

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA TIERRA DE BARROS

IV Congreso Agroalimentario de Extremadura

CENTRO UNIVERSITARIO SANTA ANA ALMENDRALEJO



Del 3 al 6 de Mayo 2022

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
DE LA TIERRA DE BARROS
IV 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:

© ALBERTO CATILLO

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: Virginia Pedrero

ISBN: 978-84-7930-112-0

D.L.:

Imprime: Impresal

Tolerancia al etanol de levaduras no- *Saccharomyces* aisladas en botas de vino fino en la D.O.P Montilla-Moriles

CARBONERO-PACHECO, J.

MORENO-GARCÍA, J.

GARCÍA-MARTÍNEZ, T.

MORENO, T.

MAURICIO, J.C.

Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. Campus de Rabanales, Edificio C6, 14071 Córdoba, España.

RESUMEN

El fino es un vino elaborado en el sur de España, es un ambiente muy extremo, sin fuentes fermentables de azúcar y con alto porcentaje en alcohol (15%), donde predominan las cepas formadoras de velo de flor de *Saccharomyces cerevisiae*. Mediante el uso de un medio sintético en laboratorio llamado recrecimiento, han sido aisladas de muestras de botas de vino fino junto a *S. cerevisiae*, las levaduras no-*Saccharomyces*: *Candida krusei*, *Candida valida*, *Pichia manshurica* y *Rhodotorula mucilaginosa*, identificadas mediante espectrometría MALDI-TOF MS.

Estas levaduras fueron sometidas a un ensayo de tolerancia al etanol, mostrando la mayoría crecimiento a niveles superiores

al 7,5% (v/v). Como conclusión, las botas de vino fino pueden ser un nicho de interés en la búsqueda de cepas de levadura con alta tolerancia al etanol.

ABSTRACT

Fino is a wine produced in southern Spain, it's a very extreme environment, with no fermentable sugar sources and a high ethanol content (15% v/v), where *Saccharomyces cerevisiae* flor yeast strains predominate. Using a synthetic laboratory medium called "regrowth", the non-*Saccharomyces* yeasts *Candida krusei*, *Candida valida*, *Pichia manshurica* and *Rhodotorula mucilaginosa* were isolated together with *S. cerevisiae* in fino wine barrel samples and identified with MALDI-TOF MS spectrometry.

The ethanol tolerance of these yeasts was tested, showing growth at levels above 7.5% of ethanol. As conclusion, fino wine barrels could be an interesting niche for yeast with high ethanol tolerance isolation.

INTRODUCCIÓN

El fino es un vino elaborado en el sur de España, principalmente en las denominaciones de origen (D.O.P.) de Jerez, Montilla-Moriles y el Condado de Huelva. Se elabora mediante un método tradicional denominado sistema de "criaderas y solera", este sistema permite el envejecimiento del vino, su homogeneización y la entrada de nutrientes a las escalas que contienen el vino más viejo. Es un ambiente muy extremo, sin fuentes fermentables de azúcar y con alto porcentaje en alcohol (15%), donde predominan las cepas formadoras de velo de flor de *Saccharomyces cerevisiae* (Ruiz-Muñoz *et al.*, 2020).

Recientemente se ha descubierto un método que activa las levaduras no-*Saccharomyces* presentes en este entorno y se ha barajado la posibilidad de que tengan una mayor tolerancia al etanol que otras cepas (Carbonero-Pacheco *et al.*, 2022).

El objetivo de este trabajo fue identificar las levaduras que se encuentran en el velo de flor y las lías de botas de vino fino de diferentes escalas y testar su tolerancia al etanol.

METODOLOGÍA

Las muestras de velo y lía fueron recogidas en botas de solera, segunda y tercera criadera, para la recogida de velo se utilizó una red metálica previamente esterilizada mediante el uso de alcohol de 96% (v/v) y mechero Bunsen, para la recogida de lías se utilizó una goma de plástico, lavada entre cada bota y una bomba de vacío para succionar desde el fondo.

En laboratorio, las muestras fueron tratadas con el protocolo de recuento descrito en Carbonero-Pacheco et al. (2022), para posteriormente sembrarse en placas de agar YPD (2% glucosa; 2% peptona; 1% extracto de levadura; 2% agar) mediante dilución seriada. Posteriormente, se seleccionaron colonias al azar, que fueron identificadas mediante espectrometría MALDI-TOF, como se describe en Carbonero-Pacheco et al. (2022).

Para testar la tolerancia al etanol se utilizó un medio con sacarosa (1%), peptona (0,5%), extracto de levadura (0,3%) y alcohol vínico a diferentes concentraciones (5, 7, 10, 12%, v/v) para comprobar el umbral de crecimiento de cada aislado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron aislados de diferentes especies, entre ellas *Candida krusei*, *Candida valida*, *Pichia manshurica*, *Rhodotorula mucilaginosa* y *Saccharomyces cerevisiae*. Las proporciones de cada especie variaban no solo en las distintas escalas del sistema, sino en el velo y las lías de una misma bota.

El ensayo de tolerancia al etanol reveló que la mayoría de las especies presentes en este ambiente, son capaces de crecer en concentraciones altas de alcohol, superando en muchos casos el 7,5% (v/v), siendo esto un fenómeno poco común en levaduras no-*Saccharomyces* (Vicente et al., 2021; Pretorius, 2016).

Como conclusión, las botas de vino fino pueden ser un nicho de interés en la búsqueda de cepas de levadura con alta tolerancia al etanol.

BIBLIOGRAFÍA

Carbonero-Pacheco, J., Moreno-García, J., Moreno, J., García-Martínez, T., y Mauricio, J. C. "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, 825756.

Pretorius, I. "Conducting Wine Symphonics with the Aid of Yeast Genomics" *Beverages*, 2(4), 2016, 1-28.

Ruiz-Muñoz, M., Cordero-Bueso, G., Benítez-Trujillo, F., Martínez, S., Pérez, F., y Cantoral, J. M. "Rethinking about flor yeast diversity and its dynamic in the "criaderas and soleras" biological aging system". *Food Microbiology*, 92, 2020, 103553.

Vicente, J., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., y Benito, S. "High Potential of and Other Species in Wine Technology". *Int. J. Mol. Sci.*, 22(3), 2021,1-15.