



El uso de *Torulaspora delbrueckii* en los vinos de maceración carbónica mejora sus propiedades organolépticas y favorece la fermentación maloláctica

Candela Ruiz-de-Villa¹, Jordi Gombau², Montse Poblet¹, Albert Bordons³, Joan Miquel Canals², Fernando Zamora², Cristina Reguant², Nicolas Rozès^{1*}

¹ Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

² Grup de Tecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, c/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

³ Grup de Biotecnologia Enològica, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

Recientemente existe un creciente interés por las levaduras no-*Saccharomyces*, estudiadas por sus beneficios tanto en el proceso productivo del vino como en sus propiedades organolépticas. Además, en el caso de la especie *Torulaspora delbrueckii*, se ha observado que su utilización en la fermentación alcohólica (FAL) junto a *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) tiene también un efecto positivo sobre la realización de la fermentación maloláctica (FML)¹. Este efecto se ha estudiado poco en vinificaciones especiales, tales como la maceración carbónica (MC), la cual consiste en desarrollar la FAL dentro de los granos de uva sin prensar en una atmósfera anaerobia, lo que origina vinos muy aromáticos². El objetivo de este estudio es investigar las implicaciones enológicas de la inoculación de *T. delbrueckii* durante la primera etapa de la vinificación de MC, con el fin de mejorar el proceso fermentativo y las características organolépticas de estos vinos.

Materiales y métodos

Las fermentaciones se realizaron en pequeño volumen en contenedores de plástico de 1.5 L, y se utilizó la variedad de uva Garnacha tinta, procedente de la bodega Mas dels Frares (Universidad Rovira i Virgili, DO Tarragona). Para llevar a cabo la maceración carbónica (MC) las uvas fueron despalilladas a mano, pero no se estrujaron. Se colocaron los granos de uva enteros en los depósitos introduciendo CO₂ para conseguir un ambiente de anaerobiosis (Figura 1). Las condiciones estudiadas fueron las siguientes: Control sin inoculación, y dos condiciones secuenciales en las cuales se inoculaban dos cepas de *T. delbrueckii* (Viniflora Prelude de Chr. Hansen Holding AS, Hoersholm, Denmark y Viniferm NS Td de Agrovin, Alcázar de San Juan, Spain). Después de 5 días de MC a 20 °C, se prensaron las uvas y se mezclaron las fracciones de mosto. El mosto fermentado de cada condición se trasegó y se inoculó con *S. cerevisiae* CLOS (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canada), para finalizar la fermentación alcohólica. Finalmente, se realizaron tres condiciones de fermentación maloláctica (FML). Por una parte, se inoculaban dos cepas de *Oenococcus oeni* (Lalvin VP41 de Lallemand Inc. y Viniflora CH11 de Chr. Hansen Holding AS), por otra parte, se realizó una FML espontánea (Sp) con bacterias lácticas (BAL) autóctonas (Figura 1). Todas las fermentaciones (FAL y FML) se realizaron por triplicado biológico.

observada en ciertas levaduras no-*Saccharomyces*. Sin embargo, esta actividad aún no se ha demostrado para *T. delbrueckii*.

También se detectaron diferencias en los piranoantocianos, Vitisina A y Vitisina B (Figura 2B). Estos pigmentos desempeñan un papel importante en la mejora de la estabilidad del color en los vinos, ya que son menos susceptibles a los cambios de pH y más resistentes a la decoloración causada por el dióxido de azufre³. Las muestras Control al final de la MC, fueron significativamente diferentes a las inoculadas con *T. delbrueckii*, ya que no se detectaron piranoantocianos. Por el contrario, tanto las muestras TdP como TdV mostraron la presencia de estos pigmentos después de la MC. Sin embargo, después de la FAL, se detectaron piranoantocianos en todos los vinos, siendo las concentraciones más elevadas en los vinos con *T. delbrueckii* que en el Control. Durante la fase de MC, no hubo diferencias significativas en la intensidad colorante (IC) entre las distintas condiciones. Sin embargo, después de la FAL el vino Control mostró una reducción significativa de la IC. A simple vista se podía diferenciar la condición Control de la inoculada con *T. delbrueckii* (Figura 2C).

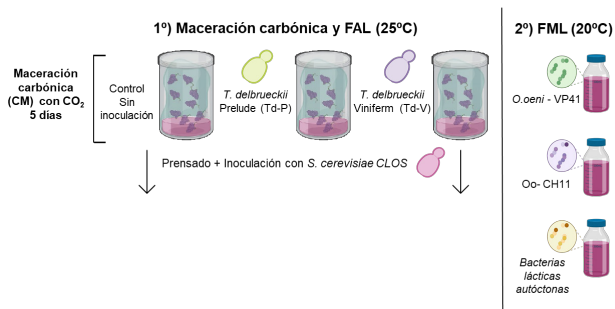


FIGURA 1. Diseño experimental.

Resultados

Efecto de *T. delbrueckii* en el color

Se observaron resultados interesantes sobre el color y la composición fenólica de los vinos, derivados de la inoculación de *T. delbrueckii* al comienzo de la maceración carbónica. Se observó que la presencia de *T. delbrueckii* provocó un aumento significativo en la concentración de antocianos en los vinos finales, especialmente con la cepa TdV (Figura 2A). Esta concentración más alta podría estar relacionada con varias causas, como por ejemplo la mayor oxidación de antocianinas en los vinos Control, que tardaron más en comenzar la FAL. Por otro lado, este efecto podría asociarse con la elevada actividad pectolítica

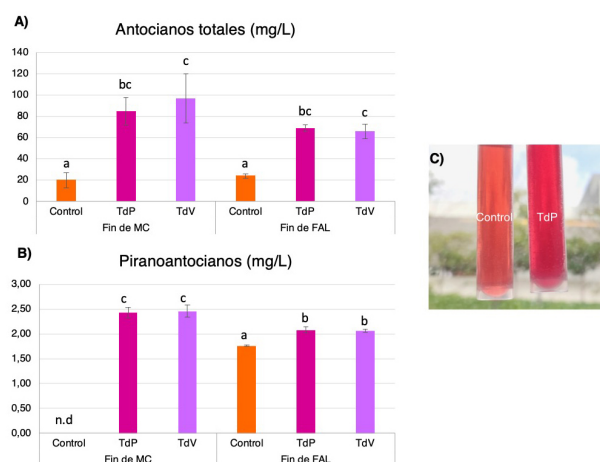


FIGURE 2. Compuestos fenólicos analizados. A) Antocianos libres analizados por HPLC, y antocianos libres analizados por espectrofotometría; B) Piranoantocianos (Vitisinas A y B). El final de MC corresponde al muestreo después de la maceración carbónica, antes de inocular *S. cerevisiae*, y el final de FAL corresponde al muestreo después de la fermentación alcohólica (FAL). Control corresponde a la fermentación Control; TdP y TdV corresponden a fermentaciones con *T. delbrueckii* Prelude o *T. delbrueckii* Viniferm, respectivamente. & Figura 3. Diferenciación de los vinos a simple vista: Control (Izquierda) y vino inoculado con *T. delbrueckii* Prelude (Derecha).

Efecto de *T. delbrueckii* en el aroma y las propiedades organolépticas de los vinos

La inoculación de las dos cepas de *T. delbrueckii* influyó significativamente en el perfil volátil y en las características organolépticas generales de los vinos. Las diferencias surgieron principalmente tras la FAL en las

condiciones de *T. delbrueckii*, incrementándose las familias de ésteres etílicos, alcoholes superiores, ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y acetatos de alcoholes superiores. Entre los compuestos que más se incrementaron se incluyen 1-propanol, 2-metilpropanol, acetato de isoamilo, acetato de 2-feniletanol, decanoato de etilo, dodecanoato de etilo e isopropanol, caracterizados por descriptores como alcohol, vino, plátano, rosas, uva y hojas, respectivamente. Cabe destacar que, en este estudio, la cepa TdP mostró un aumento significativamente mayor que la cepa TdV en las concentraciones de 2-feniletanol, 2-metilpropanol y acetato de isoamilo. El acetato de isoamilo se trata de un compuesto característico de los vinos MC² cuyo descriptor es el plátano. Dicho compuesto alcanzó concentraciones de 0,62 mg/L (Control), 0,63 mg/L (TdP) y 0,47 mg/L (TdV) después de la MC sin diferencias significativas. Sin embargo, los vinos TdP y TdV mostraron un aumento significativo de la concentración de acetato de isoamilo después de la FAL, alcanzando concentraciones de 3,37 mg/L y 1,32 mg/L, respectivamente, comparado con el vino Control AF a 0,58 mg/L (Figura 3A). Finalmente, para comprender de forma global el impacto de la inoculación de *T. delbrueckii* durante la MC, se realizó un análisis sensorial tras la FAL. En primer lugar, se realizó una prueba triangular con 15 jueces expertos, la cual mostró diferencias significativas entre Control y TdP, así como entre Control y TdV, pero sin distinción entre TdP y TdV. Posteriormente se realizó una cata descriptiva de los vinos después de la FAL. El vino con TdV mostró aromas intensos a frutos rojos, hierba y plátano, además de valores de percepción global más elevados, mientras que en el caso del vino con TdP, el aroma a plátano y la percepción general mejoraron en comparación con el vino Control. Sorprendentemente, el aroma a plátano fue el único descriptor con una diferencia significativa entre los vinos con *T. delbrueckii* y el vino Control (Figura 3B). Esto sugiere que los consumidores asociaron un aroma a plátano más pronunciado con la presencia de *T. delbrueckii* durante la MC.

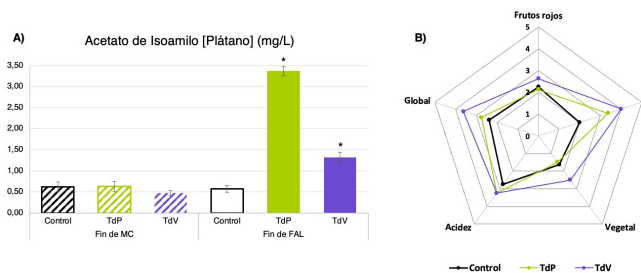


FIGURE 3. A) Concentración de acetato de isoamilo (mg/L). **B)** Diagrama de tela de araña del análisis sensorial de los vinos después de la FAL. Los asteriscos (*) indican atributos que mostraron diferencias significativas (valor $p < 0,05$). Control corresponde a la condición Control fermentada solo con Sc; TdP y TdV corresponden a las fermentaciones con *T. delbrueckii* Prelude y Viniferm, respectivamente. Todos los datos se expresan como la media aritmética de tres réplicas biológicas $\pm$ desviación estándar ($n = 3$).

Efecto de *T. delbrueckii* en la eficiencia de la fermentación maloláctica

Una vez concluidas la FAL, se aplicaron tres estrategias de FML: inoculación con las cepas de *O. oeni* OoVP41 y OoCH11, y fermentación espontánea. La inoculación de cultivos iniciadores de *O. oeni* tenía como objetivo evaluar su potencial bajo la presión competitiva de las BAL endógenas.

La Figura 4 representa la cinética de la FML de las tres condiciones de vino con sus respectivas estrategias de FML. La inoculación con OoVP41 dio lugar a una menor duración de la FML en comparación con OoCH11 y la FML espontánea. Los vinos TdP y TdV en los que se inoculó OoVP41 completaron la FML dos días antes (8 días) que los vinos Control con la misma cepa (10 días). Estudios previos en condiciones de laboratorio⁴ también han caracterizado la cepa OoVP41 como una cepa fermentativa altamente eficiente, corroborando este resultado en estas condiciones competitivas. La influencia de *T. delbrueckii* en la FML también se observó con el uso de la cepa OoCH11. Se observaron diferencias significativamente mayores en la FML espontánea. Los vinos de control tardaron 7 días en iniciar la FML, mientras que TdP tardó 4 días y TdV sólo 3 días. En cuanto al tiempo total de FML, TdP y TdV también fueron más cortos: TdP duró 15 días, y TdV duró 16 días, notablemente menos que el Control, que necesitó 20 días (Figura 4).

El efecto de *T. delbrueckii* sobre la FML se asocia a diversos factores que contribuyen a mejorar la eficiencia de *O. oeni*¹. En el presente estudio a pesar de no haber diferencias en los niveles de etanol o pH, el mejor rendimiento de la FML puede atribuirse a una reducción de los AGCM (ácidos grasos de cadena media), conocidos por ser tóxicos para *O. oeni*⁵, o a un aumento del amonio y las manoproteínas. Además de los aspectos nutricionales, el aumento de manoproteínas podría estar relacionado con la reducción de AGCM, ya que podrían absorber estos lípidos, desintoxicando el medio⁶.

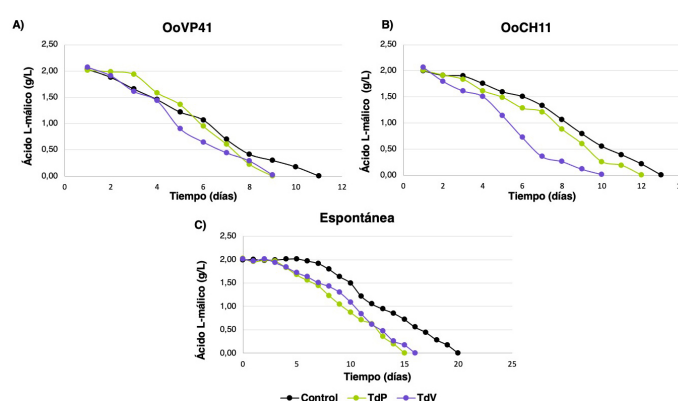


FIGURE 4. Consumo de ácido L-málico durante la fermentación maloláctica. Consumo de ácido L-málico durante la fermentación maloláctica: (A) corresponde a la FML OoVP41, (B) corresponde a la FML OoCH11 y (C) corresponde a la FML espontánea. Control corresponde a la condición Control sólo fermentada con Sc; TdP y TdV corresponden a las fermentaciones con *T. delbrueckii* Prelude y Viniferm, respectivamente. Todos los datos se expresan como la media aritmética de tres réplicas biológicas $\pm$ desviación estándar ($n = 3$).

Conclusiones

Aunque en el presente estudio los parámetros fisicoquímicos generales se mantuvieron constantes, la presencia de *T. delbrueckii* influyó significativamente en los parámetros de color y aroma, aumentando el contenido de antocianos y los niveles de acetato de isoamilo, especialmente con la cepa TdP. En la evaluación sensorial se observaron aromas distintos, con los vinos TdV mostrando notas más pronunciadas de frutos rojos, plátano y hierba fresca. Respecto a la FML, *T. delbrueckii* mejoró el rendimiento, especialmente en la FML espontánea, comenzando antes y necesitando menos tiempo. La inoculación con OoVP41 condujo a una reducción significativa de dos días en la duración de la FML. Estos resultados subrayan los beneficios potenciales del uso de cepas de *T. delbrueckii* para mejorar la eficacia de la FML y los atributos sensoriales de los vinos de maceración carbónica.

Este enfoque es especialmente valioso en regiones vitivinícolas de latitudes septentrionales, las cuales se caracterizan por climas más fríos y niveles de acidez más elevados. Por lo tanto, la FML puede llegar a ser necesaria en estas regiones para conseguir las características deseadas. Además, la propuesta de inoculación de *T. delbrueckii* ayudaría a enriquecer el perfil sensorial de estos vinos, garantizando una mayor calidad y características distintivas. ■

Financiación: Este trabajo contó con el apoyo de la subvención PGC2018-503 101852-B-I00 concedida por la Agencia Española de Investigación. CRV agradece la Beca Predoctoral de la Generalitat de Cataluña (2020FI).

Información extraída del artículo de investigación “*Torulaspora delbrueckii* Improves Organoleptic Properties and Promotes Malolactic Fermentation in Carbonic Maceration Wines” (Fermentation, 2023).

- 1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordon, A., & Reguant, C (2023). The Use of *Torulaspora delbrueckii* to Improve Malolactic Fermentation. *Microb Biotechnol*, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14302>
- 2 Tesniere, C.; Flanzy, & C. Carbonic (2011). Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press Inc., Vol. 63, pp. 1–15.
- 3 Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, R., & Moljoutnet, M. A (1997). New Class of Wine Pigments Generated by Reaction between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401–1407.
- 4 Ruiz-de-Villa, C., Poblet, M., Bordon, A., Reguant, C., & Rozès, N. (2023). Comparative Study of Inoculation Strategies of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on the Performance of Alcoholic and Malolactic Fermentations. in an Optimized Synthetic Grape Must. *Int J Food Microbiol*, 404, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110367>
- 5 Capucho, I. and San Romão, M.V (1994). Effect of Ethanol and Fatty Acids on Malolactic Activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 42, 391–395.
- 6 Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., & Ribéreau-Gayon, P. (1984). Inhibition of Alcoholic Fermentation of Grape Must by Fatty Acids Produced by Yeasts and Their Elimination by Yeast Ghosts, Vol. 47.