

## Evaluación de la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* bioacidificadora para la elaboración de vinos Malbec

Sofia Pastorino Aubry<sup>1</sup> y Luciana Paola Prendes<sup>1,2\*</sup>

1. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo. San Rafael M5600APG, Mendoza, Argentina.
2. Grupo de Biotecnología Enológica, Instituto de Ingeniería y Ciencias Aplicadas a la Industria (ICAI- UNCuyo-CONICET); San Rafael M5600APG, Mendoza, Argentina.

\*E-mail: [lpprendes@fcai.uncu.edu.ar](mailto:lpprendes@fcai.uncu.edu.ar)

### PALABRAS CLAVES

Bioacidificación  
Cinética fermentativa  
Ácido málico  
Grado alcohólico

### RESUMEN

La elaboración de vinos con menor grado alcohólico y mayor acidez representa un desafío para la industria vitivinícola. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la cinética fermentativa y los parámetros fisicoquímicos de vinos Malbec fermentados con una cepa *Saccharomyces cerevisiae* bioacidificadora respecto a una cepa *S. cerevisiae* tradicional para determinar su viabilidad e impacto en la elaboración. Se empleó mosto Malbec de Luján de Cuyo (Mendoza) y 2 cepas de *S. cerevisiae* comerciales: Zymaflore™ KLIMA (Laffort, Francia), capaz de producir etanol y ácido málico; y Zymaflore™ FX10 (Laffort, Francia), productora principalmente de etanol. Como resultado, tanto KLIMA como FX10, completaron la fermentación en nueve y siete días, respectivamente. Los vinos obtenidos con KLIMA mostraron menor grado alcohólico (13,87% v/v) que FX10 (14,3% v/v), mayor acidez total (7,78 g/L) que FX10 (6,62 g/L), menor pH (3,77) que FX10 (3,82), y menor acidez volátil (0,50 g/L) que FX10 (0,62 g/L). Además, KLIMA mostró mayores concentraciones de ácido láctico (0,52 g/L) y glicerol (13,18 g/L) que FX10 (0,03 g/L; 9,31 g/L, respectivamente) mediante análisis de FT-IR. Los resultados demuestran que la cepa bioacidificadora estudiada representa una alternativa viable para elaborar vinos Malbec más frescos y equilibrados, acordes a las demandas actuales.

## Evaluation of fermentation with bioacidifying *Saccharomyces cerevisiae* for the production of Malbec wines

### KEYWORDS

Bioacidification,  
Fermentation kinetics  
Malic acid  
Alcohol content

### ABSTRACT

The production of wines with lower alcohol content and higher acidity represents a challenge for the wine industry. The objective of this study was to investigate the fermentation kinetics and physicochemical parameters of Malbec wines fermented with a bioacidifying *Saccharomyces cerevisiae* strain compared to a traditional *S. cerevisiae* strain to determine its viability and impact. Malbec must from Luján de Cuyo (Mendoza) and two commercial *S. cerevisiae* strains were used: Zymaflore™ KLIMA (Laffort, France), capable of producing ethanol and malic acid; and Zymaflore™ FX10 (Laffort, France), which mainly produces ethanol. As a result, both KLIMA and FX10 completed fermentation in nine and seven days, respectively. The wines obtained with KLIMA showed a lower alcohol content (13.87% v/v) than FX10 (14.3% v/v), higher total acidity (7.78 g/L) than FX10 (6.62 g/L), lower pH (3.77) than FX10 (3.82), and lower volatile acidity (0.50 g/L) than FX10 (0.62 g/L). In addition, KLIMA showed higher concentrations of lactic acid (0.52 g/L) and glycerol (13.18 g/L) than FX10 (0.03 g/L; 9.31 g/L, respectively) by FT-IR analysis. The results demonstrate that the bioacidifying strain studied represents a viable alternative for producing fresher and more balanced Malbec wines, in line with current demands.

## 1. Introducción

En la actualidad, existe una demanda en el mercado por bebidas con menor contenido alcohólico e incluso por alternativas sin alcohol (Bucher et al., 2018), lo que se ha reflejado en un aumento superior al 7% en el volumen de estas bebidas en los 10 principales mercados globales en 2022 (Afonso et al., 2024). Esto se debe, principalmente, a la evolución de los hábitos de consumo hacia estilos de vida más saludables (Bucher et al., 2018).

Por otra parte, las principales regiones vitivinícolas están experimentando los efectos del cambio climático, siendo especialmente afectadas las áreas de clima cálido y seco (Keller, 2023), debido al aumento de las temperaturas que junto con los cambios en la distribución de las precipitaciones afectan de manera directa la producción agrícola (Vion et al., 2024; Kontoudakis et al., 2011). Actualmente, es cada vez más frecuente cosechar uvas con un alcohol potencial superior al 14% v/v (van Leeuwen & Darriet, 2016) debido a que se prioriza la madurez fenólica y aromática, lo que resulta en mostos con alta concentración de azúcar y baja acidez (Mira de Orduña, 2010; Kontoudakis et al., 2011).

Para lograr un equilibrio adecuado entre azúcar, alcohol y acidez, existen diversas estrategias que incluyen prácticas vitícolas, así como prefermentativas, posfermentativas y microbiológicas.

Dentro de las alternativas microbiológicas, se pueden emplear cepas comerciales no-*Saccharomyces* que presentan menor rendimiento en etanol ya que, en presencia de oxígeno, derivan parte del consumo de azúcares hacia la respiración (Crabtree-negativas), aunque existen dificultades para su aplicación en fermentaciones industriales (Martín Guindal, 2023). Esto ocurre porque no son capaces de completar la fermentación alcohólica por sí solas, por lo que es necesario realizar co-inoculaciones o inoculaciones secuenciales con cepas de *S. cerevisiae* (Mestre Furlani et al., 2017). Es una alternativa interesante por su impacto en la composición, el perfil aromático y el sabor del vino (Mestre Furlani et al., 2017), permitiendo aprovechar los beneficios de una fermentación espontánea sin los riesgos que supone el desarrollo sin control de estas levaduras iniciadoras (Catelén, 2022).

El uso de *S. cerevisiae* seleccionadas con poder bioacidificante, que metabolizan menores cantidades de ácido málico durante la fermentación (en condiciones normales varía entre 10 y 25%) (Ribéreau-Gayon et al., 2003a), representa una herramienta relevante en el contexto actual. Estas levaduras no solo permiten conservar niveles más altos de acidez en los vinos (Hidalgo Togores, 2010), sino que también poseen metabolismos alternativos que les permiten producir pequeñas cantidades de ácido málico. Este comportamiento se traduce en una menor eficiencia en la conversión de azúcar en etanol y puede emplearse para elaborar vinos de menor graduación alcohólica. Además, la capacidad de conservar y producir ácido málico no solo aporta frescura a nivel sensorial por sus efectos en el pH y acidez total, sino que también contribuye a la estabilidad física, química y microbiológica del vino.

Este estudio se enfoca en la comparación de la cinética fermentativa de una cepa bioacidificadora de *S. cerevisiae* respecto a una *S. cerevisiae* tradicional y en el análisis de las características fisicoquímicas de los vinos Malbec obtenidos, con el fin de evaluar la factibilidad de su aplicación en vinificación.

## 2. Materiales y métodos

### *Uvas para la elaboración*

El ensayo se realizó a partir de uvas Malbec (*Vitis vinifera L.*) provenientes de viñedos comerciales ubicados en Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina. Los racimos se cosecharon manualmente con un contenido de sólidos solubles de 24 °Brix.

### *Microorganismos empleados y preparación de inoculo*

Se utilizaron dos cepas comerciales de *S. cerevisiae*, Zymaflore™ KLIMA (Laffort, Francia) y Zymaflore™ FX10 (Laffort, Francia). La cepa KLIMA, que promete reducir el grado alcohólico de los vinos hasta un 0,5% v/v y reforzar su acidez, fue considerada como la cepa bioacidificadora. La cepa FX10 es una levadura fructofílica con alta tolerancia al alcohol y resistente en un amplio rango de temperaturas por lo que ofrece una alta seguridad fermentativa. Las levaduras se rehidrataron utilizando una dosis de 20 g/hL en agua a 37-38 °C, en un volumen equivalente

a 10 veces su peso, junto con 20 g/hL de Superstart®, tal como se indica en las fichas técnicas del producto.

#### *Elaboración del vino*

El experimento consistió en dos tratamientos (A=Zymaflorem™ KLIMA y B= Zymaflorem™ FX10), con tres réplicas cada uno. Los racimos se despalillaron, manteniendo los granos enteros, y se añadió bisulfito de amonio en solución acuosa ( $\text{NH}_4\text{HSO}_3$ ) en una dosis de 6 g/100 kg de uva como antiséptico y antioxidante. La uva despalillada se colocó en seis bins plásticos nuevos y limpios de 570 L, llenándolos hasta dos tercios de su capacidad con aproximadamente 400 L de mosto en cada uno.

Tras la adición de las levaduras, la temperatura y la densidad del mosto de cada bin se midieron dos veces al día, a intervalos de 12 horas entre cada registro. Antes de cada registro, se efectuaron bazuqueos para favorecer la extracción de compuestos polifenólicos y la homogeneización de temperatura, concentración de azúcar y distribución de microorganismos. En el tercer día de fermentación, se adicionó Nutristart® (Laffort, Francia) en una dosis de 25 g/hL.

Los datos de densidad del mosto en el tiempo durante el proceso de fermentación alcohólica permitieron graficar la cinética fermentativa. La velocidad fermentativa se calculó a intervalos diarios como el valor absoluto de la diferencia de azúcar consumida entre un día y el anterior. Los valores de azúcares se obtuvieron a partir de la densidad utilizando la tabla proporcionada en la resolución OIV-OENO 466-2012 de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2012).

Al alcanzar una densidad inferior a 0,994 g/mL, momento en el que se dio por finalizada la fermentación alcohólica, el vino permaneció durante cinco días adicionales en los bins, en contacto con los sólidos y cubiertos por una capa de hielo seco para inertizar. El vino no fue sometido a fermentación maloláctica, por lo que se realizó el sulfitado con metabisulfito de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) hasta alcanzar un valor de 30 mg/L de  $\text{SO}_2$  libre.

#### *Ánalisis fisicoquímico del mosto y vino*

Se utilizaron los métodos de análisis detallados en el Manual de Técnicas Analíticas para mostos y vinos

del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), aprobados por el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) (Nazrala et al., 2009).

El contenido de sólidos solubles en mosto se determinó con el índice de refracción con un refractómetro de mano de 0 - 32 °Brix (Arcano Green). El contenido de azúcar (g/L) y alcohol potencial (% v/v a 20 °C) se determinaron conforme a la tabla proporcionada en la resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012).

$$\text{Contenido en azúcares } \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) \times 0,05943 = \text{Grado alcohólico volumétrico potencial } \left( \% \frac{\text{v}}{\text{v}} \text{ a } 20^\circ\text{C} \right) \quad (1)$$

También se determinaron en el mosto la acidez total, pH, anhídrido sulfuroso libre y nitrógeno fácilmente asimilable.

En lo que concierne al vino terminado, se realizaron determinaciones inmediatamente después del final de la fermentación, incluyendo la cuantificación de azúcares reductores, alcohol etílico, pH, acidez total y acidez volátil. Como medida derivada, se calculó la tasa de conversión de azúcares en etanol a partir de la relación entre el azúcar fermentable y el porcentaje de etanol producido (Mestre Furlani et al., 2017):

$$\text{Tasa de conversión de azúcares} = \frac{\text{Az. inicial} - \text{Az. final}}{\text{Alcohol}} \quad (2)$$

donde Az. inicial corresponde al contenido de azúcar del mosto (g/L); Az. final corresponde al contenido de azúcar final (g/L), se consideró igual a 0 a fines prácticos según la tabla de la resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012); Alcohol corresponde al contenido de etanol (% v/v).

Adicionalmente, se utilizó el autoanalizador WineScan™ de FOSS bajo el principio FT-IR, conforme a la Resolución OIV-OENO 390-2010 (OIV, 2010), para cuantificar de manera simultánea diversos compuestos orgánicos (ácido málico, ácido láctico, ácido cítrico, glicerol, fructosa, glucosa, ácido glucónico, ácido tartárico y polifenoles totales mediante el índice de Folin-Ciocalteu).

#### *Ánalisis estadístico de los datos*

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) paramétrico en función del cumplimiento de los

supuestos de homogeneidad de varianzas, normalidad e independencia, seguido del post-test de Tukey. Cuando los supuestos no se cumplieron, se aplicó un análisis de varianza no paramétrico seguido del post-test de Kruskal-Wallis. Se consideró un valor de  $p<0,05$  como estadísticamente significativo. El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software InfoStat (v2013).

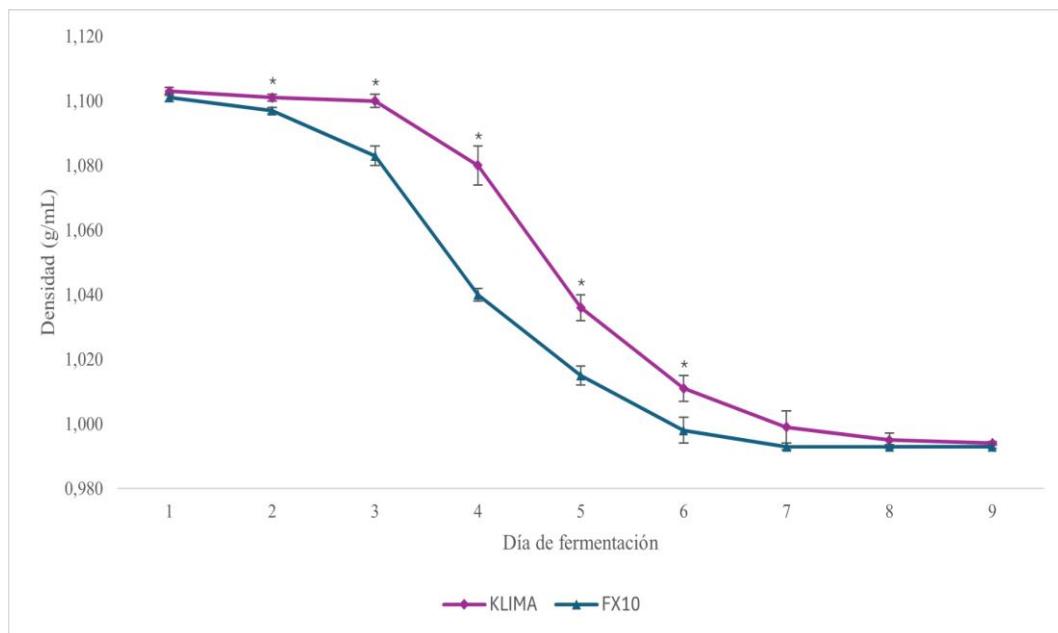
### 3. Resultados y Discusión

#### Parámetros fisicoquímicos del mosto

Previo a la inoculación de las levaduras, se determinaron los parámetros fisicoquímicos de los mostos correspondientes a ambos tratamientos (FX10 y KLIMA). En promedio, los mostos presentaron 24,15 °Brix, un alcohol potencial de 14,24% v/v y un contenido de azúcares de 217,62 g/L. El pH fue de 3,66, la acidez total de 4,81 g/L (expresada en ácido tartárico), el anhídrido sulfuroso libre de 5 mg/L y el nitrógeno fácilmente asimilable de 223 mg/L.

#### Cinética fermentativa y temperatura

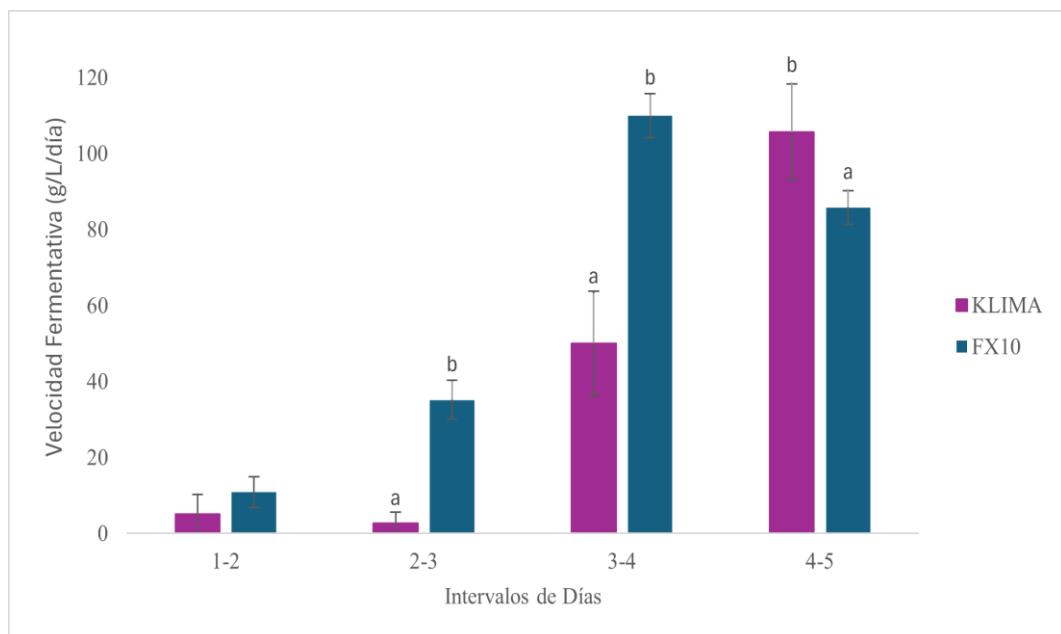
Con el objetivo de conocer y comparar la cinética de fermentación de las cepas de levaduras estudiadas, FX10 y KLIMA, se evaluó la cinética fermentativa a través de la evolución de la densidad a lo largo del tiempo. En la Figura 1, se observa que hubo diferencias estadísticamente significativas entre las densidades de las cepas FX10 y KLIMA a partir del día 2, siendo FX10 la que mostró valores de densidad inferiores en cada día evaluado. En el tratamiento con la cepa FX10, se observó una disminución significativa de la densidad el día 4 en comparación con el día previo (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey). En el tratamiento con KLIMA, este descenso pronunciado ocurrió en el día 5 en comparación con el día previo (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey). En ambos casos, este comportamiento podría atribuirse a la adición de nutrientes realizada en el tercer día (25 g/hL de Nutristart®), para favorecer el crecimiento de las levaduras y la correcta finalización de la fermentación. Las diferencias entre ambos tratamientos se mantuvieron hasta el día 6. La fermentación alcohólica finalizó en el día 7 para la cepa FX10, mientras que en KLIMA concluyó en el día 9, lo que evidencia una cinética fermentativa más lenta.



**Figura 1.** Evolución de la densidad promedio (g/mL) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10. Las barras corresponden a la desviación estándar, se indican con \* los días donde existe una diferencia significativa según ANOVA ( $p<0,05$ ).

Asimismo, se puede observar la velocidad fermentativa en la Figura 2. La cepa FX10 presentó una fase inicial de adaptación al medio durante los días 1 - 2, en la que la velocidad fermentativa fue baja ( $10,83 \pm 4,07$  g/L/día). Entre los días 3 - 4 se alcanzó la máxima velocidad fermentativa ( $109,93 \pm 5,78$  g/L/día), seguida de una disminución

progresiva hasta la finalización de la fermentación. Por el contrario, KLIMA mostró una cinética más lenta, con velocidades mínimas en los días 1-2 y 2-3 ( $5,07 \pm 5,26$  y  $2,70 \pm 2,92$  g/L/día, respectivamente) lo que podría indicar una fase de latencia más prolongada.



**Figura 2.** Velocidad fermentativa por intervalos diarios de las cepas KLIMA y FX10, expresada como la reducción de la concentración de azúcar promedio (g/L) por día. Las barras corresponden a la desviación estándar. Letras distintas (a, b) indican diferencias significativas (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey).

La etapa de máxima velocidad fermentativa, que ocurrió entre los días 4 - 5 ( $105,67 \pm 12,56$  g/L/día), se alcanzó un día más tarde en comparación con FX10. El análisis estadístico no reflejó diferencias significativas entre las velocidades máximas alcanzadas por cada uno de los tratamientos (ANOVA,  $p > 0,05$ ), si bien fueron alcanzadas en días distintos, lo que sugiere que ambas cepas poseen una capacidad comparable para alcanzar velocidades máximas de fermentación.

El proceso de fermentación del vino fue monitoreado hasta que se constató su finalización al alcanzar densidades menores a 0,994 g/mL. La duración total de la fermentación mostró diferencias entre las cepas, con KLIMA finalizando en 9 días y FX10 en 7 días, aunque ambas completaron el proceso exitosamente.

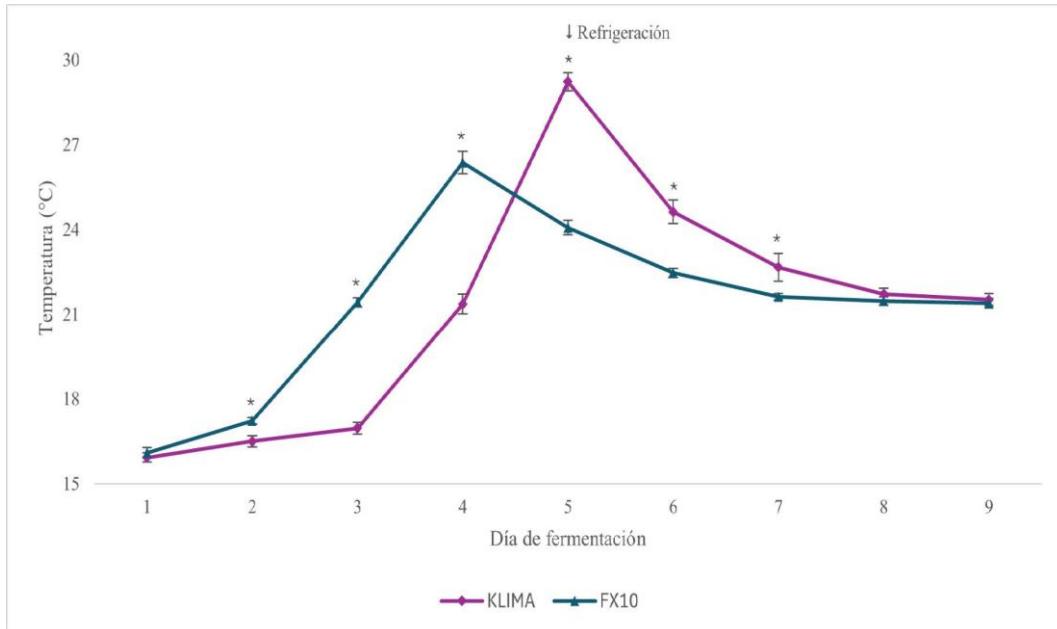
Las diferencias observadas en la duración y la cinética de la fermentación reflejan tanto la

capacidad de adaptación y multiplicación de cada cepa como las particularidades de su metabolismo. La cepa FX10 presentó una fermentación más rápida y homogénea, mientras que KLIMA mostró una cinética más lenta, con un retraso en la fase exponencial y una etapa de desaceleración más prolongada antes de completar la fermentación alcohólica. Estas variaciones podrían atribuirse a su actividad metabólica: FX10 dirige su metabolismo principalmente hacia la conversión de azúcares en etanol, mientras que KLIMA redirige parte de los intermediarios del metabolismo hacia la síntesis de ácido málico, favoreciendo la bioacidificación del medio.

Por otra parte, en la figura 3 se observa que FX10 mostró un incremento progresivo de la temperatura a lo largo del proceso, alcanzando su máximo en el día 4 ( $26,37^\circ\text{C} \pm 0,40$ ). Este comportamiento contrasta con KLIMA, que inicialmente mantuvo temperaturas más moderadas, pero alcanzó un pico

térmico superior en el día 5 ( $29,23^{\circ}\text{C} \pm 0,32$ ), coincidiendo con una intensa actividad fermentativa que provocó una marcada disminución en la densidad.

En el día 5 se aplicó hielo seco (solo en el tratamiento KLIMA) para prevenir un aumento excesivo de la temperatura, aunque ésta se mantenía dentro del rango recomendado para la fermentación de vinos tintos (Hidalgo Togores, 2010).



**Figura 3.** Evolución de la temperatura promedio ( $^{\circ}\text{C}$ ) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10. Las barras corresponden a la desviación estándar, se indican con \* los días donde existe una diferencia significativa según ANOVA ( $p<0,05$ ).

Para ambas cepas, se encontró una correlación positiva entre la temperatura promedio y la velocidad fermentativa (KLIMA,  $r = 0,52$ ,  $p = 0,0091$ ; FX10,  $r = 0,56$ ,  $p = 0,0040$ ), lo que indica que un aumento en la velocidad fermentativa generaría un incremento en la temperatura. Este resultado es coherente, dado que una mayor velocidad fermentativa implica una mayor actividad metabólica de las levaduras y, al tratarse de reacciones exotérmicas, la liberación de calor explica el incremento de la temperatura observado (Hidalgo Togores, 2010). En la etapa final de fermentación (días 8 y 9), las temperaturas en ambos tratamientos se estabilizaron en valores cercanos a 21–22  $^{\circ}\text{C}$ , sin diferencias estadísticamente significativas (ANOVA,  $p>0,05$ ), reflejando la disminución de la actividad metabólica de las levaduras.

#### Parámetros fisicoquímicos del vino terminado

Los resultados muestran que el contenido medio de etanol fue mayor en el tratamiento FX10, con un promedio de  $14,3 \pm 0,1$  % v/v; mientras que el tratamiento KLIMA alcanzó un promedio de  $13,87 \pm 0,06$  % v/v (ANOVA,  $p < 0,05$ , Tukey) (Tabla 1). Este resultado es consistente con la caracterización de la cepa FX10 como levadura de alto rendimiento alcohólico, mientras que la cepa KLIMA presentó una producción inferior relacionada con su capacidad de desviar parte de los azúcares hacia la síntesis de metabolitos distintos al etanol. Esta disminución del 0,43% v/v se aproxima a lo indicado en la ficha técnica de KLIMA, que reporta reducciones de hasta 0,5% v/v.

**Tabla 1.** Parámetros fisicoquímicos de las cepas FX10 y KLIMA al finalizar la fermentación alcohólica y su comparación entre tratamientos.

Parámetro	KLIMA	FX10	p-valor*
Alcohol (% v/v)	13,87 ± 0,06	14,3 ± 0,1	0,0029
Acidez Total (g/L de ácido tartárico)	7,78 ± 0,03	6,62 ± 0,02	<0,0001
Acidez Volátil (g/L de ácido acético)	0,50 ± 0,01	0,63 ± 0,03	0,0015
pH	3,77 ± 0,02	3,82 ± 0,01	0,0101

\* p-valor corresponde a ANOVA.

Respecto al alcohol potencial, para el mosto inoculado con FX10 se obtuvo un valor de  $14,22 \pm 0,11$  % v/v, que no difirió significativamente del alcohol realmente obtenido ( $14,3 \pm 0,1$  % v/v) (ANOVA,  $p>0,05$ ). Por el contrario, el alcohol potencial calculado para el mosto inoculado con KLIMA ( $14,25 \pm 0,04$  % v/v) resultó significativamente mayor que el alcohol realmente obtenido ( $13,87 \pm 0,06$  % v/v) (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey). Esto se debe a las rutas metabólicas alternativas de KLIMA que reducen la eficiencia de conversión en alcohol. Por lo tanto, la estimación del alcohol potencial antes de la fermentación alcohólica resulta más compleja al utilizar KLIMA, ya que las tablas y factores de corrección suelen basarse en cepas con alta eficiencia en la producción de etanol. Al finalizar la fermentación, la concentración de azúcares reductores fue mínima ( $1,80 \pm 0$  g/L) para ambas cepas, lo que confirma que el proceso se completó y el vino se consideró seco.

En relación a la tasa de conversión de azúcares en etanol, las cepas evaluadas presentan tasas más bajas en comparación con valores teóricos, que se sitúan entre 16 a 17 g/L por cada 1% v/v de etanol producido dependiendo de las condiciones del medio y del tipo de levadura (Hidalgo Togores, 2010). Los valores promedio se situaron en 15,70 g/L % v/v ± 0,02 para KLIMA y 15,21 g/L % v/v ± 0,02 para FX10, mostrando diferencias significativas entre cepas (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey). Resultados similares fueron reportados por Mestre Furlani et al. (2017), quienes observaron en *S. cerevisiae* BSc114 una tasa de conversión de 16,04 g/L % v/v, valor próximo al teórico y consistente con lo esperado para estas cepas. Estos resultados indican que la cepa KLIMA presentó una tasa de conversión de azúcares en etanol superior al de FX10, lo cual indica que consume más azúcar por unidad de alcohol producido e implica diferencias en la eficiencia relativa de conversión de azúcares en etanol entre las cepas estudiadas. Este comportamiento era esperable, dado que KLIMA se caracteriza por

desviar parte del azúcar hacia otras rutas metabólicas y su capacidad para preservar la acidez, lo que reduce su eficiencia en la producción exclusiva de etanol. Esta característica podría resultar beneficiosa para su aplicación en mostos con elevada concentración de azúcar, ya que permitiría obtener vinos con menor graduación alcohólica y mayor frescura.

Por otra parte, la cepa KLIMA presentó una acidez total de  $7,78 \pm 0,03$  g/L, significativamente superior a la observada en FX10 ( $6,62 \pm 0,02$  g/L) (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey) (Tabla 1). Este resultado confirma que KLIMA permite conservar e incluso aumentar la acidez durante la fermentación alcohólica, promoviendo una mayor acidificación del medio en comparación con FX10.

Respecto a la acidez volátil, FX10 presentó un valor promedio de  $0,63 \pm 0,03$  g/L, significativamente superior al registrado para KLIMA ( $0,50 \pm 0,01$  g/L) (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey) (Tabla 1). La acidez volátil puede generarse como subproducto de la fermentación alcohólica de *S. cerevisiae*, también es un producto del metabolismo de bacterias acéticas y lácticas (Vilela et al., 2010). Si bien ambas cepas produjeron niveles aceptables de acidez volátil, este parámetro está directamente asociado a la calidad de los vinos, dado que concentraciones elevadas repercuten de manera negativa en la misma (Ribéreau-Gayon et al., 2003b). La menor producción registrada para la cepa KLIMA constituye una ventaja tanto sensorial como enológica.

En cuanto al pH, los valores también difirieron significativamente entre tratamientos (ANOVA,  $p<0,05$ , Tukey) (Tabla 1), siendo el vino fermentado con la cepa KLIMA ( $3,77 \pm 0,02$ ) ligeramente más ácido que el fermentado con FX10 ( $3,82 \pm 0,01$ ). Esta disminución del pH es coherente con la mayor acidez total observada en KLIMA respecto a FX10, lo que confirma su capacidad para conservar o incluso aumentar la acidez durante la fermentación alcohólica. Como consecuencia, la acidificación del

medio contribuye favorablemente a la estabilidad microbiológica, a la eficacia del uso de anhídrido sulfuroso y a la percepción de frescura del vino. Adicionalmente, se realizó un análisis fisicoquímico complementario de los vinos elaborados con las cepas FX10 y KLIMA con el autoanalizador

WineScan™ de FOSS bajo el principio FTIR. Para este análisis, se trabajó con una muestra por tratamiento obtenida de la homogeneización de las tres réplicas, por lo que no fue posible realizar un análisis estadístico. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Resultados del análisis fisicoquímico complementario con autoanalizador de las cepas KLIMA y FX10.

Parámetro	KLIMA	FX10
Ácido málico (g/L)	2,57	2,81
Ácido láctico (g/L)	0,52	0,03
Fructosa (g/L)	1,53	1,78
Glucosa (g/L)	0,17	0,64
Ácido cítrico (g/L)	0,65	0,63
Índice Folin-Ciocalteu	45,93	42,92
Ácido glucónico (g/L)	0,00	0,00
Glicerol (g/L)	13,18	9,31
Ácido tartárico (g/L)	1,49	1,52
Fructosa + Glucosa (g/L)	1,70	2,42

Respecto al contenido de ácido málico, obteniéndose valores de 2,81 g/L para FX10 y 2,57 g/L para KLIMA. Aunque ambos tratamientos presentaron concentraciones similares, se esperaba un contenido más elevado para KLIMA debido a su capacidad de biosíntesis de ácido málico a partir de rutas metabólicas secundarias. La menor concentración observada podría explicarse, al menos en parte, por la temperatura máxima alcanzada por KLIMA durante la fermentación: en el día 5 se registraron temperaturas elevadas ( $29,23^{\circ}\text{C} \pm 0,32$ ), las cuales, según Su et al. (2014), podrían favorecer la degradación del ácido málico por cepas termotolerantes como *S. cerevisiae*. En este contexto, es relevante señalar que KLIMA fue el único tratamiento en el que se aplicó refrigeración y refleja la importancia de controlar la temperatura para no comprometer el potencial de bioacidificación.

Estudios previos han demostrado que ciertas cepas seleccionadas de *S. cerevisiae* pueden producir hasta 3 g/L de ácido málico y reducir el pH del vino hasta en 0,5 unidades en comparación con cepas consumidoras de este ácido (Vion et al., 2023). En la misma línea, Yeramian et al. (2007) aislaron cepas de *S. cerevisiae* y encontraron que solo 10 de un total de 282 fueron capaces de producir ácido L(-)-málico en concentraciones de entre 0,5 y 1 g/L durante la fermentación alcohólica. Según estos autores, las levaduras sintetizan ácido málico L(-) a través de la

vía del fumarato, catalizada por la enzima fumarasa citosólica o mitocondrial, o a través del ácido oxalacético, catalizada por la enzima malato deshidrogenasa. Además, se observó que la producción de ácido málico se vio favorecida por temperaturas entre 18 y 25 °C, así como por mostos con pH elevado y bajas concentraciones de azúcar, ácido málico inicial y nitrógeno fácilmente asimilable (Yeramian et al., 2007).

Por otra parte, el tratamiento con KLIMA presentó una concentración más elevada de ácido láctico (0,52 g/L) en comparación con FX10 (0,03 g/L). Este resultado es coherente con la mayor acidez total observada en KLIMA respecto a FX10. La mayor concentración de ácido láctico podría estar asociada al metabolismo de la levadura o a una fermentación maloláctica parcial realizada por bacterias ácido lácticas en paralelo a la fermentación alcohólica. La primera posibilidad resulta poco probable, ya que *S. cerevisiae* solo produce trazas de ácido láctico durante la fermentación debido a la ineficiencia de las enzimas lactato deshidrogenasas en las mitocondrias (Vicente et al., 2022). La segunda posibilidad resulta más probable, ya que también explicaría la menor concentración de ácido málico en KLIMA, al haber sido parcialmente metabolizado por bacterias lácticas. Es posible que estas bacterias, presentes en la vendimia y capaces de alcanzar poblaciones de 102 células/mL durante la fermentación alcohólica (Hidalgo Togores, 2010), se

hubieran desarrollado antes de que finalizara la fermentación y comenzado a degradar el ácido málico, previo al sulfitado e inertización final. Finot (2018) obtuvo resultados similares, observando que los vinos elaborados con levaduras bioacidificadoras presentaron mayor acidez total y niveles más altos de ácido láctico al final de la fermentación en comparación a levaduras convencionales.

Respecto a la concentración de glicerol, fue mayor en KLIMA (13,18 g/L) frente a FX10 (9,31 g/L). Estos resultados coinciden con los reportados por Pascual et al. (2017), quienes observaron que los vinos fermentados con una cepa bioacidificadora presentaban un menor contenido de alcohol y una mayor concentración de glicerol, concluyendo que la levadura redirige parte del flujo metabólico de los azúcares hacia la producción de glicerol.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el impacto de KLIMA sobre la acidez del vino no se limita exclusivamente a la acumulación de ácido málico. Por el contrario, su contribución parece responder a un equilibrio más complejo de ácidos orgánicos, lo cual debe ser considerado al evaluar su utilidad tecnológica en mostos con baja acidez inicial.

En cuanto a los azúcares reductores (expresados como fructosa + glucosa), se observaron valores bajos, con 2,42 g/L en FX10 y 1,70 g/L en KLIMA. Los resultados confirman que la fermentación alcohólica fue completa, obteniéndose vinos secos (<4 g/L) (Instituto Nacional de Vitivinicultura, 2012).

#### 4. Conclusiones

La cepa *S. cerevisiae* bioacidificadora evaluada (Zymaflore™ KLIMA) en las vinificaciones a escala piloto realizadas con la variedad Malbec, presentó una cinética fermentativa más lenta en comparación con la cepa de *S. cerevisiae* tradicional productora principalmente de etanol (Zymaflore™ FX10). La cepa bioacidificadora se caracterizó por una mayor fase de latencia y una etapa de desaceleración más prolongada; no obstante, estas diferencias no afectaron su capacidad para completar la fermentación, la cual finalizó en nueve días, frente a los siete días requeridos por la cepa tradicional. En particular, el control de la temperatura durante la fermentación con KLIMA resulta un factor clave para preservar su potencial bioacidificador.

En cuanto a la composición final de los vinos, el tratamiento con la cepa bioacidificadora alcanzó un menor grado alcohólico ( $13,87 \pm 0,06$  % v/v) en comparación con la cepa tradicional ( $14,3 \pm 0,1$  % v/v), lo que confirma su potencial para la elaboración de vinos con menor graduación alcohólica. Asimismo, también mostró una acidez total superior ( $7,78 \pm 0,03$  g/L) y un pH más bajo ( $3,77 \pm 0,02$ ) respecto a la cepa tradicional ( $6,62 \pm 0,02$  g/L y  $3,82 \pm 0,01$ , respectivamente), lo que confirma su capacidad de preservar e incrementar la acidez durante la fermentación alcohólica. Cabe destacar que la cepa bioacidificadora presentó, además, valores más bajos de acidez volátil ( $0,50 \pm 0,01$  g/L) en comparación con la cepa tradicional ( $0,63 \pm 0,03$  g/L), lo que representa una ventaja adicional no reportada previamente, debido al impacto negativo que este parámetro puede tener sobre la calidad del vino.

En términos de ácidos orgánicos, ambas cepas mostraron concentraciones similares de ácido málico (2,57 g/L y 2,81 g/L para la cepa bioacidificadora y la tradicional, respectivamente). Sin embargo, los vinos elaborados con la cepa bioacidificadora mostraron mayores concentraciones de ácido láctico (0,52 g/L) y glicerol (13,18 g/L), compuestos que contribuyen positivamente a la calidad sensorial del vino, sugiriendo que la capacidad de acidificación podría responder a un metabolismo más complejo que involucra no sólo a la producción de ácido málico.

#### 5. Agradecimientos

A la Bodega Alta Vista y a Adrián Meyer, por su colaboración en la realización del ensayo y por proporcionar los materiales necesarios para la elaboración y el análisis fisicoquímico de los vinos. Al Laboratorio MAG SRL, por llevar a cabo los análisis mediante el autoanalizador FT-IR FOSS.

#### 6. Referencias

- Afonso, S. M., Inês, A., & Vilela, A. (2024). Bio-dealcoholization of wines: Can yeast make lighter wines? *Fermentation*, 10(1), 36.
- Bucher, T., Deroover, K., & Stockley, C. (2018). Low-alcohol wine: A narrative review on consumer perception and behaviour. *Beverages*, Volumen 4(4), 82.
- Catelén, M. J. (2022). Combinación de estrategias pre-fermentativas y fermentativas para

- reducir el contenido de alcohol y el pH en vinos Malbec. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2017). InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>
- Finot, M. (2018). Testing the effect of yeast strain (CY3079 vs. Iony's WF, ScottLabs) and fermentation temperature on chemistry and flavor of Chardonnay. King Family Vineyards.}
- Hidalgo Togores, J. (2010). Tratado de Enología, Tomo I (2da ed.). Ediciones Mundi-Prensa.
- Instituto Nacional de Vitivinicultura. (2012). Resolución Nº 61/2012. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- International Organisation of Vine and Wine. (2010). Resolution OIV-OENO 390/2010: Guidelines on infrared analysers in enology. OIV.
- International Organisation of Vine and Wine. (2012). Resolution OIV-OENO 466/2012: Modification of the method of evaluation by refractometry of the sugar concentration in grapes, musts, concentrated grape musts and rectified concentrated grape musts. OIV.
- Keller, M. (2023). Climate change impacts on vineyards in warm and dry areas: Challenges and opportunities. American Journal of Enology and Viticulture, 74(2), 0740033.
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2011). Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. Australian Journal of Grape and Wine Research, 17(2), 230–238.
- Laffort. (2024). Catálogo Laffort 2024. Recuperado de [https://laffort.com/wp-content/uploads/Catalogues/CT\\_ES\\_Laffort\\_2024.pdf](https://laffort.com/wp-content/uploads/Catalogues/CT_ES_Laffort_2024.pdf)
- Martín Guindal, A. (2023). Estrategias de uso de *Saccharomyces cerevisiae* en fermentaciones aeróbicas (Tesis doctoral). Universidad de La Rioja, España.
- Mestre Furlani, M. V., Maturano, Y. P., Combina, M., Mercado, L. A., Toro, M. E., & Vazquez, F. (2017). Selection of non-*Saccharomyces* yeasts to be used in grape musts with high alcoholic potential: A strategy to obtain wines with reduced ethanol content. FEMS Yeast Research, 17(2), fox010.
- Mira de Orduña, R. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. Food Research International, 43(7), 1844–1855.
- Nazrala, J. J. B., Paladino, S. C., Vila, H. F., & Lucero, C. C. (2009). Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos. Ediciones INTA.
- Pascual, O., Pons-Mercadé, P., Gombau, J., Ortiz-Julien, A., Heras, J., Fort Marsal, M. F., Canals, J.-M., & Zamora, A. (2017). Study of the effectiveness of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* selected for the production of wines with higher acidity and lower alcoholic strength. BIO Web of Conferences, 9, 02002.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2003a). Tratado de enología. Tomo I: Microbiología del vino – Vinificaciones (1ª ed.). Ediciones Hemisferio Sur-Mundi-Prensa.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2003b). Tratado de enología. Tomo II: Química del vino – Estabilización y tratamientos (1ª ed.). Ediciones Hemisferio Sur-Mundi-Prensa.
- Su, J., Wang, T., Wang, Y., Li, Y.-Y., & Li, H. (2014). The use of lactic acid-producing, malic acid-producing, or malic acid-degrading yeast strains for acidity adjustment in the wine industry. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(6), 2395–2413.
- Su, J., Wang, T., Wang, Y., Li, Y.-Y., & Li, H. (2014). The use of lactic acid-producing, malic acid-producing, or malic acid-degrading yeast strains for acidity adjustment in the wine industry. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(6), 2395–2413.
- van Leeuwen, C., & Darriet, P. (2016). The impact of climate change on viticulture and wine quality. Journal of Wine Economics, 11(2), 150–167.
- Vicente, J., Baran, Y., Navascués, E., Santos, A., Calderón, F., Marquina, D., Rauhut, D., & Benito, S. (2022). Biological management of acidity in wine industry: A review. International Journal of Food Microbiology, 375, 109726.
- Vilela, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A., Silva, R., Chaves, S., Sousa, M., & Corte-Real, M. (2010). The impact of acetate metabolism

on yeast fermentative performance and wine quality: Reduction of volatile acidity of grape musts and wines. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(2), 271–280.

Vion, C., Muro, M., Bernard, M., Richard, B., Valentine, F., Yeramian, N., Masneuf-Pomarède, I., Tempère, S., & Marullo, P. (2023). New malic acid producer strains of *Saccharomyces cerevisiae* for preserving wine acidity during alcoholic fermentation. *Food Microbiology*, 112, 104209.

Vion, C., Yeramian, N., Hranilovic, A., Masneuf-Pomarède, I., & Marullo, P. (2024). Influence of yeasts on wine acidity: New insights into *Saccharomyces cerevisiae*. *OENO One*, 58(4).

Yeramian, N., Chaya, C., & Lepe, J. (2007). L-(-)-Malic acid production by *Saccharomyces* spp. during the alcoholic fermentation of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 912–919.