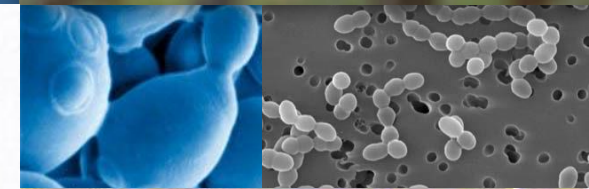


**BIOECONOMIA ARGENTINA
REGION PATAGONICA
Puerto Madryn , Chubut
Abril 2015**



**LEVADURAS Y
BACTERIAS DEL ACIDO LACTICO PARA LA
DIFERENCIACION
DE VINOS PATAGONICOS**

Adriana Caballero-Profesora Titular
Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos-UNCo

PROBIE
CONICET
UNCO



**VINO: es exclusivamente la
bebida obtenida por
fermentación alcohólica de la
uva prensada o mosto de uva
(OIV)**

Bebida nacional (Decreto 1800/10)

PRODUCCION MUNDIAL: 281 millones HL

ARGENTINA: 15 millones HL
5° Productor y 9° Exportador

CONSUMO MUNDIAL: 237,8 millones HL

ARGENTINA: 10,3 millones HL
8° Consumidor



MERCADO INTERNACIONAL

Volumen de negocios

100- 110.000 millones de Euros

INDUSTRIA VITIVINICOLA

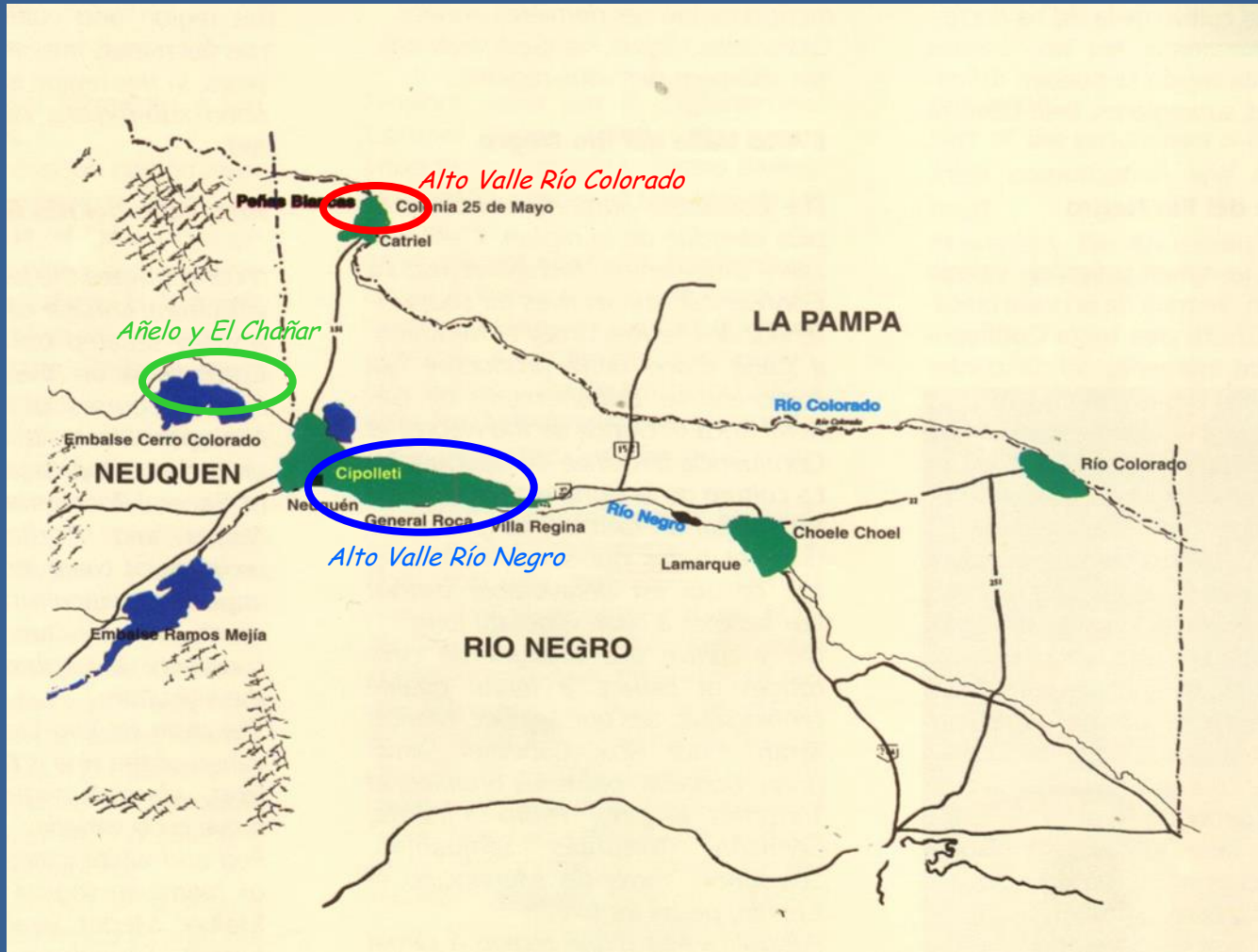
Orientada por la
Producción



Conducida por el
mercado



Región del Comahue (40 ° LATITUD SUR)

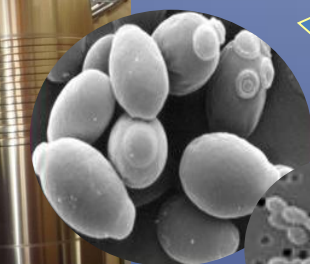
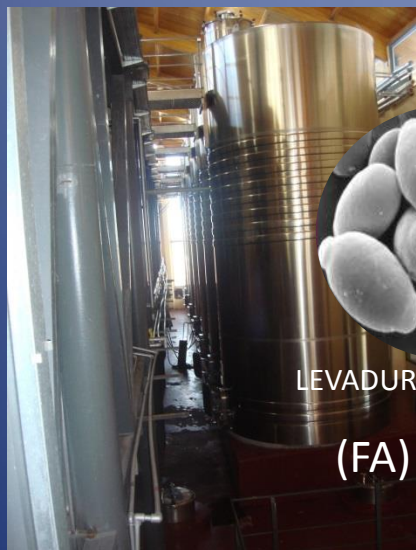


80% Producción vitivinícola orientada a la elaboración de vinos jóvenes y secos

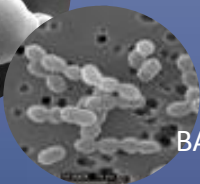
VARIETADES TINTAS
Malbec, Merlot, Pinot noir, Cabernet sauvignon



**Aroma
varietal**

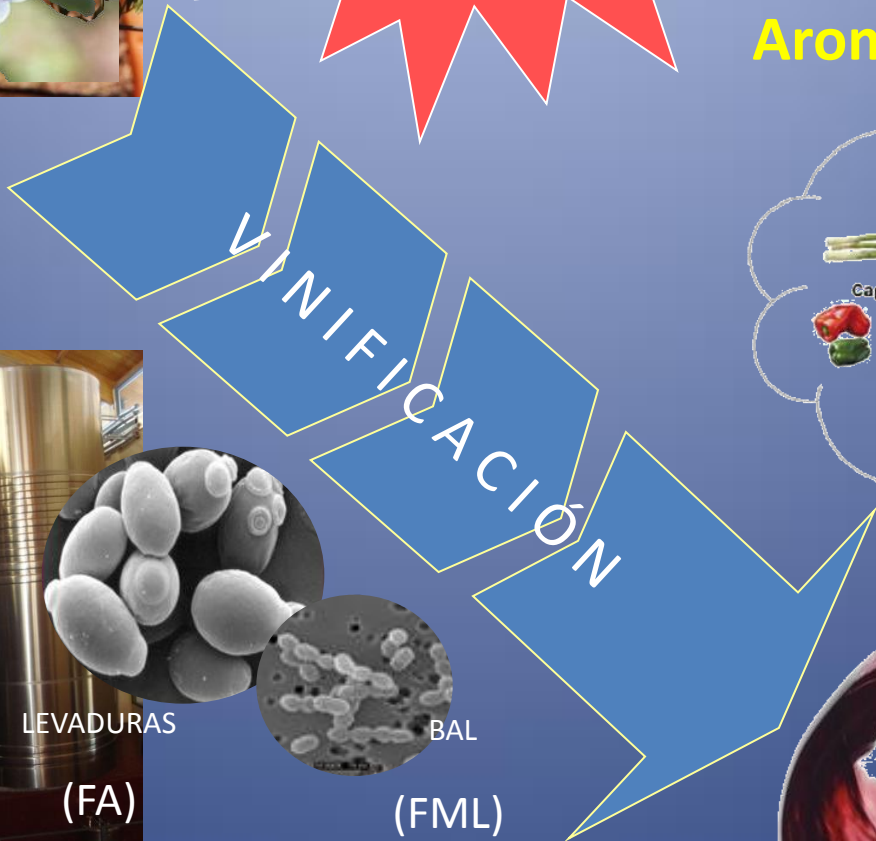


LEVADURAS
(FA)

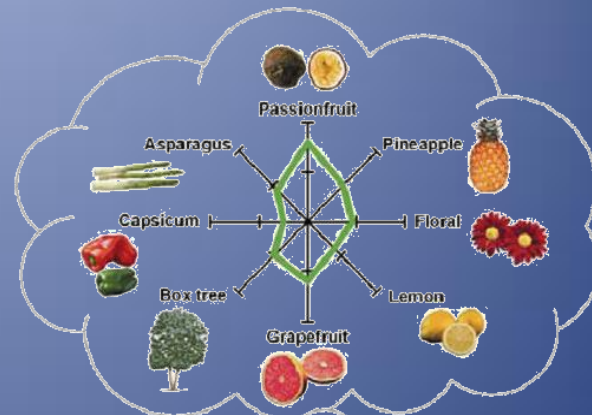


BAL
(FML)

**Calidad
variable**



Aroma fermentativo



Color, Cuerpo, Sabor

FA Conducidas

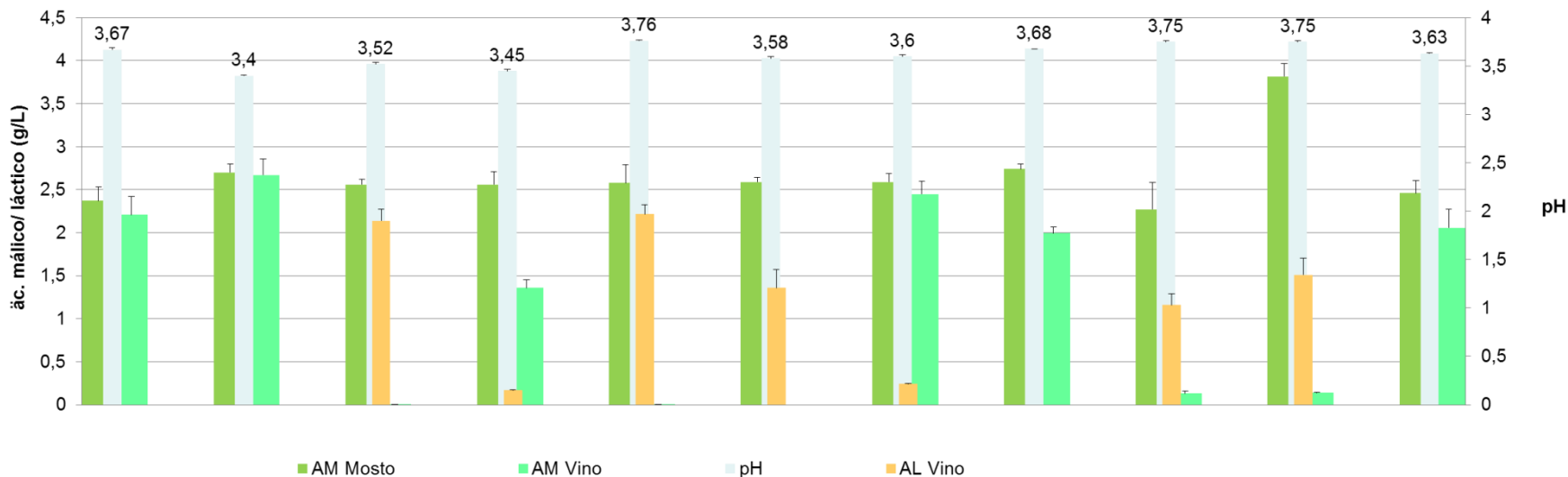
Cultivos iniciadores importados
Regularidad en la calidad de los vinos

FML Naturales

Alto índice de fracasos

CLON	Año	Nº
EHC185-1/44	2008	1
EHC 185-1/45	2008	2
EHC 177-8/43	2010	3
Terceros/62	2010	4
EHC 177-8/45	2011	5
Terceros/44	2011	6
EHC 185-1/43	2011	7
EHC 186-2/66	2012	8
EHC 185-1/65	2012	9
EHC 177-8/62	2012	10
Terceros/23	2012	11

PINOT NOIR



METAS

1. Mejorar la relación calidad/precio

agregando valor a los productos a través de la diferenciación de su calidad y disminuyendo el riesgo de sucesos indeseables

2. Sustituir insumos importados

OBJETIVO

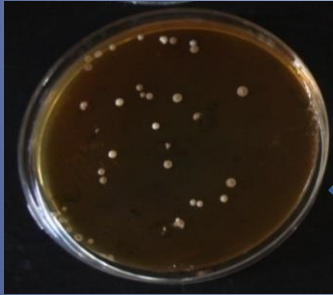
*Desarrollar cultivos
iniciadores regionales*

*Conocer la ecología de la biota de
levaduras y BAL indígenas de la
región*

Seleccionar cepas nativas

Caracterizar las poblaciones indígenas

BAL



Aislamiento
MRS-Tomate-cicloheximida
Totales?

MLO
O. oeni

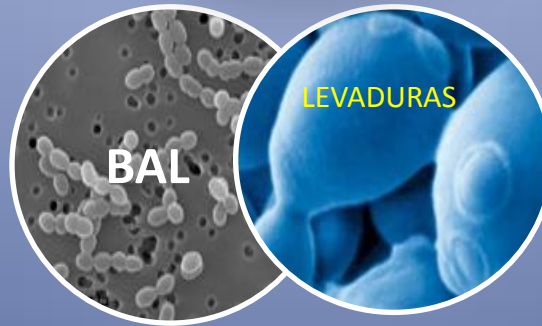


Cultivos puros

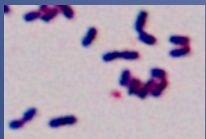
LEVADURAS



Aislamiento
GPY cloranfenicol
Totales



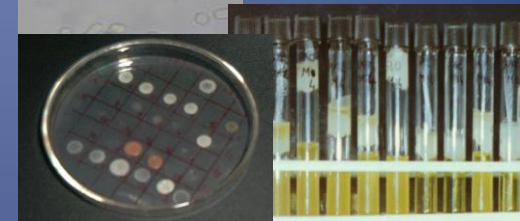
IDENTIFICACION



Catalasa (-)



ESPECIE



1-rpoB PCR/RFLP

Primers:
rpo B1, rpo B1o
y rpo B2

Ez: *AcI* y *Hinf* I

2-16S ARDRA

Primers:
pAy pH

Ez: *Mse*I (*Tru*I)

DISCRIMINACION
de cepas

S. cerevisiae

RFLP ADNmit
Ez: *Hinf*I

ITS1-5.8S ADNr-ITS2
PCR/RFLP

Primers:
its1 e its4

Ez: *Cfo* I, *Hae*III y *Hinf*I

SECUENCIACIÓN
16S ADNr

SECUENCIACIÓN D1/D2 26S ADNr
primers: NL-1 y NL-4

ECOLOGÍA DE BAL

Métodos cultivables: PCR-RFLP 16 S ARDRA- *MseI*

1: 185 CI 2012

2: *L.b plantarum* DSM 20174

1.1-:177CI-2012 . 3: II 2009 -

4.1 :CN2010 7- 185 CN

2011 9: 177 CI 2012 12:
185 CI 2012

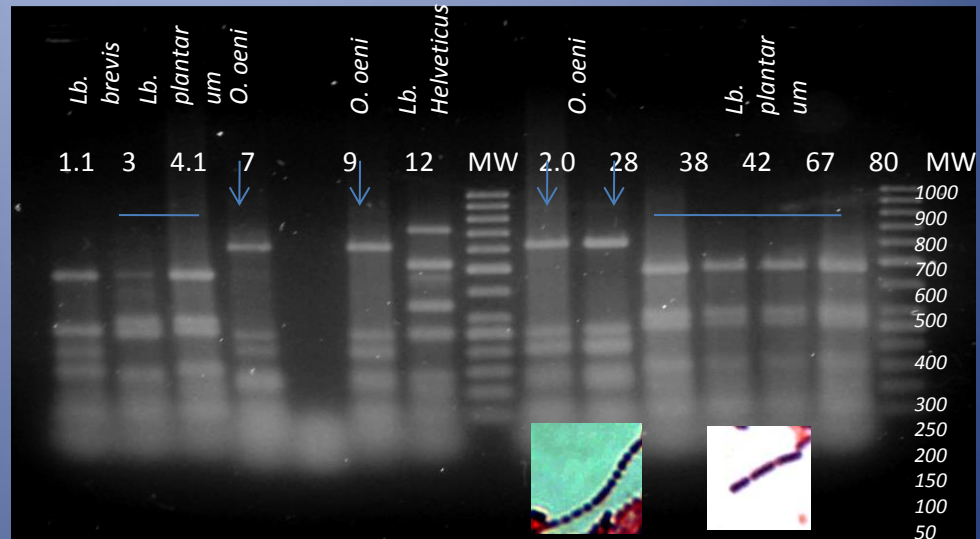
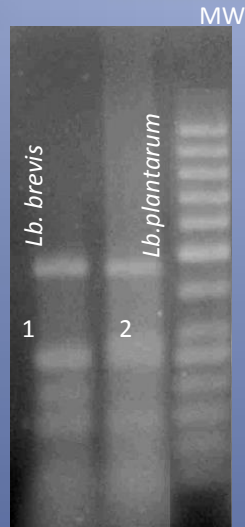
2.0 : 177CI 2012 28 : 177 CI

2012 38: Uvas Can 2011

42 :CN2011 67: IN 2008 80

:CI 2010 MW : Marcador de
peso molecular.

Curilén Y. Tesis Doctoral 2015



Métodos no cultivables: PCR- DGGE *rpoB* y región V3 del gen del *rRNA16S* Valdés la Hens y col. Australian J. Grape Wine Res.21, 49-56 (2015).

ESPECIES MAYORITARIAS: *Lactobacillus plantarum* y *Oenococcus oeni*

NPCC BACTERIAS LÁCTICAS

código	especie	número original	origen	secuenciación
NPCC 3001 NPCC 3002 NPCC 3003	<i>Oenococcus oeni</i>	177 CI 2008-1 177 CI 2008-2 177 CI 2008-3	FML Pinot noir, vendimia 2008, lote 177 Establecimiento Humberto Canale S.A.	sí
NPCC 3004	<i>Oenococcus oeni</i>	185 CN 2010	FML Pinot noir , vendimia 2010, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3005 NPCC 3006 NPCC 3007	<i>Oenococcus oeni</i>	177 CI 2012-9 177 CI 2012- 2.0 177 CI 2012-28	FML Pinot noir , vendimia 2012, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3008	<i>Lactobacillus brevis</i>	II4-4	FML inicial, Pinot noir INTA vendimia 2010	no
NPCC 3009	<i>Lactobacillus brevis</i>	II4-5	FML media, Pinot noir INTA vendimia 2010	no
NPCC 3010	<i>Lactobacillus brevis</i>	185 CI 2012	FML Pinot noir, vendimia 2012, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3011	<i>Lactobacillus brevis</i>	177CI-2012	FML Pinot noir, vendimia 2012, lote 177 Establecimiento Humberto Canale S.A	no

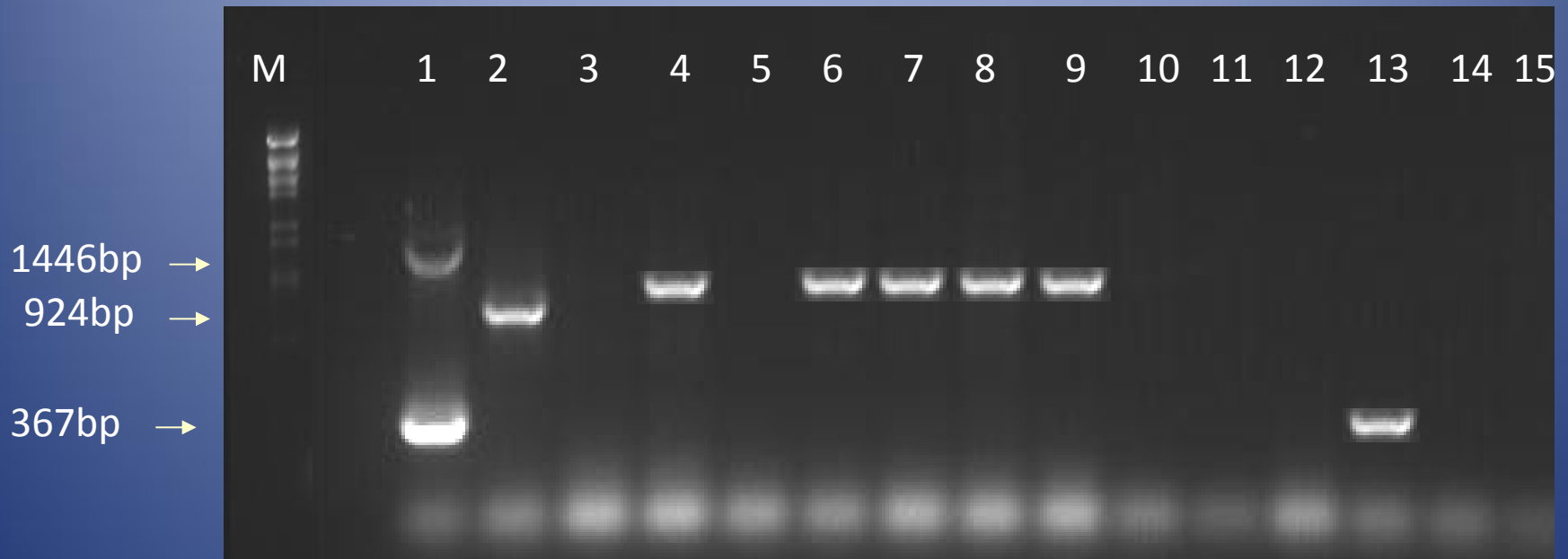
NPCC BACTERIAS LÁCTICAS (cont.)

código	especie	número original	origen	secuenciación
NPCC 3012	<i>Lactobacillus plantarum</i>	IN 2008-67	FML Pinot noir, vendimia 2008 INTA	no
NPCC 3013	<i>Lactobacillus plantarum</i>	II 2009-3	FML Pinot noir , vendimia 2009, INTA	no
NPCC 3014	<i>Lactobacillus plantarum</i>	185 CI 2010-80	FML Pinot noir , vendimia 2010, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3015	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Uvas 185 Can 2011-38	Uvas Pinot noir, vendimia 2011, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3016	<i>Lactobacillus plantarum</i>	185 CN2011-42	FML Pinot noir, vendimia 2011, lote 185 Establecimiento Humberto Canale S.A	no
NPCC 3017	<i>Lactobacillus plantarum</i>	177 CI 2012-1.1	FML Pinot noir, vendimia 2012, lote 177 Establecimiento Humberto Canale S.A	no

PRESELECCION DE CEPAS

INCAPACIDAD DE PRODUCIR AMINAS BIOGENAS

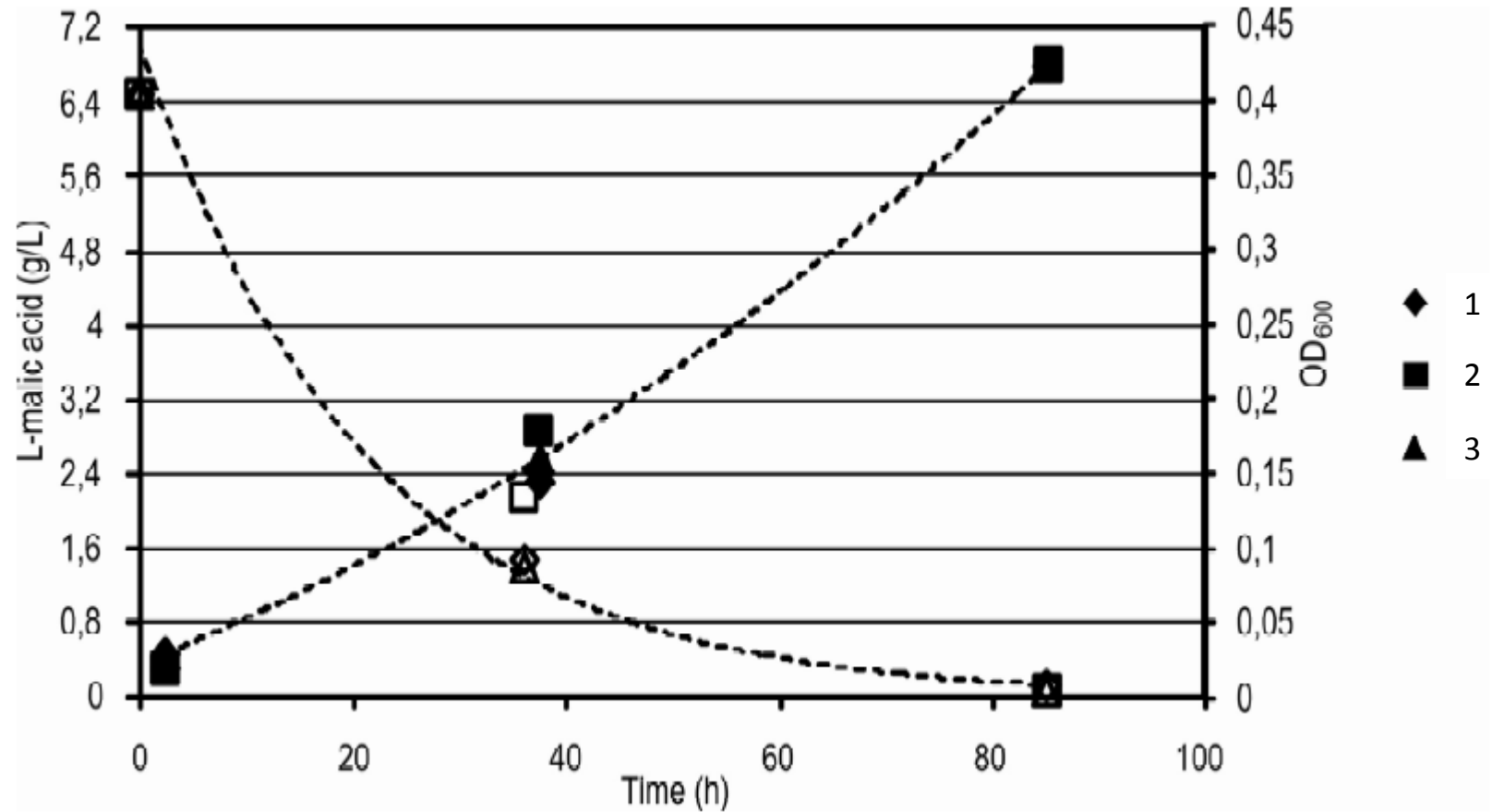
Presencia/ausencia de genes de las actividades decarboxilasas



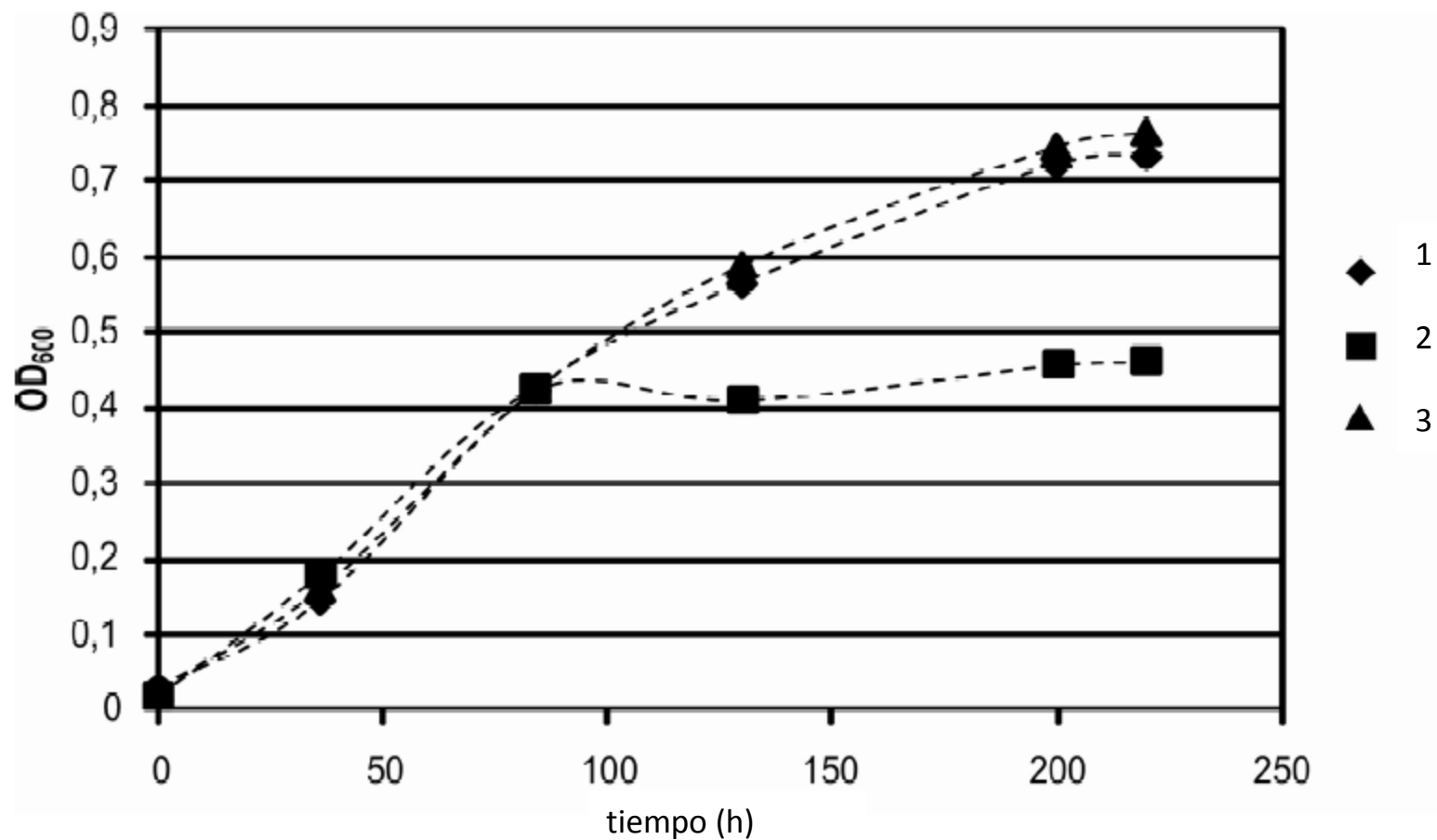
- 1, *Lactobacillus* reference strain for ODC and HDC
- 2, *Lb. brevis* (positive control for TDC)
- 3 al 10 *Lb. plantarum* indígenas
- 11 al 14 *O. oeni* indígenas

SELECCIÓN DE CEPAS DE *O. oeni*

1- Consumo de ácido L-málico

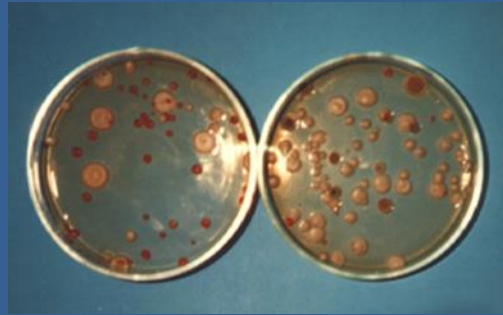


2- Tolerancia al etanol (14% v/v)



Cepas Seleccionadas: *Oenococcus oeni* 1 y 3

ECOLOGIA DE LEVADURAS

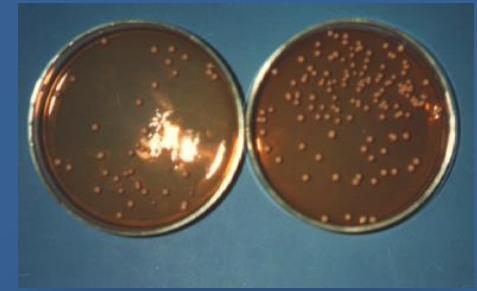


Levaduras Non-Saccharomyces

Metschnikowia

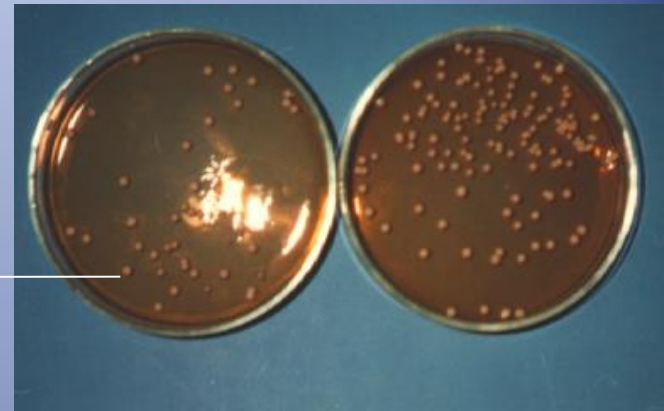
Hanseniaspora

Pichia



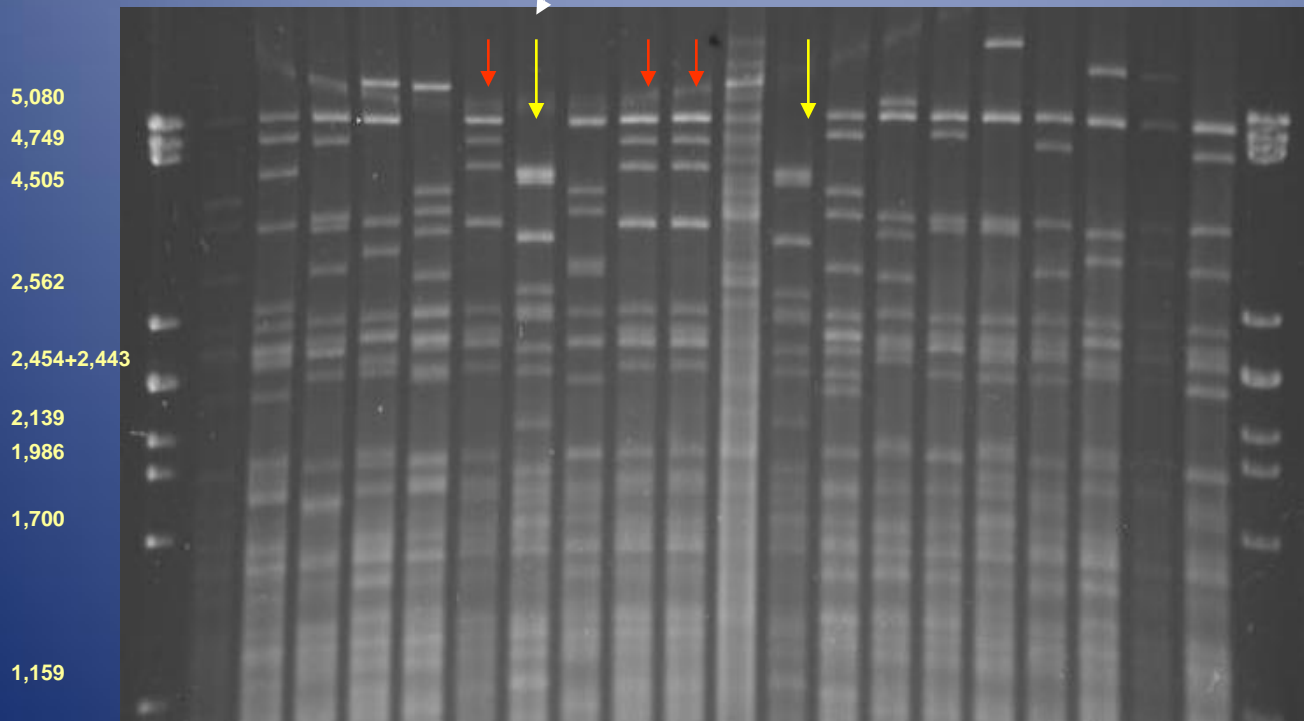
*Saccharomyces
cerevisiae*

RFLP-DNAmit

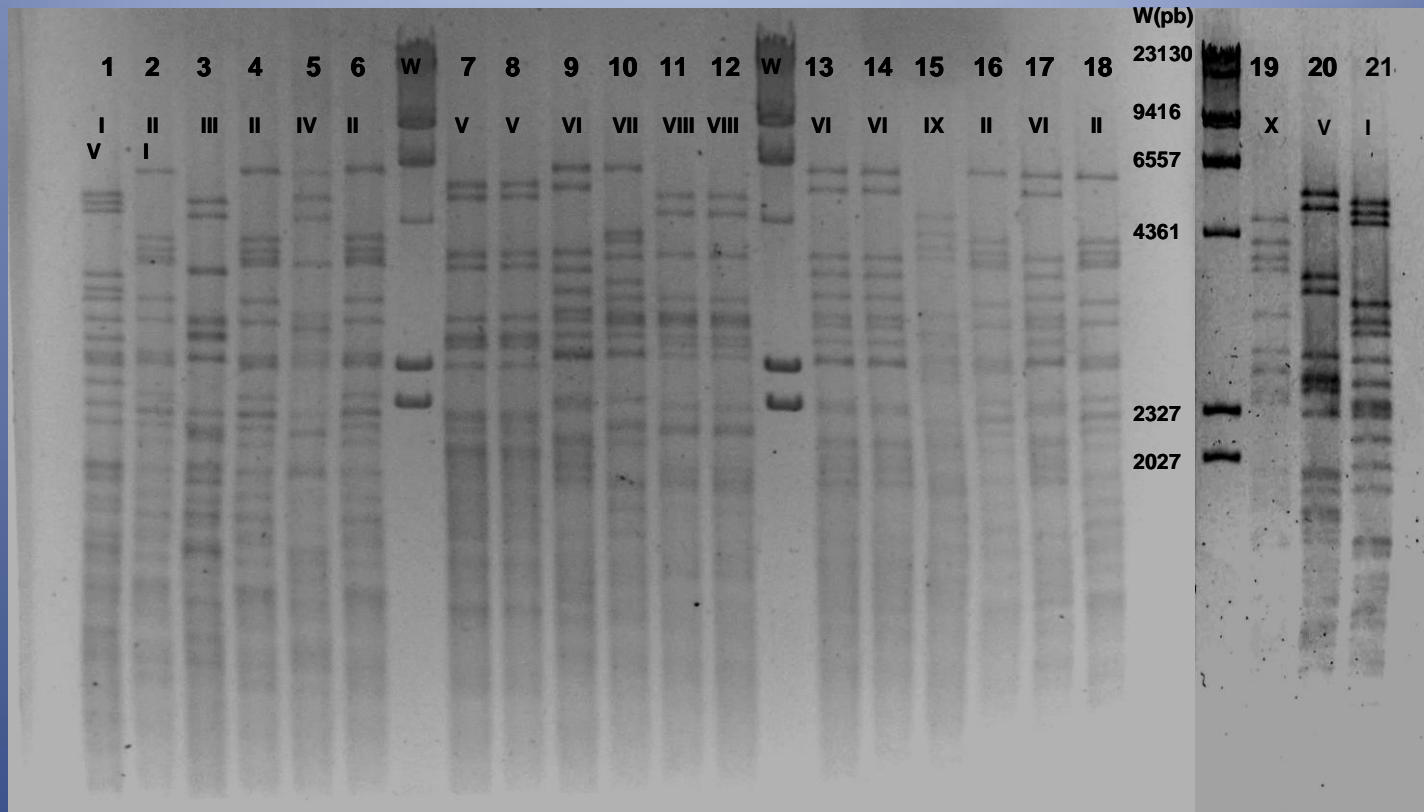


Mif Mlm

M 5 6 7 8 9 10 11 12 16 17 3 4 6 7 8 9 11 17 19 M

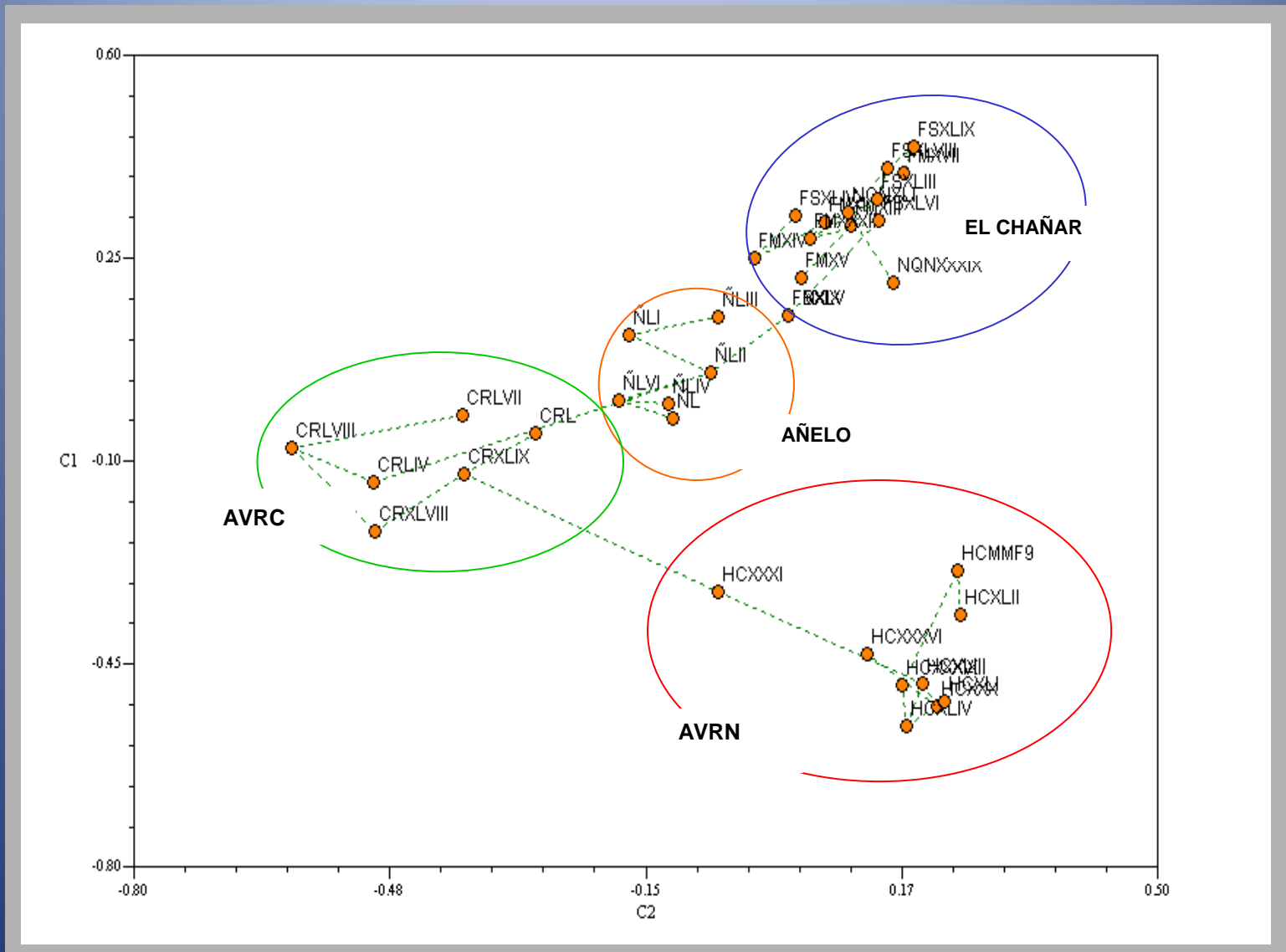


Saccharomyces cerevisiae



RFLP-DNAmit *starters comerciales*

ANALISIS DE GRUPOS: ADN mit, δ y biotipo killer



Varianza acumulada C1 y C2=67%

Estrecha relación entre poblaciones de *Saccharomyces cerevisiae* y terruño

(Caballero et al., 2008 PFIP Resol. SCTIP N° 215/04 Convenio N° 028/05)

SELECCIÓN DE CEPAS

S. Cerevisiae F8 rápido inicio FA

poder fermentativo bajo

buena producción de glicerol

baja producción acidez volátil

M16 FRUCTOFILICA

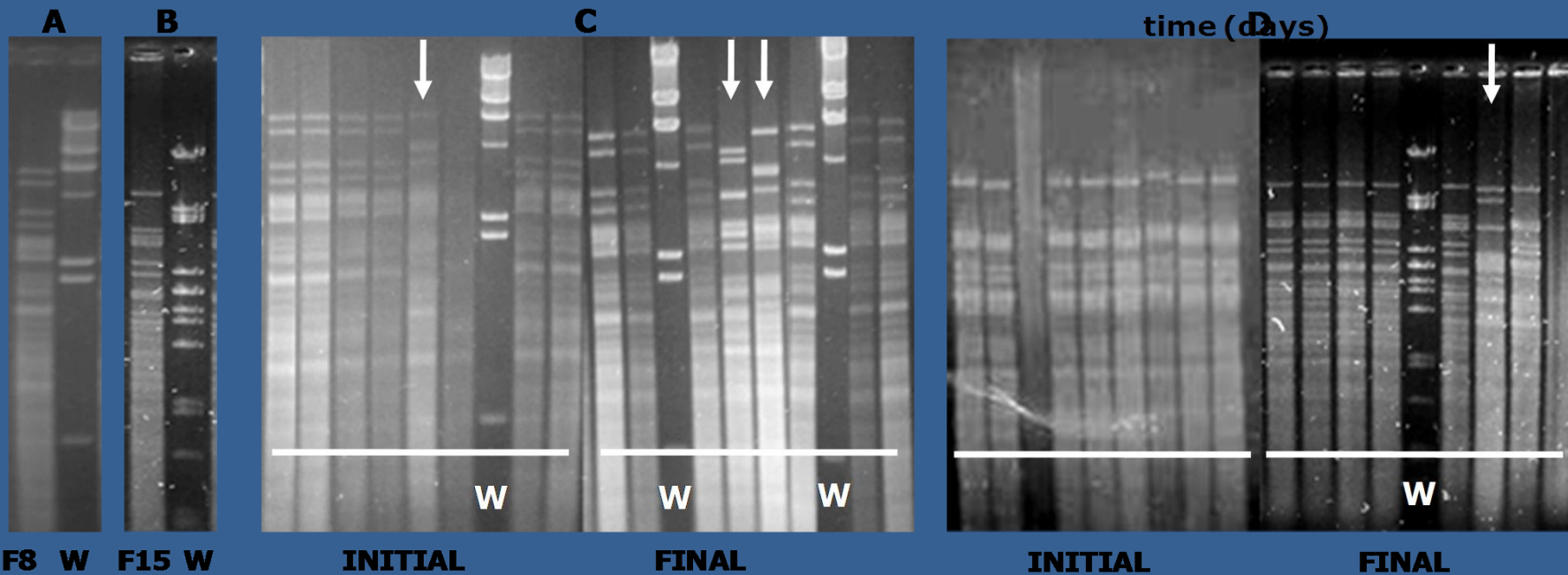
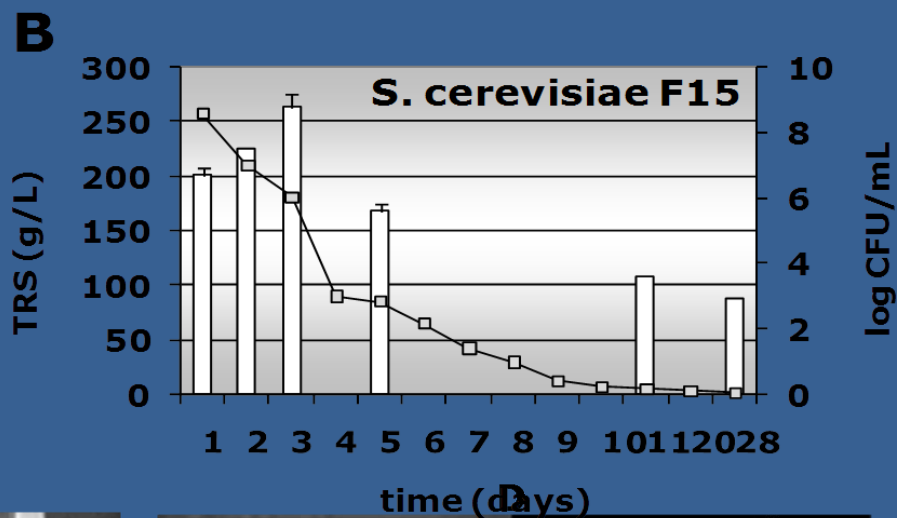
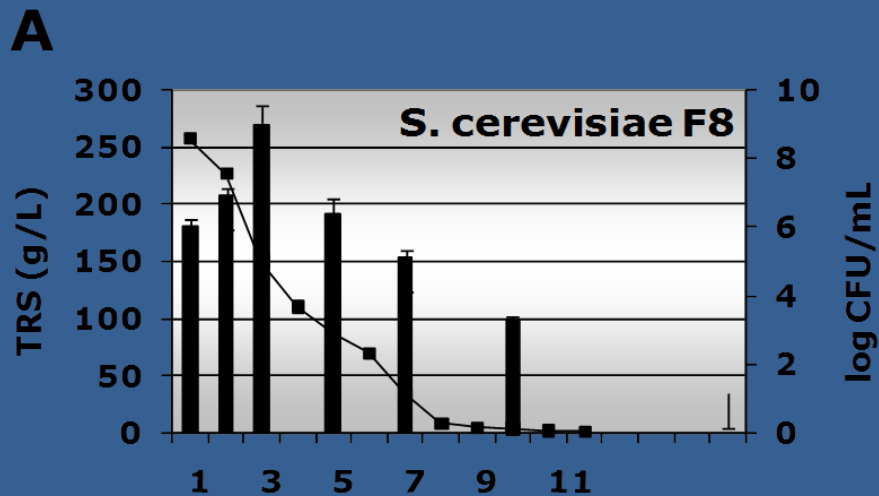
Pichia kudriavzevii con capacidad de consumir

ácido L-málico aumentando el pH en 0,2

unidades y potenciar el aroma frutal y varietal

del Mónaco y col. *Journal of Applied Microbiology* 117, 451-464 (2014).

Saccharomyces cerevisiae F8



Características fisicoquímicas de vinos patagónicos elaborados con *Saccharomyces cerevisiae* F8 (indígena) y F15 (comercial)

Parametro	Malbec 2014 (n=1)		Merlot 2013 (n=2)		Pinot noir 2012 (n=2)	
	F8	F15	F8	F15	F8	F15
ART (g/L)	0,90	2,50	1,25±0,50	2,30 ±1,10	6,40 ±3,81	8,94±2,30
Glucosa (g/L)	0,10	1,23	Nd	0,57 ±0,80	0,55±0,71	Nd
Fructosa (g/L)	1,03	1,3	1,55±0,35	1,77 ±0,25	5,85±2,69	8,77±2,02
pH	3,78	3,75	3,78±0,01	3,78 ±0,03	3,72±0,08	3,66±0,28
AT*	8,79	8,57	5,70±0,00	5,75 ±0,35	6,35±0,08	6,75±0,57
AV#	0,56	0,62	0,45±0,10	0,40 ±0,00	0,63±0,18	0,66±0,14
Etanol (% v/v)	12,25	12,75	13,20±0,00	14,12±0,00	14,25±0,50	14,00±0,14
Glicerol (g/L)	8,47	6,68	10,10±0,24	8,65±0,15	9,35±2,76	9,30±1,70
Acido L-malic (g/L)	1,48	1,71	2,28±0,10	2,51±0,21	3,52±0,60	3,91±0,3
Acido L-Lactic(g/L)	0,76	0,56	2,76±0,07	2,60±0,28	1,65±0,36	0,80±0,20

*acidez titulable expresada como ácido tartárico (g/L); #acidez volátil expresada como ácido acético (g/L). Nd = not detected.

Merlot 2013 (escala industrial, n=2)

- 1 Extremadamente desagradable
- 2 Muy desagradable
- 3 Desagradable
- 4 Bastante desagradable
- 5 Ni desagrada, ni agrada
- 6 Bastante agradable
- 7 Agradable
- 8 Muy agradable
- 9 Extremadamente agradable

PREFERENCIA



13

4

<0,05

F8: Este vino posee a la vista un color rojo ladrillo intenso, limpio y brillante. En nariz es intenso de calidad media, destacándose los siguientes descriptores aromáticos: pimienta, frutos rojos, especias y vainilla. **En boca resultó suave, redondo. Con buena acidez y con cuerpo. Es persistente y equilibrado . PUNTUACION GLOBAL: 6.8**

F15: Este vino posee a la vista un color rojo ladrillo intenso, limpio y brillante. En nariz resulta poco intenso y de calidad media destacándose los siguientes descriptores aromáticos: Pimiento verde, frutos rojos maduros levemente cocidos, especias. **En boca resulto suave, con una evolución ácida y un final picante levemente amargo. Con buen cuerpo, es persistente. PUNTUACION GLOBAL 5.5**

Prueba de Preferencia a los Consumidores



PINOT NOIR

ESCALA PILOTO

MALBEC

F8	F15	p
72	47	0,05

2013 Neuquén Innova 2014

F8	F15	p
74	48	0,05

Fiesta Provincial de la Vendimia 2015

80	49	0,05
-----------	-----------	-------------

Degustación por expertos

ESCALA 1 a 10

F8: 68 (bueno) Más equilibrado

F15: 52 (correcto)

ESCALA INDUSTRIAL

del Mónaco y col. (2014) *Bulletin de l'OIV* 87
(998-999-1000): 217-224

DIRECTORAS: Dra. Adriana Caballero-PTR-UNC

Dra, Liliana Semorile-PTR UNQ-IP CIC

INTEGRANTES UNCo:

Dra. Silvana del Mónaco Inv. Asistente CONICET-JTP UNC

Lic. Yolanda Curilén PAD UNC-Tesista Doctoral CRUB

Bioq. Adriana Simes ASD UNC-Tesista Maestría FACALic.

Lic. Viviana Carreño PAD UNC-Alumna Especial. FATA

Lic. Sebastián Bravo- Becario Doctoral CONICET

INTEGRANTES UNQ

Dra. Emma Tymczyszyn Investigadora Adjunta CONICET

Dra. Lucrecia Delfederico PAD UNQ

Dra. Danay Valdés La Hens JTP UNQ

Dra. Bárbara Bravo-Ferrada Becaria Pos Doctoral CONICET

1º PREMIO ARGENINTA A LA CALIDAD AGROALIMENTARIA

Categoría 1: Investigación y Desarrollo en
Tecnología de los Alimentos







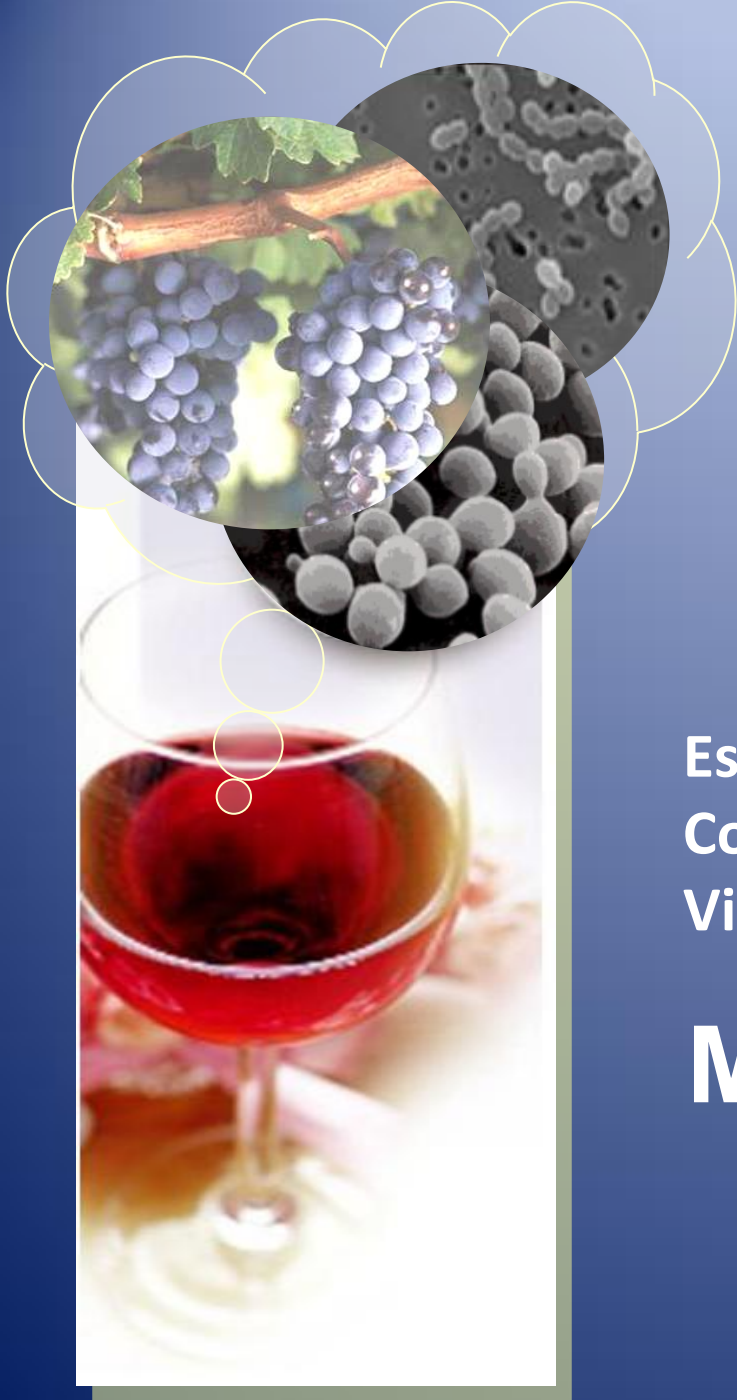
SALIDA DE EMERGENCIA

Christian Lopes

Raúl Barbagelata

M. Eugenia Rodríguez

Marcela Sangorrín



UNComahue
UNQuilmes
MINCyT

Establecimiento Humberto Canale SA
Cooperativa Agropecuaria Valle Azul
Viñedos y Bodegas San Sebastián

MUCHAS GRACIAS!!