

Noves estratègies per a gestionar l'acidesa dels vins de la varietat syrah. Utilització de llevats no-*Saccharomyces*

M. Carme Masqué,¹ Claustre Grau,¹ Neus Carretero,¹ Paloma Torano,¹ José M. Heras,³ Anna Puig²

1. Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), Reus

2. INCAVI - Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Vilafranca del Penedès

3. Lallemand Enologia, Rivas-Vaciamadrid (Madrid)

REBUT: 18 D'AGOST DE 2021 - ACCEPTAT: 30 DE DESEMBRE DE 2021

RESUM

L'augment de les temperatures i la diferent distribució del règim pluviomètric contribueixen al fet que el raïm maduri de manera més ràpida i que produeixi mostos amb una concentració elevada de sucres, concentracions baixes d'àcids i pH menys àcids, la qual cosa dona com a resultat vins excessivament càlids i poc expressius. La utilització de soques de llevat de l'espècie *Lachancea thermotolerans* és una alternativa biològica que n'incrementa l'acidesa i participa en la síntesi de compostos aromàtics que repercuten positivament en el perfil sensorial dels vins.

En aquest treball es va estudiar l'impacte d'una soca específica de *L. thermotolerans*, Laktia™ (Lallemand Inc.), en l'elaboració de vins de la varietat syrah durant dues veremes consecutives, amb relació a la seva acidesa i al seu perfil sensorial. Es van dur a ter-

Correspondència: M. Carme Masqué. Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI). Passeig Sunyer, 4-6. 43202 Reus. Tel.: 977 328 332. A/e: cmasque@gencat.cat.

me vinificacions en l'àmbit de celler experimental amb inoculació seqüencial de Laktia™ i dues soques diferents de *Saccharomyces cerevisiae*. La fermentació malolàctica es va induir tant seqüencialment com simultàniament a la fermentació alcohòlica.

Es va poder comprovar que la soca Laktia™ contribueix a l'acidificació natural dels vins mitjançant la producció d'àcid L-làctic, com s'ha descrit àmpliament a la bibliografia per a soques de l'espècie *L. thermotolerans*. A més a més, es van obtenir vins amb un descens lleuger del grau alcohòlic, un augment lleuger de glicerol i alguns de més ben valorats sensorialment que els procedents de les vinificacions de control amb acidificació química. La inducció simultània de les fermentacions alcohòlica i malolàctica va minimitzar les interferències detectades en el desenvolupament de la fermentació malolàctica.

PARAULES CLAU: acidificació biològica, *Lachancea thermotolerans*, no-*Saccharomyces*, perfil sensorial, syrah, elaboració de vi.

New strategies to manage the acidity of Syrah wines. Use of non-*Saccharomyces* yeasts

ABSTRACT

Due to climate change, there is an increase of temperatures and the rainfall distribution is changing over the course of the year. These changes help to accelerate grape ripening, providing musts with high sugar concentration, low acid content and high pH. As a result, wines are excessively warm and sensorially not very expressive. The use of *Lachancea thermotolerans* strains is a biological alternative that increases acidity and aromatic compounds, improving the sensorial profile of wines. In this paper, the influence of a specific *L. thermotolerans* strain, Laktia™ (Lallemand Inc.), in the production of Syrah wines during two consecutive harvests is discussed. Trials were carried out in an experimental cellar. Alcoholic fermentation was induced by sequential inoculation of Laktia™ and two *Saccharomyces cerevisiae* strains, and malolactic fermentation was induced in two ways: sequential and simultaneously to alcoholic fermentation. Our results show the contribution of Laktia™ to the natural acidification of wines by producing L-lactic acid, just as other authors have described for other *L. thermotolerans* strains. The wines obtained also have a slightly lower alcoholic degree, a slightly higher glycerol content and, in some cases, a sensory profile that is better valued in comparison to those from control vinifica-

tions with chemical acidification. Simultaneous induction of alcoholic and malolactic fermentation was the best option to avoid delay in malolactic fermentation.

KEYWORDS: biological acidification, *Lachancea thermotolerans*, non-*Saccharomyces*, sensory profile, Syrah, winemaking process.

Nuevas estrategias para gestionar la acidez de los vinos de la variedad syrah. Uso de levaduras no-*Saccharomyces*

RESUMEN

El aumento de las temperaturas y la distinta distribución del régimen pluviométrico contribuyen a que la uva madure de forma más rápida dando mostos con elevada concentración de azúcares, bajas concentraciones de ácidos y pH menos ácidos, lo que se traduce en vinos excesivamente cálidos y poco expresivos. La utilización de cepas de levaduras de la especie *Lachancea thermotolerans* es una alternativa biológica que incrementa la acidez y participa en la síntesis de compuestos aromáticos que repercuten positivamente en el perfil sensorial de los vinos.

En el presente trabajo se estudió el impacto de una cepa específica de *L. thermotolerans*, Laktia™ (Lallemand Inc.), en la elaboración de vinos de la variedad syrah durante dos vendimias consecutivas, en relación con su acidez y perfil sensorial. Para ello, se realizaron vinificaciones a nivel de bodega experimental con inoculación secuencial de Laktia™ y dos cepas distintas de *Saccharomyces cerevisiae* y con inducción de la fermentación maloláctica tanto secuencialmente como simultáneamente a la fermentación alcohólica.

Se observó que la cepa Laktia™ contribuye a la acidificación natural de los vinos mediante la producción de ácido L-láctico, como ya se ha descrito ampliamente en la bibliografía para cepas de la especie *L. thermotolerans*. Además, se obtuvieron vinos con un ligero descenso del grado alcohólico, un ligero aumento del glicerol y algunos vinos mejor valorados sensorialmente respecto a los procedentes de las vinificaciones de control con acidificación química. La inducción simultánea de las fermentaciones alcohólica y maloláctica minimizó las posibles interferencias detectadas en el desarrollo de la fermentación maloláctica.

PALABRAS CLAVE: acidificación biológica, *Lachancea thermotolerans*, no-*Saccharomyces*, perfil sensorial, syrah, elaboración de vino.

1. Introducció

Avui en dia ja ningú posa en dubte el canvi climàtic. Com en la majoria d'àmbits, en enologia els seus efectes també es noten. L'augment de temperatures i la variació en la distribució de la pluviometria afecta directament l'evolució i la maduració del raïm, especialment a les zones vitivinícoles més càlides. La maduració del raïm és més ràpida, la qual cosa dona mostos amb una concentració elevada de sucres, una concentració baixa d'àcids i pH més alts. La fermentació d'aquests mostos es tradueix en l'obtenció de vins excessivament càlids, poc expressius i amb pH més elevats. A més a més, contribueix que els vins siguin microbiològicament menys estables (Jones *et al.*, 2005; Mira de Orduña, 2010).

Les eines utilitzades per a la reducció del pH i l'augment de l'acidesa dels vins tradicionalment han estat químiques o físiques. La més utilitzada és probablement l'addició d'àcid tartàric al most, però aquest àcid costa d'integrar al vi i moltes vegades es produeixen precipitacions de tartrats. Les resines d'intercanvi catiònic són una opció molt eficient per a la reducció del pH, però en el procés també es produeix una pèrdua d'altres compostos que disminueix la qualitat del vi (Benito, 2018; Morata *et al.*, 2018). Actualment, fruit de la recerca, hi ha alternatives, com és l'ús de llevats d'espècies no-*Saccharomyces*, que incrementen l'acidesa dels vins de manera natural i, a més a més, participen en la síntesi de compostos aromàtics afruitats que repercuten positivament en el seu perfil sensorial (Benito *et al.*, 2016; Vilela, 2018).

En els darrers anys s'han començat a comercialitzar i utilitzar com a cultius inductors de la fermentació alcohòlica (FA) soques de diferents gèneres de llevats no-*Saccharomyces* (*Torulaspora*, *Hansenula*, *Metschnikowia*) aïllades del raïm, del most o de la fase inicial de la FA i seleccionades per a utilitzar-les com a inductores de la fermentació, quasi sempre juntament amb soques de *Saccharomyces cerevisiae*, i per a contribuir a la millora de la qualitat del vi. De totes aquestes soques són especialment interessants les de l'espècie *Lachancea thermotolerans* per la seva capacitat de produir àcid L-làctic en quantitats importants a partir dels sucres (Jolly, Varela i Pretorius, 2014; Morata *et al.*, 2018), cosa que ha contribuït molt eficaçment a la reducció de pH, a l'augment de l'acidesa total i, com a conseqüència, a la reducció del grau alcohòlic (Gobbi *et al.*, 2013; Ciani *et al.*, 2016; Morata *et al.*, 2018). També s'ha descrit la capacitat d'algunes soques d'aquesta espècie per a produir vins amb més glicerol i menys acidesa volàtil (Benito *et al.*, 2016; Gobbi *et al.*, 2013). Tal com indiquen la majoria d'autors, tot plegat contribueix a la millora de la qualitat dels vins, especialment per a aquelles varietats menys expressives de les zones vitivinícoles càlides (Benito *et al.*, 2016). Cal tenir en compte que la capacitat fermentativa d'aquesta espècie és mitjana, és a dir, que és una soca competitiva en el most i quan hi ha concentracions baixes o moderades d'alcohol. Per això diversos autors (Vaquero

et al., 2020; Benito *et al.*, 2016; Benito, 2018) han descrit que per a l'obtenció de vins secs és aconsellable la utilització de cultius mixtos o la inoculació seqüencial amb soques de *Saccharomyces*.

En aquest treball es presenten resultats obtinguts en un estudi sobre l'impacte d'una soca específica no-*Saccharomyces* de l'espècie *L. thermotolerans*, Laktia™ (Lallemand Inc.), en l'elaboració de vins a partir de raïm de la varietat syrah durant dues veremes consecutives, amb relació a l'acidesa dels vins i el seu perfil sensorial. D'una banda, s'ha comparat l'acidificació química amb àcid tartàric i l'acidificació biològica utilitzant la soca Laktia™ en combinació amb dues soques diferents de *S. cerevisiae*. De l'altra, s'ha comprovat l'efecte que pot tenir l'ús d'aquesta soca sobre el desenvolupament de la fermentació malolàctica (FML) induïda, ja sigui seqüencialment o simultàniament a la FA.

2. Materials i mètodes

Inicialment, es van plantejar dues estratègies (taula 1). En una primera verema (2018), es van dur a terme tres vinificacions: una vinificació de control (V1A), amb acidificació química amb 1 g/l d'àcid tartàric i FA i FML seqüencials, i dues vinificacions (V1B i V1C) amb inoculació de la soca Laktia™ (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canadà) en el most i inoculació, al cap de 24 hores, de la soca de *S. cerevisiae*. A V1B la inducció de la FML es va fer al final de la FA i a V1C, simultàniament a la FA (inoculant la soca d'*Oenococcus oeni* al cap de 24 hores d'inocular la de *S. cerevisiae*). La soca de llevat de l'espècie *S. cerevisiae* utilitzada va ser Lalvin Rhone 2056™ (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canadà) i per a induir la FML es va utilitzar la soca d'*O. oeni*, Lalvin VP41™ (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canadà) a les tres vinificacions (taula 1).

A la verema següent (2019) es va repetir l'assaig, amb una vinificació de control (V2A) i dues vinificacions (V2B i V2C) amb la inoculació de Laktia™ a totes dues en el most i, al cap de 24 hores, la coinoculació de la soca de *Saccharomyces* i de les de bacteris làctics per a induir la FA i la FML simultànies. En aquesta verema es va utilitzar la soca de llevat Lalvin Persy™ de *S. cerevisiae* i la soca Lalvin VP41™ d'*O. oeni* per al dipòsit de control i una de les vinificacions en coinoculació (V2B), i la soca MLprime™ (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canadà) de *Lactobacillus plantarum* per a la tercera vinificació (V2C) (taula 1).

A les dues veremes es va utilitzar raïm de la varietat syrah procedent d'una de les zones més càlides del sud de Catalunya, la Denominació d'Origen Terra Alta, amb un grau alcohòlic probable al voltant de 14,5 %, una acidesa total de 4,2-4,4 g/l, pH de 3,40 i una concentració aproximada de 2 g/l d'àcid L-màlic (taula 2). Es tracta d'una varietat àmpliament utilitzada per a l'obtenció de vins de qualitat amb un contingut elevat d'anto-

cians i aromes característiques; a més, és una varietat internacional cultivada a molts països.

TAULA 1

Vinificacions dutes a terme durant la verema 2018 (V1A, V1B, V1C) i durant la verema 2019 (V2A, V2B, V2C)

Assaig	
V1A	FA amb Lalvin Rhone 2056™ (<i>S. cerevisiae</i>), correcció d'acidesa amb àcid tartàric, FML seqüencial amb Lalvin VP41™ (<i>O. oeni</i>)
V1B	FA amb Laktia™ (<i>L. thermotolerans</i>); al cap de 24 hores, addició de Lalvin Rhone 2056™ (<i>S. cerevisiae</i>). FML seqüencial amb Lalvin VP41™ (<i>O. oeni</i>)
V1C	FA amb Laktia™ (<i>L. thermotolerans</i>); al cap de 24 hores, addició de Lalvin Rhone 2056™ (<i>S. cerevisiae</i>) i, 24 hores més tard, addició de Lalvin VP41™ (<i>O. oeni</i>)
V2A	FA amb Lalvin Persy™ (<i>S. cerevisiae</i>), correcció d'acidesa amb àcid tartàric, FML seqüencial amb Lalvin VP41™ (<i>O. oeni</i>)
V2B	Inoculació seqüencial amb Laktia™ (<i>L. thermotolerans</i>) i, al cap de 24 hores, coinoculació de Lalvin Persy™ (<i>S. cerevisiae</i>) i Lalvin VP41™ (<i>O. oeni</i>)
V2C	Inoculació seqüencial amb Laktia™ (<i>L. thermotolerans</i>) i, al cap de 24 hores, coinoculació de Lalvin Persy™ (<i>S. cerevisiae</i>) i MLprime™ (<i>L. plantarum</i>)

NOTA: FA: fermentació alcohòlica; FML: fermentació malolàctica.

FONT: Elaboració pròpia.

TAULA 2

Característiques fisicoquímiques del most inicial de la varietat syrah utilitzada a cada una de les veremes

	Verema de 2018	Verema de 2019
Grau Brix (°)	24,6	24,5
Grau alcohòlic en potència (%v/v)	14,55	14,44
Acidesa total (g/l àc. tartàric)	4,4	4,2
pH	3,48	3,44
Àcid L-màlic (g/l)	2,2	1,9
Nitrogen amoniacal i amínic (mg/l)	127	152

FONT: Elaboració pròpia.

Les vinificacions es van dur a terme en dipòsits d'acer amb 100 kg de raïm, seguides d'un procés d'elaboració estàndard per a vins negres, en què es controlava la temperatura de fermentació entre 23 i 27 °C i es feien remuntats diaris durant els set dies de maceració. Durant la FA i la FML es van controlar diàriament densitat i temperatura i es va fer un seguiment de sucres (G+F), àcid L-màlic, àcid L i D-làctic i àcid acètic per mètodes

enzimàtics, fins a finalitzar les fermentacions. Al llarg de tot el procés també es va fer un seguiment en placa de les poblacions viables amb medis selectius per llevats (agar Sabouraud cloranfenicol [Scharlau, Barcelona, Espanya]) i bacteris làctics (MRS [Scharlau, Barcelona, Espanya] amb 50 mg/l de nistatina).

Per tal de comprovar que les soques inoculades fossin les responsables de les fermentacions se'n va determinar la implantació. Per als llevats es va fer una tipificació per polimorfisme de longitud dels fragments de restricció de l'ADN mitocondrial (RFLP-mtDNA) (Querol, Barrio i Ramón, 1992; OIV, 2011), abans d'inocular les soques de *S. cerevisiae*, a la meitat i al final de la FA i per als bacteris làctics (BAL) mitjançant amplificació a l'atzar d'ADN polimòrfic-reacció en cadena per la polimerasa (RAPD-PCR) amb l'encebador M13 a les dues terceres parts de la FML (Rossetti i Giraffa, 2005; OIV, 2012; Masqué *et al.*, 2011).

El vi acabat es va sulfitar, clarificar amb proteïna vegetal, estabilitzar en fred i es va filtrar abans d'embotellar. Posteriorment, es va fer una caracterització fisicoquímica i organolèptica dels vins embotellats. Totes les anàlisis fisicoquímiques es van dur a terme als laboratoris de l'Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI) utilitzant els mètodes usuals.¹ El panel de tastadors de l'INCAVI va ser l'encarregat de l'anàlisi sensorial, utilitzant una fitxa de tast amb puntuacions positives de 0 a 8 en color (intensitat i qualitat), olor (intensitat i qualitat aromàtiques), gust (intensitat i qualitat) i equilibri, sensació final i persistència, junt amb una descripció aromàtica dels vins.

3. Resultats

3.1. Fermentació alcohòlica (FA)

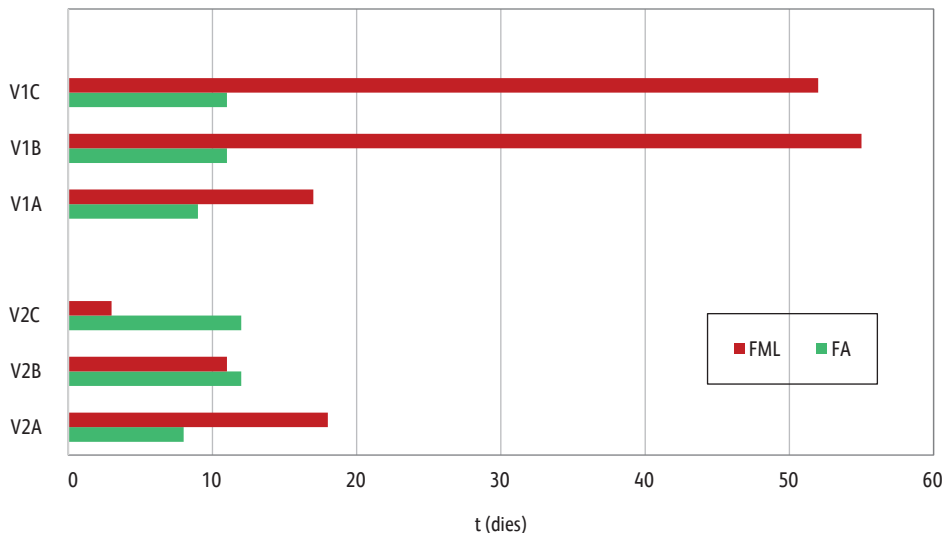
A les dues veremes es va detectar un lleuger alentiment de la FA respecte del control quan s'inoculen seqüencialment la soca de *L. thermotolerans* i la soca de *S. cerevisiae*. En els controls, V1A i V2A, els sucres (G+F) es degraden fins a valors inferiors a 0,2 g/l en nou i vuit dies, respectivament. En canvi, en les vinificacions amb inoculació de la soca Laktia™ tarden entre dos (V1B i V1C) i quatre dies (V2B i V2C) més (figura 1).

Pel que fa a la cinètica de la FA (figura 2), s'observa un mateix perfil per a ambdós controls; la població màxima és de l'ordre de 10⁸ ufc/ml, tot i que per a V2A és lleugerament superior. Per a les vinificacions amb presència de Laktia™, es veu que durant la primera verema, en la qual la soca de *S. cerevisiae* inoculada és Lalvin Rhone™ (V1B i

1. Vegeu <http://incavi.gencat.cat/ca/servei-analisi-vins/>.

FIGURA 1

Durada de les fermentacions alcohòlica (FA) i malolàctica (FML) per als assajos de la verema de 2018 (V1) i la verema de 2019 (V2)



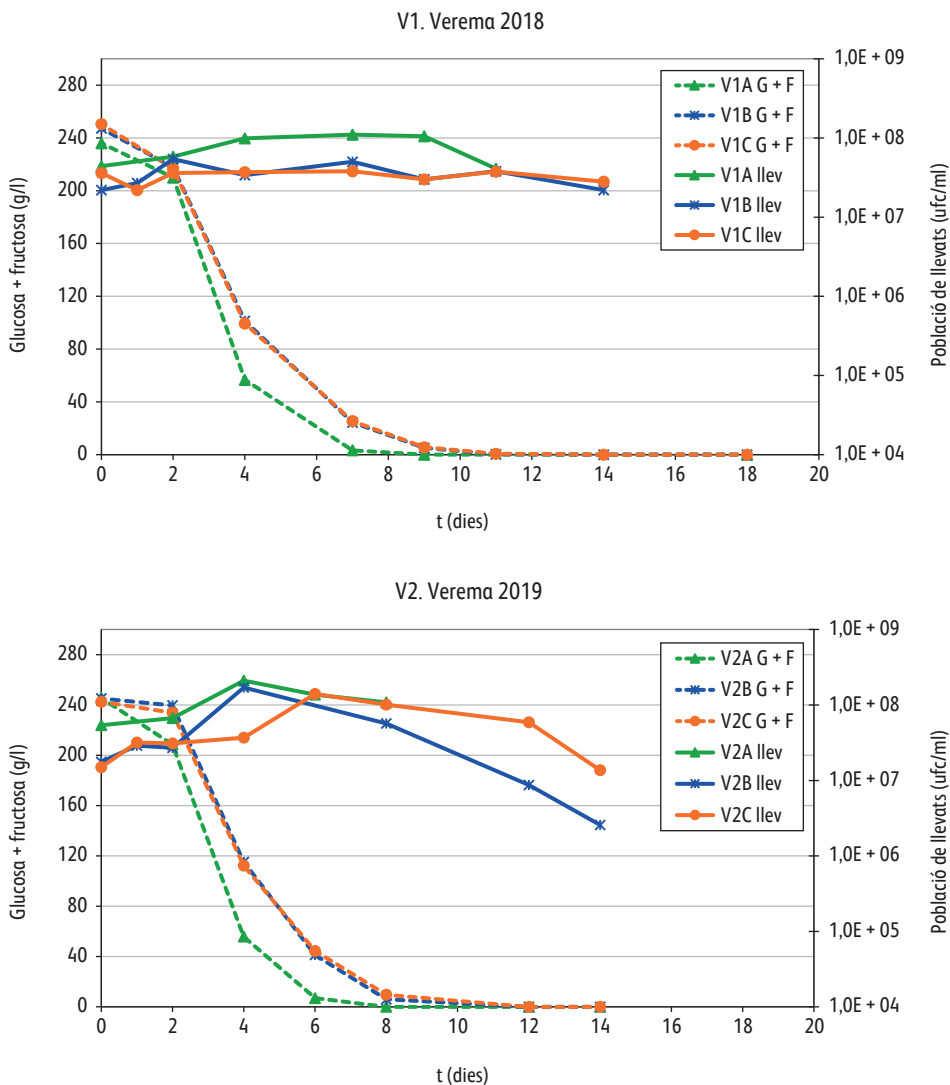
FONT: Elaboració pròpia.

V1C), la població màxima és pràcticament 1 unitat logarítmica inferior al control corresponent i, en la segona verema (V2B i V2C), aquesta població màxima és del mateix ordre que el seu control.

Per a les vinificacions inoculades amb Laktia™, s’observa que l’evolució de la població viable de llevats també és diferent per a ambdues veremes. En la primera, a les dues vinificacions, una vegada s’ha arribat al màxim de creixement, la població es manté del mateix ordre durant tota la FA, independentment que la FML s’hagi induït seqüencialment (V1B) o simultàniament (V1C) a la FA, mentre que en la segona verema, una vegada s’ha arribat al màxim de població, aquesta va disminuint progressivament a mesura que avança la fermentació. Això podria ser degut al descens més ràpid de la població de la soca de no-*Saccharomyces*, ja que, com es veu a la taula 3, la implantació d’aquesta soca en les dues vinificacions de la primera verema (V1B, V1C) a meitat de la FA és del 42% i, en canvi, a les de la segona verema es produeix una baixada més ràpida de la població de Laktia™: la implantació és del 33% per a V2C i de pràcticament el 0% per a V2B en el mateix punt de fermentació. Al final de la FA per a ambdues veremes els resultats mostren que la soca Laktia™ ha desaparegut en tots els

FIGURA 2

Cinètica de fermentació alcohòlica (línia discontinua) i evolució de la població viable de llevats totals (línia contínua) per a la verema de 2018 (V1) i per a la verema de 2019 (V2) i els diferents tractaments A, B i C



FONT: Elaboració pròpia.

TAULA 3

Implantació de les soques de llevat inoculades expressada en percentatge respecte del total de llevats analitzat en cada punt de mostreig

Codi de vinificació	Soques inoculades	Implantació abans de la inoculació <i>S. c.</i>	Implantació a la meitat de la FA	Implantació al final de la FA
V1A	Lavin Rhone 2056™ (<i>S. c.</i>)	—	100 % Rhone	100 % Rhone
V1B	Laktia™ (<i>L. t.</i>) Lavin Rhone 2056™ (<i>S. c.</i>)	100 % Laktia™	42 % Laktia™ 42 % Rhone 16 % altres	0 % Laktia™ 67 % Rhone 33 % altres
V1C	Laktia™ (<i>L. t.</i>) Lavin Rhone 2056™ (<i>S. c.</i>)	100 % Laktia™	42 % Laktia™ 16 % Rhone 42 % altres	0 % Laktia™ 92 % Rhone 8 % altres
V2A	Lavin Persy™ (<i>S. c.</i>)	—	100 % Persy™	100 % Persy™
V2B	Laktia™ (<i>L. t.</i>) Lavin Persy™ (<i>S. c.</i>)	100 % Laktia™	0 % Laktia™ 100 % Persy™	0 % Laktia™ 92 % Persy™ 8 % altres
V2C	Laktia™ (<i>L. t.</i>) Lavin Persy™ (<i>S. c.</i>)	100 % Laktia™	33 % Laktia™ 67 % Persy™	0 % Laktia™ 75 % Persy™ 25 % altres

NOTA: FA: fermentació alcohòlica; *L. t.*: *L. thermotolerans*; Rhone: Lavin Rhone 2056™; *S. c.*: *S. cerevisiae*.

FONT: Elaboració pròpia.

dipòsits i que les soques de *S. cerevisiae* s'han implantat en més del 65 % en tots (92 % en V1B i 67 % en V1C per a la soca Lalvin Rhone 2056™ i 92 % en V2B i 75 % en V2C per a la soca Lalvin Persy™).

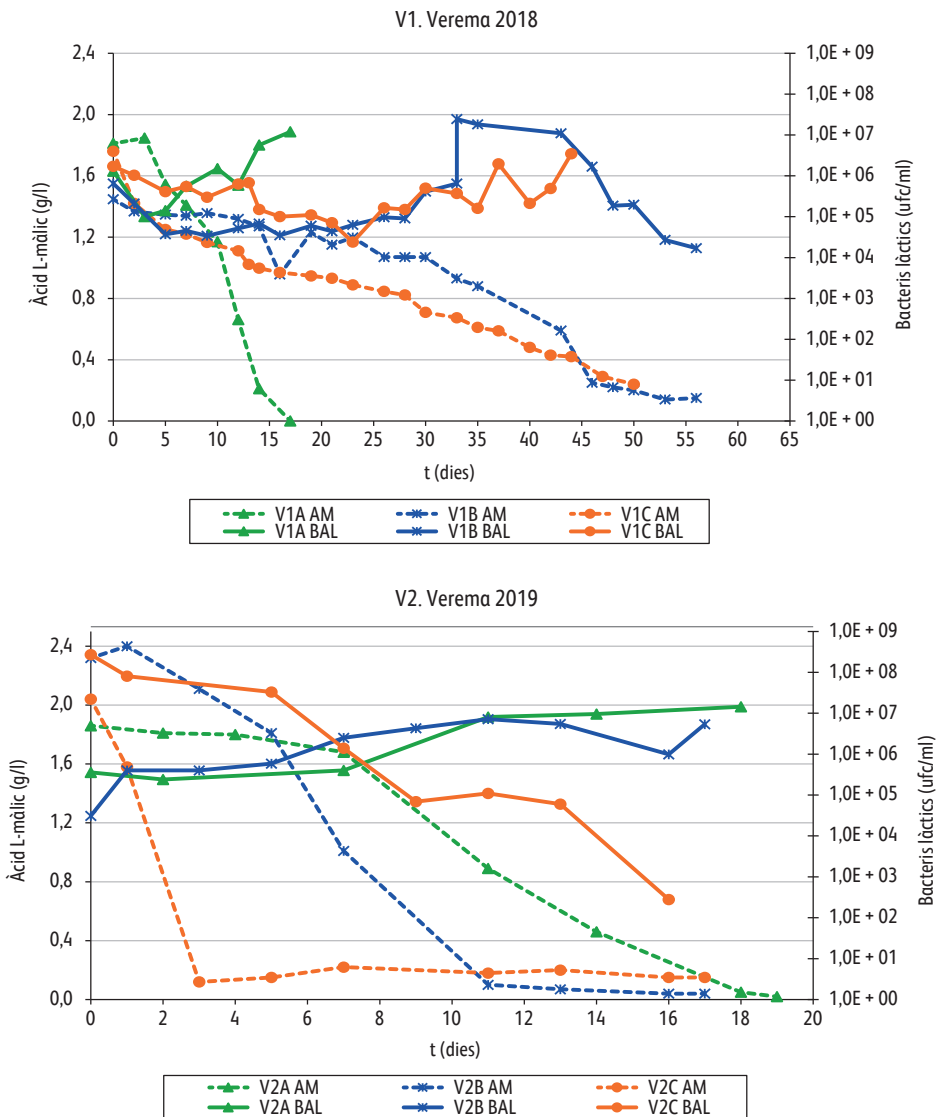
El fet que els resultats d'implantació siguin més alts per a la soca de Lalvin Persy™ i més baixos per a la soca Laktia™ a meitat de la FA, juntament amb la millor evolució de la FA durant la segona verema, semblen indicar una millor sinergia entre la soca Laktia™ i la soca Lalvin Persy™.

3.2. Fermentació malolàctica (FML)

Als gràfics de la figura 3 es representa la degradació de l'àcid L-màlic i l'evolució de la població viable de BAL respecte del temps comptat a partir de la inoculació dels bacteris en cada cas. Durant la primera verema es va voler comprovar la influència que podia tenir la presència i el metabolisme de *L. thermotolerans* en el desenvolupament de la FML, tant si s'induïa seqüencialment (V1B) com simultàniament (V1C) a la FA amb una soca d'*O. oeni* Lalvin VP41™. Al gràfic de la figura 1 es veu clarament com hi ha un efecte

FIGURA 3

Cinètica de fermentació malolàctica (línia discontinua) i evolució de la població viable de bacteris làctics (línia contínua) per a la verema de 2018 (V1) i per a la verema de 2019 (V2) i els diferents tractaments A, B i C. El temps (t) es compta en cada vinificació a partir de la inoculació de la soca bacteriana



FONT: Elaboració pròpia.

negatiu envers de la durada de la FML en les vinificacions en què s'ha utilitzat Laktia™ (V1B, V1C) respecte del control (V1A). A la vinificació V1C, en què es va inocular el bacteri 24 hores després que la soca de *S. cerevisiae* Lalvin Rhone 2056™, és a dir, 48 hores més tard que Laktia™, la degradació de l'àcid L-màlic va ser lenta però constant (figura 3, V1). Després de 47 dies va arribar a degradar el 90% de l'àcid L-màlic inicial, i en va quedar una concentració residual d'uns 0,2 g/l.

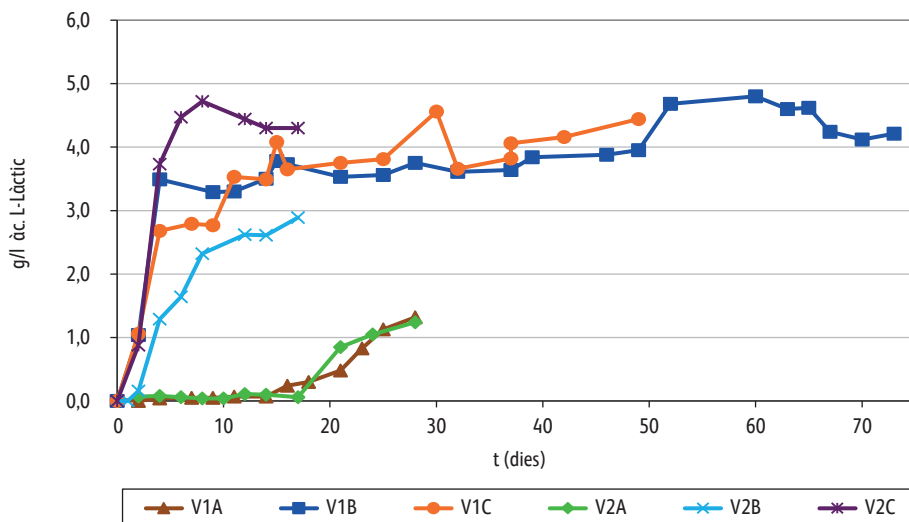
Per a la vinificació V1C, en el gràfic es pot observar un descens de la població de bacteris durant la FA, que als 26 dies es recupera lentament fins a poblacions de l'ordre de 10^6 ufc/ml. L'estudi d'implantació ens va indicar que va ser la mateixa soca Lalvin VP41™ la que va tornar a proliferar, ja que el 100% de les colònies van ser tipificades com a Lalvin VP41™. A les vinificacions amb FML i FA seqüencials (V1B), els resultats van ser més negatius: als 30 dies d'inoculada la soca Lalvin VP41™, sols s'havia degradat un 35-40% de l'àcid L-màlic inicial i la població viable de bacteris havia anat disminuint, raó per la qual es va haver de reinocular amb la soca MLprime™.

Aquests resultats van posar en evidència que clarament hi havia un efecte inhibidor o alentidor de la FML en les vinificacions en què s'havia inoculat la soca de *L. thermotolerans*. S'intuïa que l'efecte inhibidor podia ser la concentració elevada d'àcid L-làctic produïda per la soca Laktia™ en el moment d'inocular els bacteris, més acusat quan Lalvin VP41™ es va inocular al final de la FA. Per aquesta raó, a la verema següent (2019) es va canviar d'estratègia i es va treballar amb coinoculació de *S. cerevisiae* i BAL al cap de 24 hores d'haver inoculat la soca de *L. thermotolerans* i, d'aquesta manera, aquesta soca no actuaria tant de temps sola, generaria menys àcid L-làctic i hi hauria menys efecte inhibidor tal com es va constatar (figura 4).

L'assaig de 2019 es va fer amb dues soques de BAL d'espècies diferents, ambdues amb bons resultats contrastats per treballar en coinoculació amb llevats, la mateixa soca d'*O. oeni*, Lalvin VP41™ (V2B), i una soca de *L. plantarum*, MLprime™ (V2C). En els gràfics de la figura 3 (V2) s'observa que la FML es va dur a terme sense problemes. Com havíem pogut comprovar en veremes anteriors, la FML induïda per la soca MLprime™ (V2C) és molt més ràpida, tres o quatre dies enfront dels onze dies que tarda quan s'utilitza la soca Lalvin VP41™ (V2B), a l'hora de transformar l'àcid L-màlic en àcid L-làctic. La FML en el control, induïda al final de la FA amb Lalvin VP41™ (V2A), va ser una mica més llarga, va durar divuit dies. En ambdós casos, la FML es va desenvolupar amb normalitat i més ràpid que el control amb acidificació química i FML seqüencial a la FA (Masqué *et al.*, 2018) (figura 1).

FIGURA 4

Producció d'àcid L-làctic al llarg de les dues fermentacions comptant el temps a partir de la inoculació de la primera soca de llevat



FONT: Elaboració pròpia.

3.3. Producció d'àcid làctic i acètic

Com es pot veure a la figura 4, hi va haver una producció significativa d'àcid L-làctic per part de la soca Laktia™ en els dos o tres primers dies, sobretot en el període entre la seva inoculació i la inoculació de la soca de *S. cerevisiae*. D'entre les vinificacions inoculades amb Laktia™, en V2B (Laktia™ + 24 h coinoculació Lalvin Persy™ i Lalvin Lalvin VP41™) és en la que la producció d'àcid L-làctic és més baixa i en V2C (Laktia™ + 24 h coinoculació Lalvin Persy™ i MLPrime™) és en la que és més alta i més ràpida. Aquest augment de l'àcid L-làctic coincideix, no tan sols amb l'activitat de Laktia™, sinó també amb la degradació de l'àcid L-màlic per part de la soca MLprime™, cosa que mostra que produeix concentracions més elevades d'àcid L-làctic que Lalvin VP41™. Aquests resultats són molt interessants per a utilitzar-los com a eina en la modulació de l'acidificació dels vins: segons si cal acidificar més o menys, es podria utilitzar una estratègia o l'altra, ja sigui d'entre les plantejades durant la primera verema o la segona.

No es va detectar cap diferència en la producció d'àcid D-làctic entre vinificacions en cap de les dues veremes. Tampoc no es van trobar diferències significatives en la produc-

ció d'acid acètic durant la FA, però sí que es va veure que en les vinificacions en què la FML es va allargar la producció d'acid acètic va augmentar.

3.4. Caracterització fisicoquímica dels vins finals

De les característiques fisicoquímiques dels vins resultants de les vinificacions en les quals es va utilitzar la soca Laktia™ respecte dels corresponents vins de control amb acidificació química (taula 4), cal destacar que són vins amb més acidesa. Aquest increment de l'acidesa total és deguda, sens dubte, al contingut més elevat en àcid L-làctic. També s'hi observa una concentració de glicerol lleugerament més alta, com han descrit alguns autors (Vilela, 2018; Benito, 2018).

Quant al grau alcohòlic, tots els vins, inclosos els obtinguts en les vinificacions de control, han donat un grau alcohòlic inferior al grau en potència dels mostos, però, a més a més, se'n detecta una disminució considerable en els vins amb més producció d'acid L-làctic per part de la soca Laktia™, d'un 0,4% per a V2C i quasi d'un 1% per a V1B.

TAULA 4

Característiques fisicoquímiques dels vins finals obtinguts a la verema de 2018 (V1A, V1B, V1C) i a la verema de 2019 (V2A, V2B, V2C)

	V1A	V1B	V1C	V2A	V2B	V2C
Densitat relativa (20 °C)	0,9933	0,9953	0,9963	0,9933	0,9943	0,9953
Grau alcohòlic adquirit (%v/v)	14,24	14,14	13,28	14,11	14,10	13,72
Acidesa total (g/l d'àcid tartàric)	6,0	8,2	8,2	6,5	7,3	8,5
pH	3,35	3,45	3,45	3,42	3,60	3,51
Àcid làctic (g/l)	1,16	4,15	4,01	1,31	2,77	4,33
Àcid acètic (g/l)	0,47	0,60	0,78	0,34	0,34	0,33
Glicerol (g/l)	9,4	10,0	9,9	10,50	10,9	11,10
Àcid L-màlic (g/l)	< 0,10	0,22	0,14	0,08	0,06	0,23
Àcid cítric (g/l)	0,23	0,27	0,30	0,19	0,16	0,18
SO ₂ total (mg/l)	32	48	64	48	26	26
IPT (absorbància 280 nm)	64,71	67,81	66,82	53,46	56,25	54,19
Absorbància 420 nm	4,798	5,705	6,013	5,321	7,243	7,243
Absorbància 520 nm	10,598	11,580	11,601	11,680	14,813	14,813
Absorbància 620 nm	1,614	2,121	2,384	1,726	3,013	3,013

FONT: Elaboració pròpia.

L'acidesa volàtil és més elevada en els vins obtinguts en les dues vinificacions en què la FML ha estat molt llarga (V1B i V1C). Els tres vins de la segona verema presenten uns valors d'àcid acètic correctes i iguals en els tres casos. Així doncs, sembla que, a diferència d'assajos duts a terme amb altres soques de *L. thermotolerans* que estan descrits a la bibliografia (Vilela, 2018; Benito, 2018), la soca Laktia™ en aquests assajos no sembla tenir un efecte especial sobre l'acidesa volàtil.

3.5. Caracterització organolèptica dels vins finals

L'anàlisi organolèptica dels vins de les dues anyades ens serveix per a acabar de definir el vi i l'impacte que tenen els llevats de la soca Laktia™ en el vi resultant. La fitxa que s'utilitza està dividida en dues parts: una primera part, en què es puntuen descriptors organolèptics generals —color, aroma, gust i postgust amb relació a la qualitat i intensitat (figura 5)—, i una segona part, en què es defineix el vi a partir de descriptors aromàtics (figura 6).

En els resultats obtinguts de la descripció general dels vins de la verema de 2018 (figura 5, V1) veiem que estan millor valorades les vinificacions de control (V1A) i la vinificació en què la FML es va fer en coinoculació (V1C). Pel que fa als vins de la verema de 2019, són molt semblants entre ells, però V2A (control) està lleugerament menys valorat, sobretot respecte del color.

De la descripció aromàtica dels diferents vins concloem que els de l'any 2018 (figura 6, V1) tenen un perfil força diferenciat entre ells i destaquen les aromes vegetals i animals de les vinificacions on s'hi ha afegit Laktia™, probablement degut a la llarga FML, tot i que les aromes florals i de fruites vermelles són molt similars en totes les vinificacions.

Els vins de la verema 2019 (figura 6, V2) són força semblants entre ells, lleugerament més ben valorats V2B i V2C, amb molt poca presència d'aromes vegetals i animals i amb un predomini de la fruita fresca, vermella, especiada i mineral.

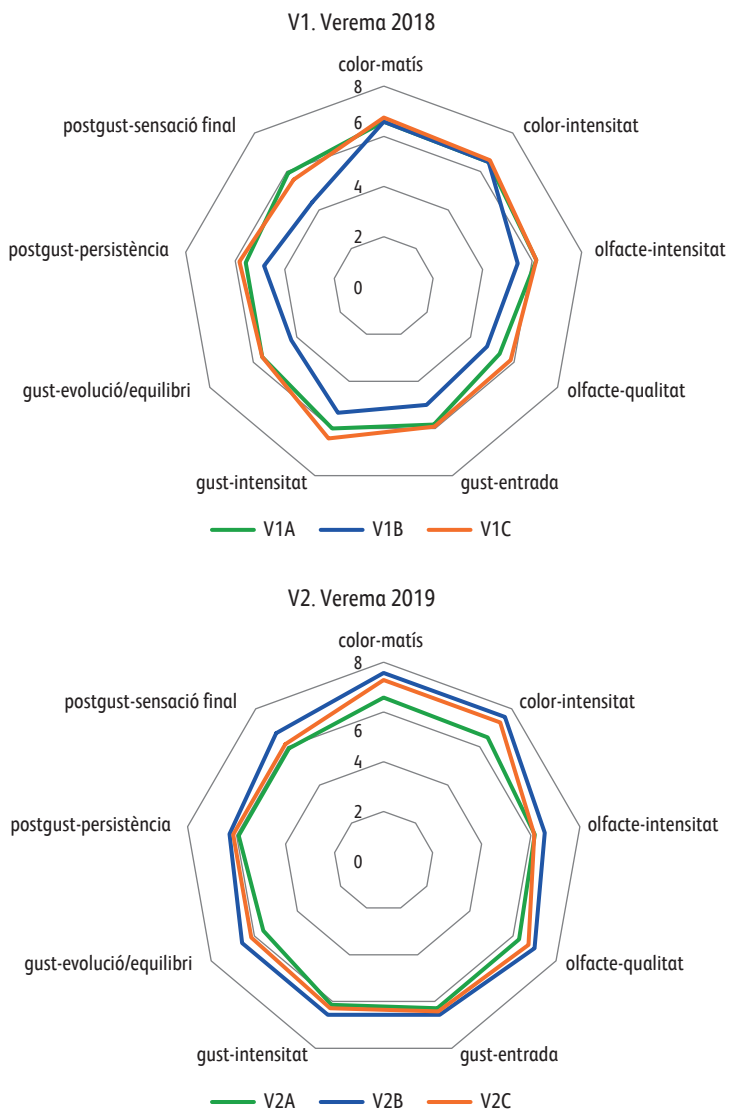
4. Conclusions

La utilització de la soca Laktia™ en inoculació seqüencial, tant amb la soca de *S. cerevisiae* Lalvin Rhone™ com Lalvin Persy™, és una bona eina per a obtenir vins de syrah amb caràcter, ja que la soca Laktia™ produeix àcid L-làctic que contribueix a augmentar l'acidesa dels vins alhora que es revelen més les característiques organolèptiques varietals.

Sembla que concentracions elevades d'àcid L-làctic poden interferir en el desenvolupament de la fermentació malolàctica. Tanmateix, l'augment d'acidesa es podria modular

FIGURA 5

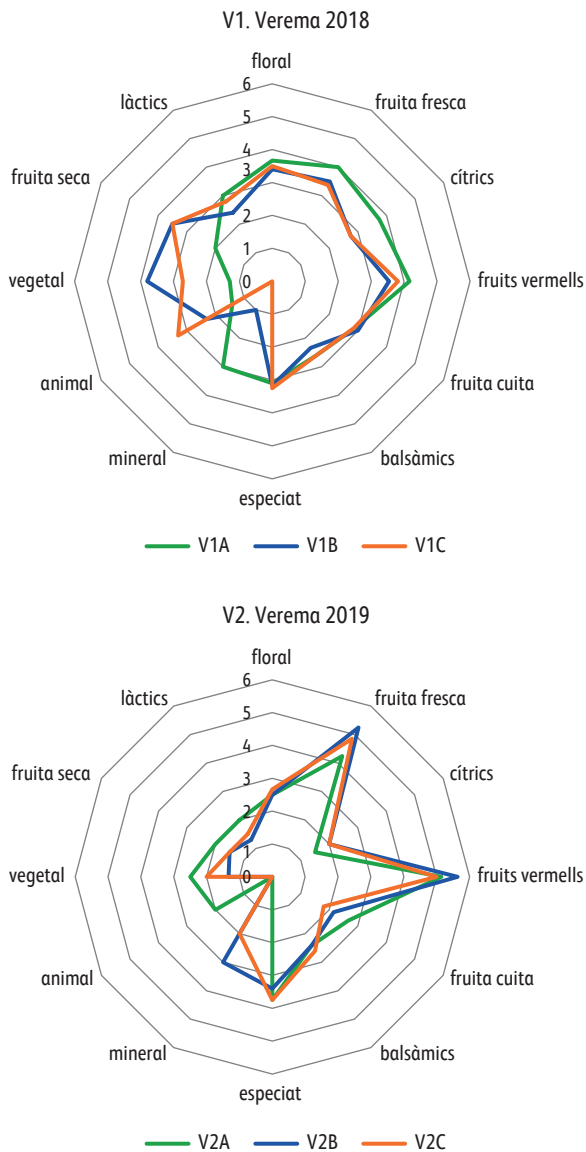
Puntuació dels vins segons la qualitat i la intensitat dels diferents descriptors generals dels vins de les veremes de 2018 (V1) i de 2019 (V2)



FONT: Elaboració pròpia.

FIGURA 6

Puntuació dels descriptors aromàtics dels vins de les veremes de 2018 (V1) i de 2019 (V2)



FONT: Elaboració pròpia.

segons l'estratègia d'inoculació entre les dues espècies de llevats i bacteris làctics utilitzada. Així, en aquest treball s'ha vist que per a vins de la varietat syrah, quant a l'evolució de les fermentacions alcohòlica i malolàctica, els millors resultats s'han obtingut quan els bacteris làctics s'han coinoculat amb la soca de *S. cerevisiae* i s'han induït les dues fermentacions, alcohòlica i malolàctica, simultàniament. La producció d'àcid L-làctic ha estat més alta o més baixa segons la soca de bacteri utilitzada: MLprime™ (*L. plantarum*) produeix més àcid làctic que la soca Lalvin VP41™ (*O. oeni*).

Tot i que les fermentacions alcohòliques s'han desenvolupat totes correctament, els percentatges d'implantació a la meitat de la fermentació han estat més alts per a la soca de Lalvin Persy™ i més baixos per a la soca Laktia™, juntament amb una millor evolució de les fermentacions alcohòlica i malolàctica durant la segona verema, i semblen indicar una millor sinergia entre la soca Laktia™ i la soca Lalvin Persy™.

Els vins obtinguts amb la presència de la soca de *L. thermotolerans* i fermentacions alcohòlica i malolàctica simultànies han estat molt ben valorats des d'un punt de vista organolèptic amb un perfil aromàtic més floral i afruitat, i addicionalment en alguns d'aquests vins s'ha observat una reducció del grau alcohòlic d'entre un 0,1 i un 1%. Per aquesta raó, la utilització de la soca Laktia™ en combinació amb diferents estratègies d'inoculació entre llevats i bacteris làctics podria ser una bona eina biològica, no sols per a augmentar de manera natural l'acidesa dels vins, sinó també per a reduir-ne el grau alcohòlic i obtenir un bon perfil organolèptic.

Agraïments

Aquest treball ha estat fet amb el suport i la col·laboració de l'empresa Lallemand Inc.

Bibliografia

- BENITO, A.; CALDERÓN, F.; PALOMERO, F.; BENITO, S. (2016). «Quality and composition of Airén wines fermented by sequential inoculation of *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*». *Food Technology Biotechnology*, 54 (2), p. 135-144.
- BENITO, S. (2018). «The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on wine-making». *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 (16), p. 6775-6790.
- CIANI, M.; MORALES, P.; COMITINI, F.; TRONCHONI, J.; CANONICO, L.; CURIEL, JA; ORO, L.; RODRIGUES, A. J.; GONZALEZ, R. (2016). «Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines». *Frontiers in Microbiology* [en línia], 7, p. 642. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00642>> [Consulta: abril 2022].

- GOBBI, M.; COMITINI, F.; DOMIZIO, P.; ROMANI, C.; LENCIONI, L.; CIANI, M. (2013). «*Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine». *Food Microbiology*, 33, p. 271-281.
- JOLLY, N. P.; VARELA, C.; PRETORIUS, I. S. (2014). «Not your ordinary yeast: *Non-Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered». *FEMS Yeast Research*, 14, p. 215-237.
- JONES, G.; WHITE, M. A.; COOPER, O. R.; STORCHMANN, K. (2005). «Climate change and global wine quality». *Climatic Change*, 73, p. 319-334.
- MASQUÉ, M. C.; GRAU, C.; PUIG, A.; PEYRI, P.; ROIG, O.; HERAS, J. M. (2018). «Diferentes estrategias de control de la fermentación maloláctica y su influencia en la calidad del vino». A: *XIV Congreso Nacional de Investigación Enológica (GIENOL). Libro de comunicaciones*. Ciudad Real: Proyectos, Incentivos y Congresos, SL. ISBN: 978-84-09-12074-1.
- MASQUÉ, M. C.; SOLER, M.; ZAPLANA, B.; FRANQUET, R.; RICO, S.; ELORDUY, X.; PUIG, A.; BERTRAN, E.; CAPDEVILA, F.; PALACIOS, A. T.; ROMERO, S. V.; HERAS, J. M.; KRIEGER-WEBER, S. (2011). «Ethyl carbamate content in wines with malolactic fermentation induced at different points in the vinification process». *Annals of Microbiology*, 61, p. 199-206. DOI: 10.1007/s13213-010-0071-y.
- MIRA DE ORDUÑA, R. (2010). «Climate change associated effects on grape and wine quality and production». *Food Research International*, 43, p. 1844-1855.
- MORATA, A.; LOIRA, I.; TESFAYE, W.; BAÑUELOS, M. A.; GONZÁLEZ, C.; SUÁREZ LEPE, J. A. (2018). «*Lachancea thermotolerans* applications in wine technology». *Fermentation*, 4, p. 53.
- ORGANITZACIÓ INTERNACIONAL DE LA VINYA I EL VI (OIV) (2011). «Molecular tools for identification of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast and other species related to wine-making». *Resolution OIV-OENO 408-2011*.
- (2012). «Biology molecular tools for identification of grape and wine lactic acid bacteria». *Resolution OIV-OENO 409-2012*.
- QUEROL, A.; BARRIO, E.; RAMÓN, D. (1992). «A comparative study of different methods of yeast strain characterization». *Systematic and Applied Microbiology*, 15, p. 439-446.
- ROSSETTI, L.; GIRAFFA, G. (2005). «Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-Generated, RAPD-PCR fingerprint databases». *Journal of Microbiological Methods*, 63, p. 135-144.
- VAQUERO, C.; LOIRA, I.; BAÑUELOS, M. A.; HERAS, J. M.; CUERDA, R.; MORATA, A. (2020). «Industrial performance of several *Lachancea thermotolerans* strains for pH control in white wines from warm areas». *Microorganisms*, 8, p. 830.
- VILELA, A. (2018). «*Lachancea thermotolerans*, the *Non-Saccharomyces* yeast that reduces the volatile acidity of wines». *Fermentation*, 4, p. 56.