

# SELECCIÓN DE LEVADURAS ENOLÓGICAS NO-SACCHAROMYCES NATIVAS DE VIÑEDOS DE LA LOCALIDAD DE HUMAHUACA, JUJUY, ARGENTINA

## SELECTION OF NON-SACCHAROMYCES NATIVE OENOLOGICAL YEASTS OF VINEYARDS IN HUMAHUACA LOCALITY, JUJUY, ARGENTINA

Burgos, C. R.<sup>1</sup>; Ortega, A. M. A.<sup>1</sup>; Rodríguez, C. I.<sup>1</sup>; Agüero, A. A.<sup>1</sup>

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue aislar, diferenciar y caracterizar levaduras del género no *Saccharomyces* de interés enológico, nativas de la Quebrada de Humahuaca, Jujuy. Se colectaron muestras al azar de racimos de uvas de distintas variedades tintas, durante la vendimia 2017. La diferenciación entre *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* se realizó en base a sus características morfológicas, crecimiento en agar lisina y esporulación en agar acetato. En todas las cepas se evaluaron características tecnológicas que determinan la eficiencia de las mismas en el proceso de fermentación y cualitativas que determinan su participación en las cualidades sensoriales de los vinos. Las cepas se agruparon según las semejanzas de las características evaluadas mediante un análisis de conglomerados. Se diferenciaron 10 cepas como no-*Saccharomyces*, la cepa QH37, identificada como *Metschnikowia pulcherrima*, presentó cualidades sobresalientes para ser seleccionada para fermentaciones mixtas con *Saccharomyces* por su afinidad por la glucosa y alta resistencia al anhídrido sulfuroso, baja producción de espuma, actividad  $\beta$ -glucosidasa y baja producción de compuestos sulfurados. Las levaduras seleccionadas en una determinada zona de producción, contribuyen a mantener las características propias de los vinos de una región vitivinícola y conservan la biodiversidad.

**Palabras clave:** Quebrada Humahuaca. Vinos de tierras altas. Levaduras autóctonas.

### SUMMARY

The goal of this study was to isolate, differentiate and characterize yeasts of the *non Saccharomyces* genus of oenological interest, native from the Quebrada de Humahuaca, Jujuy. Random samples of grapes clusters of different red varieties were collected during the 2017 harvest. The differentiation between *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* was carried out based on their morphological characteristics, growth in lysine agar and sporulation in acetate agar. In all strains, technological characteristics that determine their efficiency in the fermentation process and qualitative ones that determine their participation in wines sensory qualities were evaluated. The strains were grouped according to the similarities of the evaluated characteristics by means of a cluster analysis. Ten strains were differentiated as non-*Saccharomyces*, strain QH37, identified as *Metschnikowia pulcherrima*,

<sup>1</sup>-Facultad de Ciencias Agrarias; UNJu. Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Alberdi 47 San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. C.P. 4600.  
e-mail: cristianburgos1582@gmail.com

showed outstanding qualities to be selected for mixed fermentations with *Saccharomyces* due to its affinity for glucose and high resistance to sulfur dioxide, low foam production,  $\beta$ -glucosidase activity and low production of sulfur compounds. Selected yeasts in a certain production area contribute to keep wine characteristics from a winemaking region and preserve biodiversity.

**Keywords:** Autochthonous yeasts. High land wines. Quebrada de Humahuaca.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales desafíos actuales en la industria del vino, es seleccionar cepas de levaduras vínicas nuevas y mejoradas, en respuesta a la creciente demanda de los consumidores por vinos con valor agregado, desde hace unos años se ha reevaluado el importante papel de las no-*Saccharomyces* en la producción de vino. En el pasado, las levaduras no-*Saccharomyces* se consideraban de importancia secundaria o levaduras indeseables de deterioro (Padilla y otros, 2016), hoy en día diversos estudios han demostrado que el empleo de cepas seleccionadas no-*Saccharomyces*, como las levaduras apiculadas de la especie *Hanseniaspora uvarum* (anamorfo *Kloeckera apiculata*) *Candida*, *Pichia*, *Hansenula*, *Metschnikowia*, *Kluyveromyces* y *Torulasporas* (Jara y otros, 2016; Maturano y otros, 2015), pueden tener un impacto positivo en el proceso de elaboración del vino, debido a que estas levaduras tienen varias características enológicas deseadas, como lo son, la producción de altos niveles de compuestos aromáticos, ésteres, alcoholes y glicerol, (Escott y otros, 2017; Sadoudi, M., y otros 2012). Varias enzimas (esterasas,  $\beta$ -glicosidasas, lactonas, lipasas, celulasas y proteasas, entre otras) (Domizio y otros, 2011, Torresi y otros, 2013) que degradan ciertos componentes del mosto mejorando aspectos tecnológicos como maceración, filtración, clarificación, reducción en la producción de alcohol (Varela y otros, 2016; González y otros, 2013) estabilización del color y la calidad aromática del vino (Liu y otros, 2016). Además, algunas levaduras no-*Saccharomyces*, producen poca cantidad de compuestos indeseables como acetaldehído (Bely, M., y otros 2008), acetoína, ácido acético, y acetato de etilo.

En la actualidad, la inoculación sistemática con

levaduras secas activas (LSA) comerciales, es la práctica enológica más utilizada en las bodegas de Humahuaca. Sin embargo, muchos autores reportaron de la importancia de la aplicación en los procesos de vinificación de levaduras nativas seleccionadas procedentes de la zona vitivinícola donde serán aplicadas, ya que están totalmente adaptadas a las condiciones geo-botánico-climatológicas y a la composición del mosto (Llanos, 2003) para producir vinos de calidad estandarizada, que conserven las propiedades típicas de la región y de la cultura que los producen. Atendiendo a esta problemática el objetivo de este trabajo fue aislar, seleccionar y caracterizar levaduras autóctonas no-*Saccharomyces* de uvas de la Quebrada de Humahuaca, con propiedades enológicas eficientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Toma de muestras

Se recolectaron 8 muestras al azar de racimos de uvas de las variedades Syrah, Merlot y Malbec, pertenecientes a un productor de la localidad de Humahuaca, durante la vendimia 2018.

### Técnicas de Aislamiento

La siembras y aislamientos se realizaron en medio Agar YPD (Barnett y otros, 2000). A cada cepa aislada se le asignó un número y un prefijo QH (siglas de Quebrada de Humahuaca).

**Diferenciación de las cepas aisladas** (Barnett, y otros., 2000).

Características macroscópicas: se observó forma, color, elevación, bordes, textura y tamaño.

**Características microscópicas:** mediante preparados en fresco se observó forma, tipo de gemación y tamaño.

**Crecimiento sobre agar lisina:** Las levaduras del género *Saccharomyces* no logran desarrollarse en un medio que contiene lisina como única fuente de nitrógeno, las cepas no-*Saccharomyces*, en cambio colonizan en este medio sin mayores dificultades.

**Esporulación en agar acetato:** El tiempo requerido para la esporulación varía con las especies, por lo que se realizaron observaciones periódicas, del material a los 7, 14, y 21 días

### **Caracterización tecnológica de las cepas aisladas**

**Tolerancia al etanol:** (Abad Arranz, 2006).

Las cepas se sembraron en 3 tubos con diferentes concentraciones de mosto alcoholizado (10-12-15%v/v) Luego se sellaron con tapón vas-par (vaselina-parafina 50%) y se incubaron en estufa a 28°C durante 7 días. El desplazamiento del tapón indicó que la levadura fermentó y produjo CO<sub>2</sub> resistiendo la concentración de etanol del medio.

**Poder de fermentación:** (Abad Arranz, 2006; Kurtzman y otros, 1998)

El poder fermentativo se calculó gravimétricamente evaluando la pérdida de peso diariamente por liberación de CO<sub>2</sub>, entre el inicio y el final de la fermentación de 30mL de mosto de cada cepa.  $PF (\%v/v \text{ en etanol}) = [P \text{ final (g)} - P \text{ inicial (g)}] \cdot 1,5$

**Resistencia al anhídrido sulfuroso:**

Las cepas se sembraron en 3 tubos con diferentes concentraciones de anhídrido sulfuroso. (50-100-300 ppm de anhídrido sulfuroso). Los tubos se sellaron con tapón vas-par. Las cepas resistentes a cada concentración de anhídrido sulfuroso, lograron desplazar el mencionado tapón.

**Formación de espuma:** (Nikolaou, 2004) - **Formación de sustancias adherentes y sedimentos:**

Se midió la altura de la espuma producida durante 10 días. Las levaduras se clasificaron en tres categorías, basadas en la altura máxima alcanzada por la espuma: F0 (menor a 2 milímetros), F1 (entre 2 y 4 milímetros) y F2 (mayor de 4 milímetros).

Se observó la formación de película o anillo y la formación de sedimentos y flóculos.

**Fermentación de azúcares:** Glucosa y Fructosa (Barnett y otros, 2000).

Las cepas se sembraron en 30 mL de caldo (extracto de levadura 0,5%, glucosa 10%). Los erlenmeyers se incubaron durante 12 días en estufa a 28 °C. La pérdida de peso se registró diariamente para valorar los gramos de CO<sub>2</sub> liberados.

El mismo procedimiento se realizó, para determinar la fermentación de la fructosa, utilizando caldo (extracto de levadura 0,5%, fructosa 10%)

### **Caracterización cualitativa de las cepas aisladas**

**Actividad β-glucosidasa:** (Hernández y otros, 2003)

La actividad β-glucosidasa se evidenció por la formación de un halo negro alrededor de la colonia que se forma por la reacción entre la esculina hidrolizada, que se transforma en esculetina, por la actividad enzimática de la β-glucosidasa y la sal férrica soluble.

**Formación de ácido a partir de glucosa:** (Kurtzman y otros, 1998)

La producción ácido a partir de glucosa se evidenció por la formación de un halo transparente alrededor de la colonia, debido a la disolución del carbonato de calcio, por la producción de ácido, la cual se cuantifica de la siguiente manera: 1) ++++ halo de disolución mayor a 3 mm /alta formación de ácido, 2) +++ halo de disolución entre 2-3 mm /baja formación de ácido, 3) ++ halo de disolución mayor entre 1 y 2 mm /leve formación de ácido, 4) + halo de disolución menor a 1 mm /trazas de ácido

**Producción de ácido sulfhídrico:** (Nikolaou y otros, 2004)

El cultivo se sembró en agar Biggy, un medio de cultivo comercial que pone en manifiesto la producción de ácido sulfhídrico. El medio de cultivo tiene sulfito de bismuto, siendo el sulfito el principal precursor de la producción excesiva de H<sub>2</sub>S.

La intensidad de coloración en este medio es una indicación de la máxima actividad de la enzima sulfito reductasa de una cepa dada determinada genéticamente. 1) ++++chocolate/alta formación de H<sub>2</sub>S, 2) +++beige-marrón/media formación de H<sub>2</sub>S, 3) ++beige/baja formación de H<sub>2</sub>S, 4) +/-beige claro/trazas de H<sub>2</sub>S

Los ensayos tecnológicos se realizaron con 10 mL mosto pasteurizado (60 °C, 15 minutos) por

triplicado, y se incubaron a 28 °C por 48 Hs, siempre que no se indique algo diferente en las respectivas técnicas. Se sembró una alícuota de 106 células/mL de cada cepa.

Los ensayos cualitativos se realizaron por siembra en placa por duplicado, se incubaron en iguales condiciones antes descriptas.

Identificación de levaduras de interés enológico.

La identificación se realizó en el Laboratorio de Espectrometría de Masas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, mediante Tipificación microbiológica MALDI-TOF/TOF

## Análisis Estadístico

Con el fin de agrupar las cepas según la semejanza de sus características tecnológicas, cualitativas y de diferenciación para poder facilitar el análisis de los resultados se realizó un análisis de conglomerados, a través del Software InfoStat versión 2017 (Di Rienzo y otros, 2107).

## RESULTADO Y DISCUSIÓN

### Características de diferenciación

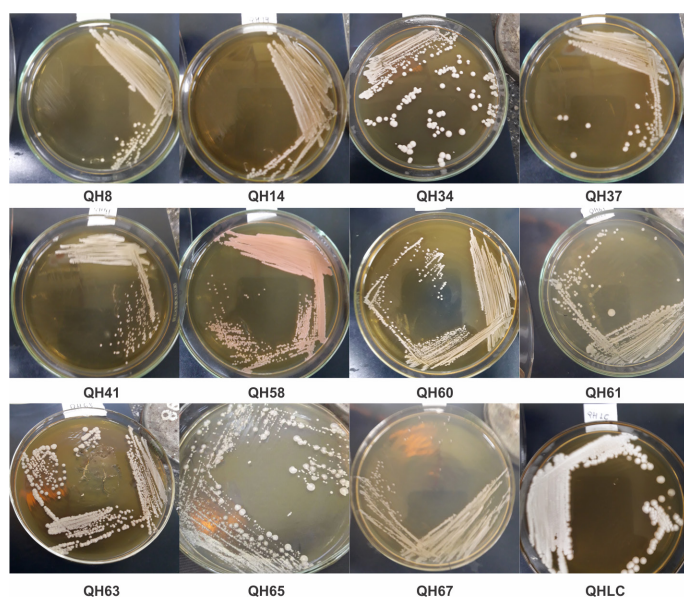
#### Análisis morfológico

Las características macro y microscópicas de las 12 cepas aisladas pueden observarse en la tabla 1 y las figuras 1 y 2.

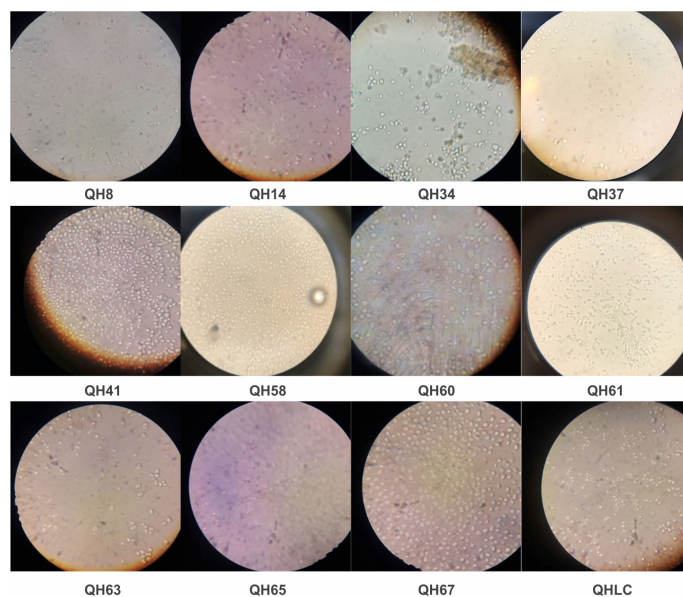
CEPA	Variedad	Características macro						Características micro			
		color	altura	bordes	textura	forma	tamaño en cm.	largo en µm.	ancho en µm.	forma	tipo de gemación
QH8	syrah	crema	umbilicada	enteros	cerosa	circular	0.4	5.4	3.75	alargada	bipolar
QH14	malbec	crema	convexa	enteros	cerosa	circular	0.2	5.4	3.9	ovoide	bipolar
QH34	malbec	blanco	convexa	enteros	cerosa	circular	0.7	6.1	5	ovoide	multipolar
QH37	syrah	crema	umbilicada	enteros	cerosa	circular	0.2	5.2	4.6	ovoide	polar
QH41	malbec	crema-centro rosa	convexa	enteros	cremosa	circular	0.2	5.9	4.45	ovoide	multipolar
QH58	merlot	rosa	convexa	enteros	cremosa	circular	0.4	6.2	5.3	alimonada	bipolar
QH60	merlot	crema	umbilicada	enteros	cremosa	circular	0.1	7.1	6.1	ovoide	multipolar
QH61	malbec	blanco	umbilicada	enteros	cerosa	circular	0.5	4.8	2.85	ovoide	bipolar
QH63	malbec	blanco	umbilicada	enteros	cerosa	circular	0.4	5.7	4.15	ovoide	polar
QH65	malbec	blanco	umbilicada	enteros	cremosa	circular	0.2	5.8	3.2	ovoide	polar
QH67	malbec	crema	umbilicada	enteros	cerosa	circular	0.5	5.5	4.1	ovoide	polar
QHLC	malbec	blanco	convexa	rugoso	cerosa	circular	0.6	6	4.5	ovoide	multipolar

Tabla 1. Características macro y microscópicas





**Figura 1. Morfología macroscópica de aislados estudiados**



**Figura 2. Morfología microscópica de aislados estudiados**

#### Crecimiento en medio lisina:

El 83% de las cepas se diferenciaron como levaduras no-Saccharomyces. Los resultados obtenidos coinciden con (Jolly y otros, 2006) quien encontró que el grupo no-Saccharomyces predomina en el epicarpio de la uva, mientras que Saccharomyces prevalece preferentemente en ambiente de bodega.

#### Esporulación:

Las cepas estudiadas no presentaron esporulación. Estos resultados se pueden atribuir a que 10 cepas aisladas fueron diferenciadas en agar lisina como no- Saccharomyces.

### Características Tecnológicas

#### Tolerancia al etanol:

De las 12 cepas analizadas: 2 cepas toleraron la concentración del 15% v/v de etanol, 4 cepas el 12% v/v de etanol, 3 cepas el 10% v/v de etanol y 3 cepas menos de 10% v/v de etanol. Las cepas analizadas presentaron en líneas generales, una alta tolerancia a la concentración de alcohol.

#### Poder de fermentación:

La pérdida de peso durante la fermentación tuvo comportamientos diferentes en función de la de la cepa, lo que se puede atribuir a la genética de las levaduras (Domizio y otros, 2011). Los valores obtenidos son acordes a lo reportado por

diversos autores (Soden y otros, 2000), dado que el promedio del poder fermentativo de las levaduras no Saccharomyces es aproximadamente de 4%. Por su parte la levadura QH61 produce un grado alcohólico mayor a 14% v/v, lo que se encuentra dentro de los parámetros que establece el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) en su Artículo 1098 para vinos, siendo el mínimo de 12,5% v/v.

#### Cinética de fermentación:

Las cepas QH61 y QH34 demostraron una cinética de fermentación de arranque rápido, las cepas QH8 y QH 14 muestran una cinética de fermentación de arranque correcto y las restantes, cinéticas de fermentación con problemas de arranque.

Una correcta cinética de fermentación garantiza la ausencia de desprendimientos calóricos bruscos, en consecuencia, evitará elevaciones excesivas de temperatura que puedan provocar pérdidas aromáticas y disminución en la calidad del vino e incluso paradas fermentativas por muerte térmica de las levaduras. Además, permite reducir gastos innecesarios de energía en función de la refrigeración y garantizar que la cepa pueda finalizar correctamente la fermentación sin que en el vino permanezcan azúcares residuales. (Abad Arranz, 2006).

En el caso de no-Saccharomyces es importante garantizar que, en un tiempo determinado, las levaduras puedan producir altos niveles de compuestos aromáticos y enzimas que mejoren las

propiedades sensoriales de los vinos. (Cordente y otros, 2012).

Resistencia al anhídrido sulfuroso:

De las 12 levaduras aisladas: 1 cepa no toleró el anhídrido sulfuroso, 1 toleró 50 ppm, 2 toleraron 100 ppm y 8 toleraron la máxima concentración ensayada.

El sulfitado produce una esterilización parcial del mosto, permitiendo el control de microorganismos indeseables.

Las 75% de las cepas toleraron concentraciones por arriba de 100 ppm de anhídrido sulfuroso y se consideran eficientes para la elaboración de vinos tintos y blancos, ya que resisten la concentración mínima establecida para que la dosificación de anhídrido sulfuroso sea efectiva

Una levadura seleccionada, debe presentar alta tolerancia al anhídrido sulfuroso, dado que concentraciones elevadas de este compuesto retrasan el inicio de la fermentación (Ribéreau-Gayon, 2003) y en la vinificación se busca que las levaduras puedan producir metabolitos que favorezcan las propiedades del vino, antes de que su actividad se vea limitada por el aumento de etanol en el medio propiciado por el desarrollo dominante de *Saccharomyces*.

Formación de espuma:

Un 66% de las cepas presentaron una altura menor a 2 mm, un 16% altura entre 2-4 mm y un 16% altura superior a 4 mm. Estos resultados obtenidos son positivos, dado que una fermentación que produce un elevado nivel de espuma, puede provocar el desborde de las piletas, complicando las posteriores tareas de higiene (Valade, 2004).

El valor ideal para la selección de una levadura es que presente una altura menor a 2 mm (F0), pero en caso de que la cepa demuestre otras cualidades se podría tolerar un aumento de este valor hasta 4 mm (F1).

Formación de sustancias adherentes:

Un 50% de las cepas formaron una película en el tubo de ensayo que contenía 10 mL de mosto. La formación de películas, se asocia a la presencia levaduras oxidativas no-*Saccharomyces* lo que se representa en el porcentaje obtenido.

La formación de esta película es una característica no deseada, ya que pueden enturbiar o formar velos en los vinos o adherirse a las paredes de los tanques o piletas (Martínez y otros, 2001).

Formación de sedimento:

La totalidad de las muestras analizadas presentaron sedimento, lo que es una característica muy importante en la vinificación, el hecho de que los residuos se depositen en el fondo del recipiente facilita las tareas del proceso de clarificación. (García-Junco, 2001).

Fermentación de azúcares: glucosa y fructosa:

El 50% de las cepas presentaron mayor afinidad en el consumo de fructosa, lo que se evidenció por un mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el medio que contiene este azúcar como única fuente de carbono. Un 16% de las cepas no presentaron diferencias en el consumo entre uno y otro; mientras que el 33% restante presentó afinidad por la glucosa.

La mayoría de las cepas testeadas utilizaron la fructosa más rápidamente que la glucosa, lo que confirma el carácter fructofílico y, por lo tanto, podrían comportarse mejor en situaciones de estrés; por ejemplo, en fermentaciones detenidas con niveles elevados de fructosa. Contar con levaduras con preferencia en el consumo de fructosa evitaría fermentaciones lentas o detenidas, debido a su metabolismo dióxido.

Las cepas QH34 y QH61 utilizaron la glucosa más rápidamente que la fructosa lo que confirma el carácter glucofilico de las cepas *Saccharomyces*, el resultado obtenido coincide con el de (Berthels y otros, 2004) quienes también demostraron que comenzado el proceso de fermentación con cantidades iguales de los dos azúcares observaron la preferencia por la glucosa, en consecuencia, la presencia de levaduras glucofílicas es la causa de los elevados niveles de fructosa que quedan en los vinos con fermentaciones detenidas.

## Características cualitativas

Actividad  $\beta$ -glucosidasa:

El 83% de las cepas presentó actividad  $\beta$ -glucosidasa. Es importante aclarar que los valores del pH del mosto de uva y del vino se encuentran en un rango de 2,8 a 3,5 en donde la actividad enzimática se disminuye en un 33% aproximadamente (Hernández y otros, 2003). Este resultado es positivo, dado a que se ha demostrado que a pesar de la baja capacidad fermentativa de las cepas no-*Saccharomyces*, estas pueden desarrollar compuestos aromáticos favorables como: acetato de feniletilo, acetato de isoamilo y terpenol, mejorando sustancialmente el perfil aromático del vino (Sadoudi

y otros, 2012).

En la misma línea es importante citar que la actividad  $\beta$ -glucosidasa contribuye a la hidrólisis enzimática de las proteínas presentes en las uvas, disminuyendo los componentes que dan lugar a la turbidez en mostos y vinos (Fernández y otros, 2000).

La actividad enzimática de interés biotecnológico ha sido estudiada en ocasiones anteriores (Domizio y otros, 2011, Torresi y otros, 2013) y la actividad  $\beta$ -glucosidasa ha sido asociada a cepas pertenecientes a la especie *Metschnikowia pulcherrima* (Liu y otros, 2016; Fernández y otros, 2000)

Formación de ácido a partir de glucosa:

De 12 cepas analizadas se obtuvo: 50 % con formación leve de ácido, 41% con formación media de ácido y 8 % con formación alta de ácido. La cantidad puede variar según: la cepa, las concentraciones de azúcar en el mosto y la temperatura de fermentación (Ribéreau-Gayon, 2003), por lo que es importante, elegir aquella que presente leve formación ácida, ya que de lo contrario podría afectar las características sensoriales del vino. El ácido acético se vuelve desagradable a concentraciones cerca de su umbral de sabor de 0,7-1,1 gr/ L y por lo general valores entre 0,2 y 0,7 g / L, se consideran óptimos. Además, el índice máximo de acidez total, tiene límites legales de 0,8g/L expresados en ácido tartárico (Resolución INV N.º C-143/94) La cantidad de ácido formado desempeñan un rol fundamental en el equilibrio aromático del vino (Maturano 2015).

Producción de ácido sulfhídrico:

Las muestras analizadas, presentaron 50% trazas de H<sub>2</sub>S y 50% de alta formación de H<sub>2</sub>S.

Cuando un medio presenta una deficiencia en la fuente de nitrógeno asimilable (F.N.A.), las levaduras utilizan aminoácidos azufrados para sintetizar sus estructuras, liberando el grupo tiol correspondiente. Estas moléculas con grupos sulfuro, son los causantes del aroma a huevo podrido, plásticos, neumáticos. (Suarez-Lepe, 2004; Ribéreau-Gayon, 2003).

Diversos estudios han demostrado que siempre es conveniente elegir cepas que produzcan la cantidad mínima compuestos sulfurados (Swiegers, 2007).

## Análisis de conglomerados

Se elaboró una matriz de similitud a partir de la cual se obtuvo el dendograma correspondiente (Figura N° 3)

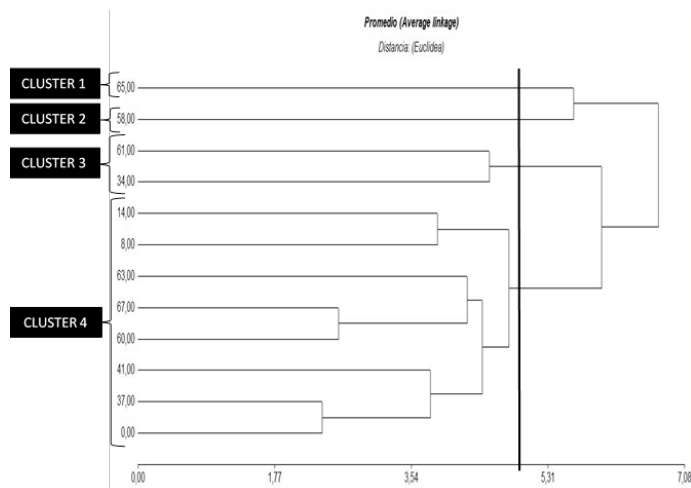


Figura 3. Dendograma

Mediante el análisis de conglomerados con distancia euclídea y enlace promedio (average linkage) fue posible agrupar las cepas en cuatro grupos. Posteriormente se realizó un análisis de cada 'cluster' para buscar aquellas cepas que se destaquen para poder ser utilizadas en fermentaciones vínicas. En la grafico N°1, se puede observar una distancia de corte de 5,11, en la cual se separan los cuatro grupos.

Las cepas de los 'clusters' N° 1 y 2 no presentaron propiedades enológicas suficientes para ser consideradas en este estudio.

Las cepas del 'cluster' N° 3 tienen en común, que presentan el poder de fermentación más alto de las cepas evaluadas (QH34=11,085%, QH61= 14,535%), pueden crecer a elevadas concentraciones de etanol, poseen una cinética fermentación correcta, sobre todo una gran afinidad por la glucosa, son capaces de crecer a 300 ppm de SO<sub>2</sub> y presentan ausencia de sustancias adherentes a las paredes del recipiente, lo que facilita las operaciones de limpieza y desinfección. Todas estas características se pueden atribuir a que fueron diferenciadas en agar lisina como levaduras del género *Saccharomyces*. Sin embargo, ambas cepas formaron de media a elevada concentración de ácido a partir de glucosa.



Las cepas del 'cluster' N° 4, tiene en general cinéticas fermentativas moderadas, gran tolerancia al anhídrido sulfuroso, una producción de alcohol potencial con promedio del 5%v/v. y mayor afinidad por la fructosa por lo que podrían comportarse mejor en situaciones de estrés; por ejemplo, en fermentaciones detenidas con niveles elevados de fructosa ya que las levaduras con preferencia en el consumo de fructosa evitan fermentaciones lentas o detenidas, debido a su metabolismo dióxido. Se puede observar características típicas de no-*Saccharomyces*.

Como puntos negativos presenta baja tolerancia al etanol, presencia de anillo y alta formación de Ácido acético.

## CONCLUSIÓN

El estudio desarrollado, permitió concluir un análisis de las características tecnológicas y cualitativas de levaduras aisladas de uvas tintas pertenecientes a viñedos de Humahuaca.

De la muestra de cepas estudiadas en este trabajo, ninguna presentó todas las características enológicas deseadas para llevar a cabo una fermentación vinica. Sin embargo, la levadura no-*Saccharomyces* QH37 identificada como *Metschnikowia pulcherrima* fue la que más se asemejó a los criterios de selección (alta resistencia al anhídrido sulfuroso, baja producción de espuma, actividad  $\beta$ -glucosidasa y baja producción de compuestos sulfurados). Si bien no fue el objetivo de este estudio también fue de interés, el potencial de la levadura QH61 identificada como *Saccharomyces cerevisiae*. Ambas levaduras podrían ser utilizadas en fermentaciones co-inoculadas.

Finalmente, las levaduras seleccionadas a partir de una determinada zona de producción, podrían dar respuestas a la demanda del mercado actual, que busca vinos con identidad geográfica, aportando valor agregado a los vinos elaborados en la región de Humahuaca.

## BIBLIOGRAFÍA

Abad Arranz, E. (2006). Selección de levaduras autóctonas para la elaboración de vinos tintos para bodegas y viñedos de Trujillo S.L. Madrid, España,

Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos.

Barnett, J. A.; Payne, R. W.; Yarrow, D. (2000). Yeast: characteristics and identification. 3er third edition. Cambridge, Reino Unido, Cambridge University Press.

Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf Pomarède, I., Dubourdieu, D. (2008). Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. International Journal of Food Microbiology 122: 312–320

Berthels, N. J.; Cordero Otero, R. R.; Bauer, F. F.; Thevelein, J. M.; Pretorius, I. S. (2004). Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. FEMS Yeast Research 4:683–689.

Cordente, A.G., Curtin, C.D., Varela, C., Pretorius, I.S. (2012). Flavour-active wine yeasts. Appl. Microbiology Biotechnology 96 601–618

Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tolaba, M., Robledo, C. (2017). InfoStat version 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Cordoba. Version Electrónica para la web: <http://www.infostat.com.ar>

Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Comitini, F., Gobbi, M., Mannazzu, I. (2011). Outlining a future for non-*Saccharomyces* yeasts: selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. Int. J. Food Microbiology 147: 170–180.

Escott, C., Del Fresno, J., Loira, I., Morata, A., Tesfaye, W., González, M., Suarez-Lepe, J. (2017). Formation of polymeric pigments in red wines through sequential fermentation of flavanol-enriched musts with non-*Saccharomyces* yeasts. Food Chemistry 239: 975-983

Fernández, M., Úbeda J.F., Briones, A.I. (2000). Typing of non-*Saccharomyces* yeasts with enzymatic activities of interest in wine-making. International Journal of Food Microbiology 59: 29–36

García Junco, C. (2001). Estudio de distintos tiempos de maceración carbónica para la vinificación en tinto en tres variedades de vid (*V. vinifera* L.)



establecidas en el centro de la república mexicana. Tesis de maestría. Querétaro, México, Departamento de Ciencia y Tecnología De Alimentos, Universidad Autónoma De Querétaro”, pp 31-34

González, R., Quiro, M., Morales, P. (2013). Yeast respiration of sugars by non-*Saccharomyces* yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. *Trends in Food Science and Technology* 29: 55 -61

Hernández, L.F.; Espinosa, J.C.; Fernández-González, M.; Briones, A. (2003) -Glucosidase activity in a *Saccharomyces cerevisiae* wine strain. *International Journal of Food Microbiology* 80: 171–176.

Jara, C., Laurie, V. F., Mas, A., Romero, J. (2016). Microbial Terroir in Chilean Valleys: Diversity of Non-Conventional Yeast. *Frontiers in Microbiology* 7 art.663

Jolly, N.P., Augustyn, O.P.H., Pretorius, I.S. (2006). The effect of non-*Saccharomyces* yeast on fermentation and wine quality. *South African Journal of Enology and vitiviniculture* 27: 15-39

Kurtzman, C.P.; Fell, J.W. (1998). PART IV Methods. En: “The Yeasts, A Taxonomic Study” Fourth edition. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science B.V., pp, 75-107

Llanos, M. 2003. Selección y producción de levaduras vínicas. *La semana vitivinícola*. N° 2959, p1302-1308.

Liu Pei-Tong, Lu Lin, Duan Chang-Qing, Yan Guo-Liang (2016). The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. *Food Science and Technology* 71: 356-363

Martínez - Rodríguez, A., Alfonso, V., Carrascosa, J., Barcenilla, M., Pozo-Bayón, M. A., Polo, M. C. (2001). Autolytic capacity and foam analysis as additional criteria for the selection of yeast strains for sparkling wine production. *Food Microbiology* 18: 183-191.

Maturano, P., Assof, M., Fabani M.P., Nally, M.C., Jofre, V., Rodríguez Assaf, L.A., Toro, M.E., Castellanos de Figueroa, L., Vazquez, F.

(2015). Enzymatic activities produced by mixed *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* cultures: relationship with wine volatile composition. *Antonie van Leeuwenhoek* 108: 1239-1256

Nikolaou, E.; Soufleros, E.H.; Bouloumpasi, E.B., Tzanetakis, N. (2004). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains according to their oenological characteristics and vinification results. *Food microbiology*. 23: 205-211.

Padilla, B., José V., Manzanares, G., Manzanares, P. (2016). Past and Future of Non-*Saccharomyces* Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity. *Frontiers in Microbiology*. 7 art. 411.

Ribéreau Gayon P.; (2003). *Microbiología del vino*. En:” *Tratado de enología*, Tomo 1, *Vinificaciones*”. Madrid. España, Mundi-Prensa, p. 655.

Sadoudi, M., Tourdot Maréchal, R., Rousseaux, S., Steyerd, D., Gallardo Chacón, J.J., Ballester, J., Vichi, S., Guérin Schneider, R., Caixach, J., Alexandre, H. (2012). Yeast–yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of sauvignon blanc wine fermented by single or co-culture of non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts. *Food Microbiology* 32: 243–253.

Soden, A., Francis, I. L., Oakey, H., Henschke, P. A. (2000). Effects of co-fermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6: 21–30.

Suárez Lepe, J.A. (2004). *Microbiología Enológica: Fundamentos de Vinificación*. Tercera Edición. Barcelona, España, Mundi-Prensa.

Swiegers J. H.; Pretorius I. S. (2007). Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. *Applied Microbiology Biotechnology* 74: 954–960.

Torresi, S., Frangipane, M.T., Garzillo A.M.V., Massantini, R., Contini, M. (2013). Effects of a  $\beta$ -glucanase enzymatic preparation on yeast lysis during aging of traditional sparkling wines. *Food Science and Technology* 55: 83-92.

Valade, M. (2004). Las levaduras seleccionadas, aliadas en el control de la calidad del vino. *La semana vitivinícola* 308 3038-3040.

Varela, C. F., Sengler, M., Solomon, C., Curtin, M. (2016). Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. Food Chemistry 209: 57–64.