

Departamento de Fermentaciones Industriales
Patronato Juan de la Cierva del C. S. I. C. - Madrid

La levadura de flor en la crianza del vino. El etanol, fuente de carbono indispensable para el desarrollo en fase de velo (*)

por

J. M.² Garrido y I. J. Saavedra

La importancia del etanol en el desarrollo de la levadura de flor no ha llegado a ser puesta realmente de manifiesto aunque es un hecho conocido su disminución constante a lo largo de la crianza del vino. La pérdida de alcohol fue atribuida, en parte a evaporación y en parte a reacciones de oxidación en las que se forma etanol, ácido acético, CO_2 y H_2O . Este hecho, observado por MARCILLA y col. (1), fue comprobado posteriormente por numerosos investigadores. MARCILLA no descarta la posibilidad de que una pequeña proporción de etanol sea utilizada por la levadura en su nutrición, pero la supone insignificante en presencia de glicerina, azúcares y otras sustancias que considera más fácilmente asimilables. La misma suposición hace VAN-ZYL (2), quien encuentra que el 4 % del etanol utilizado por la levadura, en un medio sintético, se transforma en etanol y ácido acético, aunque no puede seguir la evolución del 96 % restante.

En la presente comunicación se dan a conocer algunos de los resultados obtenidos en nuestros estudios de metabolismo

(*) Comunicación 10-8, a las V Jornadas Bioquímicas Latinas. Barcelona, mayo 1959.

del alcohol por las cepas 7 y 13 de levadura de flor, pertenecientes a la colección de este Centro, actuando en fase de velo sobre vino estéril y sobre medios sintéticos. Estos resultados forman parte de una tesis doctoral y serán publicados en su día con extensión y detalle.

En vino privado casi completamente de alcohol se comprobó que la levadura inicia en pocos días la expansión del velo, pero el desarrollo se detiene pronto y permanece estancado. Al crecer la graduación alcohólica las células se multiplican cada vez más rápidamente y el desarrollo se va haciendo mayor llegando, a los 8°, a un máximo para los microorganismos ensayados. En adelante, al seguir aumentando la concentración alcohólica, se inicia un retraso en el desarrollo que, si no es muy aparente hasta los 12°, se acentúa para graduaciones mayores y llega a total inhibición para 17° o más.

Para el cultivo de la levadura en medio sintético se preparó uno, conteniendo peptona, sales minerales, factores de crecimiento y etanol, en el que la levadura desarrolla con una pujanza comparable a la que alcanza sobre un vino de las mejores características para la crianza de flor. En tal medio estéril, privado de alcohol, no hubo apenas formación de velo y la mayor parte de la escasa multiplicación celular fue de levadura caída al fondo de los matraces de cultivo y actuando en fase anaerobia; aún cuando la levadura disponía de otros nutrientes, como glicerina y glucosa, en cantidad suficiente, se limitó a subsistir sin entrar en multiplicación activa. En el mismo medio adicionado de alcohol hubo buen desarrollo que no pareció ser acelerado por la presencia de glicerina o glucosa aunque el microorganismo usó siempre de todas las fuentes nutritivas presentes.

De los ensayos, conducidos sobre vinos y sobre medios sintéticos, que acabamos de referir se deduce que el etanol no sólo es imprescindible para que la levadura forme velo en fase aerobia sino que es la causa, al menos inmediata, de ello. Cuando el alcohol falta, tanto en medios sintéticos como en vino, no hay desarrollo de flor y en los mismos sustratos el velo crece intensamente con sólo su adición.

Este hecho induce a pensar que el alcohol no sólo es alimento energético sino que se puede incorporar al microorganismo formando parte de la sustancia celular, extremo que fue comprobado haciendo desarrollar cepa 7 en fase de velo sobre un medio nutritivo con baja concentración de peptona y en el que el etanol era la única sustancia carbonada ternaria. Se determinaron las fracciones de proteínas, grasas y carbohidratos de la levadura colectada para establecer comparacio-

nes entre ellas y las materias carbonadas presentes inicialmente en el medio, lo que permitió comprobar si habían de proceder necesariamente del etanol consumido o podían tener su origen en otras fuentes de carbono, concretamente en los aminoácidos de la peptona.

De esta experiencia pudo deducirse que el alcohol es utilizado por la levadura para la síntesis de parte, al menos, de sus proteínas y posiblemente también de sus grasas de reserva.

También, por lo menos parcialmente, los carbohidratos de reserva y de la membrana celular han de tener origen en el etanol asimilado. Esta transformación alcohol-carbohidratos supone una curiosa reversibilidad del proceso fermentativo normal de conversión de azúcares en alcohol y podría llevarse a efecto por intermedio del ácido pirúvico que ha sido caracterizado en el medio al cabo de algún tiempo de desarrollo del velo.

Señalemos, por último, que en medio sintético análogo al anterior sembrado con cepa 7 se observó la formación de etanol, butilenglicol y acetoína en cantidades comparables a las que se producen en vinos sometidos a crianza de flor. Esto demuestra que tales componentes proceden del etanol directa o indirectamente.

Resumen

En nuestras experiencias se trató de poner de manifiesto toda la importancia del alcohol en el desarrollo de levadura en fase de velo.

El etanol no sólo es imprescindible para que la levadura forme velo, sino que es la causa, al menos inmediata, de que desarrolle de esta forma, según se desprende del hecho de que en vinos y en medios sintéticos privados de alcohol no se produjo desarrollo de «flor», aún en presencia de otras materias carbonatadas ternarias. El desarrollo fue excelente, tanto en vinos como en medios sintéticos, sin más sustancias ternarias que el alcohol, y se hizo cada vez más intenso al aumentar su concentración hasta cierto límite.

La mayor parte del etanol utilizado se emplea como fuente energética, consumiéndose a través de etanol, que parcialmente se acumula en el medio y se transforma en butilenglicol y acetoína, o por medio del ciclo de KREBS. Otra parte del alcohol se incorpora a la sustancia celular como carbohidratos, grasas y proteínas, probablemente a través de derivaciones del ciclo de KREBS por intermedio del ácido pirúvico, cuya presencia ha podido comprobarse en los medios de cultivo.

Summary

Flower yeast in wine "breeding". The ethanol as indispensable carbon sources to the development in veil phase

Our experiments intended to state the great importance of the alcohol for the development of yeast in veil phase. Ethanol is not only indispensable for the production of veil by the yeast, but it is also the cause, immediate at least, to the yeast develop in this manner. In wines deprived of alcohol and synthetic media alcohol free, flower was not produced, even in presence of other ternary substances. Development was however excellent in wines as well as in synthetic media with any ternary substances other than alcohol, and become more and more intense with the increase of the alcohol concentration up to a limit.

The greater portion of the utilized ethanol is used as energetic source, by transformation to butylene glycol and acetoin or by Krebs cycle. Another part of alcohol is incorporated to the cellular substance as carbohydrates, fats and proteins, probably from Krebs cycle by the way of the pyruvic acid, the presence of which has been verified in the culture media.

Bibliografía

- (1) MARCILLA, J., I. ALAS, G. y FEDUCHY, E.: *Anal. Centro Inv. Vin.*, **1**, 1, Madrid 1936.
- (2) VAN ZYL, J. A.: *Zentralb. f. Bakt. Parasitenk. Infect. u. Hygiene*, **2**, 111, 1958.