



Universidad de Valladolid

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS
AGRARIAS

GRADO EN ENOLOGÍA

**Estudio del impacto de la crianza sobre lías de
diferentes cepas de levaduras *Saccharomyces* y
no-*Saccharomyces* en un vino base tinto.**

Alumna

Sara De Domingo García

Tutoras

Encarnación Fernández Fernández

Violeta Ruipérez Prádanos

JULIO 2022

Estudio del impacto de la crianza sobre lías de diferentes cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* en un vino base

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	2
3. OBJETIVOS	4
4. MATERIAL Y MÉTODOS	4
4.1 Vino y cepas de levaduras	4
4.2 Condiciones de autólisis	5
4.3 Análisis de los parámetros fisicoquímicos	5
4.4 Análisis sensorial	6
4.5 Análisis estadístico.....	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
5.1 Características fisicoquímicas generales	11
5.2 Proteínas solubles y polisacáridos	11
5.3 Intensidad colorante, índice de polifenoles totales, antocianos, taninos, tonalidad.....	11
5.4 Flavonoles y ácidos hidroxicinámicos	12
5.5 Análisis sensorial	12
5.6 Análisis de componentes principales	13
5.7 Lías propias vs añadidas	17
5.8 Diferencias entre cepas sobre la influencia en el perfil sensorial del vino	17
6. CONCLUSIONES	19
7. BIBLIOGRAFÍA	20

1. RESUMEN

Hoy en día la crianza sobre lías se ha visto muy extendida en enología no solo para la elaboración de vinos espumosos, sino también para la elaboración de vinos tranquilos. Se ha observado desde el punto de vista organoléptico, que los vinos con crianza sobre lías son vinos más equilibrados y que presentan un sabor y aroma más complejo, además de una composición química característica. El objetivo del presente Trabajo Fin de Grado es estudiar el impacto que ejerce la crianza sobre lías de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* en las características fisicoquímicas y sensoriales en un vino base tinto. El vino base a estudiar está elaborado con uva de la variedad Tempranillo de la vendimia del 2021, al cual se le han añadido las diferentes lías (8 tratamientos por duplicado), y se ha llevado a cabo una crianza de 4 meses.

Este estudio sugiere que el uso de lías de levaduras no-*Saccharomyces* en la crianza sobre lías es una herramienta útil para mejorar la calidad general del vino, ya que modifica la composición del vino y las características sensoriales.

Palabras clave: Crianza sobre lías, *Saccharomyces*, no-*Saccharomyces*, vino tinto, Tempranillo, propiedades fisicoquímicas, propiedades sensoriales.

ABSTRACT

Nowadays, the ageing on lees has been widespread in oenology, not only for the production of sparkling wines, but also for the production of wines without carbon dioxide. It has been observed from the organoleptic point of view that wines aged on lees are more balanced and have a more complex taste and aroma, in addition to a characteristic chemical composition.

The aim of this Final Degree Project is to study the impact of ageing on lees of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts on the physicochemical and sensory characteristics in a wine. The wine subject of study is elaborated with grapes of Tempranillo variety of the 2021 harvest, to which the different lees have been added (8 treatments in duplicate) and a 4-month ageing has been carried out.

This study suggests that the use of non-*Saccharomyces* lees in wine ageing is a useful tool for the improvement mannoproteins, reaching values higher than obtained using *Saccharomyces cerevisiae* lees.

Key words: Ageing on lees, *Saccharomyces*, non-*Saccharomyces*, red wine, Tempranillo, physicochemical properties, sensory properties.

2. INTRODUCCIÓN

La crianza sobre lías consiste en mantener los restos de las células de levadura, en contacto con el vino tras la fermentación alcohólica. Las lías mayoritariamente están formadas por levaduras y, en menor proporción, materia inorgánica y tartárico. (Perez-Serradilla & de Castro, 2008). Esta práctica enológica ha ido ganando importancia en la elaboración del vino tinto, debido al impacto que tiene sobre las características organolépticas del vino (Vidal et al., 2004).

Al dejar el vino en contacto con las lías después de la fermentación alcohólica se produce la liberación de una mezcla de polisacáridos y de cadenas cortas de polisacáridos y, de estos últimos una fracción corresponde a las manoproteínas unidas covalentemente al glucano de la pared intacta (Morata et al., 2005). Esta liberación se consigue por el proceso de autólisis de la levadura y por la acción de enzimas como la β -glucanasa y manosidasa procedentes de las levaduras (Charpentier & Freyssinet, 1989). Dichas enzimas favorecen la liberación de nitrógeno en forma de aminoácido, que puede alterar las características organolépticas del vino, principalmente su composición volátil (Pozo-Bayón et al., 2009).

La autólisis de las levaduras es un proceso irreversible que por lo general se produce al final de la fase estacionaria de crecimiento y está asociada con la muerte celular (Babayan & Bezrukov, 1985). Se ha demostrado en estudios que la autólisis tiene lugar en cuatro pasos. En el primero, las proteasas vacuolares se liberan al citoplasma debido a la degradación de las endoestructuras celulares. En el segundo, las proteasas liberadas, que inicialmente se encuentran inhibidas por inhibidores citoplasmáticos específicos, se van a activar gracias a la degradación de los dichos inhibidores. En el tercer paso se va a producir la hidrólisis de los componentes y los productos resultantes se van a acumular en el espacio restringido por la pared celular. Por último, dichos productos hidrolíticos se van a liberar, atravesando los poros de la pared celular cuando sus masas moleculares sean lo suficientemente bajas para atravesarla (Alexandre & Guilloux-Benatier, 2006; Babayan et al., 1981).

La composición de las paredes celulares de las levaduras (Ilustración 1), así como la formación de los polisacáridos de la pared es diferente entre una especie y otra. (Palomero et al., 2009).

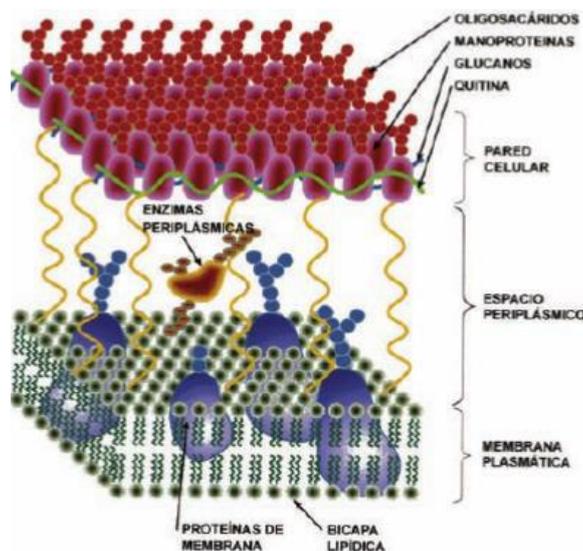


Ilustración 1: Estructura de la pared celular de las levaduras. Hidalgo, 2019

En estudios realizados con *Saccharomyces cerevisiae* se observó que los polisacáridos representaban en torno al 85-90 % de la pared celular de la levadura. Dichos polisacáridos se podían dividir en 3 grupos: manoproteínas o polímeros de manosa que podían alcanzar hasta un 50 % en peso seco, quitina o polímeros de N-acetil-glucosamina que alcanzan hasta el 6 % y los polímeros de glucosa o 1,3/1,6- β -glucanos que pueden alcanzar hasta el 55 % (Klis et al., 2002).

A causa de la liberación de las manoproteínas durante la crianza sobre lías, el vino se ve modificado, influyendo en las propiedades sensoriales, en la boca y redondez del vino (Vidal et al., 2004). Durante la autólisis de las levaduras se liberan también compuestos como lípidos, que pueden ser precursores aromáticos, pudiendo mejorar la fracción aromática de los vinos favoreciendo la formación de aldehídos volátiles y ésteres (Charpentier et al., 1993). Además, las lías tienen capacidad de adsorber diferentes compuestos volátiles responsables de defectos organolépticos en los vinos, como los etilfenoles (Chassagne et al., 2005; Pradelles et al., 2008). También, se logran mejoras en la estabilidad de la materia colorante debido a que actúan como coloides protectores e interactúan con los antocianos y taninos, evitando su precipitación y agregación (Escot et al., 2001). Asimismo, el carácter reductor de las lías va a proteger a los polifenoles de la oxidación. Es por eso por lo que para la selección de levaduras para la crianza sobre lías un criterio fundamental es la liberación de polisacáridos (Fornairon-Bonnefond & Salmon, 2003; Salmon, 2005). En diversos estudios se han demostrado que los tratamientos con manoproteínas incrementan el cuerpo, la percepción de sensación de redondez y dulzura, la persistencia, la complejidad olfativa y la intensidad aromática, además reducen el amargor, la astringencia y los taninos verdes agresivos (Del Barrio-Galán et al., 2012; Guadalupe et al., 2007; Loira et al., 2013; Ribeiro et al., 2014).

Sin embargo, uno de los riesgos en los que se pueden ver afectados los vinos con crianza sobre lías es la formación de aminas biógenas o la liberación de sus precursores de aminoácidos (Martinez-Rodriguez & Polo, 2000). Además, exige una inversión considerable en cuanto a recursos se refiere (toneles, cubas, mano de obra, análisis sensoriales, etc.) (Palomero et al., 2009). Recientemente se ha propuesto la recolecta y el reciclado de las lías provenientes de la fermentación, aunque tradicionalmente se han considerado como los subproductos de desecho (Iseppi et al., 2021).

En estudios recientes se ha visto que levaduras no-*Saccharomyces*, presentes en la uva y en la vinificación, presentan gran capacidad para liberar durante la fermentación alcohólica importantes cantidades de polisacáridos, incluyendo manoproteínas, por lo que dichas manoproteínas y polisacáridos estarían presentes de forma natural, sin la adición exógena de los mismos (Domizio et al., 2014). El poder incrementar de forma natural el contenido de manoproteínas usando levaduras no-*Saccharomyces* es de gran interés, y supone un valor añadido debido a la mejora que se produce en el sabor y en la calidad del vino (Ciani et al., 2010; Jolly et al., 2006, 2014). A pesar de que la inoculación de levaduras comerciales *S. cerevisiae* es la práctica enológica más común para la elaboración de vinos comerciales, el empleo de diferentes especies de levaduras podría ser una opción a considerar por los enólogos que pretenden obtener vinos con diferentes propiedades organolépticas (Fresno et al., 2021).

Se ha demostrado que algunas cepas de especies como *Torulasporea delbrueckii* incrementan el contenido de manoproteínas durante la fermentación (Belda et al., 2015; Domizio et al., 2014). Esta levadura, es la más usada para la fermentación alcohólica del vino dentro de las no-*Saccharomyces* (Albertin et al., 2014). Sin embargo, manoproteínas liberadas por especies como *Schizosaccharomyces pombe* y *Lachancea thermotolerans* mejoraron la características sensoriales y aromáticas del vino, y esto puede ser debido a la capacidad de liberar manoproteínas que retienen compuestos aromáticos positivos (Benito et al., 2019).

La utilización de especies no-*Saccharomyces* presenta la dificultad de implantarse en el mosto sobre la microflora nativa. Por lo tanto, la liberación de metabolitos y la producción de actividades enzimáticas con proyección sensorial es limitada al igual que la expresión de su metaboloma (Morata et al., 2020). Una alternativa a este problema puede ser la extracción de manoproteínas de levaduras no-*Saccharomyces*, donde en vez de utilizar esas cepas de levadura para la fermentación del vino, se aplicaría dichas manoproteínas directamente para la crianza. Esta estrategia, que se aplica sobre todo para aquellas cepas cuyas capacidades fermentativas son débiles, evitaría inconvenientes como la liberación inadecuada de manoproteínas debido a la competencia con *S. cerevisiae* y a las condiciones de vinificación adversas, a paradas de fermentación y a la disminución de la calidad del vino (Giovani et al., 2012).

Por lo tanto, en el presente estudio se evaluará el empleo de lías procedentes de diferentes cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*, y se compararán las características fisicoquímicas y en el perfil sensorial del vino base que se va a destinar posteriormente a la elaboración de vino espumoso

3. OBJETIVOS

El objetivo del presente TFG es estudiar el impacto que ejerce en las características fisicoquímicas y sensoriales en un vino base tinto, la crianza sobre lías, procedentes de levaduras secas activas *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* añadidas al vino base, las cuales han sido previamente lisadas y que no se han utilizado para la fermentación.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Vino y cepas de levaduras

Se utilizó un vino base tinto elaborado con uva de la variedad Tempranillo de la vendimia del 2021, al cual se le añadieron diferentes lías obtenidas de las siguientes cepas de levaduras secas activas cedidas por la casa comercial Lallemand: *S. cerevisiae*, dos cepas de *Torulasporea delbrueckii* (NTD20 y TD29), dos cepas de *Metschnikowia pulcherrima* (MPI y MPF), y *Lachancea thermotolerans*. Además, se utilizaron lías de la propia fermentación del vino base y un vino control sin lías, obteniendo un total de 8 tratamientos por duplicado (Tabla 1).

Tabla 1: Tratamientos utilizados en el estudio y su codificación.

Descripción	Código
Control	C
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	SC
Lías propias	LP
<i>Torulaespora delbrueckii</i> 29	TD29
Nueva <i>Torulaespora delbrueckii</i>	NTD20
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> I	MPI
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> F	MPF
<i>Lachancea thermotolerans</i>	LTL

4.2. Condiciones de autólisis

Se partió de las cepas de levaduras secas activas señaladas en el apartado anterior (4.1) que se suspendieron en un vino modelo. La composición del vino modelo contiene etanol (10 % v/v), ácido málico (3 g/L), ácido acético (0,1 g/L), ácido tartárico (4 g/L), sulfato potásico (0,1 g/L) y sulfato magnésico (0,025 g/L). El pH se ajustó a 3 con hidróxido de sodio. La autólisis se realizó de acuerdo con Pueyo et al. (2020), exceptuando la duración de la incubación de las lías que se llevó a cabo a 30 °C, durante 64 horas con agitación en un centrifugador orbital a 100 rpm. Transcurridas las 64 horas, se centrifugaron las muestras, se retiró el sobrenadante y se obtuvieron las lías puras. Dichas lías se añadieron a los 16 depósitos de acero inoxidable (8 tratamientos por duplicado), con una capacidad de 20 litros en donde se encontraba el vino tinto base, a razón de 0,8 g/L y se llevó a cabo una crianza sobre lías durante 4 meses.

4.3. Análisis de los parámetros fisicoquímicos

Métodos y fundamentos utilizados:

- pH: Se basa en la medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en el líquido que se estudia. Uno de los dos electrodos tiene un potencial que es una función definida del pH del líquido, el otro tiene un potencial fijo y conocido y constituye el electrodo de referencia (OIV, 2011).
- Acidez total: Valoración potenciométrica utilizando NaOH 0,1 N (OIV, 2015).
- Acidez volátil: Método García-Tena, cuyo fundamento se basa en una destilación fraccionada del vino una vez eliminado el dióxido de carbono y una posterior valoración ácido-base de la segunda porción del destilado (García & Xirau, 2014).
- Grado alcohólico: Mediante ebulloimetría, este método se fundamenta en la diferencia entre los puntos de ebullición del alcohol y el agua, tomando como referencia la temperatura del agua en las condiciones ambientales (Barceló, 1990).
- Índice de polifenoles totales: Medida de la absorbancia del vino a 280 nm (UV), debido al núcleo bencénico característico de los compuestos polifenólicos que presenta a esta longitud de onda su máximo de absorbancia (García & Xirau, 2014)

- Nitrógeno fácilmente asimilable: El α -amino y el nitrógeno amónico reaccionan con el formaldehído liberando $2 H^+$ que son valorados mediante NaOH (Shively et al., 2001).
- Proteínas solubles: Se basa en la propiedad de los taninos de formar con las proteínas combinaciones estables con la gelatina (Hidalgo 2003; Llaudy et al., 2004).
- Polisacáridos totales: Los polisacáridos se degradan y forman complejos coloreados con fenol, en presencia de ácido sulfúrico, dichos complejos coloreados permiten su determinación a 485 nm (Lindner & Shomer, 1984).
- Ácidos hidroxicinámicos: Mediante espectroscopía UV se mide la absorción que presenta la muestra a 320 nm (Betés-Saura et al., 1996).
- Flavonoles: Mediante espectroscopía UV se mide la absorción que presenta la muestra a 365 nm (Betés-Saura et al., 1996).
- Características cromáticas: Método de Glories. Se determinan midiendo la absorbancia a longitudes de onda de 420, 520 y 620 nm (Pérez-Magariño & González-San José, 2006)
- Taninos totales: En medio ácido los taninos son liberados y en presencia de calor, por rotura de los enlaces intermonoméricos, pueden dar lugar a sus antocianidinas, que posteriormente se miden a 550 nm (Bate-Smith, 1981).
- Antocianos totales: Se basa en la decoloración mediante bisulfito de sodio (Ribereau-Gayon & Stonestreet, 1965), donde la coloración es proporcional a la concentración de antocianos libres.

Todos los parámetros fisicoquímicos se realizaron por duplicado excepto los análisis de nitrógeno fácilmente asimilable, proteínas solubles, antocianos y polisacáridos totales que se realizaron por triplicado.

4.4. Análisis sensorial

Se utilizó un panel de 10 catadores entrenado según la Norma UNE-EN ISO 8586:2014, formado por 5 hombres y 5 mujeres, con una edad media de 25 años.

Las sesiones se realizaron en la sala de catas de la ETSIIAA del Campus de Palencia de la Universidad de Valladolid y en cabinas individuales, siguiendo los protocolos COVID. Dicha sala cumple con los requisitos que se indican en la Norma UNE-EN ISO 8589:2010.

El panel de catadores realizó análisis sensorial descriptivo cuantitativo (Stone & Sidel, 2004), utilizando una ficha de cata para vino tinto, formada por 13 atributos divididos en tres fases y cuantificados en una escala no estructurada de 10 cm (Tabla 2).

Tabla 2: Atributos utilizados en la ficha de cata.

	Descriptor	Código
Fase visual	Tonalidad	Tona
	Intensidad de capa	Icap
Fase olfativa	Intensidad del olor	Iolor
	Afrutado	Afru
	Vegetal (Herbáceo)	Veg
	Láctico	Lac
Fase gustativa	Alcohólico	Alc
	Ácido	Acid
	Amargo	Amar
	Astringente	Astr
	Volumen en boca	Vol
	Intensidad	Int
	Persistente	Pers

En cada sesión, las muestras se sirvieron de manera aleatoria siguiendo un diseño de bloques completo, en copas para la degustación de vinos según la Norma UNE 87022:1992 y con códigos de tres cifras elegidos al azar. En cada copa se sirvió unos 25 ml de vino a una temperatura aproximada de 16 ± 1 °C. Todos los tratamientos se cataron por duplicado ($n = 20$, 10 catadores x 2).

4.5. Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se calculó el valor medio y la desviación estándar de todas las repeticiones realizadas tanto de los parámetros fisicoquímicos como de los descriptores sensoriales. Posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) y se utilizó Statgraphics Centurion XVIII (Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, USA).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las siguientes tablas se presentan los valores medios y la desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos (Tablas 3 y 4) analizados y de los atributos sensoriales (Tabla 5) en los distintos vinos tras 4 meses de crianza sobre lías.

Tabla 3: Análisis fisicoquímico de los vinos tras 4 meses de crianza sobre lías. Control (C), *S. cerevisiae* (SC), Lías propias (LP), *T. delbrückii* (TD29), Nueva *T. delbrückii* (NTD20), *M. pulcherrima* I (MPI), *M. pulcherrima* F (MPF), *L. thermotolerans* (LTL), Acidez Total (AT), Grado Alcohólico (GA), Acidez Volátil (AV), Nitrógeno Fácilmente Asimilable (NFA), Polisacáridos Totales (PT). Los resultados representan la media \pm desviación estándar.

	AT (g/L)	pH	GA (%vol.)	AV (g/L)	NFA (mg/L)	PT (g/L)
C	5,6 \pm 0,3	3,44 \pm 0,02	11,40 \pm 0,00	0,38 \pm 0,05	98 \pm 11	2,76 \pm 0,57
SC	5,5 \pm 0,2	3,32 \pm 0,24	11,40 \pm 0,00	0,47 \pm 0,00	100 \pm 14	2,63 \pm 0,65
LP	5,3 \pm 0,0	3,45 \pm 0,06	11,20 \pm 0,00	0,46 \pm 0,01	107 \pm 6	2,76 \pm 0,86
TD29	5,4 \pm 0,1	3,42 \pm 0,18	11,55 \pm 0,07	0,42 \pm 0,04	95 \pm 4	2,52 \pm 0,97
NTD20	5,4 \pm 0,0	3,4 \pm 0,08	11,45 \pm 0,07	0,43 \pm 0,00	91 \pm 6	2,73 \pm 0,44
MPI	5,6 \pm 0,1	3,48 \pm 0,00	11,20 \pm 0,00	0,41 \pm 0,04	98 \pm 8	2,52 \pm 0,88
MPF	5,5 \pm 0,3	3,42 \pm 0,11	11,30 \pm 0,14	0,44 \pm 0,06	99 \pm 14	2,68 \pm 0,47
LTL	5,4 \pm 0,0	3,18 \pm 0,03	11,55 \pm 0,07	0,47 \pm 0,00	96 \pm 10	2,76 \pm 0,34

Tabla 4: Análisis fisicoquímico de los vinos tras 4 meses de crianza sobre lías. Control (C), *S. cerevisiae* (SC), Lías propias (LP), *T. delbrückii* (TD29), Nueva *T. delbrückii* (NTD20), *M. pulcherrima* I (MPI), *M. pulcherrima* F (MPF), *L. thermotolerans* (LTL), % Azul (%AZ), % Amarillo (%AM), % Rojo (%ROJ), Tonalidad (TON), Intensidad Colorante (IC), Índice de Polifenoles Totales (IPT), Ácidos Hidroxicinámicos (AHC), Flavonoles (FLAV), Antocianos (ANT), Proteínas Solubles (PS), Taninos (TAN). Los resultados representan la media \pm desviación estándar

	%AZ	%AM	%ROJ	TON	IC	IPT	AHC	FLAV	ANT (mg/L)	PS (g/L)	TAN (g/L)
C	15,57 \pm 0,16	30,18 \pm 0,09	54,25 \pm 0,06	0,56 \pm 0,00	12,11 \pm 0,01	6,65 \pm 0,21	20,50 \pm 0,21	6,73 \pm 0,11	185 \pm 4	0,35 \pm 0,57	1,60 \pm 0,18
SC	14,92 \pm 0,81	30,01 \pm 0,07	55,07 \pm 0,75	0,54 \pm 0,01	13,65 \pm 1,41	7,53 \pm 1,03	22,55 \pm 2,05	7,68 \pm 0,74	325 \pm 6	0,36 \pm 0,65	2,09 \pm 0,31
LP	15,27 \pm 0,75	30,64 \pm 0,49	54,09 \pm 0,26	0,57 \pm 0,01	11,69 \pm 1,50	7,10 \pm 0,42	22,85 \pm 1,63	7,70 \pm 0,64	388 \pm 141	0,38 \pm 0,86	1,97 \pm 0,22
TD29	15,41 \pm 0,75	29,95 \pm 0,26	54,64 \pm 1,02	0,55 \pm 0,02	12,85 \pm 1,22	6,93 \pm 0,53	21,83 \pm 1,17	7,30 \pm 0,64	246 \pm 23	0,39 \pm 0,97	1,55 \pm 0,11
NTD20	15,69 \pm 0,36	29,95 \pm 0,23	54,36 \pm 0,59	0,55 \pm 0,01	12,28 \pm 0,83	6,95 \pm 0,07	21,13 \pm 1,59	7,05 \pm 0,78	256 \pm 48	0,38 \pm 0,44	1,28 \pm 0,42
MPI	14,33 \pm 0,12	29,95 \pm 0,05	55,72 \pm 0,06	0,54 \pm 0,00	15,08 \pm 0,52	7,13 \pm 0,32	22,70 \pm 1,13	7,80 \pm 0,35	388 \pm 60	0,38 \pm 0,88	2,20 \pm 0,34
MPF	15,16 \pm 0,93	30,31 \pm 0,34	54,53 \pm 0,58	0,56 \pm 0,00	12,90 \pm 1,07	7,98 \pm 0,81	23,68 \pm 0,32	8,05 \pm 0,28	275 \pm 122	0,33 \pm 0,47	1,84 \pm 0,12
LTL	15,51 \pm 0,14	29,9 \pm 0,23	54,59 \pm 0,37	0,55 \pm 0,01	11,64 \pm 0,61	6,48 \pm 0,25	20,53 \pm 1,03	6,83 \pm 0,39	223 \pm 77	0,42 \pm 0,34	1,56 \pm 0,15

Tabla 5: Análisis sensorial de los vinos tras 4 meses de crianza sobre lías. Control (C), *S. cerevisiae* (SC), Lías propias (LP), *T. delbrückii* (TD29), Nueva *T. delbrückii* (NTD20), *M. pulcherrima* I (MPI), *M. pulcherrima* F (MPF), *L. thermotolerans* (LTL). Los resultados representan la media \pm desviación estándar

	Tona	Icap	Iolor	Afru	Veg	Lac	Alc	Acid	Amar	Astr	Vol	Int	Pers
C	6,3 \pm 2,6	6,8 \pm 1,8	5,7 \pm 1,1	5,1 \pm 1,7	4,3 \pm 1,8	4,2 \pm 1,6	4,4 \pm 1,5	4,1 \pm 1,76	3,4 \pm 1,3	4,7 \pm 1,8	4,2 \pm 1,8	4,6 \pm 1,9	4,7 \pm 2,1
SC	6,3 \pm 2,8	7,0 \pm 1,3	5,2 \pm 1,9	4,7 \pm 1,5	4,1 \pm 1,9	3,8 \pm 1,8	4,7 \pm 1,6	3,9 \pm 1,6	3,6 \pm 1,4	4,7 \pm 2,1	4,7 \pm 1,9	5,0 \pm 1,9	4,8 \pm 2,2
LP	6,3 \pm 2,4	5,9 \pm 1,7	4,8 \pm 2,1	4,2 \pm 1,1	4,1 \pm 1,8	3,4 \pm 1,5	6,1 \pm 6,7	3,8 \pm 1,7	3,1 \pm 1,5	4,3 \pm 2,2	3,9 \pm 2,0	4,4 \pm 2,2	4,4 \pm 2,0
TD29	5,9 \pm 2,8	6,5 \pm 2,3	5,6 \pm 1,8	4,5 \pm 1,6	4,2 \pm 1,3	3,8 \pm 1,7	4,3 \pm 1,7	3,5 \pm 1,3	3,5 \pm 1,3	3,8 \pm 1,8	3,9 \pm 1,6	4,2 \pm 1,6	4,0 \pm 1,8
NTD20	6,0 \pm 2,7	6,3 \pm 1,8	5,4 \pm 1,6	4,4 \pm 1,6	4,3 \pm 1,4	3,4 \pm 1,3	4,8 \pm 1,4	4,5 \pm 2,0	3,8 \pm 1,6	4,0 \pm 2,3	4,2 \pm 1,2	4,6 \pm 1,8	4,7 \pm 2,1
MPI	6,1 \pm 3,0	6,7 \pm 1,7	4,8 \pm 1,6	4,9 \pm 1,5	4,0 \pm 1,8	4,1 \pm 1,9	4,7 \pm 1,9	4,1 \pm 1,5	3,3 \pm 1,0	4,0 \pm 2,0	4,4 \pm 1,7	4,8 \pm 1,8	4,7 \pm 2,
MPF	6,0 \pm 2,8	6,8 \pm 1,7	4,8 \pm 1,9	4,1 \pm 2,5	4,0 \pm 1,6	3,7 \pm 2,1	4,4 \pm 2,1	4,0 \pm 2,0	3,9 \pm 1,8	4,8 \pm 1,4	4,0 \pm 1,5	4,4 \pm 1,8	4,5 \pm 2,1
LTL	6,4 \pm 2,4	6,6 \pm 2,1	5,8 \pm 1,3	5,2 \pm 2,0	4,0 \pm 1,8	4,1 \pm 1,8	4,3 \pm 1,6	4,0 \pm 1,6	3,4 \pm 1,6	4,2 \pm 1,7	3,9 \pm 1,4	4,8 \pm 1,8	4,6 \pm 2,1

5.1. Características fisicoquímicas generales

Se puede observar en la Tabla 3, que en este estudio no hay variaciones apreciables en parámetros como la acidez total, pH, acidez volátil y el grado alcohólico, lo que concuerda con el estudio de Belda et al., (2015) en el que no se observa ninguna influencia de la crianza sobre lías en dichos parámetros. En cuanto a los compuestos de nitrógeno, principalmente aminoácidos y péptidos, son considerados como los componentes principales que se liberan al vino durante la autólisis de la levadura (Jiménez & Ancín, 2017; Martínez-Rodríguez et al., 2006; Moreno-Arribas et al., 2009). En este trabajo se ha observado un incremento de los compuestos de nitrógeno en todos los tratamientos, salvo en los vinos tratados con las dos cepas de *T. delbrueckii* (TD29 y NTD20). Esto podría deberse a que los diferentes contenidos de aminoácidos y la liberación de sustancias nitrogenadas relacionados con la actividad proteolítica intracelular, dependen de la cepa de levadura (Charpentier et al., 1986; Vaughan-Martini et al., 1979).

5.2. Proteínas solubles y polisacáridos

Una de las principales razones para llevar a cabo la crianza sobre lías es mejorar sus propiedades de sensación en boca, liberando la mayor parte de las manoproteínas contenidas en la pared celular de la levadura. En la Tabla 4, se observa que el uso de lías no-*Saccharomyces*, exceptuando las lías de *M. pulcherrima* F (MPF) (0,33 g/L) incrementó la concentración de proteínas solubles después de 4 meses de crianza sobre lías, alcanzando valores más altos (0,38-0,42 g/L) en comparación con la cepa convencional de *S. cerevisiae* (0,36 g/L), siendo los vinos con lías de *L. thermotolerans* los que consiguieron valores más elevados en el contenido de dichas proteínas, seguido de los vinos con lías de la cepa de *T. delbrueckii* (TD29). Otros autores como Domizio et al., (2014) y Belda et al. (2015) también han demostrado que *T. delbrueckii* incrementa el contenido de manoproteínas en la fermentación y durante la crianza sobre lías. Sin embargo, en estudios previos se encontró que la levadura no-*Saccharomyces* que menos manoproteínas liberó fue *L. thermotolerans* (Belda et al., 2015). Por otro lado, en estudios realizados por Domizio et al. (2014) se demostró que la crianza con lías no-*Saccharomyces* aumentan el contenido de polisacáridos con respecto al control y al vino con crianza con lías de *Saccharomyces*, sin embargo, en este trabajo se observa lo contrario. Estas diferencias pueden deberse a las cepas empleadas en los estudios.

5.3 Intensidad colorante, índice de polifenoles totales, antocianos, taninos, tonalidad.

La crianza del vino no solo se ha relacionado con la estabilización del color, sino también con la pérdida de este, y esto va a depender del proceso de crianza, del entorno fisicoquímico y de las características de las células de levadura, así como de su capacidad de adsorción, en función de su porosidad (Gómez-Cordovés & Gonzalez-San José, 1995; Morata et al., 2003). En diferentes estudios se ha demostrado que las manoproteínas interfieren en la estabilización de las propiedades de color de los vinos, ya que previenen la precipitación de antocianos y taninos y reducen el proceso de oxidación de los polifenoles (Escot et al., 2001; Francois et al., 2007; Feuillat et al., 2001; Fuster & Escot, 2002; Saucier et al., 2002; Salmón, 2005). Sin embargo, también hay estudios en los

que no se observaron mejoras en las propiedades de color del vino en crianza sobre lías (Del Barrio-Galán et al., 2015; Loira et al., 2013; Rodrigues et al., 2012). En este trabajo los resultados están parcialmente de acuerdo (Tabla 4), ya que el vino con lías de *L. thermotolerans* (LTL) presenta una disminución menor tanto en la intensidad colorante como en el índice de polifenoles en comparación con los otros tratamientos.

Sin embargo, factores como la adsorción de la pared celular, podría estar influyendo en las propiedades del color final de los vinos. También podría afectar a la disminución de la intensidad colorante la degradación de los pigmentos presentes en el vino o el desarrollo de estos en otros compuestos (Palomero et al., 2009). Esto podría explicar que los vinos tratados con lías de *M. pulcherrima* F (MPF) presenten un menor aumento de la intensidad colorante.

Además, se puede observar en todos los tratamientos que el parámetro del % amarillo no presenta grandes fluctuaciones, lo que sugiere que las condiciones de oxidación en los diferentes ensayos fueron similares. Con respecto al % rojo, al % azul y a la tonalidad, no se observan diferencias entre los diferentes ensayos.

Se ha observado que los taninos y los antocianos de las levaduras no-*Saccharomyces* no disminuyen su contenido, debido al precipitado, con respecto al control, esto se puede explicar porque las manoproteínas actúan como coloides protectores e interactúan con los antocianos y taninos (Escot et al., 2001). En el caso de los antocianos, el aumento observado en este trabajo en su contenido en los ensayos con respecto al control podría explicarse debido a que las lías presentan un alto contenido en compuestos antioxidantes, constituidos principalmente por compuestos fenólicos como los antocianos (Yokotsuka et al., 2001).

5.4 Flavonoles y ácidos hidroxicinámicos

Los flavonoles son los compuestos fenólicos más abundantes en las lías de vino de uvas tintas, estos junto con los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados, pueden sufrir una condensación oxidativa y procesos de pardeamiento durante el envejecimiento (Yokotsuka et al., 2001). En este estudio al tratarse de una crianza sobre lías no se observó una disminución en el contenido de estos, lo que puede ser consecuencia del ambiente reductor que generan las lías. Siendo los vinos con lías de *M. pulcherrima* F (MPF) el que presenta un mayor contenido en flavonoles y también en los ácidos hidroxicinámicos, aunque, en estos últimos no se observa mucha diferencia con el resto de los ensayos (Tabla 4). Según los resultados de este estudio se podría decir que ambos parámetros son directamente proporcionales.

5.5. Análisis sensorial

A causa del contacto del vino con las lías, las manoproteínas y los polisacáridos liberados, pueden interactuar con varios compuestos aromáticos, dichas interacciones dependen principalmente de la naturaleza y concentración de las moléculas aromáticas involucradas (Jiménez & Ancín, 2007; Lubbers et al., 1994).

En la Tabla 5, se pueden observar los resultados obtenidos del análisis sensorial de los diferentes ensayos. Con respecto a la tonalidad y a la intensidad de capa se observa que no presentan grandes diferencias entre los ensayos, estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en el análisis fisicoquímico (Tabla 4), donde no se observan grandes variaciones con respecto al color. En

cuanto a las características aromáticas, el vino que presenta un mejor perfil aromático (intensidad de olor y carácter afrutado) es el vino con crianza sobre lías de *L. thermotolerans* (LTL), resultados similares a los encontrados en el estudio de Benito et al. (2019), que demuestra que esta levadura mejora las características sensoriales y aromáticas del vino. Con respecto a la percepción vegetal, disminuyó en los vinos con crianza sobre lías en comparación con el control.

La percepción de alcohol fue mayor para el vino que realizó la crianza con las lías propias (LP) producidas en la fermentación alcohólica.

Todos los vinos con crianza sobre lías mostraron una menor percepción de acidez en comparación con el control que puede ser debida a las interacciones entre los polifenoles del vino y las macromoléculas liberadas durante la lisis celular (Feuillat et al., 2001; Rodrigues et al., 2012). El amargor en los vinos fue percibido por los catadores sin muchas diferencias entre los diferentes ensayos. Por lo general, la astringencia se percibió con menor intensidad en los ensayos donde los vinos llevaron a cabo crianza sobre lías exceptuando *M. pulcherrima* F (MPF) que presenta un valor similar al control.

En cuanto a la persistencia e intensidad en boca se observa que en los vinos con crianza sobre lías de *Saccharomyces* presentaron mayor intensidad que en el resto de los ensayos.

5.6. Análisis de componentes principales (PCA)

Para explicar la diferenciación de los vinos y obtener más información sobre las variables que principalmente influyen en las diferencias y semejanzas de los vinos estudiados se ha utilizado una técnica multivariada de análisis de datos (Medina, 1996; Nogueira & Nascimento, 1999), análisis de componentes principales. Las relaciones entre los parámetros sensoriales y fisicoquímicos con los vinos después de 4 meses de crianza se muestran en la Ilustración 2. El componente principal 1 o eje x (CP1) y el componente principal 2 o eje y (CP2) explicaron el 30,56 % y el 24,55 % de la variabilidad del conjunto de datos, respectivamente. En la tabla de pesos de componentes (Tabla 6) se observa que las características dominantes del CP1 son los ácidos hidroxicinámicos, los flavonoles, el grado alcohólico y la intensidad de olor, y en el CP2 las dominantes son el % rojo, la intensidad colorante, la tonalidad, la acidez total, la intensidad de capa, el volumen en boca y la intensidad en la fase gustativa. En el gráfico bidimensional de los dos primeros componentes (Ilustración 2) Se pueden observar cinco agrupaciones, la primera agrupación se sitúa en la parte negativa del CP1 y del CP2, y está formado por los vinos que hicieron la crianza con las cepas Nueva *Torulaespora delbrueckii* (NTD20) y *T. delbrueckii* (TD29), que se caracterizan por atributos fisicoquímicos como el % azul, el grado alcohólico y por el atributo sensorial vegetal. La segunda agrupación se localiza también en la parte negativa del CP1, pero en la parte positiva del CP2, en esta agrupación se encuentra el control (C) y el vino tratado con las lías de *L. thermotolerans* (LTL), los parámetros que describen a este grupo son el carácter afrutado, el láctico, la intensidad de olor y el grado alcohólico. La tercera agrupación se encuentra en la parte positiva del CP1 y del CP2, donde se engloba los vinos tratados con *S. cerevisiae* (SC) y la cepa *M. pulcherrima* I (MPI), que se caracterizan por descriptores fisicoquímicos como intensidad de color y % rojo. La cuarta agrupación que se sitúa en la parte positiva del CP1 y en la parte negativa del CP2 en el cual se sitúa el vino tratado con la cepa *M. pulcherrima* F

(MPF), que se caracteriza por parámetros fisicoquímicos como taninos, flavonoles, antocianos, índice de polifenoles totales, pH, nitrógeno fácilmente asimilable, polisacáridos neutros y ácidos hidroxicinámicos. En la última agrupación se encuentra el vino cuya crianza se llevó a cabo con las lías procedentes de la fermentación alcohólica (LP), que se sitúa también en la parte positiva del CP1 y en la parte negativa de la CP2. Estos vinos se caracterizan por los parámetros fisicoquímicos de tonalidad y de % amarillo, y por ser alcohólicos desde el punto de vista sensorial.

Tabla 6: Tabla de pesos de los componentes.

	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4	Componente 5	Componente 6
%AM	0,201616	-0,229408	-0,0557931	0,233501	-0,0290242	-0,129677
%ROJ	0,085145	0,318473	-0,0483841	-0,215699	-0,0788936	0,0237167
%AZ	0,085145	-0,244019	0,0897838	0,119842	0,110374	0,0473014
IC	0,152471	0,281009	0,0898185	-0,194995	-0,115988	0,0461267
TON	0,0551432	-0,308027	-0,00263779	0,216762	-0,0368073	-0,171736
IPT	0,255868	0,0398737	0,162191	-0,0298991	0,313708	-0,0246897
AHC	0,30833	0,0032452	0,0264199	-0,118053	0,154058	-0,0715546
FLAV	0,306438	0,0397999	0,00621103	-0,135389	0,14648	-0,0413611
AT	0,0370729	0,280202	0,23194	0,122754	-0,180706	-0,133647
pH	0,195344	-0,0600534	0,251206	-0,0224124	-0,356235	0,00242349
GA	-0,287742	-0,0166982	0,0481589	-0,131775	0,18192	-0,05759
AV	0,049468	-0,0403186	-0,313882	-0,045798	0,41099	0,125093
ANT	0,274988	0,0402887	-0,195922	-0,0964518	-0,110037	0,168066
PN	0,187644	-0,0837596	0,303726	0,140936	-0,153856	0,12372
PS	-0,173848	-0,0244983	-0,330872	-0,232343	-0,11092	0,121113
NFA	0,231015	-0,0793647	-0,209279	0,215287	-0,0336451	-0,214154
TAN	0,257377	0,171111	-0,158903	0,0361454	-0,0507901	-0,151672
Tona	-0,035844	0,0783794	-0,313745	0,384485	0,0660042	-0,00800122
Icap	-0,0410099	0,286862	0,147364	0,102227	0,20627	-0,245926
Iolor	-0,321309	0,00319352	0,0268179	0,0328159	0,00653198	-0,101845
Afru	-0,203758	0,226216	-0,130351	0,0860329	-0,194768	-0,133489
Veg	-0,116927	-0,101737	0,288227	0,1945	-0,208005	0,160352
Lac	-0,141803	0,244941	-0,0565396	0,100138	-0,123138	-0,34385
Alc	0,187755	-0,187696	-0,200426	0,112812	-0,136249	0,235269
Acid	-0,0605411	0,0743914	0,0724906	0,20588	0,0183756	0,508219
Amar	-0,0319282	0,0149843	0,322532	0,0183756	0,41456	0,127599
Astr	0,0905382	0,0638121	0,0993872	0,414036	0,265894	-0,189882
Vol	0,0769107	0,295455	0,0927744	0,0949298	0,028556	0,196603
Int	-0,0524446	0,293484	-0,174967	0,190733	0,0461115	0,188625
Pers	0,0065523	0,228209	-0,0422264	0,324986	0,0355852	0,323287

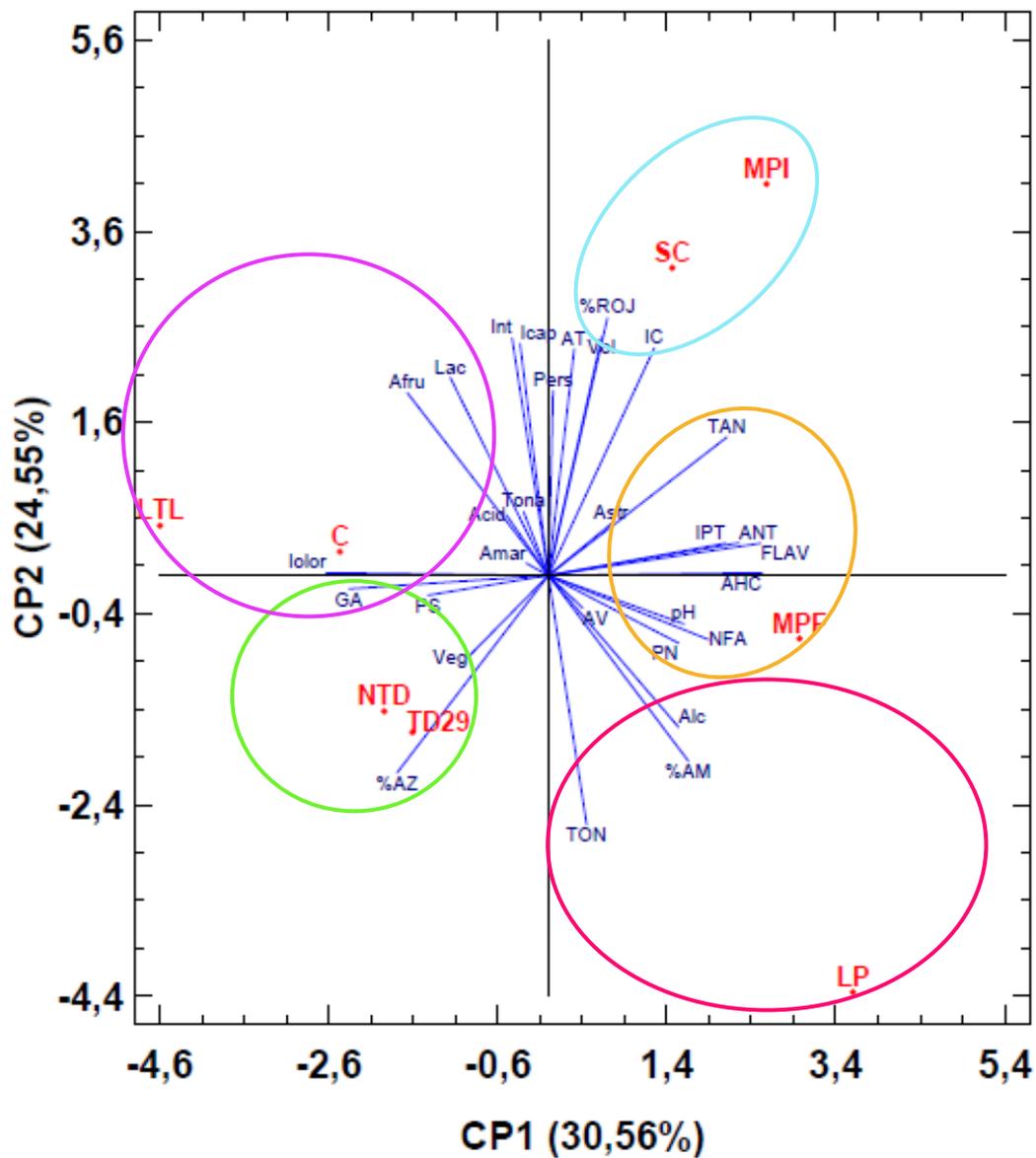


Ilustración 2: Análisis de componentes principales de parámetros fisicoquímicos y sensoriales de los vinos tras 4 meses de crianza sobre lías. Control (C), *S. cerevisiae* (SC), Lías propias (LP), *T. delbrückii* (TD29), Nueva *T. delbrückii* (NTD20), *M. pulcherrima* I (MPI), *M. pulcherrima* F (MPE), *L. thermotolerans* (LTL). (CP1 vs CP2)

5.7. Lías propias vs añadidas

En este apartado, en la Ilustración 3, se compara el perfil sensorial del vino con crianza sobre lías propias de la fermentación del vino base (LP) y del vino con lías de *S. cerevisiae* (SC) que no proceden de la fermentación, sino que se lisan directamente en solución hidroalcohólica y se adicionan al vino base.

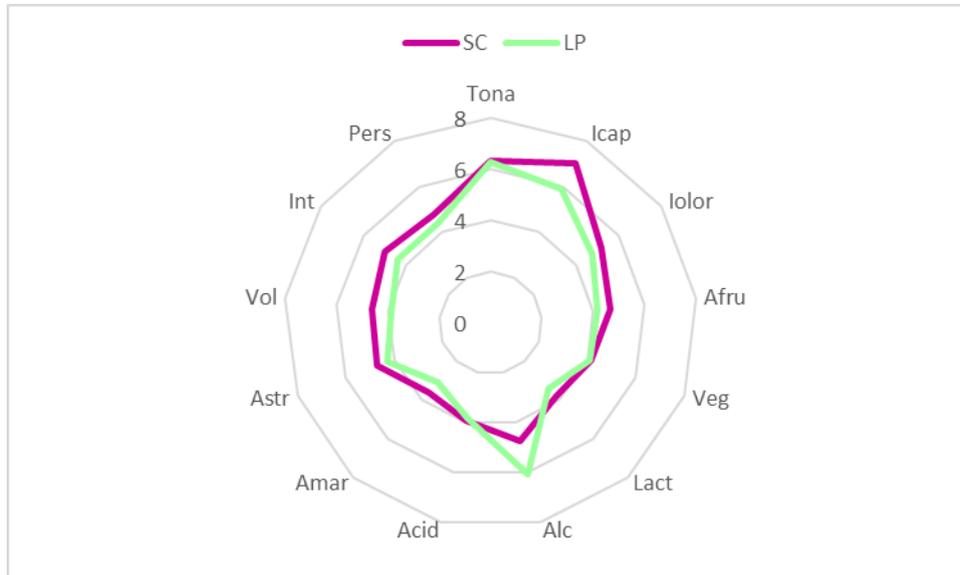


Ilustración 3: Puntuaciones de atributos gustativos y olfativos del vino con crianza sobre lías con la cepa SC y del vino con crianza sobre las lías propias originadas en la fermentación alcohólica.

En la comparativa de los atributos sensoriales, se muestra que no se obtiene el mismo perfil en los vinos ya que presentan diferencias perceptibles en gran parte de los atributos. Se observa que el vino con crianza sobre lías de *S. cerevisiae* (SC) presenta mayor volumen en boca, aunque contenga menos proteínas solubles (Tabla 4), esto indica que la liberación de manoproteínas durante la crianza del vino sobre lías es un factor importante, pero no el único, sino que hay otros muchos factores que influyen en la percepción del vino. Otra de las diferencias destacables es la intensidad de capa y la tonalidad, apreciándose que son mayores en los vinos con crianza sobre lías de *S. cerevisiae* (SC) aun presentando menor contenido en antocianos (Tabla 4), podría deberse a que la crianza sobre lías de *S. cerevisiae* ha favorecido a la estabilidad del color y por lo tanto presenta mayor intensidad de capa.

5.8. Diferencias entre cepas sobre la influencia en el perfil sensorial del vino

A continuación, en las siguientes figuras se muestran comparativas de los perfiles sensoriales entre las cepas de las mismas especies de levaduras. En estudios previos se ha visto que las propiedades que se aportan durante la crianza sobre lías son dependientes de la cepa y pueden variar las características del vino final.

Esta representación permite conocer las posibles diferencias en el perfil sensorial dependientes de la cepa empleada, evaluando qué cepa puede ser más interesante para la crianza sobre lías, desde el punto de vista organoléptico.

- **Comparativa de las cepas de *Torulaspora delbrueckii***

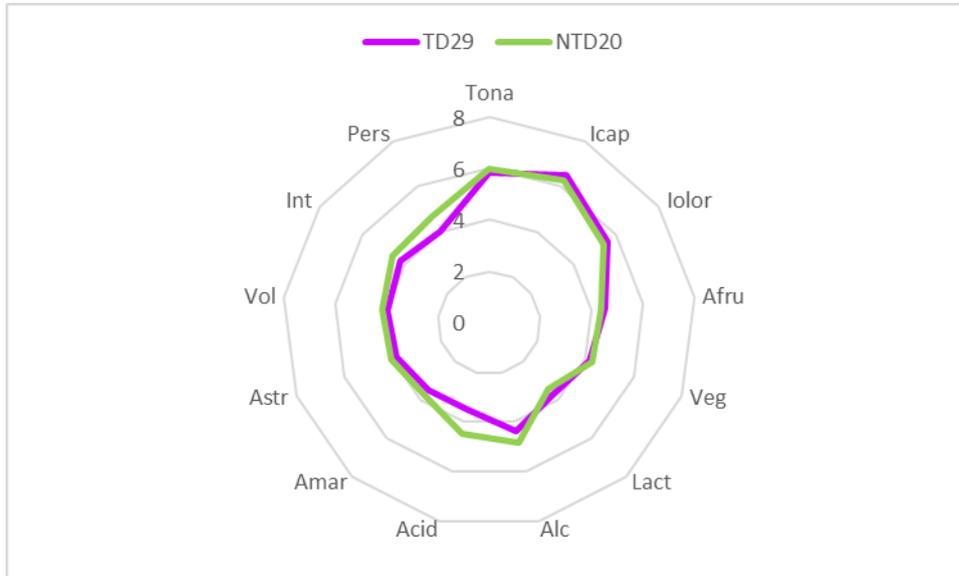


Ilustración 4: Puntuaciones de atributos gustativos y olfativos del vino con crianza sobre lías con la cepa TD29 y del vino con crianza sobre lías de la cepa NTD20.

En la Ilustración 4 se puede observar una comparativa de las dos cepas de *T. delbrueckii* (TD29 y NTD20). Las diferencias más importantes se encontraron en la persistencia, la acidez y en la percepción del alcohol, de las cuales destaca la diferencia de acidez que puede deberse a las interacciones entre los polifenoles del vino y las macromoléculas liberadas durante la lisis celular, siendo mayor dicha interacción en los vinos con crianza sobre lías con TD29.

- **Comparativa de las cepas de *Metschnikowia pulcherrima***

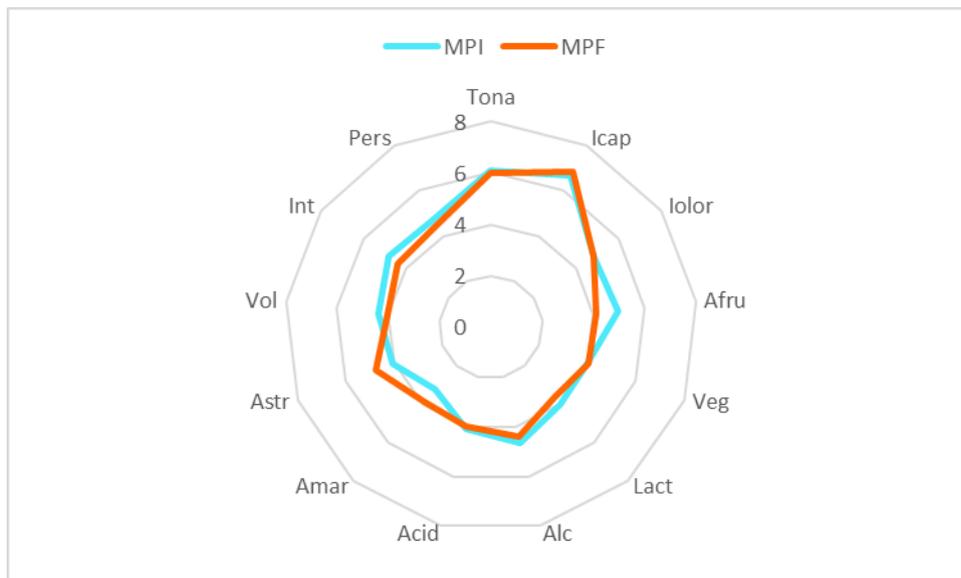


Ilustración 5: Puntuaciones de atributos gustativos y olfativos del vino con crianza sobre lías con la cepa MPI y del vino con crianza sobre lías de la cepa MPF.

En la Ilustración 5, se muestra también la comparativa de los atributos sensoriales de los vinos tratados con las dos cepas de *M. pulcherrima* (MPI y MPF). Se puede observar que presentan similitudes en atributos como la intensidad de capa, la tonalidad, el alcohol, la tonalidad y la persistencia. Las diferencias más importantes se encuentran en la astringencia, en el amargor, en el volumen y en el carácter afrutado, siendo el vino con lías de la cepa MPF el que presenta una mayor astringencia y amargor y un menor volumen en boca, que puede deberse a que presenta un menor contenido de proteínas solubles en comparación con la cepa MPI como se puede observar en la Tabla 5.

6. CONCLUSIONES

La crianza sobre lías de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* puede ser una herramienta útil para incrementar el contenido de manoproteínas sin la necesidad de añadirlas de manera exógena.

Aunque será necesario realizar más estudios, los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren que algunas cepas de levadura no-*Saccharomyces* podrían convertirse en herramientas innovadoras para aumentar la complejidad del vino.

Se ha demostrado que las propiedades que se aportan durante la crianza sobre lías son dependientes de la cepa y pueden variar las características del vino final.

Se ha visto que *Torulaspota delbrueckii* puede ser útil para incrementar la concentración de manoproteínas en los vinos, durante la crianza del vino sobre lías.

En este estudio se ha demostrado que la cepa *Metschnikowia pulcherrima* F es la que menos incrementa el contenido de proteínas solubles como consecuencia los vinos con crianza sobre estas lías se perciben más astringentes.

Los vinos sometidos a crianzas sobre lías de la cepa *Lachancea thermotolerans* se han visto mejorados con respecto a las características sensoriales.

7. BIBLIOGRAFÍA

Albertin, W., Chasseriaud, L., Comte, G., Panfili, A., Delcamp, A., Salin, F., Marullo, P., Bely, M., 2014. Winemaking and bioprocesses strongly shaped the genetic diversity of the ubiquitous yeast *Torulaspora delbrueckii*. PLoS One 9, e94246.

Alexandre, H., & Guilloux-Benatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine - A review. Australian Journal of Grape and Wine Research, 12(2), 119–127.

Babayan, T. L. and Bezrukov, M. G. Autolysis in yeasts. Acta Biotechnol. 5:129-136. 1985.

Barceló, J. G. (1990). Técnicas analíticas para vinos. Cap 1-6.

Bate-Smith, E. C. (1981). Astringent tannins of the leaves of *Geranium* species. Phytochemistry, 20(2), 211–216

Belda, I.; Navascués, E.; Marquina, D.; Santos, A.; Calderon, F.; Benito, S. Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015, 99, 1911–1922.

Benito, Á.; Calderón, F.; Benito, S. Mixed alcoholic fermentation of *Schizosaccharomyces pombe* and *Lachancea thermotolerans* and its influence on mannose-containing polysaccharides wine Composition. AMB Express 2019, 9.

Betés-Saura, C., Andrés-Lacueva, C., y Lamuela-Raventós, R. M. (1996). Phenolics in white free run juices and wines from penedès by high-performance liquid chromatography: changes during Vinification. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(10), 3040–3046.

CHARPENTIER C., NGUYEN VAN LONG T., BONALY R. and FEUILLAT M., 1986. Alteration of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during autolysis. Appl. Microbiol. Biotechnol., 24, 405-413.

Charpentier, C.; Lubbers, S.; Leger, B.; Feuillat, M. (1993). Effet colloïde protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'un vin modèle. Connaissance de la Vigne et du Vin, 27, 13–22.

Chassagne, D.; Guilloux-Benatier, M.; Alexandre, H.; Voilley, A. (2005). Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91, 39–44.

Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I., & Domizio, P. (2010). Controlled mixed culture fermentation: A new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Research*, 10(2), 123–133.

De Iseppi, A.; Marangon, M.; Vincenzi, S.; Lomolino, G.; Curioni, A.; Divol, B. A novel approach for the valorization of wine lees as a source of compounds able to modify wine properties. *LWT Food Sci. Technol.* 2021, 136.

Del Barrio-Galán R, Medel-Marabolí M, Peña-Neira A. 2015. Effect of different ageing techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensory characteristics of Syrah red wines fermented using different yeast strains. *Food Chem* 179: 116–126.

Del Barrio-Galán, R.; Pérez-Magariño, S.; Ortega-Heras, M.; Guadalupe, Z.; Ayestarán, B. Polysaccharide Characterization of Commercial Dry Yeast Preparations and Their Effect on White and Red Wine Composition. *Lebenson. Wiss. Technol.* 2012, 48,215–223.

Domizio, P., Liu, Y., Bisson, L. F., & Barile, D. (2014). Use of non-*Saccharomyces* wine yeasts as novel sources of mannoproteins in wine. *Food Microbiology*, 43, 5–15.

Escot S, Feuillat M, Dulau L, Charpentier C. 2001. Release of polysaccharides by yeast and the influence of released polysaccharides on color stability and wine astringency. *Aust J Grape Wine Res* 7: 153–159.

Feuillat, M. and Charpentier, C. Autolysis of yeast in Champagne. *Am. J. Enol. Vitic.* 38(1):6-13. 1982.

Feuillat, M., Escot, S., Charpentier, C., Dulau, L. (2001). Élevage des vins rouges sur lies fines. Interêt des interactions entre polysaccharides de levure et polyphénols du vin. *Revue des OEnologues*, 98, 17-18.

Fornairon-Bonnefond, C., & Salmon, J. M. (2003). Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2584-2590.

Francois JM, Alexandre H, Granes D, Feuillat M. 2007. Vers une meilleure connaissance des produits dérivés de levures. *Rev Oenol* 122: 9–12.

Fresno, J. M. Del, Escott, C., Loira, I., Carrau, F., Cuerda, R., Schneider, R., Bañuelos, M. A., González, C., Suárez-Lepe, J. A., & Morata, A. (2021). The impact of *hanseniaspora vineae* fermentation and ageing on lees on the terpenic aromatic profile of white wines of the albillo variety. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1–14.

Fuster A, Escot S. 2002. Élevage des vins rouges sur lies fines: Choix de la levure fermentaire et ses conséquences sur les interactions polysaccharydes

García, J., & Xirau, M. (2014). *Analítica General En Vinos*. Panreac, 1(1), 4.

Giovani, G.; Rosi, I.; Bertuccioli, M. Quantification and characterization of cell wall polysaccharides released by non-*Saccharomyces* yeast strains during alcoholic fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 2012, 160, 113–118.

Gómez-Cordovés C, Gonzalez-San José ML. 1995. Interpretation of color variables during the aging of red wines: relationship with families of phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 43: 557–561.

Guadalupe, Z.; Palacios, A.; Ayestarán, B. Maceration Enzymes and Mannoproteins: A Possible Strategy to Increase Colloidal Stability and Colour Extraction in RedWines. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 4854–4862.

Hidalgo J. (2019a). *Tratado de enología: tomo I*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Hidalgo J. (2019b). *Tratado de enología: tomo II*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Jiménez, N., & Ancín, C. (2007). Binding of oak volatile compounds by wine lees during simulation of wine ageing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 40, 619–624.

Jolly N. P., Varela C., Pretorius I. S. (2014). Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.* 14, 215–237. 10.1111/1567-1364.12111 RIBÉREAU-GAYON J, E. PEYNAUND, P. SUADRAUD i P.

Jolly NP Augustyn OPH Pretorius IS (2006) The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *S Afr J Enol Vitic* 27: 15–39
K. Yokotsuka, V.L. Singleton, *Am. J. Enol. Vitic.* 52 (2001) 93.

Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., & Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(3), 239–256. **¡Error! Referencia de hipervínculo no válida.**

Lindner, P., y Shomer, I. (1984). Interference of azide in assays of carbohydrates. *Food Chemistry*, 14(2), 141–153

Llaudy, M. C., Canals, R., Canals, J.-M., Rozés, N., Arola, L., & Zamora, F. (2004). New Method for Evaluating Astringency in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 742–746. doi:10.1021/jf034795f

Loira I, Vejarano R, Morata A, et al. 2013. Effect of *Saccharomyces* strains on the quality of red wines aged on lees. *Food Chem* 139: 1044–1051.

Loira, I.; Vejarano, R.; Morata, A.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Laureano, O.; González, M.C.; Suárez-Lepe, J.A. Effect of *Saccharomyces* Strains on the Quality of RedWines Aged on Lees. *Food Chem.* 2013, 139, 1044–1051.

Lubbers, S., Charpentier, C., Feuillat, M., & Voilley, A. (1994). Influence of yeast walls on behavior of aroma compounds in a model wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1, 29–33.

Martinez-Rodriguez AJ, Polo MC. 2000. Characterization of the nitrogen compounds released during yeast autolysis in a model wine system. *J Agric Food Chem* 48: 1081–1085.

Martínez-Rodríguez, A.J.; Carrascosa, A.V.; Martín-Alvarez, P.J.; Moreno-Arribas, V.; Polo, M.C. Influence of the yeast strain on the changes of the amino acids, peptides and proteins during sparkling wine production by the traditional method. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2002, 29, 314–322.

Medina, B., 1996. Wine authenticity. In P. R. Ashurst & M. J. Dennis (Eds.) *Food authentication* (pp. 60–107). London: Blackie Academic and Professional.

Morata A, Gómez-Cordovés MC, Suberviola J, et al. 2003. Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *J Agric Food Chem* 51: 4084–4088.

Morata, A, Calderón, F., González, M. C., Colomo, B., & Suárez, J. A. (2005). Crianza sobre lías, chips y microoxigenación, utilización conjunta en el envejecimiento de vinos tintos. *Ventajas del uso de levaduras seleccionadas. Enólogos*, January, 1–8.

Morata, Antonio, Escott, C., Bañuelos, M. A., Loira, I., Del Fresno, J. M., González, C., & Suárez-lepe, J. A. (2020). Contribution of non-saccharomyces yeasts to wine freshness. A review. *Biomolecules*, 10(1).

Moreno-Arribas, M.V.; Polo, M.C.; Pozo-Bayón, M.A. Peptides. In *Wine Chemistry and Biochemistry*; Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C., Eds.; Springer Science Business Media LLC: Berlin, Germany, 2009; pp. 191–209.

Nogueira, J. M. F., & Nascimento, A. M. D. (1999). Analytical characterization of Madeira wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 566–575.

Palomero, F., Morata, A., Benito, S., Calderón, F., & Suárez-Lepe, J. A. (2009).

New genera of yeasts for over-lees aging of red wine. *Food Chemistry*, 112(2), 432–441.

Perez-Serradilla JA, de Castro MDL. 2008. Role of lees in wine production: A review. *Food Chem.* 111(2):447-456.

Pozo-Bayón, M. Á., Martínez-Rodríguez, A., Pueyo, E., y Moreno-Arribas, M. V. (2009). Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. *Trends in Food Science and Technology*, 20(6–7), 289–299.

Pozo-Bayón, M., Andújar-Ortiz, I., y Moreno-Arribas, M. V. (2009). Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in

winemaking. *Food Research International*, 42(7), 754–761.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.004>

Pradelles, R.; Alexandre, H.; Ortiz-Julien, A.; Chassagne, D. (2008). Effects of yeast cell-wall characteristics on 4-ethylphenol sorption capacity in model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11854–11861.

Ribeiro, T.; Fernandes, C.; Nunes, F.M.; Filipe-Ribeiro, L.; Cosme, F. Influence of the Structural Features of Commercial Mannoproteins in WhiteWine Protein Stabilization and Chemical and Sensory Properties. *Food Chem.* 2014, 159, 47–54.

RIBÉREAU-GAYON. Tratado de enología. Ciencias y técnicas del vino. Análisis y control de los vinos. 2, 113-116 (1972).

Rodrigues A, Ricardo-Da-Silva JM, Lucas C, Laureano O. 2012. Effect of commercial mannoproteins on wine colour and tannins stability. *Food Chem* 131: 907–914.

S. Pérez-Magariño and L. González-San José, “Relationships among colorimetric parameters of rosé wines evaluated by different methods,” *J. Wine Res.*, vol. 17, pp. 35–43, 2006.

Salmon JM. 2005. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: practical implications. *Food Sci Technol* 39: 959–965.

Saucier C, Glories Y, Roux D. 2002. Tannin–colloid interactions: new advances concerning the concept of good and bad tannins. *Rev Oenolog Tech Vitivinicol Oenolog* 94: 9–10.

Shively, C. E., y Henick-Kling, T. (2001). Comparison of two procedures for assay of free amino nitrogen. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(4), 400 LP – 401.

Stone, H., Sidel, J.L. (2004). *Sensory Evaluation Practices: Third Edition Sensory Evaluation Practices: Third Edition*. 201-245.

UNE 87022 (1992). Análisis sensorial. Utensilios. Copa para la degustación de vinos.

UNE-EN ISO 8586 (2014). Guía general para la selección, entrenamiento y control de catadores y catadores expertos.

UNE-EN ISO 8589 (2010). Análisis sensorial. Guía general para el diseño de salas de cata.

Vaughan-Martini AE, Miller MW, Martini A. 1979. Amino acid composition of whole cells of different yeasts. *J Agric Food Chem* 27: 982–984.

VIDAL, S.; FRANCIS, L.; WILLIAMS, P.; KWIATKOWSKI, M.; GAWEL, R.; CHEYNIER, V.; et al. (2004). The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in wine like medium. *Food Chemistry*, vol. 85, 519-525.