# RESOLUCIÓN OIV-OENO 739-2025

# DIRECTRICES PARA EVALUAR LAS PROPIEDADES FERMENTATIVAS DE CEPAS DE *Saccharomyces cerevisiae*

*ATENCIÓN: Mediante esta resolución se añade un anexo a la siguiente resolución:*
*• OIV-OENO 370-2012, "Directrices para la caracterización de levaduras de vino del género Saccharomyces aisladas de ambientes vitivinícolas"*

LA ASAMBLEA GENERAL,

VISTO el artículo 2, párrafo iv del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

CONSIDERANDO los trabajos del Grupo de expertos "Microbiología",

DECIDE, a propuesta de la Comisión "Enología", incorporar el siguiente párrafo a la introducción de la Resolución OIV-OENO 370-2012:

La evaluación de las propiedades fermentativas de cepas de *S. cerevisiae* se solicita para garantizar la calidad de la fermentación alcohólica y la producción de vinos con las propiedades organolépticas esperadas (v. anexo 2). Los resultados obtenidos en condiciones experimentales inadecuadas pueden ser anómalos y no reflejar las verdaderas propiedades fermentativas de las levaduras.

DECIDE incorporar el "Protocolo normalizado para evaluar las propiedades fermentativas de cepas de *S. cerevisiae*" en forma de anexo al final de la Resolución OIV-OENO 370-2012:

## Anexo 2

# DIRECTRICES PARA EVALUAR LAS PROPIEDADES FERMENTATIVAS DE CEPAS DE Saccharomyces cerevisiae

## INTRODUCCIÓN

El empleo de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* con caracteres seleccionados es fundamental para modular las características finales del vino. El primer paso para obtener cultivos iniciadores vínicos de *S. cerevisiae* es la selección clonal basada en la



Certificado conforme Chișinău, 20 de junio de 2025
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
John BARKER

© OIV 2025

caracterización enológica de cepas vínicas de *S. cerevisiae*. Dicha caracterización consiste en evaluar varios caracteres fenotípicos en ensayos de fermentación a escala de laboratorio con medios sintéticos o mostos de uva. Cabría pensar que los mostos naturales de uva permiten una mejor caracterización de las levaduras vínicas, pero las diferencias de composición química influyen en las propiedades enológicas de las levaduras y dificultan la evaluación comparativa de las cepas de *S. cerevisiae* en laboratorios distintos o en sesiones de trabajo distintas en un mismo laboratorio. Asimismo, las condiciones experimentales de los ensayos de fermentación pueden influir considerablemente en los resultados de la caracterización.

## ÁMBITO DE APLICACIÓN

En el cuadro 1 del presente anexo figura un protocolo normalizado y validado para la evaluación de las propiedades fermentativas y metabólicas de cepas vínicas de S. cerevisiae en un medio sintético. Dicho protocolo permite la comparación directa y no sesgada de los datos experimentales de caracterización de levaduras vínicas obtenidos en laboratorios distintos.

**Cuadro 1.** Protocolo normalizado para los ensayos de fermentación con mosto sintético

| Etapa | Procedimiento |
|---|---|
| Origen de la cepa de levadura | Cuando corresponda, utilizar el mismo lote de levaduras secas activas (LSA) previa rehidratación. Si se dispone de otras fuentes, preparar el inóculo líquido como se indica a continuación: sembrar 100 µL del cultivo madre en 5□mL de medio fresco e incubar 12 horas; repetir esta operación tres veces para la normalización del inóculo. |
| Preparación del mosto sintético | La composición del mosto sintético figura en el cuadro 1 de la Resolución OIV-OENO 370-2012. |
| Distribución del mosto sintético | Utilizar matraces de Erlenmeyer de 500□mL con 350□mL de mosto sintético y equipados con válvulas de Müller. Realizar los ensayos por triplicado (tres experimentos independientes). |



Certificado conforme Chișinău, 20 de junio de 2025
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
John BARKER

© OIV 2025

| | |
|---|---|
| Rehidratación de las levaduras | • Rehidratar cada cepa de LSA según las indicaciones de la Resolución OIV/OENO 329/2009:<br>• Pesar 1 g de LSA en condiciones de asepsia,<br>• Rehidratar en 100 mL de agua a entre 36 °C y 40 °C en condiciones de esterilidad,<br>• Homogeneizar con cuidado durante 5 min con una varilla o un agitador magnético,<br>• Detener la agitación y dejar reposar durante 20 min a una temperatura de entre 36 °C y 40 °C,<br>• Volver a homogeneizar durante 5 min a temperatura ambiente,<br>• En condiciones de esterilidad, extraer 10 mL y proceder al recuento de células de levadura viables en una cámara de recuento de Thoma y con un 0,1 % (m/v) de solución de azul de metileno. |
| Siembra de la cepa de levadura | Sembrar las levaduras rehidratadas, o el cultivo líquido previamente preparado, en el mosto sintético para obtener 2□·□$10^6$ células viables/mL. |
| Condiciones experimentales de la fermentación | Incubar los matraces de Erlenmeyer tapados con válvulas de Müller (con ácido sulfúrico) a 25□°C o 17□°C (tintos, blancos y rosados, respectivamente), y en condiciones de estabilidad durante 15 días. |
| Seguimiento de la fermentación | Comprobar diariamente la pérdida de peso tras agitar manualmente cada matraz de Erlenmeyer durante un minuto. |
| Preparación de las muestras de ensayo | Al final de la fermentación, centrifugar a 3000□×□*g* durante 5□min a temperatura ambiente y separar las células del sobrenadante. |
| Análisis químicos | 1. Analizar químicamente los vinos obtenidos al final de la fermentación alcohólica (azúcares residuales < 2 g/L).<br>2. Llevar a cabo los siguientes análisis químicos: contenido de etanol, glucosa, fructosa, glicerol y ácido acético; concentración de acetaldehído, 1-propanol, 2-metil-1-butanol, acetato de etilo, 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol.<br>3. Calcular las cantidades de productos de la fermentación (etanol, glicerol y ácido acético) por unidad de azúcar consumida para normalizar los resultados.<br>4. Los análisis se llevarán según los métodos oficiales de la OIV y en un laboratorio certificado. |



Certificado conforme Chișinău, 20 de junio de 2025
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
John BARKER

© OIV 2025

## FUNDAMENTO DEL PROTOCOLO

En este protocolo se establecen y se describen en detalle una serie de etapas y procedimientos que permiten definir las condiciones normales para la caracterización de las propiedades enológicas de cepas de *S. cerevisiae*. Este protocolo se validó llevando a cabo ensayos intercomparativos de fermentación a escala de laboratorio con un medio sintético y mostos de uva, y comprobando que se obtienen resultados repetibles, reproducibles y válidos desde el punto de vista estadístico. La replicabilidad del protocolo se basa en la aplicación de condiciones experimentales normalizadas (calculando las cantidades de productos de la fermentación por unidad de azúcar consumida) y en el correcto tratamiento de los datos, combinando pruebas no paramétricas y análisis de conglomerados *(cluster)*.

## Referencias bibliográficas

1. Romano, P., y otros: "Validation of a standard protocol to assess the fermentative and chemical properties of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains", *Frontiers in Microbiology*, vol. 13, 2022. Disponible en: doi:10.3389/fmicb.2022.830277



Certificado conforme Chișinău, 20 de junio de 2025
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
John BARKER

© OIV 2025