

Del 7 al 10 de mayo de 2019

**CENTRO UNIVERSITARIO  
SANTA ANA  
ALMENDRALEJO**



**XLI JORNADAS  
DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA  
TIERRA DE BARROS**

I Congreso Agroalimentario de Extremadura

**XLI Jornadas  
de VITICULTURA Y ENOLOGÍA  
de la Tierra de Barros  
I Congreso Agroalimentario de Extremadura**

**Edita:**

Centro Universitario Santa Ana  
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2  
Almendralejo  
Tel. 924 661 689  
<http://www.univsantana.com>

**Ilustración de portada:**

© Vito Cano.  
Detalle del mural del mercado de abastos “Las mercedes”  
Almendralejo (Badajoz)

**Diseño original:**

Tecnigraf S.A.

**Maquetación:** Virginia Pedrero

ISBN: 84-7930-109-0

D.L.:

Imprime: Impresal

# Evaluación de la eficiencia fermentativa de levaduras resistentes a los efectos del cambio climático en la vid

MARTÍN-GARCÍA, F.J.<sup>1,2</sup>

PALACIOS, S.<sup>2</sup>

PUIG-PUJOL, A.<sup>3</sup>

LÓPEZ DE LERMA, N.<sup>2</sup>

MAURICIO, J.C.<sup>1</sup>

PEINADO, R.A.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Ed. Severo Ochoa (C6), Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, España.

<sup>2</sup>Departamento de Química Agrícola, Ed. Marie Curie (C3), Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, España.

<sup>3</sup>IRTA-INCAVI, Polígono Industrial Domenys II, Plaça l'Àgora, 2-3, 08720. Vilafranca del Penedès, Barcelona, España.

\* Tel. (+34) 957218534, e-mail: rafael.peinado@uco.es

## RESUMEN

El cambio climático influye notablemente en la composición de mostos y vinos, constituyendo un problema grave para el sector vitivinícola. Una de las tendencias actuales es la selección de levaduras capaces de fermentar con solvencia en condiciones adversas. Se ha evaluado la influencia de un mayor

contenido de azúcar y la presencia de sulfuroso como agente antimicrobiano en la producción de compuestos volátiles en vino tinto y en la cinética de fermentación, empleando tres cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae* diferentes: LC (comercial), Sc1 y Sc5 (seleccionadas). Se determinó que el sulfuroso ralentizaba el tempo de las fermentaciones mediadas por las tres levaduras, pero no hubo diferencias significativas debidas al mayor contenido en azúcar. Los compuestos volátiles analizados se agruparon en nueve series aromáticas, destacando los aromas a fruta verde y fruta madura para todas las levaduras, siendo los mayores valores obtenidos por Sc1. El análisis de cluster, usando como variables clasificadoras las series aromáticas, pone de manifiesto que la levadura LC no se vio afectada por las distintas condiciones de ensayo, mientras que la presencia de sulfuroso constituye un factor diferencial para las levaduras seleccionadas.

**Palabras clave:** cambio climático, levaduras, sulfuroso, volátiloma.

#### ABSTRACT

Climate change has a significant influence on the production of musts and wines, turning into a serious problem for the wine sector. One of the current trends is the selection of yeasts able to ferment with solvency in adverse conditions. The influence of a higher sugar content and the presence of sulphurous as an antimicrobial agent in the production of volatile compounds in red wine and fermentation kinetics were evaluated, using three different *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains for it: LC (commercial), Sc1 and Sc5 (selected). The results determined that sulphurous decreases the fermentation rhythm in all cases, although the sugar content does not alter fermentation kinetics significantly. Volatile compounds were analyzed and grouped in nine aromatic series, highlighting green fruit and mature fruit aromas for every yeast especially in Sc1. Cluster analysis shows that the commercial yeast is not affected by the different test conditions, while the presence of sulphurous is a differential factor between Sc1 and Sc5.

**Keywords:** climate change, yeasts, sulphurous, volatilome.

## INTRODUCCIÓN

España es considerada como uno de los países líderes en producción y comercialización de vino, y presenta uno de los mayores niveles de exportación a nivel internacional. Numerosas regiones vitivinícolas se encuentran distribuidas por toda la geografía española, dedicadas a la elaboración de productos véricos de gran variedad y calidad organoléptica. Por esta razón, una de las mayores preocupaciones para el sector es el efecto cada vez más patente del cambio climático en los cultivos de vid, así como sus consecuencias en la producción y conservación de los vinos.

La irregularidad de las precipitaciones anuales y la mayor duración de la época cálida del año provocan que la vid esté muy sometida a un importante estrés hídrico y a un nivel elevado de salinidad en el suelo (Chaves *et al.*, 2010; Grimplet *et al.*, 2008). Varios autores han detallado las consecuencias de estos efectos en los cultivos de vid, entre los cuales destacan la disminución del peso de la baya, con los consiguientes problemas en la maduración (Van Leeuwen *et al.*, 2013; Moreno & Peinado, 2012; Jones *et al.*, 2005); un aumento pronunciado de azúcares en la baya; un elevado grado alcohólico en los vinos y una disminución en la acidez que afecta a los contenidos de ácido tartárico y ácido málico, siendo este último el más importante en la acidez de la uva (Armas, 2014; Ruffner, 1982).

En el caso de las uvas tintas, año tras año se produce un desfase notable entre la madurez de azúcar y la madurez fenólica, debido a la necesidad de dejar madurar más tiempo la uva para que adquiera su color tinto, lo cual conlleva una concentración final mucho mayor de azúcar en la baya. Este factor, agravado por el sometimiento a temperaturas mayores a 30°, desencadena un descenso de las sustancias aromáticas y polifenólicas, cuya síntesis se inhibe en estas condiciones (Armas, 2014).

A estos efectos desfavorables se añaden otros como el aumento de la evapotranspiración de la planta, que reduce las reservas hídricas del suelo; la pérdida de cosecha por falta de agua y nutrientes; la detención prematura del crecimiento vegetativo; cambios en el proceso fotosintético y en las rutas metabólicas, hormonales, de transcripción y de señalización (Cramer, 2010); y la aparición de enfermedades o favorecimiento de las ya existentes, siendo necesario el uso elevado de fitosanitarios en la planta o en el producto.

A pesar de los mecanismos que la vid desencadena para su adaptación a condiciones desfavorables, como el incremento de raíces y su profundidad

(Rogiers *et al.*, 2012; Lovisolo *et al.*, 2010), todas estas consecuencias desencadenadas por el cambio climático acaban afectando no solo a la planta, sino también al producto, alterando de forma no deseada sus cualidades organolépticas (Orduña, 2010; Boulton *et al.*, 1996).

Existen algunas tendencias científicas que buscan paliar la acción del cambio climático en diversas áreas. Por un lado, se ha comenzado a indagar en la búsqueda de las bases genéticas que regulan la resistencia de la vid a estas condiciones de estrés con el fin de potenciar esa resistencia (Van Leeuwen *et al.*, 2013). De igual modo, se han comenzado a seleccionar genotipos deseados en las variedades cultivadas, dada la mayor diversidad genética que presentan frente a las variedades silvestres (Orduña, 2010).

La fermentación vínica por parte de levaduras también es condicionada por el estrés biótico y abiótico. El nivel elevado de azúcar puede provocar una fermentación incompleta que dé lugar a vinos con gran cantidad de azúcares residuales y defectos organolépticos (Santos *et al.*, 2008), o por el contrario, una fermentación completa que derive en un grado alcohólico demasiado elevado en el producto final. Por ello, una tendencia de investigación reciente es el aislamiento y la selección de levaduras capacitadas para fermentar mostos con solvencia en condiciones extremas, de modo que se asemejen a la conducta fermentativa en condiciones óptimas para el cultivo y las levaduras y permitan obtener vinos de calidad (Muñoz-Bernal *et al.*, 2013).

Es deseable que dichas levaduras sean capaces de resistir las altas concentraciones de azúcar, el mayor grado alcohólico del vino resultante, y la aplicación de agentes antimicrobianos como el anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>). El uso de este compuesto se ha convertido en un procedimiento prácticamente irremplazable en el proceso de vinificación, ya que presenta múltiples ventajas.

Se trata de un compuesto antiséptico, que a dosis controladas permite controlar e inhibir la actividad bacteriana y la proliferación de microorganismos no deseados; también es antioxidante, con capacidad de evitar que los compuestos fenólicos y algunos componentes del aroma del vino sufran oxidaciones demasiado intensas; y por último, es antioxidásico, inhibiendo la funcionalidad de algunas enzimas oxidasas para que no actúen antes del inicio de la fermentación (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). El uso de este compuesto debe estar controlado, ya que dosis elevadas también pueden

alterar el resultado final, no solo a nivel organoléptico opacando el aroma de los vinos, sino también produciendo toxicidad para el consumidor (Togores, 2010; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003).

El objetivo de este proyecto es comparar la eficiencia fermentativa de tres tipos de levaduras, una comercial y dos seleccionadas, para evaluar su tolerancia frente a concentraciones de azúcar elevadas y a la presencia de sulfuroso en mosto tinto.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han empleado tres cepas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* diferentes. Como control, se ha usado la cepa Lalvin Clos (LC), una cepa comercial con destacada capacidad fermentativa y elevada tolerancia a la presencia de SO<sub>2</sub> en el medio (Catálogo Lallemend Enología). Se ha buscado comparar la eficiencia fermentativa de esta cepa con otras dos, denominadas Sc1 y Sc5, seleccionadas como buenas fermentadoras en condiciones extremas mediante screening por el Institut Catalá de la Vinya i el Vi (INCAVI) y proporcionadas por el Departamento de Microbiología de la Universidad de Córdoba. Los preinóculos de levaduras se realizaron en medio YPD (1% de extracto de levadura, 2% de peptona y 2% de glucosa en agua destilada) incubándose a 28°C durante 48 horas a 165 rpm.

Las fermentaciones se llevaron a cabo en mosto tinto pasteurizado. Se ensayaron dos concentraciones de azúcar: 220 g/L y 250 g/L, ambas superiores a la concentración base del mosto: 192 g/L. Para la concentración más alta, se estudió el efecto de la presencia y la ausencia de SO<sub>2</sub>, añadiendo en el caso correspondiente 75 mg/L del compuesto en forma de metabisulfito potásico (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

Se inocularon dos matraces de 250 mL por cada levadura y cada condición experimental con una densidad de 1\*10<sup>6</sup> células/mL. La fermentación se realizó a 22°C.

La evaluación de la cinética de fermentación se realizó mediante la medida de la pérdida de masa de los mostos, debida al desprendimiento de CO<sub>2</sub> durante la fermentación (Bely *et al.*, 1990; Sablayrolles *et al.*, 1987). Los puntos de control se realizaron una vez cada 24 horas. La fermentación se dio por finalizada cuando la pérdida de peso observada era igual a la de un medio de fermentación control sin levaduras. Los valores de cinética se

obtuvieron mediante la representación la pérdida de peso por unidad de tiempo durante el tiempo total transcurrido.

Los parámetros enológicos pH, acidez titulable, grado alcohólico, nivel de azúcares residuales y acidez volátil se determinaron según los métodos oficiales de la CE (CEE, 1990).

La cuantificación de compuestos volátiles minoritarios se llevó a cabo mediante un sistema de cromatografía de gases asociado a espectrofotometría de masas, y se realizó al final de la fermentación con muestras de vino por triplicado tras retirar las levaduras fermentadoras.

Para identificar la existencia de diferencias significativas en las variables enológicas y la agrupación de compuestos volátiles minoritarios por series aromáticas se ha realizado un análisis de los grupos homogéneos. El análisis de conglomerados (clúster) mediante el método de Ward se ha llevado a cabo según la metodología realizada por autores como López de Lerma *et al.*, 2014; o García-Martínez *et al.*, 2015. Para realizar estos análisis se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Plus v. 2, de STSC, Inc. (Rockville, MD).

## RESULTADOS

### **Cinética de fermentación**

Los resultados de cinética de las fermentaciones de las levaduras LC, Sc1 y Sc5 en las diferentes condiciones de estudio se representan en las Figuras 1, 2 y 3, respectivamente.

Finalizada la fermentación, no se apreciaron diferencias derivadas de las concentraciones crecientes de azúcar en la conducta fermentativa de las tres levaduras, determinándose que las levaduras son igual de eficientes fermentando mostos con ambas cantidades iniciales de azúcar. Como cabría esperar, en los tres casos la fermentación se da por concluida en un tiempo menor cuando la concentración de azúcar es más baja. Sin embargo, la presencia de sulfuroso si pareció ser determinante en el ritmo de fermentación de las tres levaduras, observándose un retardo en el inicio de las mismas, así como el hecho de que la máxima producción de etanol al día no alcanzó los niveles máximos obtenidos en ausencia de sulfuroso.



### 3.2. Parámetros enológicos

El pH de todos los vinos obtenidos mostró valores comprendidos entre 3 y 3.5, constituyendo niveles adecuados para evitar la contaminación de los vinos por microorganismos no deseados (Moreno y Peinado, 2012). También los valores de acidez total se mostraron dentro de los niveles de normalidad en todos los casos, en torno a 6 g/L. Los valores de ácido acético en los vinos se encontraron del mismo modo dentro de los límites legales permitidos (iguales o inferiores a 1,2 g/L).

En relación a la cantidad de azúcar residual que permanecía en los vinos finalizada la fermentación (Figura 4), se observó que con las levaduras seleccionadas (Sc1 y Sc5) se habían obtenido vinos secos, es decir, vinos con un nivel de azúcar residual inferior a 5 g/L (Moreno y Peinado, 2012). Por el contrario, con la levadura comercial (LC), todas las fermentaciones dieron como resultado vinos con un contenido mayor a 5 g/L de azúcar residual. Es apreciable que, en los tres casos, las fermentaciones de mostos con la concentración de azúcar inicial más baja derivaron en un nivel de azúcar residual menor, como cabría esperar.

Los valores de grado alcohólico (v/v) de los vinos obtenidos se representan en la Figura 5. Los resultados mostraron una relación directa con los niveles de azúcar inicial, siendo mayor el grado alcohólico cuando estos niveles eran más altos, algo apreciable en las fermentaciones realizadas por las tres levaduras. Se observó también que, debido al mayor contenido de azúcares residuales al final de las fermentaciones con la levadura LC, el grado alcohólico es menor en los vinos resultantes de estas fermentaciones. En base a estos últimos resultados, se ha considerado que la levadura LC mostró una menor eficiencia fermentativa que las levaduras Sc1 y Sc5.

### 3.3. Compuestos volátiles minoritarios

El análisis de los compuestos aromáticos minoritarios de los vinos obtenidos mostró los resultados que se recogen en la Tabla 1, en la cual se expresa el contenido en mg/L de dichos compuestos agrupados por familias químicas.

Los contenidos totales de lactonas, terpenos, ácidos grasos y nor-isoprenoides no mostraron diferencias claras debidas a las condiciones de estudio, pero por otro lado, sí se aprecia un menor contenido total de alcoholes en

los mostos a los que se le añadió sulfuroso, efecto más visible en los que fueron fermentados con las levaduras Sc1 y Sc5. En el caso del contenido en compuestos carbonílicos, ésteres etílicos y acetatos, se observan diferencias debidas a la levadura utilizada, destacando los valores observados en los mostos fermentados por la levadura Sc1.

### 3.4. Series aromáticas

En la Tabla 2 se muestran las series aromáticas en las cuales se agruparon los compuestos volátiles obtenidos, indicándose también los valores de actividad odorante (VAOs) de dichos compuestos para cada una de ellas. Estos valores se obtuvieron al dividir su concentración en cada vino entre el umbral de percepción. Según los compuestos volátiles con descriptores aromáticos similares, se establecieron nueve series aromáticas: floral, fruta madura, fruta verde, cítrico, herbáceo, químico, tostado, graso y cremoso.

Las Figuras 6, 7 y 8 representan los valores de las series aromáticas correspondientes a cada condición de estudio por las tres levaduras. La primera, a 220 g/L de azúcar y ausencia de sulfuroso (Figura 6), muestra que las series odorantes fruta madura y fruta verde son las que presentaron valores más elevados, siendo en los vinos fermentados con la levadura Sc1 donde estos atributos aromáticos se perciben más claramente. Por el contrario, las series aromáticas cremoso y herbáceo resultaron ser las menos detectables en los vinos fermentados por las tres levaduras.

La Figura 7, que corresponde a 250 g/L de azúcar y ausencia de sulfuroso, muestra unos resultados bastante similares a los descritos para 220 g/L de azúcar, siendo las series con valores más elevados la de fruta madura y la de fruta verde; y las menos apreciables, cremoso y herbáceo. En los vinos fermentados por Sc1 se aprecia un leve incremento en los valores de las series frutales al aumentar la concentración de azúcar. Los valores del resto de series aromáticas parecen disminuir al comparar ambas condiciones de estudio, salvo la serie floral, que mantiene unos valores muy similares. Con estos resultados, es posible afirmar que la diferencia de concentraciones del azúcar no influyó de manera muy notable en la sensación aromática de los vinos obtenidos por las tres levaduras.

En la Figura 8, donde se representa la condición de 250 g/L de azúcar y presencia de sulfuroso, se observan también los mayores valores para las dos series frutales. La levadura Sc1 sigue mostrando los niveles más altos

de todas las series aromáticas en los vinos fermentados en estas condiciones, aunque estos disminuyen levemente con respecto a los obtenidos en ausencia de sulfuroso. Lo contrario sucede con las levaduras Lalvin Clos y Sc5, que sí aumentan ligeramente los niveles de algunas series aromáticas en presencia del compuesto.

Se puede afirmar que la levadura Sc1 muestra en todos los casos potencial para obtener vinos con sensaciones aromáticas agradables a ambas concentraciones de azúcar, e incluso añadiéndose pequeñas dosis de sulfuroso.

### 3.5 Análisis de conglomerados

La Figura 9 representa el análisis de grupos clúster usando como variables clasificadoras las series aromáticas determinadas para cada condición de estudio. En la figura se observa la existencia de dos grupos bien diferenciados.

En uno de ellos se agrupan los vinos fermentados por la levadura Sc5 con ausencia de sulfuroso, y es apreciable la escasa distancia a la que se produce la separación de los resultados de las dos concentraciones de azúcar. Con ello, es posible afirmar que la diferencia entre las concentraciones de azúcar no influye en la composición aromática de los vinos, como sí influye la presencia o ausencia de sulfuroso.

El segundo clúster engloba el resto de las condiciones de ensayo y dentro del mismo podemos diferenciar tres subgrupos. El primero de ellos agrupa los vinos obtenidos con las levaduras Sc1 y Sc5 en presencia de sulfuroso, lo cual indica ciertas similitudes en la composición aromática de dichos vinos en presencia del compuesto antimicrobiano. El segundo subgrupo es exclusivo para todos los vinos obtenidos con la levadura comercial, determinándose que la diferencia entre las dos concentraciones de azúcar y la presencia de sulfuroso no influyó significativamente en la composición aromática de los vinos resultantes de la misma. Por último, el tercer subgrupo agrupa a los vinos obtenidos por la levadura Sc1 sin sulfuroso, lo cual permite afirmar que la ausencia de este compuesto fue determinante en la composición aromática de los vinos, y no tanto la diferencia en el contenido de azúcar.

## CONCLUSIONES

La levadura seleccionada Sc1 determina generalmente valores de actividad odorante más elevados que las demás en todas las series aromáticas, mientras que la levadura Sc5 es la que determina los valores más discretos.

La presencia de sulfuroso condiciona el aroma de los vinos obtenidos con las levaduras seleccionadas, tendiendo a disminuir la concentración de compuestos volátiles minoritarios y, por tanto, los valores de actividad odorante de las series aromáticas en dichos vinos.

La diferencia en las concentraciones de azúcar testadas no influye en el ritmo de fermentación de ninguna de las levaduras, como tampoco en la concentración de compuestos aromáticos ni en la sensación aromática de los vinos resultantes.

Las fermentaciones llevadas a cabo por las levaduras seleccionadas permiten obtener vinos secos, con niveles de azúcar residual inferiores a 5 g/L.

A tenor de los resultados observados, la levadura Sc1 puede constituir una alternativa al empleo de la levadura comercial ensayada.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARMAS, C.I. (2014). "Viticultura y Cambio climático". TFG. Universidad de La Rioja.
- BELY, M.; SABLAYROLLES, J.M.; BARRE, P. (1990). "Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in oenological conditions". *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 70, 246-252.
- BOULTON, R.; SINGLETON, V.L.; BISSON, L.F.; KUNKEE, R.E. (1996). "Principles and practices of winemaking", New York: Chapman&Hall.
- CEE. Diario Oficial de la Comunidad Europea L-272 (1ª Edición) Madrid Mundi-Empresa, 1990.
- CHAVES, M.M.; ZARROUK, O.; FRANCISCO, R.; COSTA, J.M.; SANTOS, T.; REGALADO, A.P.; RODRIGUES, M.L.; LOPES, C.M. (2010). "Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data". *Annals of Botany*, 105, 661-676.
- CRAMER, G.R. (2010). "Abiotic stress and plant responses from the whole vine to the genes". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 86-93.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, T.; MORENO, J.; MAURICIO, J.C.; PEINADO, R. (2015). "Natural sweet wine production by repeated use of yeast cells immobilized on *Penicillium chrysogenum*". *LWT - Food Science and Technology*, 61, 2, 503-509.
- GRIMPLET, J.; DELUC, L.G.; CRAMER, G.R.; CUSHMAN, J.C. (2008). "Integrating functional genomics with abiotic stress responses in wine grape-*Vitis vinifera*". *Advances in Molecular Breeding towards Salinity and Drought Tolerance*, Springer Verlag, Holanda, 643-668.
- JONES, G.V.; WHITE, M.A.; COOPER, O.R.; STORCHMANN, K. (2005). "Climate change and global wine quality". *Climatic Change*, 73, 319-343.
- LÓPEZ DE LERMA, N.; MORENO, J.; PEINADO, R.A. (2014). "Determination of the optimum sun-drying time for *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo grapes by e-nose analysis and characterization of their volatile composition". *Food and Bioprocess Technology*, 7, 3, 732-740.
- LOVISOLO, C.; PERRONE, I.; CARRA, A.; FERRANDINO, A.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H.; SCHUBERT, A. (2010). "Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis sp.*) organs and in their hydrau-

lic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update'. *Functional Plant Biology*, 37, 98-116.

MORENO Y PEINADO. (2012). "Enological chemistry". Academic Press.

MUÑOZ-BERNAL, E.; RODRÍGUEZ, M.E.; BENÍTEZ, P.; FERNÁNDEZ-ACERO, F.J.; REBORDINOS, J.; CANTORAL, J.M. (2013). "Molecular analysis of red wine yeast diversity in the Ribera de Duero D.O. (Spain) area". *Archives of Microbiology*, 195, 297-302.

ORDUÑA. (2010). "Climate change associated effects on grape and wine quality production". *Food Research International*, 43, 1844-1855.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÉCHE, B.; LONVAUD, A. (2003). "Tratado de enología: Microbiología del vino". Vinificaciones. Buenos Aires.

ROGIERS, S.Y.; GREER, D.H.; HATFIELD, J.M.; HUTTON, R.J.; CLARKE, S.J.; HUTCHINSON, P.A.; SOMERS, A. (2012). "Stomatal response of an anisohydric grapevine cultivar to evaporative demand, available soil moisture and abscisic acid". *Tree Physiology*, 32, 249-261.

RUFFNER, H.P. (1982). "Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*". *Vitis*, 21, 247-259.

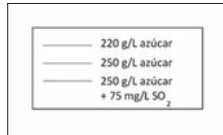
SABLAYROLLES, J.M.; BARRE, P.; GRENIER, P. (1987). "Design of laboratory automatic system for studying alcoholic fermentations in anisothermal enological conditions". *Biotechnology Techniques*, 1, 181-184.

SANTOS, J.; SOUSA, M.J.; CARCLOSO, H.; INACIO, J.; SILVA, S.; SPENCER-MARTINS, I. (2008). "Ethanol tolerance of sugar transport, and the rectification of stuck wine fermentations". *Microbiology - SGM*, 154, 422-430.

TOGORES, J.H. (2010). "Tratado de enología (volumen 1)". Mundi-Prensa Libros.

VAN LEEWUEN, C.; SCHULTZ, H.R.; CORTAZA-ATAURI, E.D.; OLLAT, N.; PIERI, P.; BOIS, B.; GOUTOULY, J.P.; QUENOL, B.; TOUZARD, J.M.; MALHEIRO, A.C.; BAVARESCO, L.; DELROT, S. (2013). "Why climate change will not dramatically decrease viticultural suitability in main wine-producing areas by 2010". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 33, 3051-5052.

**Figuras 1, 2 y 3.** Cinética de fermentación de las levaduras Sc1, Sc5 y LC, respectivamente. Se representa la pérdida de peso (g) del matraz (desprendimiento de CO<sub>2</sub>) por unidad de tiempo (días) entre el tiempo total acumulado (días). La línea azul representa la fermentación de mosto con 220 g/L de azúcar; la línea naranja, con 250 g/L de azúcar; y la línea gris, con 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso.



**Figura 1.**

Sc1

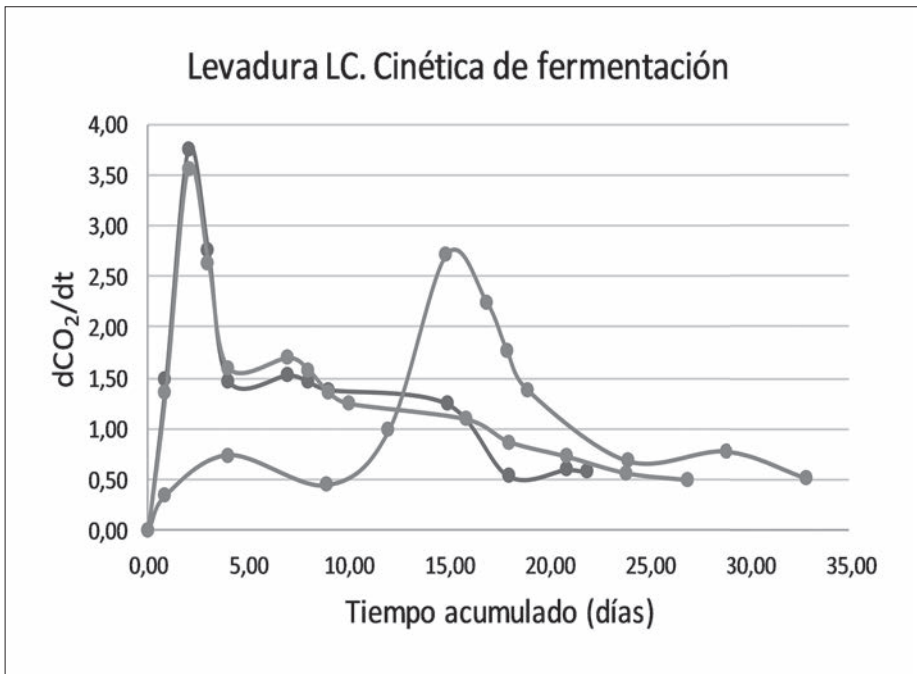


Figura 2.

Sc5

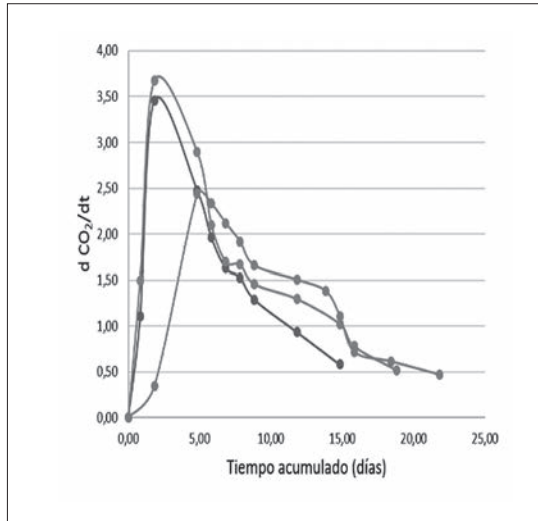
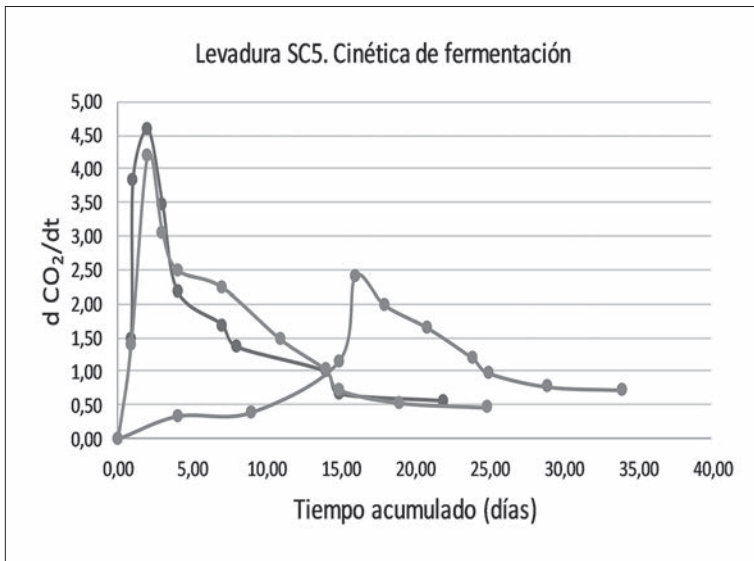


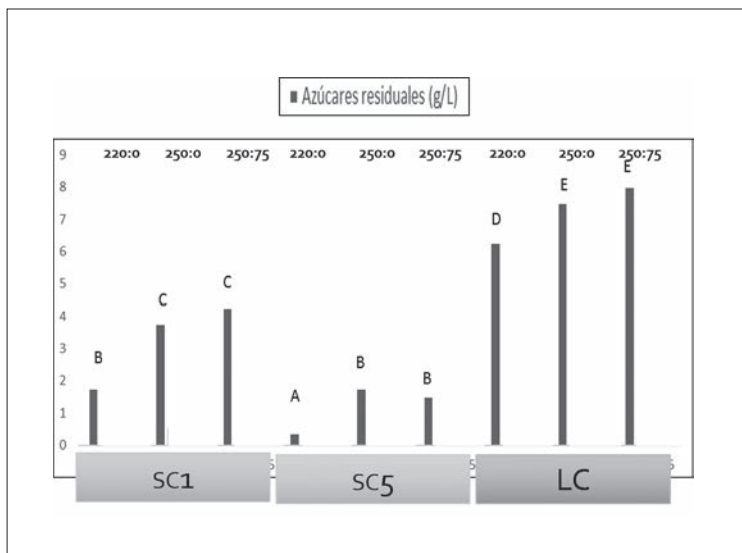
Figura 3.

LC

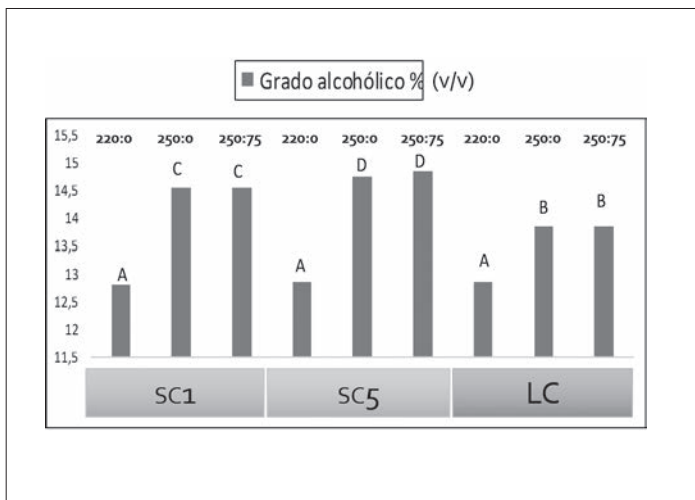




**Figura 4.** Niveles de azúcares residuales (g/L) obtenidos en los vinos fermentados por las tres levaduras en las tres condiciones de estudio. Interpretación de códigos: “220:0” indica 220 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; “250:0” indica 250 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; y “250:75” indica 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso. Las letras A-E indican el grupo homogéneo en el que se encuentran los valores, con un nivel de confianza del 95%.



**Figura 5.** Grado alcohólico (%) (v/v) obtenido en los vinos fermentados por las tres levaduras en las tres condiciones de estudio. Interpretación de códigos: “220:0” indica 220 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; “250:0” indica 250 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; y “250:75” indica 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso. Las letras A-D indican el grupo homogéneo en el que se encuentran los valores, con un nivel de confianza del 95%.



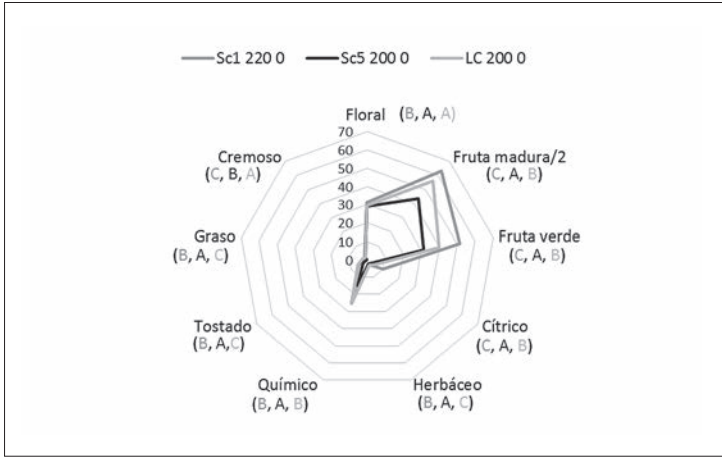
**Tabla 1.** Concentración (mg/L) de los compuestos volátiles minoritarios analizados en los vinos, agrupados por familias químicas. Se representa el valor medio del contenido medido en muestras del vino por triplicado  $\pm$  su desviación estándar. Interpretación de códigos: “220:0” indica 220 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; “250:0” indica 250 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; y “250:75” indica 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso.

CONCENT. (MG/L)	SC1			SC5			LALVIN CLOS		
	220: 0	250: 0	250: 75	220: 0	250: 0	250: 75	220: 0	250: 0	250: 75
Alcoholes	13915 $\pm$ 578	13781 $\pm$ 359	5202 $\pm$ 238	12501 $\pm$ 793	13338 $\pm$ 176	6706 $\pm$ 119	9283 $\pm$ 473	8851 $\pm$ 249	9957 $\pm$ 233
Acetatos	17863 $\pm$ 1247	15962 $\pm$ 539	21292 $\pm$ 1316	8358 $\pm$ 505	7927 $\pm$ 247	14002 $\pm$ 400	16197 $\pm$ 770	15429 $\pm$ 937	14630 $\pm$ 336
Esteres etílicos	111 $\pm$ 6	118 $\pm$ 2	118 $\pm$ 5	74 $\pm$ 2	75,2 $\pm$ 0,7	94 $\pm$ 1	90 $\pm$ 2	98 $\pm$ 3	101,3 $\pm$ 0,2
Lactonas	1,934 $\pm$ 9e-3	1,49 $\pm$ 0,05	1,51 $\pm$ 0,05	1,28 $\pm$ 0,04	1,51 $\pm$ 0,02	1,33 $\pm$ 0,05	1,26 $\pm$ 0,02	1,32 $\pm$ 0,05	1,30 $\pm$ 0,07
Carbonílicos	9,8 $\pm$ 0,8	7,0 $\pm$ 0,4	9,8 $\pm$ 0,5	2,9 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,1	4,52 $\pm$ 0,25	4,7 $\pm$ 0,2	2,57 $\pm$ 0,08	3,3 $\pm$ 0,2
Nor- isprenoides	19,6 $\pm$ 0,1	18,99 $\pm$ 0,03	19,1 $\pm$ 0,6	19,2 $\pm$ 0,3	19,29 $\pm$ 0,08	18,5 $\pm$ 0,2	22,1 $\pm$ 0,3	20,3 $\pm$ 0,2	20,6 $\pm$ 0,3
Terpenos	2,8 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,1	3,26 $\pm$ 0,06	3,3 $\pm$ 0,2	3,74 $\pm$ 0,07	3,4 $\pm$ 0,1	3,77 $\pm$ 0,07
Ácidos grasos	1,7 $\pm$ 0,2	0,81 $\pm$ 0,06	3,2 $\pm$ 0,2	0,22 $\pm$ 0,01	0,158 $\pm$ 8e-3	3,2 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,1	0,52 $\pm$ 0,03	1,83 $\pm$ 0,08
Otros compuestos	0,063 $\pm$ 2e-3	0,072 $\pm$ 2e-3	0,079 $\pm$ 4e-3	0,080 $\pm$ 3e-3	0,095 $\pm$ 2e-3	0,107 $\pm$ 4e-3	0,033 $\pm$ 2e-3	0,076 $\pm$ 3e-3	0,082 $\pm$ 3e-3

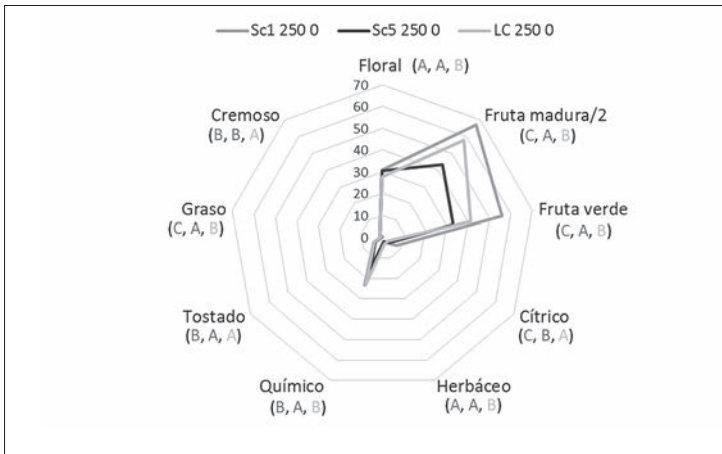
**Tabla 2.** Valores de Actividad Odorante (VAOs) de las series aromáticas establecidas, para cada levadura y condición experimental. Se representa el valor medio obtenido del análisis de muestras por triplicado  $\pm$  su desviación estándar. Interpretación de códigos: “220:0” indica 220 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; “250:0” indica 250 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; y “250:75” indica 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso.

VAOS	SC1			SC5			LALVIN CLOS		
	220; 0	250; 0	250; 75	220; 0	250; 0	250; 75	220; 0	250; 0	250; 75
Floral	31,4 $\pm 0,6$	30,8 $\pm 0,8$	24,7 $\pm 0,8$	28,9 $\pm 0,7$	30,5 $\pm 0,4$	24,6 $\pm 0,2$	29,7 $\pm 0,2$	27,6 $\pm 0,4$	28,5 $\pm 0,3$
Fruta Madura	126 $\pm 6$	134 $\pm 1$	135 $\pm 1$	87 $\pm 3$	86,4 $\pm 0,9$	110 $\pm 2$	113 $\pm 3$	116 $\pm 4$	115,9 $\pm 0,4$
Fruta Verde	51,7 $\pm 2,6$	55,9 $\pm 0,2$	47,9 $\pm 1,2$	31,7 $\pm 0,8$	33,2 $\pm 0,3$	38,4 $\pm 0,2$	39,8 $\pm 0,2$	41,3 $\pm 0,6$	44,5 $\pm 0,1$
Cítrico	10,1 $\pm 0,7$	7,5 $\pm 0,5$	11,1 $\pm 0,6$	3,4 $\pm 0,1$	4,4 $\pm 0,1$	5,0 $\pm 0,2$	5,2 $\pm 0,2$	3,08 $\pm 0,08$	3,8 $\pm 0,1$
Herbáceo	2,6 $\pm 0,2$	2,30 $\pm 0,07$	2,9 $\pm 0,2$	2,21 $\pm 0,08$	2,2 $\pm 0,1$	2,23 $\pm 0,07$	2,91 $\pm 0,09$	3,0 $\pm 0,1$	3,12 $\pm 0,03$
Químico	25 $\pm 1$	23,5 $\pm 0,5$	22 $\pm 1$	15,3 $\pm 0,7$	15,2 $\pm 0,3$	19,7 $\pm 0,4$	25 $\pm 1$	23,4 $\pm 0,9$	23,6 $\pm 0,4$
Tostado	5,5 $\pm 0,2$	4,7 $\pm 0,2$	3,0 $\pm 0,1$	2,81 $\pm 0,04$	3,75 $\pm 0,07$	3,3 $\pm 0,1$	6,0 $\pm 0,2$	4,0 $\pm 0,2$	5,6 $\pm 0,3$
Graso	14,1 $\pm 0,7$	7,4 $\pm 0,5$	31 $\pm 2$	11,9 $\pm 0,9$	7,1 $\pm 0,5$	34 $\pm 2$	26 $\pm 1$	0,57 $\pm 0,02$	18,7 $\pm 0,5$
Cremoso	2,10 $\pm 0,01$	1,56 $\pm 0,05$	1,77 $\pm 0,06$	1,67 $\pm 0,04$	1,57 $\pm 0,02$	1,56 $\pm 0,06$	1,61 $\pm 0,02$	1,88 $\pm 0,08$	1,99 $\pm 0,09$

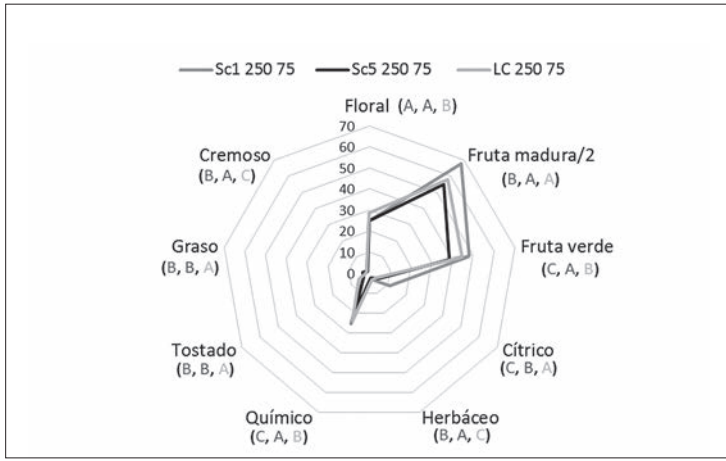
**Figura 6.** Valores de las series aromáticas obtenidos en los vinos fermentados por las tres levaduras a partir de mostos con 220 g/L sacarosa y 0 mg/L de sulfuroso. Las letras A-C indican el grupo homogéneo al que se encuentran los valores, con un nivel de confianza del 95%.



**Figura 7.** Valores de las series aromáticas obtenidos en los vinos fermentados por las tres levaduras a partir de mostos con 250 g/L sacarosa y 0 mg/L de sulfuroso. Las letras A-C indican el grupo homogéneo al que se encuentran los valores, con un nivel de confianza del 95%.



**Figura 8.** Valores de las series aromáticas obtenidos en los vinos fermentados por las tres levaduras a partir de mostos con 250 g/L sacarosa y 75 mg/L de sulfuroso. Las letras A-C indican el grupo homogéneo al que se encuentran los valores, con un nivel de confianza del 95%.



**Figura 9.** Dendograma según el método de Ward, usando como variables clasificadoras las series aromáticas. Interpretación de códigos: “220 0” indica 220 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; “250 0” indica 250 g/L de azúcar y 0 mg/L de sulfuroso; y “250 75” indica 250 g/L de azúcar y 75 mg/L de sulfuroso.

