

## ÍNDICE

|                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>EXPLICACIÓN.....</b>                                   | <b>1</b>  |
| <b>DESARROLLO DEL PROYECTO.....</b>                       | <b>6</b>  |
| ➤ 1. Muestreo.....                                        | 3         |
| ➤ 2. Puesta en solución.....                              | 4         |
| ➤ 3. Preselección.....                                    | 5         |
| ➤ 4. Ensayo de microvinificación.....                     | 5         |
| ➤ 5. Producción de levaduras activas en fermentación..... | 6         |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>                                  | <b>7</b>  |
| <b>ANEXO FOTOGRÁFICO.....</b>                             | <b>10</b> |

## **INFORME SELECCIÓN LEVADURAS 2018**

### **EXPLICACIÓN.**

En la actualidad la mayoría de las levaduras utilizadas en la industria de alimentos para la producción de cerveza, vino, etcétera son clasificadas como *Saccharomyces cerevisiae*.

Estos microorganismos tienen la capacidad de imponer su crecimiento sobre el resto de las levaduras competidoras, transformando los azúcares del vino en alcohol y CO<sub>2</sub>.

Esta vendimia se han llevado a cabo un proyecto para la selección de levaduras nativas que puedan asociarse al terroir, convirtiéndose en un factores fundamentales para determinar la tipicidad de los vinos de la zona donde se han aislado.

### **DESARROLLO DEL PROYECTO.**

#### **1) Muestreo.**

Se llevaron a cabo dos recogidas de muestras:

##### **1ª) Antes de comenzar la vendimia. (07/08/2018)**

Para ello se recogieron 150 muestras repartidas en 75 muestras de Malvasía Volcánica, 70 muestras de Listán Negro, 2 muestras de Moscatel de Alejandría de los Chabocos de las parcelas del Grifo y 3 muestras de los morales de la finca. También se realizó una selección de viticultores repartidos por diferentes zonas de la isla, para dicha selección se escogieron los viticultores que menor aporte de fitosanitarios realiza 9476 Ramón Perera (solo utiliza azufre en su viña) y 9021 Hermanos Bermúdez (la mayor parte de la viña es Listán Negro y el aporte de fitosanitarios es mínimo), por último se recogieron muestras de las parcelas del Grifo seleccionando aquellas que estuvieran más alejadas de la bodega para evitar posibles contaminaciones de *Saccharomyces cerevisiae* que pudieran haber procedentes de las instalaciones de la bodega.



EL GRIFO

## **2º) Final de la vendimia. (28/08/2018).**

En esta segunda toma de muestras se recogieron 30 muestras repartidas en 20 muestras de la syrah de Conil y el resto se recogieron por los diferentes Chabocos de la parcela del Grifo.

Todas las muestras recogidas se introducían en bolsas estériles que se abrían in situ, se esterilizaban con alcohol las tijeras de corte de los racimos antes de cambiar de muestra, todo ello para evitar posibles contaminaciones.

## **2) Puesta en solución.**

Una vez recolectadas todas las muestras se llevaron a laboratorio de la bodega, aquí se realizó las siguientes tareas:

- Pesado de los racimos de las muestras.
- Estrujado de los racimos dentro de la bolsa esteril.
- Calculo de la cantidad de alcohol a introducir dentro de la muestra.

Se aplicó la siguiente operación:

■  $(\text{Peso del racimo} \times 0,7 \times 0,105) = \text{ml de alcohol a añadir a la muestra,}$   
donde;

- 0,7 (rendimiento medio estimado 70%)
- 0,105 (Equivale a 10,5 ° de alcohol que se quiere alcanzar en la muestra).

La adición de alcohol se realiza para asegurar que los microorganismos que se desarrollen sean resistentes frente al medio en el que se encuentran.

- Adición de cloranfenicol: es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro, que interfiere en la síntesis proteica bacteriana con el se

pretende proteger a las levaduras que se desarrollan en el medio de cultivo.

- Se realizó una primera fermentación entre 8/10 días.
- Por último, se analizaron las muestras que tenían actividad donde:
  - En la primera recogida de muestras solo tenían actividad 2 muestras de las 150 recolectadas.

De estas dos muestras en tan solo 1 de ellas se detectó la presencia de *S. cerevisiae*.

- Segunda recogida de muestras donde se detectó actividad en 7 muestras de las 30 recolectadas.

De ellas se pudieron apreciar *S. cerevisiae* en prácticamente todas las muestras, pero también había otro tipo de microorganismos poco beneficiosos para la fermentación (*Brettanomyces*), salvo en 1 muestra donde había solamente pequeñas poblaciones de *S. cerevisiae*.

### **3) Preselección.**

Trascurridos 10 días desde la puesta en solución a apreciar actividad en las muestras se realizó la preselección de levaduras. Este proceso se dividió en diferentes etapas:

- Verificación de la pureza de las cepas, se llevó a cabo un recuento de las colonias de levaduras presentes en las muestras (han de ser siempre mayor a 150 millones para asegurar el correcto desarrollo de las levaduras).y no contar con la presencia de microorganismos perjudiciales para la fermentación (*Brettanomyces*, levaduras no *Saccharomyces*, etcétera)

- Cata de las muestras donde se desarrollaron levaduras *S. cerevisiae*.

En esta fase se desecharon la mayoría de las muestras debido a que presentaban olores desagradables (se apreció olores a acético en casi todas las muestras) salvo en la muestra de la cual se obtuvo la cepa de *S. cerevisiae*.

- Inoculación de pre-fermentadores: aunque se detectó la presencia de otros microorganismos en la mayoría de las muestras todas se llevaron a su reproducción en los recipiente de 1 l para conocer su actividad en la fase de fermentación.

En esta fase aparecieron numerosos contratiempos:

- Poca actividad de las levaduras por contrarrestar este efecto se introdujo una pequeña cantidad de oxígeno mediante una serie de mangueras que se introducían por la apertura del bote de fermentación
- Producción de olores poco agradables y fermentaciones lentas, es aquí donde se descartan totalmente aquellas muestras que no logran desarrollar actividad.

#### **4) Ensayo de microvinificación.**

- Se conservaron 4 muestras, 1 muestra de la primera recogida y 3 de la segunda recogida de muestras de la que tan solo 1 se llevó a fermentación de vinos en bodega.

Para la conservación de las muestras en el laboratorio tan sólo tenían que guardarse en el recipiente donde se habían desarrollado y conservarlas en el frigorífico a 4°C.

### **5) Producción de las levaduras activas en fermentación.**

- Finalmente, las muestras se llevaron al fermentador de 100 L donde se preparaba una solución de:
- 50 L de mosto.
- 50 ml de sulfuroso (180 mg/L de pureza) para esterilizar el medio de cultivo.
- 75 ml de sosa para aumentar el ph del mosto (óptimo para el correcto desarrollo de las levaduras 4-5 unidades de ph)

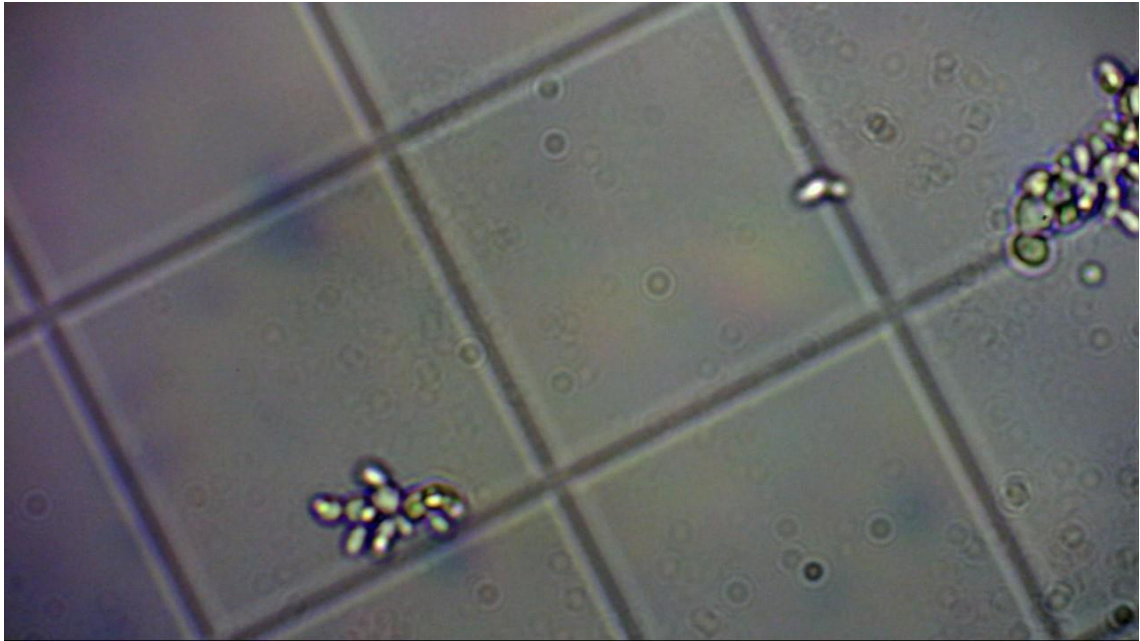
Transcurrido 1 h se añade:

- 50 L de agua caliente (28-30 °C) para disminuir la concentración de azúcar hasta los 90-110 gr/L.
- 1 L de las levaduras que hemos conservado en laboratorio.
- 1 ml/Hl de antiespumante.
- 100 gr de nutrientes orgánicos y 150 gr de fosfato diamónico (nutrientes inorgánicos).
- Se introduce oxígeno a 6 bares de presión con un caudal de 0,3 m<sup>3</sup>/h para el fermentador de 1 Hl.
- Desarrollo de la actividad durante 24 h en el fermentador con temperatura controlado (28°C)
- Transcurridas 24 h trasiego de las levaduras del fermentador al depósito de 10000 L.

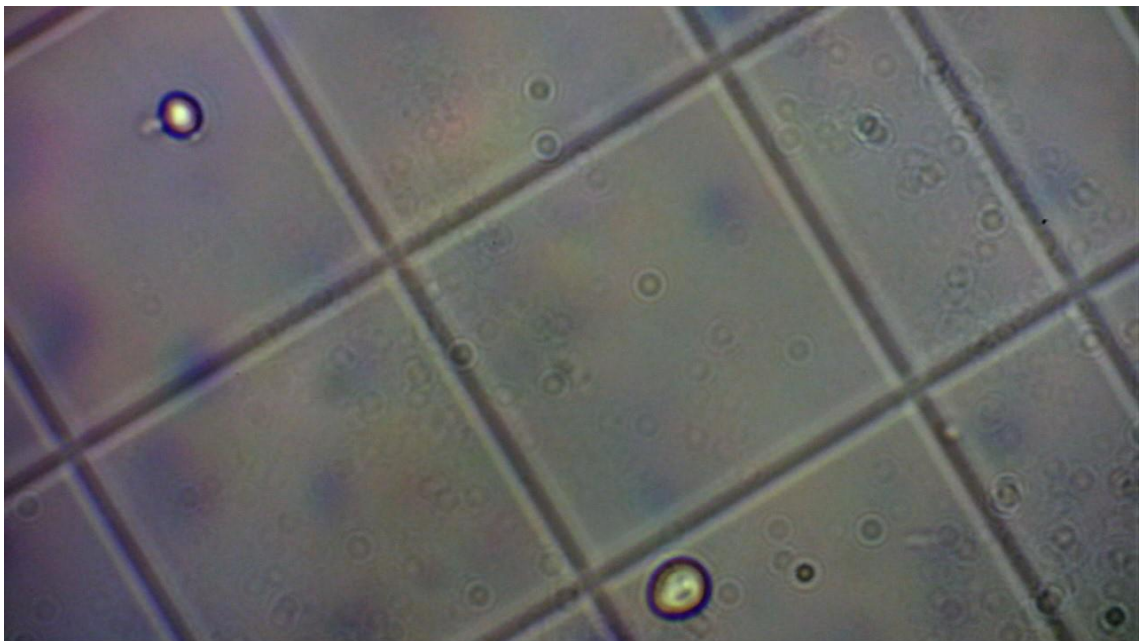
## CONCLUSIONES.

- Finalmente se llevó a cabo la fermentación de un depósito de vijariego con unos buenos resultados.
- La recolección de las muestras han de desarrollarse cuando la uva esté bien madura, se ha comprobado en esta campaña que a medida que la uva fue madurando aumentó la cantidad de microorganismos entre ellos *S. cerevisae*.
- Se debe aumentar el número de muestras a recoger con el fin de asegurar un mínimo de muestras con actividad.
- Estudiar con mayor profundidad el tipo de microorganismos que se encuentran en las muestras con el fin de conocer con mayor precisión aquellos que sean perjudiciales en la fermentación.
- Aumentar el número de parcelas para recoger muestras por las diferentes zonas de la Isla.

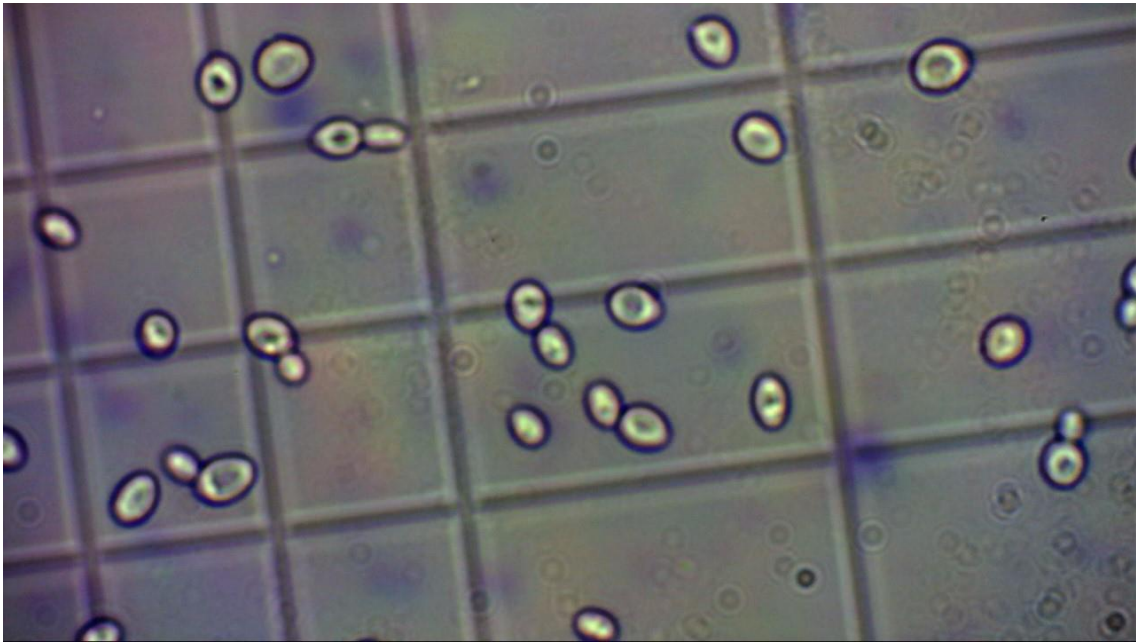
**ANEXO FOTOGRÁFICO.**



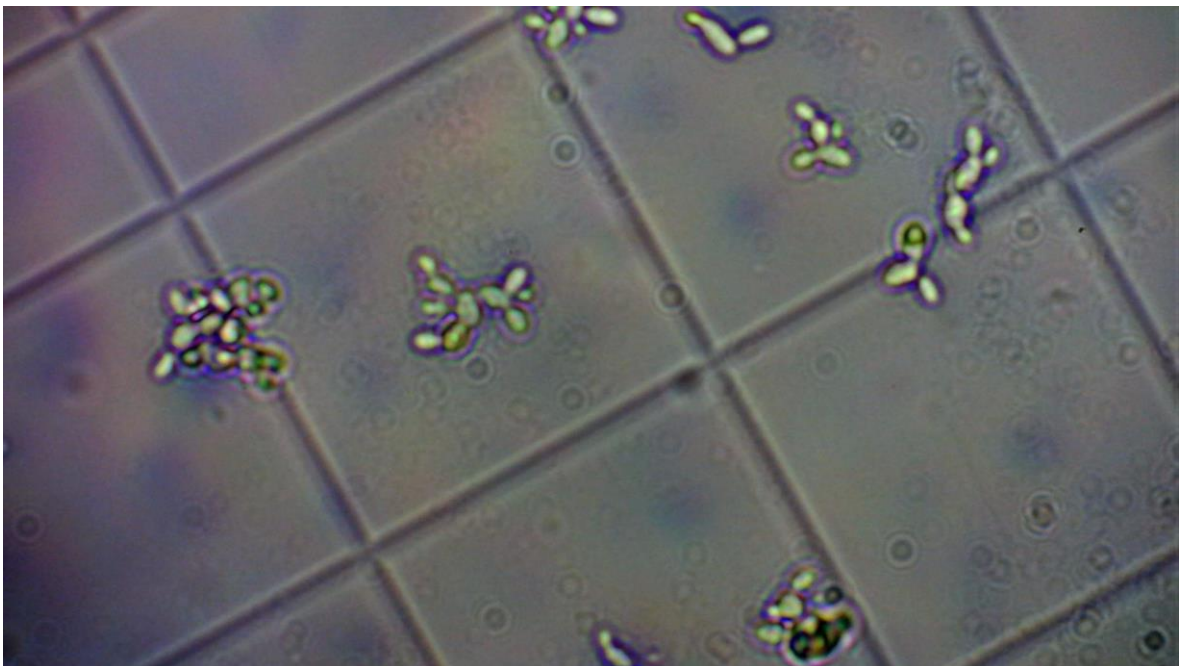
**Brettanomyces**



**Saccharomyces cerevisiae.**(Primeras levaduras que se lograron aislar)



***Saccharomyces cerevisiae*** (Plena fermentación)



***Saccharomyces cerevisiae*** (Poblaciones)