

“Acción fungicida de los quitosanos. Control de *Brettanomyces* en bodega”

M.E. Zapata¹, A. Abraham¹, V. Pérez Silva², N. Salassa², S. Sari³, R. A. Juez¹, A. Di Fabio²

¹Facultad de Enología y Agroindustrias, ²Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Juan A. Maza, ³Centro de Estudios Enológicos INTA
renealbertojuetz@yahoo.com.ar

El Quitosano es un polímero natural y biodegradable, no tóxico para el ambiente, ampliamente distribuido en la naturaleza que posee múltiples aplicaciones, y la enología es una de ellas. Se produce comercialmente mediante la desacetilación de la quitina, que es un elemento estructural del exoesqueleto de los crustáceos.

El proceso de elaboración del vino es acompañado de principio a fin por una microbiota que permanece constante, como las levaduras del género *Brettanomyces*, y otras que adquiere durante el mismo, en beneficio o en perjuicio del producto final. Éstas tienen acción considerada de carácter negativa: la producción de fenoles volátiles (4-etilfenol y 4 etilguaicol) de olores a caballeriza, cuero, a partir de azúcares residuales y de ácidos hidroxicinámicos. La celobiosa de la madera es el principal azúcar atacado por *Brettanomyces*, así este defecto generalmente se produce en los vinos de guarda, que tienen un tiempo en bodega. Determinar la acción fungicida de los quitosanos utilizados como desinfectantes en el contexto enológico sería muy beneficioso como producto alternativo. Nos planteamos los siguientes objetivos:

- 1) Estudiar la acción desinfectante del quitosano en bodegas (barricas y superficies)
- 2) Evaluar la efectividad a diferentes concentraciones del producto químico vs distintos tiempos de contacto, sobre cantidades conocidas de levaduras.

Se partió de una suspensión de un cultivo de 48 horas de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de mayor resistencia que *Brettanomyces*) de una concentración de 10^6 - 10^7 cel/mL, en solución fisiológica estéril. La misma se distribuyó en tubos de ensayo estériles en alícuotas de 10 mL, se las puso en contacto con soluciones de quitosano de 2, 2.5, 3 y 3.5% de concentración y por un tiempo de 10, 15 y 30 minutos cada una de ellas. Luego se realizaron siembras, por el método de filtración por membrana, de 1mL de cada ensayo. Se trabajó con agar sabouraud glucosado con antibiótico y se incubó en estufa durante 72 horas a 28-30°C.

Los recuentos de colonias de las muestras que estuvieron en contacto por 10 minutos de menor a mayor concentración fueron: 12 ufc, 31 ufc, 113 ufc e incontables. Contacto por 15 minutos: 11 ufc, 10 ufc, 51 ufc y 68 ufc. Contacto por 30 minutos: 2 ufc, sin desarrollo, 7 ufc y 4 ufc, respectivamente. Se observó que: Un contacto por 30 minutos, independientemente de la dosis, es el que presentó menor recuento de colonias. En la mayoría de los casos, es inversamente proporcional la relación entre el tiempo y la cantidad de colonias (mayor tiempo, menos colonias). Las dosis más bajas de quitosano (2 y 2.5%) usadas son las que mostraron mejores resultados, disminuyendo notoriamente la cantidad de colonias. Contrariamente a los que suponíamos, las dosis de mayor concentración de quitosano (3 y 3.5%) fueron las que mayor cantidad de colonias presentaron, principalmente a menor tiempo (10 minutos). Esto puede deberse a que el agua asociada a la molécula de quitosano facilita el transporte e ingreso del compuesto a través de la membrana citoplasmática, hecho que no ocurriría en diluciones más bajas, donde hay menor cantidad de agua, dificultándose el ingreso a la célula, resultando una acción menos inhibitoria. Se concluye que la dosis de 2.5% a 30 minutos es la más efectiva contra levaduras estudiadas