

ADICIONES EN EL DEPÓSITO. INOCULACIÓN DE LEVADURAS



IES Duques de Nájera

Objetivos en la FOH

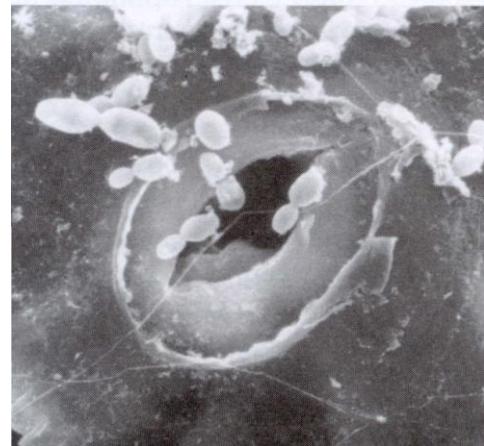


- ⌘ Asegurar fermentación completa y rápida de los azúcares
- ⌘ Evitar la producción de compuestos indeseables: acidez volátil, compuestos azufrados
- ⌘ Favorecer la formación, extracción y estabilización de compuestos deseables

Agentes de la FOH

⌘ Levaduras Espontáneas

- ─ En la uva
- ─ En el material de transporte
- ─ En el material de bodega



⌘ Levaduras Secas Activas

Inoculación de L.S.A.



A FAVOR

- Seguridad y Rapidez
- Elección Levadura
- Economía Instalaciones

EN CONTRA

- Pérdida Tipicidad
- Pérdida Complejidad
- Coste Producto

Desventajas



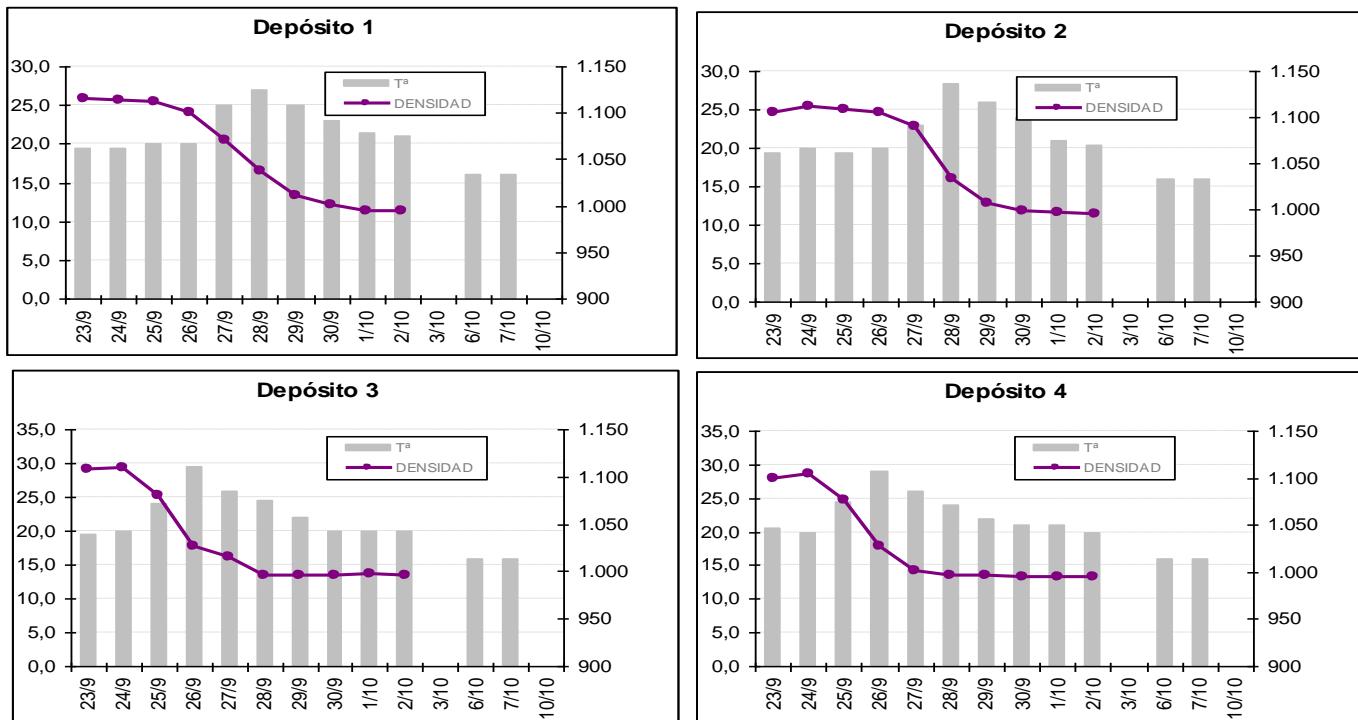
Pérdida de Tipicidad

- ▣ Mercado en manos de empresas multinacionales
- ▣ Uso de levaduras iguales en zonas distintas.
- ▣ Levadura inoculada permanece en la bodega, modificando su ecosistema microbiológico.

Pérdida de Complejidad

- ▣ Una sola especie de levadura
- ▣ Un solo clon
- ▣ En FOH espontánea participan muchas levaduras

Seguridad y Rapidez en FOH

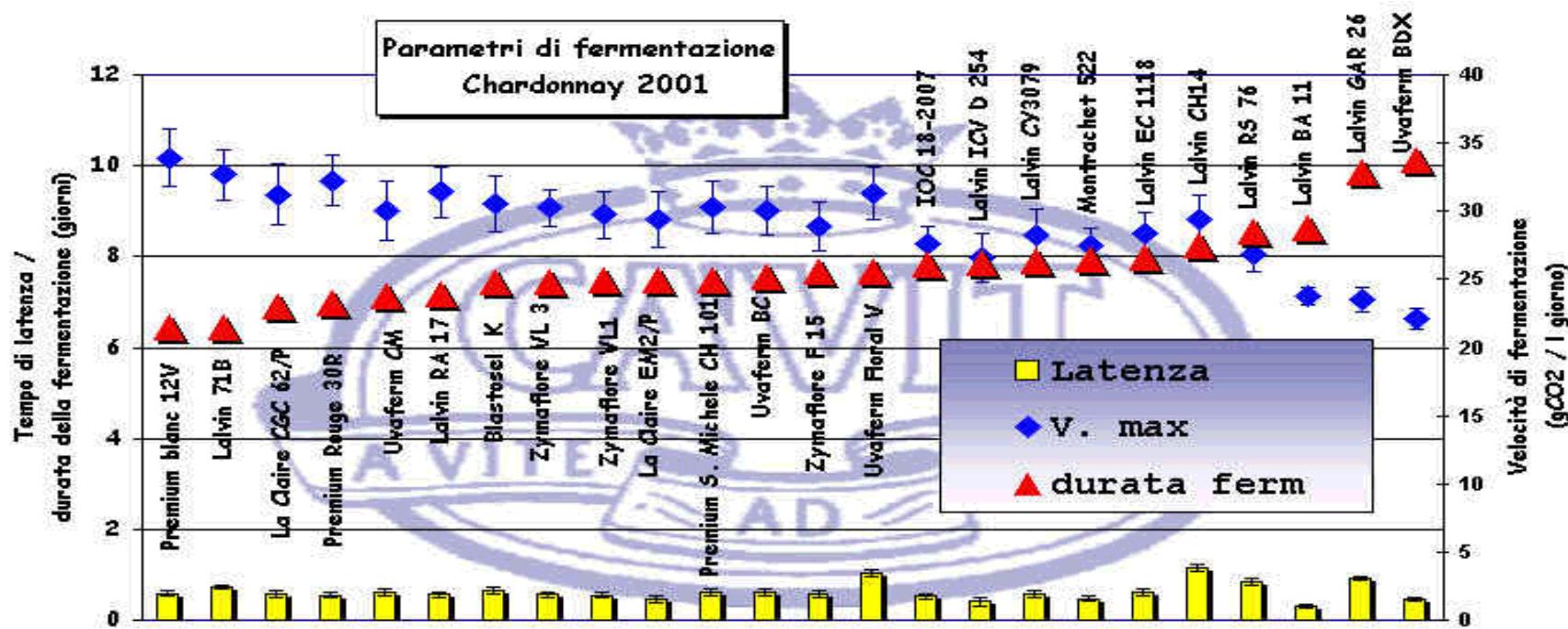


Tempranillo Rioja Media, campaña 2003

- **Depósito 1 : Inoculación L.S.A. Uvaferm BC 25 g/Hl, día 3**
- **Depósito 2 : Levaduras Indígenas**
- **Depósitos 3 y 4 : Inoculación L.S.A. Uvaferm BC 25 g/Hl, encubado**

Seguridad y Rapidez en FOH

Fase de Latencia, Velocidad y Duración de FOH

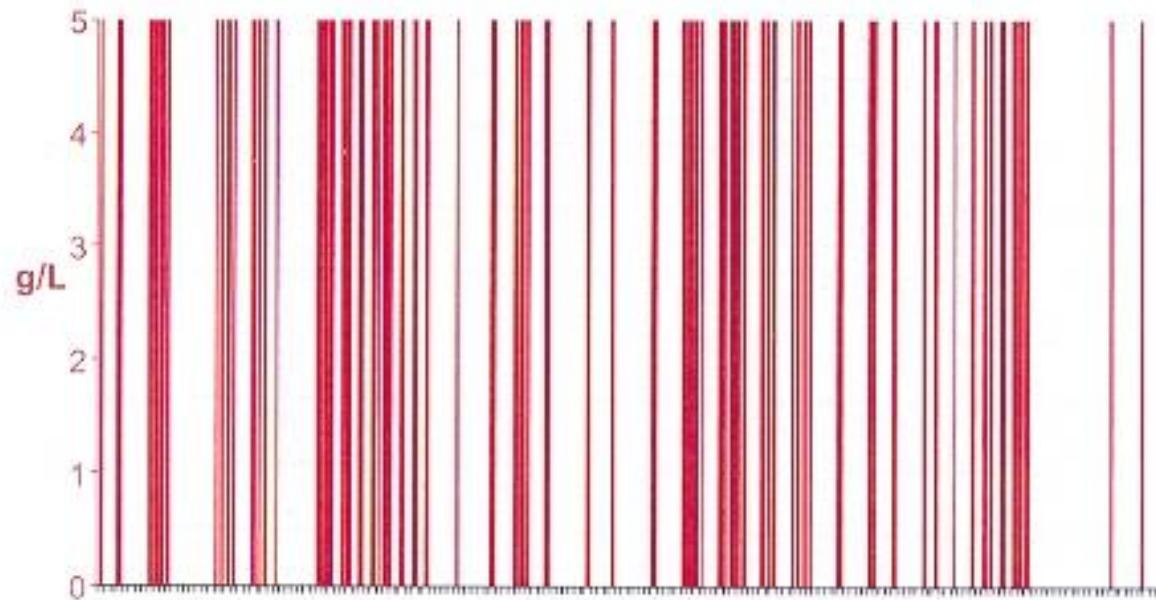


Seguridad y Rapidez en FOH

Azúcares Residuales

Figura n°4a. Población de levaduras indígenas de las bodegas mediterráneas: sus potencialidades enológicas

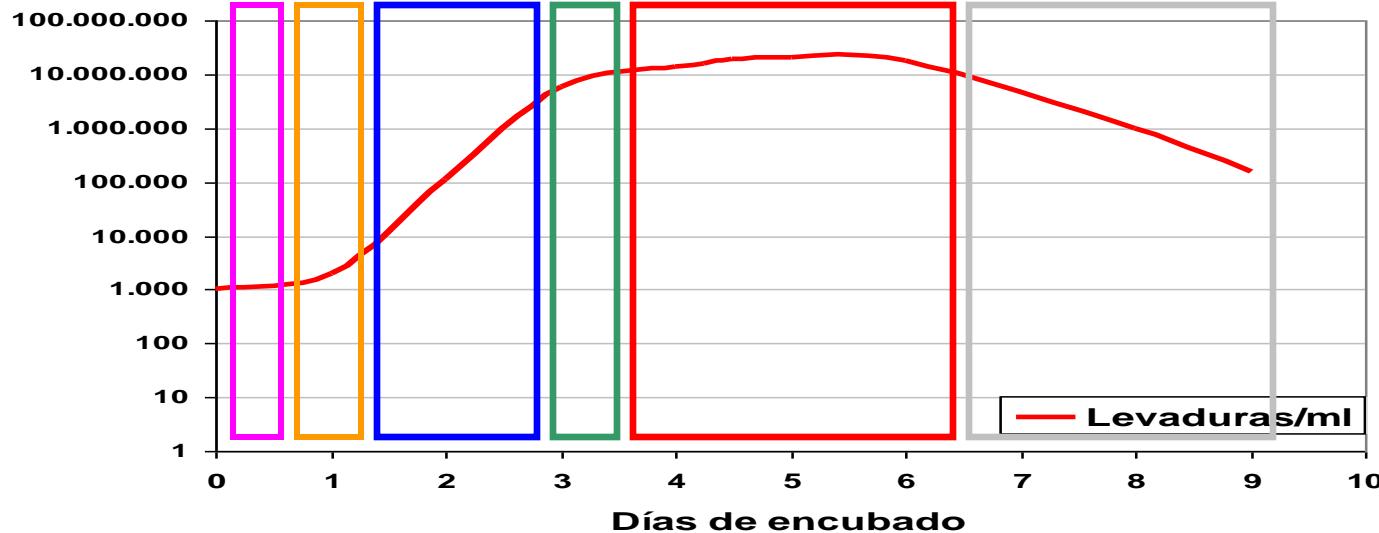
Azúcares residuales dejados por 178 cepas diferentes en el mismo jugo



Ciclo de Crecimiento



Ciclo de Crecimiento de Levaduras



- **LATENCIA:** Adaptación de las levaduras al medio
- **ACELERACIÓN:** Comienzo de multiplicación celular
- **CRECIMIENTO EXPONENCIAL:** Desprendimiento de CO₂ visible
- **RALENTIZACIÓN DEL CRECIMIENTO:** Factores limitantes, crecimiento lento
- **ESTACIONARIA:** Población estable, activa
- **DECLIVE:** Pocas levaduras tienen que acabar con restos de azúcar

Efecto de inoculación en levaduras no *Saccharomyces*

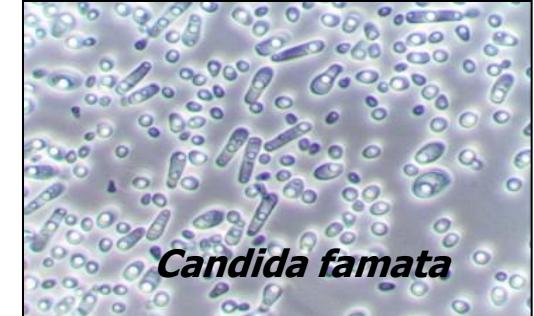


Levaduras Espontáneas

Kloeckera apiculata y *Hanseniospora uvarum*:

- Dominantes en las uvas del viñedo.
- Poblaciones $> 10^6$ ufc/ml en los primeros días de fermentación.

Otras: *Candida*, *Pichia*, *Hansenula*



Origen de Levaduras Espontáneas

Figura nº1. Dinámica de las poblaciones de levaduras indígenas en las uvas mediterráneas, en el viñedo.

Cosecha: 1984. Prensado estéril de las uvas. Observación microscópica luego de 4 días de incubación a 28°C

VIÑEDO

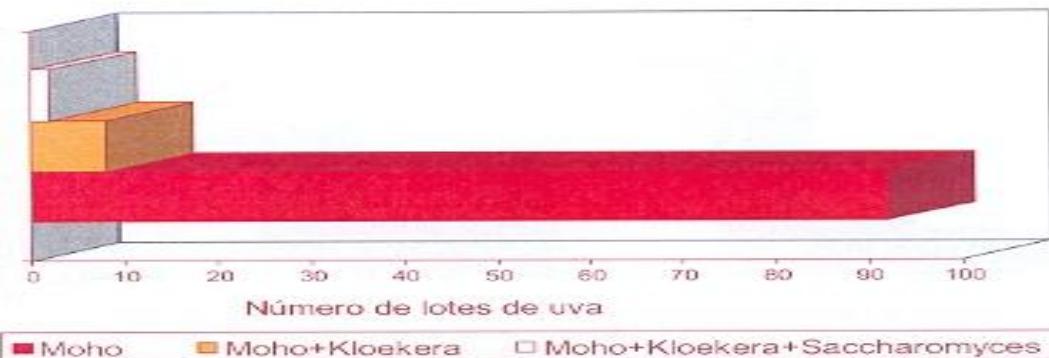
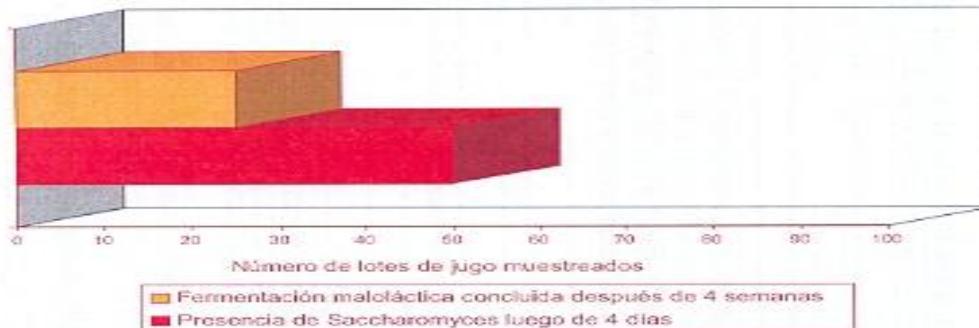


Figura nº2. Dinámica de las poblaciones de levaduras indígenas en las uvas mediterráneas que llegan a la bodega

Cosecha: 1984. Prensado estéril de las uvas. Observaciones microscópicas luego de 4 días de incubación 28°C y de 4 semanas a 28°C.

MATERIAL TRANSPORTE



Levaduras “Apiculadas”

- **OXIDATIVAS**

- **ALTA PRODUCCIÓN DE ACIDEZ VOLÁTIL**

- **RENDIMIENTO ALCOHÓLICO 4-5 % Vol**

- **CAPTAN RÁPIDO NUTRIENTES**



dificultan implantación
de *S. cerevisiae*

- **SENSIBLES A:**

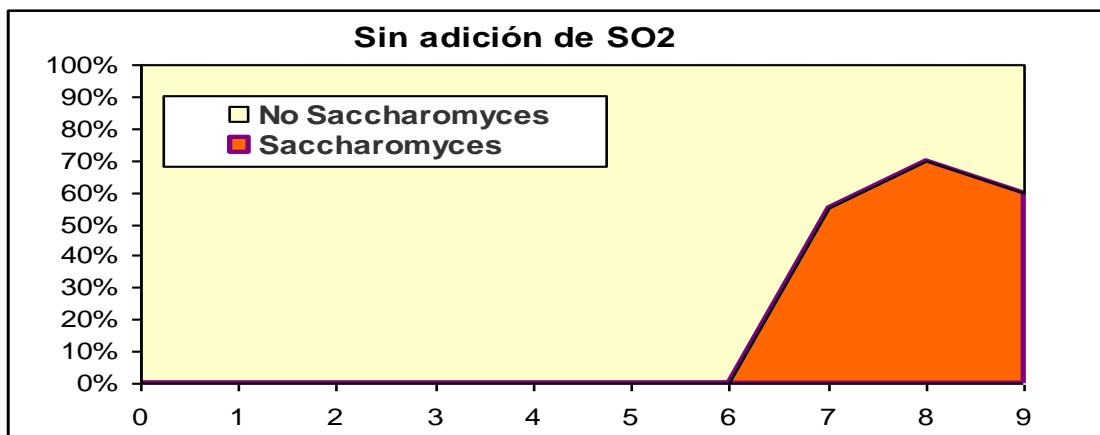
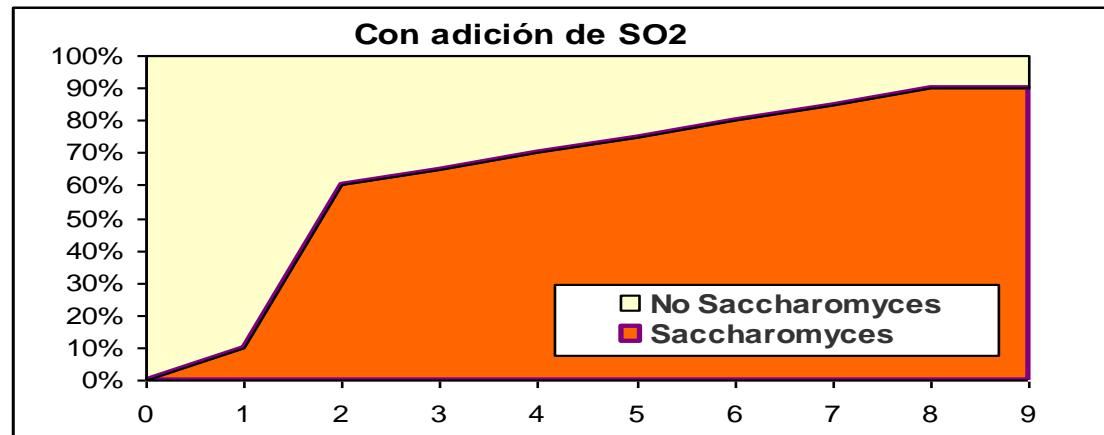
- **SO₂**

- **ANAEROBIOISIS (AUSENCIA DE O₂)**

- **ETANOL**

- **ALTAS TEMPERATURAS (> 25 °C)**

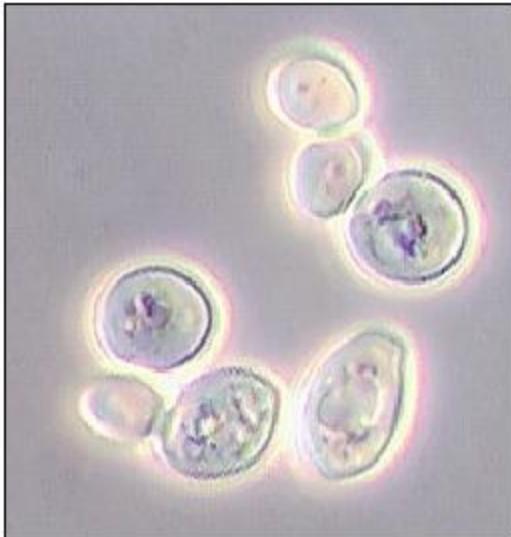
Efecto del SO₂ en las levaduras



**Dinámica de Poblaciones en
fermentación de Garnacha según
adicción de sulfuroso.**

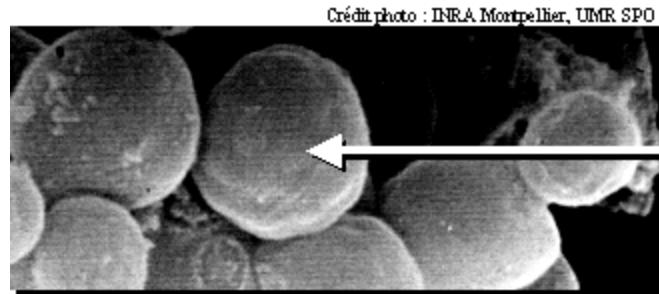
Albert Mas, SEVI, Núm 2.750, 24-4-99

Saccharomyces cerevisiae

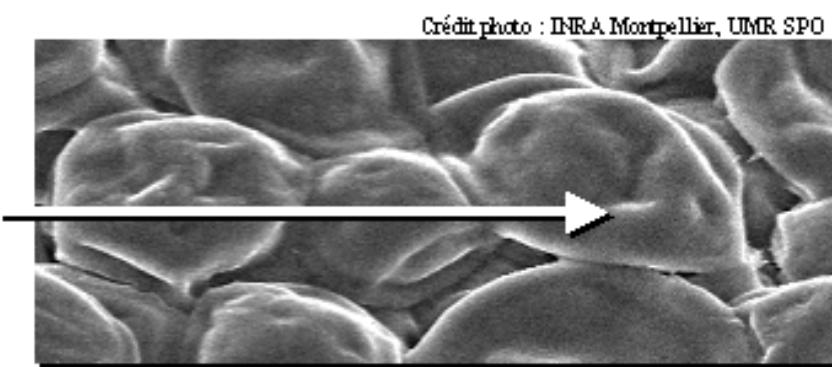


Saccharomyces cerevisiae

Bastante variables en su morfología celular y colonial. Generalmente esféricas, de gemación multilateral. Algunas cepas presentan marcas o cicatrices.



Levures vivantes en bon état physiologique : les cellules sont turgescents avec un aspect de surface lisse



Levures mortes après un stress violent : les cellules ont perdu leur contenu et ont un aspect ridé

Levaduras Contaminantes



- Fermenta azúcares residuales
- Adaptada a condiciones adversas
 - alcohol
 - pH ácido
 - falta de O₂
- ⑩ Crecimiento lento
- ⑩ Metabolismo complejo
- ⑩ Desarrollo Impredecible

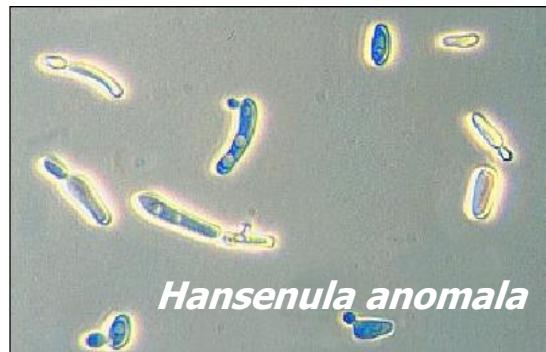
ALTERACIÓN DEL VINO

- Ácido acético y acetato de etilo
- Polifenoles -> Fenoles Volátiles: Medicina, Cuero, Animal, Cuadra
- Metabolismo de Lisina : Gusto a Ratón
- ¿ Complejidad?
- **Control: HIGIENE y SO₂**

Levaduras Contaminantes

LEVADURAS FORMADORAS DE VELO. "FLORES DEL VINO"

- **Velo blanquecino en la superficie del vino**
 - SO₂ Bajo
 - Presencia de Aire
 - Falta de Higiene
- **Etanol -> ácido acético -> acetato de etilo**
- **Control: Mantener Depósito Lleno, SO₂, Retirarlas**



Hansenula anomala

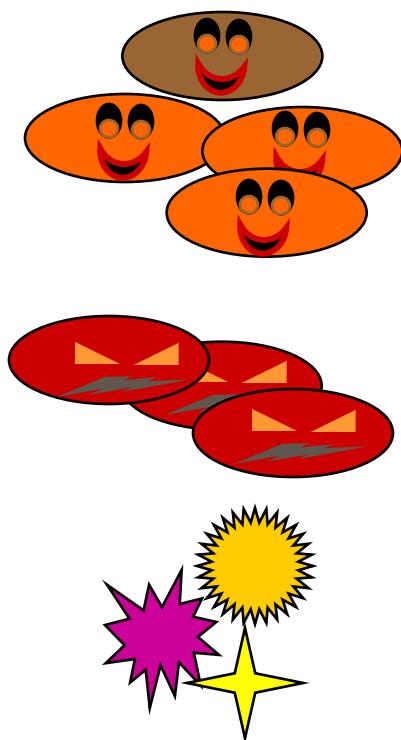


Pichia membranefaciens

Elección de Levaduras



¿Todas las levaduras son iguales?



Buenas cepas *Saccharomyces*



Cepas malas *Saccharomyces*



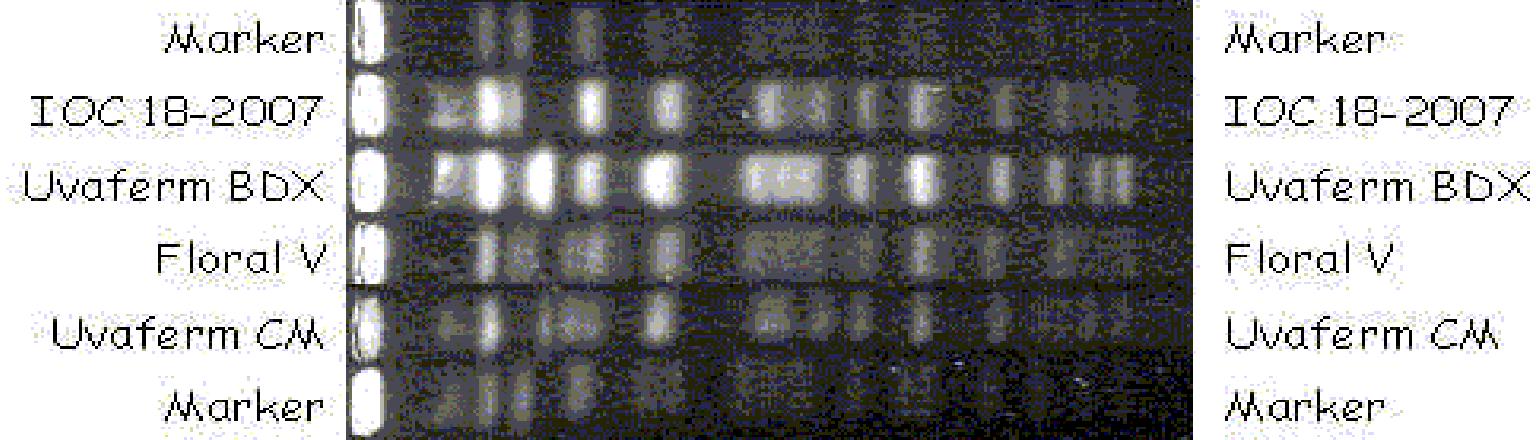
Cepas no *Saccharomyces*

- ~~Producción controlada y
rápida de AV y H₂S~~
- ~~■ Posibilidad de controlar los
niveles de producción de ésteres
y alcoholes superiores~~
 - ~~■ Revelación de aromas varietales~~
 - ~~■ Enzimas de maceración~~
 - ~~■ Pectosacáridos~~
 - ~~■ Manoproteínas~~
 - ~~...~~

Análisis de ADN



ISTITUTO AGRARIO
DI SAN MICHELE ALL'ADIGE

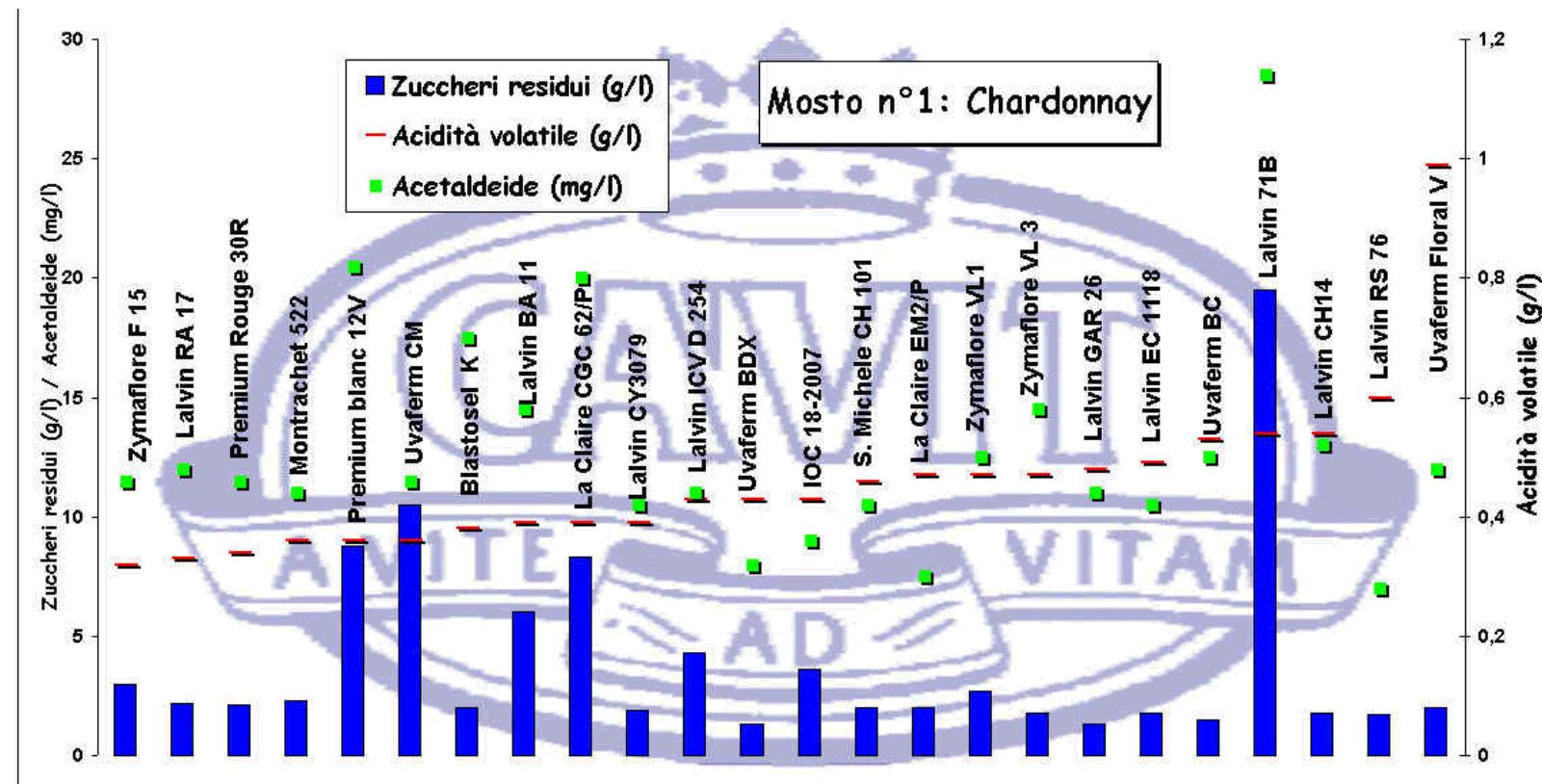


Producción de Sulfuroso

Figura nº4b. Población de levaduras indígenas de las bodegas mediterráneas: sus potencialidades enológicas



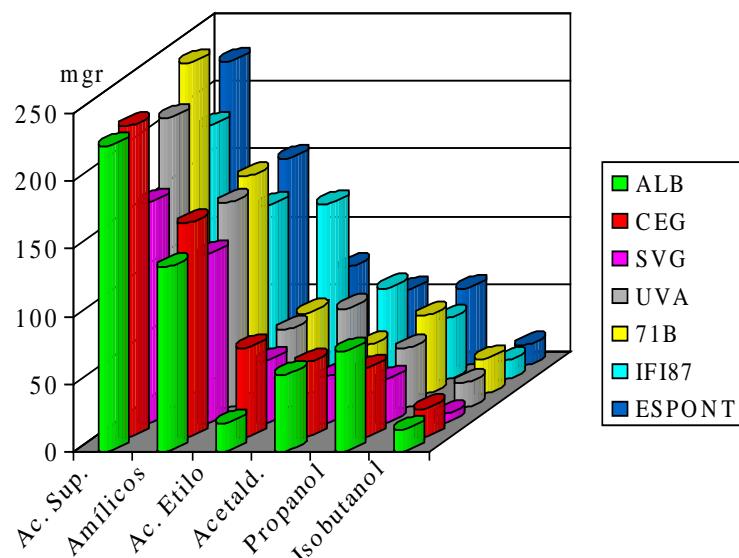
Azúcares Residuales, Acidez Volátil



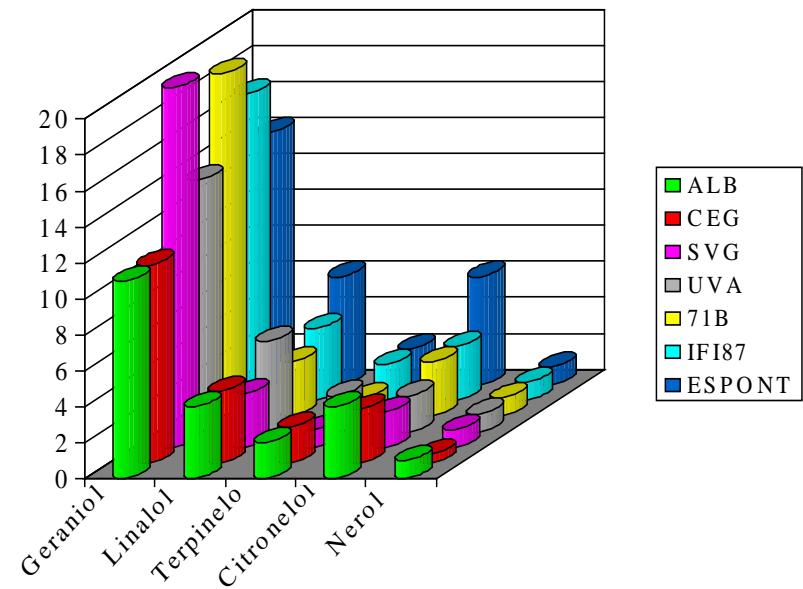
¿Todas las levaduras son iguales?

Producción de Aromas

De fermentación



Varietales



Impacto de levaduras en Terpenos

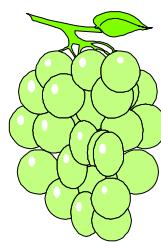
Glucósidos de terpenos → Monoglucósidos de terpenoles → Terpenos libres

α -rhamnosidasas
 α -arabinosidasa
 α -apiosidasa

β -glucósidasas

Günata et al., RFOe, 1990, nº122, 37-41

Dubourdieu et al., CR Acad.Sci., 1988, no306, 489-493



Acción de β -glucosidasas
 α -arabinosidasa

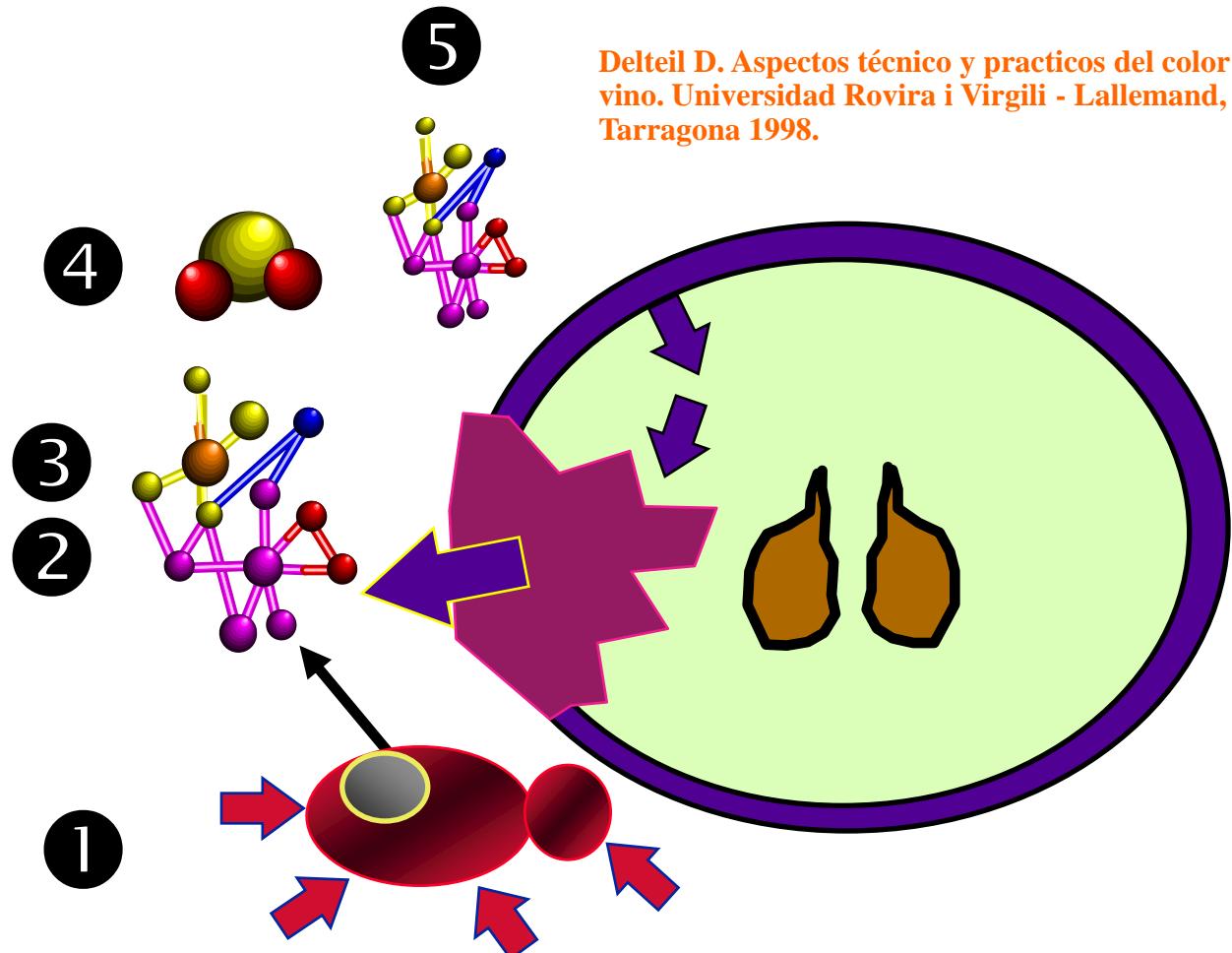
Terpenos ligados sin olor

Terpenos libres aromáticos

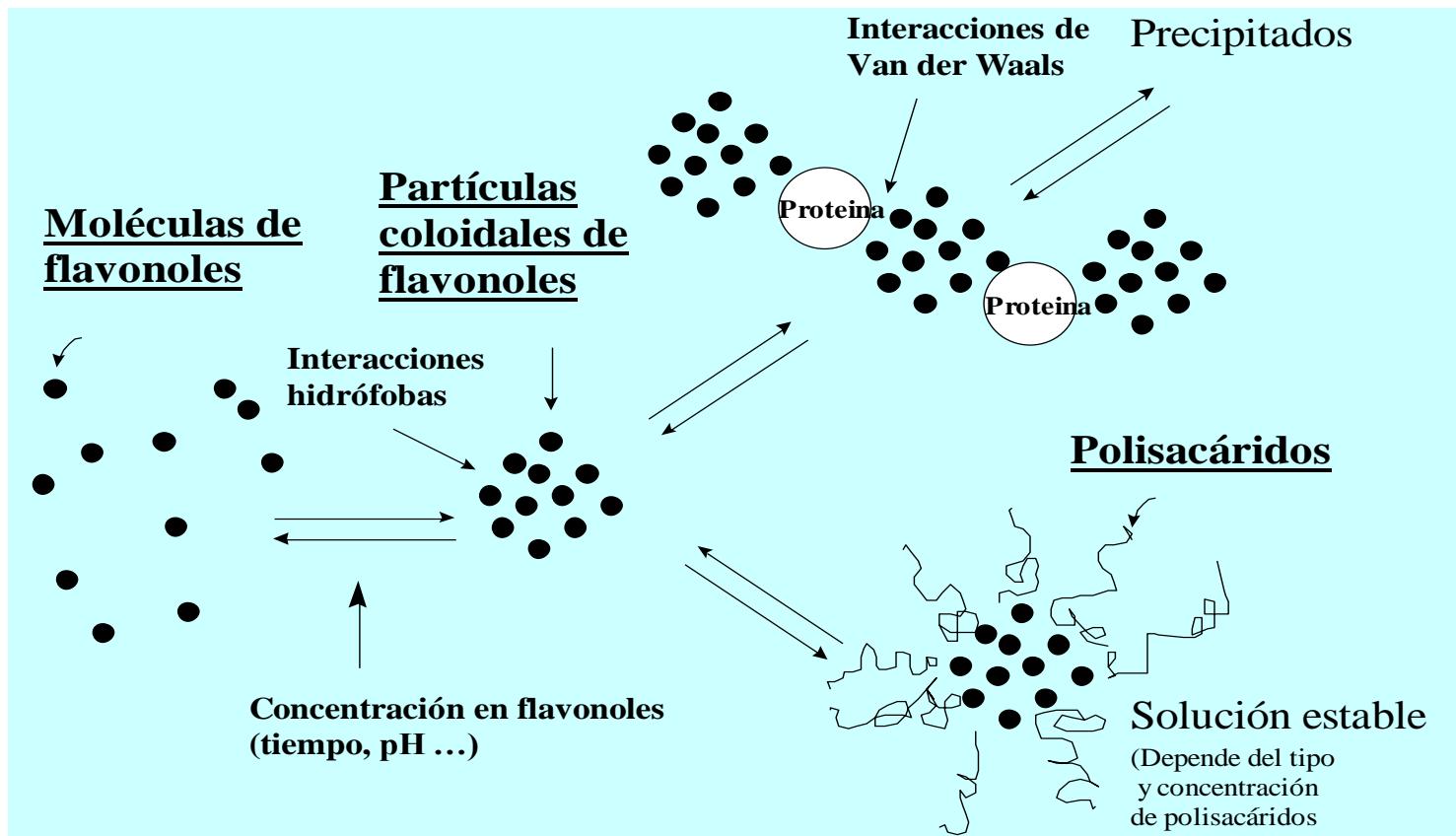
Efectos en la maceración

Los 5 principales criterios de elección de una cepa de levadura para los vinos tintos de alta calidad:

- 1 : no adsorción del color por las paredes celulares.
- 2 : producir un nivel elevado de manoproteínas durante la fermentación.
- 3 : liberar un nivel elevado de manoproteínas durante la autolisis post-fermentativa.
- 4 : no producir compuestos azufrados: H₂S, tioles, etc.
- 5 : no expresar actividad β-glicosidasa.

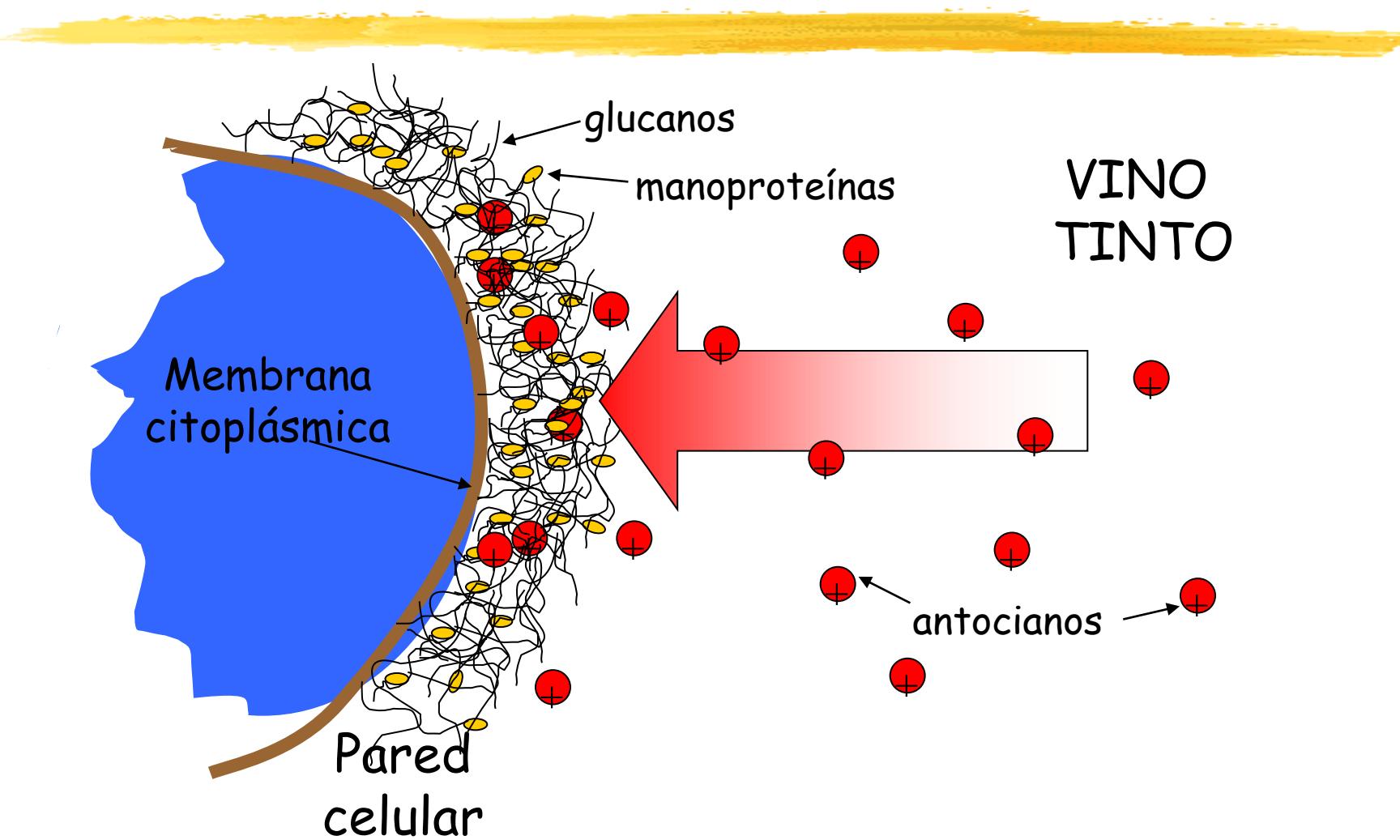


Incremento de la redondez y la estabilidad de color



(Saucier et al, 1996).

Adsorción de antocianos



Efectos sobre el color



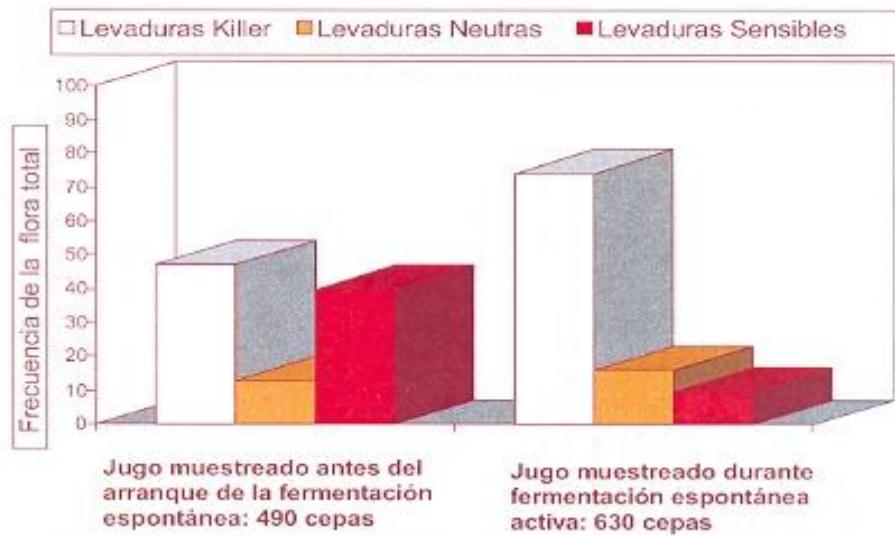
Elección de levaduras

Cepas aconsejadas según aplicaciones y características principales.

CEPA	VINO BLANCO			VINO TINTO			CAVA	Paradas de ferm.	Resist. SO ₂	Necesidad nutrientes	Resist. baja temp	Carácter Killer	Raza fisiológica	
	Joven afrutado	Complejo aromático	Ferm. en barrica	Afrutado y rosados	Fresco joven	Crianza								
M-1107								◆◆◆	◆◆	◆	◆	Neutra	cerevisiae	
C-1108								◆◆	◆◆	◆	◆◆◆	Neutra	bayanus	
M 69	◆◆	◆◆◆						◆◆◆			◆	Killer	cerevisiae	
T-73				◆◆	◆◆◆			◆◆		◆	◆	Killer	bayanus	
NA-33	◆◆	◆◆◆		◆◆◆				◆◆	◆◆	◆◆	◆◆	Neutra	cerevisiae + bayanus	
Mix														
RV-1					◆	◆◆◆		◆◆		◆		Sens.	cerevisiae	
ICV K1	◆◆◆			◆◆				◆	◆◆◆		◆◆◆	Killer	cerevisiae	
ICV-D47		◆◆◆	◆◆					◆◆		◆	◆◆◆	Killer	cerevisiae	
ICV D254					◆◆◆			◆◆				Neutra	cerevisiae	
ICV GRE				◆◆◆	◆◆◆			◆◆				Killer	cerevisiae	
EC 1118	◆						◆◆◆	◆◆	◆◆	◆	◆◆◆	Killer	bayanus	
CY3079		◆◆	◆◆◆					◆◆	◆◆	◆◆◆	◆◆◆	Neutra	cerevisiae	
1033	◆◆◆							◆◆		◆	◆◆	Killer	cerevisiae	
L2226					◆◆◆		◆◆	◆◆		◆		Killer	cerevisiae	
L43							◆◆◆	◆◆◆		◆◆◆	◆◆◆	Neutra	bayanus	

Levaduras Killer

Figura n°3. Población de levaduras indígenas de las bodegas mediterráneas: sus potencialidades competitivas



Clasificación de Levaduras

- **Killer:** producen factor Killer
- **Sensibles:** son sensibles al factor Killer
- **Neutras:** no producen factor Killer ni son sensibles a él
- **Suicidas:** producen factor Killer y son sensibles a él. Muy raras.

Elección de levaduras

CARACTERÍSTICAS ENOLÓGICAS	Cepas tradicionales		Cepas Específicas						Espí PM			
	CM	BC	CEG	CS2	ALB	VRB	UVA	QA23	71B	L2056	BDX	BM45
Comienzo rápido de la fermentación												
Velocidad alta de fermentación												
Capacidad de prevalencia												
Resistencia a alta temperatura												
Criotolerancia												
Elevado rendimiento alcohólico												
Resistencia al etanol												
Baja acidez volátil												
Baja producción de acetaldehido												
Alta producción de glicerina												
Respeto de la acidez original												
Capacidad demalicante												
Producción de aromas fermentativos												
Exaltación de aromas varietales												
Aroma neutro en fermentación												
Escasa exigencia nutricional												
Intenso color al final de la fermentación												
Estabilidad del color												
Reducción de caracteres de astringencia												
Efecto favorable para la FML												
Efecto desfavorable para la FML												
Permite expresión tánica												

Cepa dentro de la norma.
 Expresión del carácter.
 Expresión del carácter de forma especial.

Elección de levaduras

Origen

Cepa (nº7013) seleccionada en Corbières por el INRA de Narbona.

Aplicación

FERMIVIN® es una levadura de tipo starter que garantiza la elaboración de todo tipo de vino.

Propiedades enológicas

■ Cinética de fermentación

- Fase de latencia corta, cinética rápida y regular.

■ Rendimiento azúcar/alcohol

- 16,5 g de azúcar por un 1 % de alcohol.

■ Características tecnológicas

- Intervalo óptimo de temperatura: 15 a 35°C.
- Tolerancia al alcohol: 14% en condiciones estándar, 16% en presencia de nutrientes nitrogenados.
- Resistencia al SO₂ libre: 50 mg/l.
- Baja producción de espuma.

■ Características del metabolismo

- Producción de glicerol media fuerte, 6 a 8 g/l.
- Producción de acidez volátil baja, generalmente inferior a 0,15 g/l.
- Producción de acetaldehído baja, inferior a 20 mg/l.
- Producción de alcoholes superiores baja (vinos aptos a la destilación).
- Producción de H₂S baja.
- Producción de SO₂ baja, inferior a 10 mg/l.

■ Fenotipo: neutro con factor killer.

■ Degrada parcialmente el ácido málico (20 a 30%) y favorece así el inicio de la fermentación maloláctica.

■ Posee una buena capacidad de fermentar mostos muy trasegados.

Dosis de empleo

FERMIVIN® contiene 25 mil millones de células secas activas por gramo. Dosis recomendada: 20 g/hl.

Origen

Cepa (nº7303) seleccionada en la región de Burdeos por el INRA de Narbona.

Aplicación

FERMIROUGE® es una levadura seleccionada para la producción de vinos tintos afrutados y equilibrados ("media guardia").

FERMIROUGE® está particularmente adaptada a la vinificación de las cepas Garnacha, Tempranillo, Gamay, Pinot noir, Cabernet Franc, Merlot, Cabernet Sauvignon, ...

Propiedades enológicas

■ Cinética de fermentación

- Fase de latencia corta, cinética regular.

■ Rendimiento azúcar/alcohol

- 16 g de azúcar por un 1 % de alcohol.

■ Características tecnológicas

- Intervalo óptimo de temperatura : 10 a 28°C.

La temperatura máxima debe ser minuciosamente controlada para una eficacia óptima.

- Resistencia al alcohol: 15%.
- Resistencia al SO₂ libre: 50 mg/l.
- Baja producción de espuma.

■ Características del metabolismo

- Producción de glicerol media, 5 a 7 g/l.
- Producción de acidez volátil baja, generalmente inferior a 0,2 g/l.
- Producción de acetaldehído baja, inferior a 20 mg/l.
- Producción de H₂S baja.
- Producción de SO₂ baja, inferior a 10 mg/l.

■ Fenotipo: neutro con factor killer.

■ Favorece una extracción moderada de polifenoles (materias colorantes y taninos), y el desarrollo de aromas afrutados (fresa, frambuesa, cereza).

■ Posee buena aptitud para fermentar los mostos provenientes de maceración en frío (carácter criófilo).

Rehidratación e Inoculación



Eficacia de la Inoculación



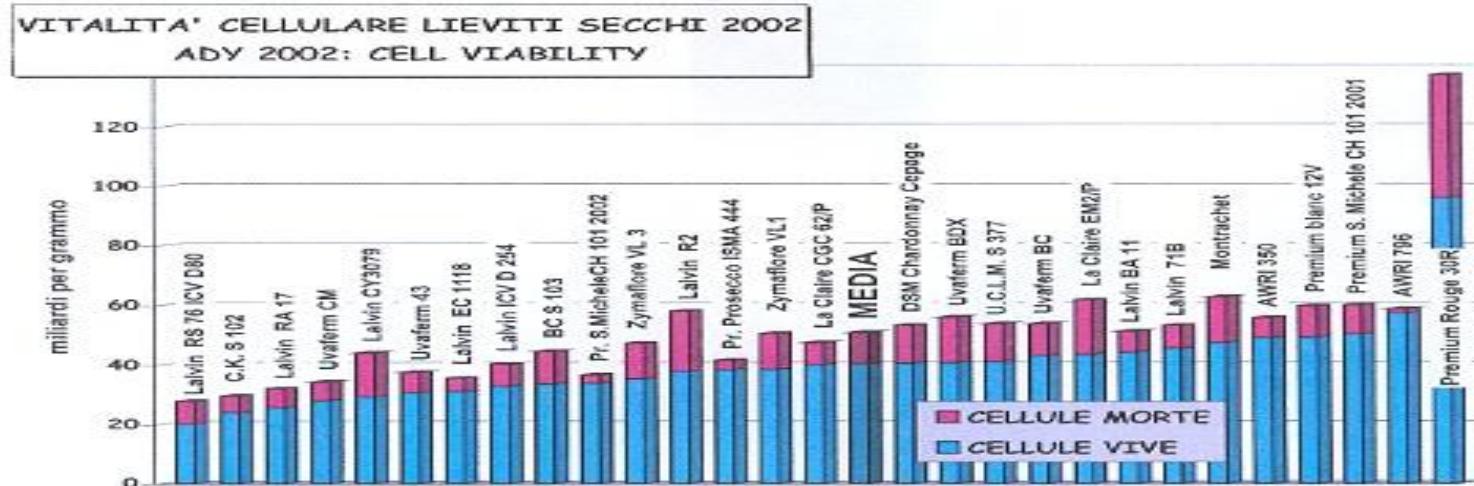
⌘ DOSIS

⌘ CONSERVACIÓN

⌘ REHIDRATACIÓN

⌘ INOCULACIÓN

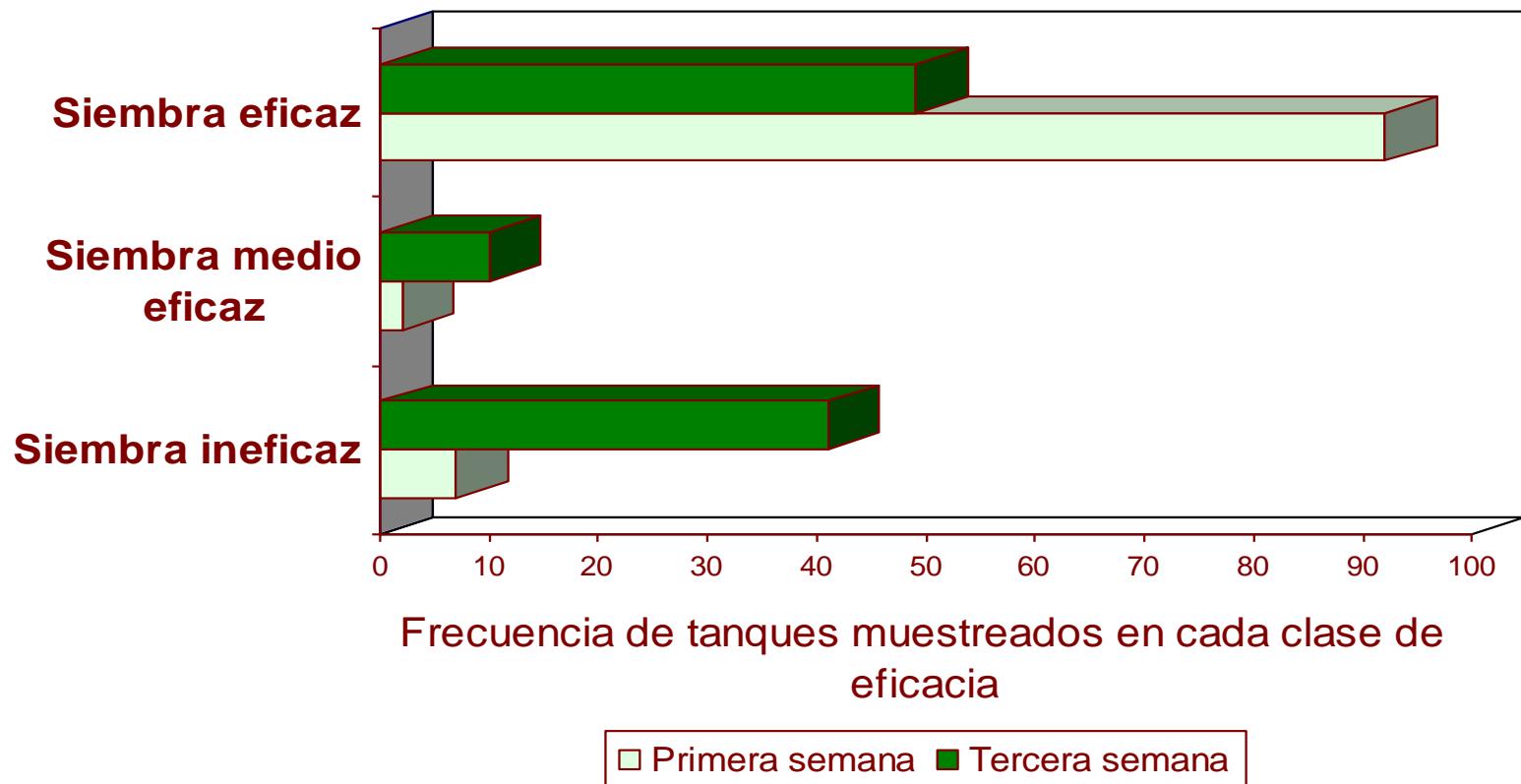
Dosis. 100 LSA / 1 Indígena



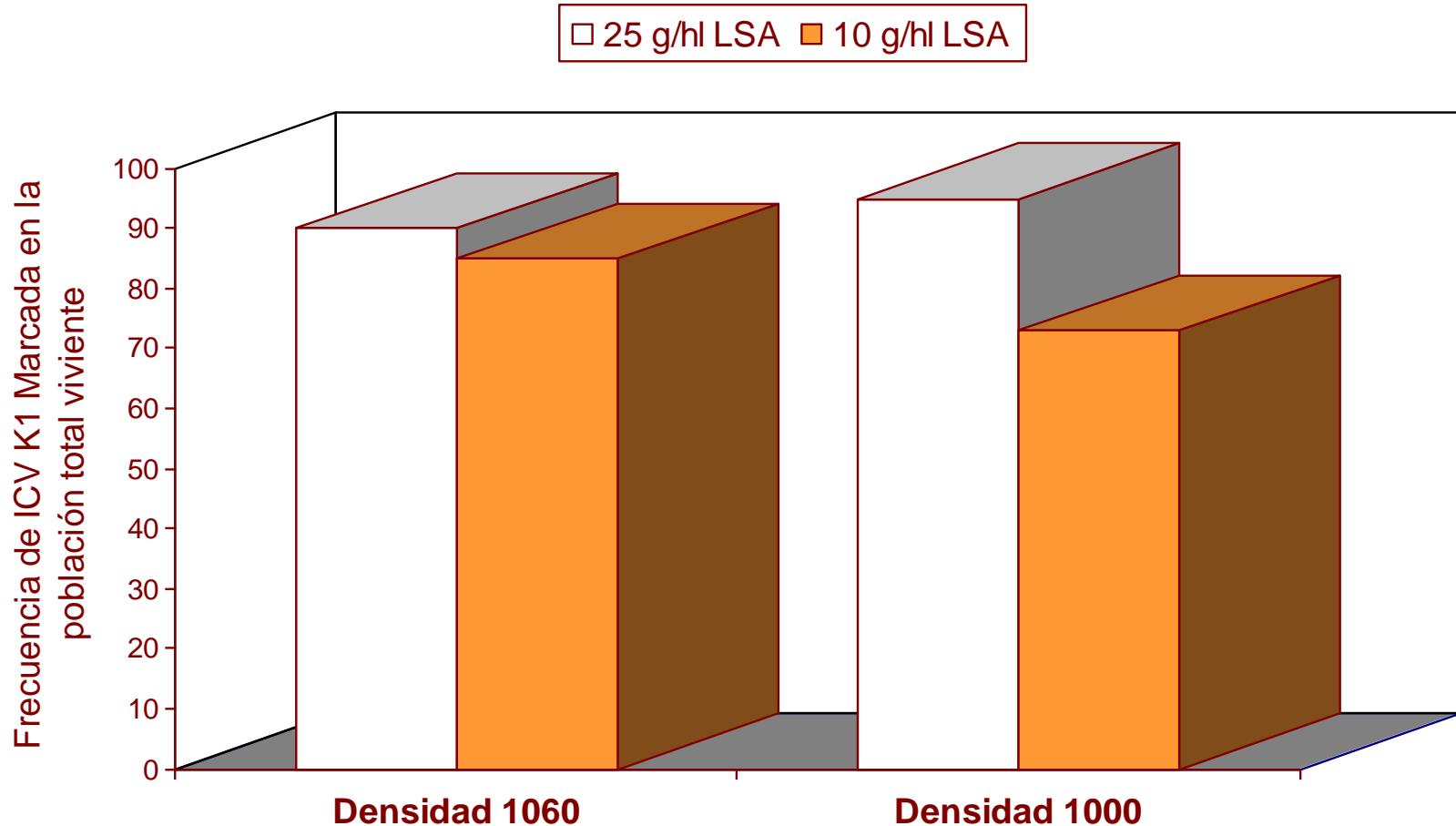
I parametri sottoposti a controllo sono stati:

- **Población de Levaduras Indígenas: 10^3 - 10^5 levaduras/ml**
 - Clima, Higiene, SO_2 , Momento de Vendimia
- **20×10^9 L.S.A./g**
 - **Dosis: $10 \text{ g/HI} = 20 \times 10^{10} \text{ L.S.A./HI} = 2 \times 10^6 \text{ L.S.A./ml}$**
 - **Dosis: $20 \text{ g/HI} = 40 \times 10^{10} \text{ L.S.A./HI} = 4 \times 10^6 \text{ L.S.A./ml}$**
 - **Dosis: $40 \text{ g/HI} = 80 \times 10^{10} \text{ L.S.A./HI} = 8 \times 10^6 \text{ L.S.A./ml}$**

Aumentar la dosis al avanzar la vendimia

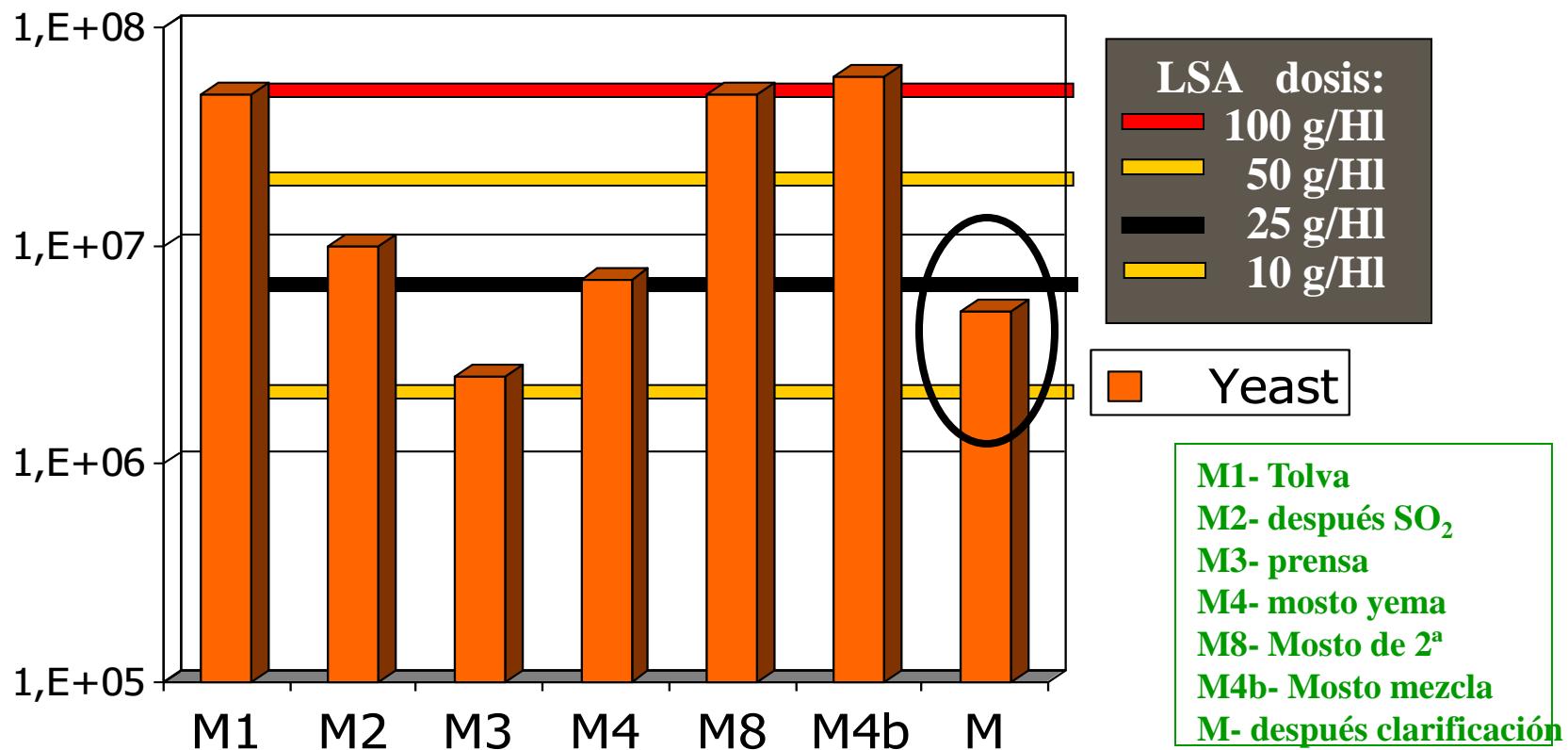


Dosis de Inoculación y eficacia de implantación. Tinto



Dosis y Momento de Inoculación

Línea de Prensa Contínua. Población de levaduras, (log. u.f.c./mL).



Condiciones de Conservación

⌘ L.S.A. : levaduras desecadas, con solo un 8% de agua

⌘ Advertencias para la conservación

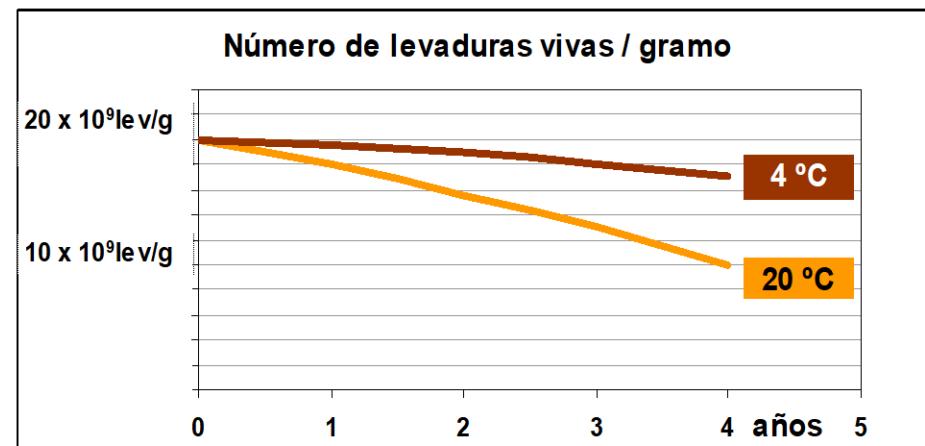
- ⌘ Mantener bien cerrado el envase

- ⌘ Conservar en lugar fresco; si es posible, refrigerado

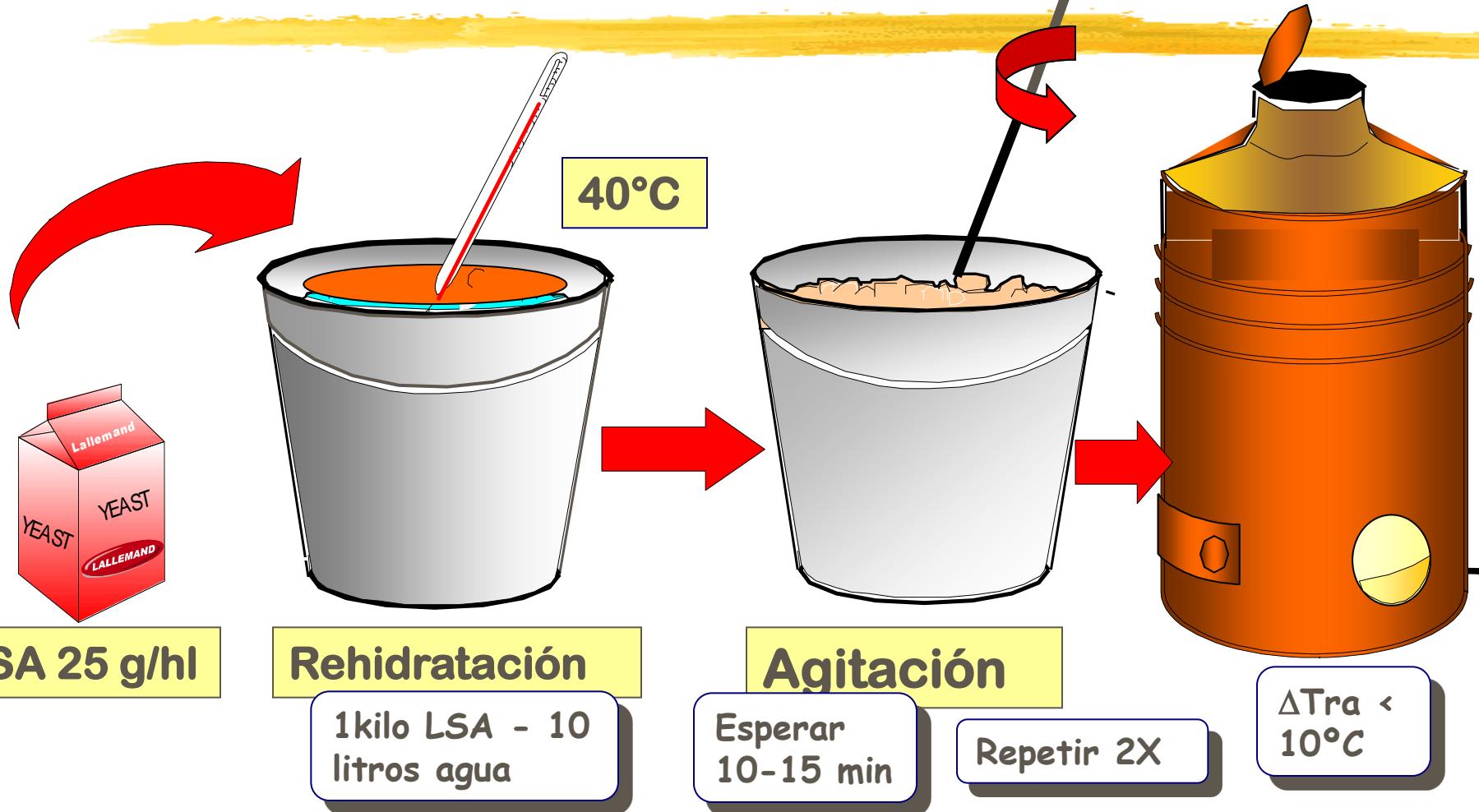
⌘ Pérdida de vitalidad:

- ⌘ 10 % de pérdida anual a temperatura ambiente (20°C)

- ⌘ Aumentar la dosis



La Rehidratación de las Levaduras



NO ESPERAR MÁS del TIEMPO INDICADO

Recomendaciones de Rehidratación



⌘ Evitar choques térmicos

- ☒ no emplear agua < 30º C
- ☒ evitar $\Delta T > 10^\circ \text{C}$, aclimatación paulatina

⌘ Rehidratar con agua mejor que con mosto

- ☒ azúcar, sulfuroso, fungicidas, levaduras autóctonas

⌘ Añadir la levadura al agua y no viceversa

- ☒ rehidratación uniforme, evitar formación de grumos

⌘ No superar 30 minutos de rehidratación

- ☒ si fuese necesario, añadir azúcar (20-50 g/l) y nutrientes N,P

Momento de Inoculación



⌘ Lo más rápido posible

- ↗ Blancos: a la obtención del mosto, o tras el desfangado
- ↗ Rosado: a la obtención del mosto
- ↗ Tintos: al inicio del encubado
- ↗ Maceración carbónica: sobre el líquido de fondo, reinocular después del prensado

Momento de Inoculación

Figura n°5a. Eficacia del levadurado directo en vinificación en tinto. Aporte de las levaduras secas activas desde el inicio del llenado de la cuba.

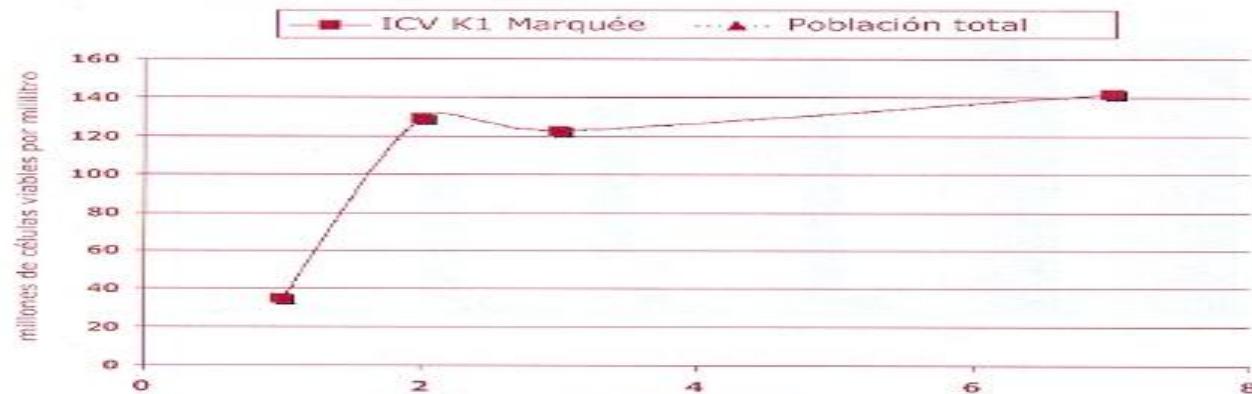
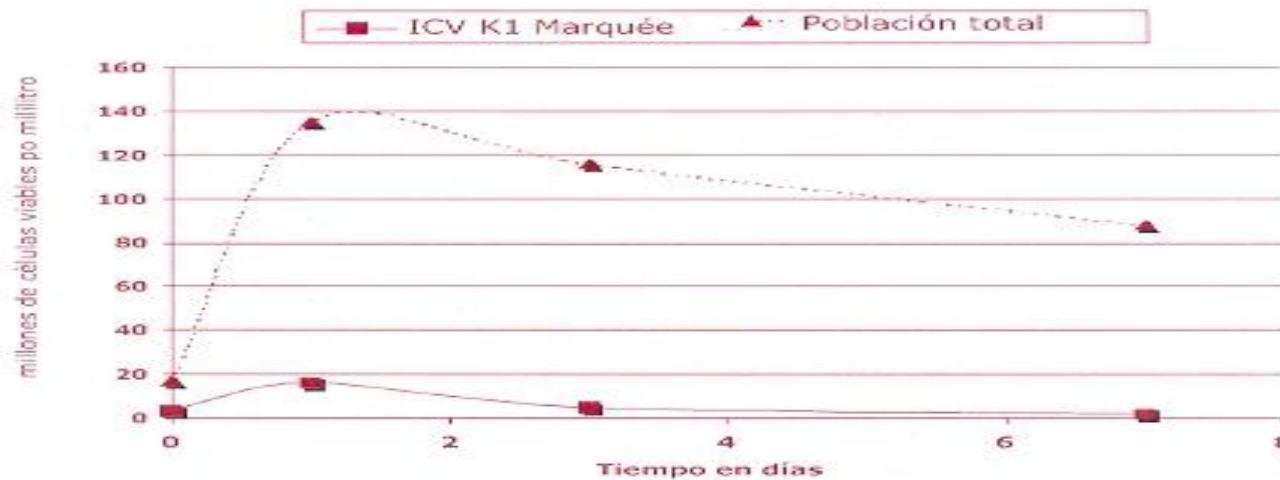
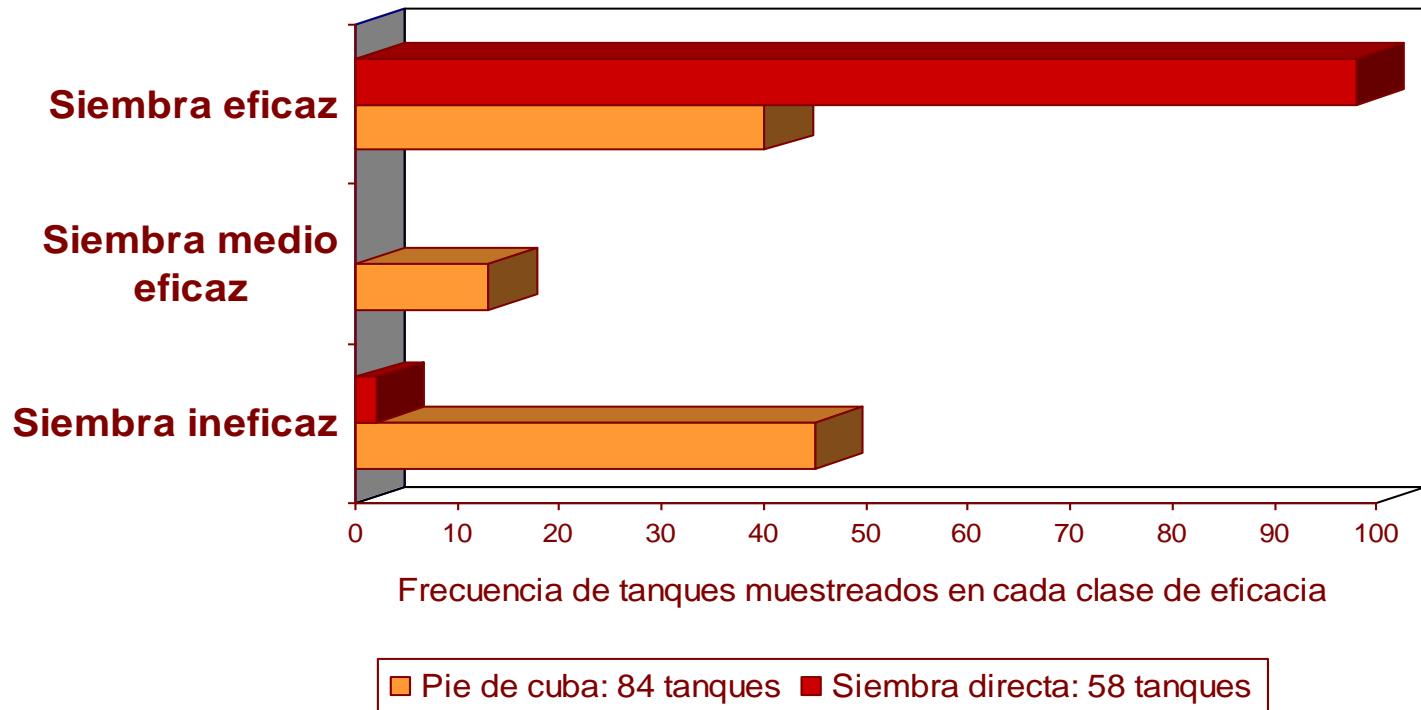


Figura n°5b. Eficacia del levadurado directo en vinificación en tinto.
Aporte de las levaduras secas activas 36 horas después del llenado de la cuba

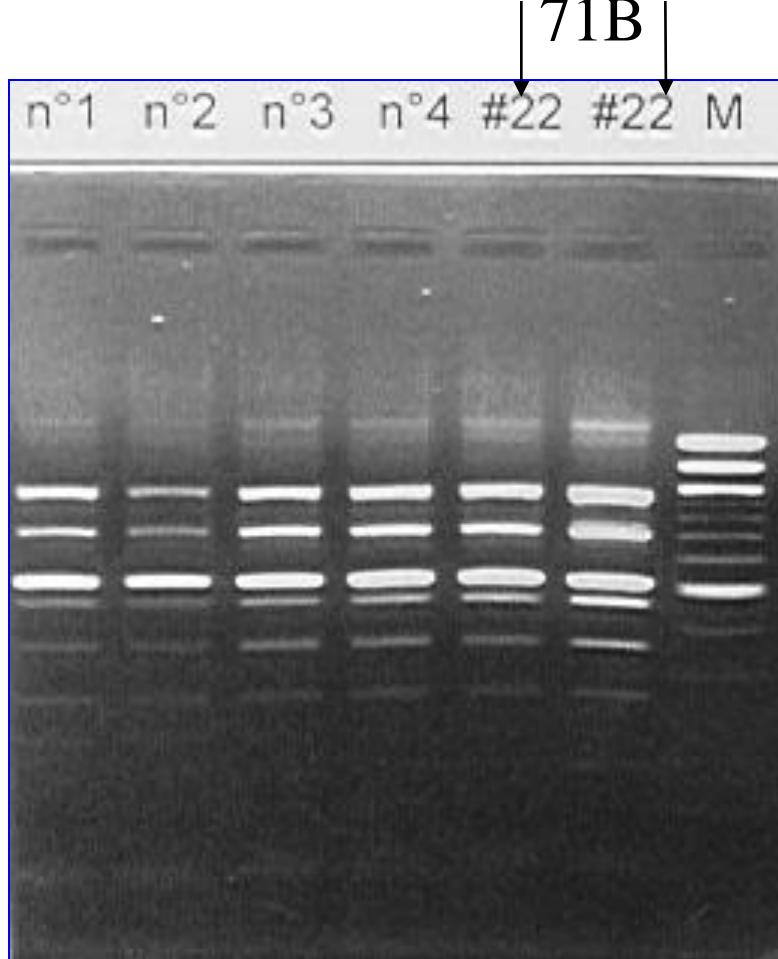


Comparación entre siembra directa y pie de cuba



142 tanques diferentes de 40 bodegas, vinificación en tinto

Análisis de Implantación



PCR rapids
DNA mitochondrial
Fingerprinting
ECP - PFGE