

Inoculación y coinoculación de levaduras *No Saccharomyces* en la elaboración de vinos blancos, rosados y dulces de Navarra

Influencia de la microflora en la calidad del vino

Julián Suberviola Ripa*, Mari Carmen Jimeno Mendoza*, Anabel Ordóñez Aranguren**, Ana Sagüés Sarasa***

*Sección de Fomento Vinícola. Gobierno de Navarra-INTIA. **Sección de Fomento Vinícola. Gobierno de Navarra. ***Negociado de Viticultura. Gobierno de Navarra-INTIA

La últimas tendencias en la enología giran en torno a la búsqueda de nuevos perfiles diferenciadores de vinos a través de levaduras que no son las clásicas de fermentación como levaduras *Saccharomyces* seleccionadas en la segunda fase de fermentación. En los últimos tiempos se ha experimentado con levaduras *No Saccharomyces* buscando nuevos perfiles de vinos de Navarra tanto en vinos secos como en semisecos y dulces.

En el siguiente artículo se ofrece el análisis de los resultados obtenidos en la investigación y el estudio de procesos de fermentación en vino blanco Chardonnay, vino rosado Garnacha y vino Moscatel de Grano Menudo mediante la selección de cepas de levaduras de primera fase de fermentación.



INTRODUCCIÓN

Es obvia la evolución de las ofertas tecnológicas que el enólogo ha tenido en los últimos años y entre ellas de especial relevancia las relacionadas con la microbiología fermentativa. Se ha pasado de la fermentación con la microflora existente en las uvas y en la propia bodega, exponentes de los vinos más “naturales”, a la selección de cepas de interés enológico, seleccionadas con criterios estrictamente analíticos y en algunos casos organolépticos, pero siempre primando el aspecto tecnológico.

De ahí se ha ido evolucionando, en muchos casos, a una selección autóctona de levaduras con criterios regionalistas o de *terroir*, pero manteniendo siempre el aspecto tecnológico como referencia, sobre todo buena capacidad fermentativa para acabado de vinos con elevado grado alcohólico.

Todas estas innovaciones en el aspecto microbiológico se han producido, casi exclusivamente, mediante la selección de cepas de levaduras de segunda fase de fermentación, fase exponencial, aunque algunas se han seleccionado de tercera fase o fase de declinación de la fermentación.

Se sabe, y lo corrobora la abundante bibliografía al respecto, que la microflora existente en las uvas es amplia en géneros y amplísima en especies de levaduras, y que muchas de ellas intervienen en el proceso fermentativo.

La selección de levaduras vínicas autóctonas de Navarra (M.A. de León, J.Suberviola, V.Arroyo y J.A.Suárez Lepe, 1993; Navarra Agraria, Nº 4, 1994), entre otras investigaciones, ha puesto de manifiesto esta diversidad de géneros y especies. En ella se aislaron 1.440 cepas de diferentes zonas geográficas de Navarra y de las variedades Tempranillo, Garnacha, Cabernet Sauvignón y Viura.

Se identificaron ocho géneros diferentes: *Kloekera*, *Cándida*, *Rhodotórula*, *Trichosporon*, *Debaryomyces*, *Hansénula*, *Torulopsis* y *Saccharomyces*, y dentro de ellos 31 especies diferentes.

En primera fase. Desde ecubado a inicio de la fermentación.

Dominancia clara (43%) de las especies del género *Kloekera*, seguido de *Saccharomyces* (26%) y *Cándida*, *Debariomyces*, *Rhodotórula*, *Tricosporon* y *Torulopsis* (19% entre todas ellas).

En segunda fase. Fase exponencial.

El género *Sacharomyces* es el predominante (77%), mante-

niéndose especies del género *Kloekera* (20%) y apreciándose presencia casi testimonial de *Cándida*, *Rhodotórula*, y *Torulopsis*.

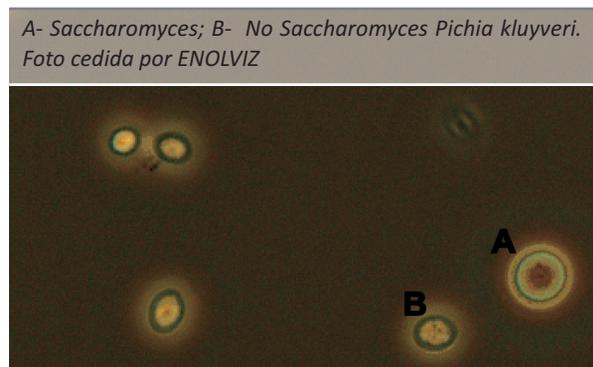
En tercera fase. De declinación de la fermentación.

Es casi absoluta la presencia de *Saccharomyces* (98%). Aparecen testimonialmente *Rhodotórula* y *Hansénula*.

Otras investigaciones han evidenciado la secuencia y biodiversidad de las poblaciones microbianas y su influencia en la calidad analítica y organoléptica de los vinos. (Ciani, 1997; Egli et al., 1998; Soden et al., 2000).

Esta biodiversidad de la flora microbiana, *Saccharomyces* o *No Saccharomyces* permite al enólogo diferenciar sus vinos revelando su potencial aromático, tanto a nivel de intensidad como de complejidad (Egli et al., 1998, Romano et al., 2003; Rojas et al., 2003; Viana et al., 2009).

Ha sido ampliamente descrito como la sucesión de poblaciones de levaduras, con una alternancia del predominio de levaduras *No Saccharomyces* en la primera fase de la fermentación alcohólica y luego de *Saccharomyces*, es fundamental para la complejidad aromática de los vinos (Zirroni et al., 1993, Ferraro et al., 2000).



Se ha demostrado, por otra parte, que *Torulospora delbrueckii* es muy interesante para la obtención de un perfil sensorial más complejo (Languet et al., 2005).

Como quiera que las levaduras *No Saccharomyces* en monocultivo no permiten un acabado correcto y seguro de la fermentación ya que tienen una capacidad fermentativa limitada, la propuesta comercial es una inoculación secuencial que permita el mantenimiento de las cualidades organolépticas de las *No Saccharomyces* y aproveche la capacidad fermentativa y las cualidades organolépticas de las *Saccharomyces*.

Además esta oferta permite utilizar medios de cultivo en forma LSA que facilitan el trabajo del enólogo en la búsqueda de su diferenciación comercial en un mercado muy competitivo y cada vez más receptivo, a la vez, a nuevas experiencias.

Para ampliar los conocimientos en esta materia se planteó en EVENA (Departamento de Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Administración Local) una experiencia de elaboración de vinos blancos, vinos rosados y vinos blancos dulces que permita comparar diferentes elaboraciones con los cultivos de levaduras *No Saccharomyces* y *Saccharomyces*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipos de vino

- **Blancos:** Variedad Chardonnay.
- **Blancos dulces:** Variedad Moscatel de Grano Menudo.
- **Rosados:** Variedad Garnacha.

Levaduras en forma LSA:

- Testigo: Levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.
- Dos levaduras comerciales *No Saccharomyces* + dos levaduras *Saccharomyces Cerevisiae* asociadas.
- Dos2 levaduras *No Saccharomyces* en solitario.

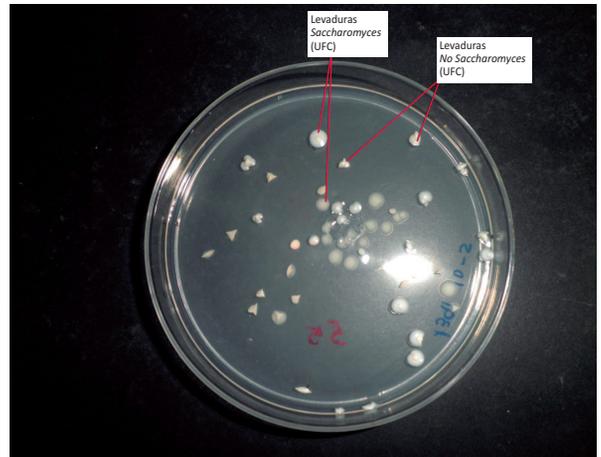
Variantes

VINO BLANCO

1. **Testigo:** Inoculación tradicional con la levadura Na33/EC31118.
2. **Inoculación secuencial** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, seguida de inoculación de *Saccharomyces Cerevisiae*, comercializadas en kit por la **casa comercial 1**.
3. **Inoculación secuencial** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, seguida de inoculación de *Saccharomyces Cerevisiae*, comercializadas por la **casa comercial 2**.

VINO ROSADO

1. **Testigo:** Inoculación tradicional de la levadura Na33/EC31118.
2. **Inoculación secuencial** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, seguida de inoculación de *Saccharomyces Cerevisiae*, comercializadas en kit por la **casa comercial 1**.



UFC, Cultivo en placa. Inoculación secuencial *Lev saccharomyces* (redondeadas, mayor tamaño) y *Lev No Saccharomyces* (*Pichia*, forma triangular, irregular).Foto cedida por ENOLVIZ.

3. **Inoculación secuencial** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, seguida de inoculación de *Saccharomyces Cerevisiae*, comercializadas por la **casa comercial 2**.
4. Inoculación de levadura *Torulaspota delbrueckii*, comercializadas por la **casa comercial 1**.
5. Inoculación de levadura *Torulaspota delbrueckii*, comercializadas por la **casa comercial 2**.

VINO DULCE

1. **Testigo:** Mosto apagado con alcohol a 10 % vol.
2. **Inoculación** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, **casa comercial 1**.
3. **Inoculación** de levadura *Torulaspota delbrueckii*, **casa comercial 2**.



Depósitos de microvinificación. Bodega Experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Vino Blanco Chardonnay

Análisis inicial del mosto

- Grado alcohólico probable del mosto: 13,7 % vol.
- pH: 3,5
- Acidez total tartárica: 8,7.

Análisis del vino final

	Testigo	Inoculación secuencial Casa Comercial 1	Inoculación secuencial Casa Comercial 2
Grado alcoh. Adquirido 20/20	14.74	14.83	14.85
Acidez total tartárica (g/l)	6.2	5.9	6
Acidez volátil acética (g/l)	0.29	0.15	0.2
Azúcares reductores	1.7	2.1	1.7



Resultados análisis perfil aromático:

PARAMETROS (µg/L)	Testigo	Inoculación secuencial Casa comercial 1	Inoculación secuencial Casa comercial 2
Butirato de Etilo	352	264	398
Isobutanol	5379	4960	2576
Acetato de Isoamilo	4705	4513	6867
3 Hexanol	90	109	111
Hexanoato de Etilo	502	353	508
1 Hexanol	1852	2063	1437
Octanoato de etilo	671	352	664
Acetato de 2 Feniletilo	115	194	238
Acido Hexanoico	48812	28828	52833
2 Feniletanol	7310	7960	7951
Ac. Octanoico	6648	4078	6762

Resultados análisis organoléptico

BLANCO CHARDONNAY	Mediana	Preferencia
Testigo Na33/EC31118	77	2º
Casa Comercial 1	76	3º
Casa Comercial 2	80	1º

MEJORA DE LA PAJA COMO ALIMENTO DEL GANADO



¿POR QUÉ USAR ESTA TÉCNICA?

- Partimos de un subproducto del cereal
- Obtienes un alimento enriquecido en proteínas.
- Aumentas la apetecibilidad de la paja
- Aumentas la digestibilidad de la paja
- Perfecta conservación gracias al poder antifúngico del amoníaco.
- No requiere ningún tipo de inversión

TRATAMIENTO CON AMONIACO DE LA PAJA DE CEREAL

Se inyecta Amoníaco Anhidro en una pajera cerrada al aire libre. Los animales comerán más cantidad de paja, con un aumento de las ganancias diarias de peso (aumento de la producción de carne y leche), limitando los riesgos de acidosis.



Vino Rosado Garnacha

Análítica inicial del mosto

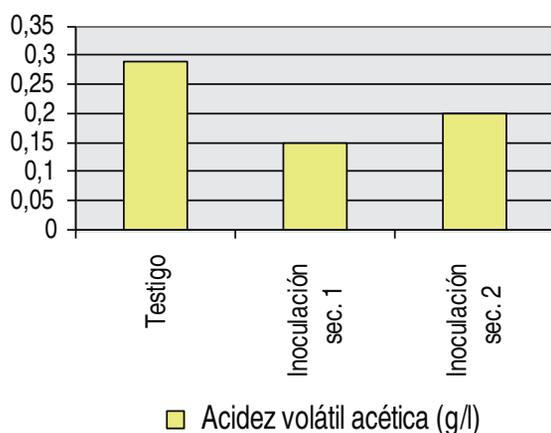
- **Grado alcohólico probable del mosto:** 13.87 % vol.
- **pH:** 3.54
- **Acidez Total tartárica:** 6.4.
- **NFA:** 306,8 gr/l..

Análisis del vino final

Lo más reseñable se recoge en la siguiente tabla:

	Testigo Na33/EC1118	Inoculación secuencial Casa Comercial 1	Inoculación secuencial Casa Comercial 2	Torulaspora Sola Casa Comercial 1	Torulaspora Sola Casa Comercial 2
Grado alcoh. Adquirido 20/20	14.82	14.84	14.76	14.83	14.48
pH	3.3	3.32	3.26	3.37	3.33
Acidez volátil acética (g/l)	0.47	0.29	0.32	0.4	0.28
Azúcares reductores	1.7	1	3.9	9.9	12.8

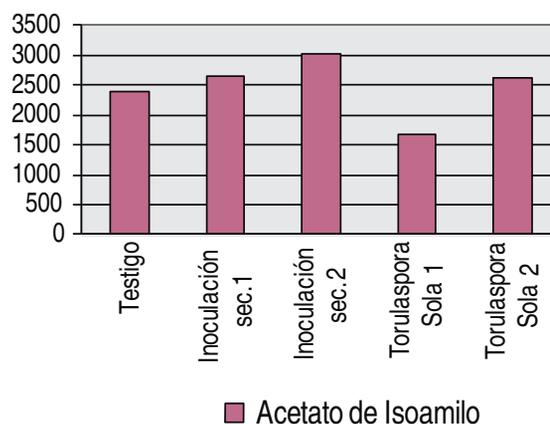
Gráfico 1. Acidez volátil. Vino ROSADO



Resultados análisis perfil aromático

PARAMETROS (µg/L)	Testigo Na33/EC1118	Inoculación secuencial Casa Comercial 1	Inoculación secuencial Casa Comercial 2	Torulaspora Sola Casa Comercial 1	Torulaspora Sola Casa Comercial 2
Isobutanol	9786	11725	13554	11433	15311
Acetato de Isoamilo	2388	2660	3014	1672	2610
Octanoato de etilo	506	218	461	139	301
Butirolactona	2276	1493	2791	2011	2023
Fenilacetaldelido	17	12	58	13	24
Acetato de 2 Feniletilo	90	203	169	152	127
Acido Hexanoico	66645	39100	81292	41908	79154
2 Feniletanol	8333	11526	9006	11532	7621
Ac. Octanoico	8156	4640	7930	4480	7989

Gráfico 2. Acetato de isoamilo. Vino ROSADO

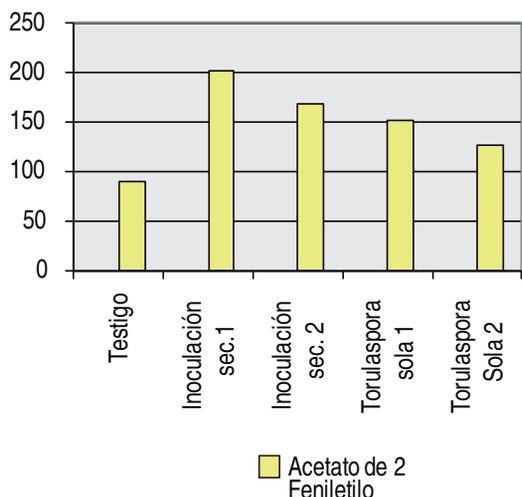


Resultados análisis organoléptico

(Ficha UIE, s/100)

ROSADOS	Mediana	Preferencia
Testigo Na33/EC31118	66	5º
Inoculación secuencial Casa Comercial 1	70.5	4º
Inoculación secuencial Casa Comercial 2	73.5	3º
Torulaspora Sola Casa Comercial 1	76.5	1º
Torulaspora Sola Casa Comercial 1	74.5	2º

Gráfico 3. Acetato de 2 Feniletilo. Vino Rosado



Resultados análisis organoléptico

PARAMETROS (µg/L)	Testigo encabezado	Torulaspora Sola Casa Comercial 1	Torulaspora Sola Casa Comercial 2
Isobutanol	327	487	2156
Acetato de Isoamilo	238	4634	4663
Lactato de etilo	37	160	88
1 Hexanol	490	624	577
Octanoato de etilo	132	651	274
Butirolactona	483	2724	3094
Ac. Butírico	25	115	48
Acido Isovalérico	2135	2522	2402
Acetato de 2 Feniletilo	16	239	376
Acido Hexanoico	3396	49074	29182
2 Feniletanol	2305	7219	9472
Ac. Octanoico	2189	7247	4309

Vino Blanco Dulce Moscatel de grano menudo

Análítica inicial del mosto

- Grado alcohólico probable del mosto: 15.45 % vol.
- pH: 3.52
- Acidez Total tartárica: 5,8.
- AC. Málico: 2,9.

Análisis del vino final

Lo más reseñable se recoge en la siguiente tabla:

	Testigo	Torulaspora Sola Casa Comercial 1	Torulaspora Sola Casa Comercial 2
Grado alcoh. Adquirido 20/20	10,11	15,7	15,35
Acidez total tartárica (g/l)	3,8	4,9	4,8
Acidez volátil acética (g/l)	0,15	0,5	0,27
Azúcares reductores	248	12,4	27,3

Resultados análisis perfil aromático:

MOSCATELES	Mediana	Preferencia
Torulaspora Sola Casa Comercial 1	76,5	3º
Torulaspora Sola Casa Comercial 2	77,5	2º
Testigo / Mistela	82	1º



Microscopio para recuento y control de levaduras en fermentación.

CONCLUSIONES FINALES

VINOS BLANCOS CHARDONNAY

- Los vinos elaborados con inoculación secuencial de *No Saccharomyces* y *Saccharomyces* generan menor acidez volátil que el testigo.
- Tanto en aromas como en el conjunto de la cata, el vino elaborado con el kit 2 es mejor valorado que el resto pero no hay grandes diferencias
- En cuanto al análisis del perfil aromático:
 - El vino elaborado con el kit 2 presenta mayores valores de aromas afrutados.
 - Los vinos elaborados con los dos kits comerciales presentan mayores concentraciones de aromas florales.



VINOS ROSADOS GARNACHA

- La *Torulaspora* en solitario puede aportar personalidad diferenciada, sin menoscabo de la calidad organoléptica, en la elaboración de vinos con azúcares residuales.
- Los vinos elaborados con inoculación secuencial de levaduras *No Saccharomyces* y *Saccharomyces*, y con *Torulaspora* (*No Saccharomyces*) en solitario generan menor acidez volátil.
- Los vinos elaborados con *Torulaspora* en solitario tienen más y mejor color.

VINOS MOSCATEL GRANO MENUDO

- Comparando las variantes de casas comerciales entre sí no se observan grandes diferencias en parámetros básicos.
- En cata, se prefiere el vino testigo, que es un mosto apagado con alcohol que mantiene casi intactos los aromas terpénicos del moscatel, y no hay diferencias significativas entre variantes.
- En cuanto al análisis del perfil aromático:
 - En vino elaborado con la *Torulaspora* de Casa Comercial 2, presenta más cantidad de aromas florales.

