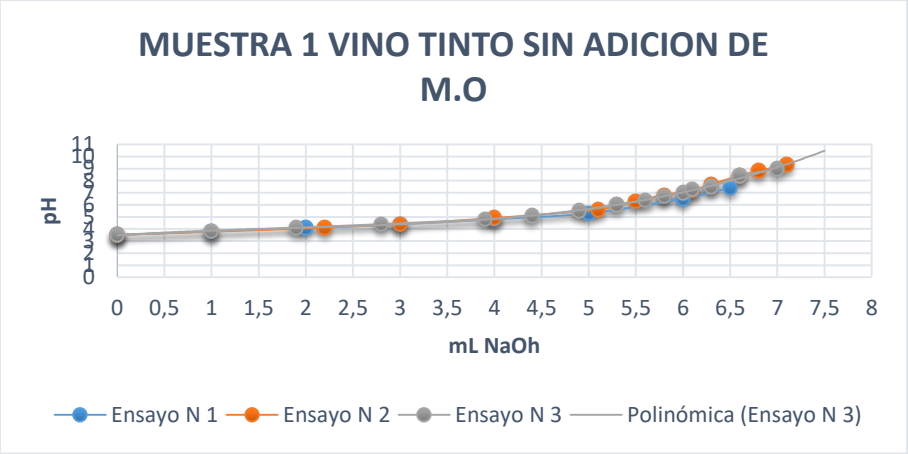
Resultados y discusión

La inoculación bacterias acido lácticas en los procesos de elaboración de vino tinto de uva, adicionados en la etapa de fermentación lenta, supuso cambios favorables en las condiciones físico-químicas y organolépticas del vino; a pesar de haber trabajado en la elaboración de vinos jóvenes, el desarrollo de la investigación con procesos de inoculación demostró que hubo ventajas no solo en la acidez, al tenerse una medida más baja en los pH de las muestra inoculadas, sino también los grados Brix, en los porcentajes de alcohol y los porcentajes de ácido tartárico.

En conclusión, se determinó que la muestra que se inoculó al 0,0142% demostró mayor aceptación organoléptica y mejores parámetros de calidad, en sus características fisicoquímicas.

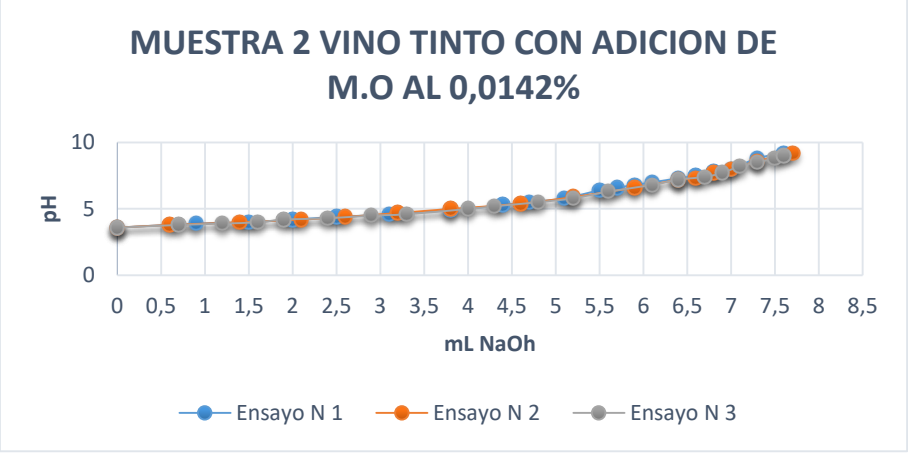
Resultados según acidez

Según los resultados de la acidez en las cuatro muestras, las tres muestras inoculadas indicaron un % mayor de ácido tartárico que las muestra con proceso natural de fermentación malo láctica, lo que indica que estos procesos de adición de microorganismos lácticos, si genera cambios en las condiciones físico – químicas.



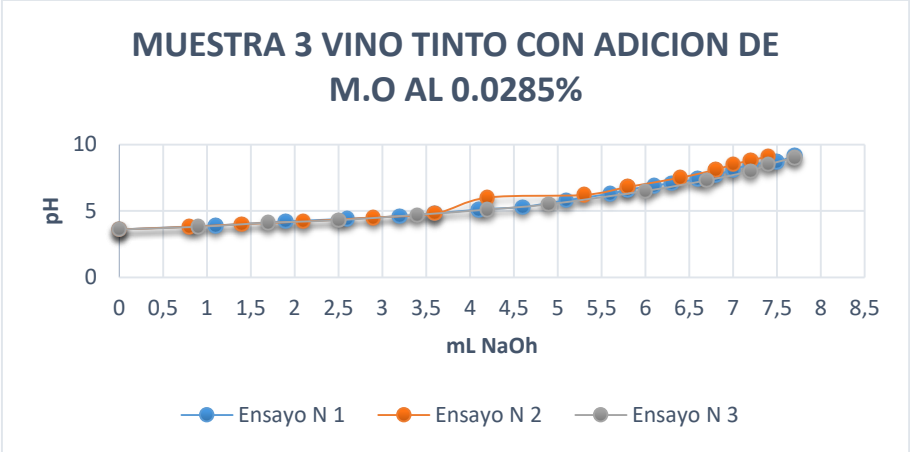
Gráfica 1. Análisis acidez en la muestra de vino sin inoculación

Fuente: Autora de la investigación



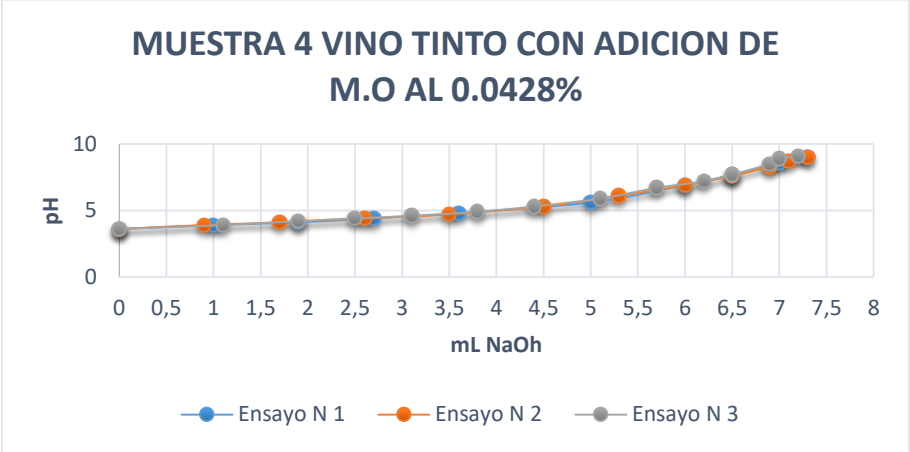
Gráfica 2. Análisis acidez en la muestra de vino muestra 2 inoculado al 0,0142%

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 3. Análisis acidez en la muestra de vino muestra 3 inoculado al 0,0285%

Fuente: **Autora de la investigación**



Gráfica 4. Análisis acidez en la muestra de vino muestra 4 inoculado al 0,0428%

Fuente: Autora de la investigación

La acidez según la NTC 708, se mide en % de ácido tartárico, como se muestra a continuación:

Acidez total, en g de ácido tartárico por un litro o dm^3 de vino $\frac{V \times N \times 0{,}075 \times 1000}{V_A}$

V = volumen de NaOH gastado

N = normalidad

Va = alícuota de la muestra

$$Acidez\ total = \frac{V \times 0.0485 \times 0{,}075 \times 1000}{5} = 7{,}5 \times V \times N = 0{,}73 \times V$$

Ensayo 1 muestra sin inoculación

$$Acidez\ total = 0{,}73 \times V = 0{,}73 \times 6 = 4{,}38\ \frac{g\ AT}{L}$$

Ensayo 2 muestra inoculada con 0,0142% de bacterias ácido lácticas

$$Acidez\ total = 0{,}73 \times V = 0{,}73 \times 6{,}2 = 4{,}53\ \frac{g\ AT}{L}$$

Ensayo 3 muestra inoculada con 0,285% de bacterias ácido lácticas

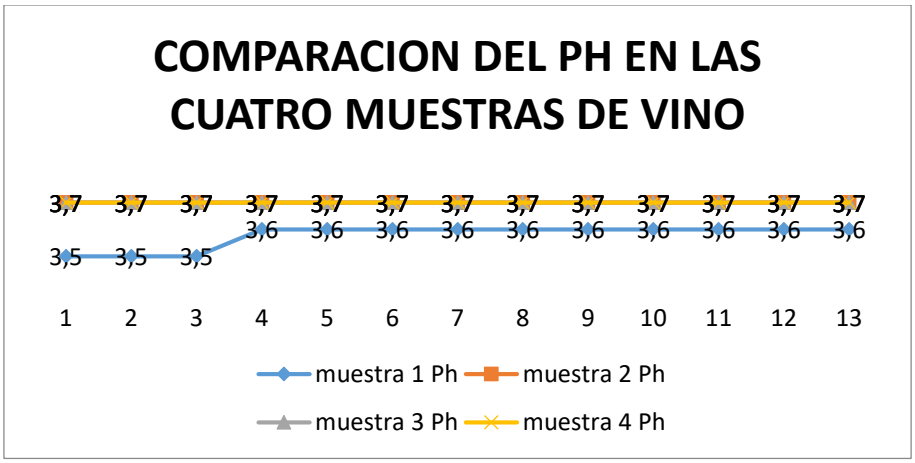
$$Acidez\ total = 0{,}73 \times V = 0{,}73 \times 6{,}2 = 4{,}53\ \frac{g\ AT}{L}$$

Ensayo 4 muestra inoculada con 0,0428% de bacterias ácido lácticas

$$Acidez\ total = 0{,}73 \times V = 0{,}73 \times 6{,}1 = 4{,}45\ \frac{g\ AT}{L}$$

2.1.1. Resultados según pH

Después de analizar las 4 muestras con respecto al nivel de pH, se encuentra que no hay variación en los resultados de pH de las tres muestras inoculadas para lo que las tres presentaron un pH de 3,7 y con respecto a la muestra que no se inoculo presenta una variación de -0,1, lo que demuestra que el vino inoculado tiene un menor grado de acidez.

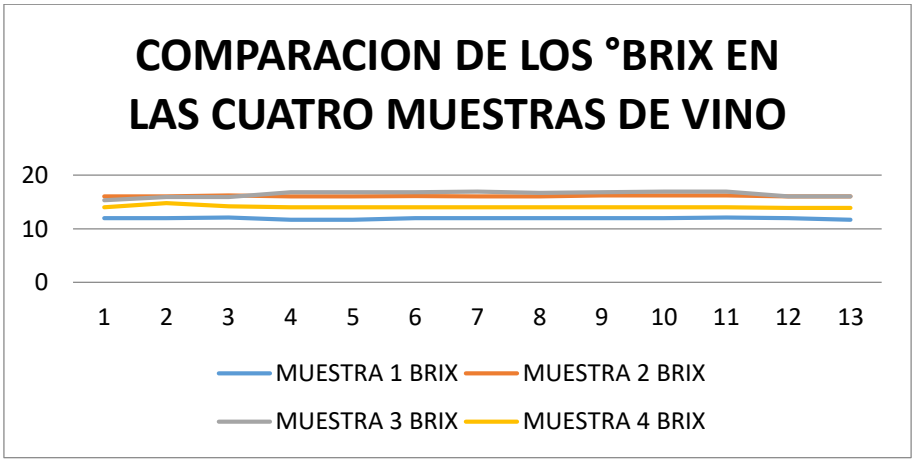


Gráfica 5. Comparación de pH en las cuatro muestras de vino

Fuente: Autora de la investigación

2.1.2. Resultados según °Brix

Según el análisis de °Brix la muestra que no se inoculó presento un resultado de tan solo 12 °Brix, esto 4 grados por debajo de las tres muestras de vino que si se inocularon.



Gráfica 6. Comparación de los °Brix en las cuatro muestras de vino

Fuente: Autora de la investigación

2.1.3. Resultados según % de alcohol

Con respecto al grado de alcohol, la muestra 1, es decir sin inoculación presenta un volumen de alcohol de 14 lo mismo que la muestra 4 (inoculado al 0, 0428%) con una diferencia significativa en los °Brix; es decir la muestra 1 presento 3,8 °Brix y la muestra 4 presento 4,9 °Brix.

La muestra 2 y 3 inoculadas al 0,0124% y 0,0248% respectivamente presentaron un volumen de alcohol de 12, menor a la muestra 1 y 4. En cuento a los °Brix. de la muestra destilada presentaron un resultado de 4 °Brix. para muestra 1 y 5°Brix para la muestra 2.



Gráfica 7. Comparación de los de alcohol y °Brix en las cuatro muestras de vino

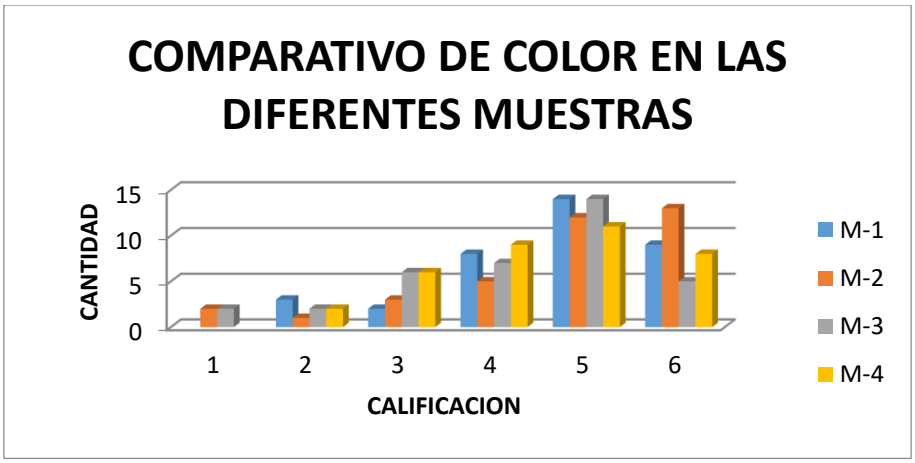
Fuente: Autora de la investigación

Resultados de análisis de preferencia

Tabla 2. Comparativo de color

Calificación/ Muestras	1	2	3	4	5	6
M-1		3	2	8	14	9
M-2	2	1	3	5	12	13
M-3	2	2	6	7	14	5
M-4		2	6	9	11	8

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 8. Comparativo de color en las muestras de vino

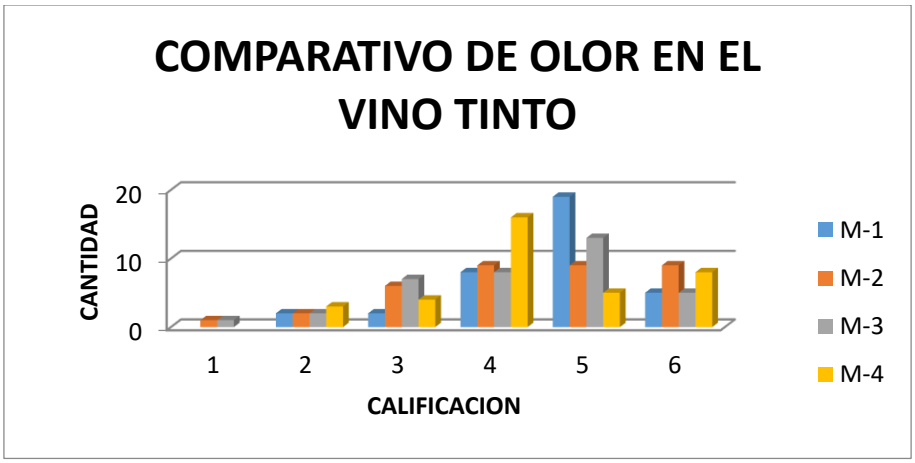
Fuente: Autora de la investigación

Del análisis de preferencia de color, en la calificación me gusta mucho, la mayor calificación la obtuvo la muestra número 2, inoculada al 0,0124%

Tabla 3. Comparativo de olor en el vino tinto

CALIFIACION/ MUESTRA	1	2	3	4	5	6
M-1		2	2	8	19	5
M-2	1	2	6	9	9	9
M-3	1	2	7	8	13	5
M-4		3	4	16	5	8

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 9. Comparativo de olor en las diferentes muestras de vino

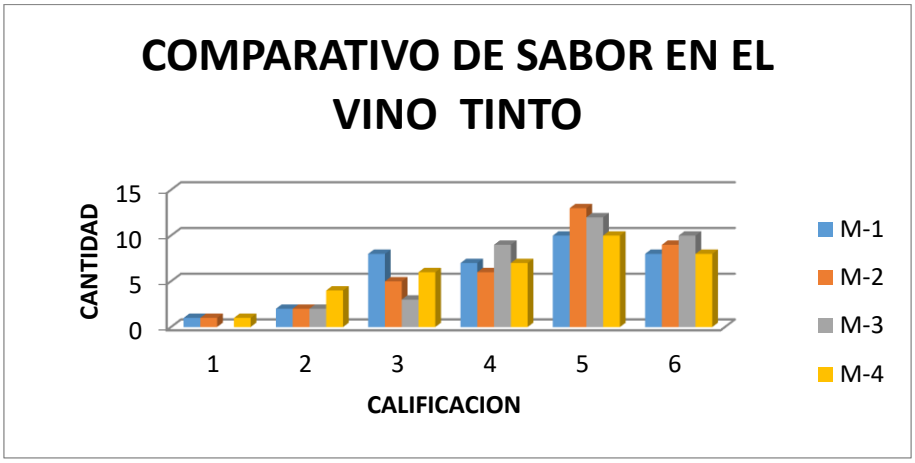
Fuente: Autora de la investigación

Del análisis de preferencia de olor, en la calificación me gusta moderadamente, la mayor calificación la obtuvo la muestra número 1, vino sin inoculación y en un segundo lugar la muestra 3, inoculada al 0,0285%.

Tabla 4. Comparativo de sabor en el vino tinto

CALIFICACION/ MUESTRA	1	2	3	4	5	6
M-1	1	2	8	7	10	8
M-2	1	2	5	6	13	9
M-3		2	3	9	12	10
M-4	1	4	6	7	10	8

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 10. Comparativo de sabor en las muestras de vino

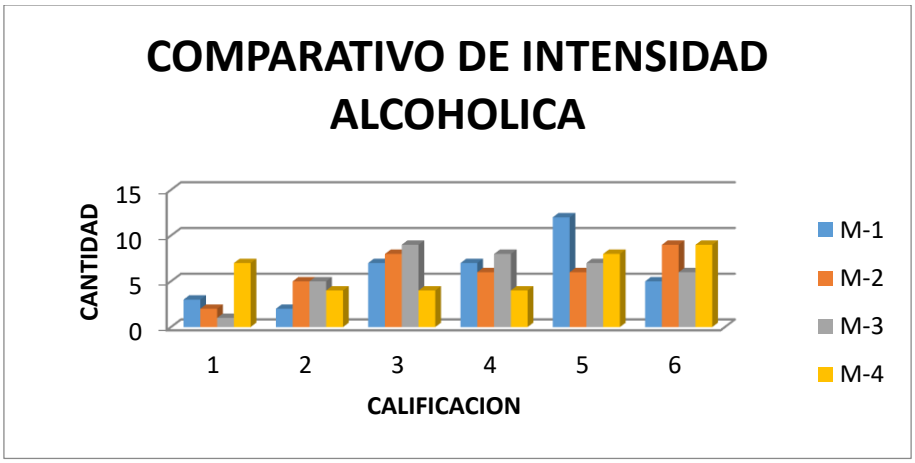
Fuente: Autora de la investigación

Del análisis de preferencia de sabor, en la calificación me gusta moderadamente, la mayor calificación la obtuvo la muestra número 2, inoculada al 0,0124% y en un segundo lugar la muestra 3, inoculada al 0,0285%.

Tabla 5. Comparativo de intensidad alcohólica en el vino

CALIFICACION / MUESTRA	1	2	3	4	5	6
M-1	3	2	7	7	12	5
M-2	2	5	8	6	6	9
M-3	1	5	9	8	7	6
M-4	7	4	4	4	8	9

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 11. Comparativo de intensidad alcohólica

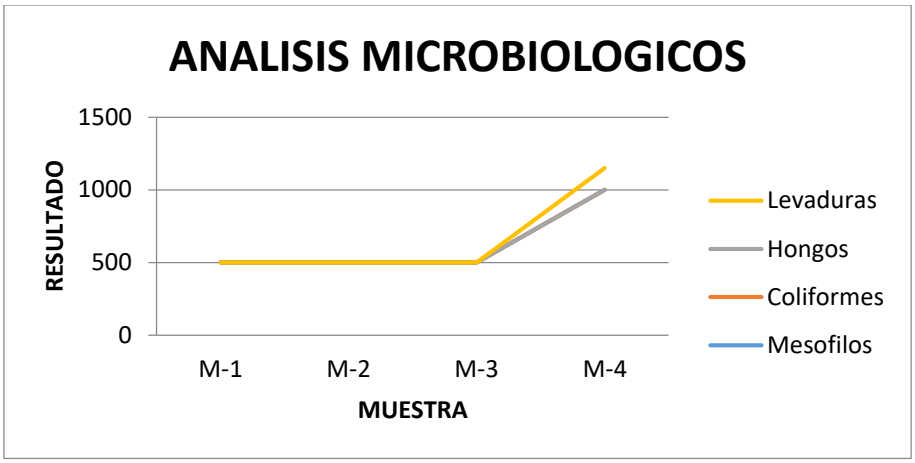
Fuente: Autora de la investigación

Del análisis de preferencia de intensidad alcohólica, en la calificación me gusta moderadamente, la mayor calificación la obtuvo la muestra número 1, vino sin inoculación y en un segundo lugar con la calificación me gusta mucho hubo iguales resultados para la muestra 2, inoculada al 0,0124% y la muestra 4 inoculada al 0,0428%.

Tabla 6. RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLOGICOS

	M-1	**M-2**	**M-3**	**M-4**
mesófilos	0,5*10^3	0,5*10^3	0,5*10^3	1*10^3
Coliformes	≤3	≤3	≤3	≤3
Hongos	≤10	≤10	≤10	≤10
Levaduras	0	0	0	≤10

Fuente: Autora de la investigación



Gráfica 12. Resultados análisis microbiológicos

Fuente: Autora de la investigación

BIBLIOGRAFIA

Gerbaux, V., Briffox, C., Dumont, A. Y Krieger, S., Suarez, C. Y Heras, J. M. (2013). Efectos de la inoculación con bacterias lácticas seleccionadas sobre la producción de fenoles volátiles por Brettanomyces. Bibliotecas.unco

Berbegal, C., Lucio, O., Polo, L. Y Ferrer, S. (2012). Nuevas tendencias para el desarrollo de la fermentación maloláctica en vino con *O. oeni. Researchgate.net*

Rosa – López., P. G., Gutiérrez, A. R., Tenorio, C., López, I. Y Santamaría, P. (2015). Experiencias de la inoculación de bacterias lácteas en distintos momentos de la elaboración de vinos tintos de Rioja. Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico de La Rioja (CIDA)

Palacios, A., Krieger, S., Suárez, C., Heras, J. M. (2015). Fermentación malo láctica: objetivos y variables de control. Dialnet

Peñaflor - Mora. Nancy, Guerrero - García. Andrés. (2016). Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos. *Researchgate.net*

Norma Técnica Colombiana 708. Bebidas alcohólicas. Vinos de fruta. (15, marzo., 2000)

Norma Técnica Colombiana 5113. Bebidas alcohólicas. Método para determinar el contenido de alcohol. (25, marzo., 2013)

Norma Técnica Colombiana 5114. Bebidas alcohólicas. Método para la determinación de acidez. (19, marzo., 2013)