CENTRO UNIVERSITARIO SANTA ANA

ALMENDRALEJO



Joaquín Sorolla Bastida. Comiendo uvas, 1898. Acualera sobre papel. Museo Sorolla, nº inv. 00427

XLV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA TIERRA DE BARROS V CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

XLV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA DE LA TIERRA DE BARROS

V CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

Edita:

Centro Universitario Santa Ana C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2 Almendralejo Tel. 924 661 689

http//www.univsantana.com

Colabora: Cajalmendralejo

Ilustración de portada:

Joaquín Sorolla Bastida. "Comiendo uvas". 1898. Acuarela sobre papel. Museo Sorolla. n: inv. 00427. © Fundación Museo Sorolla

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: María Sabater

ISBN: 84-7930-113-9 D.L.: BA-000169-2024

Imprime: Impresal

Estudio metabolómico de cepas de Saccharomyces cerevisiae formadoras de velo de flor para la mejora de la crianza biológica

CARBONERO-PACHECO, J.

Ayllón Gavilán, M.

Muñoz-Castells, R.

Moreno-García, J.

García-Martínez, T.

Mauricio, J.C.

Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología.

Universidad de Córdoba.

RESUMEN

El velo de flor es un biofilm producido por ciertas cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, que mediante un metabolismo oxidativo son capaces de metabolizar la fuente de carbono no fermentable disponible en vinos secos. Durante el proceso de crianza biológica estas levaduras tienen una gran influencia en la producción y características del vino fino del sur de España. En este trabajo se han seleccionado cepas con distintas características organolépticas durante la formación de velo de flor y se ha estudiado su metabolismo en distintos vinos de la denominación de origen protegida Montilla-Moriles,

observando diferencias significativas en la formación de velo y en el consumo y producción de metabolitos en función del sustrato empleado y de la cepa estudiada. Paralelamente se ha estudiado la forma más efectiva de inocular levaduras formadoras de velo de flor en botas de bodega, siendo el "injerto" (inoculación de biofilm en la superficie del vino) la más rápida en producir un biofilm completo. Este estudio contribuye a la mejora y mantenimiento de la crianza biológica en bodega mediante técnicas microbiológicas.

SUMMARY

The flor yeast is a biofilm produced by certain strains of Saccharomyces cerevisiae, which are able to consume the nonfermentable carbon sources available in dry wines, due an oxidative metabolism this yeasts changes wine composition during the biological aging process being essential to produce the fino wine, characteristic of southern Spain. In this work, strains with different organoleptic characteristics during flor yeast formation have been selected and their metabolism has been studied in different wines of the Montilla-Moriles region, significant differences were observed in the flor formation and in metabolites consumption and production depending on the used substrate and the strain studied. At the same time, the most effective way to inoculate flor yeasts in cellar barrels has been studied, being the "injerto" (biofilm inoculation on the surface of the wine) the fastest way to produce a complete biofilm. This study contributes to the improvement and maintenance of biological aging in cellars by microbiological techniques.

Palabras clave: Velo de flor - Metabolómica - Vino fino - Crianza biológica

INTRODUCCIÓN

El velo de flor es un biofilm formado cepas de la especie *Saccharomyces cerevisiae* y es fundamental para la elaboración de vinos con crianza biológica (Legras *et al.*, 2016). Tras el final de la fermentación alcohólica y ante la ausencia de fuentes de carbono fermentables, estas cepas forman en la superficie del vino un biofilm. Esta agregación favorece el metabolismo oxidativo que emplean las levaduras para consumir etanol, glicerol y ácido acético, fuentes de carbono disponibles del vino (Moreno-García *et al.*,

2018). Como producto de esta actividad metabólica, el vino se mantiene en un ambiente reductor que evita la oxidación de sus componentes y, además, se producen compuestos que cambian su perfil organoléptico. Este proceso junto al sistema dinámico de criaderas y solera, donde los vinos de diferentes añadas se homogenizan en diferentes escalas, dan como resultado el proceso de crianza biológica y con ello al vino fino (Valcarcel et al., 2022). La homogenización de los vinos se lleva a cabo durante el proceso de saca y rocío, en el que el vino listo para comercializar es retirado (saca) de la solera y a su vez, el volumen obtenido es repuesto (rocío) con vino de la primera criadera, previamente homogenizado en un depósito, este proceso se repite hasta llegar a la última criadera, donde el volumen es repuesto con vino joven del año.

En las diferentes escalas del sistema de criaderas y solera, la composición del vino varía, lo que afecta a las poblaciones de levaduras que viven en él (Ruiz-Muñoz *et al.*, 2020), factores como la altura a la que está situada la escala influyen en la temperatura y humedad a la que el vino está sometido, siendo esto parámetros muy importantes para que el velo de su superficie se mantenga estable (Cañas *et al.*, 2022). El velo de flor puede ser formado por una o más cepas diferentes de *S. cerevisiae*, el estudio de este fenómeno ha llevado a diversos autores a concluir que estas cepas tienen metabolismos diferentes y el consumo de las fuentes de carbono y de los aminoácidos presentes en el vino, así como la producción de metabolitos, difiere en función de las cepas establecidas (Legras *et al.*, 2016).

Por ello, el objetivo de este trabajo es conocer el metabolismo de cepas de interés, su capacidad para formar velo flor y explorar métodos para inocular levaduras en botas del sistema de criaderas y solera en bodega, con la finalidad de mantener el velo de flor activo durante el mayor tiempo posible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo en bodega

En las bodegas del grupo Pérez Barquero se seleccionaron tres vinos con diferentes crianzas y parámetros químicos (Tabla 1) y se escogieron 40 botas de una criadera que estaba siendo sometida al proceso de saca y rocío, para inocular velo de flor en ellas, estudiar su formación y las características sensoriales del vino transcurridos 2 meses.

Las inoculaciones se realizaron de dos maneras (Figura 1): A) "Injerto" de biofilm ya formado mediante una paleta metálica. B) Inoculación de una suspensión de levaduras formadoras de velo de flor. Con la primera metodología se depositaban 2 paletas completas de velo de flor en la superficie del vino y con la segunda, la misma cantidad de velo era previamente disuelta en 250 mL de vino y posteriormente añadido con la ayuda de una probeta milimetrada. El velo de flor empleado se obtuvo desde tinajas que contenían vino joven del año, el mismo que se empleó para el rocío de las botas seleccionadas. Del total de 40 botas, 15 se inocularon mediante injerto con paleta, 15 con suspensión de levaduras y en 10 no se realizó ningún tratamiento. Se controló la formación de biofilm en la superficie del vino semanalmente durante 2 meses, finalizando el experimento con un análisis sensorial del vino de cada bota.

Microcrianza en laboratorio (Figura 2)

Los vinos seleccionados en bodega fueron filtrados utilizando filtros de membrana de $0.45~\mu m$ y 142~mm de diámetro, de la marca Pall SuporTM, para eliminar la microbiota existente y realizar microcrianzas axénicas con cepas seleccionadas.

Se emplearon 4 cepas distintas, denominadas G1, GT2, B13C9 y C248, siendo la primera empleada previamente en numerosos estudios del grupo, la segunda proveniente de vino fino con más de 5 años de crianza, la tercera de la criadera seleccionada para el experimento de inoculación en bodega y la cuarta cepa, de las tinajas donde se recolectó el velo para dicha inoculación.

Las microcrianzas se realizaron en matraces de 250 mL previamente esterilizados, en los que se añadió 250 mL de vino filtrado y una población inicial de 1 x 10⁶ células de levadura/mL. Para cada cepa se prepararon 3 réplicas, además de un control sin inocular por cada tipo de vino. El experimento se llevó a cabo en una cámara de cultivo en oscuridad a 21°C y un 70% de humedad relativa (HR), donde se monitorizó la formación de velo de flor en los triplicados. Una vez formado éste, se tomaron muestras del vino y del biofilm de uno de los matraces, transcurridos 10 días se tomaron muestras de otro de los matraces restantes. Las muestras de los controles se recogieron una vez finalizó el experimento para cada tipo de vino.

Las muestras de vino filtrado, de las microcrianzas y de los controles, se procesaron para la obtención de parámetros enológicos generales de acuerdo con la OIV (2020), además se analizaron los compuestos volátiles mayoritarios mediante cromatografía de gases con un cromatógrafo 6890 de Agilent (Palo Alto, CA, Estados Unidos), siguiendo el protocolo establecido en Carbonero-Pacheco *et al.* (2022). Para cuantificar el metabolismo de cada una de las cepas empleadas.

El velo recogido se centrifugó para separar la fracción líquida de la sólida y posteriormente se pesó 0.01 g de cada muestra, realizando diluciones seriadas para contar el número de células totales por gramo de peso y siembras en superficie en agar YPD (extracto de levadura 1%, peptona 2%, glucosa 2% y agar 2%) para obtener un recuento de células viables. Las placas de agar YPD fueron incubadas durante 72 h a 28°C.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de comparación múltiple (ACM) para cada variable química estudiada (acetaldehído, acetato de etilo, 1,1-dietoxietano, metanol, etanol, 1-propanol, isobutanol, alcoholes isoamílicos, acetoína, lactato de etilo, 2,3- butanodiol, succinato de dietilo, 2-feniletanol, glicerol, pH y acidez volátil), utilizando el test de Bonferroni con un nivel de confianza del 95%, para identificar qué variables presentaban diferencias significativas entre los distintas microcrianzas. Estos datos se representaron gráficamente en un análisis de componentes principales (ACP), que permitió agrupar las muestras en función de las variables estudiadas. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa Statgraphics® XVIII Software package.

RESULTADOS

Formación de velo en bodega

Durante el control semanal del aspecto del velo formado por las levaduras inoculadas, se observó que el 100% de las botas inoculadas formaron velo de flor, mientras que en el grupo control, sólo formaron el 70%. Todas las botas inoculadas mediante injerto presentaban un biofilm completo en la superficie del vino a la segunda semana, mientras que las inoculadas con levaduras en suspensión, no lo presentaron hasta pasadas 4 semanas. La formación de velo de flor fue diferente en función del sistema de inoculación aplicado (Figura 3).

Sensorialmente, el vino de las botas injertadas presentaba un carácter marcado de los aromas de crianza biológica, siendo además muy similares entre ellas, en cambio, el vino de las botas inoculadas presentaba mayor heterogeneidad en cuanto a los rasgos de crianza biológica.

Microcrianzas en laboratorio

La formación de velo de flor fue diferente en función de la cepa o el vino estudiado (Tabla 2), siendo más acelerada en el vino joven, seguido del vino de criadera. En el vino fino, la cepa C248 formó un biofilm muy fino que perdió su conformación a los pocos días de su formación, mientras que la cepa B13C9 no llegó a formar velo de flor. Sin embargo, en los matraces con este vino y esta cepa se observaron estructuras, que bajo microscopía, resultaron ser flóculos de levadura (Figura 4).

Respecto a la composición del vino, se encontraron diferencias significativas en función de la cepa inoculada (Tablas 4 y 5, Figuras 5 y 6). Destacando la producción de acetaldehído en la cepa C248 y el consumo de glicerol de B13C9.

DISCUSIÓN

La formación y mantenimiento del velo de flor es indispensable para una correcta producción de vino fino, por lo que el aporte de nutrientes desde una escala con menor crianza, que sucede durante la saca y rocío, es indispensable para este biofilm conforme nos acercamos a la solera, escala que contiene vinos con menor cantidad de nutrientes que el resto. La inoculación de levaduras en botas de bodega que acababan de ser rociadas ha sido efectiva, desarrollándose un velo de flor más rápido que en las botas control y siendo más efectivo el método de injerto que la inoculación de velo de flor resuspendido en vino. Comparando la formación de biofilm en función del método de inoculación (Figura 3), el velo formado con injerto es más homogéneo y compacto que el formado mediante inoculación sumergida, esto último se ha observado que produce un perfil organoléptico distinto.

Los diferentes metabolismos de las cepas se pueden apreciar en las microcrianzas realizadas en laboratorio, donde se observan diferencias en el consumo de glicerol y de ácido acético por parte de las cepas estudiadas (Tabla 3). El consumo de etanol no ha podido ser evaluado correctamente

debido a la evaporación que sufre este compuesto en las condiciones que hemos ensayado, este fenómeno ya ha sido expuesto por otros autores (Wollan *et al.*, 2016) y esperamos poder solventarlo en próximas publicaciones.

La ausencia de biofilm, o la formación de uno muy inestable, como ha ocurrido en el vino fino con las cepas B13C9 y C248, puede ser achacada a la ausencia de algún componente indispensable para estas levaduras, no se ha podido analizar aún la producción de volátiles mayoritarios para esta condición, no obstante, la presencia de colonias activas (Figura 4) podría conllevar cambios en la composición y perfil del vino.

Al analizar los parámetros generales y los compuestos volátiles mayoritarios tras las microcrianzas, se observan diferencias significativas para 4 o más de los grupos establecidos en 6 de los compuestos estudiados en el vino de tinaja y en 7 del vino de criadera, del total de los 16 estudiados.

Estos resultados son de interés en la crianza biológica, pues suponen un avance en el control de este proceso, la selección de cepas puede solucionar problemas como el uso de vinos con demasiado etanol, glicerol o ácido acético derivados de la fermentación de mosto de uva sobremadura (Arrizabalaga-Arriazu *et al.*, 2021), el mantenimiento de la crianza biológica en vinos de solera o la inoculación de velo de flor en bodega, de una manera eficaz mediante el procedimiento de injerto descrito en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido cofinanciada por el contrato ART. 83 OTRI con la compañía Pérez Barquero asociado al CDTI 2022 "Aceleración Biológica y Adaptación a Elevada Acidez Volátil en Vinos Tranquilos" (Referencia: 12022188; JCM) y por el proyecto MICINN-plan estatal 2021-2023 de investigación científica, técnica y de innovación Referencia: PID2021-127766OB-I00.

REFERENCIAS

Arrizabalaga-Arriazu, M.; Gomès E., Morales, F.; Irigoyen, J.J.; Pascual, I. y Ghislaine Hilbert, G. (2021) "Impact of 2100-Projected Air Temperature, Carbon Dioxide, and Water Scarcity on Grape Primary and Secondary Metabolites of Different *Vitis vinifera* cv. Tempranillo Clones". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69 (22), 2021, 6172-6185.

Carbonero-Pacheco, J.; Moreno-García, J.; Moreno, J.; García-Martínez, T.; Mauricio, J.C. (2022). "Revealing the Yeast Diversity of the Flor Biofilm Microbiota in Sherry Wines Through Internal Transcribed Spacer-Metabarcoding and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry". Frontiers in Microbiology, 12, 2022, 1-10.

Cañas, I.; Navia-Osorio, E. G.; Porras-Amores, C.; Mazarrón, F.R.; (2022). "Hygrothermal conditions for the biological aging of sherry wine". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 82, 1-11.

Legras, J.-L.; Moreno-Garcia, J.; Zara, S.; Zara, G.; Garcia-Martinez, T.; Mauricio, J. C. (2016). "Flor yeast: new perspectives beyond wine aging". *Frontiers in Microbiology*, 7, 2016, 1-11.

Moreno-García, J.; Mauricio, J. C.; Moreno, J. y García-Martínez, T. (2017). "Differential proteome analysis of a flor yeast strain under biofilm formation". *International Journal of Molecular Science*, 18, 2017, 1-18.

Ruiz-Muñoz, M.; Cordero-Bueso, G.; Benítez-Trujillo, F.; Martínez, S.; Pérez, F. y Cantoral, J. M. (2020). "Rethinking about flor yeast diversity and its dynamic in the "criaderas and soleras" biological aging system". *Food Microbiology*, 92, 2020, 1-9.

Valcárcel-Muñoz M.J.; Guerrero-Chanivet, M.; Rodríguez-Dodero, M.C.; García-Moreno, M.V.; y Guillén-Sánchez, D. A. (2022). "Analytical and Chemometric Characterization of Fino and Amontillado Sherries during Aging in Criaderas y Solera System". *Molecules*, 27, 2022, 1-25.

Wollan, D.; Pham, D-T. y Wilkinson, K. L. (2016). "Changes in wine ethanol content due to evaporation from wine glasses and implications for sensory analysis.". *Journal of Agricultural Food* Chemistry, 64, 2016, 7569–7575.



Figura 1. Métodos de inoculación ensayados en bodega. A) Injerto de velo de flormediante paleta, inoculación en superficie. B) Inoculación de velo de flor resuspendido en vino, en profundidad.

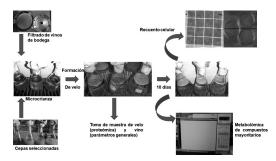


Figura 2. Esquema de la metodología empleada en laboratorio

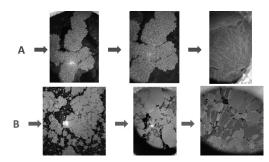


Figura 3. Evolución del velo de flor en botas de bodega en función del método de inoculación. A) Mediante injerto con paleta, en superficie. B) Mediante inoculación de velo resuspendido, en profundidad.

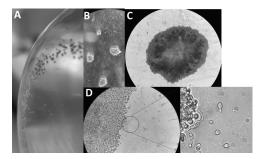


Figura 4. Colonias de levaduras en los matraces de vino fino inoculados con la cepa B13C9. A) Detalle de las colonias en matraz. B),C),D) Observación a distintos aumentos de los flóculos bajo microscopía óptica, donde se observan células dividiéndose.

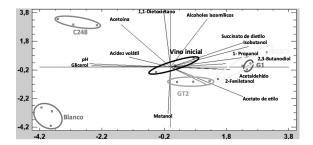


Figura 5. Análisis de componentes principales, en los experimentos con vino joven, los puntos agrupados representan cada una de las cepas estudiadas.

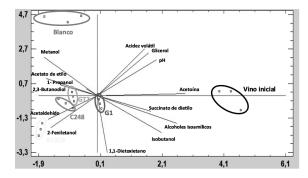


Figura 6. Análisis de componentes principales, en los experimentos con vino de criadera, los puntos agrupados representan cada una de las cepas estudiadas.

Tabla 1. Parámetros generales de los vinos utilizados en microcrianza

	Vino joven	Vino de criadera	Vino fino viejo		
Etanol (v/v)	$14,38 \pm 0,1$	15,02 ± 0,1	$15,64 \pm 0,1$		
рН	$3,38 \pm 0,03$	$3,25 \pm 0,03$	$3,08 \pm 0,03$		
Acidez titulable (g/L)	5,06 ± 0,2	$4,67 \pm 0,2$	$4,33 \pm 0,2$		
Acidez volátil (g/L)	0.17 ± 0.01	0,16 ± 0,01	0,1 ± 0,01		
Glicerol (g/L)	6,14 ± 0,1	$3 \pm 0,1$	0.1 ± 0.1		

Tabla 2. Formación de velo en las microcrianzas de laboratorio, en función de la cepa y el vino empleados

Vino joven								
Cepa	Formación velo (días)	Células totales/g	Células viables/g	Aspecto del velo				
G1	17	2,22*109	1,7*108	Crema, grueso				
GT2	13	1,16*10 ¹⁰	6,2*108	Crema, grueso				
C248	17	1,04*109	6,2*10 ⁷	Crema, muy fino				
B13C9	19	1,36*10 ¹⁰ 6,57*10 ⁸		Crema, muy grueso				
Vino d	Vino de criadera							
Cepa	Formación velo (días)	Células totales/g	Células viables/g	Aspecto del velo				
G1	21	4,2*109	2,7*108	Crema, grueso				
GT2	21	1,65*1010	8,08*108	Crema, grueso				
C248	26	4,96*109	3,63*108	Crema, muy fino				
B13C9	29	1,46*1010	6,79*10 ⁸	Crema, muy grueso				
Vino fi	Vino fino							
Cepa	Formación velo (días)	Células totales/g	Células viables/g	Aspecto del velo				
G1	35	5,51*109	4.23*108	Muy blanco, fino				
GT2	35	1,62*109	5,51*10 ⁸	Muy blanco, fino				
C248	42	-	-	Translúcido, inestable				
B13C9	-	-	-	-				

Tabla 3. Parámetros generales de los vinos tras 10 días de haber formado velo o al finalizar el experimento (Blanco)

Vino joven							
,	G1	GT2	C248	B13C9	Blanco	Vino inicial	
Etanol (v/v)	12,49 ± 0,1	12,54 ± 0,1	12,64 ± 0,1	12,47 ± 0,1	12,27 ± 0,1	14,38 ± 0,1	
рН	$3,19 \pm 0,03$	$3,33 \pm 0,03$	$3,33 \pm 0,03$	3,19 ± 0,03	$3,12 \pm 0,03$	$3,38 \pm 0.03$	
Acidez titulable (g/L)	4,46 ± 0,2	$4,43 \pm 0,2$	$4,68 \pm 0,2$	4,54 ± 0,2	4,77 ± 0,2	5,06 ± 0,2	
Acidez volátil (g/L)	0,15 ± 0,01	0.08 ± 0.01	0,21 ± 0,013	0,09 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	
Glicerol (g/L)	$3,86 \pm 0,1$	5,16 ± 0,1	5,76 ± 0,1	4,05 ± 0,1	6,18 ± 0,1	6,14 ± 0,1	
Vino de	criadera						
	G1	GT2	C248	B13C9	Blanco	Vino inicial	
Alcohol (v/v)	12,82 ± 0,1	12,82 ± 0,1	12,27 ± 0,1	12,16 ± 0,1	12,77 ± 0,1	15,02 ± 0,1	
рН	$3,22 \pm 0,03$	3,19 ± 0,03	3,11 ± 0,03	$3,13 \pm 0,03$	$3,25 \pm 0,03$	$3,25 \pm 0,03$	
Acidez titulable (g/L)	4,429 ± 0,2	4,24 ± 0,2	$4,485 \pm 0,2$	$4,07 \pm 0,2$	$4,786 \pm 0,2$	4,67 ± 0,2	
Acidez volátil (g/L)	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,2 ± 0,02	0,16 ± 0,01	
Glicerol (g/L)	2,6 ± 0,2	2,08 ± 0,26	2,71 ± 0,2	1,46 ± 0,18	3,12 ± 0,2	3 ± 0,2	
Vino fino)						
	G1	GT2	C248	B13C9	Blanco	Vino inicial	
Alcohol (v/v)	11,47 ± 0,1	11,6 ± 0,1	11,48 ± 0,1	11,53 ± 0,1	11,62 ± 0,1	15,64 ± 0,1	
рН	$3,06 \pm 0,03$	$3,09 \pm 0,03$	$3,03 \pm 0,03$	$3,04 \pm 0,03$	$3,03 \pm 0,03$	$3,08 \pm 0,03$	
Acidez titulable (g/L)	4,51 ± 0,2	4,8 ± 0,2	$4,46 \pm 0,2$	$4,55 \pm 0,2$	4,7 ± 0,2	4,33 ± 0,2	
Acidez volátil (g/L)	0,05 ± 0,01	0,27 ± 0,05	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,1	0,08 ± 0,1	0,1 ± 0,01	
Glicerol (g/L)	0 ± 0,1	0 ± 0,1	0 ± 0,1	0,13 ± 0,1	0,04 ± 0,1	0,1 ± 0,1	

Tabla 4. Volátiles mayoritarios, desviación estándar (\pm) y grupo homogéneo $^{(a,b,c...)}$ asignado a cada variable medida, en función de la cepa inoculada en vino joven.

Joven	Blanco	Vino inicial	B13C9	GT2	G1	C248
Acetaldehído (mg/L)	95,76 ± 1,22°	299,27 ± 6,51 ^a	361,99 ± 6,40°	354,06 ± 32,96°	299,27 ± 6,51 ^b	702,36 ± 34,69 ^d
Acetato de etilo (mg/L)	8,06 ± 1,31 ^b	O ^a	11,87 ± 0,21 ^d	10,96 ± 0,33°	15,17 ± 0,06e	11,13 ± 0,26 ^{cd}
1,1-Dietoxietano (mg/L)	5,19 ± 7,34°	27,97 ± 1,23°	18,69 ± 0,34 ^{cd}	13,59 ± 0,03 ^b	14,70 ± 0,12 ^{bc}	19,42 ± 0,45 ^d
Metanol (mg/L)	62,57 ± 4,73 ^b	39,65 ± 8,54ª	49,72 ± 12,82 ^{ab}	52,28 ± 1,12 ^{ab}	50,97 ± 4,8 ^{ab}	52,38 ± 6,02 ^{ab}
1-Propanol (mg/L)	56,18 ± 0,67ª	60,11 ± 1,69ab	65,74 ± 5,11 ^{bc}	65,84 ± 3,57 ^{bc}	69,66 ± 2,77°	66,42 ± 3,1°
Isobutanol (mg/L)	11,57 ± 0,12ª	15,41 ± 0,30 ^b	18,23 ± 0,47°	15,77 ± 0,03 ^b	19,74 ± 0,06 ^d	15,49 ± 0,34 ^b
Alcohol isoamílico (mg/L)	189,08 ± 0,84ª	237,43 ± 2,20 ^d	229,98 ± 3,57°	219,02 ± 0,31 ^b	229,39 ± 0,11°	235,07 ± 3,73 ^d
Acetoína (mg/L)	8,70 ± 0,73°	30,61 ± 5,11 ^b	7,84 ± 0,89ª	7,82 ± 0,67ª	9,16 ± 0,72ª	9,27 ± 1,84°
Lactato de etilo (mg/L)	26,13 ± 0,46 ^{ab}	24,88 ± 2,77ª	27,39 ± 0,98ab	31,18 ± 1,12°	25,99 ± 0,26 ^{ab}	27,86 ± 2,15 ^b
2,3-butanodiol (1 + m) (mg/L)	851,36 ± 50,01 ^{ab}	911,03 ± 237,67 ^{abc}	1038,81 ± 127,16 ^{bc}	1031,86 ± 40,22 ^{abc}	1114,55 ± 26,63°	802,56 ± 115,47 ^a
Succinato de dietilo (mg/L)	6,06 ± 1,25°	37,38 ± 5,38 ^b	47,55 ± 2,34°	49,26 ± 4,07°	48,25 ± 2,41°	39,49 ± 1,03 ^b
2-feniletanol (mg/L)	16,87 ± 0,53°	16,26 ± 1,43°	29,06 ± 0,68°	21,01 ± 1,44 ^b	22,70 ± 0,63 ^b	30,82 ± 0,75°

Tabla 5. Volátiles mayoritarios, desviación estándar (±) y grupo homogéneo (a,b,c...) asignado a cada variable medida, en función de la cepa inoculada en vino de criadera.

Criadera	Blanco	Vino inicial	B13C9	GT2	G1	C248
Acetaldehído (mg/L)	99,03 ± 19,06 ^a	164,34 ± 6,51 ^b	436,56 ± 10,94°	497,63 ± 33,31 ^d	471,6 ± 10,01 ^d	819,67 ± 21,63°
Acetato de etilo (mg/L)	14,61 ± 3,04 ^b	O^a	12,66 ± 2,85 ^b	12,52 ± 0,99 ^b	O ^a	O ^a
1,1-Dietoxietano (mg/L)	5,20 ± 7,36 ^a	25,80 ± 0,28°	31,89 ± 0,42 ^d	16,74 ± 0,02 ^b	27,03 ± 0,31°	24,87 ± 0,17°
Metanol (mg/L)	80,33 ± 18,79 ^b	42,51 ± 11,94°	57,65 ± 9,87ª	59,81 ± 2 ^{ab}	58,05 ± 13,18 ^a	55,37 ± 6,94°
1-Propanol	57,63 ± 6,18 ^{bc}	47,92 ± 2,53°	49,95 ± 2,07 ^{ab}	58,60 ± 4,90°	63,62 ± 5,17°	58,44 ± 0,74°
Isobutanol (mg/L)	35,53 ± 0,52 ^a	46,37 ± 1,81 ^d	42,19 ± 0,10°	42,44 ± 0,15°	39,83 ± 0,16 ^b	39,24 ± 0,52 ^b
Alcohol isoamílico (mg/L)	301,07 ± 2,66°	368,35 ± 12,09 ^d	324,54 ± 2,36 ^b	338,70 ± 1,27°	331,79 ± 1,22 ^{bc}	327,43 ± 3,64 ^b
Acetoína (mg/L)	9,88 ± 3,06 ^a	55,84 ± 11,27 ^b	6,26 ± 0,23ª	7,08 ± 1,89a	8,92 ± 0,08 ^a	7,71 ± 0,12 ^a
Lactato de etilo (mg/L)	289,71 ± 15,19 ^a	287,81 ± 32,36 ^a	306,2 ± 6,23 ^a	286,27 ± 21,60 ^a	289,56 ± 5,17 ^a	293,11 ± 3,04 ^a
2,3-butanodiol (l + m) (mg/L)	1332,98 ± 416,57 ^{ab}	1172,58 ± 195,70 ^{ab}	1341,19 ± 61,62 ^b	1008,56 ± 188,71a	1171,33 ± 42,91 ^{ab}	1049,33 ± 41,20 ^{ab}
Succinato de dietilo (mg/L)	21,51 ± 1,19ª	62,43 ± 9,38°	33,65 ± 0,01 ^b	25,96 ± 5,74 ^{ab}	80,96 ± 2,66 ^d	21,87 ± 0,36 ^a
2-Feniletanol	38,34 ± 7,25 ^a	34,51 ± 2,94°	48,58 ± 3,54 ^b	35,85 ± 3,82 ^a	36,99 ± 0,81ª	37,39 ± 0,22ª