

## USO DE POLEN DE ABEJA COMO ACTIVADOR DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA EN VINOS BLANCOS

**Antonio Amores-Arrocha, Pau Sancho-Galán, Ana Jiménez-Cantizano, Víctor Palacios Macías**

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de los Alimentos, Área de Producción Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, Apartado de correos 40, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

antonio.amores@uca.es;pau.sancho@uca.es;ana.jimenezcantizano@uca.es;victor.palacios@uca.es

### Resumen

El objetivo del presente estudio fue el análisis comparativo impacto del uso de diferentes dosis de polen de abeja (0,1, 0,25, 1, 5, 10 y 20 g/L) como activador en el proceso de fermentación alcohólica de vinos blancos elaborados con las variedades Palomino fino y Riesling. En este sentido, se ha analizado su influencia en la composición de los mostos, la cinética fermentativa, la evolución de las poblaciones de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, la evolución del nitrógeno fácilmente asimilable por las levaduras y las características físico-químicas de los vinos finales. La adición de polen de abeja produce aumentos significativos tanto del nitrógeno fácilmente asimilable, como de la población máxima de levaduras, así como de la velocidad máxima alcanzada durante la fermentación alcohólica, mostrando una mejora en la supervivencia de las levaduras durante la fase de muerte. A partir de dosis superiores a 10 g/L, se observa un aumento significativo de la acidez volátil, así como de la intensidad de color y la Abs 420 nm. Los resultados mostraron que, el uso del polen de abeja a dosis inferiores a 1 g/L, podría ser de interés para su uso como activador de la fermentación alcohólica en la elaboración de vinos blancos.

**Palabras clave:** *Fermentación alcohólica, polen de abeja, vino, Saccharomyces cerevisiae y nitrógeno.*

### Introducción

La falta de nutrientes en el mosto de uva y/o la presencia de sustancias indeseables, como residuos de pesticidas, pueden afectar al desarrollo de las levaduras y producir una ralentización o incluso una detención total de la fermentación (Fleet, 1993; Webb *et al.*, 2007). El origen de esta falta de nutrientes podría estar asociado a problemas de maduración por falta de adaptación de las variedades al terreno o bien a unas condiciones climáticas adversas (Briche *et al.*, 2014; Sacchelli *et al.*, 2016). Las deficiencias nutricionales de los mostos, como la falta de nitrógeno fácilmente asimilable por la levadura (NFA) (Bely *et al.*, 1990), vitaminas y micronutrientes (Ough *et al.* 1989; Bataillon *et al.* 1996), pueden afectar al sistema de defensa de las levaduras durante la fermentación alcohólica y, por tanto, a su viabilidad celular (Reboredo-Rodríguez *et al.*, 2015). El NFA, presente en el mosto de uva, es esencial para el óptimo crecimiento y desarrollo de las levaduras. Según algunos autores, son necesarios 140 mg/L de NFA para conseguir que la fermentación alcohólica del mosto de uva pueda completarse con éxito (Bell *et al.*, 2005).

Por tanto, los elementos nutricionales son importantes para el desarrollo de las poblaciones de levaduras, especialmente cuando se utilizan cepas de levadura comerciales, que requieren niveles altos de NFA para su correcta adaptación a las condiciones de fermentación (Bell *et al.*, 2005; Gutiérrez *et al.*, 2012). Se ha podido comprobar cómo la adición de activadores de fermentación aumenta los niveles de NFA, ejerciendo un aumento de la velocidad de fermentación, así como incrementos de la biomasa (Bell *et al.*, 2005; Albers *et al.*, 1996).

El polen de abeja es un producto natural obtenido de las colmenas, rico en carbohidratos, proteínas, lípidos, minerales, vitaminas (Almeida-Muradian *et al.*, 2005; Human *et al.*, 2006), aminoácidos esenciales (Paramás *et al.*, 2006), ácidos grasos esenciales, esteroides, fosfolípidos y carotenoides (Xu *et al.*, 2009) y polifenoles (Campos *et al.*, 2008). En trabajos previos se observó que, al aplicar polen de abeja en elaboración de hidromiel, se producía un incremento de NFA en la fermentación alcohólica, y un aumento de la multiplicación de las poblaciones de levaduras (Roldán *et al.*, 2011). En este sentido, se planteó el estudio del uso de polen de abeja como activador en la fermentación alcohólica para la elaboración de vinos blancos.

## Material y métodos

Se utilizó mosto de las variedades blancas Palomino fino y Riesling, procedentes de viñedos de la provincia de Cádiz (Andalucía, España). Dicha región está considerada como una zona de clima cálido (Amores-Arrocha *et al.*, 2020). Se adicionaron seis dosis diferentes de polen de abeja multifloral (0,1; 0,25; 1; 5; 10 y 20 g/L) y se compararon con un testigo control (sin adición).

Una vez adicionadas las dosis de polen, se realizó la caracterización de parámetros enológicos básicos en el mosto, el seguimiento de la fermentación alcohólica (F.A.) y la caracterización de parámetros enológicos físico-químicos y de color en los vinos finales.

Para la caracterización de los parámetros ( $^{\circ}\text{Bè}$ , densidad ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ), azúcar ( $\text{g}/\text{L}$ ), acidez total ( $\text{g}/\text{L TH}_2$ ), pH, anhídrido sulfuroso ( $\text{SO}_2$  libre, total), nitrógeno fácilmente asimilable (NFA  $\text{mg}/\text{L}$ ), en el mosto y (% alcohol v/v, pH, acidez total ( $\text{g}/\text{L TH}_2$ ), CIELab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $H^*$  y  $C^*$ ), intensidad de color (IC), absorbancia 420 nm) en los vinos, se utilizó la metodología propuesta por la OIV (OIV, 2014). El contenido en glucosa ( $\text{g}/\text{L}$ ), fructosa ( $\text{g}/\text{L}$ ), se cuantificó mediante cromatografía iónica con un detector de pulso amperométrico y electrodo de oro (930 Compact IC Flex, Metrohm, Herisau, Switzerland).

Durante el seguimiento de la F.A. se utilizó el método de conteo de levaduras viables mediante tinción con azul de metileno y conteo en cámara Neubauer (Brand®, Merck, Madrid, Spain), usando un microscopio (Nikon, Tokyo, Japan), para medir la viabilidad celular. El nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) se cuantificó utilizando el método basado en el índice de formol (Aerny, 1997). La densidad de las muestras se determinó por medición directa con un densímetro DMA 48 (ANTOM-PAAR, Net InterLab SAL, Madrid, España). La densidad relativa se determinó como la relación entre la densidad de la muestra y la densidad inicial de la muestra.

## Resultados y discusión

### Efectos sobre la composición inicial del mosto

De forma general, el uso de polen no afectó a los parámetros físico-químicos de los mostos. Sólo se observó, a dosis altas (10 y 20 g/L) un ligero aumento en el contenido de azúcar, tanto para los mostos de Palomino fino como Riesling (Tablas 1 y 2). Aunque, si se detectó un aumento progresivo y lineal del NFA con la dosis de polen empleadas.

Tabla 1. Variación de algunos parámetros físico-químicos del mosto de uva de Palomino fino con la adición de polen (control sin adición).

Parámetros	Dosis de polen en mosto de Palomino fino						
	Control	0,1 g/L	0,25 g/L	1 g/L	5 g/L	10 g/L	20 g/L
°Bé	10,03 ± 0,10 <sup>a,b</sup>	9,70 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,95 ± 0,04 <sup>a</sup>	10,00 ± 0,03 <sup>a</sup>	10,05 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	10,10 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	10,55 ± 0,03 <sup>b</sup>
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	1,070 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,070 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,070 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,070 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,071 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,071 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,073 ± 0,000 <sup>a</sup>
Azúcar (g/L)	165,17 ± 0,64 <sup>a</sup>	159,30 ± 0,37 <sup>a</sup>	163,70 ± 0,34 <sup>a</sup>	164,80 ± 0,25 <sup>a</sup>	164,80 ± 0,21 <sup>a</sup>	168,10 ± 0,18 <sup>a,b</sup>	175,67 ± 0,58 <sup>b</sup>
Acidez Total (g/L TH <sub>2</sub> )	7,09 ± 0,07 <sup>a,b,c</sup>	6,87 ± 0,12 <sup>a</sup>	6,97 ± 0,03 <sup>a,b</sup>	7,22 ± 0,07 <sup>a,b,c</sup>	7,24 ± 0,05 <sup>a,b,c</sup>	7,26 ± 0,05 <sup>b,c</sup>	7,46 ± 0,10 <sup>c</sup>
pH	3,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,18 ± 0,01 <sup>a</sup>
SO <sub>2</sub> libre	24 ± 1 <sup>a</sup>	23 ± 1 <sup>a</sup>	24 ± 1 <sup>a</sup>	24 ± 1 <sup>a</sup>	24 ± 1 <sup>a</sup>	24 ± 1 <sup>a</sup>	27 ± 1 <sup>b</sup>
SO <sub>2</sub> Total	70 ± 2 <sup>a</sup>	68 ± 1 <sup>a</sup>	70 ± 2 <sup>a</sup>	70 ± 2 <sup>a</sup>	70 ± 1 <sup>a</sup>	70 ± 3 <sup>a</sup>	74 ± 1 <sup>b</sup>
NFA (mg/L)	140 ± 1 <sup>a</sup>	144 ± 3 <sup>a,b,c</sup>	151 ± 0 <sup>b,c</sup>	154 ± 2 <sup>c</sup>	165 ± 4 <sup>d</sup>	184 ± 8 <sup>e</sup>	202 ± 8 <sup>f</sup>

Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ , two-way ANOVA y la prueba de rango múltiple (BSD) de Bonferroni). Acidez total expresada en ácido tartárico (TH<sub>2</sub>). (Control: mosto sin adición de polen)

Tabla 2. Variación de algunos parámetros físico-químicos del mosto de uva de Riesling con la adición de polen.

Parámetros	Dosis de polen en mosto de Riesling						
	Control	0,1 g/L	0,25 g/L	1 g/L	5 g/L	10 g/L	20 g/L
°Bé	11,07 ± 0,06 <sup>a</sup>	10,87 ± 0,06 <sup>a</sup>	11,02 ± 0,06 <sup>a</sup>	11,27 ± 0,06 <sup>a</sup>	11,27 ± 0,01 <sup>a</sup>	11,37 ± 0,06 <sup>a</sup>	11,62 ± 0,06 <sup>a</sup>
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	1,081 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,081 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,080 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,082 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,082 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,083 ± 0,000 <sup>a</sup>	1,084 ± 0,000 <sup>a</sup>
Azúcar (g/L)	189,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	189,70 ± 0,00 <sup>a</sup>	187,40 ± 0,00 <sup>a</sup>	191,80 ± 0,00 <sup>a,b</sup>	191,80 ± 0,00 <sup>a,b</sup>	195,13 ± 0,06 <sup>a,b</sup>	204,83 ± 0,06 <sup>b</sup>
Acidez Total (g/L TH <sub>2</sub> )	4,83 ± 0,24 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,26 <sup>a</sup>	4,91 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,89 ± 0,24 <sup>a</sup>	4,99 ± 0,23 <sup>a</sup>	4,81 ± 0,22 <sup>a</sup>	4,76 ± 0,21 <sup>a</sup>
pH	3,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,35 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,33 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,33 ± 0,01 <sup>a</sup>
SO <sub>2</sub> libre	17 ± 0 <sup>a</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>	18 ± 1 <sup>a</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>
SO <sub>2</sub> Total	60 ± 2 <sup>a</sup>	62 ± 1 <sup>a</sup>	61 ± 1 <sup>a</sup>	60 ± 1 <sup>a</sup>	61 ± 1 <sup>a</sup>	60 ± 2 <sup>a</sup>	61 ± 1 <sup>a</sup>
NFA (mg/L)	128 ± 0 <sup>a</sup>	132 ± 1 <sup>a,b</sup>	140 ± 1 <sup>b,c</sup>	146 ± 4 <sup>c,d</sup>	154 ± 2 <sup>d,e</sup>	160 ± 3 <sup>e,f</sup>	168 ± 3 <sup>f</sup>

Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ , two-way ANOVA y la prueba de rango múltiple (BSD) de Bonferroni). Acidez total expresada en ácido tartárico (TH<sub>2</sub>). (Control: mosto sin adición de polen)

### Influencia sobre la cinética fermentativa y las poblaciones de levaduras viables

Las Figuras 1a y 1b, muestran la evolución de la densidad relativa durante la fermentación alcohólica de los mostos de Palomino fino y Riesling, respectivamente. Al estudiar el efecto sobre la cinética fermentativa, se observa un comportamiento similar entre los mostos de ambas variedades. En el caso de Palomino fino, con dosis bajas (0,1 y 0,25 g/L) y Riesling con las dosis bajas e intermedia (0,1; 0,25 y 1 g/L) eran muy similares a sus controles. Sin embargo, a partir de la dosis de 1 g/L de polen en el caso de Palomino fino y de 5 g/L para Riesling, la velocidad exponencial de crecimiento de la fermentación alcohólica aumentó de forma significativa y proporcional con la dosis de polen empleadas.

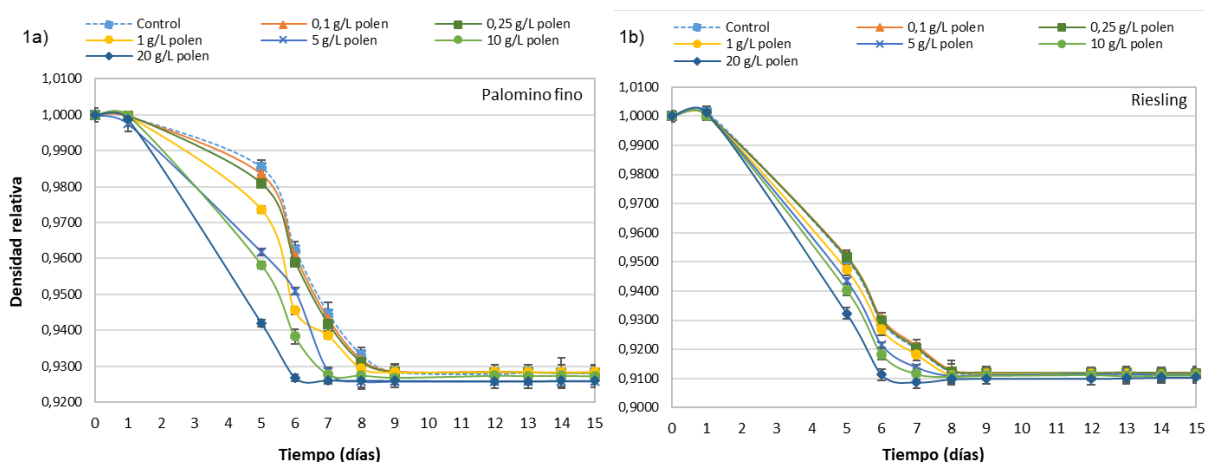


Figura 1: Evolución de la densidad relativa en los mostos de uva de Palomino fino (a) y de Riesling (b) durante la fermentación alcohólica con la adición de diferentes dosis de polen de abeja.

En cuanto al desarrollo de las poblaciones de levaduras viables durante la fermentación (Figuras 2a y 2b), durante la fase exponencial de crecimiento, se alcanzaron poblaciones máximas de levaduras significativamente más elevadas que en los controles, presentando los mayores incrementos, los mostos con dosis altas de polen (5, 10 y 20 g/L). En ambos casos, las poblaciones máximas se obtuvieron antes que en el control. Además, durante la fase de muerte, al final de la fermentación alcohólica, las poblaciones de levaduras permanecieron significativamente más altas para todas las dosis de polen con respecto a los controles, especialmente a dosis altas. Este comportamiento, podría ser debido a que el polen estuviera aportando sustancias que mejoraran la supervivencia de las levaduras al final de la fermentación alcohólica, cuando el contenido en azúcar era muy bajo y el contenido en alcohol elevado.

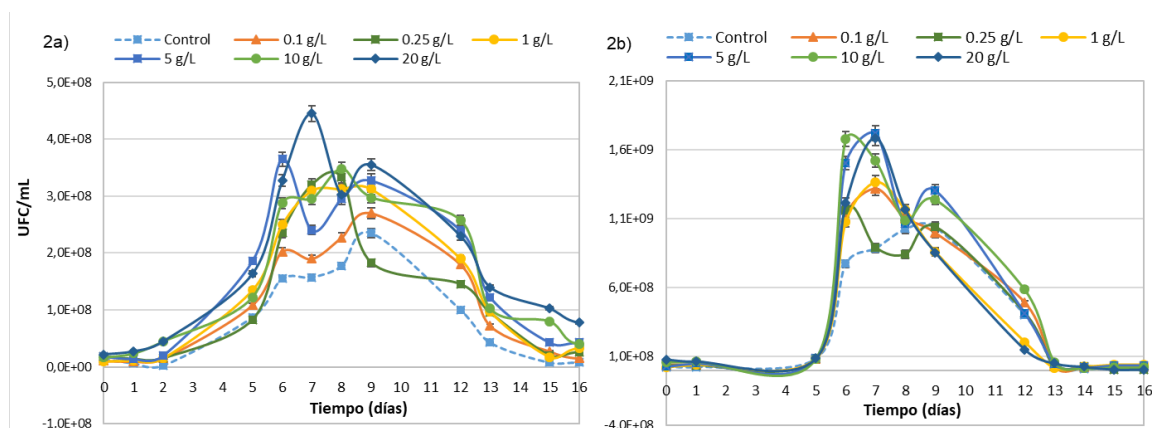


Figura 2: Evolución de la biomasa viable de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica de mostos de Palomino fino (a) y Riesling (b) con diferentes dosis de polen de abeja, respecto a un control (sin aplicación de polen).

Este fenómeno es de gran interés desde el punto de vista enológico, dada las dificultades que tienen a veces los mostos para terminar la fermentación. En ese sentido, el polen podría estar favoreciendo tanto el crecimiento y desarrollo de las levaduras durante la fase exponencial, como la supervivencia de las levaduras en la fase de muerte al final de la fermentación.

### Influencia sobre la evolución del NFA durante la fermentación alcohólica

Al estudiar la evolución del contenido en NFA durante la fermentación alcohólica, en ambas elaboraciones con Palomino fino y Riesling, se observó una disminución acusada durante los primeros 6 días, coincidiendo con el aumento de las poblaciones de levaduras. Sin embargo, las pendientes de consumo eran muy similares, tanto en el control como con las diferentes dosis de polen empleadas. Esto podría indicar que el polen puede estar aportando NFA además de otras sustancias activadoras del crecimiento de las levaduras. A partir del sexto día, para ambas variedades, el uso de polen produjo un aumento significativo del contenido en NFA, con respecto al control, debido a la autólisis de las levaduras. Por lo tanto, el polen puede ser una buena reserva de nitrógeno fácilmente asimilable para la fermentación alcohólica.

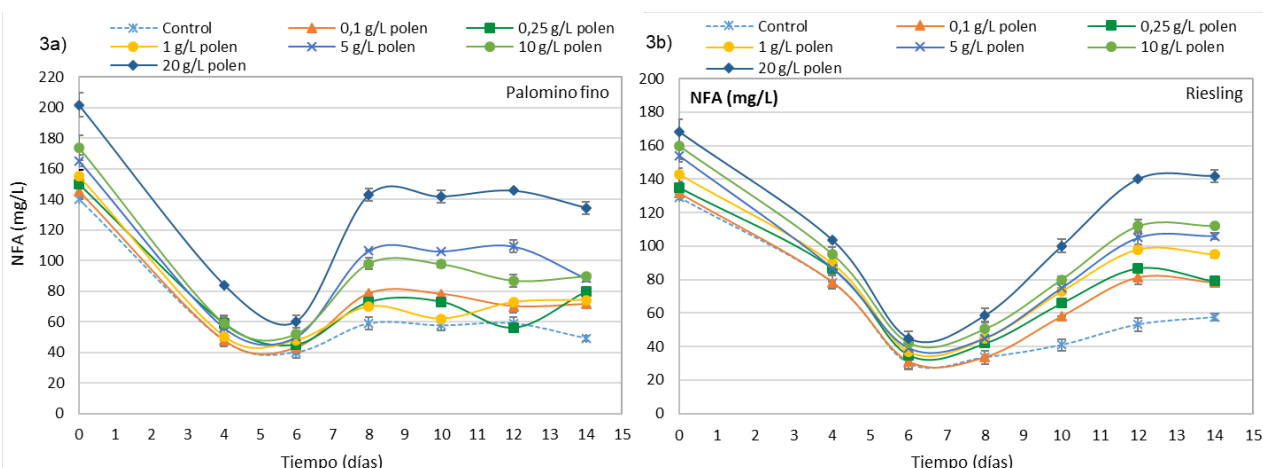


Figura 3: Evolución del nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) por las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* durante el proceso de fermentación alcohólica de los mostos de uva Palomino fino (a) y Riesling (b) con diferentes dosis de polen de abeja frente a un control (sin aplicación de polen).

### Efectos sobre la composición final de los vinos

Cuando se analizaron los vinos finales, desde el punto de vista enológico no se observaron alteraciones significativas en las muestras, salvo un ligero aumento en la acidez volátil con las dosis altas de polen (10 y 20 g/L), aunque considerado dentro del rango de valores normales para vinos blancos (Tablas 3 y 4).

Los únicos parámetros en los que se observó un incremento significativo a dosis altas de polen, fue en los parámetros  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  de las Coordenadas CIELab, así como en la Intensidad de Color (IC) (Tablas 3 y 4). Este efecto, probablemente se produjo porque el polen puede estar aportando polifenoles además de otros pigmentos como carotenoides. Esto provocó un desplazando de los vinos con dosis altas de polen (5, 10 y 20 g/L), hacia tonalidades naranja intenso y oscuro, mientras que los vinos con las dosis bajas y los vinos control se mantuvieron en las tonalidades amarillas, típicas de vinos blancos jóvenes.

Tabla 3. Variación del color CIELab ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ), Intensidad Colorante (IC) y absorbancia a 420 nm de los vinos de Palomino fino con la adición de diferentes dosis de polen.

Parámetros	Dosis de polen en mosto de Palomino fino						
	Control	0,1 g/L	0,25 g/L	1 g/L	5 g/L	10 g/L	20 g/L
% Alcohol v/v	9,81 ± 0,03 <sup>a</sup>	9,78 ± 0,01 <sup>a</sup>	9,72 ± 0,01 <sup>a</sup>	9,73 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,52 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,91 ± 0,02 <sup>a</sup>	10,08 ± 0,02 <sup>a</sup>
pH	2,99 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,04 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,00 <sup>a</sup>
Acidez total (g/L)	6,24 ± 0,16 <sup>a</sup>	6,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,27 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,44 ± 0,02 <sup>a</sup>	6,21 ± 0,00 <sup>a</sup>	5,97 ± 0,00 <sup>a</sup>
Acidez volátil (g/L)	0,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,00 <sup>c</sup>
Glucosa (g/L)	0,214 ± 0,016 <sup>a</sup>	0,187 ± 0,017 <sup>b</sup>	0,190 ± 0,020 <sup>b</sup>	0,170 ± 0,020 <sup>c</sup>	0,110 ± 0,000 <sup>d</sup>	0,110 ± 0,000 <sup>d</sup>	0,130 ± 0,000 <sup>e</sup>
Fructosa (g/L)	0,468 ± 0,019 <sup>a</sup>	0,194 ± 0,007 <sup>b</sup>	0,190 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,380 ± 0,040 <sup>c</sup>	0,420 ± 0,000 <sup>d</sup>	0,370 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,150 ± 0,010 <sup>e</sup>
L*	98,97 ± 0,04 <sup>a</sup>	98,85 ± 0,16 <sup>a</sup>	98,79 ± 0,07 <sup>a</sup>	98,63 ± 0,10 <sup>a</sup>	98,51 ± 0,08 <sup>a</sup>	98,47 ± 0,06 <sup>a</sup>	97,84 ± 0,05 <sup>a</sup>
$a^*$	1,02 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,06 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,02 <sup>a,b</sup>	1,16 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,01 <sup>c,d</sup>	1,35 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,65 ± 0,02 <sup>e</sup>
$b^*$	5,92 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,05 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,17 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,86 ± 0,05 <sup>b</sup>	7,50 ± 0,07 <sup>c,d</sup>	7,83 ± 0,01 <sup>d</sup>	10,09 ± 0,01 <sup>e</sup>
H*	99,71 ± 0,32 <sup>a</sup>	99,92 ± 0,40 <sup>a</sup>	99,57 ± 0,15 <sup>a</sup>	99,55 ± 0,25 <sup>a</sup>	99,64 ± 0,04 <sup>a</sup>	99,81 ± 0,12 <sup>a</sup>	99,28 ± 0,08 <sup>a</sup>
$C^*$	6,01 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,14 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,47 ± 0,03 <sup>a,b</sup>	6,96 ± 0,05 <sup>b</sup>	7,61 ± 0,07 <sup>c,d</sup>	7,95 ± 0,01 <sup>d</sup>	10,22 ± 0,02 <sup>e</sup>
Intensidad de color	0,11 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,21 ± 0,00 <sup>e</sup>
Abs. 420	0,09 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>a,b</sup>	0,11 ± 0,00 <sup>b,c</sup>	0,12 ± 0,00 <sup>c,d</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>e</sup>

Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ , two-way ANOVA y la prueba de rango múltiple (BSD) de Bonferroni). Acidez total expresada en ácido tartárico ( $TH_2$ ). (Control: mosto sin adición de polen)

Tabla 4. Variación del color CIELab (a\*, b\*, C\*), Intensidad Colorante (IC) y absorbancia a 420 nm de los vinos de Riesling con la adición de diferentes dosis de polen.

Parámetros	Dosis de polen en mosto de Riesling							
	Control	0,1 g/L	0,25 g/L	1 g/L	5 g/L	10 g/L	20 g/L	
% Alcohol v/v	12,47 ± 0,15 <sup>a</sup>	12,67 ± 0,05 <sup>a</sup>	12,67 ± 0,05 <sup>a</sup>	12,63 ± 0,05 <sup>a</sup>	12,57 ± 0,05 <sup>a</sup>	12,70 ± 0,10 <sup>a</sup>	12,77 ± 0,05 <sup>a</sup>	
pH	3,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,38 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,43 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,47 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,57 ± 0,02 <sup>a</sup>	
Acidez total (g/L)	3,98 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,94 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,06 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,04 ± 0,08 <sup>a</sup>	4,09 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	
Acidez volátil (g/L)	0,25 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>e</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>f</sup>	
Glucosa (g/L)	0,028 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,194 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,207 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,228 ± 0,002 <sup>d</sup>	0,227 ± 0,000 <sup>d</sup>	0,246 ± 0,002 <sup>d</sup>	0,251 ± 0,002 <sup>d</sup>	
Fructosa (g/L)	0,083 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,436 ± 0,005 <sup>b,c</sup>	0,432 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,395 ± 0,002 <sup>d</sup>	0,264 ± 0,002 <sup>e</sup>	0,259 ± 0,000 <sup>e</sup>	0,252 ± 0,024 <sup>e</sup>	
L*	98,98 ± 0,02 <sup>a</sup>	99,16 ± 0,01 <sup>a</sup>	99,19 ± 0,03 <sup>a</sup>	99,16 ± 0,03 <sup>a</sup>	98,69 ± 0,07 <sup>a</sup>	97,49 ± 0,01 <sup>a</sup>	97,52 ± 0,04 <sup>a</sup>	
a*	0,59 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,54 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,91 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,26 ± 0,01 <sup>d</sup>	2,03 ± 0,01 <sup>e</sup>	
b*	4,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,20 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,95 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,54 ± 0,05 <sup>c</sup>	8,58 ± 0,02 <sup>d</sup>	12,74 ± 0,02 <sup>e</sup>	
H*	97,44 ± 0,29 <sup>a</sup>	97,25 ± 0,25 <sup>a</sup>	97,7 ± 0,36 <sup>a</sup>	97,81 ± 0,26 <sup>a</sup>	97,9 ± 0,16 <sup>a</sup>	98,4 ± 0,08 <sup>a</sup>	99,1 ± 0,08 <sup>a</sup>	
C*	4,53 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,24 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,61 ± 0,05 <sup>b</sup>	8,58 ± 0,02 <sup>c</sup>	12,9 ± 0,02 <sup>d</sup>	
Intensidad de color	0,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>e</sup>	
Abs. 420	0,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>b,c</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>d,e</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>e</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>f</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>g</sup>	

Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ , two-way ANOVA y la prueba de rango múltiple (BSD) de Bonferroni). Acidez total expresada en ácido tartárico ( $TH_2$ ). (Control: mosto sin adición de polen)

## Conclusiones

En primer lugar, este trabajo de investigación demostró que el polen de abeja es una fuente directa y de reserva de nitrógeno fácilmente asimilable, que puede servir para enriquecer los mostos de uva blanca, antes y durante la fermentación alcohólica. En segundo lugar, se comprobó como la adición de polen de abeja, consigue disminuir los tiempos de latencia, aumentando la velocidad de crecimiento, así como las poblaciones máximas de levaduras alcanzadas y la supervivencia de éstas en la fase final de la fermentación alcohólica. En tercer lugar, se observó como el polen de abeja, a dosis bajas, no produce alteraciones en la composición físico-química ni en los parámetros de color de los vinos blancos. Por todo ello, los resultados de este trabajo ponen de manifiesto la posibilidad del uso del polen de abeja como una herramienta enológica capaz de aportar nutrientes y otros elementos capaces de mejorar el desarrollo y la terminación de la fermentación alcohólica en la elaboración de vinos blancos.

## Referencias

- Aerny, J. Composés azotés des moûts et des vins. Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic, 1997, 28: 161–168.
- Albers, E.; Larsson, C.; Lidén, G.; Niklasson, C.; Gustafsson, L. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae* anaerobic growth and product formation. Appl. Environ. Microbiol. 1996, 62: 3187–3195.
- Almeida-Muradian, L.B.; Pamplona, L.C.; Coimbra, S.; Barth, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. J. Food Compos. Anal. 2005, 18: 105–111.
- Amores-Arrocha, A.; Sancho-Galán, P.; Jiménez-Cantizano, A.; Palacios, V. (2020). Bee Pollen as Oenological Tool to Carry out Red Winemaking in Warm Climate Conditions. Agronomy, 10(5), 634.
- Bataillon, M.; Rico, A.; Sablayrolles, J.M.; Salmon, J.M.; Barre, P. Early thiamin assimilation by yeasts under enological conditions: Impact on alcoholic fermentation kinetics. J. Ferment. Bioeng. 1996, 82: 145–150.
- Bell, S.-J.; Henschke, P. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. Aust. J. Grape Wine Res. 2005, 11: 242–295.
- Bely, M.; Sablayrolles, J.M.; Barre, P. Description of alcoholic fermentation kinetics: Its variability and significance. Am. J. Enol. Vitic. 1990, 41: 319–324.

- Briche, E.; Beltrando, G.; Somot, S.; Quenol, H. Critical analysis of simulated daily temperature data from the ARPEGE-climate model: Application to climate change in the Champagne wine-producing region. *Clim. Chang.* 2014, 123: 241–254.
- Campos, M.G.R.; Bogdanov, S.; de Almeida-Muradian, L.B.; Szczesna, T.; Mancebo, Y.; Frigerio, C.; Ferreira, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J. Apic. Res.* 2008, 47: 154–161.
- Fleet, G.H. *Wine Microbiology and Biotechnology*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1993; ISBN 0415278503.
- Gutiérrez, A.; Chiva, R.; Sancho, M.; Beltran, G.; Arroyo-López, F.N.; Guillamon, J.M. Nitrogen requirements of commercial wine yeast strains during fermentation of a synthetic grape must. *Food Microbiol.* 2012, 31: 25–32.
- Human, H.; Nicolson, S.W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (*Asphodelaceae*). *Phytochemistry* 2006, 67: 1486–1492.
- OIV. Office International de la Vigne et du Vin. Recl. Des. Méthodes Int. D'analyse Des. Vins Des. Moûts Édition Officiel. 2014, 1: 1–16.
- Ough, C.; Davenport, M.; Joseph, K. Effects of Certain Vitamins on Growth and Fermentation Rate of Several Commercial Active Dry Wine Yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 1989, 40: 208–213.
- Paramás, A.M.G.; Báñez, J.A.G.; Marcos, C.C.; García-Villanova, R.J.; Sánchez, J.S. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chem.* 2006, 95: 148–156.
- Reboredo-Rodríguez, P.; González-Barreiro, C.; Rial-Otero, R.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. Effects of Sugar Concentration Processes in Grapes and Wine Aging on Aroma Compounds of Sweet Wines—A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2015, 55: 1051–1071.
- Roldán, A.; Van Muiswinkel, G.C.J.; Lasanta, C.; Palacios, V.; Caro, I. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. *Food Chem.* 2011, 126, 574–582.
- Sacchelli, S.; Fabbrizzi, S.; Menghini, S. Climate change effects and adaptation strategies in the wine sector: A quantitative literature review. *Wine Econ. Policy* 2016, 5: 114–126.
- Webb, L.B.; Whetton, P.H.; Barlow, E.W.R. Modelled impact of future climate change on the phenology of wine grapes in Australia. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2007, 13: 165–175.
- Xu, X.; Sun, L.; Dong, J.; Zhang, H. Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with supercritical carbon dioxide. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2009, 10: 42–46.