

# SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN ENOLÓGICA DE LEVADURAS NATIVAS DE PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

## SELECTION AND ENOLOGICAL CHARACTERIZATION OF NATIVE YEAST OF PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

Cristian Gonzalo Benitez\*, Amalia María Ortega, Macarena Peynado, José Torrejón y Alfredo Agüero

Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Alberdi 47 San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. C.P. 4600

\*Autor para correspondencia:  
benitezcristiangonzalo@gmail.com

Licencia:  
[Licencia Creative Commons](#)  
[Atribución-NoComercial-](#)  
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:  
Diciembre 2020

Historial:  
Recibido: 13/07/2020  
Aceptado: 16/09/2020

### RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo seleccionar y caracterizar levaduras nativas con potencial enológico de la localidad de Purmamarca, Jujuy. Se estudiaron levaduras aisladas, provenientes de uvas de distintas variedades, obtenidas por estudios previos. Se conformó una muestra con 20 levaduras, en las que se determinó su rendimiento en el proceso fermentativo, y su influencia sobre las características sensoriales del vino. Las levaduras MP20, 21, 26 y 27, identificadas como *Saccharomyces cerevisiae*, presentaron un elevado poder fermentativo, resistencia al anhídrido sulfuroso, baja formación de espuma, sedimento, actividad  $\beta$ -glucosidasa y una baja producción de ácido acético. La levadura no-*Saccharomyces* MP3, identificada como *Clavispora lusitaniae*, también presentó características enológicas eficientes. Estas levaduras podrían ser un punto de partida para la producción de vinos que presenten características propias de la región, de manera rentable y sostenible, innovando con valor agregado en un mercado tan competitivo como el actual.

**Palabras clave:** levaduras, nativas, Purmamarca

### SUMMARY

This research had the objective to characterise native yeasts with oenological potential from Purmamarca town, Jujuy. Isolated yeasts from grapes of different varieties, obtained from previous studies were studied. A sample was made up with 20 yeasts, in which its performance in the fermentation process, and its influence on the sensory characteristics of wine was determined. MP20, 21, 26 and 27 yeasts, identified as *Saccharomyces cerevisiae*, showed a high fermenting power, resistance to sulphur dioxide, low foam formation, sediment,  $\beta$ -glucosidase activity, and low production of acetic acid. Non-*Saccharomyces* MP3 yeasts, identified as *Clavispora*

*lusitaniae*, also showed efficient oenological characteristics. These yeasts could be a starting point for wine production with regional characteristics, in a profitable and sustainable way, innovating with added value in a market as competitive as the current one.

**Keywords:** native, Purmamarca, yeasts

## INTRODUCCIÓN

La localidad de Purmamarca, en la provincia de Jujuy, Argentina, representa una región particular y por lo tanto única para el desarrollo de la industria vitivinícola, puesto que el clima, suelo, la uva, pureza del aire, altura, gran luminosidad y radiación de la región constituyen el potencial requerido en la producción de vinos de calidad diferenciada, los cuales resultan en productos con un alto grado de alcohol y una franca estabilidad en el aroma y color.

A pesar de que la práctica enológica con levaduras secas activas (LSA) comerciales se encuentra enraizada en las bodegas de la región, resultan viables las inoculaciones con levaduras autóctonas seleccionadas (Capece *et al.*, 2010; Formento *et al.*, 2011; Suranská, Vránová y Omelková, 2016). Estas pueden influir de forma decisiva en la obtención de vinos típicos con una calidad estandarizada (Tristezza *et al.*, 2014; Capozzi, Garofalo, Chiriatti, Grieco y Spano, 2015), además de reflejar la biodiversidad propia de la zona donde se encuentran, formando parte del "terroir" (Bokulich, Thorngate, Richardson, Mills, 2014; Gilbert, van der Lelie, Zarraonaindia, 2014) de los vinos de Purmamarca.

En Italia, Tufariello y otros (2019), aislaron, identificaron y caracterizaron 15 levaduras *S. cerevisiae* indígenas para llevar a cabo el proceso fermentativo a nivel industrial, donde 3 cepas dominaron con éxito dicho proceso, contribuyendo a mejorar la calidad organoléptica de los vinos producidos. Franco y otros (2019) aislaron e identificaron de viñedos chilenos, las levaduras *Rhodotorula glutinis*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Hanseniaspora uvarum* como cepas capaces de producir vinos estables con un contenido de alcohol reducido. En República Checa y Eslovaquia,

Đurčanská y otros (2019) estudiaron 48 levaduras *Saccharomyces* aisladas de viñedos de distintas regiones de ambos países, consiguiendo 17 cepas con potencial para ser cultivos iniciadores en la producción de vinos típicos. En China, Pei-Tong Liu y otros (2016) determinaron que las levaduras indígenas no-*Saccharomyces*, entre ellas *Candida stella*, *Pichia fermentans* y *Issatchenkia orientalis*, podrían desempeñarse correctamente en fermentaciones mixtas con *Saccharomyces*, capaces de influir de forma decisiva sobre los perfiles aromáticos. En el estudio realizado por Cases en España (2019) se aislaron de distintas variedades de uva, 32 levaduras siendo *H. uvarum* la más eficiente, produciendo vinos con características organolépticas óptimas y una mayor complejidad.

Distintos autores (Suarez Lepe e Íñigo Leal, 2004; Pretorius, 2000; Regodon, 1997) afirman que las levaduras con características enológicas eficientes deben presentar un adecuado arranque y correcta cinética de fermentación, escasa producción de espuma, rápida formación de sedimento para la obtención de vinos límpidos e inexistencia de la formación de película/anillo. Resulta imprescindible su capacidad de producir y tolerar el etanol con el fin de garantizar la finalización del proceso fermentativo (Barrajón, Arévalo-Villena, Úbeda y Briones, 2011), que sea resistente al SO<sub>2</sub>, que contenga a la enzima β-glucosidasa para ejercer su actividad en la obtención de compuestos volátiles, que genere trazas de acidez volátil y cantidades mínimas de compuestos azufrados que pueden interferir en la expresión aromática del vino.

De las levaduras nativas aisladas de uvas en Purmamarca, se evaluaron características tecnológicas para determinar su eficiencia en el proceso de fermentación y características cualitativas para determinar su participación en las

calidades sensoriales de los vinos, con el objetivo de seleccionar las que presenten características enológicas eficientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Procedencia de las cepas de levaduras

Las levaduras utilizadas para este trabajo fueron proporcionadas por la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNJu. En el año 2019, se desarrollaron investigaciones basadas en el aislamiento de levaduras vínicas, conseguidas a través de muestras de uva de diferentes viñedos situados en la localidad de Purmamarca, Jujuy, Argentina. Como resultado de estos trabajos se conformó una colección de 20 levaduras nativas de la zona, las cuales se encuentran bajo condiciones de mantenimiento.

### Preparación de la colección de trabajo

De cada cepa se extrajo una alícuota del tubo de mantenimiento, se sembró en tubos con 2 mL del medio líquido YPD (extracto de levadura 1%, peptona 2%, glucosa 2%) y se incubó en estufa durante 24 hs a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . La pureza de los cultivos se confirmó mediante observaciones microscópicas y macroscópicas.

Los ensayos fueron realizados con levaduras en fase exponencial, en mosto pasteurizado ( $60^\circ\text{C}$  durante 15 minutos), por duplicado.

### Características tecnológicas

#### Tolerancia al etanol (Abad Arranz, 2006)

Cada levadura se sembró en una serie de tres 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  $28^\circ\text{C}$  durante 7 días. El desplazamiento del tapón indica que la levadura fermentó y produjo  $\text{CO}_2$  resistiendo la concentración de etanol del medio.

#### Poder de fermentación (Abad Arranz, 2006)

El poder fermentativo se calculó gravimétricamente con el peso inicial y el peso final

de la fermentación de 30 mL de mosto. La pérdida de peso se registró diariamente para graficar las curvas de fermentación.

$$PF (\%v/v \text{ en etanol}) = [P \text{ inicial (g)} - P \text{ final (g)} * 1,5].$$

#### Cinética de fermentación (Abad Arranz, 2006)

Se construyó la curva de cinética tomando los datos inversos de pérdida de peso, producidos por la liberación de  $\text{CO}_2 = [P \text{ final (g)} - P \text{ inicial (g)}]$ .

#### Resistencia al anhídrido sulfuroso (Furlani *et al.*, 2017)

Cada levadura se sembró en una serie de tres tubos con mosto con diferentes concentraciones de anhídrido sulfuroso (50-100-300 ppm). Los tubos se sellaron con tapón de vas-par para poner en evidencia el crecimiento de la levadura.

#### Formación de espuma (Nikolaou, Soufleros, Bouloumpasi y Tzanetakakis, 2004)

Cada levadura se sembró en tubos con mosto. Se midió la altura máxima alcanzada por la espuma al cabo de 10 días y se clasificaron en tres categorías: F0 (menor a 2 milímetros), F1 (entre 2 y 4 milímetros) y F2 (mayor de 4 milímetros).

#### Formación de sustancias adherentes (Rainieri y Pretorius, 2000)

Se observó la formación de película o anillo.

#### Formación de sedimentos (Rainieri y Pretorius, 2000)

Se observó la formación de sedimentos y de flóculos.

### Características cualitativas

#### Actividad $\beta$ -glucosidasa (Hernández, Espinosa, Fernández-González y Briones, 2003)

Se sembraron 5  $\mu\text{L}$  de las levaduras en un medio de cultivo específico para evidenciar la actividad  $\beta$ -glucosidasa (Extracto de levadura 1%; peptona 2%, glucosa 2%; citrato de Hierro Amonio 0,02%; esculina 0,5%; agar 2%). La actividad se evidenció por la presencia de un halo negro que se forma alrededor de la colonia por la reacción entre la esculina hidrolizada, que se transforma

en esculetina por la actividad enzimática de la  $\beta$ -glucosidasa, y la sal férrica soluble.

### Formación de ácido a partir de glucosa (Kurtzman y Cayó, 1998)

En cada placa de Petri se utilizó el medio específico para evidenciar la formación de ácido (Extracto de levadura 0,5%; glucosa 2%; carbonato de calcio 1%; agar 2,5%). Se sembraron 5  $\mu$ L de las cepas. La producción de ácido a partir de glucosa se evidencia 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 cuantificó de la siguiente manera:

- ++++ halo de disolución mayor a 3 mm/alta formación de ácido
- +++ halo de disolución entre 2-3 mm/baja formación de ácido
- ++ halo de disolución mayor entre 1 y 2 mm/leve formación de ácido
- + halo de disolución menor a 1 mm/trazas de ácido

### Producción de ácido sulfhídrico (Nikolaou et al., 2004)

Se sembró por estría en agar Biggy. El medio de cultivo tiene sulfito de bismuto, siendo el sulfito el principal precursor de la producción excesiva de  $\text{SH}_2$ .

Las colonias se desarrollan de color chocolate a beige, de intensidad proporcional a la producción del sulfuro. 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. A continuación, se observó la coloración y los resultados asociados:

- ++++ chocolate/alta formación de  $\text{SH}_2$
- +++ beige-marrón/media formación de  $\text{SH}_2$
- ++ beige/baja formación de  $\text{SH}_2$
- +/- beige claro/trazas de  $\text{SH}_2$

### Identificación de las levaduras con características enológicas eficientes

La identificación de las cepas se realizó por Espectrometría de Masas en la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral. Las mismas se sembraron y procesaron bajo protocolos estandarizados de trabajos y se analizaron por MALDI-TOF-TOF para

su final identificación por base de datos SARAMIS.

### Análisis estadístico

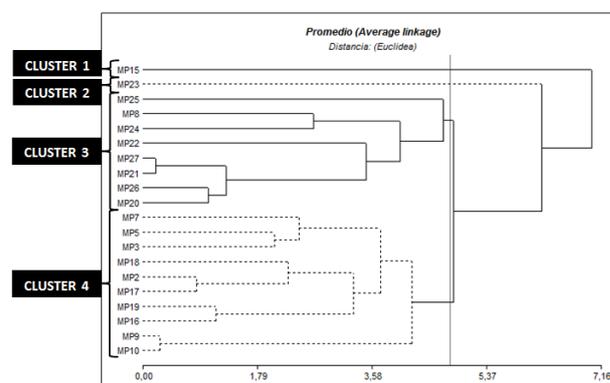
Con el fin de agrupar las cepas según la semejanza de sus características tecnológicas, cualitativas y de diferenciación, para poder facilitar el análisis de los resultados, se realizó un análisis de conglomerados a través del Software InfoStat versión 2017 (Di Rienzo y otros, 2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis conglomerados

Se contruyó una matriz de similitud a partir de la cual se consiguió un dendrograma con una distancia de corte de 4,8, en el cual se constituyen 4 cluster. Ver gráfico 1.

Gráfico 1. Dendrograma



Todas las levaduras pertenecientes al cluster N°3 (MP8, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 27), y una del cluster N°4 (MP3) se destacaron al presentar características enológicas eficientes, útiles como potenciales cultivos iniciadores en un proceso de vinificación. Los resultados de los ensayos realizados a las levaduras se detallan en la Tabla 1 y su identificación de género y especie en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Datos de análisis agrupados.

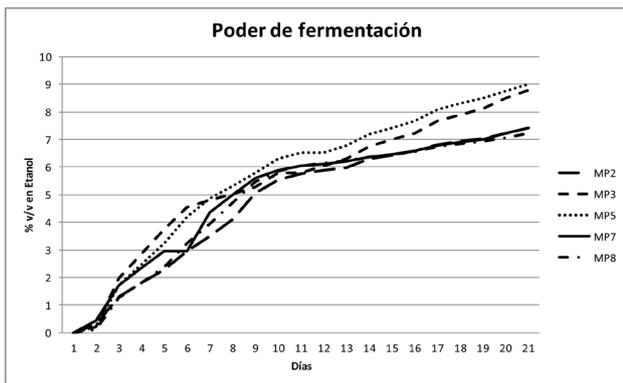
Levadura	Características tecnológicas											Características cualitativas		
	Resistencia al alcohol			Poder de fermentación	Cinética de fermentación	Resistencia al anhídrido sulfuroso			Formación de espuma	Formación de sedimentos	Formación de sustancias adherentes	Actividad $\beta$ -glucosidasa	Formación de ácido acético	Formación de ácido sulfhídrico
	10%	12%	15%			50 ppm	100 ppm	300 ppm						
MP2	+	+	+	7,41	4,94	+	+	-	F0	+	+	-	+	+++
MP3	+	+	+	8,79	5,86	+	+	-	F0	+	-	+	+	+
MP5	+	+	+	9,00	6,00	+	+	-	F0	+	-	-	+	+
MP7	+	+	+	7,40	4,93	+	+	-	F0	+	-	-	+	+++
MP8	+	+	+	7,22	4,81	+	+	+	F0	+	-	+	+	+++
MP9	+	+	-	8,96	5,97	+	+	-	F0	+	+	-	+	++++
MP10	+	+	-	8,60	5,73	+	+	-	F0	+	+	-	+	++++
MP15	-	-	-	6,37	4,24	+	-	-	F1	+	+	+	+	+
MP16	-	-	-	6,15	4,10	+	+	-	F0	+	+	+	+	++++
MP17	+	+	+	7,55	5,03	+	+	-	F0	+	+	-	+	++++
MP18	+	+	+	6,29	4,19	+	+	-	F0	+	+	-	+	+
MP19	-	-	-	7,68	5,12	+	+	-	F0	+	+	+	+	++++
MP20	+	+	+	9,81	6,54	+	+	+	F0	+	+	+	+	+++
MP21	+	+	+	11,58	7,72	+	+	+	F0	+	+	+	+	+++
MP22	+	+	-	11,63	7,75	+	+	+	F0	+	+	+	+	+++
MP23	+	-	-	10,81	7,21	+	+	-	F0	+	+	+	+	+
MP24	+	+	+	6,29	4,19	+	+	+	F0	+	+	+	+	++++
MP25	-	-	-	7,47	4,98	+	+	+	F1	+	+	+	+	++++
MP26	+	+	+	10,61	7,07	+	+	+	F0	+	+	+	+	++
MP27	+	+	+	11,86	7,90	+	+	+	F0	+	+	+	+	+++

**Tabla 2.** Identificación de las cepas

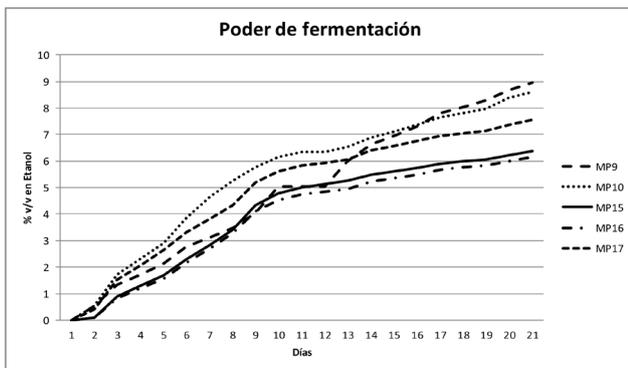
Identificación	
Código	Género y especie
MP2-MP8-MP15-MP16-MP19-MP24	<i>Candida krusei</i>
MP3-MP5-MP7-MP10-MP18	<i>Clavispora lusitaniae</i>
MP20-MP21-MP26-MP27	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
MP9-MP17-MP22-MP23-MP25	No identificadas

Las cepas MP20, 21, 26 y 27 fueron identificadas como *S. cerevisiae*. Produjeron un promedio de 10,47% v/v de alcohol, ver Gráficos 4 y 5. El límite mínimo establecido por OIV para vinos es de 8,5% v/v de alcohol. El porcentaje fue similar al reportado por Tufariello (2019), donde las levaduras estudiadas produjeron vinos con un promedio de 12,11% v/v de alcohol.

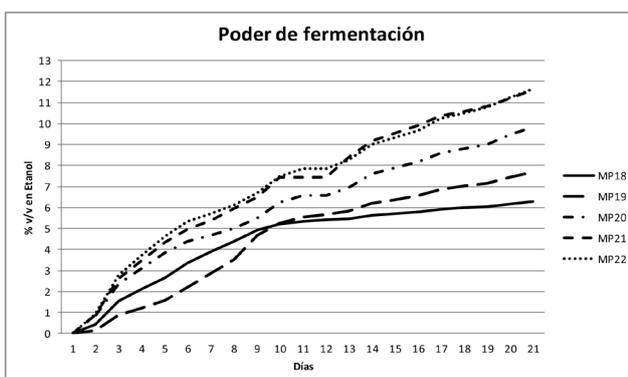
**Gráfico 2.** Marcha del poder de fermentación de levaduras MP2-MP8



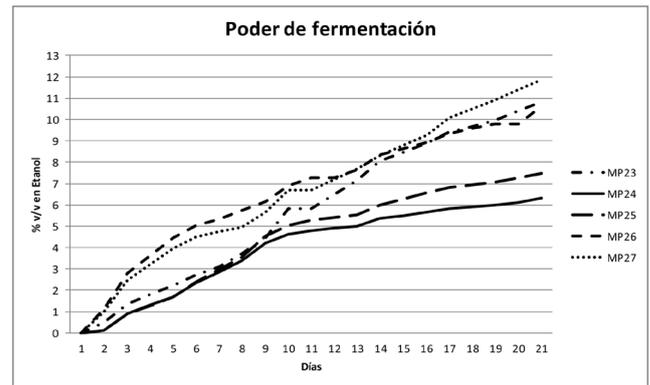
**Gráfico 3.** Marcha del poder de fermentación de levaduras MP9-MP17.



**Gráfico 4.** Marcha del poder de fermentación de levaduras MP18-MP22



**Gráfico 5.** Marcha del poder de fermentación de levaduras MP23-MP27



Las levaduras presentaron una cinética de fermentación correcta, liberando más de 6,5 g de CO<sub>2</sub> al finalizar los 21 días de fermentación, si la levadura presenta una cinética de fermentación lenta, la fase de latencia será mayor en el inicio del proceso, posibilitando ataques bacterianos u oxidantes y la fermentación tendrá problemas de acabado, dando una terminación incompleta en la metabolización de los azúcares por parte de la cepa y un consumo innecesario de energía para la refrigeración; en una fermentación rápida habrá desprendimientos calóricos bruscos, con un aumento excesivo de la temperatura que ocasionará pérdidas aromáticas, disminución en la calidad del vino y suspensión fermentativa por muertes térmicas de las levaduras (Abad Arranz, 2006). Presentaron la capacidad de tolerar la concentración más alta de alcohol probada, siendo proporcional a su capacidad de producirlo, este resultado tiene correlación con los encontrados en el trabajo de Đurčanská (2019), donde el 37% de las levaduras estudiadas toleraron el 20% v/v de alcohol. Todas las levaduras toleraron 300 ppm de anhídrido, superando ampliamente los 50 ppm de SO<sub>2</sub> total que se solicita resistir para ser adecuadas en la vinificación (OIV-OENO 370, 2012). El SO<sub>2</sub> es un agente antiséptico y antioxidante, naturalmente empleado en enología con el fin de conseguir la estabilidad microbiológica y caracterización de levaduras fermentativas. Cantidades moderadas de dicho agente (30 a 100 ppm), destruyen la mayoría de las especies débilmente fermentativas y muchas de las perjudiciales para la vinificación, mientras que concentraciones superiores a 200 ppm retrasan el inicio fermentativo y pueden inclusive conseguir inhibirlo (Zambonelli, 1998). También se registró una baja producción de espuma, menor a 2 mm (F0), y sedimentos, mientras menos espuma se produzca, quedarán

menos espacios de cabeza y el porcentaje de volumen utilizable será mayor (Valade, 2004). La sedimentación favorece la clarificación del vino y limpieza de las piletas de fermentación. Por otro lado, la presencia de película o anillo serían un indicio de la presencia de levaduras oxidativas no-*Saccharomyces* que pueden enturbiar, formar velos en los vinos o adherirse a las paredes de los fermentadores (García-Junco, 2001; Torija Martínez y María Jesús, 2002; Mas *et al.*, 2006).

Las levaduras presentaron actividad  $\beta$ -glucosidasa, acorde a lo informado por Āurĉanská (2019) donde todas las cepas utilizaron la enzima con diámetros variables de halo. Formaron trazas de ácido acético en las placas y una moderada concentración de ácido sulfhídrico. En el trabajo de Aponte (2016) la mayoría de las levaduras también produjeron una considerable cantidad de  $\text{SH}_2$ , mientras que en Capozzi (2019) y Tufariello (2019) más de la mitad de las cepas no formaron dicho ácido. El ácido acético es el principal ácido volátil del vino y es generado siempre en una fermentación alcohólica por la levadura. Tiene un aporte organoléptico negativo y por lo tanto no deseado, con una concentración permitida por la OIV, expresado ácido acético, 0,2 a 0,6 g/L. Tampoco se espera una elevada producción de ácido sulfhídrico y compuestos azufrados, puesto que los mismos generan olor a huevo podrido, cebolla podrida, plásticos o a neumáticos en los vinos (Esteve-Zarzoso, Gostincar, Bobet, Uruburu y Querol, 2000; Torija Martínez y María Jesús, 2002; Suarez Lepe e Íñigo Leal, 2004; Morata y otros, 2005; Mas *et al.*, 2006; Abad Arranz, 2006; Swiegers y Pretorius, 2007).

En las no-*Saccharomyces* destacadas están las cepas MP8 y 24 identificadas como *Candida krusei*, y la cepa MP3 como *Clavispora lusitaniae*. A la fecha, no existen trabajos que detallen la utilización de *C. krusei* en enología (se la considera un agente contaminante), mientras que en el caso de *C. lusitaniae*, Gutierrez Contreras y otros en Colombia (2011) la evaluaron en la fermentación alcohólica de jugo de fique, observando que en este medio la levadura produjo 33,81 g/L de etanol, un 43,25% más de lo producido por *S. cerevisiae*. El promedio de su poder fermentativo fue de 7,43% v/v de alcohol, próximo al 8,04% v/v de alcohol producido por las levaduras en el trabajo de Franco (2019). Toleraron elevadas concentraciones de etanol y anhídrido sulfuroso. El alcohol, junto con otros productos, es producido por las levaduras no-*Saccharomyces* en la primera etapa

de la fermentación alcohólica de los carbohidratos presentes en el mosto, los cuales contribuyen a la composición química y a la calidad sensorial del vino (Lambrechts y Pretorius, 2000). Su población se ve notoriamente reducida después de los primeros dos o tres días de la fermentación alcohólica por la vulnerabilidad que posee a la concentración de alcohol (5 a 6% v/v en la mayoría de las especies) que hay en esa etapa, siendo afectada la estructura de su membrana citoplasmática y sufriendo la pérdida de la actividad de ciertas enzimas de la glucólisis (Ricci *et al.*, 2004). Generaron poca espuma, mucho sedimento, la MP24 produjo sustancias adherentes. Las levaduras mostraron una débil producción de ácido acético y actividad  $\beta$ -glucosidasa. Respondieron notablemente a la actividad enzimática, considerando que los valores de pH del mosto de la uva y del vino se encuentran alrededor del 2,8 al 3,5, disminuyendo dicha actividad en un 33% (Hernández *et al.*, 2003). Comitini (2011) registró en la mayoría de las cepas una elevada producción de ácido sulfhídrico pero sólo el 30% presentó la enzima  $\beta$ -glucosidasa. Con dicha enzima, las cepas no-*Saccharomyces* poseen un papel sobre el aroma de los vinos, que puede ser más destacado que el de las *Saccharomyces* (Erten, 2002), al poder catalizar la hidrolización de ciertos compuestos glicosídicos, obteniéndose aquellos que pueden modificar el perfil aromático en el vino (Arévalo, Úbeda, Cordero y Briones, 2005). Tanto la enzima como los productos de su actividad reciben un lugar de análisis específico en el trabajo realizado en España por Arévalo Villena (2005), determinándose que la levadura *Debaryomyces pseudopolymorphus* es la que posee una adecuada actividad  $\beta$ -glucosidasa, capaz de hidrolizar los precursores del aroma de distintas variedades de uva por la adición directa de los extractos parcialmente purificados, liofilizados o inmovilizados, poniéndose de manifiesto la diferencia entre los vinos tratados con dicha actividad y el vino control.

## CONCLUSIÓN

El presente trabajo aportó datos relevantes en cuanto a las características tecnológicas y cualitativas presentes en las levaduras nativas aisladas de uvas de Purmamarca.

Las levaduras con el código MP20, 21, 26 y 27, identificadas como *S. cerevisiae*, y la MP3, identificada como *C. lusitaniae*, presentaron características tecnológicas favorables, capacidad

para producir alcohol en un tiempo adecuado y una gran resistencia al alcohol y anhídrido sulfuroso. Así también, en las características cualitativas tuvieron un balance positivo, presentan actividad de  $\beta$ -glucosidasa y baja producción de ácido acético.

Estas levaduras podrían ser utilizadas por los bodegueros locales en fermentaciones mixtas a pequeña escala, dando el puntapié inicial y apostando por las levaduras de la zona, con lo que se podría lograr vinos con valor agregado, lo que se traduce en un producto competitivo, rentable y sostenible.

Cabe destacar que este trabajo de investigación es pionero, pudiendo ser un soporte en la ampliación de estudios posteriores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad Arranz, E. (2006). Selección de levaduras autóctonas para la elaboración de vinos tintos para bodegas y viñedos de Trujillo S.L. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Superior de fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 144, pp. 187–192.
- Aponte, M. & Blaiotta, G. (2016). Selection of an autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strain for the vinification of “Moscato di Saracena”, a southern Italy (Calabria Region) passito wine. *Food Microbiology* 54, pp. 30-39.
- Arévalo, M., Úbeda, J.F., Cordero, R. & Briones, A. (2005). Optimization of a rapid method for studying the celular location of  $\beta$ -glucosidase activity in wine yeast. *Journal of applied microbiology*, 99 (3), pp 558-564. Recuperado de: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2005.02627.x>
- Arévalo, M. (2005). Estudio de la actividad  $\beta$ -glucosidásica en levaduras vínicas y aplicación en enología. (Tesis Doctoral). Universidad de Castilla-La Mancha, España.
- Barrajón, N., Arévalo-Villena, M., Úbeda, J. & Briones, A. (2011). Enological properties in wild and commercial *Saccharomyces cerevisiae* yeasts: relationship with competition during alcoholic fermentation. *World J Microbiol Biotechnol.* 27, pp. 2703–2710. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/225763067\\_Enological\\_properties\\_in\\_wild\\_and\\_commercial\\_Saccharomyces\\_cerevisiae\\_ yeasts\\_Relationship\\_with\\_competition\\_during\\_alcoholic\\_fermentation](https://www.researchgate.net/publication/225763067_Enological_properties_in_wild_and_commercial_Saccharomyces_cerevisiae_ yeasts_Relationship_with_competition_during_alcoholic_fermentation)
- Bokulich, N.A., Thorngate, J.H., Richardsone, P.M. & Mills, D.A. (2014). Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *PNAS* 111 (1), pp. 139–148.
- Capece, A., Romaniello, R., Siesto, G., Pietrafesa, R., Massari, C., Poeta, C. & Romano, P. (2010). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for Nero d’Avola wine and evaluation of selected starter implantation in pilot fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 144, pp. 187-192.
- Capozzi, V., Garofalo, C., Chiriatti, M., Grieco, F. & Spano, G. (2015). Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiological Research*, 181, pp. 75-83.
- Cases, S. (2019). Optimización de la fermentación con levaduras no-*Saccharomyces*. Estudio del perfil aromático de los vinos. (Trabajo final de grado). Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Chambers, P. & Pretorius, I. (2010). Fermenting knowledge: the history of winemaking, science and yeast research. *EMBO Reports*, 11, pp. 914-920.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L... & Ciani, M. (2011). Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology* 28, pp. 873-882.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tolaba, M. y Robledo, C. (2017). InfoStat version 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Versión electrónica para la web: <http://www.infostat.com.ar>.
- Đurčanská, K., Muchová, L., DrtiLová, T., oLejníKová, P., Ženišová, K. & FurDíKová, K. (2019). Characterization and selection of

- Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from traditional and newly-bred vine varieties of Czech Republic and Slovakia. *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 58 (1), pp. 9–20.
- Erten, H. (2002). Relation between elevated temperatures and fermentation behaviour on *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* associated with winemaking in mixed cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 59, pp. 29-36.
- Esteve-Zarzoso, B., Gostincar, A., Bobet, R., Uruburu, F. & Querol, A. (2000). Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the El Penedès area (Spain). *Food Microbiology*, (17), pp. 553-562.
- Franco, W., Valencia, P., Ramírez, C. y Urtubia, A. (2019). Detección de levaduras y bacterias ácido lácticas nativas de diferentes cultivares chilenos: Potenciales especies para la producción de vinos reducidos en alcohol. *BIO Web of Conferences* 12, 41st *World Congress of Vine and Wine*. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202022>.
- Furlani, M., Maturano, Y., Combina, M., Mercado, L., Toro, M., & Vazquez, F. (2017). Selection of non-*Saccharomyces* yeasts to be used in grape musts with high alcoholic potential: A strategy to obtain wines with reduced ethanol content. *FEMS*.
- García Junco, C. (2001). Estudio de distintos tiempos de maceración carbónica para la vinificación en tinto en tres variedades de vid (*V. vinífera* L.) establecidas en el centro de la república mexicana. (Tesis de maestría). Universidad Autónoma De Querétaro, México.
- Gilbert, J., van der Lelie, D. & Zorraonandia, I. (2014). Microbial terroir for wine grapes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 111 (1), 5–6.
- Guitierrez, M., Torres, M., Ramirez, E., Velez, Y., Cardona, M. y Vasco, H. (2011). Fermentación alcohólica de jugo de fiqué con *Candida lusitanae*. *Revista Investigaciones Aplicadas*, 5 (2), pp. 51-58.
- Hernández, L.F., Espinosa, J.C., Fernández-González, M. & Briones, A. (2003).  $\beta$ -Glucosidase activity in a *Saccharomyces cerevisiae* wine strain. *International Journal of Food Microbiology*, 80, pp. 171-176.
- Kurtzman, C. y Cayó, J. Parte IV Métodos. En: *Las levaduras, un estudio taxonómico*. (1998). Cuarta edición, pp. 75-107. Ámsterdam, Países Bajos, Elsevier Science BV.
- Lambrecht, M.G. & Pretorius I.S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma- a review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21, pp. 97-129.
- Liu P., Lu L., Duan, C. & Yan, G. (2016). The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 71, pp. 356-363.
- Mas, A., Torija, M.J., Beltran, G., Novo, M., Hierro, N., Poblet, M... y Guillamón, J. (2006). Selección de levaduras. *Tecnología del vino*, (2), pp. 39-44.
- Morata, A., y otros. (2005). Primeros criterios de selección de levaduras para vinificación en tinto. *La semana vitivinícola*, (3057), pp. 806-809.
- Nikolaou, E., Soufleros, E.H., Bouloumpasi, E. & Tzanetakis, N. (2004). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains according to their oenological characteristics and vinification results. *Food microbiology*, (23), pp. 205-211.
- O.I.V. (2014). "Compendium of international methods of spirituous beverages of vitivinicultural 2014" <http://www.oiv.int/public/medias/2628/compendium-bs-2014-en-file-completpdf.pdf> (consulta 05/06/2020).
- O.I.V. (2015) "Norma internacional para el etiquetado de los vinos" <http://www.oiv.int/public/medias/4778/norme-etiquetage-oiv-es-2015.pdf> (consulta 05/06/2020).
- OIV-OENO 370-2012 (2012). Directrices para la caracterización de levaduras de vino del género *Saccharomyces* aisladas de ambientes vitivinícolas.

- Pretorius, I.S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the Ancient art of winemaking. *Yeast*, 16, pp. 675-729.
- Rainieri, S. & Pretorius, I.S. (2000). Selection and improvement of wine yeasts. *Annals of Microbiology*, (50), pp. 15-31.
- Regodon, J.A., et al., (1997). A simple and effective procedure for selection of wine yeast strains. *Food Microbiology*, 14, pp. 247-254.
- Ricci, M., Martini, S., Bonechi, C., Trabalzini, L., Santucci, A. & Rossi, C. (2004). Inhibition effects of ethanol on the kinetics of glucose metabolism by *S. cerevisiae*: NMR and modeling study. *Chemical physics letter*, 387 (4-6), pp. 377-382.
- Suarez Lepe, J.A. y Íñigo Leal, B. (2004). Microbiología Enológica, Fundamentos de Vinificación 3º Edición, p. 716. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Suranská, H., Vránová, D. & Omelková, J., (2016). Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Brazilian journal of microbiology*, 47, pp. 181-190.
- Swiegers, J.H. & Pretorius, I.S. (2007). Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. *Applied Microbiol Biotechnol*, (74), pp. 954-960.
- Tristezza, M., Vetrano, C., Bleve, G., Spano, G., Capozzi, V., Logrieco, A... & Grieco, F. (2013). Biodiversity and safety aspects of yeast strains characterized from vineyards and spontaneous fermentations in the Apulia Region, Italy. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 335-342.
- Torija M., y María Jesús. (2002). Ecología de levaduras: selección y adaptación a fermentaciones vínicas. Universitat Rovira i Virgili departament de bioquímica i biotecnologia facultat d'enologia, p. 206.
- Tufariello, M., Maiorano, G., Rampino, P., Spano, G., Grieco, F., Perrotta, C... & Capozzi, V. (2019). Selection of an autochthonous yeast starter culture for industrial production of Primitivo "Gioia del Colle" PDO/DOC in Apulia (Southern Italy). *LWT - Food Science and Technology* 99, pp. 188-196.
- Valade, M. (2004). Las levaduras seleccionadas, aliadas en el control de la calidad del vino. *La semana vitivinícola*, (3082), pp. 3038-3040.
- Zambonelli, C. (1988) *Microbiologia e Biotecnologia dei Vini*. Edagricole, Bologna, Italia.