

**Evaluación de cepas comerciales de
Lachancea thermotolerans para mejorar la
acidez de vinos blancos y espumosos en
situaciones de estrés hídrico en el Penedés**

JULIA ARROYO ARROYO

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Dirigido por María Jesús Torija Martínez



UNIVERSITAT ROVIRA i VIRGILI
Facultat d'Enologia

Tarragona, 18 de junio de 2025
Grado de Enología - Facultat de Enología

RESUMEN

En un contexto de cambio climático, la producción vitivinícola se enfrenta a desafíos como el aumento de las temperaturas y la reducción de las precipitaciones, lo que conlleva una maduración más acelerada de la uva, una menor acidez y un pH más elevado en los vinos. Frente a esta problemática, se ha propuesto el uso de *Lachancea thermotolerans* como herramienta microbiológica para incrementar la acidez mediante la producción de ácido láctico durante la fermentación alcohólica.

El presente estudio se llevó a cabo en condiciones reales de vinificación en una bodega del Penedés (Barcelona), con el objetivo de evaluar el comportamiento acidificante de tres cepas comerciales de *L. thermotolerans* (de los comerciales Agrovin, Vason y AEB) mediante fermentaciones secuenciales con *Saccharomyces cerevisiae*. Se utilizaron cuatro depósitos de dos mil litros, uno de ellos como control fermentado solo con *S. cerevisiae*, y los tres restantes inoculados inicialmente con *L. thermotolerans* y, al cabo de unos días, con *S. cerevisiae*. Durante el proceso se monitorizaron parámetros como la densidad, la acidez total, el ácido láctico, el ácido acético, el pH y la temperatura.

De las tres cepas utilizadas, solo una (Viniferm NS Chance, Agrovin) generó una concentración apreciable de ácido láctico y un incremento significativo de la acidez total. Las otras dos cepas (Vason y AEB) no produjeron cantidades detectables de ácido láctico, si bien presentaron niveles de acidez total ligeramente superiores al control. En conjunto, el uso de *L. thermotolerans* como herramienta de acidificación biológica debe plantearse con prudencia, teniendo en cuenta tanto la cepa específica como las condiciones de aplicación.

Palabras clave: *Lachancea thermotolerans*, *Saccharomyces cerevisiae*, acidificación, ácido láctico, fermentación secuencial

ABSTRACT

In the context of climate change, wine production faces challenges such as rising temperatures and reduced rainfall, leading to accelerated grape ripening, decreased acidity, and higher pH levels in wines. To address this issue, the use of *Lachancea thermotolerans* has been proposed as a microbiological tool to increase acidity through the production of lactic acid during alcoholic fermentation.

This study was conducted under real winemaking conditions in a winery located in the Penedès region (Barcelona), with the aim of evaluating the acidification performance of three commercial strains of *L. thermotolerans* (Agrovin, Vason and AEB) through sequential fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. Four two thousand liters stainless steel tanks were used: one as a control fermented only with *S. cerevisiae*, and the other three initially inoculated with *L. thermotolerans* and subsequently with *S. cerevisiae* a few days later. Parameters such as density, total acidity, lactic acid, acetic acid, pH, and temperature were monitored during fermentation.

Of the three strains used, only one (Viniferm NS Chance, Agrovin) generated an appreciable concentration of lactic acid and a significant increase in total acidity. The other two strains (Vason and AEB) did not produce detectable amounts of lactic acid, although they had slightly higher total acidity levels than the control. Overall, the use of *L. thermotolerans* as a biological acidification tool should be approached with caution, considering both the specific strain and the application conditions.

Keywords: *Lachancea thermotolerans*, *Saccharomyces cerevisiae*, acidification, lactic acid, sequential fermentation

RESUM

En un context de canvi climàtic, la producció vitivinícola s'enfronta a reptes com l'augment de les temperatures i la reducció de les precipitacions, que provoquen una maduració accelerada del raïm, una menor acidesa i un pH més elevat en els vins. Davant aquesta problemàtica, s'ha proposat l'ús de *Lachancea thermotolerans* com a eina microbiològica per incrementar l'acidesa mitjançant la producció d'àcid làctic durant la fermentació alcohòlica.

Aquest estudi es va dur a terme en condicions reals de vinificació en un celler situat a la comarca del Penedès (Barcelona), amb l'objectiu d'avaluar el comportament acidificant de tres soques comercials de *L. thermotolerans* (dels comercials Agrovin, Vason i AEB) mitjançant fermentacions seqüencials amb *Saccharomyces cerevisiae*. Es van utilitzar quatre dipòsits d'acer inoxidable de dos mil litres: un com a control fermentat només amb *S. cerevisiae*, i els altres tres inicialment inoculats amb *L. thermotolerans* i posteriorment amb *S. cerevisiae* després d'uns dies. Durant el procés fermentatiu es van monitorar paràmetres com la densitat, l'acidesa total, l'àcid làctic, l'àcid acètic, el pH i la temperatura.

De les tres soques utilitzades, només una (Viniferm NS Chance, Agrovin) va generar una concentració apreciable d'àcid làctic i un increment significatiu de l'acidesa total. Les altres dues soques (Vason i AEB) no van produir quantitats detectables d'àcid làctic, si bé van presentar nivells d'acidesa total lleugerament superiors al control. En conjunt, l'ús de *L. thermotolerans* com a eina d'acidificació biològica ha de plantejar-se amb prudència, tenint en compte tant la soca específica com les condicions d'aplicació al celler.

Paraules clau: *Lachancea thermotolerans*, *Saccharomyces cerevisiae*, acidificació, àcid làctic, fermentació seqüencial

Índice de contenidos

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Contexto del cambio climático en la vitivinicultura	1
1.2. Estrategias para mantener o aumentar la acidez	2
1.3. Acidificaciones microbiológicas como herramienta natural	3
1.4. <i>Lachancea thermotolerans</i> y su uso en enología	4
1.5. Interés aplicado en la vinificación de espumosos en el Penedés	6
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivos específicos	8
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1. Cepas utilizadas en el estudio	8
3.2. Ensayo inicial	9
3.3. Segundo ensayo	10
3.4. Protocolo de fermentación	11
3.5. Seguimiento analítico	11
3.6. Tratamiento de los datos	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Ensayo inicial	13
4.2. Segundo ensayo	15
4.2.1. Evolución de la fermentación alcohólica	15
4.2.2. Evolución del ácido láctico	16
4.2.3. Evolución de la acidez total	18
4.2.4. Características químicas finales de los vinos	19
5. DISCUSIÓN	23
6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	27
7. AGRADECIMIENTOS	28
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
9. ANEXOS	31
ANEXO 1. Fichas técnicas de las levaduras	31
ANEXO 2. Composición de los nutrientes	41
ANEXO 3. Datos complementarios	45

Índice de Figuras y Tablas

Figure 1. Vías metabólicas principales de <i>L. thermotolerans</i> durante la fermentación. La levadura puede transformar el piruvato en etanol, lactato, acetato o glicerol, según la actividad enzimática y condiciones fermentativas. Fuente: Hranilovic et al. (2018).	5
Figure 2. Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica en el primer ensayo de los depósitos 221 (<i>S.cerevisiae</i>), 223 (Viniferm NS Chance + <i>S.cerevisiae</i>) y 225 (VIW Shield LT + <i>S.cerevisiae</i>).	14
Figure 3. Evolución del ácido láctico durante la fermentación alcohólica en el primer ensayo de los depósitos 221 (<i>S.cerevisiae</i>), 223 (Viniferm NS Chance + <i>S.cerevisiae</i>) y 225 (VIW Shield LT + <i>S.cerevisiae</i>).	15
Figure 4. Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (<i>S.cerevisiae</i>), 223 (Viniferm NS Chance + <i>S.cerevisiae</i>), 225 (VIW Shield LT + <i>S.cerevisiae</i>) y 227 (<i>Levulia Alcomeno</i> + <i>S.cerevisiae</i>).....	16
Figure 5. Evolución del contenido en ácido láctico durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (<i>S.cerevisiae</i>), 223 (Viniferm NS Chance + <i>S.cerevisiae</i>), 225 (VIW Shield LT + <i>S.cerevisiae</i>) y 227 (<i>Levulia Alcomeno</i> + <i>S.cerevisiae</i>).	17
Figure 6. Evolución de la acidez total durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (<i>S.cerevisiae</i>), 223 (Viniferm NS Chance + <i>S.cerevisiae</i>), 225 (VIW Shield LT + <i>S.cerevisiae</i>) y 227 (<i>Levulia Alcomeno</i> + <i>S.cerevisiae</i>).....	18
Figure 7. Acidez total sulfúrica final.....	20
Figure 8. Grado alcohólico adquirido	21
Figure 9. Contenido en ácido acético final.....	21
Figure 10. Contenido en azúcares residuales final.	22
Figure 11. Contenido en ácido málico final.....	23
Table 1. Tabla comparativa de las diferentes cepas comerciales de <i>L. thermotolerans</i> utilizadas en el ensayo.	9
Table 2. Características analíticas del mosto de Parellada tras el desfogado.	11
Table 3. Concentración media de ácido láctico el tercer día de fermentación alcohólica	18
Table 4. Resultados de los parámetros analíticos al terminar la fermentación alcohólica.....	19

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Contexto del cambio climático en la vitivinicultura

El cambio climático representa uno de los mayores desafíos actuales para la vitivinicultura mundial. Las previsiones del Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) indican un aumento sostenido de la temperatura media global, acompañado de un incremento en la frecuencia e intensidad de fenómenos climáticos extremos como olas de calor, sequías y tormentas (IPCC, 2021). En regiones vitivinícolas mediterráneas como el Penedés, estas alteraciones climáticas están teniendo un impacto directo sobre el ciclo vegetativo de la vid, la maduración de la uva y, en consecuencia, sobre la calidad del vino.

Uno de los efectos más importantes es el adelanto de la maduración tecnológica, lo que conlleva una acumulación más rápida de azúcares en la baya y una degradación acelerada de los ácidos orgánicos, especialmente el ácido málico (Keller, 2020; Vicente *et al.*, 2023). Esta situación conduce a mostos con elevado grado alcohólico potencial, baja acidez total y pH elevado, lo cual compromete tanto la frescura como la estabilidad microbiológica y química del vino (Schultz, 2016).

La pérdida de acidez es especialmente preocupante en la elaboración de vinos blancos y espumosos, donde la acidez no solo interviene en el equilibrio gustativo, sino también en la percepción de frescura, la capacidad antioxidante, la persistencia aromática y la compatibilidad con el dióxido de carbono en el caso de los espumosos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). A su vez, valores de pH elevados incrementan la sensibilidad del vino frente a microorganismos indeseados y disminuyen la eficacia del dióxido de azufre como agente protector.

En este contexto, la necesidad de adaptar las prácticas enológicas al nuevo escenario climático se vuelve prioritaria, no solo para preservar la calidad sensorial y sanitaria del vino, sino también para asegurar su tipicidad, su capacidad de guarda y su aceptación en los mercados (Izquierdo-Cañas *et al.*, 2025). Esta problemática ha impulsado la búsqueda de soluciones tecnológicas y microbiológicas que permitan compensar la pérdida de acidez y restaurar el equilibrio natural de los vinos elaborados en zonas cálidas o afectadas por el estrés hídrico.

1.2. Estrategias para mantener o aumentar la acidez

La pérdida de acidez en los vinos, especialmente en regiones afectadas por el cambio climático, ha motivado el desarrollo de diversas estrategias para corregir este desequilibrio. Estas se agrupan habitualmente en tres categorías principales: métodos agronómicos, físico-químicos y microbiológicos. Su aplicación dependerá del tipo de vino, las condiciones del mosto, el perfil deseado y el marco normativo de cada denominación de origen.

El objetivo de las estrategias agronómicas o vitícolas es preservar o favorecer la acumulación de acidez en la uva durante el ciclo vegetativo. Algunas de estas prácticas incluyen el manejo de la canopia para reducir la exposición solar de los racimos, el control del riego (más concretamente con estrategias de déficit hídrico controlado), la selección de parcelas con mayor altitud o amplitud térmica entre el día y la noche, atrasar la poda con el fin de demorar el desarrollo fenológico de la vid y, muy especialmente, la vendimia anticipada antes de que los ácidos orgánicos, como el ácido málico, se degraden por respiración (Payan *et al.*, 2023; Keller, 2020). Todas estas medidas pueden contribuir a conservar niveles más altos de acidez natural en la uva al momento de la vendimia, lo que resulta crucial en climas cálidos o en campañas afectadas por el aumento térmico global. Aunque su efecto suele ser más limitado en comparación con las técnicas enológicas, estas prácticas representan la primera línea de intervención en el viñedo para mantener el equilibrio ácido del vino.

Entre las estrategias físico-químicas, la más común es la acidificación mediante adición directa de ácidos orgánicos, como el tartárico, málico o cítrico. El ácido tartárico es el más utilizado en enología por su estabilidad y capacidad para reducir el pH, aunque puede precipitar como sales tartáricas si se sobrepasa su solubilidad (Payan *et al.*, 2023). El ácido málico, menos estable, puede ser posteriormente degradado por la fermentación maloláctica, mientras que el ácido cítrico, aunque aporta frescura, puede metabolizarse en ácido acético y elevar la acidez volátil si no se controla adecuadamente (Vicente *et al.*, 2022).

Una alternativa interesante emergente es el uso de ácido fumárico, un compuesto con capacidad acidificante que no se ve degradado durante la fermentación maloláctica. Estudios recientes han demostrado que su adición a mostos permite reducir el pH y mejorar la percepción de frescor, sin efectos negativos sobre el perfil sensorial ni sobre la estabilidad química del vino. Además, puede contribuir a una menor necesidad de sulfitado, al mejorar la estabilidad microbiológica del vino (Payan *et al.*, 2023). El uso de este compuesto ha sido aprobado por la Organización Internacional de la Viña y el Vino

(OIV) como inhibidor de la fermentación maloláctica, aunque su autorización como agente acidificante aún no ha sido concedida (OIV-OENO 581A-2021).

Entre las estrategias físico-técnicas, destacan los tratamientos con resinas de intercambio catiónico, que eliminan cationes como el potasio intercambiándolos por protones, lo que reduce el pH y aumenta la acidez sin añadir compuestos externos. Esta técnica ha sido aprobada por la OIV, permitiendo una corrección ajustada de la acidez (OIV-OENO 443-2012). También se ha documentado el uso de electrodiálisis, que separa iones a través de membranas selectivas mediante corriente eléctrica, permitiendo reducir la inestabilidad tartárica y modificar la acidez total (Payan *et al.*, 2023).

Más allá de estas herramientas técnicas, algunos estudios han explorado también el uso de productos derivados de la uva como el *verjus* (mosto de uvas verdes) o la glucosa oxidasa (GOx), una enzima que consume parte del azúcar y produce ácido glucónico, aunque estas opciones están aún en fase experimental o con aplicación limitada (Keng *et al.*, 2025).

Por último, las acidificaciones microbiológicas, centradas en el uso de levaduras no-*Saccharomyces* capaces de producir ácido láctico a partir de azúcares, como *Lachancea thermotolerans*, representan una estrategia biotecnológica natural.

1.3. Acidificaciones microbiológicas como herramienta natural

Frente a las limitaciones técnicas, sensoriales o normativas de los métodos físico químicos, la acidificación microbiológica ha ganado interés en la última década como una estrategia natural y sostenible. Este enfoque se basa en el uso de microorganismos capaces de producir ácidos orgánicos durante la fermentación alcohólica, modificando la acidez total y el pH del vino sin necesidad de aditivos externos.

A diferencia de la fermentación maloláctica, que transforma ácido málico en ácido láctico disminuyendo la acidez total, la acidificación microbiológica busca justamente el efecto contrario: generar ácido láctico desde los azúcares del mosto para incrementar la acidez del producto final (Vicente *et al.*, 2022). Este proceso permite una mejor integración de la acidez en el perfil sensorial del vino, con efectos beneficiosos tanto en la percepción de frescor como en la estabilidad microbiológica.

Diversos estudios han demostrado que la aplicación de levaduras no-*Saccharomyces* productoras de ácido láctico permite alcanzar reducciones de pH de hasta 0,5 unidades y aumentos de acidez total superiores a 3 g/L, dependiendo de la cepa utilizada y de las condiciones de fermentación (Vicente *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023). Además, estas

levaduras no solo modifican la acidez, sino que también pueden contribuir positivamente al aroma del vino mediante la producción de ésteres y otros compuestos volátiles (Morata *et al.*, 2018; Morales *et al.*, 2019; Vicente *et al.*, 2022).

La principal ventaja de esta estrategia es su alineación con las tendencias actuales hacia una enología de mínima intervención, donde se prioriza el uso de herramientas biológicas frente a tratamientos correctivos. Además, se considera una solución especialmente valiosa en zonas cálidas o afectadas por el cambio climático, donde la acidez natural de la uva es insuficiente para garantizar el equilibrio del vino (Payan *et al.*, 2023).

En este contexto, el uso de levaduras seleccionadas que combinen capacidad acidificante con un buen comportamiento fermentativo representa una oportunidad enológica relevante. Entre ellas, *Lachancea thermotolerans* se ha consolidado como la especie más prometedora.

1.4. *Lachancea thermotolerans* y su uso en enología

Lachancea thermotolerans es una levadura no-*Saccharomyces* de la familia *Saccharomycetaceae*, inicialmente descrita como *Kluyveromyces thermotolerans* por Filippov en 1932. Su actual clasificación dentro del género *Lachancea* fue establecida por Kurtzman en una revisión filogenética en 2003 basada en análisis moleculares (Kurtzman, 2003). Esta especie es considerada la más relevante del género en términos enológicos, ya que posee la capacidad de producir ácido láctico durante la fermentación alcohólica a partir de azúcares, fenómeno poco común entre levaduras fermentativas (Fleet, 2008; Vicente *et al.*, 2021).

Esta particularidad se relaciona con una ruta metabólica alternativa que desvía parte del piruvato; producto de la glucólisis, hacia la síntesis de ácido láctico mediante el enzima lactato deshidrogenasa (LDH), en lugar de transformarlo exclusivamente en etanol. Esta singularidad metabólica le permite incrementar de forma natural la acidez total del vino y reducir su pH, propiedades especialmente valoradas en escenarios de maduración desequilibrada como consecuencia del cambio climático (Benito, 2018; Vicente *et al.*, 2021). En la Figura 1 se presenta un esquema general simplificado de las rutas metabólicas principales implicadas en la conversión de glucosa en metabolitos clave durante la fermentación alcohólica.

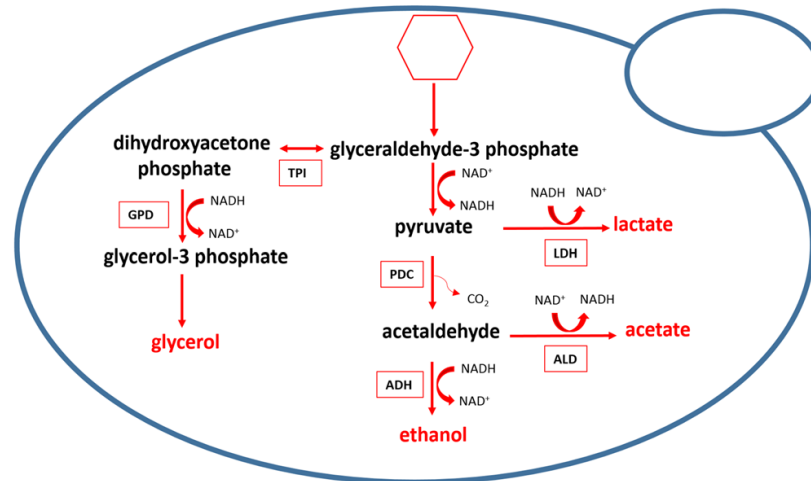


Figure 1. Vías metabólicas principales de *L. thermotolerans* durante la fermentación. La levadura puede transformar el piruvato en etanol, lactato, acetato o glicerol, según la actividad enzimática y condiciones fermentativas. Fuente: Hranilovic et al. (2018).

Desde el punto de vista ecológico, *L. thermotolerans* presenta una distribución amplia: se ha aislado de diferentes frutas, exudados de cortezas e incluso insectos, lo cual sugiere un origen ambiental diverso antes de su domesticación (Vicente et al., 2025; Hranilovic et al., 2017). Sin embargo, las cepas utilizadas en enología muestran claras adaptaciones tanto fenotípicas como genómicas al ambiente fermentativo, destacando subpoblaciones domesticadas con mayor robustez fermentativa y capacidad acidificante (Hranilovic et al., 2018; Vicente et al., 2025).

La eficacia acidificante de *L. thermotolerans* ha sido ampliamente documentada en numerosos ensayos realizados tanto a escala de laboratorio como en condiciones piloto e industriales. La producción de ácido láctico presenta una gran variabilidad según la cepa utilizada, el tipo de inoculación y las características del mosto. En condiciones optimizadas de laboratorio, algunas cepas han alcanzado concentraciones a 16 g/L de ácido láctico, mientras que en ensayos a escala piloto los valores se sitúan habitualmente entre 3 y 7 g/L (Su et al., 2024; Benito, 2018, Zhang et al., 2023). Las fermentaciones en las que se aplicó una inoculación secuencial resultaron en mayores concentraciones de ácido láctico y reducciones de pH más pronunciadas que aquellas con inoculación simultánea, observando descensos de pH de hasta 0,5 unidades y aumentos de la acidez total comprendidos entre 1 y 4 g/L (Gobbi et al., 2013; Vicente et al., 2023; Izquierdo-Cañas et al., 2025).

Además del ácido láctico, la actividad metabólica de *L. thermotolerans* contribuye al aumento de otros ácidos orgánicos como el ácido succínico, que puede aportar entre 0,2 y 0,6 g/L adicionales de acidez y complejidad sensorial, y a la reducción del ácido málico en determinados casos (Izquierdo-Cañas et al., 2025). Los efectos beneficiosos

de esta levadura se han mantenido también en fermentaciones a escala industrial, donde se ha documentado una mejora en el color, la percepción de frescor y la formación de compuestos aromáticos como ésteres frutales y alcoholes superiores (Zhang *et al.*, 2023).

Sin embargo, la respuesta no es uniforme: la diversidad intraespecífica de *L. thermotolerans* implica una elevada variabilidad en su comportamiento fermentativo y en su impacto sobre parámetros clave como acidez, pH, intensidad cromática o perfil aromático. Esta heterogeneidad justifica la necesidad de una cuidadosa selección de cepas adaptadas a los objetivos enológicos y a las condiciones específicas de fermentación (Benito, 2018; Vicente *et al.*, 2025).

Otro aspecto destacable de *L. thermotolerans* es su termotolerancia. Aunque tradicionalmente se ha descrito que esta levadura crece hasta un máximo de 35° C, estudios recientes han demostrado que esta característica puede mejorarse mediante evolución adaptativa. En concreto, Zhou *et al.* (2019) lograron seleccionar cepas con termotolerancia incrementada, capaces de crecer a 37°C, tras aplicar una presión de selección basada en co-cultivos con bacterias. Además, estas cepas mostraron una mejora simultánea en su capacidad fermentativa, lo que representa una ventaja significativa en el contexto de calentamiento global y en fermentaciones a temperaturas más elevadas.

No obstante, debido a su limitada capacidad fermentativa, se recomienda su uso en co-fermentación secuencial con *S. cerevisiae* para asegurar la completa transformación de los azúcares del mosto (Benito, 2018; Vicente *et al.*, 2023). La eficacia de esta estrategia depende en gran medida del momento en que se introduce *S. cerevisiae* en el proceso. Aunque lo habitual es realizar la inoculación entre 24 y 72 horas después de la adición de *L. thermotolerans*, algunos estudios han demostrado que un retraso mayor puede favorecer una producción más elevada de ácido láctico, así como una mayor complejidad aromática (Su *et al.*, 2024). Esta consideración adquiere especial relevancia en el diseño experimental del presente trabajo, donde se aplicó una inoculación de *S. cerevisiae* tardía intencionada para maximizar la actividad acidificante de *L. thermotolerans*.

1.5. Interés aplicado en la vinificación de espumosos en el Penedés

La elaboración de vinos espumosos de calidad en la región del Penedés requiere preservar una acidez adecuada en los vinos base, un parámetro esencial tanto para el equilibrio organoléptico como para la estabilidad y longevidad del producto final. Sin

embargo, el aumento de las temperaturas y la disminución de la pluviometría en los últimos años en esta región han favorecido una maduración más rápida y un desequilibrio entre el grado alcohólico y la acidez natural de la uva, comprometiendo el perfil deseado en este tipo de elaboraciones.

El Penedés, situado entre el Mediterráneo y la cordillera prelitoral catalana, es una de las zonas vitivinícolas más antiguas y prestigiosas de Cataluña, con una fuerte tradición en la producción de espumosos mediante el método tradicional (Barcelona Corporate Travel, s.f.).

Impulsadas por una visión compartida de calidad, origen y sostenibilidad, varias bodegas emblemáticas del Penedés promovieron en los últimos años la marca Corpinnat, con el objetivo de revalorizar los espumosos de alta calidad elaborados íntegramente en esta región. Entre los requisitos de esta distinción figuran la cosecha manual, el uso de variedades autóctonas, la vinificación en la propiedad, la certificación ecológica del viñedo y crianzas mínimas superiores a las exigidas por otras denominaciones tradicionales (Corpinnat, s.f.).

En este contexto, la bodega Gramona, ubicada en Sant Sadurní d'Anoia y miembro fundador de Corpinnat, se ha consolidado como un referente internacional en la elaboración de espumosos de larga crianza con identidad territorial. Con una filosofía basada en la agricultura ecológica y biodinámica certificada, Gramona apuesta por prácticas agrícolas regenerativas y respetuosas con el entorno, como el pastoreo con animales, la cobertura vegetal espontánea, la gestión sostenible del agua y el uso de energía geotérmica (Gramona, s.f.)

A nivel enológico, la bodega aplica un enfoque de mínima intervención, limitando al máximo el uso de aditivos, evitando tratamientos agresivos y priorizando la expresión genuina del terruño. Esta sensibilidad hacia lo natural y lo sostenible ha motivado una búsqueda activa de soluciones biológicas que permitan mantener el frescor y la acidez del vino sin necesidad de recurrir a acidificaciones químicas.

En esta línea, el equipo técnico de Gramona ha mostrado un interés creciente por el uso de levaduras no-*Saccharomyces*, en particular *L. thermotolerans*, por su capacidad de producir ácido láctico durante la fermentación alcohólica. Este tipo de acidificación microbiológica ofrece una alternativa coherente con la filosofía de la bodega y responde a los retos que impone el cambio climático sobre la composición del mosto.

Este trabajo se inscribe en esa línea de investigación aplicada, desarrollada en colaboración con el equipo enológico de Gramona durante la vendimia de 2024.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad de diferentes cepas comerciales de *L. thermotolerans* para incrementar la acidez total en vinos blancos y espumosos elaborados bajo condiciones de estrés hídrico en el Penedés, con el fin de determinar su potencial como estrategia enológica frente al cambio climático.

2.2. Objetivos específicos

- Analizar la producción de ácido láctico de las distintas cepas comerciales seleccionadas.
- Comparar la evolución del perfil ácido y del pH durante la fermentación alcohólica dirigida por cada cepa.
- Identificar las cepas comerciales con mejor rendimiento y adaptabilidad en condiciones de estrés hídrico para recomendar su uso en prácticas enológicas adaptadas al cambio climático.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Cepas utilizadas en el estudio

En el presente estudio se emplearon cuatro combinaciones distintas de levaduras, incluyendo una fermentación con *S. cerevisiae* como control, y tres tratamientos con inoculación secuencial de *L. thermotolerans* + *S. cerevisiae*. La cepa de *S. cerevisiae* utilizada en todos los casos fue IOC 18-2007 (Institut Oenologique de Champagne; Champaña, Francia). Las cepas comerciales de *L. thermotolerans* evaluadas fueron las siguientes:

- Viniferm NS Chance (*L. thermotolerans*; Agrovin; Alcázar de San Juan, España)
- VIW Shield LT (*L. thermotolerans*; Vason Group; Verona, Italia)
- Levulia Alcomeno (*L. thermotolerans*; AEB Group; Brescia, Italia)

Con el fin de contextualizar las características enológicas de las tres cepas de *L. thermotolerans* empleadas en el ensayo, se presenta una tabla comparativa (Tabla 1) elaborada a partir de información recogida de sus respectivas fichas técnicas (Anexo 1).

Table 1. Tabla comparativa de las diferentes cepas comerciales de *L. thermotolerans* utilizadas en el ensayo.

Parámetro	Viniferm NS Chance, Agrovin	VIW Shield LT, Vason	Levulia Alcomeno, AEB
Dosis recomendada	20 g/hL	20 g/hL	30 g/hL
Temperatura de hidratación	35-40°C	25°C	25-30°C
Rehidratación	Añadir la levadura en 10 veces su peso en agua, esperar 10', agitar, esperar otros 10' e incorporar el mosto (procurar que no haya una diferencia >10°C entre la mezcla y el mosto).	Añadir la levadura en 10 veces su peso en agua, con 1-2% de azúcar, reposar 15', agitar, añadir 1:3 de mosto (evitar diferencias de >10°C). Añadir nutrientes.	Añadir la levadura en 10 veces su peso en agua, esperar 20', añadir mosto hasta equilibrar la temperatura e inocular.
Temperatura de fermentación	16-20°C	15-25°C	No especificada
Producción de ácido láctico	Hasta 6 g/L	No especificada	Hasta 5 g/L
Tolerancia al etanol	Hasta 4,5% vol	Hasta 10% vol	Hasta 7,2% vol
Incremento de acidez volátil	Baja	No especificada	Muy baja
Producción de glicerol	Aumenta	Aumenta	No indicada
Perfil aromático	Aporta complejidad y suavidad	Aporta frescura, plenitud y estructura	Aporta frescura y equilibrio en boca

3.2. Ensayo inicial

Inicialmente, se llevó a cabo una primera vinificación en condiciones reales de bodega, utilizando depósitos de 2000 L de capacidad. Las variedades empleadas fueron Sauvignon Blanc y Moscatel de Frontignan, destinadas a la elaboración de un vino blanco tranquilo, con el objetivo de aumentar la concentración de ácido láctico del vino y, en consecuencia, aumentar acidez y reducir el pH.

En este primer ensayo se utilizaron dos cepas comerciales de *L. thermotolerans* en combinación con *S. cerevisiae*, aplicando una estrategia de inoculación secuencial al séptimo día de fermentación. Los depósitos fueron codificados de la siguiente manera:

- Depósito 221: *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

- Depósito 223: *L. thermotolerans* (Viniferm NS Chance; Agrovin) + *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

- Depósito 225: *L. thermotolerans* (VIW Shield LT; Vason Group) + *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

A pesar de que se observó una cierta producción de ácido láctico, los valores obtenidos fueron considerablemente inferiores a los esperados según las especificaciones proporcionadas por los fabricantes y la literatura revisada. Debido a estos resultados, se decidió interrumpir el seguimiento analítico y no se realizó un análisis exhaustivo posterior.

Esta experiencia inicial sirvió, no obstante, para ajustar aspectos metodológicos como el control más homogéneo de la temperatura, la adición de nutrientes en momentos clave y la incorporación de una tercera cepa de *L. thermotolerans* (Levulia Alcomeno de AEB).

3.3. Segundo ensayo

En este caso, el mosto utilizado procedía de la variedad Parellada, una uva blanca autóctona de Cataluña frecuentemente empleada en la elaboración de vinos base para espumosos, conocida por su perfil aromático delicado y acidez moderada. Las características analíticas del mosto utilizado se analizaron tras el desfangado y se presentan en la Tabla 2.

De nuevo, el ensayo se llevó a cabo en condiciones reales de bodega, utilizando depósitos de acero inoxidable de 2000 L de capacidad cada uno. Se implementó un protocolo de fermentación secuencial, inoculando *S. cerevisiae* al séptimo día de fermentación.

Los depósitos fueron codificados de la siguiente manera:

- Depósito 221: *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

- Depósito 223: *L. thermotolerans* (Viniferm NS Chance; Agrovin) + *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

- Depósito 225: *L. thermotolerans* (VIW Shield LT; Vason Group) + *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

- Depósito 227: *L. thermotolerans* (Levulia Alcomeno; AEB Group) + *S. cerevisiae* (IOC 18-2007; IOC)

Table 2. Características analíticas del mosto de Parellada tras el desfangado.

Parámetro	Valor ¹
Densidad	1067,8
°Brix	16,5
pH	3,32
Acidez total (g/L ácido sulfúrico)	3,66
NFA (mg/L)	194
Ácido málico (g/L)	2,09
Ácido láctico (g/L)	0,00
SO ₂ libre (mg/L)	9
SO ₂ total (mg/L)	24
Temperatura (°C)	15,2
Turbidez (NTU)	5,22
Taninos (mg/L)	355

¹Los análisis del mosto inicial se realizaron una única vez sobre una muestra representativa tomada antes de repartir el volumen entre los cuatro depósitos.

3.4. Protocolo de fermentación

Las cepas de *L. thermotolerans* fueron inoculadas al inicio de fermentación alcohólica siguiendo las recomendaciones del fabricante en cuanto a dosis (25 g/hL), temperatura de hidratación y rehidratación con nutrientes específicos: Actimax Natura (Agrovin), X-PRO Verve (Vason) y Fermoplus Energy Glu 4.0 (AEB). Para el control (221) se utilizó Fermoplus Blanc (AEB) (Anexo 2).

Durante la fermentación, se controló la temperatura en todos los depósitos mediante camisas de frío, procurando mantenerla entre 16 y 18°C para favorecer una cinética adecuada y comparable entre ellos. Además, se realizó la adición de nutrientes en momentos determinados; 10 g/hL el día 4 y 20 g/hL el día 5 de fermentación, pero siempre de forma simultánea a los cuatro depósitos, con el fin de asegurar una nutrición homogénea y evitar sesgos en el desarrollo fermentativo de cada tratamiento.

En los depósitos 223, 225 y 227, la inoculación con *S. cerevisiae* se realizó el séptimo día de fermentación con el objetivo de favorecer una mayor producción de ácido láctico por parte de *L. thermotolerans*. Esta decisión estratégica buscaba maximizar el efecto acidificante de las levaduras no-*Saccharomyces* antes de la finalización de la fermentación con *S. cerevisiae*.

3.5. Seguimiento analítico

Durante el proceso fermentativo se realizó un seguimiento diario de los principales parámetros de interés enológico, incluyendo: densidad, pH, temperatura, ácido láctico,

ácido acético, acidez total, nitrógeno fácilmente asimilable (NFA), nitrógeno amínico y amoniacal. Todas las mediciones se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados y permitir su posterior análisis estadístico.

Los análisis de densidad y temperatura se realizaron mediante densímetro digital DMA 35 (Anton Paar; Graz, Austria), y termómetro digital TEMP 7 VIO PT100 (XS instruments; Módena, Italia), respectivamente.

Los ácidos orgánicos (ácido acético, ácido málico y ácido láctico), así como el NFA, nitrógeno amínico y amoniacal, y azúcares totales, se determinaron por espectrofotometría con un equipo automatizado Miura 200 (I.S.E S.r.l.; Roma, Italia), distribuido en España por TDI (Tecnología Difusión Ibérica; Gavà, Barcelona). Se emplearon kits enzimáticos comerciales compatibles con el equipo siguiendo las instrucciones del fabricante.

La acidez total se determinó mediante valoración ácido base con un titulador automático Flash (TDI; Gavà, Barcelona). El pH se determinó con pHmetro (Hanna Instruments; Woonsocket, Rhode Island, EE.UU.) calibrado diariamente. El grado alcohólico final se determinó con un destilador de alcohol modelo Macrodest (GAB system; Barcelona, España).

El contenido en sulfuroso libre y total se determinó mediante el titulador ENO 20 PLUS/ECO (TDI; Gavà, Barcelona), basado en el método de Ripper.

Antes de la determinación analítica, las muestras fueron sometidas a una doble filtración; con papel de filtro de celulosa para eliminar los sólidos más gruesos en suspensión y, posteriormente, una filtración más fina con filtros de membrana acoplados a un sistema de filtración al vacío con kitasatos, para asegurar la ausencia de partículas finas que pudieran intervenir en la precisión de los análisis posteriores.

Además del seguimiento instrumental, en algunas ocasiones se realizaron observaciones microscópicas para evaluar el estado poblacional de las levaduras durante la fermentación. Aunque estos análisis no se efectuaron de manera sistemática, aportaron información complementaria sobre la evolución microbiológica del proceso.

3.6. Tratamiento de los datos

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El análisis se aplicó sobre los valores medios obtenidos por triplicado para cada parámetro, y considerando un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$). Para

identificar qué tratamientos presentaban diferencias significativas entre sí, se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Además, se calcularon promedios y desviaciones estándar, y los resultados se representaron gráficamente utilizando Microsoft Excel.

4. RESULTADOS

4.1. Ensayo inicial

La evolución de la densidad mostró una cinética fermentativa activa en los tres depósitos desde el inicio, pero con diferencias claras en el ritmo de fermentación. El depósito 221 (control) presentó una disminución más lenta en comparación con los otros dos, mientras que el depósito 225 mostró una caída más pronunciada. El depósito 223 presentó una cinética intermedia. Estas diferencias reflejan un comportamiento fermentativo desigual entre las cepas evaluadas.

En cuanto a la temperatura, se observaron variaciones notables entre las cepas, siendo especialmente destacables los picos bajos de temperatura registrados en el depósito 221 (Figura 2). Esta baja temperatura podría justificar la lentitud en la fermentación de la cepa *S. cerevisiae*.

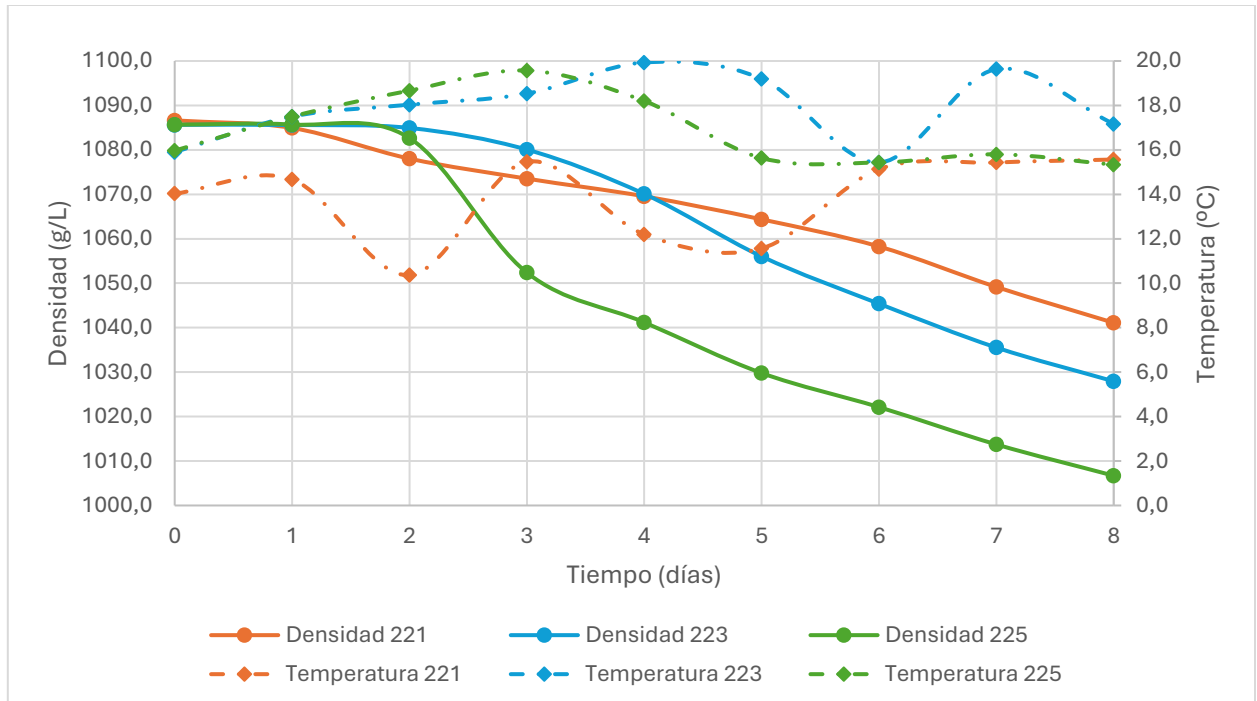


Figure 2. Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica en el primer ensayo de los depósitos 221 (*S. cerevisiae*), 223 (*Viniferm NS Chance* + *S. cerevisiae*) y 225 (*VIW Shield LT* + *S. cerevisiae*).

A pesar de la actividad fermentativa aparente, los niveles de ácido láctico alcanzados antes de inocular *S. cerevisiae* fueron bajos en los tres depósitos, tal como se observa en la Figura 3. Únicamente el depósito 223 presentó una producción significativa, con un incremento notable a partir del tercer día, llegando a 1,35 g/L de ácido láctico, mientras que los depósitos 221 y 225 mantuvieron concentraciones prácticamente constantes y muy bajas durante todo el seguimiento.

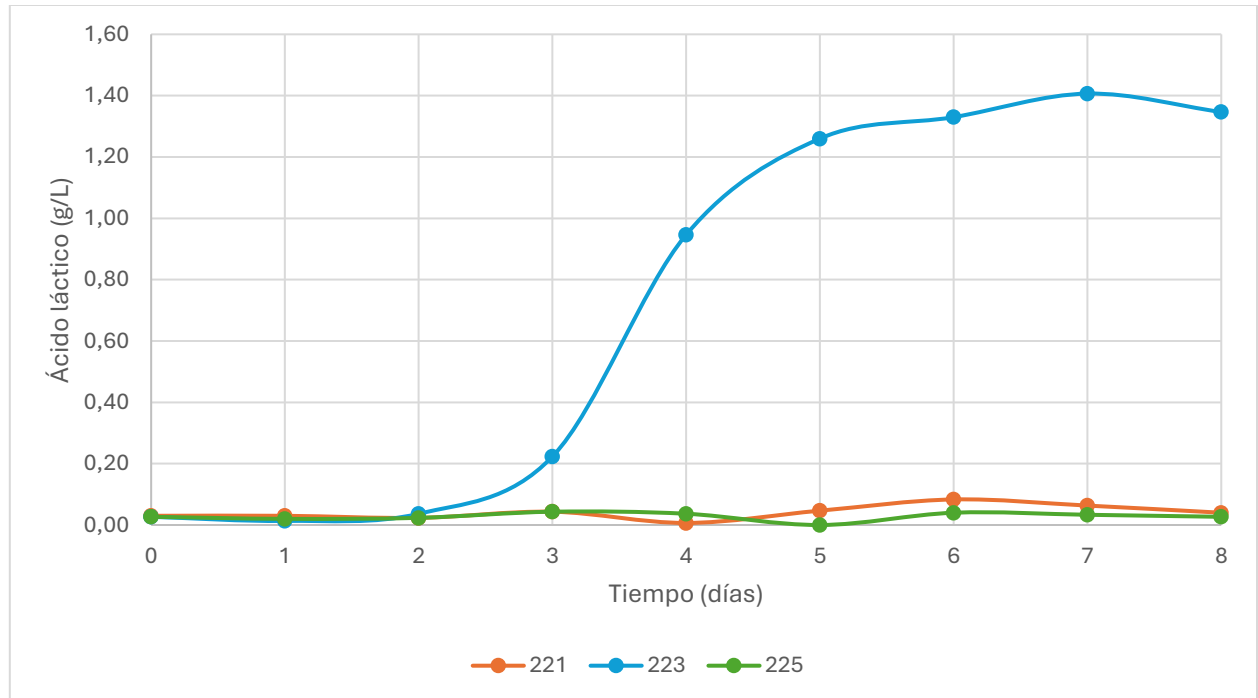


Figure 3. Evolución del ácido láctico durante la fermentación alcohólica en el primer ensayo de los depósitos 221 (*S. cerevisiae*), 223 (Viniferm NS Chance + *S. cerevisiae*) y 225 (VIW Shield LT + *S. cerevisiae*).

4.2. Segundo ensayo

4.2.1. Evolución de la fermentación alcohólica

El seguimiento de la densidad a lo largo de los primeros siete días de fermentación permitió observar claras diferencias entre el comportamiento fermentativo de los depósitos inoculados únicamente con *L. thermotolerans* y el depósito control, en el que se inoculó *S. cerevisiae* desde el inicio. Como se aprecia en la Figura 4, el depósito 221 (control) mostró una disminución rápida y sostenida de la densidad, pasando de 1066 a 1008 entre el primer y el séptimo día, lo que indica una fermentación activa desde las primeras etapas.

En cambio, en los depósitos 223, 225 y 227, inoculados inicialmente con diferentes cepas comerciales de *L. thermotolerans*, no se observa descenso de la densidad en los dos primeros días tras la inoculación, y es a partir del tercer día cuando se aprecia una disminución gradual, hasta aproximadamente 1020, cuando se inoculó *S. cerevisiae*.

Tras la inoculación de *S. cerevisiae*, los depósitos 223 y 227 mostraron una ralentización transitoria en la caída de la densidad, seguida de una recuperación del ritmo fermentativo a partir del día 9. Por el contrario, el depósito 225 mantuvo una disminución

continua y progresiva de la densidad desde la inoculación de *S. cerevisiae*, sin interrupciones aparentes.

La temperatura se mantuvo más homogénea entre depósitos, sobre todo entre cepas de *L. thermotolerans* en comparación con el ensayo inicial, con temperaturas alrededor de los 18°C. cabe destacar que la fermentación control presentó, en general, temperaturas algo más bajas, alrededor de 16-17°C. En todos los casos, la fermentación se completó correctamente, con densidades finales similares a las del control.

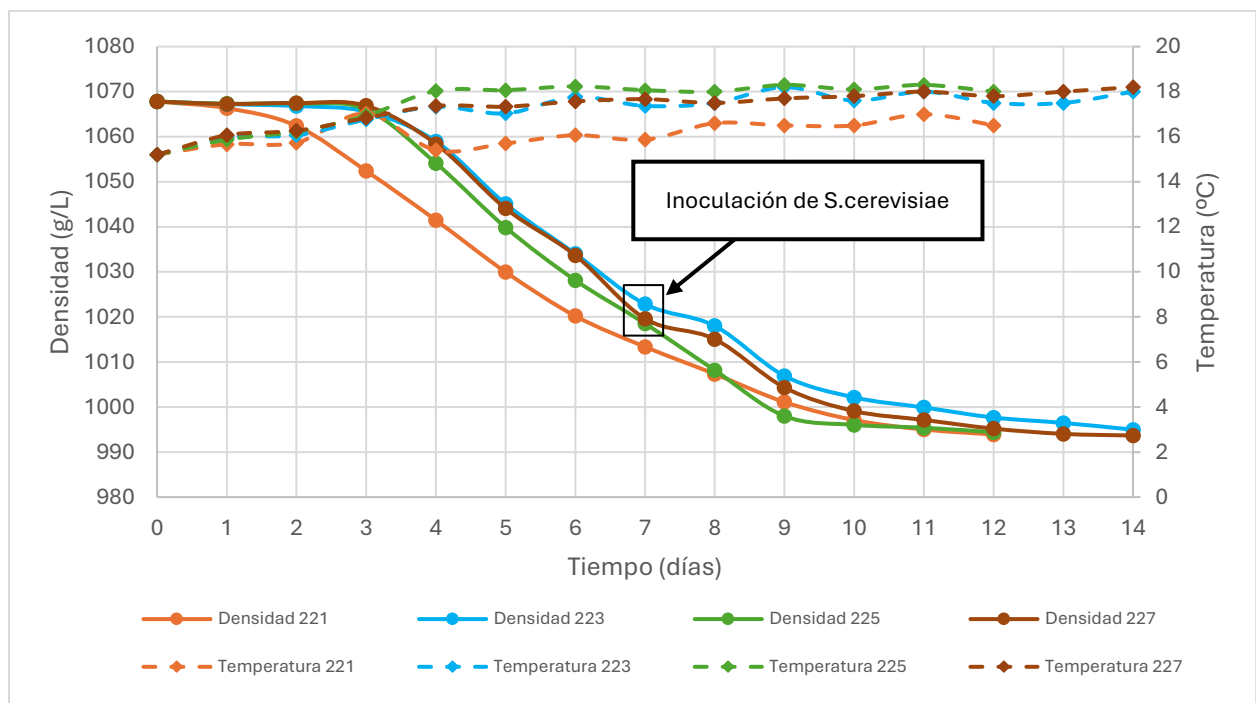


Figure 4. Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (*S. cerevisiae*), 223 (*Viniferm NS Chance + S. cerevisiae*), 225 (*VIW Shield LT + S. cerevisiae*) y 227 (*Levulia Alcomeno + S. cerevisiae*).

4.2.2. Evolución del ácido láctico

El seguimiento del contenido de ácido láctico durante los siete primeros días de fermentación mostró diferencias sustanciales entre los depósitos, dependiendo de la cepa de levadura utilizada. Como puede observarse en la Figura 5, el depósito control, fermentado únicamente con *S. cerevisiae*, presentó concentraciones muy bajas y constantes de ácido láctico.

En contraste, los depósitos inoculados con *L. thermotolerans* mostraron una producción diferenciada de ácido láctico. El depósito 223, en el que se utilizó la cepa comercial de Agrovin (Viniferm NS Chance), alcanzó una concentración final de 1,30 g/L al séptimo día, mostrando un incremento progresivo a partir del tercer día de fermentación. Esta tendencia sugiere una actividad acidificante sostenida y efectiva de la cepa utilizada. En cambio, los depósitos 225 y 227, inoculados con las cepas de Vason (VIW Shield LT) y AEB (Levulia Alcomeno), respectivamente, presentaron una evolución prácticamente plana, manteniéndose alrededor de los 0,05 g/L a lo largo de todo el periodo, mostrando un comportamiento muy similar a *S. cerevisiae*.

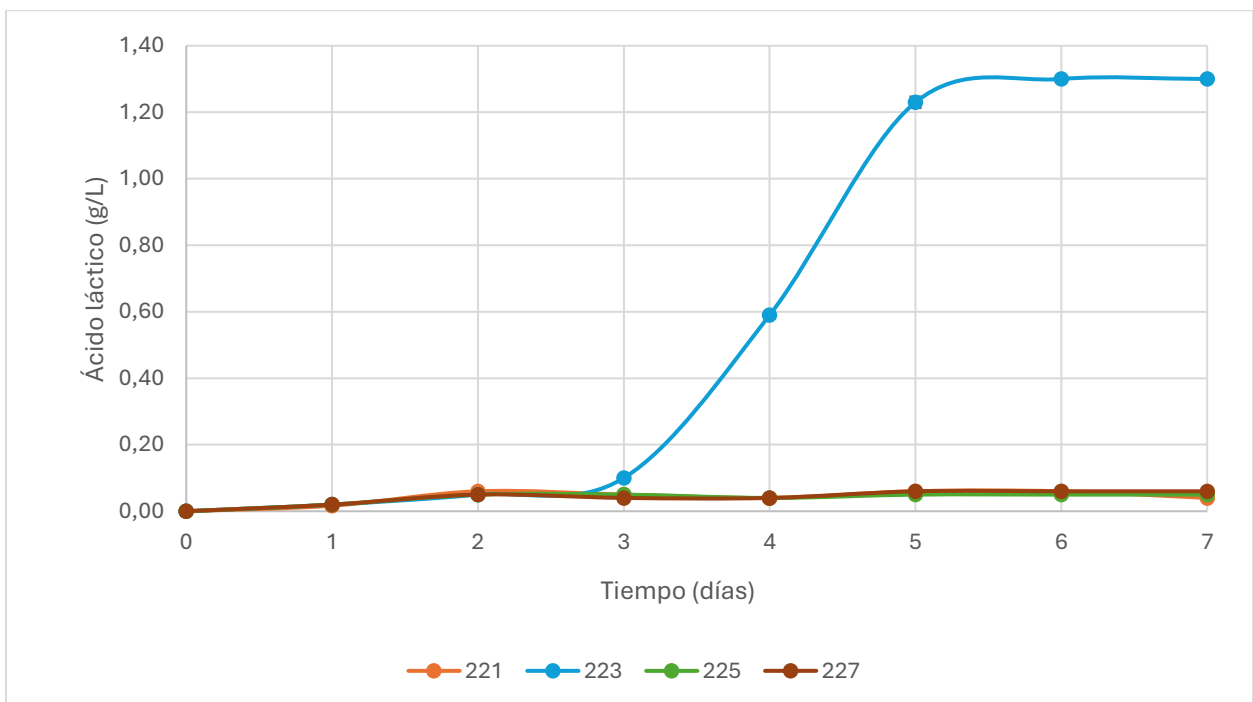


Figure 5. Evolución del contenido en ácido láctico durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (*S. cerevisiae*), 223 (Viniferm NS Chance + *S. cerevisiae*), 225 (VIW Shield LT + *S. cerevisiae*) y 227 (Levulia Alcomeno + *S. cerevisiae*).

La diferencia observada en el contenido de ácido láctico el tercer día fue evidente: la cepa de Agrovin produjo valores más de 10 veces superiores al resto de levaduras. Debido a la ausencia de variabilidad entre réplicas analíticas, no se pudo aplicar ANOVA de forma válida, aunque los resultados fueron claros y consistentes (Tabla 3).

Table 3. Concentración media de ácido láctico el tercer día de fermentación alcohólica

Parámetro	221	223	225	227
Ácido láctico (g/L)	0,04 ± 0,00	0,59 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00

Aunque los valores alcanzados de ácido láctico en este ensayo son significativos, se sitúan por debajo de los máximos teóricos descritos por los proveedores comerciales, que indican producciones de hasta 6 g/L. Este aspecto se analiza con más detalle en el apartado de discusión.

4.2.3. Evolución de la acidez total

Durante los primeros días de fermentación, se observa un aumento de la acidez en el depósito 223, que destaca por un ascenso más marcado a partir del tercer día de fermentación, mientras que las demás cepas aumentan gradualmente y de forma muy similar, debido a la producción normal de ácidos durante la fermentación alcohólica (Figura 6).

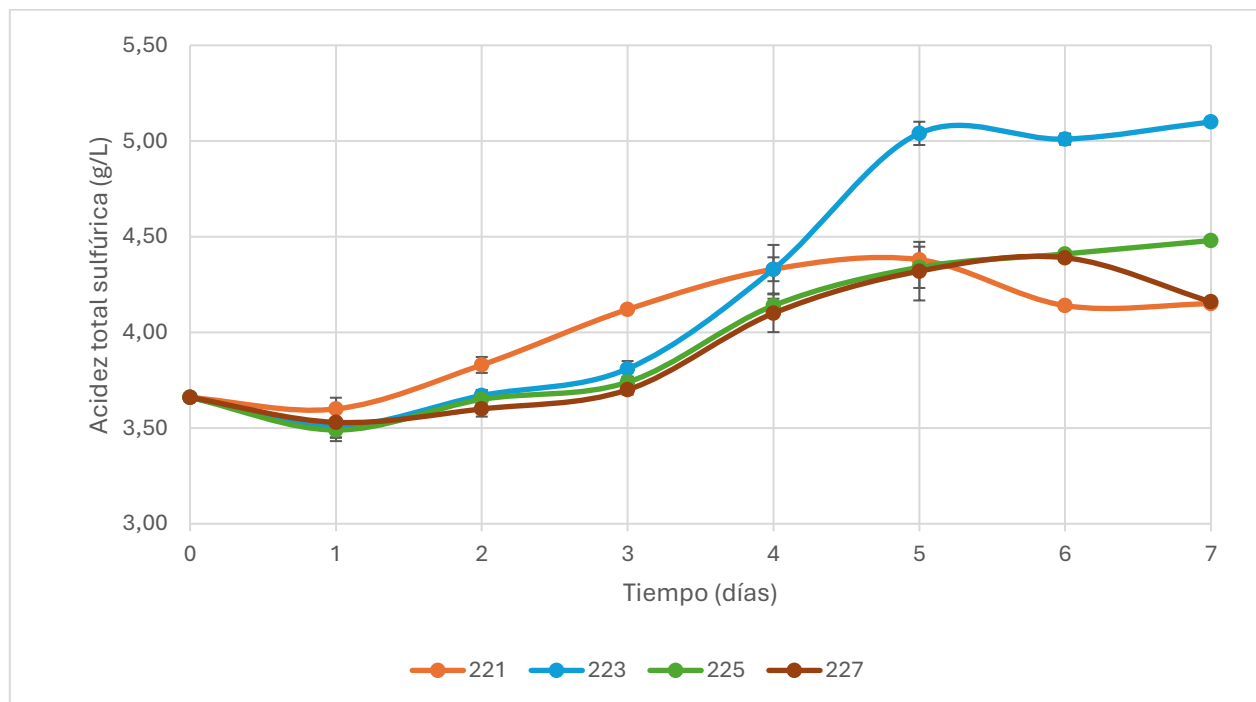


Figure 6. Evolución de la acidez total durante la fermentación alcohólica de los depósitos 221 (*S. cerevisiae*), 223 (Viniferm NS Chance + *S. cerevisiae*), 225 (VIW Shield LT + *S. cerevisiae*) y 227 (*Levulia Alcomeno* + *S. cerevisiae*).

4.2.4. Características químicas finales de los vinos

Al finalizar la fermentación alcohólica, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en diversos parámetros químicos, en especial aquellos relacionados con la acidez y los compuestos derivados de la actividad fermentativa (Tabla 4). Destaca el tratamiento con Viniferm NS Chance (Agrovin), que presentó la acidez total y la concentración de ácido láctico más elevadas, así como un grado alcohólico significativamente menor, lo que sugiere una mayor desviación metabólica hacia rutas alternativas a la producción de etanol. También se observaron diferencias significativas en el ácido acético, los azúcares residuales, el contenido en dióxido de azufre (libre y total) y el ácido málico.

Por el contrario, no se detectaron diferencias significativas en el pH final de los vinos, cuyos valores se mantuvieron en un rango similar entre todos los tratamientos (Anexo 3).

Table 4. Resultados de los parámetros analíticos al terminar la fermentación alcohólica.

Parámetro	<i>S. cerevisiae</i> (IOC 18-2007)	<i>L. thermotolerans</i> (Viniferm NS Chance) + <i>S. cerevisiae</i>	<i>L. thermotolerans</i> (VIW Shield LT) + <i>S. cerevisiae</i>	<i>L. thermotolerans</i> (Levulia Alcomeno) + <i>S. cerevisiae</i>
Acidez total sulfúrica (g/L)	3,86 ± 0,08 ^a	4,90 ± 0,10 ^b	4,36 ± 0,11 ^c	4,34 ± 0,11 ^c
Ácido acético (g/L)	0,057 ± 0,006 ^a	0,107 ± 0,008 ^b	0,063 ± 0,010 ^a	0,067 ± 0,012 ^a
Azúcares totales (g/L)	0,21 ± 0,03 ^a	0,68 ± 0,03 ^b	0,23 ± 0,03 ^a	0,15 ± 0,04 ^c
Grado alcohólico (% vol)	9,83 ± 0,06 ^a	9,67 ± 0,08 ^b	9,77 ± 0,10 ^a	9,83 ± 0,12 ^a
pH	3,12 ± 0,01 ^a	3,12 ± 0,02 ^a	3,13 ± 0,02 ^a	3,13 ± 0,02 ^a
SO ₂ libre (mg/L)	21 ± 1 ^a	11 ± 2 ^b	13 ± 2 ^b	10 ± 2 ^c
SO ₂ total (mg/L)	50 ± 2 ^a	44 ± 2 ^b	41 ± 2 ^c	40 ± 3 ^c
Ácido málico (g/L)	1,94 ± 0,03 ^a	1,83 ± 0,04 ^b	1,87 ± 0,04 ^c	1,88 ± 0,04 ^c
Ácido láctico (g/L)	0,073 ± 0,006 ^a	1,30 ± 0,02 ^b	0,08 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,02 ^a

Las diferentes letras en una misma línea indican la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras.

A continuación, se presentan y comentan en detalle los parámetros que mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

En el caso de la **acidez total**, todos los depósitos fermentados con *L. thermotolerans* presentaron un incremento significativo respecto al control (depósito 221, fermentado únicamente con *S. cerevisiae*), lo que confirma el efecto acidificante de esta levadura. El aumento fue especialmente notable en el depósito 223, correspondiente a la cepa comercial de Agrovín que alcanzó el valor más elevado (4,90 g/L). Las cepas de Vason (225) y AEB (227) también incrementaron la acidez en comparación con el control, aunque en menor magnitud (Figura 7).

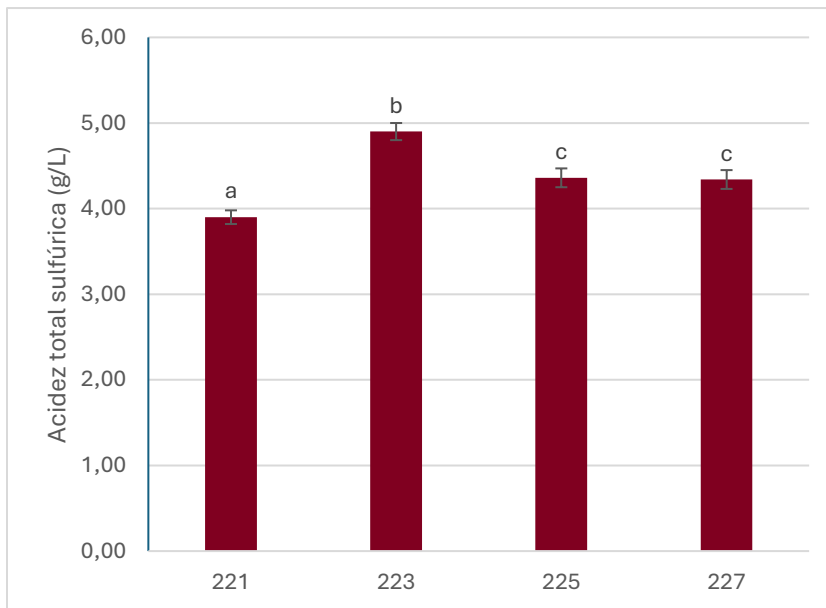


Figure 7. Acidez total sulfúrica final.

En cuanto al **ácido láctico**, únicamente el depósito 223, fermentado con la cepa de *L. thermotolerans* de Agrovín, presentó una acumulación significativa (1,30 g/L), muy por encima del resto de tratamientos. Los depósitos 225 y 227, así como el control, mostraron concentraciones muy bajas y estadísticamente similares, en torno a 0,08 g/L. Este resultado indica que, aunque todas las cepas se inocularon bajo las mismas condiciones, solo la de Agrovín fue capaz de producir ácido láctico en cantidades relevantes.

El **grado alcohólico** mostró una diferencia significativa únicamente en el depósito 223, que presentó un valor ligeramente inferior al resto de vinificaciones, los cuales no difirieron estadísticamente entre sí (Figura 8). Esta reducción coincide con la cepa de *L. thermotolerans* que generó mayor cantidad de ácido láctico, lo que sugiere una desviación parcial del metabolismo de la levadura hacia rutas secundarias.

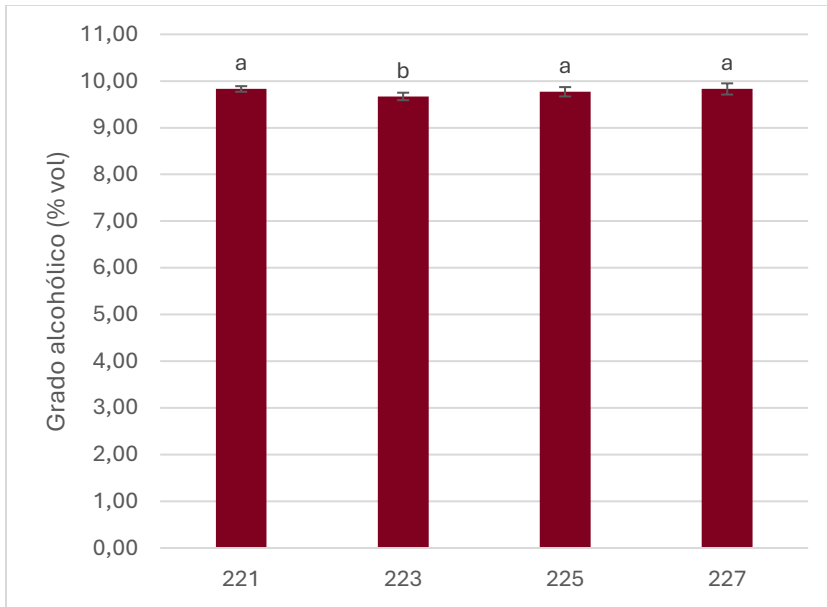


Figure 8. Grado alcohólico adquirido

La concentración de **ácido acético** fue significativamente más alta en el depósito 223 (0,107 g/L), coincidiendo con la fermentación que presentó mayor producción de ácido láctico. En los demás depósitos no se observaron diferencias significativas, manteniéndose los niveles en torno a 0,06-0,07 g/L, dentro de los márgenes normales para fermentaciones bien conducidas (Figura 9).

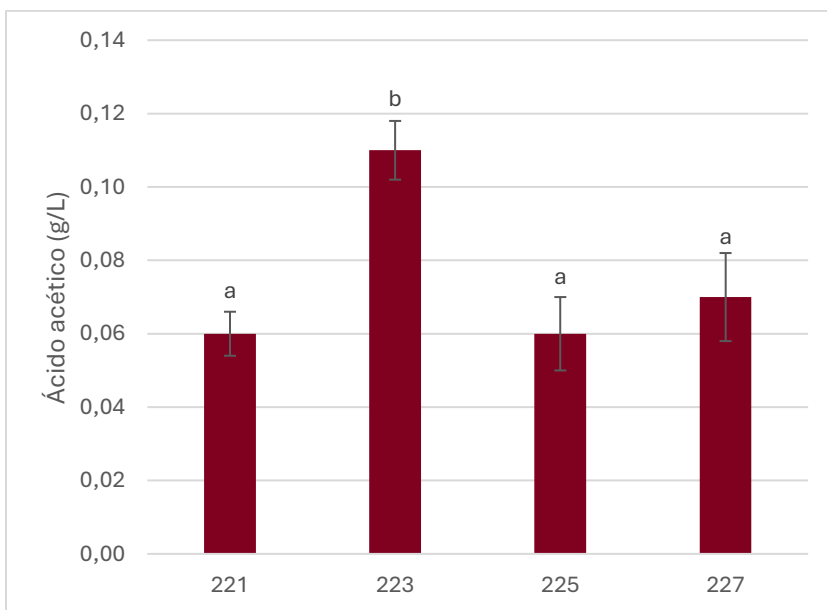


Figure 9. Contenido en ácido acético final.

Todas las cepas terminaron los azúcares del mosto durante la fermentación alcohólica, dejando los niveles de **azúcares residuales** por debajo de los 2 g/L. Aun así, el depósito 223 presentó el valor más alto (0,68 g/L), significativamente superior al resto de depósitos, cuyos valores se situaron entre 0,15 y 0,25 g/L (Figura 10).

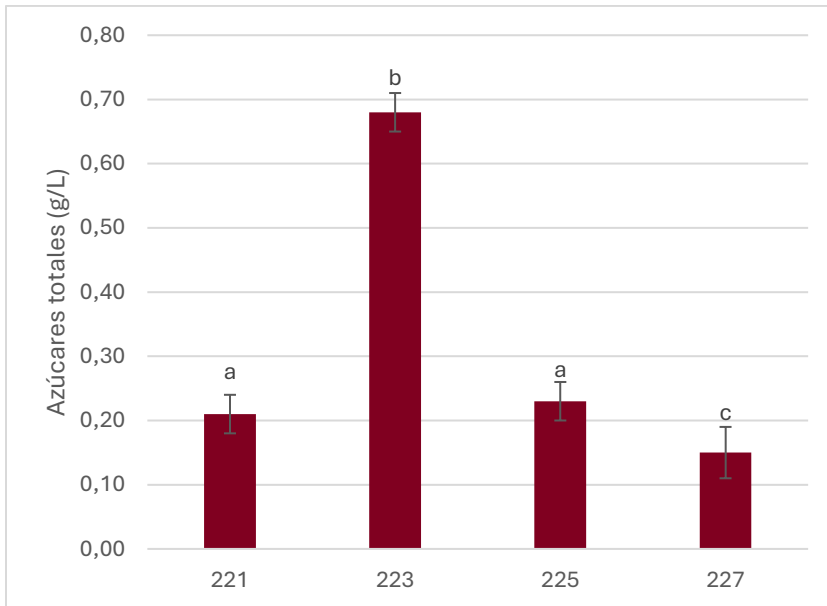


Figure 10. Contenido en azúcares residuales final.

El contenido de **ácido málico** disminuyó ligeramente respecto al valor inicial del mosto, situándose entre 1,83 y 1,94 g/L al finalizar la fermentación alcohólica. Aunque el depósito de 223 mostró una concentración significativamente menor, la diferencia es pequeña y no parece seguir un patrón relacionado con la levadura utilizada (Figura 11).

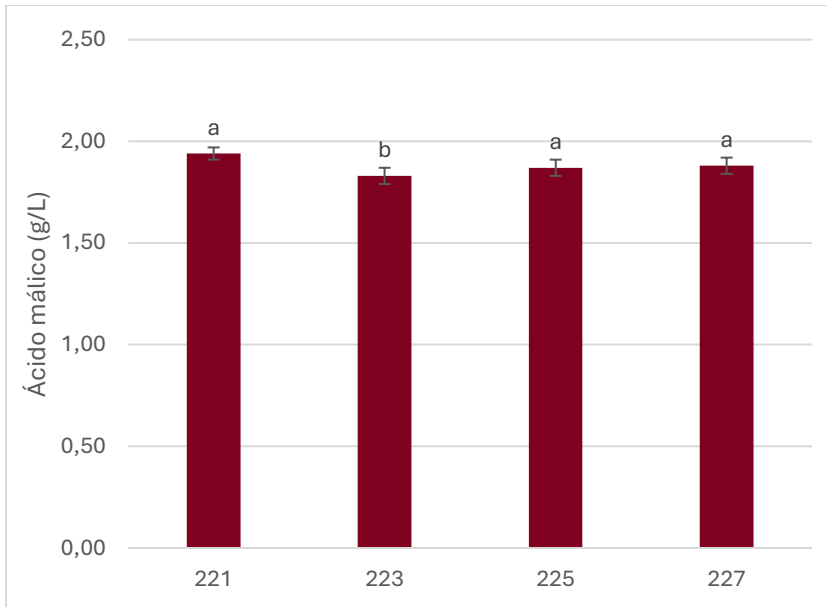


Figure 11. Contenido en ácido málico final.

5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el primer ensayo evidenciaron diferencias significativas en la cinética fermentativa de las cepas ensayadas, destacando especialmente el depósito 225 por su fermentación más activa, y el depósito 223 por presentar una producción notable de ácido láctico desde el tercer día. A pesar de este comportamiento prometedor en el depósito 223, los niveles totales de ácido láctico alcanzados fueron considerablemente inferiores a lo esperado, motivo por el cual se decidió realizar un segundo ensayo.

La repetición del ensayo se fundamentó en la necesidad de confirmar estos resultados iniciales y mejorar las condiciones experimentales, con el objetivo de favorecer una mayor producción de ácido láctico y lograr una acidificación más efectiva del vino. Para ello, se modificaron algunos parámetros clave del protocolo, como una temperatura más homogénea y estable entre los depósitos, y se trabajó con una cepa adicional de *L. thermotolerans*.

La comparación de ambos ensayos proporciona una perspectiva más sólida sobre el comportamiento de las cepas bajo distintas condiciones fermentativas, permitiendo verificar la reproducibilidad y consistencia en su capacidad acidificante. Los resultados obtenidos en el segundo ensayo, descritos a continuación, permiten valorar el impacto

de estas modificaciones y analizar si se logró mejorar el rendimiento en términos de producción de ácido láctico y acidez total.

Durante los primeros siete días de fermentación, antes de la inoculación de *S. cerevisiae*, se observa en la gráfica una fase inicial de latencia común en las tres cepas de *L. thermotolerans*. En los primeros dos o tres días apenas se aprecia disminución de la densidad, lo que sugiere una lenta adaptación al medio fermentativo, posiblemente condicionada por la baja temperatura del mosto en el momento de la inoculación. Esta fase de inactividad inicial es coherente con lo descrito en la literatura para levaduras no-*Saccharomyces*, que suelen necesitar más tiempo para aclimatarse y comenzar su actividad metabólica en condiciones enológicas reales (Vicente *et al.*, 2022).

A partir del tercer día, la fermentación se activa gradualmente en los tres depósitos, sin que se aprecien grandes diferencias entre cepas en cuanto a velocidad de fermentación. Esto sugiere que, en este ensayo, el comportamiento cinético de las tres *L. thermotolerans* fue comparable durante el periodo inicial de fermentación.

El hecho de mantener a *L. thermotolerans* como única especie durante siete días, aunque poco habitual en condiciones comerciales, responde a una estrategia deliberada orientada a maximizar la producción de ácido láctico antes de la inoculación de *S. cerevisiae*. Esta práctica puede suponer un riesgo si *S. cerevisiae* no consigue implantarse adecuadamente, pero también puede ofrecer un mayor impacto en la acidificación del vino si se controla adecuadamente el proceso (Su *et al.*, 2024).

Tras la inoculación de *S. cerevisiae* al séptimo día, la fermentación continuó sin interrupciones aparentes. No obstante, se aprecia una leve ralentización en la disminución de la densidad en los depósitos 223 y 227 durante los días inmediatamente posteriores a la inoculación. Esta diferencia podría estar relacionada con un posible retraso en la implantación de *S. cerevisiae*. Como señalan estudios previos como Gobbi *et al.* (2013) y Benito (2018), la introducción tardía de *S. cerevisiae* en un medio ya colonizado por *L. thermotolerans* puede condicionar su implantación, aunque finalmente tiende a dominar el proceso debido a su mayor tolerancia al etanol y su eficiencia fermentativa. Por el contrario, en el depósito 227 no se observa ralentización, y la cinética de fermentación sigue una tendencia lineal constante. Este comportamiento podría deberse a contaminación cruzada con *S. cerevisiae* en el medio o que *L. thermotolerans* no logró imponerse sobre las levaduras indígenas de la uva, lo que habría evitado una fase de adaptación tras la inoculación formal.

Sin embargo, estas similitudes en la cinética de las tres cepas *L. thermotolerans* no se tradujeron en un comportamiento homogéneo en cuanto a producción de ácido láctico,

uno de los principales objetivos enológicos del uso de esta especie. La cepa de Agrovin (depósito 223) fue la única que produjo una concentración apreciable de ácido láctico (1,30 g/L), mientras que las cepas de Vason y AEB mostraron valores prácticamente residuales, similares al control fermentado únicamente con *S. cerevisiae*. Esta diferencia, claramente marcada, pone de manifiesto la gran variabilidad intraespecífica que existe entre cepas comerciales de *L. thermotolerans* en cuanto a su metabolismo acidificante (Vicente et al., 2023).

En el presente ensayo, la producción de ácido láctico por parte de la cepa de Agrovin mostró un aumento claro a partir del tercer día de fermentación, alcanzando un valor visiblemente superior al del resto de depósitos en el cuarto día. Este comportamiento coincide con lo descrito por Vaquero et al., (2021), quienes afirman que *L. thermotolerans* produce su mayor cantidad de ácido láctico entre los días 4 y 6 de fermentación, dependiendo de su competitividad frente a otras levaduras. Este momento de máxima actividad metabólica puede resultar clave para su eficacia como herramienta microbiológica.

En fermentaciones secuenciales realizadas en laboratorio, algunos autores han reportado concentraciones de ácido láctico de hasta 16,8 g/L (Morata et al., 2018), lo que demuestra el potencial acidificante de ciertas cepas cuando se dan condiciones óptimas. No obstante, estos valores rara vez se alcanzan a escala de bodega. Por ejemplo, en el estudio de Zhang et al., (2023), donde se comparó la fermentación con *L. thermotolerans* en ambas escalas, se observó que en condiciones piloto la producción de ácido láctico fue considerablemente más baja que en laboratorio. Esta diferencia se atribuyó a factores como la menor competitividad de *L. thermotolerans* frente a la microbiota nativa de la propia uva, las condiciones de estrés asociadas al proceso real (temperatura, oxigenación, disponibilidad de nutrientes) y la dificultad para mantener el dominio efectivo de la levadura durante los primeros días.

En este ensayo, todas las cepas fueron inoculadas según las recomendaciones del fabricante y tuvieron el mismo tiempo de actuación antes de incorporar *S. cerevisiae*. Por tanto, las diferencias observadas en la producción de ácido láctico parecen estar principalmente asociadas a la cepa utilizada, más que al protocolo fermentativo. Mientras Agrovin mostró un comportamiento acidificante relevante, las otras dos cepas no ofrecieron mejoras significativas respecto al control, lo que cuestiona su idoneidad como herramienta microbiológica para corregir la acidez en vinos elaborados en condiciones reales de bodega.

Aunque el ácido láctico fue el principal parámetro evaluado para caracterizar la capacidad acidificante de *L. thermotolerans*, los resultados también mostraron

diferencias significativas en la acidez total entre los depósitos. Los tres vinos elaborados con *L. thermotolerans*, independientemente de la cepa utilizada, presentaron valores superiores al control fermentado únicamente por *S. cerevisiae*. El incremento fue más marcado en el caso de la cepa de Agrovin, pero también se observaron aumentos significativos en los vinos de Vason y AEB, en comparación con el valor del control. Estos resultados indican que, a pesar de las diferencias en la producción de ácido láctico, todas las cepas evaluadas contribuyeron a mejorar la acidez total del vino respecto al testigo.

Esto sugiere que la acidificación observada no se debe únicamente al ácido láctico, sino que podrían estar implicados otros ácidos orgánicos generados durante la fermentación. Diversos estudios han señalado que ciertas cepas de *L. thermotolerans* pueden producir, en menor proporción, otros ácidos como el succínico (Izquierdo-Cañas *et al.*, 2025; Vicente *et al.*, 2022). La magnitud de este efecto depende tanto del perfil metabólico de la cepa como de las condiciones de fermentación, incluyendo la disponibilidad de nitrógeno, el pH inicial del mosto y el momento de inoculación de *S. cerevisiae*. En este estudio no se midieron individualmente todos los ácidos orgánicos presentes, por lo que no es posible atribuir de forma específica el aumento de la acidez a compuestos concretos.

En cuanto a la disminución del ácido málico, esta fue visible en todos los depósitos, con pequeñas diferencias entre ellos. Esto podría estar relacionado con la propia actividad metabólica de las levaduras. Algunos estudios han descrito que ciertas cepas pueden consumir pequeñas cantidades de ácido málico durante la fermentación (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006), aunque no se trata de un rasgo especialmente relevante en comparación con otras especies como *Schizosaccharomyces pombe*, que son conocidas por su capacidad descarboxilativa (Vicente *et al.*, 2022). En cualquier caso, el consumo de málico observado fue limitado y no parece haber tenido un impacto determinante sobre el perfil ácido final de los vinos.

El contenido de ácido acético fue ligeramente superior en el depósito con la cepa de Agrovin, mientras que las otras dos cepas de *L. thermotolerans* no presentaron diferencias significativas respecto al control. Aunque el valor más alto se mantiene muy por debajo del umbral sensorial (en torno a 0,3 g/L), destaca en comparación con el resto. Este aumento podría estar relacionado con una mayor actividad fermentativa o con una menor tolerancia al etanol en etapas avanzadas de la fermentación, lo que podría favorecer la formación de ácido acético en determinadas cepas. Tal como señalan Vicente *et al.* (2022), *L. thermotolerans* muestra un comportamiento variable

en cuanto a producción de acidez volátil, dependiendo de la cepa y de las condiciones del medio.

A pesar de las diferencias observadas en ácido láctico, acidez total y ácido acético, los valores de pH fueron muy similares entre las cepas, lo cual podría atribuirse al efecto tampón del mosto y a la interacción entre los distintos ácidos presentes, que atenúan el descenso del pH a pesar del incremento de la acidez total (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Para finalizar, cabe comentar que, curiosamente, los niveles de ácido láctico obtenidos en ambos ensayos se situaron en valores muy similares, lo que, pese a diferencias varietales y de condiciones fermentativas, podría interpretarse como un indicio de cierta robustez en el comportamiento de las cepas utilizadas.

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La acidificación microbiológica con *L. thermotolerans* no resultó eficaz en las condiciones evaluadas, a pesar de tratarse de una estrategia ampliamente documentada en la literatura científica. Aunque se observó un ligero incremento de acidez respecto al control, ninguna de las tres cepas comerciales ensayadas fue capaz de alcanzar los niveles esperados de ácido láctico ni de reducir significativamente el pH del vino, lo que limita su utilidad práctica en el contexto de vinificaciones reales.

Estos resultados contrastan con los descritos en otros estudios realizados en condiciones controladas, donde se reportan producciones más elevadas de ácido láctico y efectos más marcados sobre la acidez total y el grado alcohólico. Esta divergencia refuerza la idea de que el rendimiento de *L. thermotolerans* depende de múltiples factores, entre ellos la cepa utilizada, las condiciones fermentativas, la composición del mosto o el momento de la inoculación de *S. cerevisiae*.

De cara a futuros trabajos, sería recomendable ampliar el número de cepas ensayadas y evaluar su comportamiento bajo condiciones homogéneas y controladas, así como realizar un seguimiento microbiológico que permita verificar la implantación efectiva de *L. thermotolerans*. También se sugiere estudiar la influencia de la adición de nutrientes, analizar más parámetros fermentativos, y completar los ensayos con un análisis sensorial de los vinos obtenidos, a fin de valorar el impacto global de esta estrategia enológica.

7. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora, María Jesús Torija Martínez, por orientarme y apoyarme, por su paciencia, dedicación y por guiarme con criterio y exigencia durante todo el proceso.

A la bodega Gramona, por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad de realizar este proyecto en un entorno profesional tan inspirador. Gracias en especial a Jaume, Roc y David, por su acompañamiento, sus enseñanzas y su confianza.

También quiero dar las gracias al equipo de laboratorio por su ayuda en los análisis y a todo el personal que, de una forma u otra, colaboró en el seguimiento del ensayo.

Por último, a mi familia y amigos que me han escuchado, apoyado y animado durante estos años de carrera.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barcelona Corporate Travel. (s.f.). *Penedès y sus bodegas: una de las zonas vitivinícolas más importantes de Europa, entre Mediterráneo y la cordillera prelitoral*. Recuperado el 16 de junio de 2025, de <https://barcelonacorporatetravel.com/penedes-y-sus-bodegas/>
2. Benito S. (2018). The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on winemaking. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(16), 6775–6790. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9117-z>
3. Corpinnat. (s.f.). *Sitio web oficial*. Recuperado el 16 de junio de 2025, de <https://corpinnat.com>
4. Gramona. (s.f.). *Sitio web oficial*. Recuperado el 16 de junio de 2025, de <https://www.gramona.com>
5. Hranilovic, A., Bely, M., Masneuf-Pomarede, I., Jiranek, V., & Albertin, W. (2017). The evolution of *Lachancea thermotolerans* is driven by geographical determination, anthropisation and flux between different ecosystems. *PloS one*, 12(9), e0184652. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184652>
6. Hranilovic, A., Gambetta, J. M., Schmidtke, L., Boss, P. K., Grbin, P. R., Masneuf-Pomarede, I., Bely, M., Albertin, W., & Jiranek, V. (2018). Oenological traits of *Lachancea thermotolerans* show signs of domestication and allopatric differentiation. *Scientific reports*, 8(1), 14812. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33105-7>
7. IPCC. (2021). *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers*. Intergovernmental Panel on Climate Change. https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_SPM_final.pdf
8. Izquierdo-Cañas, P. M., Del Fresno, J. M., Malfeito-Ferreira, M., Mena-Morales, A., García-Romero, E., Heras, J. M., Loira, I., González, C., & Morata, A. (2025). Wine bioacidification: Fermenting Airén grape juices with *Lachancea thermotolerans* and *Metschnikovia pulcherrima* followed by sequential *Saccharomyces cerevisiae* inoculation. *International journal of food microbiology*, 427, 110977. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110977>
9. Keller, M. (2020). *The science of grapevines: Anatomy and physiology* (3rd ed.). Academic Press.
10. Keng, A., Symoneaux, R., Lyne, A., & Botezatu, A. (2025). Comparative study of the sensory impacts of acidifiers for red wine production. *Beverages*, 11(1), 20. <https://doi.org/10.3390/beverages11010020>
11. Kurtzman C. P. (2003). Phylogenetic circumscription of *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* and other members of the *Saccharomycetaceae*, and the proposal of the new genera *Lachancea*, *Nakaseomyces*, *Naumovia*, *Vanderwaltozyma* and *Zygorulasporea*. *FEMS yeast research*, 4(3), 233–245. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(03\)00175-2](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(03)00175-2)
12. Morales, M. L., Fierro-Risco, J., Ríos-Reina, R., Ubeda, C., & Paneque, P. (2019). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans* co-inoculation

- on volatile profile in fermentations of a must with a high sugar content. *Food chemistry*, 276, 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.041>
13. Morata, A., Loira, I., Tesfaye, W., Bañuelos, M. A., González, C., & Suárez Lepe, J. A. (2018). *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. *Fermentation*, 4(3), 53. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030053>
 14. OIV. (2012). *Resolution OIV-OENO 443-2012: Treatment of wines using cation exchange resins*. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. <https://www.oiv.int/public/medias/1470/oiv-oeno-443-2012-es.pdf>
 15. OIV. (2021). *Resolution OIV-OENO 581A-2021: Use of fumaric acid as an inhibitor of malolactic fermentation*. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. <https://www.oiv.int/public/medias/8100/es-oiv-oeno-581a-2021.pdf>
 16. Payan, C., Gancel, A. L., Jourdes, M., Christmann, M., & Teissedre, P. L. (2023). Wine acidification methods: A review. *OENO One*, 57(3), 113–126. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.3.7476>
 17. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2006). *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications* (2nd ed.). Wiley.
 18. Schultz, H. R. (2016). Global climate change, sustainability, and some challenges for grape and wine production. *Journal of Wine Economics*, 11(1), 181–200. <https://doi.org/10.1017/jwe.2015.31>
 19. Su, Y., Dong, Q., Chen, Y., Wang, W., Jiang, J., Qin, Y., Yuyang, S. & Yanlin, L. (2024). Impact of sequential inoculation timing on the quality of wine fermented by indigenous *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT*, 204, 116438 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116438>
 20. Vicente, J., Navascués, E., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., & Benito, S. (2021). An Integrative View of the Role of *Lachancea thermotolerans* in Wine Technology. *Foods*, 10(11), 2878. <https://doi.org/10.3390/foods10112878>
 21. Vicente, J., Baran, Y., Navascués, E., Santos, A., Calderón, F., Marquina, D., & Benito, S. (2022). Biological management of acidity in wine industry: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 375, 109726. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109726>
 22. Vicente, J., Kelanne, N., Rodrigo-Burgos, L., Navascués, E., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., Yang, B., & Benito, S. (2023). Influence of different *Lachancea thermotolerans* strains in the wine profile in the era of climate challenge. *FEMS yeast research*, 23, foac062. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foac062>
 23. Zhang, B., Hu, J., Cheng, C., Xu, Y., Duan, C., & Yan, G. (2023). Effects of native *Lachancea thermotolerans* combined with *Saccharomyces cerevisiae* on wine volatile and phenolic profiles in pilot and industrial scale. *Food Chemistry Advances*, 2, 100258. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100258>
 24. Zhou, N., Ishchuk, O. P., Knecht, W., Compagno, C., & Piškur, J. (2019). Improvement of thermotolerance in *Lachancea thermotolerans* using a bacterial selection pressure. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 46(2), 133–145. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2107-4>

9. ANEXOS

ANEXO 1. Fichas técnicas de las levaduras



FICHA TÉCNICA

IOC 18-2007

LEVADURAS SECAS ACTIVAS

Franqueza, nitidez, fructofilia y toma de espuma

▶ APLICACIONES ENOLOGICAS

IOC 18-2007 ha sido seleccionada por el IOC a partir de las mejores levaduras indígenas de la toma de espuma de los viñedos de Champagne.

Es una levadura especialmente recomendada para :

- La toma de espuma,
- La fermentación de mostos difíciles,
- La fermentación a baja temperatura,
- La reanudación de la fermentación.

Permite elaborar vinos netos y francos gracias a su gran tolerancia al etanol y a su poder fructofílico. Su gran capacidad de adaptación a los medios más difíciles (pH muy bajo y temperaturas bajas) permite un consumo rápido y completo de los azúcares, al mismo tiempo que se evita la producción de compuestos secundarios indeseados. De este modo permite preservar las características del terroir.

▶ CARACTERÍSTICAS ENOLÓGICAS

<ul style="list-style-type: none"> • Especie: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> galactose-. • Factor Killer: K2 activa. • Resistencia al alcohol: elevada (15 % vol.) • Necesidad de nitrógeno: baja. Utilizar preferentemente nutrientes complejos para evitar la aparición de olores azufrados. • Garantiza fermentaciones regulares entre 8 °C y 30 °C. • Fase de latencia: corta. 	<ul style="list-style-type: none"> • Velocidad de fermentación: rápida. • Producción de acidez volátil: baja a moderada. • Producción de SO₂: muy baja. • Formación de espuma: baja. • Compatibilidad con las bacterias lácticas en coinoculación/en inoculación secuencial: baja/moderada.
---	---

▶ DOSIS Y MODO DE EMPLEO

- Vinificación : - en blancos : 10 a 20 g/hL
 - en tintos : 20 a 25 g/hL
- Reactivación de la fermentación : 20 a 40 g/hL [preparación de un pie de cuba]
- Toma de espuma (método tradicional) : 10 a 20 g/hL [preparación de un pie de cuba]
- Rehidratación:
Rehidratar con 10 veces su peso en agua a 35-37 °C. Es esencial rehidratar la levadura en un recipiente limpio. Respetar escrupulosamente las temperaturas; no introducir las levaduras en una solución con una temperatura superior a 40 °C. Agitar suavemente y dejar reposar durante 20 minutos. Se recomienda vivamente la utilización del protector de levadura HYDRA PC en fase de rehidratación.
- Preparación de la levadura:
Tras la rehidratación, es necesario aclimatar la levadura a la graduación alcohólica y a las condiciones específicas de los vinos (pH, azúcares, SO₂, temperatura, etc...). Para ello, realizar un pie de cuba de 12 a 24 horas que debe ir seguido de una fase de multiplicación de unos 3 días aproximadamente. Esta fase permitirá obtener un fermento activo y lo suficientemente concentrado para realizar la formación de espuma. Seguir las recomendaciones de su enólogo.



<p>Institut Œnologique de Champagne ZI de Mardeuil - Allée de Cumières BP 25 - 51201 EPERNAY Cedex France</p>	<p>Tél +33 (0)3 26 51 96 00 Fax +33 (0)3 26 51 02 20 www.ioc.eu.com</p>	<p>La información contenida en este folleto corresponde a la que disponemos en el estado actual de nuestros conocimientos. No impide a los usuarios tomar sus propias precauciones y realizar sus propios ensayos. Se debe minuciosamente respetar toda reglamentación vigente.</p>
--	--	---

VERSION 14-03-14/A



FICHA TÉCNICA

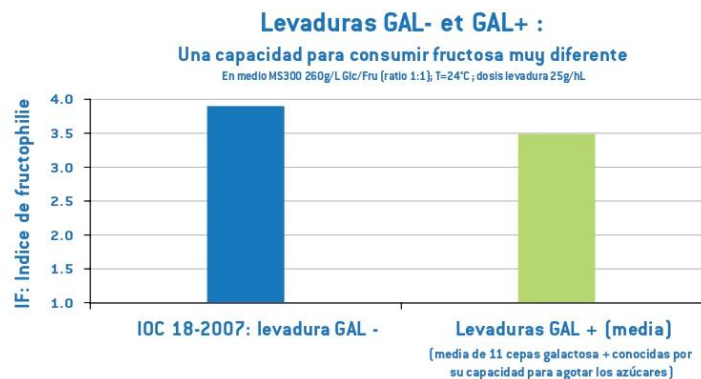
IOC 18-2007: Una levadura fructofílica

Fructosa, glucosa y seguridad de la fermentación

Para completar la fermentación alcohólica, las levaduras tienen que transformar toda la glucosa y la fructosa del mosto. Desafortunadamente, éstas muestran una mayor afinidad por la glucosa que por la fructosa. Tanto es así que, en el caso de fermentaciones lentas, a menudo se pone a prueba su capacidad para consumir la fructosa residual. Y en las paradas de fermentación, donde en general la mayor parte del azúcar residual es fructosa, la fermentación se hace difícil.

La afinidad por la fructosa varía en función de la levadura

No todas las levaduras muestran el mismo grado de mayor preferencia por la glucosa que por la fructosa. Para algunas de ellas, la diferencia en el consumo de los dos azúcares es menor, es decir que abandonan menos la fructosa en favor de la glucosa. Este es el caso de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* galactosa- : su índice fructofílico es generalmente superior que el de las levaduras *S. cerevisiae* clásicas [denominadas galactosa+]. **IOC 18-2007**, que pertenece a este grupo de levaduras GAL-, muestra por tanto una capacidad fructofílica natural por encima de la media.



CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

- Levaduras reactivadas : >10000 millones de células/g
- Pureza microbiológica : menos de 10 levaduras indígenas por millón de células

ENVASE Y CONSERVACIÓN

- Bolsas de aluminio polietileno de 500 g al vacío.
- Conservar en lugar fresco y seco
Una vez abierto, el producto debe ser utilizado rápidamente.



Institut Œnologique de Champagne
ZI de Mardeuil - Allée de Cumières
BP 25 - 51201 EPERNAY Cedex France

Tél +33 (0)3 26 51 96 00
Fax +33 (0)3 26 51 02 20
www.loc.eu.com

La información contenida en este folleto corresponde a la que disponemos en el estado actual de nuestros conocimientos. No impide a los usuarios tomar sus propias precauciones y realizar sus propios ensayos. Se debe minuciosamente respetar toda reglamentación vigente.

VERSION 14-03-14/A

viniform NS CHANCE

Biotechnología contra el cambio climático

CARACTERÍSTICAS

Levadura *no-Saccharomyces* cepa *Lachancea thermotolerans* seleccionada por su elevada capacidad de síntesis de ácido láctico. El uso de Viniform NS CHANCE permite resolver el problema de pérdida de acidez en vinos, generado por el cambio climático. Favorece la elaboración de vinos más longevos, complejos y untuosos.

ORIGEN

Viniform NS CHANCE nace tras varios años de investigación junto con la Universidad Complutense de Madrid en el marco del proyecto de investigación LOWpHWINE.



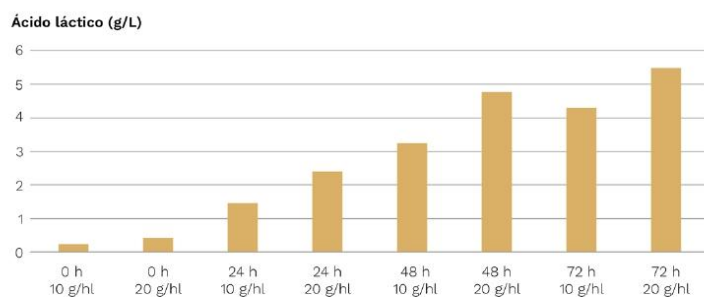
CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS

Viniform NS CHANCE no solo presenta un elevado poder de acidificación -mayor formación de ácido láctico- sino que incrementa la complejidad aromática, acentúa la untuosidad y suavidad -por formación de glicerol- y da lugar a vinos con baja acidez volátil debido a su rápida implantación.

APLICACIÓN

La cepa *Lachancea thermotolerans* presenta un poder fermentativo moderado, de forma que en la elaboración de vinos con esta levadura se deberá realizar una fermentación secuencial con *Saccharomyces cerevisiae*.

La dosis de inóculo de Viniform NS CHANCE y el momento de adición de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* serán fundamentales en la formación del ácido láctico



Contenido en ácido láctico en vinos obtenidos con distintas dosis de adición de Viniferm NS CHANCE e inoculación de *S. cerevisiae* a distintos tiempos. En la gráfica se indica el momento en el que se inocula la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la dosis de Viniferm NS CHANCE empleada.

DOSIS

Producción de ácido láctico	Dosis de Viniferm NS CHANCE	Momento de inoculación de <i>S. Cerevisiae</i>
0 - 1,5 g/l	10 g/hl	24 horas
1,5 - 3 g/l	20 g/hl	24 horas

*Concentraciones de ácido láctico superiores a 2 g/l pueden inhibir la fermentación maloláctica.

PROPIEDADES ENOLÓGICAS

Poder fermentativo	Medio (<10 %/vol)
Temperatura de trabajo	16-25°C
Necesidades nutricionales	Media (nitrógeno orgánico)
Rendimiento alcohólico	Bajo
Resistencia al sulfuroso	Moderada (<30 ppm)
Formación de acidez volátil	Baja

MODO DE EMPLEO

Para obtener los mejores resultados es indispensable asegurar la buena implantación de la cepa en el medio, por lo tanto es importante:

- Mantener una buena higiene en la bodega.
- Añadir la levadura lo antes posible.

→ Respetar la dosis prescrita.

→ Rehidratar bien la levadura.

Rehidratación:

1.- Añadir las levaduras secas en 10 veces su peso en agua a 35 °C - 40 °C (10 litros de agua por 1 kg de levadura).

2.- Esperar 10 minutos.

3.- Agitar la mezcla.

4.- Esperar 10 minutos e incorporar al mosto, procurando que no haya una diferencia de más de 10 °C entre el medio rehidratado y el mosto.

Precauciones de trabajo:

- En cualquier caso, la levadura no deberá estar rehidratándose más de 30 minutos en ausencia de azúcares.

- El respeto del tiempo, temperatura y modo de empleo descrito garantizan la máxima viabilidad de la levadura hidratada.

ASPECTO FÍSICO

Gránulos de color tostado, desprovistos de polvo.

ASPECTO FÍSICO

Paquetes de 500 g envasados al vacío en envuelta multilaminar de aluminio en cajas de 10 kg.

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS

EP 894 (rev.0)

Recuento de levaduras (<i>Saccharomyces</i> spp.) [UFC/g]	> 10 ¹⁰
Otras levaduras [UFC/g]	< 10 ⁵
Mohos [UFC/g]	< 10 ³
Bacterias lácticas [UFC/g]	< 10 ⁵
Bacterias acéticas [UFC/g]	< 10 ⁴
<i>Salmonella</i> [UFC/25 g]	Ausencia
<i>E. coli</i> [UFC/25 g]	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> [UFC/g]	Ausencia

Coliformes totales [UFC/g]	< 10 ²
Humedad [%]	< 8
Pb [mg/kg]	< 2
Hg [mg/kg]	< 1
As [mg/kg]	< 3
Cd [mg/kg]	< 1

CONSERVACIÓN

El producto conforme a los estándares cualitativos se conserva en su envase sellado al vacío durante un periodo de cuatro años en lugar fresco y seco, ausente de olores.

Una vez abierto debe emplearse lo antes posible.

Eventuales exposiciones prolongadas a temperaturas superiores a 35° C y/o con humedad reducen su eficacia.

RGSEAA: 31.00391/CR

Producto conforme con el Codex Enológico Internacional y el Reglamento (UE) 2022/68



TECHNICAL DATA SHEET OF: 10/06/2022 ■

VIW® SHIELD LT

Lachancea thermotolerans



PRODUCT

Selected Non-*Saccharomyces* yeast for enological use.



CHARACTERISTICS

VIW® SHIELD LT is excellent for bioprotection as well as for the first steps of the alcoholic fermentation. VIW SHIELD LT predominates over the native microflora, and it is present during the first stage of the fermentation.

It is able to yield a good fermentation in the temperature range from 15 to 25 °C, until the ethanol concentration reaches 10% (V/V). VIW® SHIELD LT produces lactic acid that gives more freshness and roundness to the wine, as slightly decreases the ethanol content.



USES

Because of these characteristics, VIW® SHIELD LT is a strain particularly recommended to manage bioprotection and the first steps of alcoholic fermentation, in order to produce wines with great freshness and sweetness, full body and structure.

For the use of VIW® SHIELD LT, please follow the legal regulations in force.



Enologica Vason S.p.A.

Via Nassar, 37 | 37029 S. Pietro in Cariano (VR) - Italy | Tel. +39 045 6859017 | Fax +39 045 7725188
info@vason.com | www.vason.com



TECHNICAL DATA SHEET OF: 10/06/2022 ■

VIW[®] SHIELD LT

Lachancea thermotolerans



DIRECTIONS FOR USE

Be sure to add VIW[®] SHIELD LT without addition of SO₂. Add the necessary quantity of yeast in ten parts of tepid water (25°C) containing 1 to 2 % sugar. After 30 minutes, stir and gradually add to the filtered and sulfured must, taking care not to produce sharp drops in temperature. In order to facilitate the multiplication of the yeast cells, the substrate must not contain more than about 2% sugars, and must be properly aerated. At this stage it is recommended the use of fermentation activators such as X-PRO[®] VERVE in ratio 1:1 is recommended. For more detailed information about the management of the nutrients and the best use of the yeast, please consult our technical service and the official procedures.



DOSAGE

20 g/hL



PACKAGING

The product comes vacuum-packed in 500g poly laminate bags.



STORAGE

The product should be stored in a cool and dry environment. In such conditions it keeps its viability until the expiration date reported on the label.



HAZARDOUSNESS

Based on the current European regulations the product is classified: not hazardous.

ENOLOGICA
VASON

Enologica Vason S.p.A.

Via Nassar, 37 | 37029 S. Pietro in Cariano (VR) - Italy | Tel. +39 045 6859017 | Fax +39 045 7725188
info@vason.com | www.vason.com



Levadura ecológica no-*Saccharomyces* para la producción de vinos respetando los equilibrios ácidos.



→ INTERESES ENOLÓGICOS

LEVULIA ALCOMENO es una cepa de levadura no *Saccharomyces* resultante de un programa de investigación sobre ecología microbiana. Esta selección desarrollada en diferentes terrenos de Borgoña se llevó a cabo en colaboración con la Université de la Vigne et du Vin (UVV) de Dijon.

LEVULIA ALCOMENO pertenece a la especie *Kluyveromyces thermotolerans*, una cepa de levadura presente de forma natural en la uva que contribuye a la complejidad organoléptica del vino desde la fase de pre-fermentativa.

Su metabolismo conduce a una importante producción de ácidos orgánicos como el ácido láctico y por ello aporta al vino frescura y equilibrio en boca. Esto se traduce en un aumento neto de la acidez total y una disminución del pH del vino.

A nivel analítico, los vinos fermentados con **LEVULIA ALCOMENO** se diferencian por una disminución del contenido alcohólico y un aumento del ácido láctico. Estas variaciones físico-químicas dependen de la variedad de uva, las condiciones climáticas y la calidad de la introducción de la levadura en el mosto.

LEVULIA ALCOMENO puede asegurar una fermentación alcohólica de al menos un 7% vol. Se utiliza en inoculación secuencial. El momento de la inoculación con una levadura de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, de la gama **LEVULIA** o **FERMOL**, dependerá del objetivo de corrección de la acidez al que aspire el enólogo.

→ COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

- Cepa: *Kluyveromyces thermotolerans*. Producción ecológica.
- Células vivas > 10¹⁰ UFC/g

Para uso enológico, conforme al Código Enológico Internacional.

Características de fermentación:

- Tolerancia al alcohol: 7,2 %Vol.
- Necesidad de nitrógeno: medio.
- Disminución del grado alcohólico.
- Baja producción de acidez volátil.





LEVULIA® ALCOMENO

→ DOSIS DE EMPLEO

30 g/hL.

→ FORMA DE EMPLEO

En un recipiente limpio, rehidratar la levadura en 10 veces su peso usando agua caliente (no clorada si es posible) a 25-30°C y mezclar suavemente. Esperar 20 minutos antes de añadir un volumen igual de mosto del depósito a inocular. Repetir esta operación hasta que la diferencia entre la temperatura de la levadura y la del mosto no sea inferior a 10°C. Añadir la levadura al depósito y mezclar con ayuda del remontado. Esperar de 24 a 72 horas antes de inocular una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*.

→ INFORMACIÓN ADICIONAL

- Cepa sensible al SO₂.
- En caso de condiciones de fermentación difíciles (TAP alto, temperaturas extremas, baja turbidez, uvas alteradas, etc.) recomendamos el uso de **FERMOPLUS ENERGY GLU 3.0** (de 5 a 15 g/hL) en el agua de rehidratación de la levadura.

→ CONSERVACIÓN Y CONFECCIÓN

Conservar en un sitio seco e inodoro, preferiblemente a una temperatura entre 4 y 7° C. Conservar cerrado, en frigorífico, después de abierto.

- Paquete de 500g en cajas de 10 kg



ANEXO 2. Composición de los nutrientes

FICHA TÉCNICA



FERMOPLUS® Blanc

.....
 Nutriente para vinificación de mostos de uva blanca



→ DESCRIPCIÓN TÉCNICA

Efectos sobre la cinética de fermentación **Fermoplus Blanc** es un bioregulador completo que aporta las sustancias nutritivas necesarias para completar la fermentación.

Contiene celulosa para mantener homogéneamente dispersas las levaduras durante la fase fermentativa, adsorbiendo eventuales toxinas presentes en el medio. Las manoproteínas permiten finalizar las fermentaciones en tiempos reducidos (hasta el 20%).

Efectos organolépticos: el aporte de sustancias nutritivas es importante sobretodo en mostos clarificados en los que se desean elevar las características de frescura y las notas aromáticas florales y afrutadas. La adición de tanino y el aporte de manoproteínas, contribuyen a dar un mejor gusto y persistencia aromática a los vinos.

Principales aplicaciones: esta indicado para todos los mostos blancos clarificados, donde se quiera hacer resaltar las características organolépticas de tipicidad.

→ COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Paredes celulares de levaduras, fosfato amónico bibásico, tanino elágico, suspensivante inerte, clorohidrato de tiamina (vitamina B1).

FERMOPLUS® Energy Glu 4.0

Nutriente para la rehidratación de la levadura rico en oligoelementos altamente asimilables y glutatión



→ DESCRIPCIÓN TÉCNICA

FERMOPLUS Energy Glu 4.0 es la nueva frontera en nutrientes para la rehidratación que permite rehidratar la levadura con agua a una temperatura de aproximadamente 20°C. Se trata de una fórmula que, gracias a los aminoácidos específicos disponibles, los esteroides, el glutatión natural y los minerales, permite una rehidratación acorde con la creciente orientación de las empresas hacia un ahorro energético, sin interferir negativamente en el crecimiento celular.

FERMOPLUS Energy Glu 4.0, gracias a su fórmula rica en aminoácidos y vitaminas naturales, permite obtener una levadura que, desde su reactivación, tiene un vigor significativamente superior al normal, influyendo positivamente en su velocidad de multiplicación. Al proporcionar aminoácidos directamente asimilables, **FERMOPLUS Energy Glu 4.0** hace que la célula no necesite sintetizarlos, ahorrando así la energía que puede dedicar a su multiplicación, especialmente en la fase de hidratación, donde el gasto energético es mayor.

FERMOPLUS Energy Glu 4.0, gracias a los esteroides naturales y los oligoelementos minerales, permite mantener una fluidez de membrana superior a las versiones anteriores de productos similares; garantiza un inicio perfecto de la fermentación y su continuación regular, gracias a la elevada elasticidad de la membrana celular rehidratada en presencia de estos compuestos.

FERMOPLUS Energy Glu 4.0, a través de una especial lisis enzimática de las células de levadura, logra aumentar el contenido de glutatión, que actúa como antioxidante, asegurando las mejores condiciones para obtener el máximo rendimiento de la fermentación y reducir el envejecimiento celular. Esta nueva frontera en nutrición permite a las levaduras expresar completamente sus características, que normalmente no se alcanzan debido a las alteraciones metabólicas.

Aunque en todas las bodegas se dispone de agua caliente e instrumentos para medir su temperatura, durante la vendimia no se garantiza la rehidratación de la levadura en el agua según los parámetros requeridos (38°C). Esto claramente afecta la calidad de la fermentación.

Gracias a **FERMOPLUS Energy Glu 4.0**, es posible solucionar este problema, ya que el nutriente acelera los tiempos de multiplicación y favorece la prevalencia sobre las cepas indígenas. La posibilidad de operar a una temperatura de aproximadamente 20°C permite optimizar las operaciones de la bodega y ahorrar tiempo y energía que se requiere para calentar el agua hasta 38°C, lo que permite obtener los mismos resultados.

→ COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Paredes celulares de levaduras, autolisados de levaduras, fosfato de amonio dibásico, clorhidrato de tiamina (vitamina B1)

IFPLUS_ENERGY_GLU_4_0_TDS_ES_0040924_OENO_Spain



FICHA TÉCNICA DEL: 27/05/2024 ■

X-PRO[®]

VERVE

ACTIVADOR Y BIORREGULADOR DE LA FERMENTACIÓN



COMPOSICIÓN

Autolisados de levadura y levaduras inactivas de alto valor nutritivo.



CARACTERÍSTICAS

X-PRO[®] VERVE es un activador de fermentación integral, de nueva generación. Su composición, resultado de amplios estudios y experimentos, tiene en cuenta los mejores resultados que se pueden obtener con el proceso X-PRO[®] para la producción de derivados de levadura. Se trata de procesos físicos realizados en un entorno anaeróbico, que mantienen intactas las estructuras de los valiosos nutrientes que contienen de forma natural las levaduras frescas.

El proceso X-PRO[®] aplicado a la producción de activadores para la fermentación es capaz de garantizar productos integrales, muy ricos en microelementos y cofactores que, al mismo tiempo, poseen destacadas características nutricionales y regulan adecuadamente el redox para la conservación de los aromas primarios de la uva y el reequilibrio natural de las reacciones oxidativas en la matriz polifenólica. Compuesto por levaduras inactivas y autolisados ricos en esteroides, microelementos, cofactores, X-PRO[®] VERVE está intencionadamente desprovisto de fuentes de nitrógeno amoniacal, para inducir a la levadura a la utilización de elementos orgánicos, necesarios para la formación de complejos enzimáticos, sustancias aromáticas, etc.

X-PRO[®] VERVE garantiza un elevado aporte orgánico de APA, con un considerable efecto de biorregulación de la fermentación.

Actimax NATURA

Activador orgánico para fermentación alcohólica.
Máxima expresión varietal. Liberación activa de aminoácidos.

CARACTERÍSTICAS

Actimax NATURA es un nutriente orgánico para fermentación alcohólica de uva y mosto. Constituye una fuente muy rica en nitrógeno orgánico (aminoácidos libres).

El nitrógeno orgánico, constituido por aminoácidos, es deficitario en la mayoría de los procesos de fermentación alcohólica. Actimax NATURA proporciona un aporte equilibrado de aminoácidos y vitaminas en la fase inicial de fermentación, reduciendo la aparición de problemas en su fase final. La disponibilidad de aminoácidos optimiza la calidad organoléptica de los vinos. Por un lado, los aminoácidos son precursores de aromas fermentativos. Por otro, el aporte equilibrado de aminoácidos permite una correcta síntesis de las enzimas responsables de la revelación de precursores varietales (glicosidasas, liasas). Además, limita la producción de ácido sulfhídrico y por tanto evita la generación de defectos de reducción. La corrección del NFA con este preparado no presenta riesgos de subida de temperatura ni desviaciones sensoriales.

Proporciona aminoácidos para la generación de proteínas de transporte y enzimas. Asegura el contenido de nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) evitando así la necesidad de empleo sales de amonio.

COMPOSICIÓN

Levadura de autólisis completa (*Saccharomyces cerevisiae*). Cepa específica seleccionada, crecida en medio rico en nutrientes. Importante fuente de aminoácidos primarios, de asimilación lenta. Inactivada térmicamente y totalmente autolisada, para la mayor disponibilidad de los recursos nitrogenados. Se trata de un producto natural y no modificado genéticamente.

Una dosis de 30 g/hl de Actimax NATURA cede al mosto:

Nitrógeno fácilmente asimilable (NFA)	44 mg/l
Nitrógeno orgánico (aminoácidos, NOPA)	40 mg/l

La información detallada en la presente ficha técnica responde a nuestro conocimiento; al La empresa no se responsabiliza del uso inadecuado u fuera del marco legal de utilización del producto.

ANEXO 3. Datos complementarios

Evolución del pH durante la fermentación

