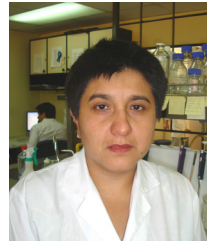


# Las Levaduras: Microorganismos Responsables de la Producción de Vinos

María Angélica Ganga Muñoz  
angelica.ganga@usach.cl

Doctor en Ciencias Biológicas  
de la Universidad de Valencia - España.  
Académica del Departamento de Ciencia y Tecnología  
de los Alimentos de la Facultad Tecnológica,  
Universidad de Santiago de Chile.



## Resumen

*Durante la elaboración del vino participan un gran número de microorganismos, especialmente levaduras, las que consumen el azúcar presente en el mosto o jugo de uva, transformándolo en alcohol. Estos microorganismos se encuentran en los granos de uvas que al molerlos pasan directamente al jugo. El tipo y cantidad de levaduras que participarían en la fermentación será un factor importante para la obtención de un vino de calidad, por lo cual es importante poder controlarlas. Es por esto que desde la década de los 30 a nivel mundial se han aislado levaduras que entregan características deseadas al vino, como es el cuerpo y/o aromas, las cuales posteriormente se han producido a nivel industrial y es lo que actualmente se comercializa. Si bien Chile tiene una tradición vitivinícola reconocida a nivel mundial, las levaduras usadas en nuestras bodegas son aquellas aisladas desde otros ecosistemas. En base a ello, nuestro grupo de investigación propuso un estudio para determinar las potencialidades comerciales que tendrían levaduras endógenas en la producción del vino. A través de un proyecto Fondef, liderado por la USACH y en colaboración con INIA-Sede Cauquenes y las empresas Viña Miguel Torres, Cooperativa Vitivinícola de Cauquenes y DSM Food Specialties, se llevó a cabo entre los años 1999 - 2002 un estudio de las levaduras de nuestros viñedos. Mediante la aplicación de metodologías biotecnológicas para su identificación y caracterización, así como ensayos de fermentación a nivel piloto y semiindustrial, se logró obtener una levadura de interés industrial, Fermicru XL, que es comercializada actualmente por la empresa DSM Food Specialties.*

Las primeras citas relativas a la tecnología del vino datan de 3000 años antes de Cristo, incluso antes que la del pan. Sin embargo, el nacimiento de la tecnología industrial enológica data de finales del siglo XIX, cuando Pasteur demostró que las levaduras eran microorganismos vivos causantes de la fermentación y estableció la relación que existe entre la presencia de estos fermentos vivos y la transformación del azúcar en alcohol y gas carbónico (Lafon-Lafourcade, 1983). A partir de entonces, se han realizado numerosos estudios microbiológicos de aislamiento e identificación de los microorganismos asociadas a la fermentación del vino.

La transformación del jugo de uva en vino es lograda por el desarrollo secuencial de levaduras y bacterias

ácido láctica (Ribereau-Gayon, 1976). Si bien son muchos los géneros de levaduras que participan en las primeras etapas, *Saccharomyces cerevisiae*, es la principal responsable de la fermentación alcohólica, es decir, es la levadura que mayoritariamente transforma el azúcar del mosto en alcohol (Amerine y col., 1977, 1982). Aunque se encuentra en niveles bajos en la uva, durante la fermentación se multiplica rápidamente desplazando a los otros microorganismos presentes en el proceso fermentativo.

En una misma zona vitivinícola y una misma bodega hay numerosos factores que influyen en la diversidad levaduriforme inicial. Asimismo, en las técnicas de vinificación o en la vendimia pueden provocarse cambios cualitativos y cuantitativos de estos microorganismos.

Para muchos autores estas variaciones se deben fundamentalmente a cambios en las condiciones climáticas de la zona. Por ejemplo, se ha observado que la distribución del género *Kloeckera* en el mosto, no sólo estaba determinada por la latitud de los viñedos, sino además por las condiciones climáticas de la zona donde se sitúa el viñedo y la bodega. En una investigación realizada por nuestro grupo de investigación se demostró que el clima afectaba notoriamente la presencia de levaduras presentes en el mosto. Es así como al analizar la población de levaduras de mostos provenientes de la zona de Cauquenes en el año 1999, resultó tener una menor diversidad de géneros de levaduras que lo observado en el año 2000. Esto fue atribuido a que en el año 1999 la vendimia se caracterizó por ser más bien calurosa y poco húmeda, contrariamente a lo observado el año 2000, en donde en el mes de febrero existieron lluvias, lo cual influyó que existiera un mayor número de género de levaduras (Ganga y Martínez, 2004). La pluviosidad produce dos efectos; por una parte la aparición de la podredumbre del grano y por otra la ruptura de la piel de la uva durante el transporte del campo a la bodega (Salgues y col. 1984). La consecuencia de todo lo expuesto, conlleva a que en zonas donde las condiciones climáticas en la época de vendimia varían considerablemente de una cosecha a otra, se detecta una fuerte variabilidad en los géneros de levaduras inicial. Como consecuencia los vinos producidos modifican sus características organolépticas. Ante mercados que exigen calidad homogénea, estas diferencias representan un grave problema industrial. Las fermentaciones espontáneas suelen tener resultados aleatorios, excelentes en algunos años y deficientes en otros. Entre los principales defectos es posible citar: altos niveles de ácido sulfhídrico, fermentaciones lentas e inclusive paralizaciones, quedando vinos dulces lo cual puede originar la posterior contaminación de los vinos con otros microorganismos. Además se pueden mencionar el problema de elevada producción de ácidos volátiles, lo que podría verse reflejado en un tenue olor a vinagre.

Desde un punto de vista microbiológico, la variabilidad en la microbiota levaduriforme de los mostos puede solventarse adicionando vendimia tras vendimia un

inóculo microbiano que, al ser mayoritario, normalice la flora inicial y de esta forma, dé lugar a una fermentación homogénea año tras año. Sin embargo, no se debe olvidar que las levaduras presentes en el mosto contribuyen igualmente en el aroma y sabor del vino, debido a la generación tanto de productos volátiles como no volátiles. Si se compara la fermentación inducida frente a la fermentación espontánea, se observa: a) una mayor velocidad de fermentación, b) una mayor reproducibilidad en la calidad del vino, c) reducción de los problemas ocasionados por levaduras extrañas y d) mayor flexibilidad en el control sobre la calidad sensorial a través de la selección de cepa. Esto además puede evitar alteraciones químicas y microbiológicas en las primeras fases de la fermentación. Por otra parte, también puede evitar anomalías de la fermentación como las paradas espontáneas o mejorar la composición química e influir en la calidad. Cuando se vinifica con variedades de uva poco aromáticas, los aromas aportados por las levaduras pueden resultar particularmente relevantes (Regodón y col., 1997).

Evidentemente, el inóculo no puede ser una levadura cualquiera, ya que debe tratarse de una levadura seleccionada que al transformar el mosto produzca cambios organolépticos deseables. Esta hipótesis de trabajo se comenzó a desarrollar en los años 30 por Fischler (Reed y Peppler, 1973). Posteriormente, de forma independiente varios laboratorios europeos, canadienses y americanos llevaron a cabo la selección de levaduras vínicas que luego utilizaron como inóculos en fermentaciones dirigidas. Todos ellos concluyeron que las levaduras vínicas seleccionadas crecían bien en una fermentación de mosto produciendo un buen vino. Desde entonces en varias zonas de Estados Unidos, Canadá, Austria, Nueva Zelandia y España se realizan fermentaciones utilizando cultivos iniciadores. Desde un punto de vista microbiológico, el uso de levaduras seleccionadas implica un cambio sustancial. De una situación entrópica, la fermentación natural, en la que las distintas poblaciones iniciales de la especie *S. cerevisiae* se suceden unas a otras, se pasa a una nueva situación en la que la levadura inoculada se impone en una proporción elevada. En otras palabras, se produce una normalización microbiológica de la flora, que asemeja a un cultivo puro.

El resultado final es una mayor homogeneidad de las condiciones organoléptica de los vinos producidos, independientemente de las condiciones climatológicas.

Uno de los parámetros más importante en la selección de las levaduras es la resistencia a la concentración de alcohol de este microorganismo. La cantidad de alcohol producido por las levaduras durante la fermentación es el 1%(v/v) por cada 16 o 17 g de azúcar. El etanol juega un papel importante en el equilibrio aromático de los vinos y junto con el glicerol, contribuye a la viscosidad dando cuerpo a los vinos. Sin embargo, en la actualidad hay una tendencia a que los vinos no tengan mucho grado alcohólico, por lo que resulta interesante seleccionar levaduras que no produzcan vinos con un elevado grado alcohólico.

También la producción de algunos metabolitos secundarios como son los alcoholes superiores y ésteres que la levadura produce durante la fermentación alcohólica son un criterio de selección importante. La concentración de alcoholes superiores en vinos varían entre 80 y 540 mg/l. Dichos alcoholes contribuyen favorablemente a las características aromáticas de los vinos, siempre que no excedan de 300 mg/l. Los ésteres, excepto el acetato de etilo, son compuestos muy importantes en la fracción aromática de los vinos al proporcionar aromas frutales y florales. Por todo ello, desde el punto de vista aromático, una buena levadura seleccionada será aquella que transforme una mayor cantidad de alcoholes superiores en ésteres.



Equipos para Análisis de Vinos

A pesar del aparente beneficio del uso de las levaduras seleccionadas algunos enólogos son contrarios a su utilización. Algunos autores han expresado sus dudas respecto a la real utilidad de las levaduras seleccionadas. Se sostiene que sería difícil inhibir las levaduras autóctonas e imponer el desarrollo exclusivo de la levadura añadida al mosto. Por el contrario, otros apuntan que la levadura inoculada podría inhibir el crecimiento de especies de levaduras apiculadas presentes durante los primeros días de la fermentación y que podrían actuar positivamente sobre las características organolépticas de los vinos. Estas dudas y cuestionamiento fueron resuelta en uno de los trabajos de Querol y col. (1992), quienes mostraron que efectivamente la levadura seleccionada se implantaba frente a la población nativa y además demostraron que este crecimiento no disminuyó el desarrollo de las levaduras naturales presentes en los primeros días de fermentación, tiempo en el cual podrían tener una importante influencia en el aroma del vino.

Como se ha comentado anteriormente se pueden producir diferencias en la diversidad microbiana del mosto inicial, ya no sólo entre diferentes regiones vitivinícolas, sino también dentro de la misma bodega en diferentes vendimias. Por esta razón, durante los últimos años la utilización de levaduras seleccionadas se ha extendido. Más aún muchos autores piensan que las levaduras seleccionadas de cada región vitivinícola serían mucho más adecuadas para la realización de una fermentación dirigida, ya que ellas estarían ambientadas a las condiciones del medio ambiente en que se realiza la vinificación. Es decir, a la composición del mosto, tanto al contenido de aminoácidos, vitaminas, nitrógeno y esteroides, que son importantes para el buen desarrollo de las levaduras, así como las propias condiciones de vinificación en cuanto a la temperatura, aireación, etc. Más aun se piensa que las mejores candidatas serían las levaduras presentes en los hollejos de la uva en forma natural, pues al ser de la misma zona de producción de la uva se adaptarían mejor a la ecología de la región y por ende se obtendrían mejores resultados, tanto del puntos de vista aromático como enológico. Como resultado de esto, el vino mantendría las características sensoriales típicas del vino producido en cada región.

En Chile trabajos relacionados a caracterizar las propiedades sensoriales de las levaduras endémicas fueron llevados a cabo a finales de los años 90. Estos trabajos mostraron que los vinos obtenidos con estas levaduras entregarían cualidades organolépticas muy interesantes, incluso muchas veces superior a aquellas levaduras “extranjeras” que son utilizadas a nivel industrial en nuestras bodegas.

*Inicio de la producción de vino de variedades europeas en Chile. Uso y producción de levaduras en el proceso fermentativo.*

En 1830 llega a Chile don Claudio Gay con quien se crea la Quinta Normal de Agricultura. En sus terrenos se inicia la experimentación agrícola y se introducen plantas cultivadas y ornamentales provenientes de Europa y otras partes del mundo. Se introducen desde Francia e Italia las principales variedades de vides cultivadas en dichos países. Sin embargo, nuestro país sólo en 1851 sufre una espectacular transformación ya que Don Silvestre Ochagavía trae personalmente desde Francia las más destacadas variedades de *Vitis* viníferas como son Cabernet Sauvignon, Cot, Pinot Noir, entre otras. Posteriormente, fueron muchos más que siguieron su ejemplo. Es así como el ser dueño de una viña pasó a ser, más que un negocio, una especie de título honorífico. Estos propietarios de viñas tuvieron la visión de contratar paralelamente a la plantación de los viñedos, a técnicas francesas, para que manejaran las vides, las vinificaciones y la conservación de sus vinos. Es así como a poco se incorporan las tecnologías traídas de Europa, especialmente de origen francés, a nuestras tierras. La inmigración de profesionales europeos se vio aumentada durante la segunda mitad del siglo XIX por causa de la crisis de la filoxera, aportando con sus conocimientos en la producción de vino (Hernández, 2000).

A inicios del siglo XX en Europa comienza el uso de levaduras seleccionadas para la producción del vino. En nuestro país sólo en los años 60 profesionales del Departamento de Enología y Vitivinicultura del Ministerio de Agricultura importaron un grupo de cepas de *S. cere-*

*visiae* proveniente de Francia, con el fin de producirlas y poder entregárselas a los agricultores nacionales para dirigir sus fermentaciones, similar a como las realizaban sus homólogos europeos. Esto permitiría asegurar la calidad y homogeneidad de los vinos, las que eran entregadas en medio líquido en botellas. Es así como comienzan las primeras experiencias de producción de levaduras vínicas en nuestro país. Comienzan los años 70 y el Departamento de Enología de este Ministerio es traspasado al Servicio Agrícola Ganadero y el cepario desaparece en esta etapa de transición.

En el año 1982 la Empresa de Alimentos Golondrina reflota la iniciativa de la producción de levaduras. Para ello, contrata al Ingeniero en Alimentos Pedro Carriles encargado de llevar a cabo esta iniciativa. En el año 1985 se exportan las primeras cepas de levaduras *S. cerevisiae* provenientes de USA. En el año 1990 se importan cepas francesas, produciéndola en la empresa y luego exportándolas a Francia, Italia, España y USA. Sin embargo, en 1993 comienza el interés de los productores vitivinícolas nacionales por el uso de levaduras seleccionadas, transformándose en un interesante mercado para esta empresa. Entre los años 1993 – 1997 esta empresa produce y comercializa levaduras tanto a nivel nacional como internacional. En este último año la empresa holandesa Gist Brocades compra tanto la Empresa de Alimentos Golondrina como Lefersa, la otra empresa chilena productora de levadura, pero levaduras panaderas. En sus instalaciones continuó la producción tanto de levaduras vínicas como panaderas. Posteriormente, en el año 2000, Gist Brocades es comprada por la empresa DSM Food Specialties. Hasta el año 2002 continuó la producción de levaduras vínicas en Chile, sin embargo, a finales de este año la empresa considera oportuno trasladar toda su infraestructura de producción de levaduras vínicas a Sudáfrica, lugar en el cual se concentra actualmente toda la producción a nivel mundial.

Basado en estos antecedentes nuestro grupo de investigación, en colaboración con el Instituto de Investigaciones Agropecuarias, sede Cauquenes, las empresas Viña Miguel Torres y Sociedad Vitivinícolas de Cauquenes, así como DSM Food Specialties, presentó en el año 1999

un proyecto Fondef cuyo objetivo principal fue la selección de cepas de levaduras de la especie *Sacharomyces cerevisiae* de origen nacional.

Si bien en nuestro país hasta ese entonces los enólogos nacionales sólo podían recurrir a levaduras extranjeras comercializadas, se propuso hacer un estudio de nuestra microbiota levaduriforme y seleccionar aquellas levaduras que entregaran mejores cualidades sensoriales a sus vinos, comparada con aquellos obtenidos con levaduras comerciales.

Es así como entre los años 1999 y 2000 nuestro grupo de investigación recolectó levaduras de la VII Región de nuestro país, específicamente de las zonas de Cauquenes y Curicó. Mediante esta colecta se logró aislar cerca de 1000 cepas de levaduras de la especie *S. cerevisiae*, las cuales mediante metodologías biotecnológicas permitió su diferenciación. Luego mediante estudios de microfermentaciones a nivel de laboratorio y semipiloto, se determinó la potencialidad de 20 cepas de estas levaduras que mostraron interesantes características enológicas.



Fermentaciones en Vino Sintético para la Selección de Levaduras

Posteriormente, con estas 20 levaduras se realizaron en INIA-Cauquenes fermentaciones en mosto de uva de variedad Cabernet Sauvignon y Chardonnay. Estos

vinos fueron analizados fisicoquímicamente, además de evaluarlos sensorialmente por un panel de 9 enólogos que participaron en la sesión, llevada a cabo en el Centro Cultural del Vino, perteneciente a la viña Miguel Torres. Mediante el análisis de los resultados obtenidos y con apoyo de la empresa DSM Food Specialties fueron seleccionadas finalmente 4 levaduras, las cuales fueron producidas a nivel piloto y usadas en fermentaciones de los años 2003, 2004 y 2005, tanto en Chile como en Francia. Los vinos obtenidos se analizaron tanto fisicoquímica como sensorialmente en ambos países. Los resultados entregados fueron muy interesantes, los que han permitido que durante el año 2007 se haya comenzado a comercializar por la empresa DSM Food Specialities una levadura de origen chileno, no sólo en Chile, sino a nivel mundial. La levadura es conocida como Fermicru XL, la cual es recomendado su uso para vinos varietales de mucho volumen y aromas afrutados, y taninos suaves, dando excelentes resultados en variedades de uvas: Merlot, Syrah, Tempranillo, Carignan, Cabernet, entre otras.

El uso de esta levadura ha sido protegido mediante la solicitud de patente 1717-2002 presentada el año 2002 al Departamento de Propiedad Intelectual del Ministerio de Economía a nombre de la Universidad de Santiago de Chile y el Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

Esto ha permitido que no sólo podamos ser conocidos por nuestros vinos sino también por los microorganismos que habitan en nuestro ecosistema.

Los logros alcanzados en nuestra investigación ha sido el esfuerzo de muchos profesionales de distintas áreas del conocimiento como bioquímicos, biólogos moleculares, enólogos, técnicos en alimentos, ingeniero en alimentos, entre otros, confirmando lo exitoso que resulta la investigación con grupos multidisciplinados. Esta investigación permitió aumentar el conocimiento en un área naciente en nuestro país, como es la microbiología enológica, logrando aislar, caracterizar y seleccionar levaduras de interés comercial que han permitido traducirse en un negocio tecnológico que beneficiará a las instituciones participantes en este proyecto.

*Bibliografía*

Amerine, M. A., H. W. Berg, R. E. Kunkee, C. S. Ough, V. L. Singleton, and A. D. Webb. 1982. The technology of wine making, 4th ed. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Conn.

Amerine, M. A., Singleton, V. L. 1977. Wine: An Introduction to the Wines of the World, Grape Cultivation, Techniques of Wine-making, and How to Evaluate and Enjoy Wines. University of California Press.

Ganga, A., Martínez, C. (2004). Effect of wine yeast monoculture practice on the biodiversity of non-Saccharomyces yeasts J. Appl. Microbiol. 96: 76 – 83

Hernández, A. (2000). Introducción al vino de Chile. Colección en Agricultura de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2ª Edición. Aquaprint impresores.

Lafon-Laforcade, S. (1983) Wine and Brandy. En "Biotechnology" Vol. 5 de: Reed, G. Verlag-Chemie. Heidelberg.

Querol, A., Barrio, E., Huerta, T. y Ramón, D. (1992) Strain for use dry yeast in fermentation of Alicante wine: selection and DNA patterns. J. Food. Sci. 57: 183-185.

Reed G., Pepler, H. (1973). Yeast technology, Westport, Conn., AVI Pub. Co.

Regodón, J., Pérez, F, Cuenda, M., Valdés, M., De Miguel, C. y Ramírez, M. (1997). A simple and effective procedure for selection of wine yeast strain. Food Microbiol. 14: 247-254.

Ribereau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. y Ribereau-Gayon, P. (1976). Traite d'oenologie. Sciences et techniques du vin. Tome III. Dunop. Paris.

Salgues, M., Olivier, C. Chabas, M. y Peynaud, J. (1984). Presentation d'un material de mesure de a pourriture grise de raisins. Bull L' O.I.V. 638: 308-311.