

Selección de levaduras vínicas puras especializadas en la producción de altas graduaciones alcohólicas.

Ing. Agr. HUGO GONZALEZ TORIÑO

Trabajo realizado en la Cátedra
de Industrias Agrícolas.

Como uno de los temas de nuestro 5º año de estudio llevamos a cabo en los Laboratorios de la Cátedra de Industrias Agrícolas la investigación del título, que comprende los siguientes capítulos:

- I.—Generalidades e historia de la fermentación alcohólica.
- II.—Ensayos para conseguir levaduras puras especializadas.
- III.—Diferenciación de las dos razas de levaduras seleccionadas.
- IV.—Consideraciones sobre los trabajos efectuados de selección de levaduras.
- V.—Conclusiones.

I

GENERALIDADES E HISTORIA DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA

Con el nombre de fermentación alcohólica se comprende las transformaciones que por obra de microorganismos pueden sufrir algunos azúcares.

Va desde tiempos prehistóricos se conocía la preparación de bebidas alcohólicas por fermentación, pero si bien se sabía el resultado de ello, no se conocía el agente que la producía ni se había intentado dar una explicación de este fenómeno.

En la Edad Media se sabía separar de los líquidos fermentados, por destilación, un producto volátil: el alcohol.

Recién en 1600, Sthall enunció la primera teoría sobre la fermentación, que explicaba suponiendo que el fenómeno consistía en un violento movimiento interno de las partículas de los líquidos en fermentación, el que podía transmitirse a otros líquidos. Este movimiento rompía los constituyentes esenciales del líquido dando productos volátiles (anhidrido carbónico) y fijos (alcohol, glicerina, etc.).

En 1784-89, Lavoisier partiendo del principio que nada se crea y nada se destruye, representa en fórmula, si bien errónea, las cantidades de carbono, oxígeno e hidrógeno del azúcar y de los productos de transformación. Esta fórmula aunque equivocada, constituye la base de los estudios posteriores.

Con Thenard, Gay-Lussac y otros investigadores se precisa la fórmula originaria, pero aun quedaba desconocida la naturaleza del agente fermentador.

Ya en 1860, Leewenhoek había observado en vinos, con un microscopio de 150 diámetros de aumento, unas partículas redondas y ovales, sin determinar su naturaleza.

En 1837-38, Cagniard-Latour descubre en los depósitos de fermentación partículas redondas incapaces de movimiento, que se reproducían por gemación; y considera que la fermentación era un producto de su vegetación.

Al mismo tiempo (1837), Schwann y Kützing reconocen la existencia de un organismo vegetal que causaba la fermentación y el último lo describe. Estos estudios fueron acogidos con incredulidad.

Liebig enuncia otra teoría: al final de la fermentación, todo el carbono del azúcar se encuentra en el alcohol y en el anhídrido carbónico producido, y esta descomposición es debida a un fermento producto de la acción del oxígeno sobre los jugos azucarados. Según Liebig la fermentación era un fenómeno químico.

Pasteur fué el que aportó una prueba decisiva a la teoría vitalista de la fermentación (1857). Resumió sus ideas expresando: "El acto químico de la fermentación es esencialmente un proceso correlativo a un acto vital comenzado y terminado con el mismo. La fermentación no se produce sin una organización, un desarrollo y una multiplicación de la célula o sin la continuación de la vida de las células ya formadas"

A Pasteur también debemos el balance de la fermentación que nos demuestra que el 95 % del azúcar es transformado en CO_2 y en $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COH}$, alcohol, y que el 5 % restante se transforma en glicerina, ácido succínico, etc.

En 1858, Traube sostiene que la fermentación es debida a un producto de secreción celular. Esto recién fué demostrado por Buchner en 1897 haciendo fermentar un mosto estéril con jugo celular de levaduras.

Debemos recordar que en 1800 Hansen es el primero en separar diversos fermentos y obtener cultivos puros derivados de una sola célula, que le dieron buenos resultados en la fermentación.

A pesar de que ya desde 1880 se hace selección de levaduras y se ha reconocido su bondad, actualmente en nuestro país son pocos los industriales que trabajan con levaduras seleccionadas, dejando la gran mayoría que sus fermentaciones sean espontáneas, con todos sus inconvenientes, en muchos casos.

CULTIVOS PUROS —

Se entiende por cultivo puro el conseguido por multiplicación de una sola célula. Para conseguir aislar una sola levadura se emplean varios métodos que más adelante se enumerarán.

VENTAJA DEL EMPLEO DE CULTIVOS PUROS ESPECIALIZADOS —

Sabemos que en la superficie de la uva se encuentran las levaduras vínicas y que son llevadas al mosto en el desgranado o molienda; mas, se agregan al mosto también microorganismos desfavorables a la vinificación: micodermas, torulas, dematium, etc., y que, al desarrollarse, pueden resultar peligrosos para la estabilidad del producto final: el vino.

Además, entre las levaduras vínicas hay buenas y malas.

S. apiculatus. — Según algunos autores, el *S. apiculatus* es considerado como *Sacaromyces* y, según otros, como *Pseudo-saccharomyces*. Tiene forma de limón apuntado en sus extremidades, y su composición es análoga a la de los *Saccharomyces* verdaderos; pero no tiene la facultad de formar esporos, que caracteriza al *S. elipsoideus*.

Este pseudo-saccharomyces se encuentra en la uva en mayor cantidad que el verdadero (según Martinard la proporción es de

100:1) y debido a esto, unido a su gran poder reproductor, es que prima en la fermentación.

Müller-Thurgau ha determinado que el *S. elipsoidens* sufre con la presencia del apiculatus y que este sufrimiento aumenta con su menor vigor.

Otras experiencias parecen indicar que su acción hace lenta la actividad del fermento elíptico, obligándole a dejar azucar remanente, con el consiguiente peligro de fermentaciones secundarias extrañas. Produce, además, acidez volátil alta, destruyendo ácidos fijos y sustancias extractivas, siendo su aprovechamiento del azúcar menos favorable para la producción de alcohol. Da poco alcohol, dado que resiste pequeñas concentraciones; dejando de trabajar cerca de 4°. Si bien es cierto que su acción es mortal para las levaduras salvajes y demás microorganismos este resultado se puede conseguir según al menos investigadores con el *S. elipsoideus* que empezará a trabajar solo.

Cuando el Apiculatus deja de trabajar, sigue la fermentación con el *S. pastorianus*. También hay dudas sobre la clasificación de esta levadura. Tiene diversas formas: ovales, piriformes, redondeadas y muy alargadas (de diámetro mayor de 6 a 20 micrones).

Al principio de la fermentación sus células son muy grandes, disminuyendo su tamaño a medida que el oxígeno desaparece del líquido (faz anaerobia del fermento).

Puede igual que el fermento elíptico, esporular; pero lo hace con gran variación en la cantidad de esporos.

En la fabricación de cerveza es considerado como nocivo, por dar sabor amargo y dificultar la clarificación.

En vinificación da buenos resultados, pero no se puede comparar con los que da el *S. elipsoideus*. Deja de trabajar a los 12°.

De lo que antecede se deduce que es ventajoso el empleo de fermentos seleccionados que eliminan a las levaduras indeseables y microorganismos nocivos, pues las ventajas son muchas y hay la seguridad de conseguir un producto bueno.

El uso de fermentos puros es ventajoso:

1.0 — Da seguridad de una fermentación normal. — No siempre el mosto dejado a sí mismo inicia enseguida la fermentación. Si el número de fermentos es pequeño y su estado fisiológico no les permite una rápida multiplicación, pueden pasar varios días antes de que se inicie la fermentación, con el riesgo de fermentaciones extrañas que dañarían el vino.

2.0 — Rapidez en la clarificación. — Los vinos así fermentados clarifican rápidamente y son aptos para entrar enseguida en consumo. Esto significa la ventaja económica de la rápida desocupación de los recipientes vinarios.

3.0 — Influyen ventajosamente en la fermentación secundaria, anulando el peligro de infecciones extrañas (microorganismos que encuentran medio propicio en vinos pocos ácidos y levemente azucarados).

4.0 — Mejor conservación. — Como los organismos nocivos se encuentran sobre la uva, si el mosto demorara en fermentar esos microorganismos se desarrollarían mucho, dando vinos de difícil conservación.

5.0 — Los vinos obtenidos son de gusto franco.

6.0 — Se puede conseguir tipos uniformes de vinos, que después de impuestos en el mercado, son muy apreciados.

7.0 — Con el empleo de razas adecuadas se pueden conseguir bouquets particulares. En cuanto a esto hay que tener en cuenta, en primer término los mostos.

SACCHAROMYCES ELIPSOIDEUS (HANSEN)

Separado por Hansen del jugo de uva sobremadurado al romperse la cáscara de aquella. Tiene formas elíptica generalmente; pero se encuentran redondeadas y ovoides. Se reproduce por gemación entre 0,5 y 40° C. Las células esporígenas contienen de 1 a 4 esporos, siendo su temperatura de esporulación: Máxima, 31° C.; mínima 5 - 7° C. y óptima 25° C. Estas células esporulan al encontrarse en un medio adverso, pasando así de un año a otro en las cepas, en la tierra, etc. En el aire también se encuentran aumentando su cantidad en los locales de fermentación al correr de la misma.

Las células esporuladas al encontrar un medio nutritivo se multiplican, al romperse la membrana materna que encierra los esporos, por gemación de los mismos. Estos esporos miden de 2 a 4 micrones y son circulares, teniendo importancia su cantidad en la clasificación de diferentes razas.

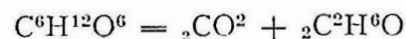
El *S. elipsoideus* sigue trabajando después que el *S. pastorianus* dejó de hacerlo y puede dar 15 a 16° de alcohol si se selecciona en ese sentido.

FERMENTACION ALCOHOLICA Y SUS PRODUCTOS

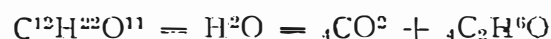
Los dos productos principales de la fermentación, el anhídrido

carbónico y el alcohol son conocidos desde hace mucho tiempo.

Lavoisier, como ya vimos, nos dió la primera fórmula química de la fermentación. El formulaba el desdoblamiento del azúcar según la ecuación siguiente:



Fueron **Dumas** y **Boulay** quienes dieron la fórmula verdadera, reconociendo que la de **Lavoisier** es aceptable para la glucosa pero no para la sacarosa. Su fórmula era la siguiente:



Como vemos aquí entra el concepto de la inversión de la sacarosa (**Berthelot** probó que este fenómeno de hidratación era debido a un fermento soluble contenido en la levadura). (1832).

Esta fórmula fué considerada como fiel traducción de los hechos, a pesar que **Smith de Dorpat** señala la presencia de ácido succínico en los líquidos fermentados (1848).

Es **Pauster** quien da la verdadera interpretación del acto químico, estableciendo:

1.o — Que en toda fermentación alcohólica se forma además de alcohol y anhídrido carbónico; glicerina, ácido succínico, y muy pequeñas cantidades de grasas, celulosa, etc.

2.o — Que la glicerina y el ácido succínico se forman a expensas del azúcar, sin que la levadura les de nada.

3.o — Que el azúcar cede a veces cierta proporción de su materia a la levadura en vida de desarrollo, en la que forma la membrana y grasas.

4.o — Que la presencia de ácido láctico era debida a otra fermentación simultánea.

Admite que 100 gramos de sacarosa dan al fermentar:

Alcohol	51.10 gramos
Anhídrido carbónico	49.20 "
Glicerina	3.40 "
Acido succínico	0.65 "
Celulosa, grasas, etc.	1.30 "
	105.65

Esta sería la fórmula teórica, pero como ya hizo notar, la levadura utiliza el azúcar para sus necesidades vitales. Se puede fijar la efectividad de la levadura, dando el valor unidad a la que da como valores de los productos fermentados, los del cuadro anterior.

Acción fisiológica de la levadura. — Enseguida que la célula de levadura encuentra un medio favorable, el mosto, absorbe con rapidez los alimentos que en él encuentra, llenando sus vacuolas y aumentando de volumen.

El oxígeno disuelto en el líquido es absorbido con energía y utilizado en la respiración, exhalando una cantidad correspondiente de anhídrido carbónico. (Faz aerobia de la fermentación). La cantidad de oxígeno absorbido aumenta con la temperatura hasta los 60° en que la levadura muere.

Simultaneo con el desarrollo de la levadura se forma la zimasa en sus células. Cuando todo el oxígeno del líquido desaparece la zimasa ataca al azúcar transformándola en alcohol y ácido carbónico como productos principales. La levadura trabaja ahora en anaerobiosis y se caracteriza por la gran cantidad de CO² que se desprende. (fermentación tumultosa). En este periodo la temperatura puede aumentar paralizando la acción de la zimasa; de ahí la necesidad de trabajar a bajas temperaturas (menos de 35° C.), para prevenir de la fermentación manítica.

Terminada la fermentación tumultosa es el momento de descubrir y con ello se consigue que la levadura se reavive y produzca una débil fermentación (fermentación secundaria). El objeto del descube es el de alejar a las levaduras que se han depositado, pues muchas mueren por falta de aire y alimento constituyendo un excelente sustrato para los bacilos de la putrefacción.

INFLUENCIA DE LOS PRODUCTOS DE LA FERMENTACION. — ACCION DEL ALCOHOL.

Según **Wortmann** el alcohol sirve al fermento para impedir el desarrollo de otros microorganismos; pero a pesar de su resistencia el fermento mismo es influenciado, a su vez, por la presencia de alcohol.

La levadura deja de fermentar en mostos con 12 - 14 grados de alcohol, a causa de su auto-intoxicación.

Basado en la prevalencia de razas más aptas, se puede hacer la selección haciéndolas trabajar repetidamente en medios muy azucarados para que de grados alcohólicos de más de 16°. De esta manera fué encarado el presente ensayo.

Acción del ácido. — La acción de la acidez es mas relativa, pues como se verá, la levadura trabaja en buenas condiciones en variaciones de acidez tan grandes como de 3.5 % a 15 %. Con todo, es necesario recordar que hay un óptimo de acidez (por lo

general los vinos se fermentan con 6 ‰ de acidez en ácido sulfúrico).

En cuanto a la acción del CO_2 no tiene en nuestro caso importancia alguna.

Acción del anhídrido sulfuroso agregado para impedir el desarrollo de las fermentaciones extrañas. — Como ya sabemos, el SO_2 , puesto en dosis pequeñas, paraliza la fermentación. Pero si se acostumbra a las levaduras a trabajar en ese medio, se puede hacer fermentaciones, eliminando la concurrencia de organismos nocivos.

MÉTODOS DE SELECCIÓN. —

Selección natural. — Todos los organismos tienen diferentes necesidades, de ambiente, de nutrición, temperatura, etc.

Es sabida que la prevalencia de un organismo sobre otros es muy común en la naturaleza. Conociendo las aptitudes y necesidades de un organismo que se quiera seleccionar, todo se reduce a ofrecerle un medio que le sea favorable y le ponga en mejores condiciones que otra especie.

Haciendo cultivos repetidos de estos organismos en medios siempre favorables se tendrá al cabo de un tiempo una mezcla de aptitudes afines. Es decir, que en nuestro caso se conseguirá una mezcla de diferentes razas de levaduras. Como el fin de este trabajo es el de especializar a las levaduras en la producción alcohólica trabajando ya sea con mostos concentrados o alcoholizados de manera que den grados mayores de 16, por repiques sucesivos se obtendrán varias razas de levaduras de las que es necesario, si se quiere obtener una raza pura, separarla por otro método, que puede ser el método de Lidner o por medios mecánicos.

Cultivos en gota pendiente según Lidner. — Es este un medio difícil aunque da seguridad absoluta en la selección.

Consiste en hacer cultivos en pequeñas gotas sobre un cubre objetos, que va colocado sobre un porta objetos con una concavidad, teniendo que cerrar bien para impedir la entrada del aire, lo que se consigue con vaselina líquida.

Para que sea posible el método, es necesario que por lo menos en una gota quede una sola célula de levadura.

Eso además tiene el defecto que la colonia conseguida por la multiplicación de esta célula puede no ser la mejor de la mezcla.

Este mismo defecto tiene el método de selección mecánica, que es más fácil de hacer: defecto que se puede subsanar con un ensayo comparativo de las diferentes razas conseguidas para seguir con la mejor.

Métodos de selección mecánica. — Consiste en hacer cultivos sobre medios sólidos que con el calor se licúan (caldos o mostos gelatinizados) y que luego se solidifican por enfriamiento, formándose en su medio colonias de levaduras que habrán sido sembradas con el medio líquido.

Practicamente cada colonia habrá sido generada por una sola levadura.

Haciendo con estas colonias repiques en mosto, se consigue un cultivo puro.

Ventajas de los vinos de alto grado alcohólico. — En la conservación del producto. — Ya es sabido que el alcohol es de acción antiséptica y que vinos con más de 12 grados de alcohol son más conservables, disminuyendo en forma sensible los riesgos de acetificación.

Por este motivo se le usa en el añejamiento en soleras que necesita vinos de 15 a 17 grados.

Ventajas económicas. — Conseguir sin levaduras especializadas vinos de alto contenido alcohólico, es en general, imposible, pues fermentando libremente se obtienen grados de 12 y 13 como máximo. Ahora bien, si se quiere utilizar uno de estos vinos para añejar en soleras, deben ser alcoholizados previamente de 3 a 5 grados, lo que demanda gastos.

Es económicamente ventajoso trabajar con mostos concentrados que nos den el grado alcohólico necesario.

También es ventajosa la producción de vinos licorosos para vermouth cuyos caracteres deben ser:

- 1.º — Grado alcohólico de 15 a 17.
- 2.º — Perfume limitado.
- 3.º — Sabor amargo (esto no depende de la vinificación).
- 4.º — Riqueza Sacarina de 5 a 7 grados Baume (120 a 150 gramos de azúcar por litro).

Otra ventaja sería la producción de un vino de tipo de fácil colocación, ya fuera seco o dulce.

II

ENSAYOS PARA CONSEGUIR LEVADURAS PURAS ESPECIALIZADAS

Trabajos iniciados el día 3 de Abril de 1937

Cómo se consiguieron las levaduras primitivas. — Vinificación con mosto cuya azúcar reductor fué llevada con mosto concentrado a 220 y 250 gramos por mil.

Abril 3. — Prensado de 36 kilogramos de uva de los que se obtuvo 18,5 litros de mosto cuyo análisis es el siguiente:

Densidad a 15°	1,0788
Acidez sulfúrica	4,70 ‰
Azúcar reductor	156,25 ‰

Se concentraron 9 litros que quedaron reducidos a litros 1,850 su análisis es:

Acidez sulfúrica	24,50 ‰
Azúcar reductor	893,00 ‰
Azúcar total	926,00 ‰

El mosto restante se sulfitó y se colocó en cámaras frigoríficas.

Abril 8. — El mosto fué dividido en dos partes y se le agregó mosto concentrado hasta llevar su azúcar a 220 y 250 gramos por litros. Este mosto se dejó fermentar espontáneamente en cubas pequeñas anotando todos los días la densidad y temperatura.

Planillas de fermentación

		220 gramos		250 gramos	
		Dens.	Temp.	Dens.	Temp.
Abril	8	1,101	15.º	1,107	15.º
"	9	1,088	15.º	1,096	21.º
"	10	1,066	21.º	1,072	20.º
"	11	1,049	20.º	1,051	20.º
"	12	1,031	19.º	1,036	19.º
"	13	1,019	19.º	1,024	19.º
"	14	1,008	18.º	1,012	18,5.º
"	16	1,001	18.º	1,006	18.º

El día 16 se descubó y se embotelló con borras que se llevaron al frigorífico donde quedaron hasta el 1.º de Junio.

Junio 1.º — Se separaron las borras en balones y se hizo el análisis de los vinos con el siguiente resultado:

	220 gramos	250 gramos
Dens. a 15.º	0,9942	0,9943
Acidez	5,29 ‰	6,05 ‰
Azúcar reductor	3,33 ‰	4,63 ‰
Azúcar total	4,01 ‰	5,81 ‰
Alcohol	12.º45	13.º50
Color	Caramelo claro	
Gusto	Seco	

Mayo 31. — Preparación de medios de cultivo. —

Medios líquidos. — Con mostos que estaban en cámara frigorífica ya bastante clarificado, por el frío y se clarificó por ebullición y filtrado en caliente se preparó el medio líquido necesario para estos ensayos.

Julio 1.º — Previo agregado de 10 gramos de fosfato de amonio por hectólitro de mosto, este fué envasado en matraces de 250 c.c. con 150 c.c. y en tubos grandes de ensayo con 20 c.c. Todo se esterilizó por tyndalización (en tres veces cada 24 horas durante media hora).

Análisis del mosto después de tyndalizado:

Densidad	1,088
Acidez	3,82 ‰
Azúcar reductor	193,87 ‰
Azúcar total	199,81 ‰

Junio 2. — 1 litro de mosto de la siguiente composición.

Densidad	1,081
Acidez	3,77 ‰
Azúcar reductor	185,18 ‰
Azúcar total	198,29 ‰

Fué neutralizado (reacción levemente alcalina) con NaOH N/1. Su cantidad de azúcar fué llevada a 12 ‰ con agua destilada, calentando luego el mosto a 45.º C. en baño maría. Se le agregó una clara de huevo batida a punto merengue, agitando para mezcla clara de huevo batida en la estufa de Koch durante 15 minutos y clar. Se colocó luego en la estufa de Koch durante 15 minutos y después de sacado se espunó y filtró. El mosto gelatinizado así preparado se envasó en tubos chicos con 9 c.c., para tyndalizar.

Junio 9. — Cultivo de las levaduras de las borras del vino de 250 de azúcar en matraces de mosto esterilizado que fué alcoholizado.

El agregado de alcohol en los matraces se calculó de manera que unido al alcohol producido por la fermentación correspondiera a la transformación de 250 y 260 de azúcar (dos matraces de c/u.).

Estos matraces fueron infectados con borras del vino de 250 de azúcar (toques con varilla de vidrio esterilizada) y puestos en termostato a 28.° C.

Junio 10. — El líquido se enturbió, indicando la iniciación de la fermentación.

Junio 12. — Se hizo repique en matraces de 250 y 260 (alcoholizados) con varilla de vidrio esterilizada al calor. (2 matraces de c/u.).

Junio 14. — Fermentación muy viva en los cuatro matraces.

Junio 15. — Repiques en tubos también alcoholizados (dos de c/u.). ⁽¹⁾

Junio 16. — Fermentan los tubos de 260 debilmente, los de 250 fermentan con gran desprendimiento de CO₂.

Junio 18. — Análisis de los matraces del día 9:

	250 (N.º 1)	250 (N.º 2)
Acidez	4,90 ‰	4,85 ‰
Azúcar reductor	30,86 ‰	32,89 ‰
Alcohol	12,9--	12,35 ‰
	260 (N.º 1)	260 (N.º 2)
Acidez	4,17 ‰	4,51 ‰
Azúcar reductor	33,79 ‰	35,21 ‰
Alcohol	12,40	12,9--

Como puede verse, estas levaduras, si bien trabajaban en mostos alcoholizados, no resistieron arriba de 12,50, dejando gran cantidad de azúcar remanente (hasta 35,21 ‰).

⁽¹⁾ — Para mayor comodidad se dirá 250 y 260 a los matraces y tubos correspondiente, indicando dicha notación que se le han hecho los agregados de alcohol que debían llevar para que correspondan a 250 y 260 de azúcar reductor por litro.

Junio 18. — Análisis de los matraces del día 12:

	250 (N.º 1)	250 (N.º 2)
Acidez	4,29 ‰	
Azúcar reductor	19,39 ‰	Se rompió
Alcohol	12,94	
	260 (N.º 1)	260 (N.º 2)
Acidez	4,23 ‰	4,52 ‰
Azúcar reductor	23,17 ‰	26,89 ‰
Alcohol	13,26	13,21

Cultivos en medio sólido (mosto gelatinizado)

Se hicieron diluciones de los mostos en fermentación de los tubos de 250 y 260 del día 16.

260. — Dilución 1/1000.000 en agua destilada esterilizada.

Se tomó 1 c.c. de la dilución y se sembró en placas de Petri (2 placas) con 9 c.c. de mosto gelatinizado, agitando con cuidado.

Se sembró además en 2 placas con dilución 1/10.000.

250. — Dos placas con dilución 1/1.000.000 y 2 con 1/10.000.

Las placas fueron puestas bajo campana de vidrio a temperatura ambiente (15° C.).

Junio 20. — En todas las placas de 250 hay colonias (en una 34 y en otra 37).

Junio 21. — Se sembró un tubo con una colonia de 250 (para diferenciar de los tubos y matraces de repiques de las borras se anotarán estos cultivos así: 250 A y 260 B.). Observadas al microscopio, las colonias de 250 A. muestran levaduras elípticas.

Junio 23. — El tubo 250 A. del día 21 empezó a fermentar.

Junio 26. — En las placas de 260 hay colonias (50).

Junio 28. — Primer repique en tubo del cultivo 250 A. (21 de Julio).

Junio 30. — Cuarto repique en tubos de 250 y 260 del día 15 de Junio.

Siembra de un tubo de 260 B con colonia de placa de Petri.

Análisis del azúcar reductor y acidez de los tubos de los días 15 de Junio:

	250	260
Azúcar reductor	5,03 ‰	5,55 ‰
Acidez	4,25 ‰	4,32 ‰

Julio 2. — Fermentan los tubos de 250 y 260 y el tubo 260 B.

Julio 20. — Segundo repique 250 A.

Agosto 18. — Quinto repique de 250 y 260 en tubos. Estos tubos fueron dejados de lado para seguir con las levaduras 250 A. y 260 B. que dan la seguridad de ser puros. Además, estas últimas se han comportado mejor que las otras según análisis que sigue:

	250	250 A.	260	260 B.
Azúcar reductor	5,03 ‰	3,33 ‰	5,55 ‰	2,71 ‰

Análisis correspondientes al cuarto repique de los tubos 250 y 260 y al primer repique de los tubos 250 y 260 B.

Agosto 18. — Tercer repique en tubos de 250 A. y segundo de 260 B. de Julio 2 y julio 20 respectivamente.

Agosto 24. — En mosto conservado en frío, se hicieron agregados de mosto concentrado y sacarosa hasta que dieran al mustímetro densidades correspondientes a 250-260 de glucosa. Como la cantidad de azúcar de sacarosa era grande, y el mustímetro tiene en cuenta el extracto del mosto, resulta que las densidades correspondientes no indicaban esas cantidades de azúcar sino una cantidad superior, pues, hay que tener en cuenta además que 100 gramos de sacarosa dan 106,65 gramos de glucosa al invertirse. Esto se va notar en el análisis del alcohol del vino de 250 que fué el que llevó mayor cantidad de sacarosa.

Al recipiente de 260 con 10 litros de mosto se le agregó 150 cc. de pie de cuba.

El mosto tenía 8°C.

El pie de cuba fué hecho con una colonia gigante de levadura 260 B. en mosto esterilizado el día 23. Empezó a fermentar en media hora.

Agosto 26. — A la cuba de 250 con 10 litros de mosto se le entregó como pie de cuba 150 c.c. de mosto en fermentación que fué sembrado el día 24 de un tubo de 250 A. Los mostos fueron calentados a 18.º en la cuba 260 B. Hay una fermentación leve.

Agosto 27. — La cuba 250 A. empezó a fermentar.

Setiembre 1.º — Tercer repique de 260 B. en tubos.

Setiembre 14. — Se descubrió el vino de 250 A. y 260 B. cuyo análisis sigue:

	250 A.	260 B.
Azúcar reductor	3,19 ‰	2,73 ‰
Azúcar total	3,69 ‰	3,01 ‰
Alcohol	15º	16º3
Acidez	5,13 ‰	5,22 ‰

Diciembre 12. — Del tubo de 250 A. se repicó en 11 tubos y un matraz y del de 260 B. se hizo lo mismo, alcoholizando como siempre el medio del cultivo. Se siguió las variaciones del azúcar reductor y acidez en los tubos, y al final de la fermentación se hizo el análisis de alcohol, azúcar y acidez del matraz. Empezaron a fermentar al 14.

Planilla de fermentación

	250 A.		260 B.	
Día	Azúcar	Acidez	Azúcar	Acidez
14	189,4 ‰	4,61 ‰	189,4 ‰	4,61 ‰
15	181,2 ‰	4,80 ‰	176,1 ‰	4,85 ‰
16	64,1 ‰	5,10 ‰	106,4 ‰	5,19 ‰
17	25,8 ‰	5,39 ‰	25, ‰	5,29 ‰
18	12,5 ‰	6,17 ‰	14,7 ‰	6,17 ‰
19	Domingo			
20	6,1 ‰	5,78 ‰	5,8 ‰	6,03 ‰
24	1,1 ‰	5,68 ‰	1, ‰	5,78 ‰

Diciembre 26. — Análisis de los matraces:

	250 A.	260 B.
Alcohol	13º1	15º1
Azúcar	3,3 ‰	3,00 ‰
Acidez	5,29 ‰	5,28 ‰

Es de notar que las cantidades de alcohol son menores que las producidas en la fermentación en cubas, pero ello es debido seguramente a la temperatura alta (28º) que volatiliza algo de alcohol.

Ahora nos resta hacer un acostumbramiento progresivo a dosis altas de SO² para una nueva vinificación con los mostos de la vendimia de 1938.

Diciembre 27. — Ensayo de acostumbramiento a dosis de SO² de 10 gramos por hectólitro. Se tomaron 24 tubos que como de costumbre, fueron alcoholizados y se les agregó una solución de

metabisulfito de manera que este agregado correspondiera a 20 gramos por hectólitro que equivalen a 10 de SO^2 . Se sembraron 12 tubos de 250 y 12 de 260 B. Además se prepararon dos matraces también alcoholizados y sulfitados.

Planilla de fermentación

Día	250 A.		260 B.	
	Azúcar	Acidez	Azúcar	Acidez
27	195,3 ‰	4,02 ‰	195,3 ‰	4,02 ‰
28	No han empezado a fermentar			
29	184,5 ‰	4,21 ‰	No han empezado a fermentar.	
30	174,8 ‰	4,31 ‰	177,3 ‰	4,05 ‰
31	138,9 ‰	4,37 ‰	165,6 ‰	4,07 ‰
1 En.	98,1 ‰	4,41 ‰	113,6 ‰	4,65 ‰
2	89,3 ‰	4,65 ‰	88,7 ‰	4,75 ‰
3	41,7 ‰	4,65 ‰	41,2 ‰	4,90 ‰
4	30,1 ‰	4,70 ‰	35,7 ‰	4,61 ‰
5	20,8 ‰	4,90 ‰	25 ‰	4,41 ‰
6	15,6 ‰	5,14 ‰	18,5 ‰	4,35 ‰
9	11,9 ‰	4,96 ‰	12,4 ‰	4,31 ‰
13	10 ‰	4,96 ‰	11,3 ‰	4,31 ‰

Las levaduras no han transformado toda el azúcar quizá porque en tubos la acción del SO^2 sea mayor, pues en matraces el análisis dió

	250 A	260 B
Alcohol	13°1	14°7
Azúcar	1,7 ‰	4,81 ‰
Acidez	4,98 ‰	4,45 ‰

Se repitió el ensayo con 10 gramos de SO^2 por Hectolitro, repicando en tubos (12 de c/u.) y en dos matraces.

Planilla de fermentación

Día	250 A		260 B	
	Azúcar	Acidez	Azúcar	Acidez
12	192,3 ‰	4,02 ‰	192,3 ‰	4,02 ‰
13	No ha empezado a fermentar.			
14	186,5 ‰	4,90 ‰	185,2 ‰	4,85 ‰
15	170,1 ‰	5,10 ‰	125,- ‰	5,09 ‰
16	141,8 ‰	5,10 ‰	87,4 ‰	5,12 ‰
17	86,2 ‰	5,49 ‰	61,7 ‰	5,63 ‰
18	52,1 ‰	5,19 ‰	39,7 ‰	5,19 ‰
19	20,3 ‰	5,14 ‰	24,5 ‰	5,12 ‰
20	17,5 ‰	5,14 ‰	19,1 ‰	5,10 ‰
22	13,2 ‰	5,14 ‰	12,5 ‰	5,10 ‰
25	6,9 ‰	5,14 ‰	6,2 ‰	5,10 ‰
28	3,2 ‰	5,14 ‰	3,5 ‰	5,10 ‰

Análisis de los matraces (día 28 de enero).

	250 A	260 B
Alcohol	13°9	14°8
Az. red.	2,5 ‰	2,2 ‰
Acidez	5,15 ‰	5,10 ‰

Febrero 22.—

Ensayo de acostumbramiento a 20 gramos por hect. de SO^2

Se sembraron en 12 tubos y un matraz de 250 A y 260 B previamente alcoholizado y sulfitado.

Planilla de fermentación

Día	250 A		260 B	
	Azúcar	Acidez	Azúcar	Acidez
22	181,1	4,02	181,1	4,02
23	164,1	5,10	167,3	5,10
24	122,1	5,14	125,-	5,29
25	83,-	5,49	87,4	5,83
26	62,5	5,44	57,5	5,53
27	33,5	5,39	35,3	5,53
28	20,1	5,39	19,9	5,48
1 marzo	13,9	5,39	13,5	5,48
4	6,2	5,39	7,1	5,48
7	5,5	5,39	6,2	5,48
10	3,2	5,39	3,4	5,48

Marzo 14.—

Análisis de los matraces.

	250 A	260 B
Alcohol	13°8	15°
Az. red.	2,38 ‰	2,46 ‰
Acidez	4,90 ‰	5,14 ‰

Conseguido el acostumbramiento, se hizo un ensayo comparativo de las dos razas seleccionadas, de fermentación espontánea (dejando al mosto fermentar libremente) y de levaduras no seleccionadas acostumbradas a 20 gramos por hectolitro de SO^2 , en mostos normales y en mostos con agregado de mosto concentrado.

En mostos normales.

Análisis del mosto:

Acidez	7,45 ‰
Dens. a 15°	1,0764
Az. red.	156,24 ‰

Se puso el mosto en balones de 2 litros de capacidad con 1 litro.

Balón N.º 1. — Se dejó que fermentara libremente.

Balón N.º 2. — Con agregado de levadura 250 A.

Balón N.º 3. — Con agregado de levadura 260 B.

Balón N.º 4. — Con levadura 250 A, 20 gramos de SO^2 por hect. y 10 gramos de fosfato de amonio por hect.

Balón N.º 5. — Con levaduras 260 B, 20 gramos de SO^2 por hect. y 10 gramos de fosfato de amonio por hect.

Balón N.º 6. — Con levaduras 250 A y 10 gramos de fosfato de amonio por hect.

Balón N.º 7. — Con levaduras 260 B y 10 gramos de fosfato de amonio por hect.

Balón N.º 8. — Fermentación espontánea (se repitió el N.º 1).

Balón N.º 9. — Con levaduras no seleccionadas acostumbradas a 20 grs. de SO^2 , y con 10 grs. de fosfato de amonio por hect.

Planilla de fermentación del balón N.º 1

	Día	Azúcar	Acidez
marzo	15	186,24 ‰	7,45 ‰
	16	120,8 ‰	7,55 ‰
	17	87,3 ‰	7,71 ‰
	18	58,1 ‰	8,39 ‰
	19	47,2 ‰	8,59 ‰
	20	29,3 ‰	8,94 ‰
	21	6,3 ‰	9,31 ‰
	22	1,7 ‰	9,42 ‰

Despide un fuerte olor acético y su acidez aumentó mucho.

Análisis correspondiente:

Alcohol	9°6
Acidez total	9,51 ‰
" fija	5,68 ‰
" volátil	3,83 ‰
Azúcar red.	1,05 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 2

	Día	Azúcar	Acidez
marzo	15	186,24 ‰	7,45 ‰
	16	104,2 ‰	7,84 ‰
	17	69,3 ‰	7,84 ‰
	18	39,7 ‰	7,74 ‰
	19	17,6 ‰	7,55 ‰
	20	6,2 ‰	7,44 ‰
	21	1,4 ‰	7,44 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 2

Alcohol	10°3
Acidez total	7,44 ‰
" fija	6,07 ‰
" volátil	1,37 ‰
Azúcar red.	1,43 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 3

Día	Azúcar	Acidez
marzo 15	186,24 ‰	7,45 ‰
16	98,7 ‰	7,81 ‰
17	61,3 ‰	7,89 ‰
18	39,8 ‰	7,74 ‰
19	18,5 ‰	7,46 ‰
20	7,3 ‰	7,46 ‰
21	1,- ‰	7,46 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 3

Alcohol	10 ^º 4
Acidez total	7,46 ‰
" fija	6,29 ‰
" volátil	1,17 ‰
Azúcar red.	1,— ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 4

Día	Azúcar	Acidez
marzo 17	186,24 ‰	7,45 ‰
18	147,1 ‰	7,52 ‰
19	119,2 ‰	7,67 ‰
20	50,- ‰	7,84 ‰
21	21,3 ‰	7,80 ‰
22	10,2 ‰	7,72 ‰
23	6,3 ‰	7,63 ‰
24	1,2 ‰	7,63 ‰

Análisis del balón N.º 4

Alcohol	10 ^º 5
Acidez total	7,72 ‰
" fija	7,23 ‰
" volátil	0,49 ‰
Azúcar red.	1,27 ‰

Se ve en el análisis precedente que la levadura 250 A dió muy poca acidez volátil.

Planilla de fermentación del balón N.º 5

Día	Azúcar	Acidez
marzo 17	186,24 ‰	7,45 ‰
18	146,2 ‰	7,55 ‰
19	122,5 ‰	7,83 ‰
20	49,9 ‰	7,87 ‰
21	20,2 ‰	7,79 ‰
22	9,9 ‰	7,75 ‰
23	6,6 ‰	7,75 ‰
24	1,- ‰	7,75 ‰

Análisis del balón N.º 5

Alcohol	10 ^º 6
Acidez total	7,75 ‰
" fija	6,58 ‰
" volátil	1,17 ‰
Azúcar red.	1,— ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 6

Día	Azúcar	Acidez
marzo 15	186,24 ‰	7,45 ‰
16	145,4 ‰	7,84 ‰
17	105,3 ‰	7,84 ‰
18	73,2 ‰	7,84 ‰
19	44,6 ‰	7,79 ‰
20	13,- ‰	7,52 ‰
21	9,3 ‰	7,38 ‰
22	6,2 ‰	7,25 ‰
23	0,7 ‰	7,25 ‰

Análisis del balón N.º 6

Alcohol	10 ^º 5
Acidez total	7,25 ‰
" fija	6,37 ‰
" volátil	0,88 ‰
Azúcar red.	0,72 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 7

Día	Azúcar	Acidez
marzo 15	186,24 ‰	7,45 ‰
16	140,— ‰	7,84 ‰
17	101,1 ‰	7,84 ‰
18	62,2 ‰	7,92 ‰
19	35,7 ‰	7,82 ‰
20	8,3 ‰	7,39 ‰
21	3,2 ‰	7,25 ‰
22	—de 0,4 ‰	7,25 ‰

Análisis del balón N.º 7

Alcohol	10° 26
Acidez total	7,25 ‰
" fija	6,56 ‰
" volátil	0,69 ‰
Azúcar red. .. — de	0,33 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 8

Día	Azúcar	Acidez
abril 5	186,24 ‰	7,45 ‰
6	140,1 ‰	7,68 ‰
7	50,7 ‰	7,72 ‰
8	22,5 ‰	7,21 ‰
9	11,7 ‰	6,93 ‰
10	5,3 ‰	6,72 ‰
11	1,3 ‰	6,66 ‰

La acidez total bajó, pero ello es debido a que hubo infección de *Micoderma vini* (flor del vino).

Análisis del balón N.º 8

Alcohol	10° 1
Acidez total	6,66 ‰
" fija	5,98 ‰
" volátil	0,68 ‰
Azúcar red.	1,19 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 9

Día	Azúcar	Acidez
abril 5	186,24 ‰	7,45 ‰
6	130,9 ‰	7,53 ‰
7	100,— ‰	7,82 ‰
8	67,2 ‰	7,73 ‰
9	32,3 ‰	7,64 ‰
10	8,7 ‰	7,55 ‰
11	2,1 ‰	7,55 ‰

Análisis del balón N.º 9

Alcohol	10°
Acidez total	7,55 ‰
" fija	6,37 ‰
" volátil	1,18 ‰
Azúcar red.	1,07 ‰

Seguió a este ensayo con mostos normales, uno con mostos cuya azúcar fué llevado a 270, 285 y 360 ‰ con agregado de mosto condensado del siguiente análisis:

Acidez	21,56 ‰
Azúcar red.	497,02 ‰

El mosto utilizado era de uva frutilla y tenía:

Acidez	3,18 ‰
Azúcar	208,33 ‰

sembrando con levaduras seleccionadas A y B (llamaremos así a las antes nombradas 250 A y 260 B) con levaduras acostumbradas y dejando otros fermentar espontáneamente.

N.º balón	Azúcar	SO ²	(NH ⁴) ² PO ⁴	levaduras sembradas
1	270	—	—	A
2	285	—	—	B
3	270	—	10 g.hec.	A
4	285	—	10 g.hec.	B
5	270	20 g.	10 g hec.	A
6	285	20 g.	10 g.hec.	B
7	270	—	—	Expontáneo
8	360	20 g.	10 g.hec.	A
9	360	20 g.	10 g.hec.	B
10	360	20 g.	10 g.hec.	A y B
11	270	20 g.	10 g.hec.	Levaduras acostumbradas

Planilla de fermentación del balón N.º 1

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	270 ‰	5,29 ‰
2	235,8 ‰	6,51 ‰
3	179,8 ‰	6,56 ‰
4	130,2 ‰	6,36 ‰
5	62,2 ‰	6,01 ‰
6	31,9 ‰	6,01 ‰
7	24,6 ‰	5,82 ‰
9	19,3 ‰	5,82 ‰
10	15,6 ‰	5,47 ‰
12	9,3 ‰	5,39 ‰
14	2,7 ‰	5,39 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 1

Alcohol	14°8
Acidez total	5,39 ‰
" fija	4,02 ‰
" volátil	1,37 ‰
Azúcar red.	2,75 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 2

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	285 ‰	5,88 ‰
2	246,3 ‰	6,86 ‰
3	194,6 ‰	7,23 ‰
4	155,5 ‰	7,63 ‰
5	61,7 ‰	7,63 ‰
6	31,2 ‰	7,20 ‰
7	24,7 ‰	6,67 ‰
9	18,6 ‰	6,37 ‰
10	16,9 ‰	6,37 ‰
12	14,7 ‰	6,37 ‰
14	13,9 ‰	6,37 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 2

Alcohol	15°8
Acidez total	6,37 ‰
" fija	4,31 ‰
" volátil	2,06 ‰
Azúcar red.	13,90 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 3

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	270 ‰	5,31 ‰
2	240,4 ‰	6,47 ‰
3	174,8 ‰	6,73 ‰
4	107,7 ‰	6,61 ‰
5	52,7 ‰	6,43 ‰
6	29,4 ‰	6,07 ‰
7	20,5 ‰	5,82 ‰
9	13,2 ‰	5,29 ‰
10	8,3 ‰	5,29 ‰
12	4,1 ‰	5,29 ‰
14	2,6 ‰	5,29 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 3

Alcohol	14°2
Acidez total	5,29 ‰
" fija	4,12 ‰
" volátil	1,17 ‰
Azúcar red.	2,63 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 4

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	285 ‰	5,68 ‰
2	251,2 ‰	7,05 ‰
3	190,8 ‰	7,20 ‰
4	139,7 ‰	7,35 ‰
5	53,2 ‰	6,79 ‰
6	29,4 ‰	6,32 ‰
7	17,7 ‰	6,27 ‰
9	16,3 ‰	6,18 ‰
10	14,2 ‰	6,18 ‰
12	13,7 ‰	6,18 ‰
14	13,2 ‰	6,18 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 4

Alcohol	15°9
Acidez total	6,18 ‰
" fija	4,61 ‰
" volátil	1,57 ‰
Azúcar red.	13,20 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 5

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	270 ‰	5,39 ‰
2	233,6 ‰	6,27 ‰
3	201, - ‰	6,39 ‰
4	123,8 ‰	6,08 ‰
5	70,7 ‰	5,93 ‰
6	33,2 ‰	5,72 ‰
7	22,5 ‰	5,58 ‰
9	14,3 ‰	5,39 ‰
10	9,2 ‰	5,32 ‰
12	5,3 ‰	5,29 ‰
14	2,4 ‰	5,29 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 5

Alcohol	15°5
Acidez total	5,29 ‰
" fija	4,51 ‰
" volátil	0,78 ‰
Azúcar red.	2,45 ‰

Se nota aquí una notable reducción en la acidez volátil producida, como consecuencia de la absoluta seguridad que da la dosis de SO² agregada (20 gramos por hectolitro) en la no participación de otras levaduras en la fermentación.

Planilla de fermentación del balón N.º 6

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	285, - ‰	5,68 ‰
2	249,7 ‰	6,66 ‰
3	223,2 ‰	6,72 ‰
4	162,8 ‰	6,86 ‰
5	82,5 ‰	6,72 ‰
6	34,1 ‰	6,49 ‰
7	22,5 ‰	6,37 ‰
9	17,3 ‰	5,93 ‰
10	14,2 ‰	5,59 ‰
12	6,1 ‰	5,49 ‰
14	3,5 ‰	5,49 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 6

Alcohol	16°5
Acidez total	5,49 ‰
" fija	4,22 ‰
" volátil	1,27 ‰
Azúcar red.	3,47 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 7

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	270, - ‰	5,29 ‰
2	245,1 ‰	5,43 ‰
3	225,4 ‰	5,72 ‰
4	155,3 ‰	6,86 ‰
5	86,2 ‰	6,21 ‰
6	46,7 ‰	5,96 ‰
7	24,7 ‰	5,68 ‰
9	19,2 ‰	5,48 ‰
10	18,1 ‰	5,47 ‰
12	17,2 ‰	5,42 ‰
14	15,6 ‰	5,42 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 7

Alcohol	14.7
Acidez total	5,42 ‰
" fija	4,44 ‰
" volátil	0,98 ‰
Azúcar red.	15,6 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 8

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	360,- ‰	10,78 ‰
2	Fermenta levemente	
3	310,1 ‰	11,07 ‰
4	263,1 ‰	11,19 ‰
5	190,9 ‰	11,23 ‰
6	178,7 ‰	11,29 ‰
7	170,7 ‰	11,37 ‰
9	168,3 ‰	11,09 ‰
10	166,9 ‰	10,98 ‰
12	166,3 ‰	10,88 ‰
15	165,5 ‰	10,88 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 8.

Alcohol	11.1
Acidez total	10,88 ‰
Acidez fija	9,41 ‰
Acidez volátil	1,47 ‰
Azúcar red	165,5 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 9

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	360,- ‰	10,78 ‰
2	Fermenta levemente	
3	274,7 ‰	10,85 ‰
4	189,3 ‰	10,98 ‰
5	179,4 ‰	11,24 ‰
6	164,7 ‰	11,37 ‰
7	156,2 ‰	11,29 ‰
9	149,3 ‰	11,23 ‰
10	138,2 ‰	11,09 ‰
12	129,5 ‰	10,90 ‰
15	122,5 ‰	10,90 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 9.

Alcohol	11.1
Acidez total	10,90 ‰
Acidez fija	9,41 ‰
Acidez volátil	1,49 ‰
Azúcar red.	122,5 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 10.

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	360,- ‰	10,78 ‰
2	Fermenta levemente	
3	312,5 ‰	11,01 ‰
4	200,0 ‰	11,23 ‰
5	170,2 ‰	11,34 ‰
6	165,3 ‰	11,45 ‰
7	159,7 ‰	11,27 ‰
9	155,4 ‰	11,12 ‰
10	153,2 ‰	10,94 ‰
12	150,1 ‰	10,86 ‰
15	148,2 ‰	10,86 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 10.

Alcohol	10.9
Acidez total	10,86 ‰
Acidez fija	9,39 ‰
Acidez volátil	1,47 ‰
Azúcar red	148,3 ‰

Planilla de fermentación del balón N.º 11.

Día	Azúcar	Acidez
Abril 1	270, ‰	7,87 ‰
2	231,4 ‰	8,23 ‰
3	190,2 ‰	8,61 ‰
4	124,1 ‰	8,67 ‰
5	90,4 ‰	8,75 ‰
6	65,1 ‰	8,82 ‰
7	54,3 ‰	8,32 ‰
9	46,2 ‰	8,29 ‰
10	39,2 ‰	7,94 ‰
12	35,7 ‰	7,94 ‰
14	31,3 ‰	7,94 ‰

Análisis correspondiente al balón N.º 11.

Alcohol	13%
Acidez total	7,94 ‰
Acidez fija	6,86 ‰
Acidez volátil	1,08 ‰
Azúcar red.	31,25 ‰

Abril 7. — Vinificación en cubas con levadura A. y B. y con mezcla.

Cuba N.º 1. — Con mosto del siguiente análisis.

Azúcar red.	145,3 ‰
Acidez total	3,52 ‰

A esta cuba con 12 litros se le agregó 920 c.c. de mosto concentrado y 259,2 gramos de sacarosa, de manera que, teniendo en cuenta la inversión de la sacarosa, su azúcar reductor fué de 260 ‰.

Se sulfitó a razón de 15 gramos de SO^2 por hect.

Fué sembrada con una mezcla de levaduras A. y B.

Cuba N.º 2. — Su azúcar reductor fué llevado a 265 ‰ con sacarosa. (SO^2 15 gramos hect.)

Esta cuba que tenía 20 litros de mosto fué sembrada con levaduras A.

Cuba N.º 3. — Su azúcar reductor fué llevado a 275 ‰ con sacarosa y sulfitada a razón de 15 gramos de SO^2 por hect. Sembrada con levaduras B.

Cuba N.º 4. — Su azúcar fué llevado a 360 ‰ con agregado de mosto concentrado (500 c.c.) y sacarosa dando una densidad al mustímetro de 1,150 que teóricamente corresponden a 21°5 de alcohol.

Fué sembrada con una mezcla de levadura A. y B.

El vino fué descubado el día 21 de abril y analizado el día 25 del mismo mes.

Análisis de la cuba N.º 1.

Alcohol	15°1
Acidez total	5,29 ‰
Acidez fija	4,31 ‰
Acidez volátil	0,98 ‰
Azúcar total	3,01 ‰
Azúcar reductor	2,45 ‰

Análisis de la cuba N.º 2.

Alcohol	15°1
Acidez total	3,53 ‰
Acidez fija	4,02 ‰
Acidez volátil	0,49 ‰
Azúcar total	2,48 ‰
Azúcar reductor	2,45 ‰

Análisis de la cuba N.º 3.

Alcohol	15°9
Acidez total	4,21 ‰
Acidez fija	3,53 ‰
Acidez volátil	0,68 ‰
Azúcar total	2,36 ‰
Azúcar reductor	2,27 ‰

Análisis de la cuba N.º 4.

Alcohol	16°.-
Acidez total	4,41 ‰
Acidez fija	3,43 ‰
Acidez volátil	0,98 ‰
Azúcar total	59,11 ‰
Azúcar reductor	40,01 ‰

Con estos análisis queda terminada la segunda parte quedando para otra los ensayos de diferenciación de las levaduras A. y B.

I I I

DIFERENCIACION DE LAS DOS RAZAS DE LEVADURAS SELECCIONADAS

En cultivos en mostos. —

En este medio, ya sea normal o con agregado de fosfato de amonio, anhídrido fosfórico, alcohol o sacarosa el comportamiento de las dos razas es netamente diferente.

Raza A. — Fermentación inicial con poca espuma, que desaparece al terminar, clarificando rápidamente, quedando un depósito que primero es de color crema para luego tornarse marrón claro. Depósito firme (hay que agitar fuertemente los tubos o matraces para que el líquido enturbie).

Raza B. — Fermentación inicial con mucha espuma que indica una gran proliferación celular. Dicha espuma no desaparece al final quedando en forma de anillo. El líquido demora en clarificar y cuando lo hace (5 a 8 días más tarde que el fermentado por la raza A.) aun persiste el anillo. Si se agita levemente los recipientes, el líquido se enturbia como consecuencia de la caída de las levaduras que formaban el anillo, y de la suspensión de los depósitos que son muy poco firmes y de apariencia gelatinosa, teniendo desde el principio un color marrón claro para luego ponerse más oscuros.

En cuanto a la marcha de la fermentación, efectividad de las levaduras, quedan para ser comentadas en la cuarta parte por tener más relación con ella.

Observación al microscopio en diferentes estados de la levadura

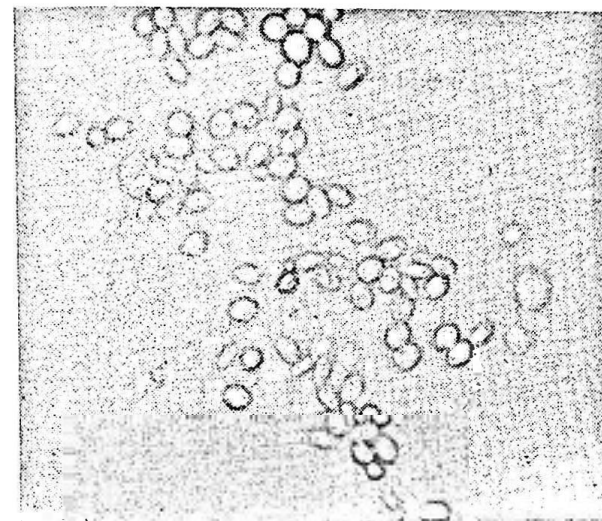
En cultivos en gota pendiente. —

Empleando el método de Lidner, y observando al microscopio con aumentos de 500 diámetros se puede ver.

Raza A. — Células madre ovoides de forma bien definida, que se multiplican por gemación, siendo las células hijas de forma elíptica pudiendo quedar (al principio) unidas o separarse. En este caso toman la forma de la célula madre.

No hay células redondas; las ovoides varían de tamaño entre 3 x 2 micrones (ejes mayor y menor) y 7 x 4 micrones. El

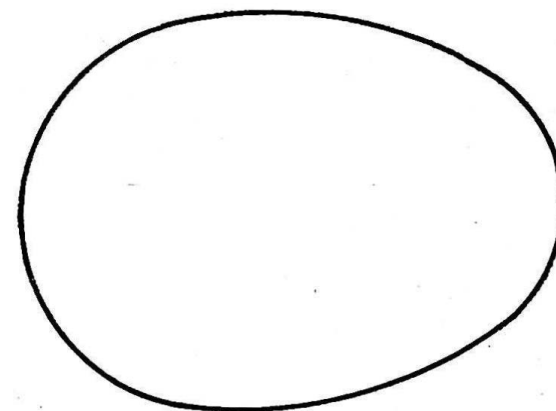
eje menor está colocado a $\frac{1}{3}$ de uno de los extremos. Las células elípticas son muy alargadas (su eje mayor es el doble del menor) y sus medidas dependen del crecimiento.



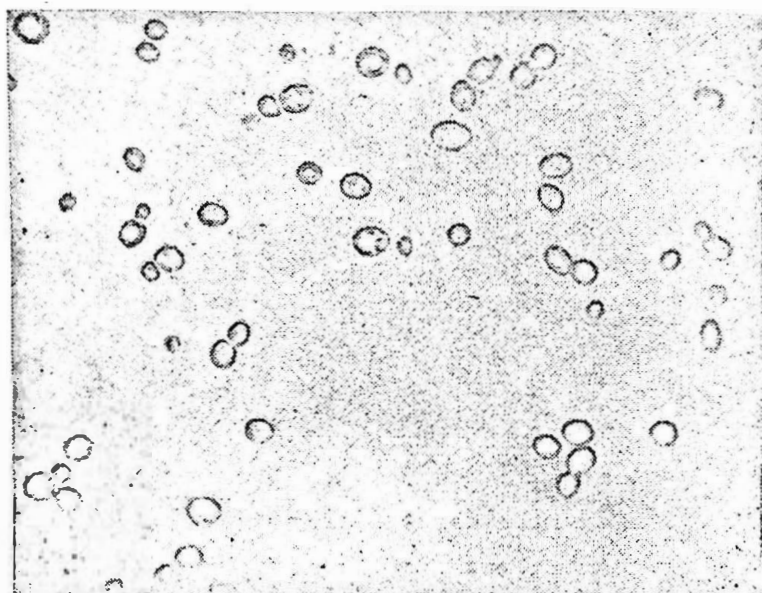
Raza A. — (Microfotografía de un cultivo en gota pendiente)..

Observación de mostos en fermentación (Raza A.)

Células grandes ovoides, algunas en gemación. Dimensiones entre 7 x 5 micrones y 9 x 8.



Dibujo de una levadura A. (aumentada 10.000 veces)

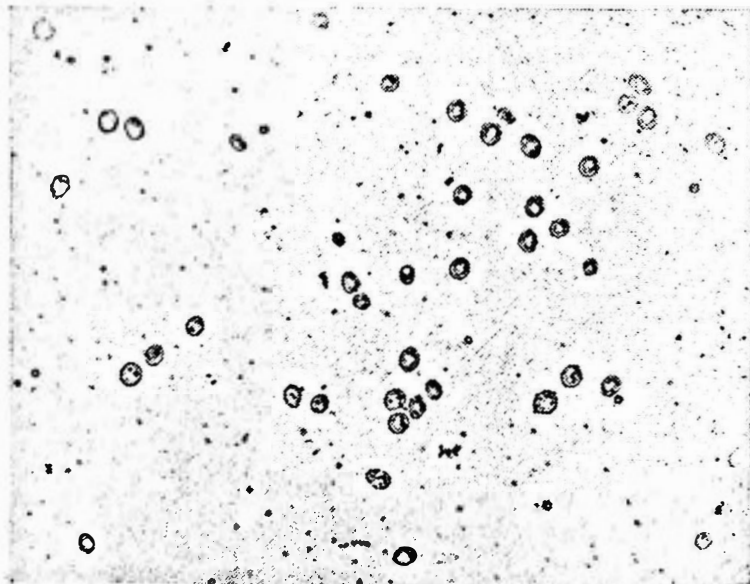


Raza A. (micro-fotografía de levaduras en fermentación).

El tamaño de ellas es muy poco uniforme, pero hay predominancia de células grandes.

Observación en vinos (fin de fermentación)

Preparación de los depósitos al fin de la fermentación



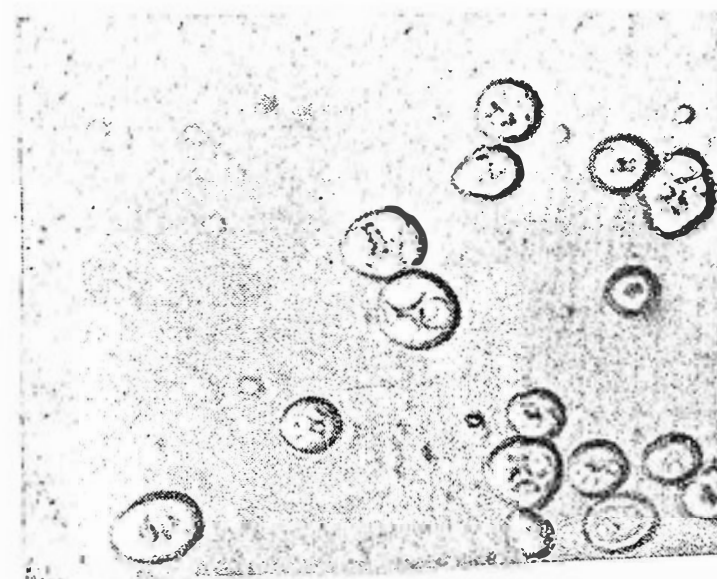
Micro-fotografía de levadura A. al fin de fermentación.

Las células son ovoides de forma bien neta. Tamaño muy uniforme, (son más chicas que en fermentación y en multiplicación) que varía entre $6,5 \times 7$ y $6 \times 6,5$ micrones.

La forma como se vé no ha variado en los tres casos precedentes, siendo siempre la del dibujo anterior. Aun esporuladas conservan dicha forma aunque a veces deformada por los esporos.

Ensayo de esporulación en yeso húmedo esterilizado

Raza A. — Esporula difícilmente, haciéndolo recién al sexto día que es cuando aparecen muy pocas células esporuladas. (La preparación fué hecha a los 10 días de puesta en yeso húmedo).

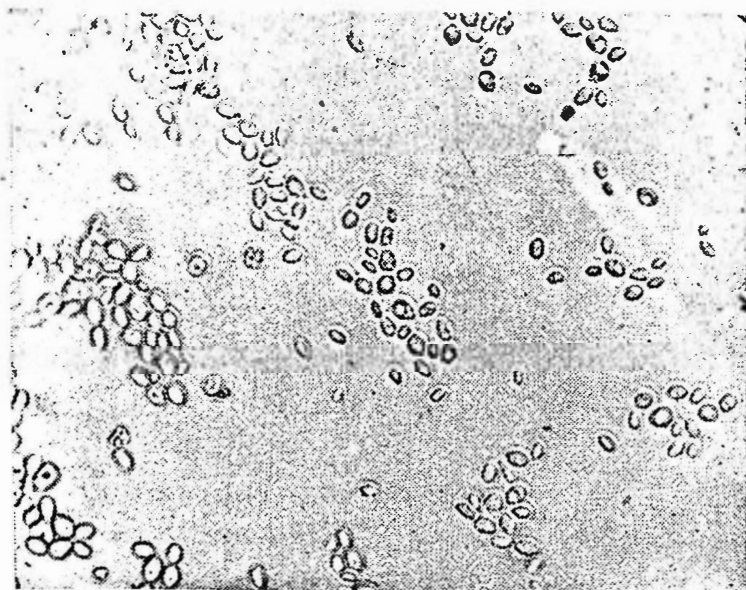


Micro-fotografía de levaduras raza A. en esporulación (aumento 1.500 diámetros).

Células con 2, 3 y 4 esporos predominando mucho las de dos esporos. Las células con cuatro esporos son más raras. El plasma de las células no esporuladas está completamente granulado, siendo su cantidad mucho mayor que la de esporuladas.

Cultivo en gota pendiente (Método de Lidner)

Raza B. — Células madre de diversas formas (elípticas, redondas, ovóides y alargadas), con brotes elípticos y redondos, los primeros en mayor cantidad. Tamaño que varía entre 8 x 6 y



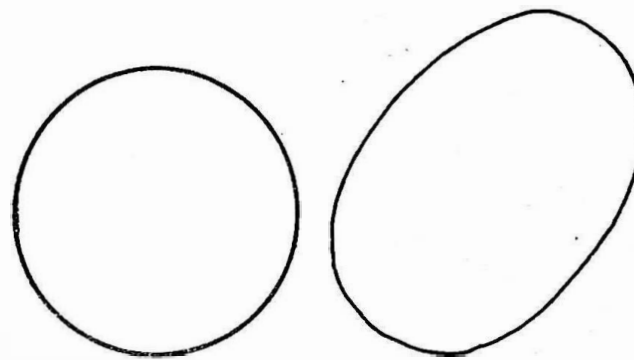
Microfotografía de Levaduras de raza B. (Cultivo en gota pendiente 500 dm.)

7 x 6 para las elípticas y ovóides y diámetros de 6 a 8 micrones para las circulares.

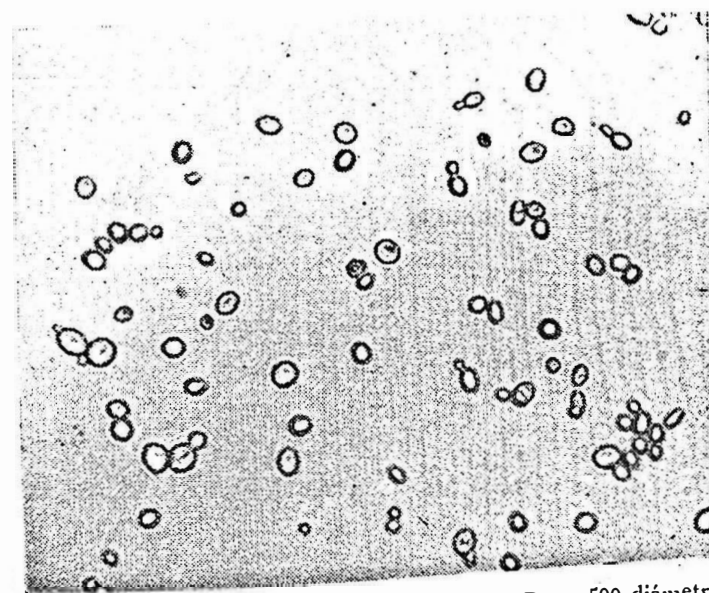
Los brotes redondos al separarse se vuelven elípticos.

Raza B. —

Levadura en fermentación. — Células elípticas y circulares (no hay ovóides) algunas con brotes. Medidas que varían entre 4 x 7 ½ y 6 x 8 micrones para las elípticas y 2,5 a 7 micrones para las circulares.



Dibujos de diferentes formas de la Raza B. (Aumento de 5.000 veces).

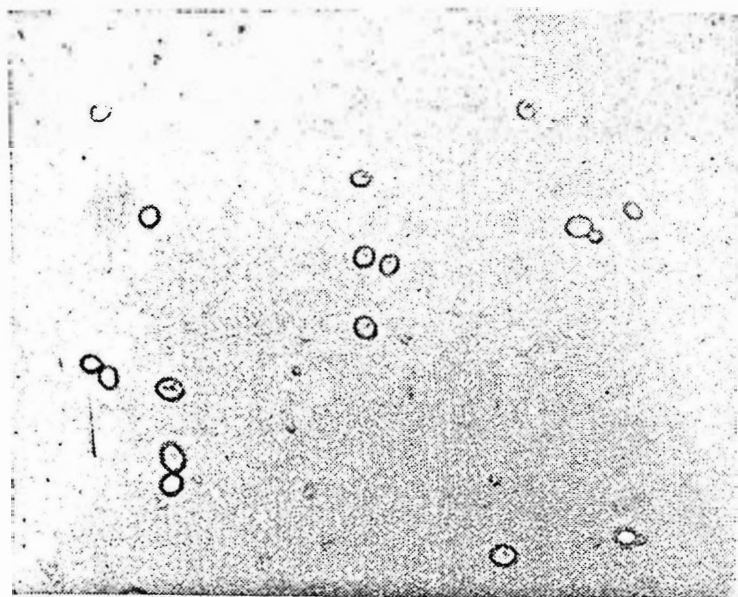


Microfoto de Levaduras en fermentación Raza B — 500 diámetros

Raza B. —

Levadura al fin de la fermentación. — Células elípticas desde 6 x 4 a 6 x 6,5 micrones. Células redondas de 4,5 a 5,5 micrones de diámetro. Tamaño uniforme y son también como en la raza

A más chicas que las células en multiplicación y fermentación. Se ha notado al contrario de lo que sucede en la raza A que la forma de las células ha variado según su estado fisiológico.



Microfoto de levaduras raza B al fin de la fermentación. (500 diám.).

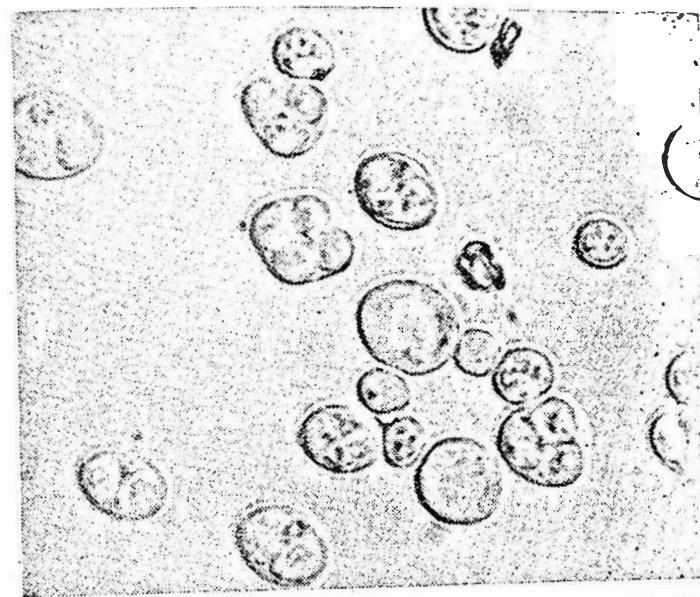
Raza B. —

Levaduras esporuladas. — Las levaduras de esta raza esporulan más fácilmente que la de la raza A notándose células esporuladas al tercer día de iniciado el ensayo.

Células con dos, tres y cuatro esporos donde también predominan las de dos.

Las células no esporuladas están en minoría y presentan su plasma muy granulado. (Esta preparación fué hecha a los diez días de iniciado el ensayo).

Como se vé, la diferencia entre las dos razas no está en el número de esporos sino en el tiempo de la iniciación de la esporulación y en la mayor cantidad de células esporuladas que hay en la raza B. Otra diferencia también está en la persistencia de la forma (la raza A conserva siempre su forma ovoide).



Micro-foto de levaduras esporuladas raza B. (Aumento 1.500 diámetros).

Cultivos en medios sólidos. — (Mosto gelatinizado al 12 %).

Colonias en estrias. — Haciendo estrias en tubos con mosto gelatinizado, que se dejó solidificar inclinado. Las estrias fueron hechas con hilo de platino esterilizado al rojo, utilizando mosto en fermentación. A los dos días se notaba una estria muy leve. Las observaciones se hicieron a los 30 días.

Raza A. — Estria muy uniforme de sección triangular con una acanaladura en la parte superior. Color crema fuerte con los bordes bien definidos de color crema pálido que deja trasparentar la gelatina. Los bordes de la acanaladura son ondulados correspondiendo a los lóbulos del borde de la colonia, que son pequeños. La estria que es sin brillo (mate), produce una depresión en la gelatina.

Raza B. — Estria poco uniforme de sección también triangular con una acanaladura en la parte superior, de bordes lisos. Se diferencia cinco regiones: Una exterior, color crema pálido algo traslúcida; otra, de bordes sinuosos de color crema más fuerte.

otra, de color blanco; luego otra de color crema intenso y una última (la acanaladura) de color blanco. Los lóbulos son de tamaño más grande que en la raza A. Poniendo la colonia a luz intensa presenta una irisación marcada y mucho brillo, características que no se presentaba en la otra raza.

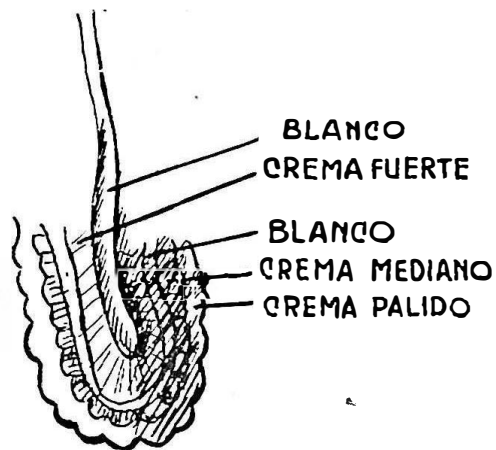


Foto de una colonia en estria de la raza B.

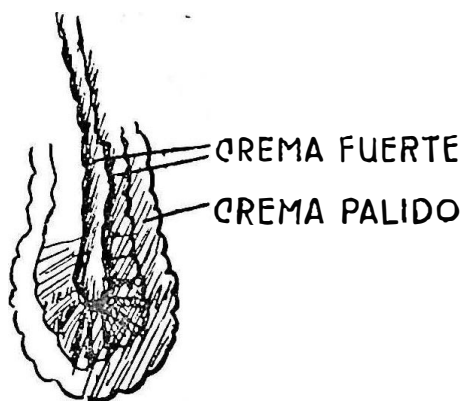


Foto de una colonia en estria de la raza A.

En las observaciones con aumento (dibujos que siguen), se nota en los dos casos pequeñas hendiduras radiales que son más marcadas en la raza A.



Dibujo de colonia en estria raza B
(Aumento 1:5).



Dibujo de colonia en estria raza A.
(Aumento 1:5).

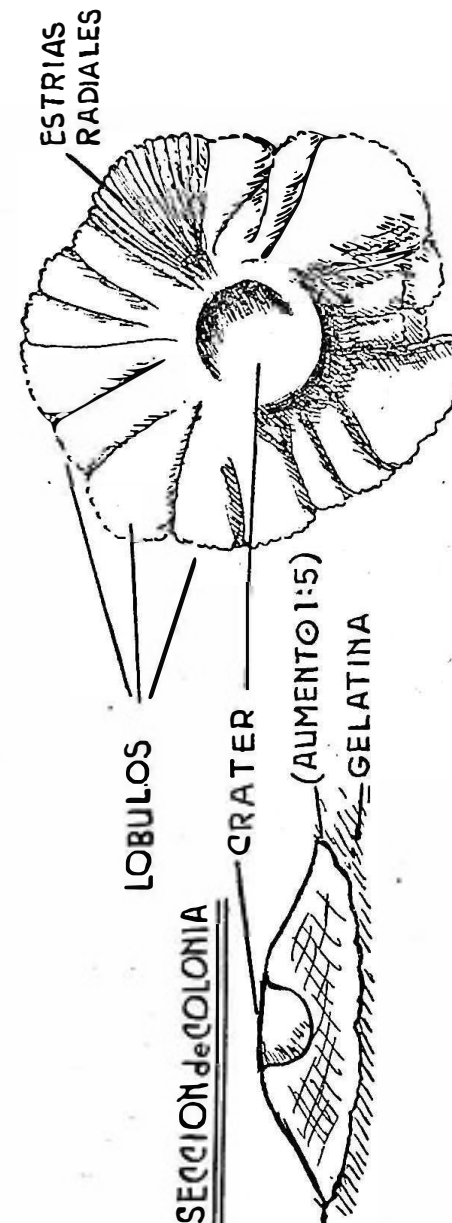
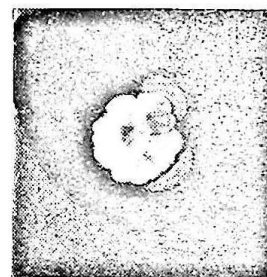
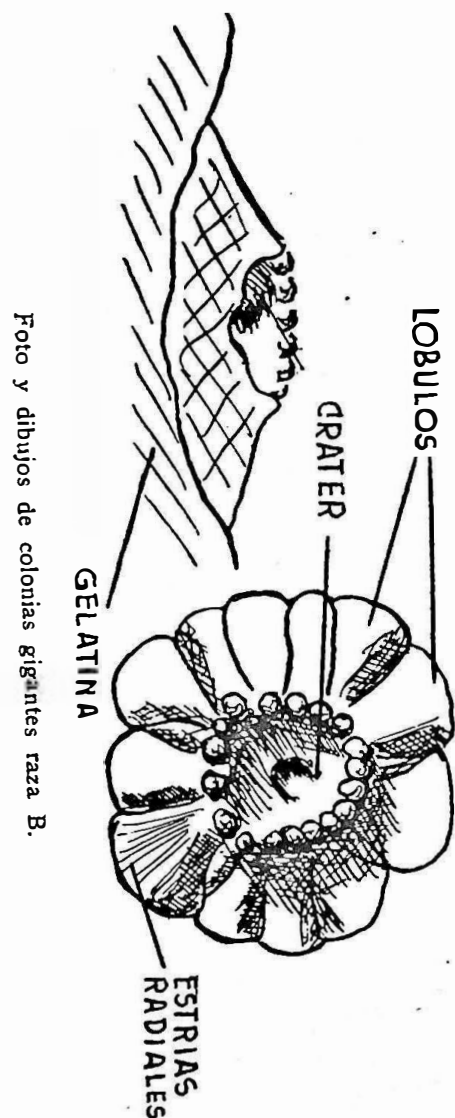


Foto y dibujos de colonias gigante raza A.

Colonias gigantes. — Toques con hilo de platino en mosto gelatinizado, con mosto en fermentación (una pequeña gota). Observaciones a los 30 días.



Raza A. — Colonias de forma muy regular con numerosos (hasta 20) lóbulos pequeños, de cráter muy cerrado y muy profundo (concavidad hemisférica) de borde liso y redondeado. Es-

trías radiales muy numerosas y marcadas; color crema fuerte pero sin brillo. De 14 milímetros de diámetro y 4 de altura.

Raza B. — Colonia de forma poco regular, de lóbulos grandes y menos numerosos que la raza A. (hasta 13). Estrías radiales muy poco visibles, color blanco irisado. Cráter abierto y de profundidad con borde rodeado de pequeñas esferas que corresponden a los lóbulos. Diámetro de igual tamaño que la anterior pero es de menos altura (3 mm.). Las dos razas producen depresión en la gelatina.

Colonias en picaduras. — Haciendo picaduras en tubos con mosto gelatinizado con hilo de platino, utilizando mostos en fermentación.

Raza A. — Colonia que se desarrolla más dentro que fuera de la gelatina, apareciendo al cabo de 20 días una burbuja gaseosa pequeña.

Raza B. — Colonia que se desarrolla más sobre la gelatina que dentro. Produce en ella una burbuja gaseosa de forma de almeja (grande).

En cuanto a las variaciones de fermentación y producción de alcohol queda para la 4ª. parte por tener más relación con ella.

Consideraciones sobre los trabajos efectuados de selección de levaduras

Para hacer un juicio de la bondad de las razas seleccionadas, tomo varios factores que unidos, nos dan el valor de ellas, comparadas con otras levaduras no seleccionadas. Estos factores son: Efectividad, azúcar remanente, marcha y duración de la fermentación, formación de acidez volátil, clarificación y poder alcohólico.

Variaciones de los distintos factores durante la selección

Coeficiente de efectividad y azúcar remanente. (1)

Como ya se dijo las levaduras primitivas fueron conseguidas de los depósitos de fermentación de un mosto cuya azúcar reductor fué llevada a 250 ‰.

El vino obtenido dosó:

Azúcar reductor	4,65 ‰
Azúcar total	5,81 ‰
Alcohol	13,5 grados

Su coeficiente de efectividad llevado a porcentaje fué: 93,66 % que es bajo, habiendo quedado además mucho azúcar remanente. Como el objeto de la selección es buscar razas de buena efectividad y que dejen poco azúcar los ensayos siguientes están dirigidos para su consecución.

Se hizo un primer repique en matraces (durante la selección se usó como medio mosto esterilizado) a los cuales se le agregó alcohol de manera que este sumado al alcohol que teóricamente debiera producir el mosto al fermentar correspondiera al producido por 250 ‰ de azúcar (dos matraces) y 260 ‰ (dos matraces). Este primer repique fué hecho el día 9 de junio.

Análisis de los matraces:

	250		260	
	N.o 1	N.o 2	N.o 1	N.o 2
Azúcar reductor ..	30,86 ‰	32,87 ‰	33,79 ‰	35,21 ‰
Alcohol	12°00	12°35	12°40	12°00
C. efectividad	93,20 %	95,61 %	93,25 %	90,66 %

(1) -- Tomo como coeficiente de efectividad a la cifra que resulta de la división de la cantidad teórica de azúcar necesaria para dar un grado alcohólico por litro, entre la cantidad real que es variable con las distintas razas.

$$\text{Cálculos: } \frac{\text{Cantidad teórica en gramos por grado alcohol}}{(\text{azúcar inicial-remanente}): \text{grado alcohol}} = \text{C. efec.}$$

Como se vé el coeficiente de efectividad ha variado poco pero ha quedado mucha azúcar remanente. (Para tener un juicio del poder fermentante de las levaduras hay que tomar en cuenta los dos factores pues cualquiera de los dos aislados solo tienen un valor muy relativo).

En el segundo repique los matraces sembrados dieron en el análisis:

	250		260	
	N.o 1	N.o 2	N.o 1	N.o 2
Azúcar reductor ..	19,39 ‰	se rompió.	2,3,17 ‰	26,39 ‰
Alcohol	12°94		13°26	13°21
C. efectividad	95,23 ‰		95,13 ‰	95,99 ‰

En este repique el azúcar remanente es menos y el coeficiente de efectividad aumentó. Se ve que hay un mejoramiento en el trabajo de las levaduras.

Al 4.º repique (junio 30) en tubos, el azúcar remanente fué:

	250	260
Azúcar reductor	5,03 ‰	5,55 ‰

Falta el coeficiente de efectividad porque la poca cantidad del líquido impide la dosificación del alcohol.

El azúcar remanente bajó del 1er. repique al 4.º repique.

	1er. rep.	4.º rep.
250	30,86 ‰ 32,39 ‰	5,03 ‰
260	33,79 ‰ 35,21 ‰	5,55 ‰

Como solo se hizo una selección natural (medio alcoholizado) las levaduras que actuaban eran mezcladas. Como el fin del trabajo era conseguir razas puras, se hace ahora siembras en placas de Petri para que formen colonias en medio gelatinizado (mosto con 12 % gelatina) siendo cada colonia originada por una sola célula. Si se siembran estas colonias en mosto esterilizado, se obtendrá un cultivo puro. (Método mecánico de selección).

De los tubos del 3er. repique se hicieron cultivos en placas de Petri con dilución 1/1.000.000 (18 de junio).

El 21 se sembró un tubo con una colonia de 250 (ahora le llamaré 250 A para diferenciar de las primeras). El día 30 se hizo lo mismo con una colonia de 260 (ahora 260 B).

Una vez fermentados estos tubos previamente alcoholizados, se analizó su azúcar remanente, y se vió que este era menor que el del 4.º repique de 250 y 260.

250 (4.º rep)	250 A (1er. rep)	260 (4.º rep)	260 B (1er. rep)
Az. red. 5,03 ‰	3,33 ‰	5,55 ‰	2,75 ‰

En vista de los resultados obtenidos se dejaron de lado las mezclas 250 y 260 para seguir la selección con las razas puras 250 A y 260 B, que han demostrado ser mejores en cuanto al azúcar remanente, (como ya quedó dicho esto no nos dá la seguridad de la bondad de las razas, pues falta el coeficiente de efectividad).

Al tercer repique de estas levaduras se le empleó como pie de cuba para una fermentación.

Cuba N.º 1. — Cuya azúcar fué llevada a 250 ‰ (con 10 grs. hec. de $(\text{NH}_4)^2 \text{PO}_4$).

Cuba N.º 2. — Cuya azúcar fué llevada a 260 ‰ (con 10 grs. hec. de $(\text{NH}_4)^2 \text{PO}_4$).

Como los agregados fueron hechos en sacarosa y no se hicieron cálculos, (se utilizó el mustímetro) la cantidad de azúcar agregada fué mayor (ver pág. 70 de la 2ª parte). Esto se refleja en la producción de alcohol. Los vinos obtenidos se analizaron (14 de setiembre).

	250 A	260 B
Azúcar reductor ...	3,19 ‰	2,73 ‰
Azúcar total	3,69 ‰	3,01 ‰
Alcohol	15º	16º32

Por esta causa es imposible determinar la efectividad.

Al 7.º repique de 250 A y el 6.º 260 B (7 de diciembre) el azúcar remanente es:

	250 A	260 B
Azúcar reductor	3,71 ‰	3,83 ‰

Algo superior pero no tanto como para que sea apreciable.

Se hicieron repiques en tubos para seguir diariamente las variaciones de azúcar reductor y acidez (12 de diciembre) durante la fermentación, y en matraces para analizar luego el alcohol.

	250 A	260 B
En tubos, az. red. ..	1,1 ‰	1,0 ‰
En matraces az. red.	3,3 ‰	3,0 ‰
Alcohol	13º1	15º1

Se vé que la efectividad de la raza 250 A ha bajado mucho en relación a la mezcla 250, mientras que la de la raza 260 B ha aumentado casi hasta el límite:

	250 A	260 B
Coeficiente de efectividad	89,47 %	99,29 %

Al mismo tiempo que se seguía la selección se hizo el acostumbramiento a dosis progresivas de 10 y 20 gramos por hect. de SO_2 . (27 dic.).

El análisis dió:

	250 A	260 B
En tubos, Az. red...	10,0 ‰	11,3 ‰
En matraces Az. red.	1,7 ‰	4,81 ‰
Alcohol	13º1	14º7

El azúcar que quedó en los tubos es muy superior a la que quedó en los matraces, debido a que la acción del SO_2 es más fuerte en ellos. Además se puede notar que la raza 260 B sufrió más que la 250 A bajo la acción del mismo.

La efectividad ha variado muy poco:

	250 A	260 B
Coeficiente de efectividad	89,79 %	98,04 %

Y se nota también en ella que la raza 260 B ha sido influenciada por el SO_2 .

Se repitió el ensayo (enero 12 de 1938).

Resultados de los análisis:

	250 A	260 B
En tubos, Az. red. ..	3,2 ‰	3,5 ‰
Matraces Az. red. ..	2,5 ‰	2,2 ‰
Alcohol ..	13°9	14°8
C. efect. ..	95,83 %	97,53 %

Vemos que la efectividad de la raza 250 A que era baja, ha aumentado ahora, mientras que la de la raza 260 B ha bajado algo debido seguramente a la influencia del SO².

Se hizo luego un ensayo análogo pero con 20 gramos de SO² por hectolitro:

	250 A	260 B
En tubos... Az. red.	3,2 ‰	3,4 ‰
En matraces Az. red. ...	2,38 ‰	2,46 ‰
Alcohol	13°8	15°
C. efect.	94,60	98,83

La efectividad tuvo pocas variantes y el azúcar remanente se mantiene entre 2 y 3,5 por mil.

Planilla de efectividad y azúcar remanente durante la selección.

	250		260	
	Efectiv.	Az. rem.	Efectiv.	Az. rem.
1er. repique	94,40 %	31,85 ‰	91,95 %	34,5 ‰
2.o "	95,23 "	19,39 "	95,99 "	26,39 "
4.o "	—	5,03 "	—	5,55 "
	250 A		260 B	
1er. "	—	3,33 "	—	2,75 "
7.o "	—	3,71 "	—	3,83 "
8.o "	89,47 %	3,30 "	99,29 %	3,00 "
9.o "	89,79 %	1,70 "	98,04 "	4,81 "
10.o "	95,83 "	2,50 "	97,53 "	2,20 "
11.o "	94,60 "	2,38 "	98,83 %	2,46 "

Estos datos son tomados para hacer la gráfica correspondiente, dándose con estos ensayos por terminada la selección en la que han conseguido dos razas con muy buena efectividad y que dejan poco azúcar remanente, dando en un ensayo de vinificación en cuba 15° y 16°3 las A y B respectivamente. Ahora resta el comentario de la marcha y duración de la fermentación durante la selección, y el de los ensayos comparativos de fermentación en balones y cubas, en los que tomaremos en cuenta además de la efectividad y el azúcar remanente otros factores a saber, formación de acidez volátil, marcha y duración de la fermentación y clarificación.

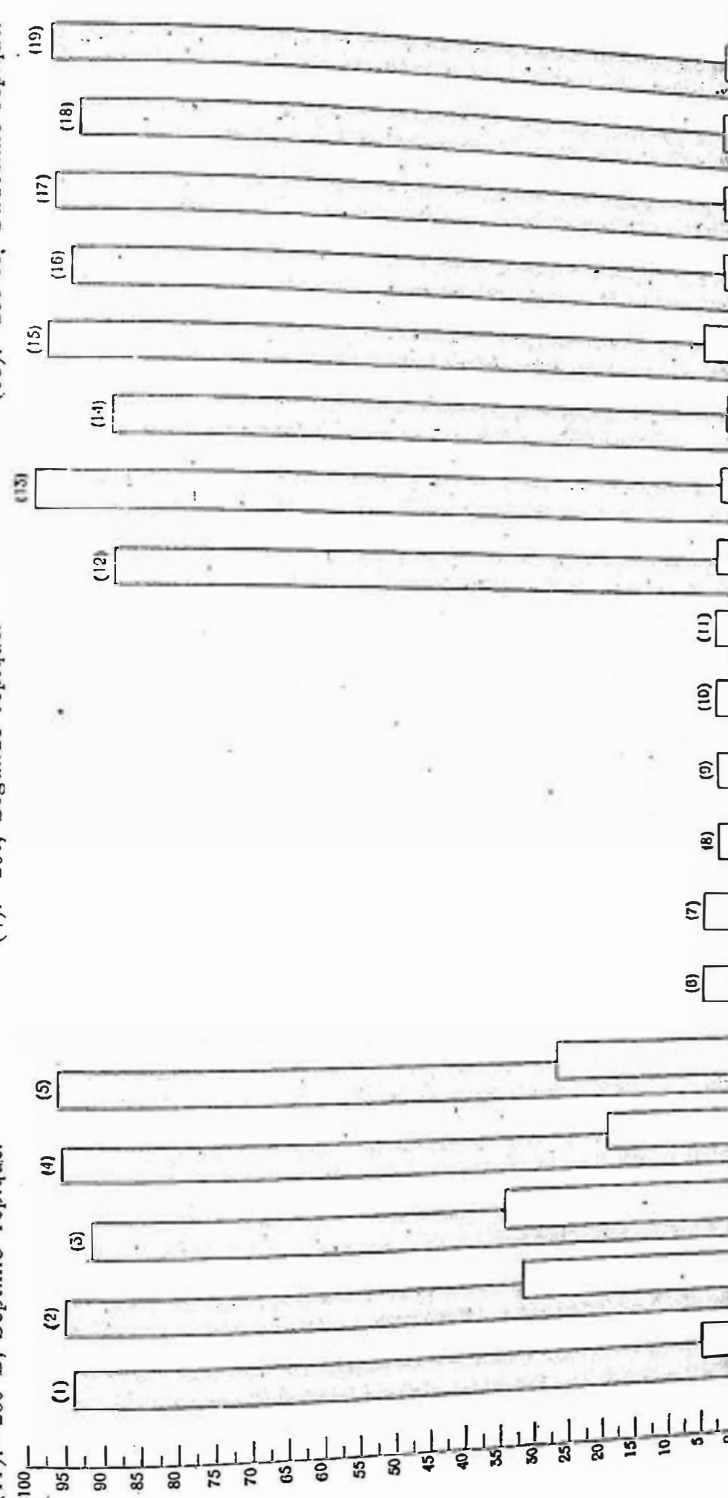
EFECTIVIDAD Y AZÚCAR REMANENTE DURANTE LA SELECCIÓN

Referencias: en punteado: Efectividad

(1).—Levaduras primitivas.
(3).—260, Primer repique.
(5).—260, Segundo repique.
(7).—260, Cuarto repique.
(9).—260 B, Primer repique.
(11).—260 B, Séptimo repique.

(13).—260 B, Octavo repique.
(15).—260 B, Noveno repique.
(17).—260 B, Décimo repique.
(19).—260 B, Undécimo repique.
En blanco: Azúcar remanente.
(2).—250, Primer repique.
(4).—250, Segundo repique.

(6).—250, Cuarto repique.
(8).—250 A, Primer repique.
(10).—250 A, Séptimo repique.
(12).—250 A, Octavo repique.
(14).—250 A, Noveno repique.
(16).—250 A, Décimo repique.
(18).—250 A, Undécimo repique.



MARCHA DE LA FERMENTACION DURANTE EL ACOSTUMBRAMIENTO A SO_2 .

Los ensayos de acostumbramiento se hicieron en mostos esterilizados previamente alcoholizados y con agregados de SO_2 . Se hizo primero un ensayo sin SO_2 (diciembre 14) (ver la planilla de la pág. 71; 2ª parte).

Al primer día de la fermentación hubo pocas diferencias en las dos razas pero al segundo día la raza 250 A (en la gráfica correspondiente con línea llena) fermentó desde 181,2 a 64,1 grs. de azúcar, mientras la raza 260 B fermentó desde 176,1 a 106,4 (línea punteada). Al tercer día se igualan en 25 grs. para seguir iguales hasta el final. La fermentación terminó en las dos en 10 días. (Gráfica N.º 1').

Se hizo después un ensayo con 10 grs. de SO_2 por hectolitro (Diciembre 27).

En este ensayo la fermentación duró 18 días dejando las dos razas mucho azúcar sin fermentar: raza A: 10 ‰ y raza B: 11,3 ‰, indicando esto que las dos han sufrido mucho con el agregado del SO_2 . La duración de la fermentación fue 17 días para la raza B y de 18 para la A. Como se puede apreciar en la gráfica la fermentación es irregular (línea quebrada). — Se nota además igual que en el ensayo anterior que la raza A tiene una fermentación inicial más rápida que la B pero que luego se igualan para seguir juntas. (Gráfica N.º 2).

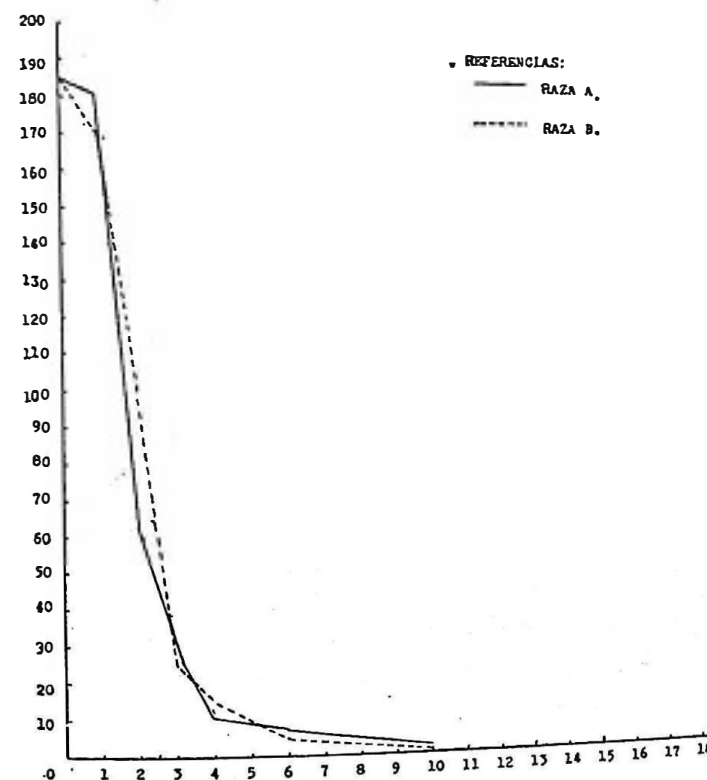
Como en este ensayo quedara mucha azúcar remanente se repitió (12 de enero). En este nuevo ensayo la raza B trabajó más rápido al principio que la raza A, pero desde el 7.º día siguieron de igual manera. Iniciaron y terminaron los mismos días la fermentación que duró 16 días. Quedó como azúcar remanente 3,2 y 3,5 para A y B respectivamente. (Gráfica N.º 3).

Se hizo luego un ensayo con 20 gramos de SO_2 por hectolitro. (febrero 22).

En este ensayo el comportamiento de las dos razas fue idéntico. La fermentación duró 16 días y dejaron 3,2 y 3,4 ‰ de azúcar. Se ve en las líneas de la gráfica que casi se confunden, la igualdad de la marcha de la fermentación, característica que permanecerá incambiada en todos los ensayos posteriores aunque sean sin SO_2 . En todos los casos la fermentación inicial es rápida para luego del 7.º día hacerse lenta. (Gráfica 4).

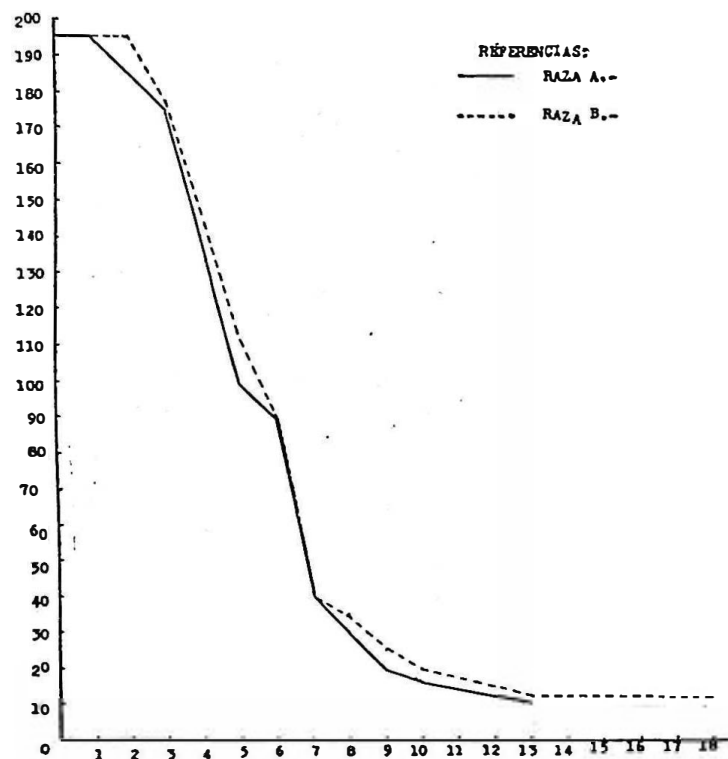
GRAFICA DE FERMENTACION DURANTE LA SELECCION Y ACOSTUMBRAMIENTO

(Gráfica N.º 1)



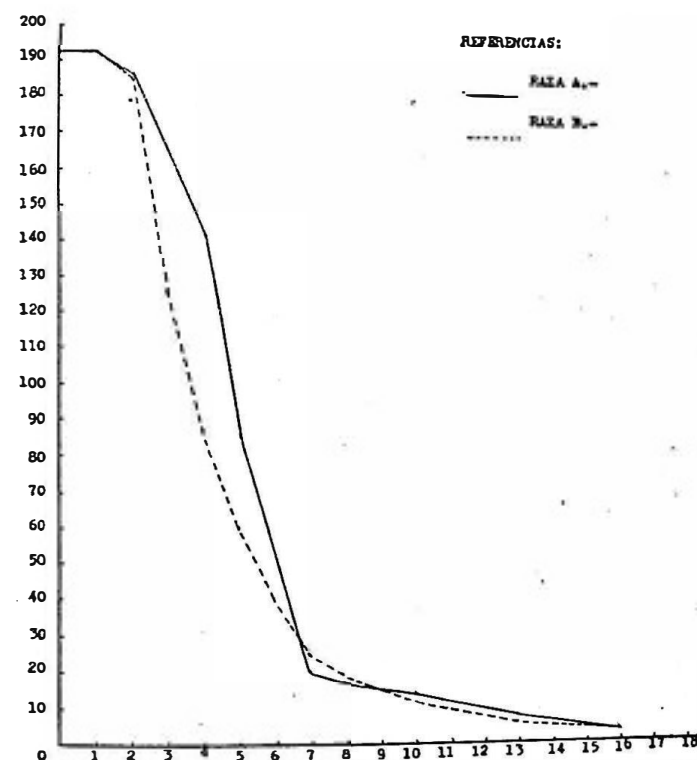
GRAFICA DE FERMENTACION DURANTE LA SELECCION Y ACOSTUMBRAMIENTO

(Gráfica N.o 2).



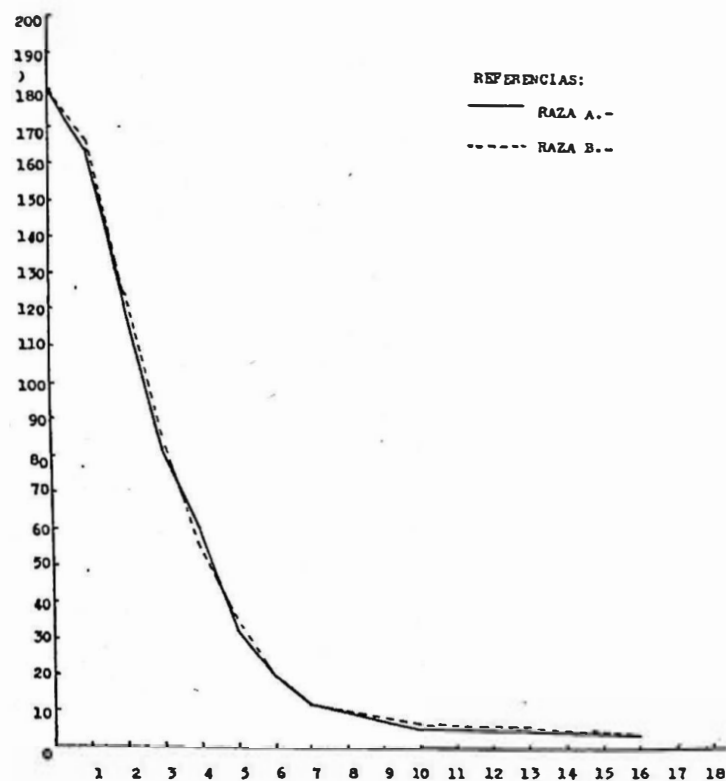
GRAFICA DE FERMENTACION DURANTE LA SELECCION Y ACOSTUMBRAMIENTO

(Gráfica N.o 3)



GRAFICA DE FERMENTACION DURANTE LA SELECCION Y ACOSTUMBRAMIENTO

(Gráfica N.º 4)



ENSAYOS COMPARATIVOS DE FERMENTACION CON LAS DOS RAZAS SELECCIONADAS CON LEVADURAS ACOSTUMBRADAS A SO², NO PURAS, Y CON FERMENTACIONES ESPONTANEAS.

Terminada la selección con el acostumbramiento y obtenidas dos razas que en juicio primario dieron buen resultado, se hicieron ensayos para determinar comparativamente el valor absoluto de las razas puras obtenidas y sus mejores condiciones de trabajo.

EN MOSTOS NORMALES. —

En estos ensayos (pág. 73; 2.ª parte) se tomaron levaduras acostumbradas a 20 grs. de SO² por hectolitro y fermentaciones espontáneas para compararlas con las razas A y B, con distintas variantes.

EFFECTIVIDAD Y AZUCAR REMANENTE EN LAS FERMENTACIONES CON MOSTOS NORMALES. —

Fermentación espontánea. — Balón N.º 1 con 186.24 ‰ de glucosa (día 15 de marzo). El análisis dió:

Alcohol	9.6
Azucar red.	1.05 ‰
C. efectiv.	88.22 %

Como se puede ver el coeficiente de efectividad es muy bajo, y se debe a que hubo infección con *Mycoderma aceti*. Por eso se repitió el ensayo (abril 5).

Fermentación espontánea. — Balón N.º 8 con 186.24 ‰ de glucosa. Hecho el análisis correspondiente, dosó:

Alcohol	10.1
Azucar red.	1.19 ‰
C. efectiv.	92.84 %

Aquí el coeficiente es mayor a pesar de que hubo infección de *Mycoderma vini* (flor de vino). En cuanto al azúcar remanente se ve que es baja a pesar de que todavía no ha terminado la fermentación secundaria.

Fermentación con levaduras no puras acostumbradas. — Balón N.º 9 con 186.24 ‰ de glucosa (marzo 15).

El análisis dosó:

Alcohol	10°
Azúcar red.	1.18 ‰
C. Efectiv.	91.89 %

También aquí se ve que la efectividad es baja y el azúcar remanente es normal.

Fermentaciones con levaduras puras raza A y B en mostos normales sin tratamientos con 186.24 ‰ de glucosa (balones N.o 2 y 3).

Balón N.o 2 A

Alcohol	10° 3
Azúcar	1.43 ‰
C. Efectiv.	94.60 %

Balón N.o 3 B

Alcohol	10° 4
Azúcar	1.0 ‰
C. Efectiv.	95.56 %

Puestas las dos razas en igualdad de indicaciones la B demostró tener más efectividad y dejar menos azúcar remanente.

Fermentaciones con levaduras raza A y B en mostos normales con agregados de SO² y fosfato de amonio (20 y 10 gramos por hectolitro respectivamente).

Balón N.o 4 A

Alcohol	10° 5
Azúcar	1.27 ‰
C. Efectiv.	97.10 %

Balón N.o 5 B.

Alcohol	10° 6
Azúcar	1.0 ‰
C. Efectiv.	97.42 %

Cuando las levaduras trabajan con SO² lo que da la seguridad de la no concurrencia de otras levaduras su efectividad ha aumentado mucho quedando su azúcar remanente estable. Con todo, se observa que la raza B deja menos glucosa que la A, lo mismo que en el ensayo anterior. En cuanto a la clarificación en la raza A es rápida, verificándose en seguida de terminada la fermentación, mientras que en la raza B, como hay formación de anillo, el líquido aparentemente clarificado se enturbia con un leve movimiento por precipitación de las levaduras que forman dicho anillo.

Fermentaciones con levaduras puras raza A y B en mostos con 186.24 ‰ de azúcar, con 10 gramos de fosfato de amonio por hectolitro y no sulfitados.

Balón N.o 6 A

Alcohol	10° 5
Azúcar red.	0.72 ‰
C. efectiv.	96.26 %

Balón N.o 7 B.

Alcohol	10° 6
Azúcar red.	— de 0.33 ‰
C. efectiv.	96.02 %

En este ensayo la efectividad es mayor que en el ensayo sin tratamiento pero es menor que en el hecho con SO² para las dos razas, pero el azúcar queda en menos de 1 por mil. Comparando con los ensayos de fermentación espontánea y con levaduras acostumbradas no puras en las razas puras la efectividad es netamente superior.

Planilla de efectividad y azúcar remanente en los ensayos en mostos normales.

			Efectividad	Az. reman.
Fermentación espontánea	Balón N.o 1		88.22 %	1.05 ‰
"	" 8		92.84 %	1.19 ‰
" levadura acostumbrada	" 9		91.89 %	1.18 ‰
" raza A s/t.	" 2		94.60 %	1.43 ‰
" " B s/T	" 3		95.56 %	1.0 ‰
" " A fos. de amonio	" 6		96.26 %	0.72 ‰
" " B "	" 7		96.92 %	— de 0.33 ‰
Fer. raza A con SO ² y "	" 4		97.10 %	1.27 ‰
" " B "	" 5		97.42 %	1.0 ‰

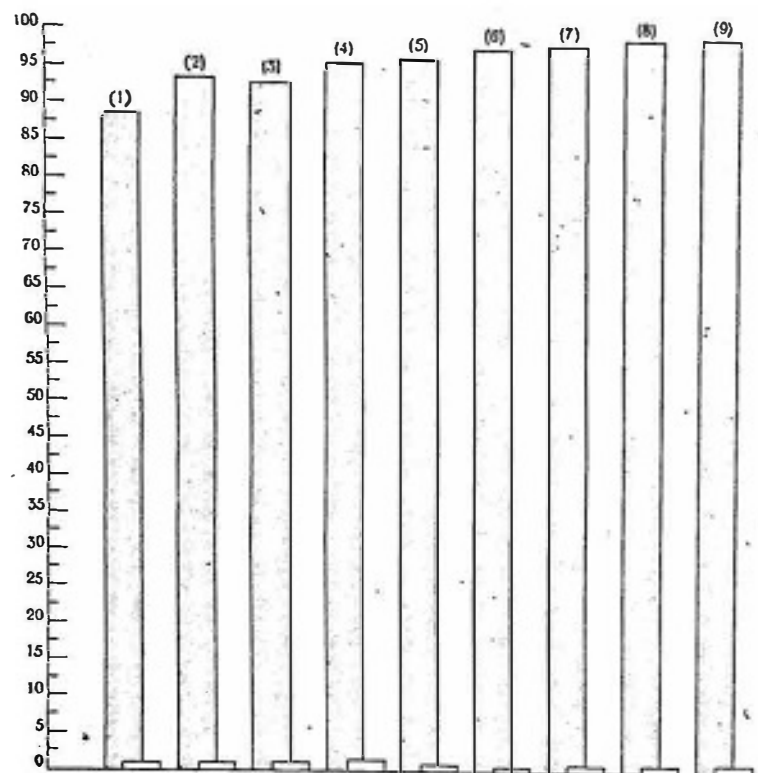
El coeficiente de efectividad siempre es mayor en la raza B cualquiera que sea la variante.

Con SO² es mayor, le sigue en orden con fosfato de amonio y luego sin tratamiento, siendo menor aun en las fermentaciones espontáneas y con levaduras acostumbradas no puras.

El azúcar remanente es menor en el ensayo con fosfato de amonio no sulfitado. En los demás ensayos es casi igual, variando entre 1 y 1.5 por mil.

EFFECTIVIDAD Y AZUCAR REMANENTE EN MOSTOS NORMALES

- | | |
|---|---|
| (1).—Fermentación Espontánea. | (2).—Fermentación Espontánea. |
| (3).—Levaduras acostumbradas. | (4).—A. Sin tratamiento. |
| (5).—B. Sin tratamiento. | (6).—A. Con fosfato. |
| (7).—B. Con Fosfato. | (8).—A. Con Fosfato y SO ² . |
| (9).—B. Con fosfato y SO ² . | |



Referencias: En punteado: Efectividad. — En blanco: Azucar remanente

MARCHA Y DURACION DE LA FERMENTACION EN MOSTOS NORMALES

En fermentación espontáneas.

Balón N.º 1. — Se acetificó, despidiendo fuerte olor a ácido acético, la fermentación siguió aunque algo anormal. Duración: 7 días.

Balón N.º 8. — Este balón se infectó con micoderma vini. A pesar de ello la fermentación siguió rápida durante 7 días. (Gráfica a).

En fermentación con levaduras acostumbradas no puras. Fermentó rápidamente (6 días) dando en la gráfica correspondiente una línea casi recta. (Gráfica b).

En fermentación sin tratamiento razas A y B (Balones 2 y 3). Fermentación rápida normal las dos zonas, (6 días) indicando un muy buen trabajo no influenciado por la concurrencia de levaduras no seleccionadas. (Gráfica c.).

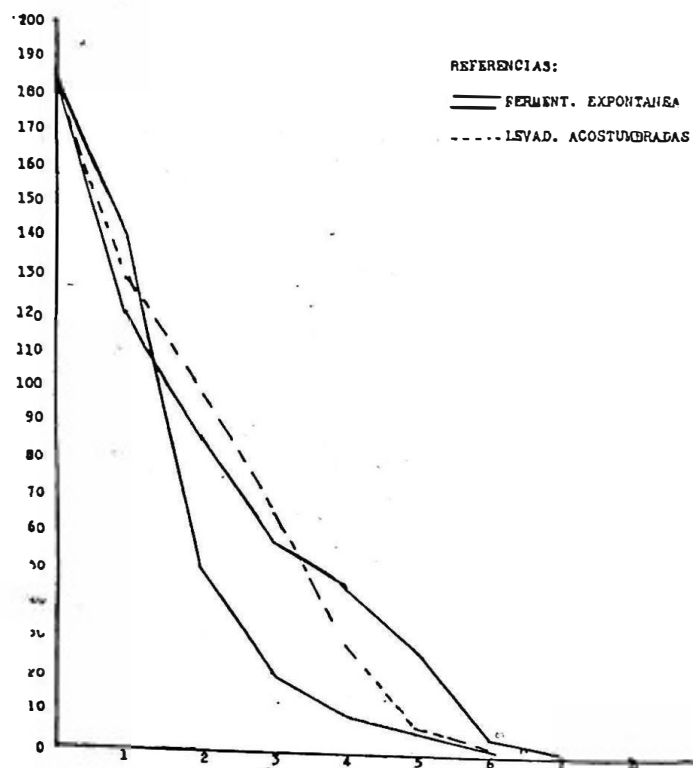
En fermentación con fosfato de amonio razas A y B (balones 6 y 7). Aquí a pesar del agregado de fosfato de amonio la fermentación fué más lenta debido seguramente a que las levaduras concurrentes se desarrollaron mucho gracias a este alimento, viéndose por lo tanto, rebajada a efectividad zimática de las razas puras. (Gráfica d).

En fermentaciones en mostos fosfatados y sulfitados (balones 4 y 5) las dos razas trabajan de idéntica forma, pero la fermentación, a pesar de ser normal, es más lenta. (7 días para las dos razas) Gráfica e.

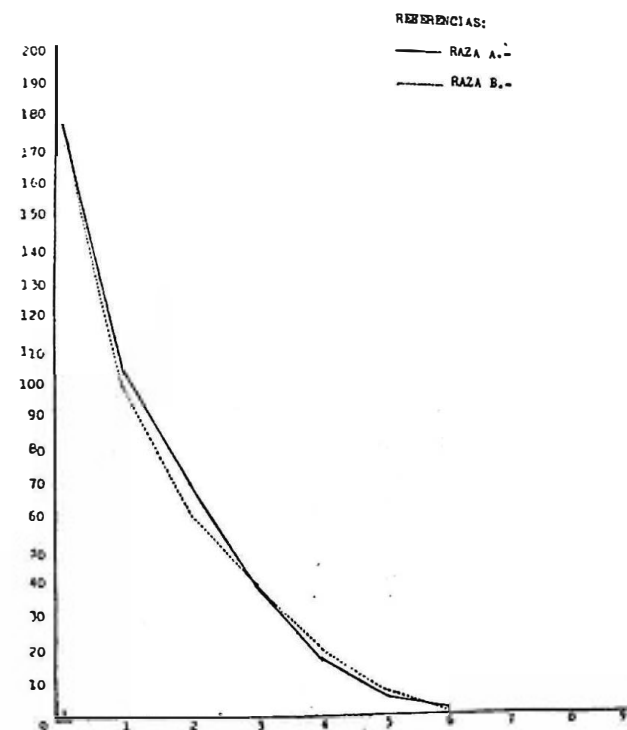
Se hacen además gráficas comparativas de la raza A con distintas variantes (Gráfica f) y de la raza B (Gráfica g).

GRAFICA DE FERMENTACION ESPONTANEA Y CON LEVADURAS ACOSTUMBRADAS (a y b).

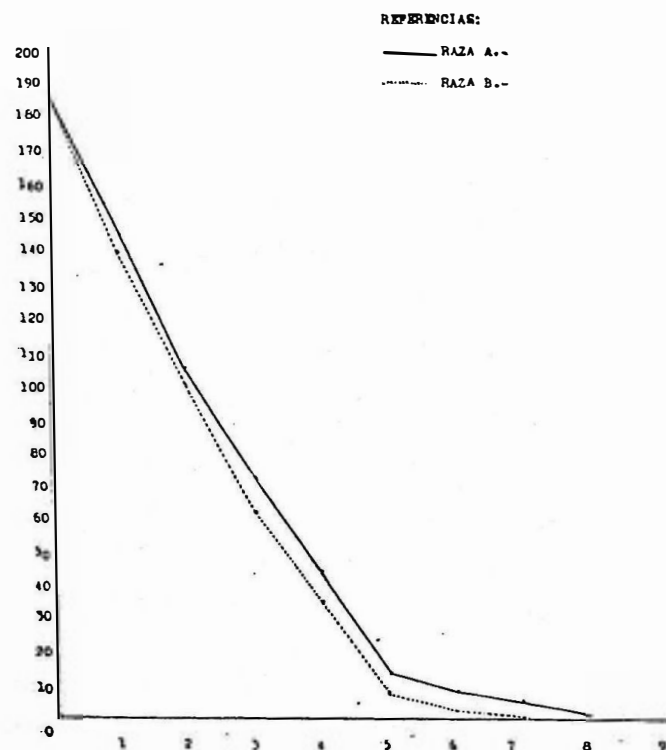
(En mostos normales)



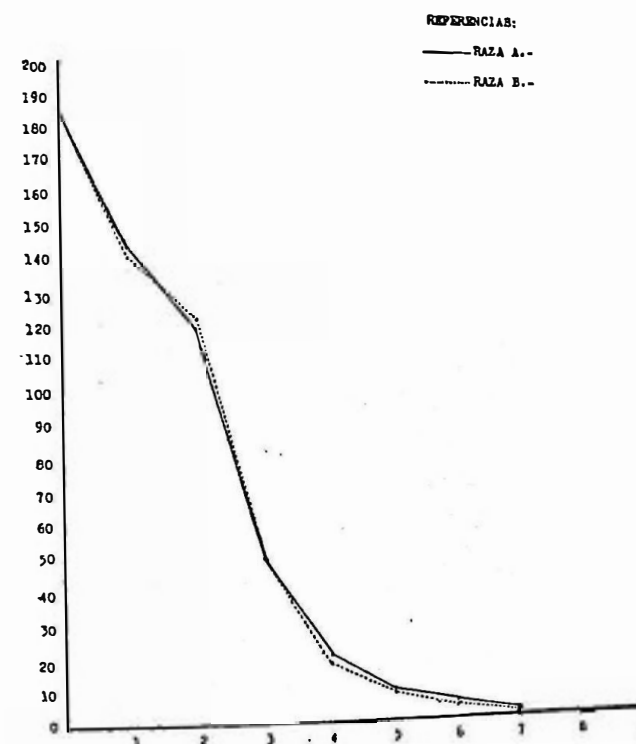
GRAFICA DE FERMENTACION EN MOSTOS NORMALES. SIN TRATAMIENTO (c).



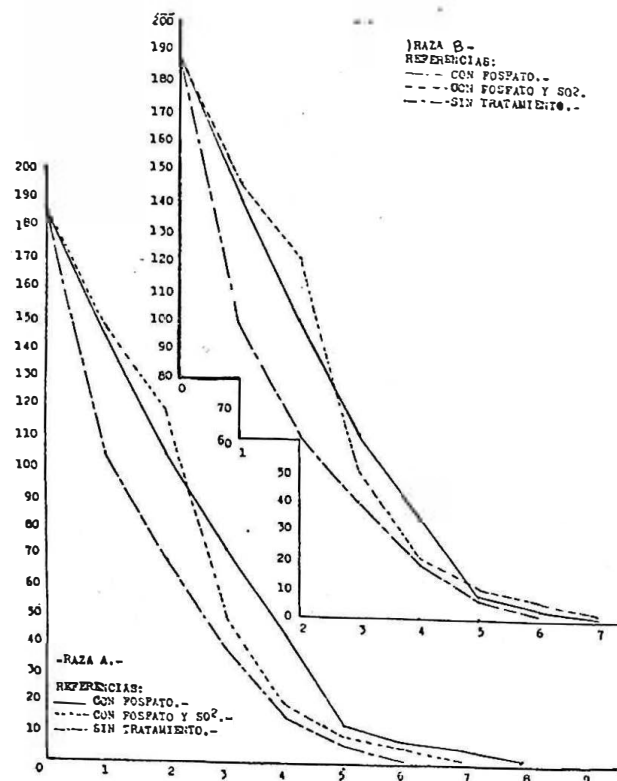
GRAFICA DE FERMENTACION EN MOSTOS NORMALES FOSFATADOS (d)



GRAFICA DE FERMENTACION EN MOSTOS NORMALES FOSFATADOS Y SULFITADOS. - (gráfica e).



GRAFICAS COMPARADAS DE LAS DOS RAZAS EN MOSTOS NORMALES (g) y (f).



FORMACION DE ACIDEZ EN FERMENTACIONES EN MOSTOS NORMALES CON LAS RAZAS A Y B, LEVADU- RAS SELECCIONADAS Y FERMENTACIONES ESPONTANEAS.

Siendo la acidez volátil elevada un factor negativo en la conservación de los vinos, es necesario tomarla en cuenta al hacer un juicio sobre la bondad de cualquier raza de levadura. Teniendo esto en cuenta se ha tomado la acidez total fija y volátil de los vinos obtenidos en los ensayos anteriores.

En fermentación espontánea. — (Balón N.º 1).

El análisis correspondiente dosó:

Acidez total del mosto	7,45 ‰
" total del vino	9,42 ‰
" fija	5,68 ‰
" volátil	3,83 ‰

La acidez volátil es elevadísima como consecuencia de la infección de *Mycoderma aceti*, habiendo aumentado también desmedidamente la acidez total.

Este ensayo se repitió (Balón N.º 8)

Acidez total del mosto	7,45 ‰
" total del vino	6,66 ‰
" fija	5,98 ‰
" volátil	0,68 ‰

Se vé aquí que la acidez total es menor en el mosto, lo contrario de lo corriente y que la acidez volátil es baja, debido lo primero a la infección con *Mycoderma vini* (flor de vino) que al desarrollarse además del consumo de alcohol utiliza los ácidos fijos en su alimentación.

En fermentación con levaduras acostumbradas a SO₂.

El análisis dió:

Acidez inicial del mosto	7,45 ‰
" total del vino	7,55 ‰
" fija	6,37 ‰
" volátil	1,18 ‰

Estas levaduras acostumbradas a SO₂ a pesar de trabajar en medio sulfitado dieron mucha acidez volátil.

Fermentación con las razas puras A y B en mostos sin tratamiento.

Balones Nos. 2 y 3.

	Balón N.º 2 (raza A).	Balón N.º 3 (raza B)
Acidez total del mosto	7,45 ‰	7,45 ‰
" total del vino ..	7,44 ‰	7,46 ‰
" fija	6,07 ‰	6,29 ‰
" volátil	1,37 ‰	1,17 ‰

La raza A dió más acidez volátil que la B pero las dos demostraron trabajar mal en concurrencia con otras levaduras no puras.

En fermentaciones con las razas puras A y B en mostos fosfatados.

Balones Nos. 6 y 7.

	Balón N.º 6 (raza A)	Balón N.º 7 (raza B)
Acidez total del mosto	7,45 ‰	7,45 ‰
" total del vino ..	7,25 ‰	7,25 ‰
" fija	6,37 ‰	6,56 ‰
" volátil	0,88 ‰	0,69 ‰

La influencia del agregado de fosfato de amonio ha sido buena pues ha disminuido la acidez volátil quedando en términos aceptables, sobre todo la raza A.

En fermentaciones con las razas A y B en mostos normales sulfitados y fosfatados. (Balones Nos. 4 y 5).

	Balón N.º 4 (raza A).	Balón N.º 5 (raza B)
Acidez total del mosto	7,45 ‰	7,45 ‰
" total del vino ..	7,72 ‰	7,75 ‰
" fija	7,23 ‰	6,58 ‰
" volátil	0,49 ‰	1,17 ‰

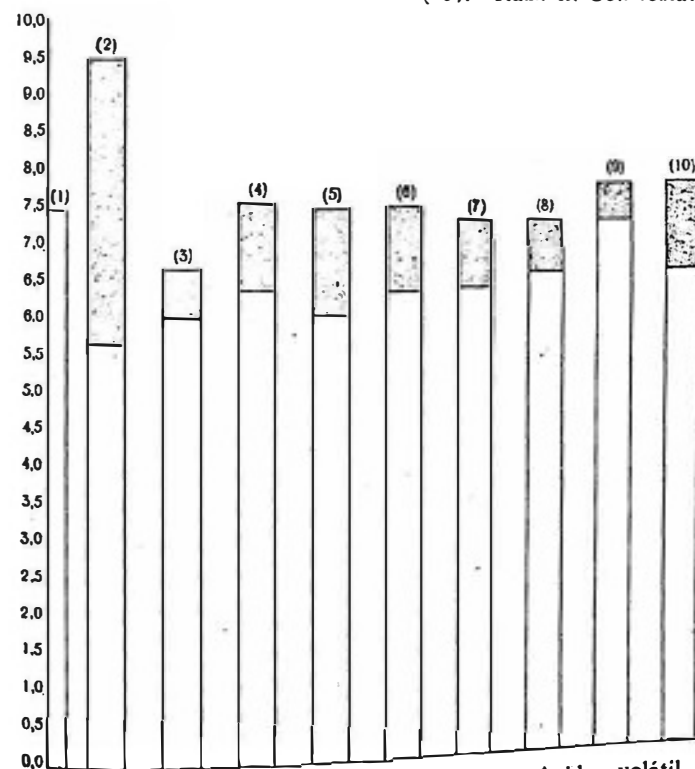
La raza A ha dado muy poca acidez volátil demostrando no sufrir en medios sulfitados, mientras la raza B que dió 1,17 ‰ demuestra lo contrario.

Cuadro de la acidez total. Acidez fija. Acidez volátil.

Ferment. espontánea	9,42 ‰	— 5,68 ‰	— 3,83 ‰	(Balón N.º 1)
" "	6,66 ‰	— 5,98 ‰	— 0,68 ‰	(" N.º 8)
Levad. acostumbradas ...	7,55 ‰	— 6,37 ‰	— 1,18 ‰	(" N.º 9)
" raza A s/t.	7,44 ‰	— 6,07 ‰	— 1,37 ‰	(" N.º 2)
" raza B s/t.	7,46 ‰	— 6,29 ‰	— 1,17 ‰	(" N.º 3)
Raza A con fosfato	7,25 ‰	— 6,37 ‰	— 0,88 ‰	(" N.º 6)
" B con fosfato	7,25 ‰	— 6,56 ‰	— 0,69 ‰	(" N.º 7)
" A SO ² y fosfato ..	7,72 ‰	— 7,23 ‰	— 0,49 ‰	(" N.º 4)
" B SO ² y fosfato ..	7,75 ‰	— 6,58 ‰	— 1,17 ‰	(" N.º 5)

ACIDEZ VOLATIL PRODUCIDA EN ENSAYOS COMPARATIVOS DE FERMENTACION CON MOSTOS NORMALES

- | | |
|-------------------------------|---|
| (1).—Acidez del mosto. | (6).—Raza B. Sin tratamiento. |
| (2).—Fermentación Espontánea. | (7).—Raza A. Con fosfato. |
| (3).—Fermentación Espontánea. | (8).—Raza B. Con fosfato. |
| (4).—Levaduras acostumbradas | (9).—Raza A. Con fosfato y SO ² |
| (5).—Raza A. Sin tratamiento. | (10).—Raza B. Con fosfato y SO ² . |



Referencias: en blanco: Acidez fija. — En oscuro: Acidez volátil.

CONSIDERACIONES FINALES SOBRE LA BONDAD DE LAS RAZAS SELECCIONADAS EN COMPARACION CON LEVADURAS ACOSTUMBRADAS Y FERMENTACIONES ESPONTANEAS.

Analizados ya los diferentes factores, que como se ha visto, separados, solo tienen un valor muy relativo, resta unirlos para tener un juicio de la bondad de las levaduras experimentadas. Los ensayos anteriores fueron hechos en mostos normales.

Se ha comprobado:

Que en fermentaciones espontáneas la efectividad es baja debido a la lucha entre las diversas levaduras y demás micro-organismos nocivos (88,22 % y 92,84 % correspondiente a los balones N.º 1 y 8). Aunque la marcha de la fermentación es rápida a pesar de la baja temperatura (18 grados C.), y la cantidad de azúcar remanente es mínima, el producto es malo debido a infecciones.

El balón N.º 1 se acetificó dando una acidez volátil muy elevada, y el balón N.º 8 se infectó con *Mycoderma vini*. Fermentaciones pésimas.

Que en fermentaciones con levaduras acostumbradas a SO_2 , el coeficiente de efectividad es igualmente bajo a pesar que su azúcar remanente es normal.

Fermentación normal y rápida (6 días); acidez volátil excesiva que pasa de 1 ‰. Fermentación mala.

Quen en fermentaciones con levaduras de la raza A; en mostos:

1.º — Sin tratamiento. La fermentación es rápida (6 días) impidiendo la infección de micro-organismos nocivos, la efectividad es mayor que en los casos anteriores (94,60 %) y el azúcar remanente es normal; pero la acidez volátil producida es muy elevada. Fermentación mala.

2.º — En mostos fosfatados. La efectividad es sensiblemente mayor (96,26 %), el azúcar remanente es menos de 1 ‰; que la marcha de la fermentación es normal aunque algo más lenta (8 días), siendo la acidez volátil producida aceptable. Fermentación Aceptable para vinos de pronto consumo.

3.º — En mostos fosfatados y sulfitados. Su efectividad ha aumentado (97,10 %) siendo excelente. Azúcar remanente normal, igual que la marcha de la fermentación que es más lenta que sin tratamiento (7 días) dando al fin de ella una acidez volátil baja (0,49 ‰). En estos tres casos la clarificación es rápida y total. Fermentación excelente.

Que en fermentaciones con levaduras puras raza B. —

1.º — En mostos sin tratamiento. La marcha de la fermentación es rápida y normal (igual que en la raza A), su efectividad es buena (95,56 %), su azúcar remanente normal, pero la acidez volátil producida es muy elevada, además de una mala clarificación. Fermentación mala.

2.º — En mostos fosfatados. La marcha de la fermentación es normal aunque algo más lenta (7 días), efectividad elevada (96,92), azúcar remanente menos de 0,33 ‰, acidez volátil producida baja (0,69 ‰), pero es de mala clarificación debido a que quedan células en suspensión (anillo) que cuando se mueven los recipientes precipitan enturbando el vino. Hay necesidad de clarificar. Fermentación aceptable.

3.º — En mostos fosfatados y sulfitados. Efectividad excelente (97,42 %), azúcar remanente normal, fermentación normal aunque algo más lenta que en fermentaciones espontáneas y en mostos sin tratamiento (7 días). Acidez volátil muy elevada debido al sufrimiento de estas levaduras en medios sulfitados. Clarificación mala. Fermentación muy mala.

Hechas las consideraciones que anteceden y cuyas conclusiones sacaré al fin de este trabajo, queda por comentar los ensayos en mostos concentrados con distintas levaduras y variantes.

Tendré en cuenta en estos ensayos los mismos factores que en los ensayos en mostos normales.

COMENTARIOS DE LOS ENSAYOS DE FERMENTACIONES EN MOSTOS CUYA AZUCAR SE ELEVO CON AGREGADOS DE SACAROSA Y MOSTO CONCENTRADO UTILIZANDO LAS RAZAS SELECCIONADAS LEVADURAS ACOSTUMBRADAS Y EN FERMENTACIONES ESPONTANEAS.

Estos ensayos fueron hechos en balones, y puestos a fermentar el día 1º de abril.

Efectividad y azúcar remanente.

En fermentación espontánea. Balón N.º 7 con 270 de azúcar ‰ o (con agregado de mosto concentrado) y sin tratamiento.

El análisis dosó:

Alcohol	14°7
Azúcar red.	15,6 ‰
Coefficiente efectividad	98,37 %

En fermentación con levaduras acostumbradas a SO² no puras. Balón N° 11 con 270 de azúcar:

Alcohol	13°6
Azúcar red.	31,25 ‰
Coefficiente efectividad	98,37 %

En los dos casos el coeficiente de efectividad es muy bueno, pero han dejado mucho azúcar remanente. En el ensayo con mosto sulfitado (balón N° 11) se nota que las levaduras han sufrido con el SO², siendo su efectividad menor y dejando mucha azúcar remanente.

En fermentación con la raza A.

Balón	Variantes			Análisis		
	Azúcar	Fosfato de am.	SO ² .	Azúcar red.	Alcohol	C. efectiv.
N.o 1 — 270 ‰	—	—	—	2,75 ‰	14°8	94,23 %
N.o 3 — 270 ‰	10 grs. hect.	—	—	2,63 ‰	14°2	90,43 %
N.o 5 — 270 ‰	10 grs. hect.	20 g.	—	2,45 ‰	15°5	98,20 %

Se nota que el coeficiente de efectividad es menos en los dos primeros casos debido a la concurrencia de otras levaduras, pero en mosto sulfitado este llega 98,20 % (efectividad mayor que en mostos esteriles durante la selección). El azúcar remanente está en un buen término.

En fermentaciones con la raza B.

La raza B. no disminuye la efectividad al trabajar con otras no puras pero deja mucho que desear en cuanto al remanente de azúcar (balones Nos. 2 y 4), cosa que no sucede al trabajar sin competencia (balón No. 6).

Balón	Variantes			Análisis		
	Azúcar	fosfato am.	SO ² .	Azúcar red.	Alcohol	C. efectiv.
N.o 2 — 285 ‰	—	—	—	13,90 ‰	15°8	99,13 %
N.o 4 — 285 ‰	10 grs.	—	—	13,20 ‰	15°9	99,35 %
N.o 6 — 285 ‰	10 grs.	20 grs.	—	3,47 ‰	16°5	99,07 %

En fermentaciones en cubas:

Cuba	Variantes			Análisis			
	Azúcar	fosf. am.	SO ² .	Azúcar red.	Alcohol	C. efectiv.	Levad.
N.o 1 — 260 ‰	10 grs.	15 grs.	2,45 ‰	14°1	92,85 %	A. B.	
N.o 2 — 265 ‰	10 grs.	15 grs.	2,45 ‰	15°1	97,58 %	A.	
N.o 3 — 275 ‰	10 grs.	15 grs.	2,27 ‰	15°9	99,14 %	B.	

En estos mostos agregó sacarosa en vez de mosto concentrado como en los anteriores, no variando por ello la efectividad, pero en la cuba N° 1 esta es mas baja; demostrando que es inconveniente desde este punto de vista la mezcla de las dos razas. El azúcar remanente es poca. Ensayos en mosto con 360 ‰ de azúcar. Esta fué llevada a ese tenor con agregado concentrado quedando muy denso el mosto obtenido y con una acidez muy elevada (10,78 ‰).

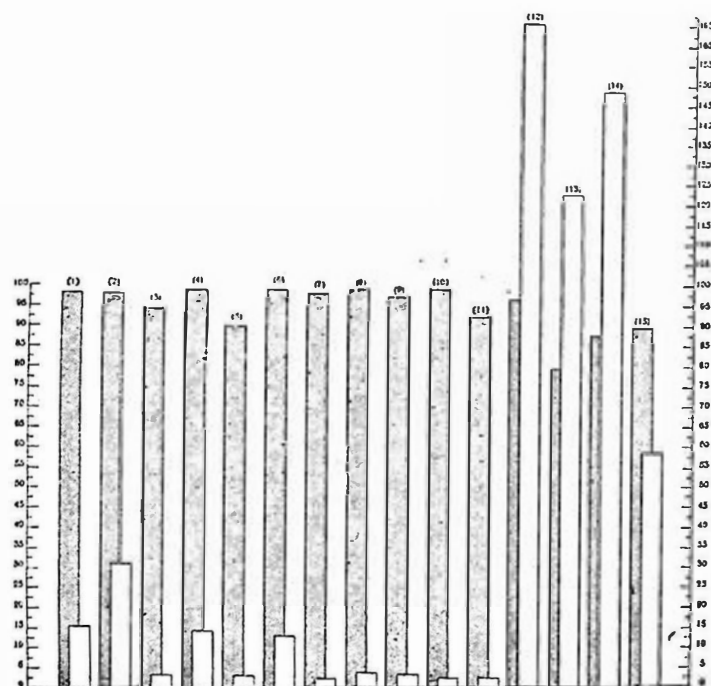
Balón	Variantes			Análisis			
	Azúcar	fosf. am.	SO ² .	Azúcar red.	Alcohol	C. efectiv.	Levad.
N.o 8 — 360 ‰	10 grs.	20 grs.	165,5 ‰	11°1	96,75 %	A.	
N.o 9 — 360 ‰	10 grs.	20 grs.	122,5 ‰	11°1	79,22 %	B.	
N.o 10 — 360 ‰	10 grs.	20 grs.	148,3 ‰	10°9	87,37 %	A. B.	

La raza A tuvo buena efectividad, pero demostró sufrir dando muy poco alcohol dejando mucho azúcar remanente; la raza B trabajó mal y la mezcla tiene una efectividad intermedia. La causa del mal trabajo de las dos razas es sin duda la gran densidad y acidez del mosto, pues en mostos sacarosados (cuba N° 4) con 360 ‰ de azúcar total la mezcla dió:

Razas A - B. - Alcohol 16°. - Azúcar reman 59,11 ‰. - C. efectiv. 91,04 %. Debido a que la acidez del mosto era 4,23 ‰ y la densidad 1,150, se ve ahora que la mezcla da 16° alcohólicos con un coeficiente de efectividad más elevado que en el caso anterior. (sigue gráfica de efectividad y azúcar remanente en mostos concentrados)

EFFECTIVIDAD Y AZUCAR REMANENTE EN MOSTOS CONCENTRADOS

- (1).—Fermentación Espontánea.
 (2).—Levaduras acostumbradas.
 (3).—Raza A Sin tratamiento.
 (4).—Raza B Sin tratamiento.
 EN BALONES (5).—Raza A Con fosfato.
 (6).—Raza B Con fosfato.
 (7).—Raza A Con fosfato y SO₂.
 (8).—Raza B Con fosfato y SO₂.
 (9).—Raza A Con fosfato y SO₂.
 EN CUBAS... (10).—Raza B Con fosfato y SO₂.
 (11).—Mezcla A B Con fosfato y SO₂.
 (12).—Raza A Con fosfato y SO₂.
 EN BALONES (13).—Raza B Con fosfato y SO₂.
 (14).—Mezcla A B Con fosfato y SO₂.
 EN CUBA.... (15).—Mezcla A B Con fosfato y SO₂.



Referencias: En oscuro: C. efectividad. — En blanco: Az. remanente.

MARCHA Y DURACION DE LA FERMENTACION EN MOSTOS CONCENTRADOS

Tomo también en este caso como en el anterior, este factor de juicio, en comparación con otras levaduras.

En fermentaciones espontáneas.

Balón N° 7 con 270 ‰ de azúcar s/trat. Fermentación en 13 días dejando mucha azúcar sin fermentar (15.6 ‰), muy rápida y uniforme hasta el 6° día para hacerse luego más lenta (gráfica N° 1).

En fermentación con levaduras acostumbradas.

Balón N° 11 con 270 ‰ de azúcar, 10 gs. de fosfato de amonio y 20 gs. de SO₂ por hect.

Fermentación uniforme y rápida hasta el 6° día para hacerse después más lenta dejando 31,3 ‰ de azúcar remanente. (gráfica N° 2).

Con razas A y B, en mostos con 270 y 285 ‰ de azúcar respectivamente; sin tratamiento.

Balones N° 1 y 2. — Fermentaciones uniformes y rápidas hasta el 8° día, dejando el 2,7 y 13,9 ‰ de azúcar respectivamente. Terminan la fermentación en 13 días. (gráfica N° 3)

Con razas A y B, en mostos con 270 y 285 ‰ de azúcar y fosfatados (10 gs. por total).

Balones N° 3 y 4.

Raza A, fermentación muy rápida y uniforme, deja al cabo de 13 días 2,6 ‰ de azúcar.

Raza B fermentación, rápida y uniforme hasta el 6° día para luego hacerse muy lenta, dejando 13,2 ‰ de azúcar al cabo de 13 días. (gráfica N° 4)

Raza A y B en mostos fosfatados y sulfitados con 250 y 285 ‰ de azúcar respectivamente. Balones N° 5 y 6.

Las dos razas fermentan rápidamente dejando 2,4 y 3,5 ‰ de azúcar al cabo de 13 días. (gráfica N° 5). Mezcla A - B en mostos fosfatados y sulfitados con 360 ‰ de azúcar. Balón N° 10. — Fermentación inicial rapidísima (de 360 a 170 ‰ en 4 días para luego hacerse gradualmente lenta dejando a los 14 días

148,6 ‰. Raza A en mosto fosfatado y sulfitado con 360 ‰ de azúcar.

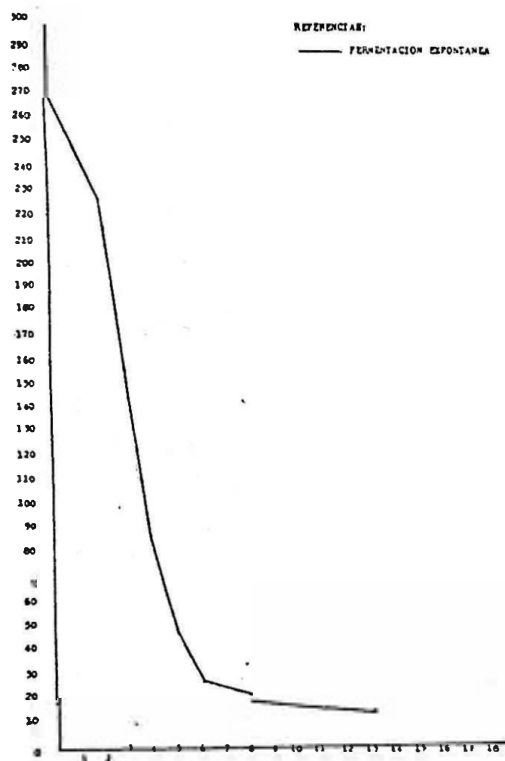
Balón N° 8. — Fermentación inicial muy rápida para hacerse luego muy lenta dejando al fin de la fermentación 165,5 ‰ de azúcar.

Raza B, en mosto con 360 ‰ de azúcar, fosfatado y sulfitado.

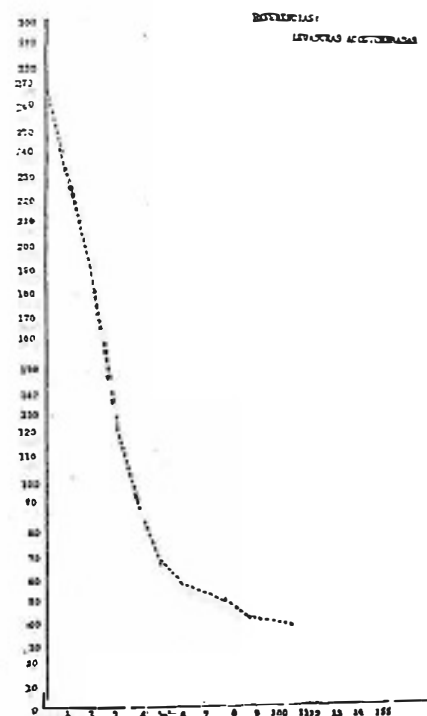
Balón N° 9. — Fermentación inicial muy rápida hasta el 5º día para luego tornarse lenta, dejando al cabo de 14 días 122,5 ‰ de azúcar. (gráfica N° 6).

Se harán además gráficas comparativas de las razas A y B. (gráficas N° 7 y 8).

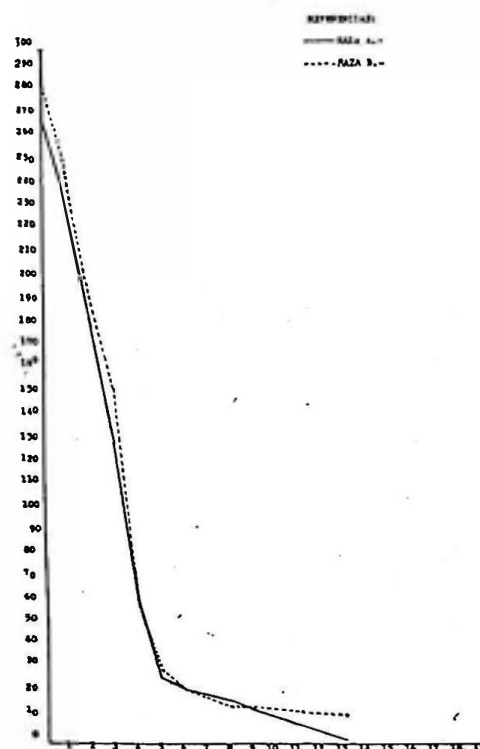
Gráfica de Fermentación Espontánea en Mostos Concentrados.



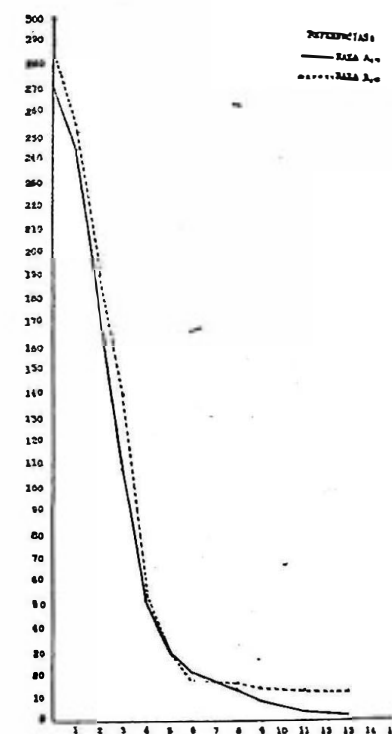
Gráfica de Fermentación con Levaduras Acostumbradas en Mostos Concentrados. — (N.º 2).



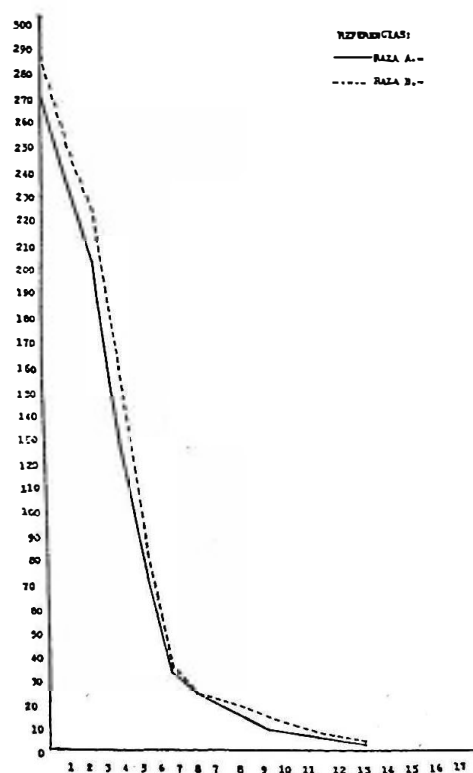
Gráfica de Fermentación en Mostos sin Tratamiento Concentrados
(N.o 3)



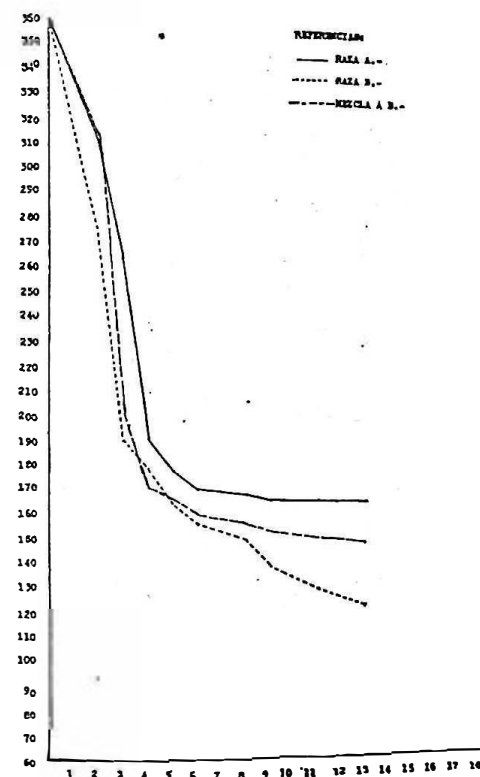
Gráfica de Fermentación en Mostos Concentrados Fosfatados
(N.o 4).



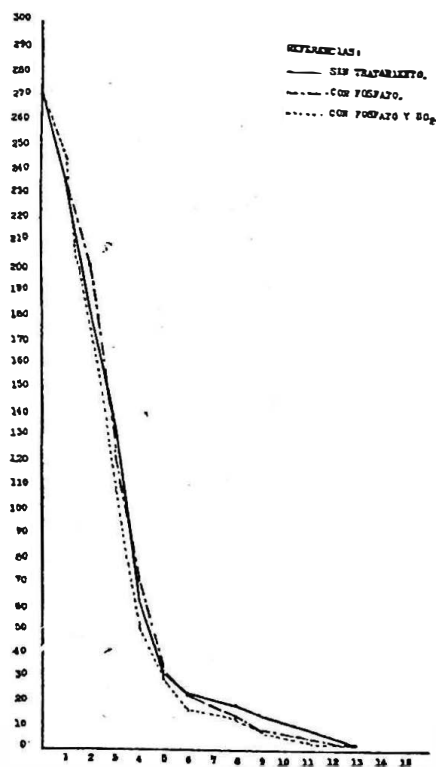
GRAFICA DE FERMENTACION EN MOSTOS CONCENTRADOS, SULFITADOS Y FOSFATADOS



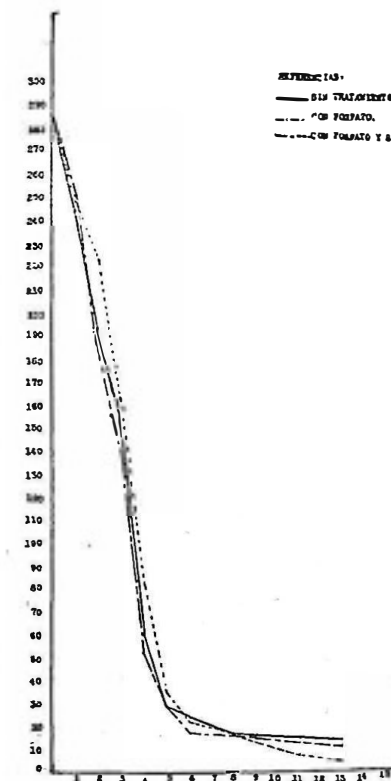
GRAFICA DE FERMENTACION EN MOSTOS CONCENTRADOS (360 % de azúcar), SULFITADOS Y FOSFATADOS



GRAFICA COMPARADA DE FERMENTACION DE LA
RAZA A EN MOSTOS CONCENTRADOS (N.o 7)



GRAFICA COMPARATIVA DE FERMENTACION DE
RAZA B (N.o 8) EN MOSTOS CONCENTRADOS



ACIDEZ VOLATIL PRODUCIDA EN FERMENTACIONES EN MOSTOS CONCENTRADOS

Al tener en cuenta este factor como se hizo en las fermentaciones en mostos normales hay que cambiar algo de criterio. La acidez volátil máxima aceptada en aquel caso fué de 0.88 ‰ y esto con reservas; pero como ella es un producto normal (en poca cantidad) de la fermentación, al dilatarse esta (mostos concentrados) ella aumenta. Tomaremos como límite máximo a 0.9 ‰, haciendo constar que dadas las concentraciones altas de alcohol la acetificación posterior es casi imposible.

En fermentaciones espontáneas.

Balón N° 7. — El análisis correspondiente dió:

Acidez del mosto	5.29 ‰
" total del vino ..	5.42 ‰
" fija	4.44 ‰
" volátil	0.98 ‰

Como se ve aquí pasa del límite.

Con levaduras acostumbradas. — Balón N° 11.

El análisis dosó:

Acidez del mosto ...	7.87 ‰
" total del vino	7.94 ‰
" fija	6.86 ‰
" volátil	1.08 ‰

También produjo acidez volátil elevada.

Con raza A y B en mostos sin tratamiento. — Balones N° 1 y 2.

El análisis correspondiente dosó:

	A.	B.
Acidez del mosto ...	5.29 ‰	5.88 ‰
" total del vino	5.39 ‰	6.37 ‰
" fija	4.02 ‰	4.31 ‰
" volátil	1.37 ‰	2.06 ‰

Se nota una acidez muy elevada en las dos razas, aunque sensiblemente mayor en la raza B.

Con raza A y B, en mostos fosfatados. — Balones N° 3 y 4
El análisis dió:

	A.	B.
Acidez del mosto ...	5.31 ‰	5.68 ‰
" total del vino	5.29 ‰	6.28 ‰
" fija	4.12 ‰	4.61 ‰
" volátil	1.17 ‰	1.57 ‰

La influencia del fosfato ha sido favorable aunque la acidez todavía es muy elevada, notándose que la raza B siempre produce más acidez volátil.

Con razas A y B, en mostos fosfatados y sulfitados. — Balones N° 5 y 6.

Análisis correspondientes:

	A.	B.
Acidez del mosto	5.39 ‰	5.68 ‰
" total del vino	5.29 ‰	5.49 ‰
" fija	4.51 ‰	4.22 ‰
" volátil	0.78 ‰	1.27 ‰

Se vé ahora que la acidez volátil en la raza A se ha puesto en un término excelente, mientras en la raza B esta aumentó con relación a la fermentación en mosto fosfatado (igual sucedió en los ensayos con mostos normales donde se notaba la influencia nociva del SO²).

En fermentaciones en cubas con las razas A y B y la mezcla de ambos tenemos según análisis;

	A. (N.º 2)	B. (N.º 3)	A-B. (N.º 1)
Acidez total ..	4.02 ‰	4.21 ‰	5.29 ‰
" fija	3.53 ‰	3.53 ‰	4.31 ‰
" volátil	0.49 ‰	0.68 ‰	0.98 ‰

Estas cubas fueron sulfatadas y fosfatadas, teniendo tan baja acidez total pues fueron llevadas al tenor debido de azúcar con agregados de sacarosa. Se puede deducir de estos ensayos que la acidez volátil producida depende de la acidez total además de la densidad del mosto. Esto queda demostrado en los ensayos con 360 ‰ de azúcar que a continuación se comentan.

Razas A y B mezcla de ambas en mostos con 360 ‰ de azúcar, sulfitados y fosfatados.

	A. (balón 8)	B. (balón 9)	A-B. (balón 10)
Acidez total	10.88 ‰	10.90 ‰	10.86 ‰
" fija ..	9.41 ‰	9.41 ‰	9.39 ‰
" volátil	1.47 ‰	1.49 ‰	1.47 ‰

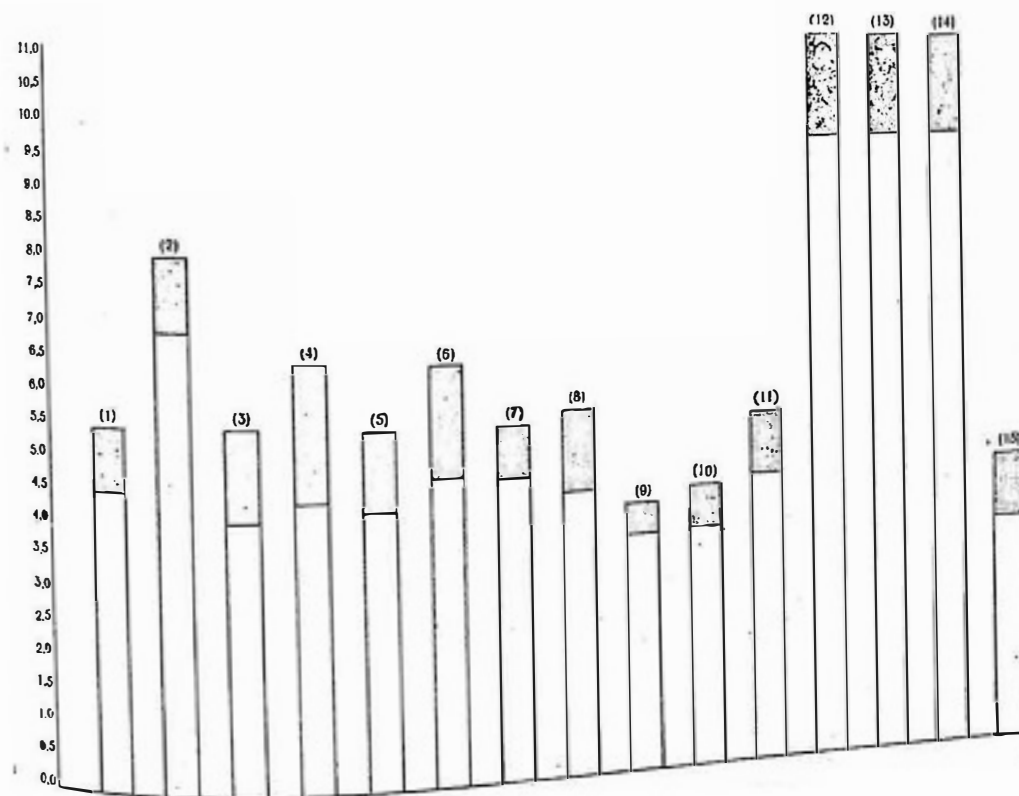
Mientras que en una fermentación en cuba con 360 ‰ de azúcar (con agregados de sacarosa) con la mezcla de razas el análisis dió:

Cuba N.º 4. — Acid. total -4.41 ‰. Acid. fija -3.43 ‰. Acid. vol. 0.98, que como se ve está casi en el límite y si es tan alta es debido a que la mezcla es peor que la raza A aunque mejor que la B.

ACIDEZ VOLATIL PRODUCIDA EN ENSAYOS COMPARATIVOS DE FERMENTACION CON MOSTOS CONCENTRADOS

	(1).—Fermentación Espontánea.
	(2).—Levaduras acostumbradas.
EN BALONES	(3).—Raza A. Sin tratamiento.
	(4).—Raza B. Sin tratamiento.
	(5).—Raza A. Con fosfato.
	(6).—Raza B. Con fosfato.
	(7).—Raza A. Con fosfato y SO ² .
	(8).—Raza B. Con fosfato y SO ² .
	(9).—Raza A. Con fosfato y SO ² .
EN CUBAS ...	(10).—Raza B. Con fosfato y SO ² .
	(11).—Mezcla A y B Con fosfato y SO ² .
EN BALONES	(12).—Raza A. Con fosfato y SO ² .
	(13).—Raza B. Con fosfato y SO ² .
	(14).—Mezcla A. y B. Con fosf. y SO ² .
EN CUBA	(15).—Mezcla A. y B. Con fosf. y SO ² .

Referencias: En blanco: acidez fija. — En oscuro: acidez volátil.



CONSIDERACIONES FINALES SOBRE LA BONDAD DE LAS RAZAS SELECCIONADAS EN FERMENTACIONES COMPARATIVAS EN MOSTOS CONCENTRADOS

Analizados ya los diferentes factores del juicio solo falta coordinarlos.

Se ha comprobado:

Que en fermentaciones espontáneas; a pesar de que la efectividad es alta (98,37 %) la cantidad de azúcar remanente deja mucho que desear (15,6 %). Fermentación rápida y uniforme. Acidez que pasa el límite. Fermentación mala.

Que en fermentación con levaduras acostumbradas a SO_2 la efectividad es igualmente buena (98,37 %) pero que deja más azúcar remanente que en fermentación espontánea, produciendo más acidez volátil. Fermentación rápida al principio, (normal). Como el fin deseado es la producción del máximo de alcohol con el mínimo de acidez volátil, y de azúcar reductor considero ésta como: Fermentación mala.

Que en fermentación con la raza A:

- 1.o — En mostos sin tratamiento: El coeficiente de efectividad es bajo, su azúcar remanente es normal. Fermentación normal y rápida (13 días); pero la acidez volátil es muy elevada. Fermentación mala.
- 2.o — En mostos fosfatados. El coeficiente de efectividad es más bajo siendo su azúcar remanente normal. Fermentación muy rápida que produce una acidez muy elevada. Fermentación mala.
- 3.o — En mostos sulfitados y fosfatados. Coeficiente de efectividad muy bueno. Azúcar remanente bajo. (98,20 % y 2,45 %). Fermentación igualmente rápida y normal. Acidez volátil baja (0,78 %). Fermentación excelente.

Que en fermentaciones con la raza B:

- 1.o — En mostos sin tratamiento. Efectividad muy buena (99,13 %), pero mucha azúcar remanente (13,9 %). Fermentación inicial rápida y final muy lenta. Acidez volátil elevadísima (2,06 %), Fermentación Pésima.
- 2.o — En mostos fosfatados. Efectividad aun mayor (99,35 %), pero azúcar remanente muy elevada (13,2 %). Fermenta-

ción inicial rápida y final lenta. Acidez volátil producida muy elevada (1,57 %). Fermentación pésima.

- 3.o — En mostos fosfatados y sulfitados. Efectividad muy buena y azúcar remanente normal. (99,07 % y 3,45 %). Fermentación normal pero acidez volátil elevada (1,27 %), Fermentación mala.

Todos los ensayos anteriores fueron hechos con 270 % de azúcar para las fermentaciones espontáneas y con levaduras acostumbradas, raza A y con 285 % para la raza B. Se hicieron ensayos en cubas con la raza A y B y la mezcla de ambas con el siguiente resultado:

En mosto sacarosado, con 260 % de azúcar, razas A - B (cuba N° 1).

Efectividad regular (92,25 %). Azúcar remanente normal. acidez volátil que pasa el límite (0,98 %). Fermentación aceptable.

En mosto sacarosado, con 265 % de azúcar, raza A (cuba N° 2).

Efectividad buena (87,58 %) y azúcar remanente normal. Acidez volátil baja. Fermentación muy buena.

En mosto sacarosado, con 275 % de azúcar Raza B (cuba N° 3).

Efectividad muy buena. Azúcar remanente normal. Acidez volátil que pasa del límite. Fermentación aceptable. (Estos mostos eran sulfitados y prosf.) Fermentación en mostos con 360 %, (con mosto concentrado), fosfatados y sulfitados.

Con raza A. — Efectividad buena. Azúcar remanente muy elevada (muy poco alcohol). Fermentación anormal. Acidez volátil muy alta. Fermentación Mala.

Con raza B. — Efectividad mala, mucha azúcar remanente y acidez volátil muy alta. Fermentación pésima.

Con mezcla A - B. — Efectividad intermedia, azúcar remanente alta, y acidez volátil elevada, Fermentación pésima.

Fermentación en cuba. Mosto sacarosado con 360 % de azúcar, sulfitado y fosfatado. Fermentación que da una efectividad pasable (91,04 %)

Azúcar remanente relativamente baja (59,11 %) y acidez volátil que pasa del límite (0,98 %) Fermentación aceptable

CONCLUSIONES

De las consideraciones relativas a los ensayos en mostos normales (páginas 24 y 25 de la 4a. parte) y las correspondientes a mostos con agregados de concentrado o de sacarosa (que anteceden), se puede sacar como conclusiones que:

En mostos normales.

- 1.o — Es siempre inconveniente dejar fermentar espontáneamente los mostos sobre todo en locales donde sea fácil la infección (bodegas poco higienizadas).
- 2.o — Si bien el empleo de levaduras acostumbradas a SO^2 , da la seguridad al trabajar en mostos sulfitados de la exclusión de micro-organismos nocivos, no asegura la obtención de un buen producto debido a la mucha acidez volátil producida, (condición de sufrimiento de las levaduras en medios con SO^2).
- 3.o — Empleando la raza A, pura, acostumbrada; se obtiene óptimos resultados siempre que se trabaje en medios sulfitados y fosfatados, (vinos con muy poca acidez volátil y de buena clarificación).
- 4.o — Dicha raza en medios fosfatados sin sulfitar da productos aceptables pero para rápido consumo.
- 5.o — La raza B en mostos sulfitados y fosfatados, no da resultados buenos (mucha acidez volátil-sufre en medios de sulfitados y mala clarificación)
- 6.o — Dicha raza en mostos solamente fosfatados, da un producto que solo tiene por defecto su mala clarificación (es necesario clarificar).

En mostos concentrados.

- 1.o — Las fermentaciones espontáneas y con levaduras acostumbradas no puras son inconvenientes (mucha acidez volátil y azúcar remanente).
- 2.o — La raza A da excelentes resultados en mostos sulfitados y fosfatados siempre que tengan acidez baja (menos de 6 ‰) y sean poco densos (menos de 1.200); tanto sean concentrados como sacarosados.
- 3.o — La raza B es mala en todos los casos, dando acidez volátil muy elevada en mostos muy ácidos y densos, pero en mos-

tos sacarosados da poca acidez volátil. Con todo es inconveniente.

- 4.o — La mezcla de ambas razas si bien da resultados mejores que la raza B estos no son buenos. No conviene la mezcla.
- 5.o — Tanto en los casos de ensayos en mostos normales como concentrados los ensayos concuerdan y se pueden resumir:
 - a). — Inconveniente de fermentaciones con razas no puras y levaduras acostumbradas.
 - b). — Bondad indiscutible de la raza A en mostos sulfitados y fosfatados.
 - c). — Inferioridad manifiesta de la raza B en cualquier caso. (dejarla de lado).
 - d). — Inconveniente de la mezcla de una raza buena con una mala.
 - e). — Necesidad de trabajar en mostos de poca acidez y densidad, sulfitados y fosfatados.
 - f). — Se ha obtenido una raza que fermenta muy bien, dando grados alcohólicos casi de 16.º (la raza B daba más de 16.º). Da vinos de excelente bouquet y buena clarificación. (Este era el fin de la selección). Además en fermentaciones en mostos normales produce vinos de iguales características y de muy buena conservación. (Acidez volátil baja).