



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

TESIS DE MAESTRÍA

**“Reducción del contenido alcohólico en vinos Malbec de altura
(Jujuy, Argentina), mediante la fermentación con levaduras
Saccharomyces y no-*Saccharomyces* autóctonas”**

MAESTRÍA EN VITICULTURA Y ENOLOGÍA

**Maestrando: Cristian Burgos
Directora: Dra. Laura Mercado
Codirector: Dr. Martin Fanzone**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO
Facultad de Ciencias Agrarias
JUNIO 2025**

DEDICATORIA

A mamá, por cultivar en mí, el hábito de estudio.

A mis hermanos, Yamil e Ivana, por tanto, afecto y comprensión.

A papá, porque cada día está presente en mi recuerdo, fomentando la tranquilidad en tiempos difíciles.

A mis hijos, Tomás y Mia, por ser la luz de mi vida.

A mi señora, Alicia, por ser mi compañera de viaje.

A Doña Luisa, por haberme apoyado en las adversidades de la vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, Dra. Laura Mercado y mi co-director, Dr. Martín Fanzone, por el tiempo brindado y la experiencia al momento de sugerir de forma crítica las correcciones necesarias para poder concluir el tan anhelado trabajo final de maestría, a pesar de las distancias geográficas.

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy por brindarme el espacio necesario para poder llevar a cabo las vinificaciones del presente estudio.

Al Instituto Estación Experimental Agropecuaria Mendoza - Nacional de Tecnología Agropecuaria– (EEA - INTA), por facilitarme los estudios necesarios para concluir los resultados del presente trabajo.

A la bodega Viñas del Perchel, por suministrar el material vegetal.

A mi compañera de estudio María, por compartir tanto tiempo de aprendizaje académico. Su compromiso y dedicación han sido fundamentales para enriquecer esta experiencia compartida.

A todas las personas que hicieron de soporte, para realizar esta presentación.

RESUMEN

La Quebrada de Humahuaca constituye una región vitivinícola en vías de desarrollo que emerge del noroeste argentino. En ella, la combinación de altitud, amplitud térmica y tipos de suelo, son particulares, brindando las condiciones necesarias para el cultivo de Malbec y la obtención de vinos tintos de gran calidad. Sin embargo, estas características climáticas y edáficas favorecen una alta acumulación de azúcares en las uvas, resultando en vinos con niveles elevados de etanol. Este suceso, agravado por el cambio climático plantea desafíos enológicos, sensoriales, microbiológicos y comerciales que requieren estrategias de reducción innovadoras y sustentables.

El presente trabajo evalúa la estrategia fermentativa para la reducción del contenido alcohólico en vinos Malbec elaborados en la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, mediante el uso combinado de levaduras nativas *Saccharomyces* y *no-Saccharomyces*. Se aplicaron cuatro tratamientos fermentativos: monocultivo de *S. cerevisiae* comercial (COM), monocultivo de *S. cerevisiae* autóctona MP (S), co-inoculación de *M. pulcherrima* autóctona y *S. cerevisiae* autóctona (CO), e inoculación secuencial de *M. pulcherrima* autóctona y *S. cerevisiae* autóctona (SE). Las determinaciones analíticas de los vinos obtenidos incluyendo, pH, acidez total y volátil, azúcares residuales, ácidos orgánicos y contenido alcohólico, mostraron valores típicos, en todos los tratamientos. El análisis colorimétrico CIELAB no mostró diferencias de saturación, visualmente apreciables respecto al tratamiento control. El tratamiento SE logró una reducción significativa de etanol (2,11% v/v) sin comprometer la composición fenólica ni la estabilidad cromática de los vinos. Este estudio afirma que la inoculación secuencial con levaduras nativas representa una herramienta enológica efectiva y viable para la producción de vinos de menor graduación alcohólica, con potencial para fortalecer la identidad regional de los vinos de altura, de la Quebrada de Humahuaca.

PALABRAS CLAVES

Reducción alcohólica

Levaduras autóctonas

Compuestos fenólicos

Quebrada de Humahuaca

ABSTRACT

The Quebrada de Humahuaca constitutes a developing wine-growing region, emerging from the northwest of Argentina. In this region, the combination of altitude, thermal amplitude, and soil types provide the necessary conditions for the cultivation of Malbec and the production of high-quality red wines. However, these climatic and edaphic characteristics favor a high accumulation of sugars in the grapes, resulting in wines with elevated ethanol levels. This phenomenon, intensified by climate change, presents oenological, sensorial, microbiological, and commercial challenges that require innovative and sustainable reduction strategies.

This work evaluates the fermentative strategy for the reduction of alcoholic content in Malbec wines produced in the Quebrada de Humahuaca, Jujuy, through the use of native *Saccharomyces* and *non-Saccharomyces* yeasts. Four fermentative treatments were applied: monoculture of commercial *S. cerevisiae* (COM), monoculture of native *S. cerevisiae* MP (S), co-inoculation of natives *Metschnikowia pulcherrima* and *S. cerevisiae* (CO), and sequential inoculation of natives *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae* (SE). The analytical determinations of the resulting wines, including pH, total and volatile acidity, residual sugars, organic acids, and alcoholic content, showed typical values for Malbec wines in all treatments. The CIELAB colorimetric analysis showed no visually appreciable differences in saturation compared to the control treatment. The SE treatment achieved a significant ethanol reduction (2.11% v/v) without compromising the phenolic composition or color stability of the wines. This study affirms that sequential inoculation with native yeasts represents an effective and viable oenological tool to produce wines with lower alcohol content, with potential to strengthen the regional identity of high-altitude wines from the Quebrada de Humahuaca.

KEYWORDS

Alcohol reduction

Native yeasts

Phenolic compounds

Quebrada de Humahuaca

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN	IV
PALABRAS CLAVES.....	V
ABSTRACT.....	VI
KEYWORDS.....	VII
ÍNDICE.....	VIII
LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE FIGURAS	X
I INTRODUCCIÓN	1
1. Antecedentes	1
1.1. Viticultura en Jujuy.....	1
1.2. Características de los vinos de la Quebrada	4
1.3. Composición Química de la uva.....	6
1.4. Efecto de la altitud sobre el comportamiento fisicoquímico de la uva y el vino.....	7
1.4.1 Impacto de la altura.....	7
1.4.2 Efecto de la temperatura del aire.....	8
1.4.3 Efecto de la radiación UV.....	8
1.4.4 Ubicación Geográfica.....	9
1.5 El efecto combinado del estado hídrico del suelo y de la vid.	10
1.6 Cambio climático y calentamiento global.....	10
1.6.1 Vinos desequilibrados y de alto contenido alcohólico	10
1.6.2 Cambio climático	12
1.6.3. Consecuencias del desequilibrio	12
1.6. Estrategias para la reducción de alcohol	15
1.6.1. Estrategias prefermentativas	15
1.6.2. Estrategias postfermentativas.....	16
1.6.3. Estrategias fermentativas	17
1.6.3.1. Uso de cepas de levaduras modificadas.....	17
1.6.3.2. Reducción de biomasa	17
1.6.3.3. Fermentación detenida o limitada	18
1.6.3.4. Uso de levaduras no- <i>Saccharomyces</i>	18
1.7. Levaduras en la fermentación alcohólica.....	19
1.7.1. Levaduras autóctonas	19
1.7.2. Levaduras del género <i>Metschnikowia</i>	20
2. Formulación y fundamentación.....	22
3. Objetivos de estudio.....	24

3.1. Objetivo General.....	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. Hipótesis.....	24
4.1. Hipótesis General:.....	24
4.2. Hipótesis específicas	24
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
1. Material vegetal.....	25
2. Microorganismos empleados y diseño experimental.....	25
3. Microfermentaciones	26
4. Control microbiológico de las fermentaciones.....	27
5. Control de implantación-pureza de inóculo	27
6. Determinaciones analíticas.....	29
6.1. Determinación de parámetros generales de mostos	29
6.2 Determinación de parámetros generales de los vinos	30
6.3. Determinación de parámetros fenólicos generales y análisis de color.....	30
7. Análisis estadístico de los datos:	31
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
1. Parámetros analíticos de mostos Malbec	32
2. Crecimiento de las levaduras y cinética fermentativa	33
3. Parámetros analíticos de los vinos Malbec	37
4. Pureza de inóculo y control de implantación	41
5. Determinación de parámetros fenólicos generales	43
6. Análisis de Color	47
6.1 Diferencia de Color.....	49
IV. CONCLUSIONES.....	50
V. BIBLIOGRAFÍA:	52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variedades Tintas cultivadas en Jujuy, hectáreas, durante el 2024	3
Tabla 2. Volumen alcohólico en vinos de bodegas jujeñas	5
Tabla 3. Programa de PCR-Interdelta utilizado.....	29
Tabla 4. Pérdida de Peso expresada en g de CO ₂ /100mL al 7° día de fermentación	35
Tabla 5. Parámetros analíticos generales aplicando estrategias fermentativas	37
Tabla 6. Valores de probabilidad (ANOVA) para parámetros fenólicos y de color obtenidos para las estrategias fermentativas evaluadas.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Índice de Winkler (grados-día acumulados). Zona de Quebrada, Provincia de Jujuy	4
Figura 2. Bodega Viñas del Perchel, Tilcara, Jujuy.....	25
Figura 3. Evolución de las poblaciones de levadura (Log UFC/mL) y producción de CO ₂ (g/100 mL) durante la fermentación de vinos Malbec.....	33
Figura 4. Gel agarosa 1,2 % de patrones PCR Interdelta de colonias aisladas en etapa final de las fermentaciones	41
Figura 5. Parámetros fenólicos globales de vinos Malbec obtenidos aplicando estrategias fermentativas en la vinificación.	44
Figura 6. Parámetros CIELAB de vinos Malbec	47
Figura 7. Diferencias de color (ΔE^*_{ab}).....	49

I INTRODUCCIÓN

1. Antecedentes

1.1. Viticultura en Jujuy

La provincia de Jujuy pertenece a la Región vitivinícola NOA (noroeste de Argentina), con un volumen de producción del 0,2 % s/total, representado en 38 viñedos con un tamaño medio de 1,9 ha, con gran proyección de desarrollo. En la última década, la superficie implantada creció un 700%, con una producción aproximada de 243500 kg en el año 2024 (INV, 2024).

En Jujuy destacan dos zonas productivas bien diferenciadas, la región Quebrada de Humahuaca con un 77% de superficie implantada de vid y la región Valles templados con el 23% restante. Sus diferencias climáticas, generan productos vitivinícolas diversos dentro de la provincia (Gobierno de Jujuy, 2023).

La región de Valles templados comprende los departamentos Dr. Manuel Belgrano, Palpalá, El Carmen y San Antonio, y se ubica en un área de transición entre los climas áridos y subtropicales, siendo un valle húmedo, de clima templado en invierno y cálido en verano, con registros de temperaturas medias y una altura promedio de 1100 msnm. Las precipitaciones son de régimen monzónico con registros anuales que se estiman entre 500 y 1200 mm. La zona productiva vitivinícola se encuentra dentro de los departamentos de El Carmen y San Antonio. Los sistemas productivos son del tipo empresarial, diversificando las producciones tradicionales de la región como el cultivo de tabaco (Curzel y Paredes, 2021).

La región de Quebrada de Humahuaca está ubicada en la zona semiárida de la provincia y abarca los departamentos de Tilcara, Tumbaya y Humahuaca, y abarcan una superficie de 9.079 km² que representan el 17% del territorio provincial (INDEC 2010).

El clima es subtropical seco ya que la humedad de las masas de aire atlántico se descarga en los faldeos orientales de las sierras, por lo que las precipitaciones anuales son escasas (Trillo, 2023), con elevada frecuencia de heladas. Los índices bioclimáticos clásicos ubican al sector con mayor altitud (Humahuaca), al límite de las posibilidades para cultivar vid.

La región productora tiene una temperatura media de 7,9°C. El clima anual se ve afectado por las características del relieve de la Quebrada que origina variaciones en las temperaturas promedio a lo largo de toda su extensión, y descienden casi 4°C por cada mil metros de ascenso (Trillo, 2023). Poseen gran amplitud térmica entre el día y la noche, con un promedio diario de 13,2°C. Los eventos climáticos extremos se manifiestan en la frecuencia anual promedio de 3 días con temperaturas

superiores a los 35°C y frecuencias promedio de 141 días con heladas meteorológicas, sobre todo en los meses invernales (OVA, 2024).

Los suelos de la región, Quebrada de Humahuaca se encuentran en terrazas bajas modificadas por el agua de ríos y arroyos, con depósitos de sedimentos transportados tanto por la gravedad como por corrientes fluviales. Predominan suelos del Orden Entisoles, con una diferenciación incipiente de sus capas, con alto porcentaje de suelo desnudo, abundantes fragmentos líticos gruesos y amplias zonas de acumulaciones de arena. Los suelos próximos al alveolo del Río Grande con agua infiltrada cercana a la superficie suelen ser Haplustoles fluvénticos, de alta fertilidad y abundante materia orgánica. En general el pH es ligeramente alcalino, y los suelos no son salinos ni sódicos. Poseen contenidos medios a bajos de calcáreo total y yeso total en concentraciones medias (OVA 2024).

La viticultura se desarrolla en diferentes localidades de los 3 departamentos de esta región, como Tumbaya Grande, Purmamarca, Maimará, Huacalera, Chucalezna y lugares más extremos como Ocumazo. Se la conoce “zona productora de vinos de altura” desde que inicia en 2000 hasta más de 3000 msnm (Gobierno de Jujuy, 2023).

En el extremo Norte de la zona productiva (3290 msnm) se evidencia mayor evolución pedogenética, con acumulación de materia orgánica en el horizonte superficial, y altos contenidos de nitrógeno total, destacando buena capacidad de retención de agua. Por su parte, los suelos de Purmamarca (~ 2300 msnm) son de textura franco-arenosos, calcáreo-yesosos, no salinos ni sódicos. A profundidades variables, se presenta una coloración rojiza, correspondiente a arcillas ricas en óxido férrico. Tienen bajo contenido de materia orgánica y contenido medio de nitrógeno total. Hacia el oeste (~ 2000 msnm) los suelos son más profundos hasta el subsuelo pedregoso, de textura más limosa hasta el metro de profundidad, de coloración rojiza (OVA, 2024).

En la región de la Quebrada existen al menos 120 productores con dos sistemas de producción muy diferenciados, uno responde a un sistema empresarial con superficies cultivadas que llegan a las 12 ha, con innovación en tecnología y equipo de asesores técnicos especializados. El otro, responde a un sistema de producción diversificado, complementaria a la producción principal hortícola–ganadera, de familias campesinas, indígenas y agricultores familiares con superficies que no superan las 2 ha de producción vitivinícola, con manejo sustentable y producción de vinos artesanales con identidad cultural, los cuales son asistidos por instituciones estatales y trabajo asociativo entre productores. (Ávalos, 2024).

Ambos sistemas productivos poseen variedades de alta calidad enológica, con un 85% de vinos con mención varietal (INV, 2024): Se verifica un predominio de implantación de tintas y gran preferencia de Malbec (Tabla 1). El sistema de conducción de las plantas es en espaldero y en menor medida en parral. El riego varía entre riego por goteo y superficial por surco, abastecidos tanto por el Rio Grande y por agua subterránea mediante pozos y reservorios de agua. Las labores culturales realizadas a largo del ciclo de los viñedos son manuales al igual que la cosecha, con una gran demanda de mano de obra especializada (Ávalos, 2024).

TABLA 1. Variedades Tintas cultivadas en Jujuy en hectáreas, durante el 2024 (INV 2024)

Variedad	Tilcara	Tumbaya	Humahuaca
MALBEC	17,82	6,06	2,67
SYRAH	4,82	2,51	0,84
CABERNET FRANC	4,24	2,5	-
CABERNET SAUVIGNON	1,98	1,12	0,12
MERLOT	1,06	0,01	1,25
TANNAT	1,44	0,08	0,01
PINOT NEGRO	0,21	0,4	-
PETIT VERDOT	0,36	0,43	0,05
BONARDA	-	0,52	-
TEMPRANILLO	-	0,14	-
CARMENERE	0,2	-	-
MARSELAN	0,03	0,27	-
MONASTRELL	0,26	-	-
GARNACHA	0,26	-	-
CORDISCO	-	-	-
ANCELOTTA	-	0,05	-

La Figura 1 muestra el Índice de Winkler de la Quebrada de Humahuaca describiendo las zonas más aptas para el cultivo de vides. Desde el Norte de Maimará hasta la región de Ocumazo (Humahuaca) se considera región 1 (FRIA), con valores inferiores a <1370°C Día. La región 2, clasificada como “TEMPLADA” (1371 – 1650 °C Día) se extiende hasta el norte de Tumbaya. Las

Entre estas características geográficas, la altura constituye la variable de mayor impacto sobre el contenido de azúcar de la uva, en función de la exposición solar (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020), influyendo además en el comportamiento fisicoquímico, el contenido de compuestos fenólicos y volátiles de las bayas de uva y, en consecuencia, en las características sensoriales del vino resultante (Xing et al., 2016).

Además, es necesario destacar que, a mayor altitud, el efecto de un aumento de la radiación UV-B puede conducir a un aumento en la intensidad del color debido a un aumento de la síntesis de antocianinas, flavonoles y taninos (Mansour et al., 2022).

En la región de la Quebrada de Humahuaca, el conjunto de variables climáticas influye en las propiedades de la vid de forma determinante. Estudios recientes enfocados en la conductancia estomática, la tasa fotosintética y respiratoria, la síntesis de color, de nitrógeno a nivel foliar y de compuestos antioxidantes, que constituyen variables correlacionadas a mecanismos de defensa de la planta bajo ambientes adversos, dan como resultado vides con propiedades fisiológicas y bioquímicas específicas (Keller, 2010; Berli et al., 2010), que convergen en vinos con gran volumen de etanol (Tabla 2).

TABLA 2. Volumen alcohólico promedio en vinos Malbec de bodegas jujeñas (CEDVA 2024, Datos no publicados).

Bodega	Graduación Alcohólica	Georeferencia
Viñas del perchel	16% v/v	23° 27' 45.2" Sur- 65° 21' 29.75" Oeste
Antropo	15,3% v/v	24° 10' 51.6" Sur- 65° 16' 21.18" Oeste
Yanay	14,5% v/v	23° 40' 39.6" Sur- 65° 26' 43,33" Oeste

Estudios previos (Goldner et al., 2007), determinaron que viñedos ubicados a latitudes iguales o inferiores a 25°00 00" dan vinos con aromas herbales, especiados, a pimienta dulce y pungencia, sin embargo, aún no se han investigado este tipo de variables en la provincia de Jujuy.

A pesar del *terroir* distintivo, actualmente en las bodegas de Jujuy se usan levaduras secas activas importadas para la fermentación de mostos. Estas destacan por sus buenas capacidades fermentativas y son añadidas externamente de forma masiva al inicio de la fermentación para asegurar una adecuada marcha y finalización de la fermentación, y disminuir la variabilidad de las características vínicas entre las diferentes añadas (Bitancort et al., 2020; Benitez et al., 2020).

1.3. Composición Química de la uva

Las bayas están compuestas en porcentajes estimados por: agua (74%) azúcares (24%), elementos minerales (0,5%), ácidos orgánicos (0,6%), compuestos nitrogenados (0,2%), lípidos (0,2%), sustancias odorantes (0,02%) y compuestos fenólicos (0,2%) (Boulton et al., 2002).

Los azúcares representan el 90% de los sólidos solubles totales y se distribuyen principalmente en la pulpa, como fructosa y glucosa (95-99%) y en menor medida sacarosa, constituyendo la principal fuente de carbono utilizada por las levaduras durante la fermentación alcohólica. Los ácidos mayoritarios son el tartárico y el málico constituyendo hasta el 90% del total, complementándose con ácidos como el cítrico oxálico, succínico, fumárico, láctico y acético y se acumulan en las vacuolas celulares de la pulpa y el hollejo.

Los compuestos nitrogenados se encuentran hasta un 90% como aminoácidos libres y el resto como proteínas NH_4^+ y NO_3^- (Keller, 2010). Este macronutriente es metabolizado en gran parte durante la vinificación por las levaduras.

La composición lipídica se distribuye en hollejo, pulpa y semilla, destacando los carotenoides presentes en la piel por su aporte aromático a la vinificación, al ser precursores de compuestos norisoprenoides volátiles. (Conde et al., 2007).

Los compuestos fenólicos están ampliamente extendidos en el reino vegetal y se sintetizan en las plantas a través del metabolismo secundario cumpliendo numerosas funciones biológicas (Fanzone, 2012). Se caracterizan por la presencia de múltiples grupos hidroxilo (-OH) unidos mayormente a estructuras aromáticas. Su complejidad varía desde moléculas simples, con un solo anillo aromático y uno o más grupos hidroxilo, hasta estructuras más grandes compuestas por varias unidades fenólicas condensadas (De Pascual-Teresa y Clifford, 2017). Estos se producen en respuesta a condiciones de estrés como heridas o exposición a radiación UV (Nacz y Shahidi, 2006). Estos compuestos, varían según su estructura en el número y posición de grupos hidroxilo y metoxilo en la cadena básica, y se localizan en las vacuolas celulares de las partes sólidas de las bayas extrayéndose durante la vinificación (Winkel, 2001). Los compuestos fenólicos tienen un impacto relevante en las características sensoriales del vino tinto.

Los compuestos fenólicos no flavonoides incluyen los ácidos fenólicos, que se dividen en derivados del ácido benzoico (como el ácido gálico) y derivados del ácido cinámico (como el ácido cafeico) y otros compuestos fenólicos, como los estilbenos, cuya molécula más conocida es el resveratrol, fundamental en los mecanismos de defensa contra el ataque de patógenos, lesiones y rayos UV-B (Pezet et al., 2003). Los fenoles flavonoides comprenden diversas subclases, entre ellas

las antocianinas (malvidina, peonidina, etc.), responsables de los pigmentos rojos en uvas y vinos, y los flavonoles (quercetina, miricetina, kaempferol y sus glicósidos), son pigmentos amarillos que estabilizan el color mediante la copigmentación con antocianinas y se encuentran predominantemente en la piel de la uva. Los flavan-3-oles (catequinas monoméricas y proantocianinas oligopolimérica) están presentes en las semillas y la piel (Xing et al., 2016), son responsables de la astringencia, amargor y estructura de los vinos.

Las bayas de uva acumulan flavonoides durante la etapa de maduración. Por su parte la acumulación de antocianinas en la piel comienza después de la etapa fenológica conocida como “envero”, caracterizado por la aparición de color y el inicio de la maduración fisiológica. Las antocianinas son pigmentos flavonoides solubles en agua, lo que favorece su transferencia al mosto y al vino durante la vinificación (Moreno y Peinado, 2012) y son responsables del color del vino elaborado, que es un atributo sensorial mediante el cual se evalúa la calidad del vino (Mateus et al., 2002).

Los flavan-3-oles existen en las uvas en forma de oligómeros y polímeros, que son los nombres comunes que se les dan a los taninos condensados o proantocianidinas. Los flavonoles son pigmentos de color amarillo pálido que contienen un heterociclo de pirona; de todos los flavonoides de la uva, son los que se encuentran en concentraciones más bajas. Pueden servir como un protector solar natural para las uvas y se encuentran en la piel de la uva en formas glicosiladas (Fanzone, 2012).

1.4. Efecto de la altitud sobre el comportamiento fisicoquímico de la uva y el vino

1.4.1 Impacto de la altura

La producción de uvas de alta calidad enológica depende de una amplitud térmica diaria. Este parámetro se ve favorecido por las noches frías en zonas de cultivo de mayor altitud (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020), mejorando el potencial para obtener el color y los compuestos volátiles deseados (Gutiérrez-Gamboa et al., 2018). El clima frío influye en la expresión del terroir, favoreciendo una maduración más pausada de la vid, lo que permite que el fruto alcance su madurez al final de la temporada de crecimiento (Van Leeuwen y Seguin, 2006). En este punto, las uvas contienen niveles equilibrados de sólidos solubles, acidez, compuestos fenólicos, nitrogenados y aromáticos. Por lo general los vinos de gran altitud son frescos, con alta acidez, alta calidad

aromática (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020) y el grado alcohólico puede variar en función de la radiación solar, permitiendo una diferencia significativa en la acumulación de azúcares.

El impacto de la altura se debe a la masa de la columna atmosférica que atraviesan los rayos solares para llegar a la superficie terrestre. Así a grandes altitudes, hay menos masa de aire y los niveles de radiación UV-B solar son mayores (Gutiérrez-Gamboa et al., 2021). Los niveles de radiación UV aumentan un 10 % por cada 1000 m de ganancia de altitud (OMS, 2016). Este efecto se ve potenciado por la baja cobertura de nubes que se combina con el efecto de la altitud, recibiendo altos niveles de radiación (van Leeuwen et al., 2020).

1.4.2 Efecto de la temperatura del aire

A medida que aumenta la altitud, la temperatura desciende produciendo un clima más templado debido al enfriamiento adiabático del aire (Gutiérrez-Gamboa et al., 2021). La temperatura disminuye con la altitud, generalmente en el rango de 0,65 a 1,0°C por cada 100 m de desnivel. Esto retrasa la brotación y floración. La maduración tardía aumenta el potencial para producir uvas de alta calidad (Mansour et al., 2022).

Durante la maduración de la uva se producen modificaciones bioquímicas, como la acumulación de sólidos solubles totales (SST), el aumento del pH y la disminución de la acidez (Almanza-Merchán et al., 2012).

1.4.3 Efecto de la radiación UV

La radiación UV tiene importancia biológica porque puede ser potencialmente perjudicial para las plantas dependiendo de la tasa de fluencia, la dosis diaria, la especie, el cultivar y la cantidad de radiación fotosintéticamente activa (PAR) (Kakani et al; 2003), dado que induce a diversas respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

Las altas fluencias de fotones UV-B pueden causar daño celular directo al generar fotoproductos de ADN, proteínas y lípidos, o por sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Sin embargo, los niveles moderados de UV-B estimulan la transcripción de genes involucrados en la respuesta de protección (Brosché et al 2003).

En zonas de altura, la radiación UV promueve la producción de flavonoles y taninos (van Leeuwen y Darriet, 2016) y aumenta la síntesis de antocianinas en la piel de la uva; por lo que los vinos producidos tienen un color intenso como propiedad característica (Jin et al., 2017). Sin

embargo, esta variable puede aumentar la concentración de 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN), que genera características aromáticas desagradables, asociadas a hidrocarburos.

Al ralentizar el crecimiento de las bayas, se aumenta la biosíntesis de antocianinas y flavonoles (Martínez -Lüscher et al., 2016), aumentando los niveles de metabolitos secundarios glucosídicos totales unidos y de compuestos fenólicos (Lafontaine et al., 2005).

El estrés térmico en la vid, a grandes altitudes está regulado, en parte, por el ácido abscísico (ABA), (Larkindale y Huang, 2005), que actúa en el área foliar promoviendo la síntesis de compuestos que absorben radiación UV mediante la regulación de las vías biosintéticas de fenilpropanoides y flavonoides (Beggs y Wellman 1994), la activación de enzimas antioxidantes y la modificación de los esteroides de membrana. En estas condiciones, las plantas acumulan varios tipos de solutos osmoprotectores (proteínas, prolina y carbohidratos), ajustando la ósmosis celular, protegiendo la integridad de la membrana, contribuyendo a la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno y estabilizando las actividades enzimáticas y proteolíticas (Hayat et al., 2012).

1.4.4 Ubicación Geográfica

El trabajo de Goldner y Zamora (2007) concluyó que el efecto de la latitud puede ser más influyente que la altitud en algunas variedades. Los viñedos argentinos en latitudes de 31-33° produjeron los atributos sensoriales más deseados en el vino (por ejemplo, floral, dulzura, fruta cocida y pasas) en contraste con las regiones fuera de estas latitudes que exhibieron acidez, amargor y un fuerte aroma a hierbas.

La variedad Malbec utilizada en el presente trabajo, es representativa de los vinos argentinos y es cultivada mayormente en provincia de Mendoza (INV, 2024). Su cultivo tradicional se extiende desde zonas a 500 m sobre el nivel del mar (msnm) hasta altitudes muy elevadas, cercanas a los 1500 msnm. Las diferencias ambientales según la altura (UV-B, PAR, régimen de temperatura y tipo de suelo) hacen que las uvas de zonas altas sean las más tardías en madurar, posiblemente debido a la mayor amplitud térmica. Sin embargo, en la Quebrada de Humahuaca la combinación de variables es particular debido a la geografía heterogénea descrita en el punto 1.1 (Trillo, 2023; OVA, 2024).

1.5 El efecto combinado del estado hídrico del suelo y de la vid.

Las vides con disponibilidad hídrica limitada producen granos de menor tamaño, con altos contenidos de antocianinas (Edo-Roca et al., 2013) y un incremento de la relación pulpa-hollejo. En la vid, se modifica la expresión de genes responsables de la síntesis de polifenoles en función a su genotipo (Niculcea et al., 2014).

El estrés hídrico en las vides influye en la composición fenólica de las bayas de variedades tintas, regulando sus niveles según la sensibilidad diferencial de cada variedad a condiciones adversas (Lovisolo et al., 2010). Esta regulación se produce a través del ácido abscísico (ABA), una fitohormona que, además de intervenir en el crecimiento y la maduración vegetal, participa en los mecanismos adaptativos de la planta, favoreciendo el aumento de la concentración de polifenoles en las uvas (Koyama et al., 2010). Estas observaciones también se confirmaron en la variedad Malbec (Berli et al., 2015). La disponibilidad hídrica limitada puede modificar la ruta biosintética de los flavonoides en las bayas de vid. Esta ruta está regulada por las enzimas flavonoide 3'-hidroxilasa (F3'H) y flavonoide 3',5'-hidroxilasa (F3'5'H), que catalizan la conversión del dihidrokampferol en dihidroquercetina y dihidromiricetina, respectivamente. (Li et al., 2011) Estos dos compuestos representan aproximadamente el 30% de los fenoles no antociánicos en la variedad Malbec. (Fanzone, 2012). A partir de ellos se sintetizan distintas antocianinas: las derivadas de cianidina (como la peonidina) se generan a través de la ruta F3'H, mientras que las derivadas de delphinidina (como petunidina y malvidina) se producen por la ruta F3'5'H. (Mansour et al., 2022).

En Malbec, el nivel de compuestos fenólicos es abundante y superior en comparación a otras variedades tintas, y su color característico se debe en parte a la capacidad de interacción entre dihidroquercetina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido. La potencialidad de este copigmento brinda estabilidad a las antocianinas y contribuye al color de los vinos de esta variedad (Fanzone, 2012).

1.6 Cambio climático y calentamiento global

1.6.1 Vinos desequilibrados y de alto contenido alcohólico

Los consumidores en la actualidad demandan vinos estructurados y con alto contenido fenólico, lo que implica extender el tiempo antes de la cosecha para alcanzar una mayor madurez de la uva. Esta práctica conlleva mayores niveles de azúcar en la baya, determinando un aumento generalizado de la concentración de etanol en los vinos (Mozell y Thach, 2014; Varela et al., 2015). Hace algunas décadas no era común producir vinos con más de 14% v/v de alcohol (Robinson, 2012).

Más recientemente, el nivel promedio de alcohol ha aumentado alrededor del 2% (v/v), en zonas cálidas, y es frecuente encontrar vinos con un contenido de alcohol superior al 16% (v/v) (Varela et al., 2015). La concentración excesiva de alcohol en los vinos puede alterar el perfil sensorial de los mismos aumentando la percepción de amargor, astringencia y picor, y enmascarando algunos compuestos volátiles (Wilkinson et al., 2013).

En distintas zonas vitícolas del mundo como Australia, la concentración alcohólica en vinos tintos aumentó un 1% desde el 1980 hasta el 2010 (Godden y Muhlack 2010). En el Sur de la misma región, Sadras y Moran (2012) demostraron que las temperaturas más altas, desacoplan la acumulación de antocianinas y azúcares en las variedades Shiraz y Cabernet franc. En la región de Grecia, Koufos et al. (2020) observaron un adelanto del calendario de cosechas, acompañado de mayores niveles de alcohol potencial (15,2% v/v) y menor acidez, tanto para las variedades autóctonas como para las internacionales relevantes (Merlot) cultivadas en Grecia. El trabajo de Neethling et al. (2012) estudió las variables climáticas en 6 localidades del noroeste de Francia determinando que el nivel de alcohol potencial aumentó hasta 2,3° para la variedad Chenin blanc pasando de 10,7° a 13° en el periodo de 1981 a 2010. Fraga et al., en el año 2015 determinaron que en la región vitícola de Portugal la adaptación a los climas futuros obligará una reelección de variedades resistentes al calentamiento y la sequía. Alston et al. (2013) determinaron que el contenido promedio de azúcar de las uvas aumentó un 11% pasando de valores de 21,4 °Brix a 23,3 °Brix en un lapso de 30 años en California.

En Argentina, Ramos y Martínez de Toda (2020) identificaron en la Rioja, que la composición de la uva se vio afectada por temperaturas más altas con un desacoplamiento entre la madurez fenólica, con un adelanto de hasta 12 días, en la acumulación de las antocianinas y el desarrollo de azúcar junto con una acidez más baja.

En nuestro país, el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV), establece en cada añada el límite mínimo de tenor alcohólico real para vinos en función al control de la materia prima ingresada a los establecimientos elaboradores. En el año 2000 la concentración mínima de alcohol en vino estuvo fijada en 11,6% v/v y hacia el año 2010 este valor alcanzó el 12% v/v. En el año 2024 estos parámetros para vinos tintos se fijaron en 12,6 %v/v y 12,7 %v/v, para las provincias de Mendoza y San Juan, respectivamente. Esta legislación se establece anualmente, sin embargo, los vinos certificados como varietales quedaron exentos de esta medida desde el año 2022 (Res. Nº 2022-18-APN-INV#MAGYP), considerando el listado de variedades de *Vitis vinifera* L. reconocidas como aptas para la elaboración de vinos de calidad, entre las que se encuentra la variedad Malbec. Esta

consideración es en respuesta al conjunto de características de los vinos varietales, que, al estar elaborados en general con una sola variedad de uva, pueden presentar graduaciones alcohólicas específicas, sujetas a variables como las condiciones climáticas de la cosecha y las prácticas enológicas aplicadas. Esta flexibilidad les permite preservar sus características distintivas y garantizar la calidad del producto final.

La concentración excesiva de alcohol en los vinos puede alterar su perfil sensorial, aumentando la percepción de amargor, astringencia y picor y enmascarando algunos compuestos volátiles (Wilkinson et al 2013). Se observa una clara tendencia hacia vinos desequilibrados de alta graduación alcohólica (Rolle et al., 2018), baja acidez y pH elevados (Jones et al., 2005).

1.6.2 Cambio climático

La viticultura en el contexto actual tiene que resolver un desafío prioritario, que es la adaptación al cambio climático, resultante en vinos poco ácidos y muy alcoholizados. Desde hace décadas se demostró que los aumentos de la temperatura atmosférica afectan el rendimiento, y la composición de la uva modificando las propiedades organolépticas el vino (Schultz, 2000). Estos factores son alarmantes en la calidad futura del producto (Bordenave et al., 2013), dado que se proyecta un aumento adicional global de 3,7°C para fines de siglo (Koufos et al., 2020).

Las regiones vitivinícolas para la producción de vino de calidad se encuentran en nichos geográficos, y por lo tanto climáticos, relativamente estrechos, que las exponen a un mayor riesgo tanto de la variabilidad climática a corto plazo como del cambio climático a largo plazo que otros cultivos de mayor extensión (Jones et al., 2007).

Diversos autores han estudiado este fenómeno (Duchêne et al., 2010, Keller, 2010, Martínez et al., 2016) alertando sobre el adelanto de las etapas fenológicas y una consecuente floración temprana, con maduración en épocas de mayor temperatura. Esto resulta, en uvas con más azúcar y la degradación del ácido málico, aumentando el pH (Martínez et al., 2016).

1.6.3. Consecuencias del desequilibrio

El cambio climático está ejerciendo una influencia cada vez mayor sobre la fenología de la vid y la composición de la uva, modificando el comportamiento de las vinificaciones, en su naturaleza química, microbiológica y organoléptica (Martínez et al., 2016). De forma específica, las altas

concentraciones de azúcar en uvas derivan en vinos con alta graduación alcohólica, afectando las propiedades de la vinificación desde formas múltiples.

Desde el área microbiológica, las fermentaciones se ven afectadas en diferentes etapas. Al comienzo de la fermentación, los altos contenidos de azúcar pueden saturar los receptores proteicos de las levaduras (Bisson, 1999). En etapas posteriores, la toxicidad del etanol genera estrés en la célula impidiendo su desarrollo normal y provocando la formación de subproductos no deseados en la fermentación (Ferreira et al 2006).

Por último, el alto contenido alcohólico puede traer como consecuencia biotecnológica, fermentaciones detenidas o enlentecidas (Gil et al., 2013), alcanzando concentraciones suficientes para que las levaduras mueran intoxicadas, quedando altas cantidades de azúcares residuales en el medio (Coulter et al., 2008), induciendo a la inestabilidad microbiológica.

Por otro lado, valores altos de pH, aceleran las reacciones biológicas aumentando las probabilidades de oxidación o daños biológicos en todas las etapas de vinificación. El riesgo microbiológico es más probable en las primeras etapas de la fermentación, porque el grado alcohólico es insuficiente para inhibir a la mayoría de los microorganismos presentes (Martínez et al 2016). Además, los mostos provenientes de uvas demasiado maduras tienen elevados niveles de fructosa que puede inducir a fermentaciones lentas o detenidas (Tronchoni et al., 2009).

Valores altos de pH, también intervienen en el desempeño del SO_2 . Este compuesto utilizado ampliamente en la enología posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas frente a un amplio espectro de microorganismos (Roullier-Gallet et al., 2017), dado que reduce la concentración del oxígeno en el medio, limitando el crecimiento de los microorganismos aerobios. Cuando es agregado a la vinificación, su naturaleza antimicrobiana, depende principalmente de su fracción molecular y esta varía en función al pH (Ribereau Gayon et al., 2006). La fracción molecular solo se encuentra en una proporción menor al 5% con relación a la fracción libre (Waterhouse et al. 2016) y puede descender a 1% a valores de pH 3,8 (Beech et al., 1979), constituyendo un riesgo microbiológico que puede desencadenar en la alteración de las propiedades sensoriales de los vinos. En etapas de conservación se puede acelerar la velocidad de oxidación (Paladino et al., 2008) y reducir la concentración de SO_2 libre y molecular, ocasionando que el vino quede menos protegido.

Valores altos de pH también influyen de forma negativa en el color de los vinos. Las antocianinas que le dan color a las vinificaciones tintas coexisten bajo la forma de cuatro estructuras químicas en equilibrio, con características cromáticas particulares dependiendo del pH. En valores medios de pH de vinos tintos (3,5) se encuentran en distintas proporciones. Estas son: base

quinoidal de color azul (15%), el catión flavilium de color rojo (12,2%), hemiacetal incolora (45,2%) y la forma chalcona, también incolora (27,6%). En valores bajos de pH (2), las antocianinas predominan en la forma roja de catión flavilium, a medida que el pH aumenta, el catión flavilium desaparece por desprotonación, y se generan las formas quinoidales de color azul. Paralelamente, se produce la hidratación del catión flavilium dando lugar a la formación hemiacetal incolora. De forma complementaria valores de pH 4-5 y temperaturas elevadas, promueven la conversión de la forma hemiacetal en *cis*- o *trans*chalcona. Las chalconas pueden ser neutras e incoloras, o ionizarse y tomar un color levemente amarillo. La reversión a la forma flavilium por disminución del pH se produce más lentamente en el caso del isómero *trans* comparado con el *cis*, indicando que el primero puede ser irreversible (Fanzone, 2012).

En este contexto también se ve comprometido el aspecto sensorial. Las altas concentraciones de etanol de los vinos desequilibrados aumentan la sensación de picor y amargor, al tiempo que disminuyen la acidez y enmascaran la sensibilidad de ciertos compuestos aromáticos esenciales como ésteres, alcoholes superiores y monoterpenos (Castrillo et al., 2019).

Desde el punto de vista económico, los vinos muy alcoholizados están sujetos a mayores aranceles e impuestos de importación en algunos países (Xynas y Barnes, 2022). En Estados Unidos, el arancel impuesto para vinos tranquilos con 14% de alcohol o menos es de USD 0,28 por litro, mientras que el vino con 14,1% a 21% de alcohol es de USD 0,41 por litro y vinos con más del 21% es de USD 0,83 por litro (TTB, 2025).

Por último, es importante destacar el impacto en la salud. La información científica concluye que el consumo ligero a moderado de vino parece tener efectos beneficiosos hasta cierto punto en varias enfermedades no transmisibles (ENT) y afecciones (Minzer et al., 2020), sin poder establecer un nivel de ingesta específico. Sin embargo, el consenso médico, respaldado por la OMS (2019), reafirma los riesgos directos del consumo excesivo de alcohol en diversas enfermedades, y los riesgos indirectos, como los problemas de conducta, las autolesiones o las consecuencias para la seguridad vial.

1.6. Estrategias para la reducción de alcohol

En respuesta a la problemática, los enólogos e investigadores han desarrollado varias técnicas para reducir el contenido de alcohol de los vinos tratando de preservar las buenas cualidades sensoriales. Estas técnicas se pueden clasificar según la etapa de producción del vino como, prefermentativas, fermentativas y posfermentativas (Sam et al., 2021).

1.6.1. Estrategias prefermentativas

Estas consisten en prácticas vitícolas específicas entre las que se encuentran:

El “deshoje”, que consiste en la eliminación de hojas en varias etapas del crecimiento de las bayas, modificando la tasa de acumulación de azúcar (Parker et al., 2015), lo que puede reducir la concentración de alcohol en el vino resultante (Sun et al., 2012).

La “cosecha temprana”, consiste en la mezcla de uvas de cosecha temprana con bajo contenido de azúcar y alta acidez, con uvas totalmente maduras (Kontoudakis et al., 2011; Piccardo et al., 2019)

La estrategia de “dilución” consiste en añadir agua al mosto de uva para diluir las concentraciones de azúcar fermentable. En algunos países como Estados Unidos (excluyendo California), es una actividad lícita. En otros países como Sudáfrica, Nueva Zelanda, Australia, Francia y Alemania es ilegal (Longo et al., 2017). En Argentina el INV aprobó la adición de hasta 2,8% de agua exógena (disolución de agregados enológicos en estado sólido) en el año 2019. Su punto negativo es que la adición de agua puede reducir la acidez del mosto, disminuir las concentraciones de fenoles y taninos, y tener un impacto negativo en la apariencia del vino y los atributos sensoriales (Gardner et al., 2020).

La “filtración del jugo de uva” consiste en el uso de la tecnología de membranas para eliminar los azúcares del mosto antes de la fermentación. Los mostos tienen propiedades coloidales complejas y pueden obstruir el sistema disminuyendo el flujo de filtrado (Mira et al., 2017), por lo que es fundamental, trabajar con un buen corte de peso molecular (MWCO) en la membrana para aumentar la retención de compuestos volátiles y preservar el buen sabor en el vino.

En la “adición de enzimas”, se emplea una enzima derivada del hongo *Aspergillus Níger*, para eliminar la glucosa del mosto antes de la fermentación (Röcker et al 2016). En este proceso, la glucosa oxidasa puede convertir la β -D-glucosa en D-glucono- δ -lactona, produciendo peróxido de

hidrógeno, posteriormente, puede catalizar la conversión de D-glucono- δ -lactona, en ácido glucónico, oxidando el azúcar del mosto, e impidiendo la formación de alcohol (Pickering, 1997).

1.6.2. Estrategias postfermentativas

Las técnicas post-fermentativas permiten la eliminación de alcohol en vinos a niveles inferiores al 5% v/v sin afectar los parámetros de calidad (Liguori et al., 2019). Entre estas tecnologías se encuentran:

La “nanofiltración” consiste en la separación mediante una membrana semipermeable con poros que varían en un rango de 1 a 10 nm de tamaño (Porter et al., 1990). La membrana permite flujos de permeado específicos para moléculas pequeñas como azúcares, péptidos y proteínas, a presiones aproximadas de 75 bar (Massot et al., 2008) y se aplica al vino terminado para filtrar el alcohol.

La “ósmosis inversa” es un proceso de separación que utiliza una membrana semipermeable hidrófila, una fibra hueca, una placa y un módulo tubular para crear un gradiente de concentración o conocido como presión osmótica entre dos soluciones (Wang y Wang, 2018). Al aplicar presión en la solución de alta concentración, se produce este fenómeno y el solvente se transfiere hacia a la solución de baja concentración. Las moléculas de etanol son de mayor tamaño y no atraviesan la membrana tan fácilmente como el agua. Esto permite que el agua se filtre, reduciendo el alcohol.

La “destilación osmótica” usa membranas para que dos fases acuosas (vino y agua) circulen en contracorriente a través de un módulo de membrana hidrófoba de fibra hueca. Este proceso es posible gracias a la presión de vapor del soluto volátil en el vino y el líquido de destilación. El etanol se evapora en el lado de alimentación de los poros de la membrana, se difunde, y sale de los poros para condensarse en la solución de agua de destilación (Liguori et al., 2015).

La “destilación al vacío” consiste en aplicar energía térmica para inducir a la evaporación, destilación y condensación del vino en condiciones de vacío (Belisario-Sánchez et al., 2012). Este equipamiento permite extraer el alcohol de un volumen determinado de producción o separarlo de los componentes menos volátiles, pudiendo recuperar la primera parte del destilado y añadirla posteriormente a la parte desalcoholizada, siendo capaz de reducir la temperatura de evaporación del etanol a 15°C (Motta et al., 2017) y operar a presiones menores a 0,1 bar para producir vinos sin alcohol que contengan menos de 1% v/v de etanol. Las primeras porciones del destilado, que son ricas en compuestos aromáticos se reincorporan al producto para reducir su pérdida.

La “columna de conos rotatorios” se utiliza en la industria del vino para producir mosto de uva concentrado, eliminar dióxido de azufre, recuperar compuestos aromáticos volátiles y reducir las concentraciones de etanol en los vinos (Belisario-Sánchez et al., 2012). El vino atraviesa el equipamiento, donde primero se extraen sus aromas volátiles a una presión de 0,04 atm y 28°C, posteriormente, a una presión ligeramente mayor y 38°C, se elimina el alcohol. Finalmente, los aromas recuperados se reincorporan al vino desalcoholizado para preservar su perfil sensorial (Schmidtke et al., 2012).

1.6.3. Estrategias fermentativas

1.6.3.1. Uso de cepas de levaduras modificadas

La ingeniería genética combinada con la selección adaptativa logró el desarrollo de cepas de levadura que son capaces de reducir el contenido alcohólico del vino durante la fermentación (de Barros et al., 2000). Autores como Heux et al. (2006) insertaron genéticamente un gen *enoxE* codificando una NADH oxidasa, de una cepa de levadura *Saccharomyces* aislada de vino de Champagne, modificando el contenido de etanol, glicerol, succinato y α -hidroxiglutarato. Posteriormente, Hou et al. (2009) introdujeron cinco genes diferentes (*nox*, *AOX1*, *POS5* citosólico, *POS5* mitocondrial y *udhA*) en la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* CEN.PK113-5D (MATa SUC2 MAL8C *ura3-52*), reduciendo los niveles de NADH mitocondrial y citosólico, logrando una menor producción de glicerol y etanol.

Estas prácticas genéticas, pueden reducir el contenido de alcohol de forma modesta y se reportan casos de cepas de levaduras modificadas que pueden producir acetato, acetaldehído y acetoína (Varela et al 2012), perjudicando la calidad sensorial del vino. Es relevante el rechazo de los consumidores al uso de organismos genéticamente modificados en la producción de alimentos y bebidas, Por lo que sería más adecuado el uso de las técnicas de selección adaptativa y el uso de levaduras con menor producción de etanol (Canónico et al. 2019; Maturano et al., 2019; Ciani et al., 2016).

1.6.3.2. Reducción de biomasa

Reducir la población de levaduras durante la fermentación del mosto disminuye la velocidad de fermentación, dando como resultado vinos con bajo contenido alcohólico.

Esta práctica se investigó en la producción de sidra desalcoholizada, disminuyendo la biomasa celular mediante centrifugación (Nogueira, et al 2008. Fan et al 2012). Los resultados mostraron sidras con reducción de hasta 4° y sabor afrutado.

A pesar de ser un método eficaz para obtener productos más dulces y agradables, el mayor punto negativo es el alto riesgo microbiológico asociado a los azúcares residuales y altas probabilidades de deterioro (Malfeito-Ferreira, 2011).

1.6.3.3. Fermentación detenida o limitada

Esta práctica consiste en detener la fermentación alcohólica controlando la temperatura (Montanari et al., 2009; Burberg et al., 2009). La fermentación en tiempo reducido da como resultado vinos dulces con alto contenido de azúcar residual. Su estabilidad microbiológica y posterior almacenamiento requieren ajustes óptimos con dióxido de azufre (SO₂) e inclusive procesos de pasteurización térmica para su conservación en botella (Malfeito-Ferreira; 2011). La fermentación incompleta, además limita la producción de compuestos volátiles activos, como monoterpenos, ésteres etílicos y acetatos, producidos por levaduras en fermentaciones tradicionales (Capece et al., 2019). En resultados generales, se obtienen vinos dulces, con bajo alcohol y carentes de estructura aromática.

1.6.3.4. Uso de levaduras no-*Saccharomyces*

Algunas cepas de levaduras no-*Saccharomyces* pueden fermentar los azúcares del mosto con menor eficiencia, o desviar el metabolismo del carbono a otras vías, evitando la producción excesiva de etanol durante la fermentación (Contreras et al., 2014). Las levaduras no-*Saccharomyces* aplicadas en diversas estrategias de inoculación aisladas o combinadas, entre las que se incluyen fermentación mixta y fermentación secuencial junto a *Saccharomyces cerevisiae*, son capaces de reducir el etanol hasta un 2% v/v (Canónico et al. 2019; Maturano et al., 2019; Ciani et al., 2016). También se destaca en diversos estudios, el potencial para mejorar la fermentación del vino, la complejidad sensorial y el perfil aromático (Maturano et al., 2019; Ciani et al., 2010). Algunas especies o cepas de levaduras no-*Saccharomyces* pueden combatir a los microorganismos causantes del deterioro mediante la protección biológica (Comitini et al., 2011), lo que constituye una serie de ventajas a la industria vitivinícola.

En la enología contemporánea este grupo de levaduras también se las conoce como “no convencionales” y se estudian para mejorar las propiedades organolépticas del vino constituyendo la tendencia más interesante en la microbiología moderna. (Varela et al., 2016).

1.7. Levaduras en la fermentación alcohólica

La transformación del mosto de uva en vino es un proceso microbiológico de fermentación donde se produce una sucesión compleja de levaduras y bacterias. En las primeras etapas las levaduras aeróbicas y apiculadas representan la mayoría de la microbiota (Fleet, 2008). Las levaduras aeróbicas y las especies débilmente fermentativas de géneros como *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula* y *Zygosaccharomyces*, declinan temprano en la sucesión de la fermentación en respuesta a la caída de los niveles de oxígeno y al aumento de las concentraciones de etanol (Romano et al., 2003). Las levaduras ligeramente fermentativas como *Hanseniaspora uvarum*, *Starmerella bacillaris*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Torulaspora delbrueckii* y *Lachancea thermotolerans* pueden proliferar y sobrevivir en pleno desarrollo de la fermentación, disminuyendo sus poblaciones a medida que aumentan los niveles de etanol.

Todas estas son levaduras del grupo denominado no-*Saccharomyces*, que están presentes al principio de la fermentación, sin embargo, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la principal responsable de la mayor parte de este proceso, debido a su mayor capacidad fermentativa, tasa de crecimiento y tolerancia al etanol. Estas características le permiten imponerse, dominando la fermentación y por lo general al final del proceso se puede encontrar un monocultivo de ella (Varela et al., 2017b).

Saccharomyces cerevisiae se distingue, por su eficiencia al transformar hexosas a alcohol (Henderson et al., 2012) y por sus características de tolerancia al estrés, a las altas concentraciones de anhídrido sulfuroso (Zamora, 2016).

1.7.1. Levaduras autóctonas

Son las levaduras presentes de forma natural en uvas y mostos de una determinada región. En Argentina varias bodegas realizan fermentación espontánea mediante levaduras autóctonas para preservar la tipicidad de sus vinos (Mercado y Combina, 2010).

Las levaduras son parte de las comunidades microbianas naturales de la uva (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Se considera que las cepas de levaduras específicas se asocian con determinadas variedades de uva de ubicaciones geográficas específicas, y que esta asociación aporta una diversidad significativa y un carácter regional al proceso de vinificación (Raspor et al., 2006; Martínez et al 2007; Valero et al 2007). En este contexto las uvas de una región constituyen una fuente de levaduras con potencial de cultivos iniciadores, apuntando a preservar la biodiversidad microbiana y las características de un vino regional (Fleet, 2008).

Desde una perspectiva técnica la demanda de levaduras autóctonas como cultivos iniciadores se encuentran en creciente demanda (Bokulich et al., 2014), y la explotación de su biodiversidad a partir de los distintos ecosistemas es relevante para la caracterización de cepas de fenotipos particulares (Tristezza et al., 2014).

1.7.2. Levaduras del género *Metschnikowia*

Este género es uno de los más investigados debido a su múltiple contribución a la vinificación. La especie *Metschnikowia pulcherrima* (MP) se caracteriza por su capacidad de modificar el perfil sensorial, ya que puede modular la síntesis de metabolitos secundarios, mejorando el aroma y el sabor del vino (Varela et al., 2016). También es capaz de aumentar la concentración de manoproteínas, lo que ofrece el potencial de mejorar el sabor del vino (Domizio et al., 2014). Además, puede actuar como agente de biocontrol de microorganismos deteriorantes del vino (Oro et al., 2014a) y contrarrestar la podredumbre de las uvas (Oro et al., 2014b).

Además de intervenir en el perfil de sabor del vino y actuar como agente de biocontrol, *M. pulcherrima*, ha demostrado potencial como cultivo iniciador mixto para reducir la concentración de alcohol durante la fermentación del vino (Canónico et al. 2019; Maturano et al., 2019; Ciani et al., 2016; Contreras et al., 2014). Esta reducción, depende del metabolismo respiratorio aeróbico propio de MP, que en condiciones de aireación adecuadas puede metabolizar hasta el 40% de los azúcares, desviando parte del carbono hacia otras rutas metabólicas, como la vía de los fenilpropanoides, en la cual a partir de la descomposición de los glicósidos aromáticos por su actividad enzimática β -glucosidasa característica, libera compuestos aromáticos como terpenos norisoprenoides y fenoles volátiles (Morata et al., 2019a). *M. pulcherrima*, también redirige parte de la glucosa hacia la ruta del glicerol-3-fosfato, teniendo como precursor a la dihidroxiacetona fosfato, produciendo glicerol (Ivit et al., 2020).

Su efecto sinérgico en una fermentación mixta se debe a su buena actividad proteolítica, dado que es capaz de liberar aminoácidos que actúan de nutrientes para *S. cerevisiae*. Esta característica también la constituye como agente clarificante biológico para controlar la formación de turbidez proteica en vinos (Marangon et al., 2012).

Tiene baja capacidad fermentativa a pesar de utilizar diversos azúcares como fuente de carbono, por su lenta absorción de nitrógeno (Ribereau-Gauyon, 2006).

2. Formulación y fundamentación

Actualmente, existe una gran demanda de vinos complejos, de buen color, y gran volumen en boca, por lo que el momento de cosecha, según la madurez fenólica, se ha alterado con los años (Morales et al., 2015).

El cambio climático, influye cada vez más en la fenología de la vid y la composición de la uva (Martínez et al., 2016). Diversos estudios demostraron un avance en el estado fenológico que se viene gestando desde el año 1970 con un adelanto de más de 20 días según la región (Ollat et al., 2016, Cardell et al., 2019). También se ve afectado el comportamiento de las vinificaciones en el área química y microbiológica, modificando las características organolépticas de los vinos (Martínez et al., 2016).

La viticultura en su contexto actual y futuro próximo tiene como deber ofrecer productos exigentes en calidad y trazabilidad, mediante un producto competitivo y diversificado, que dé respuestas a variables macro como el cambio climático, ofreciendo un producto de menor graduación alcohólica (Fraga et al., 2013).

Una metodología sencilla, como el empleo de levaduras, es de gran valor para la obtención de vinos con menor contenido alcohólico, que conserven su composición fenólica.

Ya se ha propuesto redireccionar la mayor parte de la conversión de azúcares del mosto a otros metabolitos diferentes al etanol (Zamora, 2016), como estrategia de reducción alcohólica, desde el enfoque genético (Varela et al., 2015), la reducción de biomasa ((Malfeito-Ferreira, 2011) o la fermentación limitada (Montanari et al. 2009), cada uno con sus limitaciones, como estrategias tecnológicas.

Diversos estudios combinaron estrategias de co-inoculación de las levaduras *no-Saccharomyces/S. cerevisiae* nativas, con el fin de obtener vinos con bajo contenido de etanol (Ciani et al., 2014; Mestre et al., 2019; Maturano et al., 2019).

El empleo de levaduras autóctonas en la fermentación de mostos permite potenciar el impacto de una zona de producción, modificando la composición vínica y generando un carácter regional único (Capozzi et al., 2019)

La viticultura de altitud se vincula a un alto grado de heterogeneidad que presenta cada viñedo. Es necesario conocer aquellos variables significativas que influyen y aportan características diferenciales a los productos regionales de altura (Barroso et al., 2019).

La cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy, durante el periodo 2017-2019, aisló 116 levaduras de fermentaciones espontáneas y racimos

de uvas de distintas variedades tintas, de viñedos de Tumbaya, Purmamarca y Humahuaca. Se evaluaron sus características tecnológicas (tolerancia al etanol, poder de fermentación, resistencia al dióxido de azufre, formación de espuma, formación de sustancias adherentes, formación de sedimento) y cualitativas (actividad β -glucosidasa, formación de ácido a partir de Agar glucosado + CaCO_3 , producción de ácido sulfhídrico). Se determinó que 13 levaduras mostraron caracteres enológicos deseados. Nueve *Saccharomyces* (QH3, QH5, QH12, QH23, QH42, QH59, QH61, MP20, MP21, MP26 y MP27) y cuatro *no-Saccharomyces* (QH37, QH41, MP23, MP3), identificadas como *M. pulcherrima* y la última como *Clavispora lusitaniae*, presentaron propiedades cualitativas eficientes para co-inoculaciones mixtas o secuenciales (Peynado et al., 2019; Burgos et al., 2018; Ortega et al., 2018).

Estudiar el comportamiento de las levaduras nativas aisladas previamente en distintas zonificaciones con gran variabilidad de altura puede proporcionar datos relevantes para aumentar la tipicidad del producto regional y ser una alternativa viable a un producto moderado en alcohol, que conserve su perfil vínico y que expanda el mercado objetivo.

3. Objetivos de estudio

3.1. Objetivo General

Evaluar distintas estrategias fermentativas, con levaduras regionales tanto *Saccharomyces* como no-*Saccharomyces*, para reducir el etanol en vinos Malbec de la Quebrada de Humahuaca y conocer su impacto en algunas características químicas de esos vinos.

3.2. Objetivos específicos

- Estudiar inoculaciones mixtas y secuenciales con levaduras regionales, para la reducción del contenido de alcohol en vinos Malbec de la Quebrada de Humahuaca.
- Determinar la influencia de las estrategias fermentativas propuestas sobre la composición fenólica de los vinos Malbec de la Quebrada de Humahuaca.

4. Hipótesis

4.1. Hipótesis General:

La inoculación de mostos cv. Malbec de la Quebrada de Humahuaca con levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* nativas, permite obtener vinos de altura con menor contenido alcohólico, sin afectar significativamente la composición fenólica en términos de parámetros globales y atributos del color.

4.2. Hipótesis específicas

- Una estrategia fermentativa de inoculación mixta y secuencial con levaduras regionales *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* reduce el contenido alcohólico del vino.
- Los vinos obtenidos con estas estrategias fermentativas poseen una composición fenólica similar a los vinos inoculados sólo con levaduras *Saccharomyces*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material vegetal

El ensayo se realizó en mostos provenientes de uvas Malbec (*Vitis vinifera* L.) de un viñedo comercial perteneciente a la “Bodega Viñas del Perchel”, ubicada en Tilcara, provincia de Jujuy (23° 27' 45.204"Sur- 65° 21' 29.75" Oeste), a una altura de 2625 msnm (Figura 2).

Las uvas fueron cosechadas manualmente con un contenido de sólidos solubles de 24°Brix, el día 05 de abril del 2024.



Figura 2. Bodega Viñas del Perchel, Tilcara, Jujuy (23° 27' 45.204"Sur- 65° 21' 29.75" Oeste), Tilcara, provincia de Jujuy

2. Microorganismos empleados y diseño experimental

Se utilizaron 3 levaduras: *Saccharomyces cerevisiae* autóctona MP27 y *Metschnikowia pulcherrima* autóctona MP23, para las estrategias fermentativas combinadas; y *S. cerevisiae* comercial EC1118 (Lalvin, Canadá), como control.

Las levaduras autóctonas pertenecen al cepario de la Cátedra de Microbiología de La Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy. Fueron previamente identificadas a nivel género y especie, por tipificación microbiológica MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser

Desorption/Ionization Time-of-Flight) y evaluadas en función de sus características enológicas: (Peynado et al., 2019; Burgos et al., 2018; Ortega et al., 2018).

Se implementaron cuatro tratamientos como estrategias fermentativas:

- **(CO)** Co-inoculación *M. pulcherrima* autóctona MP23 [Concentración inicial, 2×10^6 cel/mL] + *S. cerevisiae* autóctona MP27 [Concentración inicial, 2×10^6 cel/mL] (según Mestre et al., 2016).
- **(SE)** Inoculación secuencial *M. pulcherrima* autóctona MP23 [Concentración inicial, 5×10^6 cel/mL] + *S. cerevisiae* autóctona MP27 [48 h después, Concentración 2×10^6 cel/mL] (según Maturano et al., 2019).
- **(S)** *S. cerevisiae* autóctona MP27 [Concentración inicial, 2×10^6 cel/mL].
- **(COM)** *S. cerevisiae* comercial EC1118 [Concentración inicial, 2×10^6 cel/mL].

Para alcanzar las concentraciones descriptas se empleó el protocolo de propagación de cultivos propuesto por la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA Mendoza INTA). La activación de cepas se realizó mediante la siembra en placas con medio YPD-agar (peptona 2 %, dextrosa 2 %, extracto de levadura 1 %, agar 2 %), para verificar la pureza y viabilidad, seguido de la siembra en 75 mL de caldo YPD (peptona 2 %, dextrosa 2 %, extracto de levadura 1 %). Posteriormente se llevó a agitación 130 rpm por 4 h, este volumen se transfirió a 250 mL de caldo YPD y se incubó a 28°C, overnight. Los recuentos se realizaron con Cámara de Neubauer. Para determinar el volumen de inóculo se consideró el volumen de mosto a fermentar (1,5 L) y las poblaciones a alcanzar, 2×10^6 cel/mL y 5×10^6 cel/mL para el caso de la inoculación secuencial con la levadura no-*Saccharomyces*. Considerando las poblaciones alcanzadas en la propagación (2×10^8 cel/mL para levaduras *Saccharomyces* y 5×10^8 cel/mL para levaduras no-*Saccharomyces*) se adicionó 15 mL de cada inóculo en los fermentadores.

3. Microfermentaciones

Las vinificaciones se realizaron a escala laboratorio, según protocolos estándares establecidos por la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA Mendoza INTA) (Fanzone, comunicación personal).

Después de la cosecha descripta en el apartado punto II.1, se transportaron de forma inmediata, 12 Kg de uva al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias (Jujuy, Argentina). Se

descobajaron y molieron de forma manual, para obtener 8 L de mosto. Se determinó sólidos solubles, acidez titulable y pH, posteriormente el mosto fue sulfitado (100 mg $K_2S_2O_5/L$). A partir del contenido de sólidos solubles se estimó el alcohol potencial según OIV (2012). Las vinificaciones se realizaron a escala laboratorio, en 8 recipientes de 1,5 L depositando 1 L de mosto por tratamiento. No se realizó corrección de acidez y pH.

El proceso de fermentación se llevó a cabo aplicando las estrategias microbiológicas previamente descritas en el apartado II.2, por duplicado. Para ello, luego de la inoculación los recipientes de 1,5L se mantuvieron a temperatura controlada de 25 °C, hasta concluir la fermentación alcohólica. Se efectuaron 2 bazuqueos diarios y se midió la temperatura en cada vinificación. Se registró diariamente el peso de los recipientes para determinar el progreso de las fermentaciones y su finalización, medido como liberación de CO_2 g/100 mL. Se estableció el mismo tiempo de maduración, uniformando el tiempo de contacto con los hollejos, en todos los tratamientos en un periodo de 15 días.

Una vez concluidas las fermentaciones, se procedió al descubado, trasvasando los vinos a recipientes de 1 L, donde se realizó el sulfitado (100 mg $K_2S_2O_5/L$). Se mantuvieron por un periodo de 4 semanas a 4°C, para la estabilización tartárica. Posteriormente los vinos fueron trasegados a una distancia de 5 cm de la base y se corrigió el $K_2S_2O_5$ a 40 mg/L, en función a los valores de pH, el SO_2 libre, la temperatura de conservación y porcentaje de alcohol estimado, para ser embotellados y conservados a temperatura ambiente y privados de luz, hasta los análisis correspondientes.

4. Control microbiológico de las fermentaciones

Se tomaron muestras de cada fermentación y se realizaron diluciones seriadas a partir de las mismas a las 72 h, a los 7 días y al concluir la fermentación de los ensayos (15 días). Las muestras se sembraron en placas de Petri con medio WLN (Oxoid) y se incubaron durante 5 días a 28°C con el fin de discriminar desde la morfología de las UFC y determinar las especies de levaduras presentes (Pallmann et al., 2001). En la etapa final del proceso, a partir de los cultivos obtenidos en cada fermentación, se hicieron repiques en medio YPD-agar para su posterior tipificación molecular.

5. Control de implantación-pureza de inóculo

A partir de las colonias aisladas en la etapa final de la fermentación, se procedió a la determinación de perfil molecular por PCR Interdelta (Legras y Karst, 2003), para comprobar que cada levadura *S. cerevisiae* utilizada haya sido capaz de imponerse sobre la población nativa del

mosto. Las colonias de *M. pulcherrima* en cultivos mixtos se diferenciaron en función a sus caracteres macroscópicos (Pallmann et al., 2001).

A su vez, se determinó la pureza de los inóculos, para ello se aislaron 10 colonias de levaduras *Saccharomyces* a partir del caldo YPD utilizado en la propagación de cultivos previo a la inoculación. A partir de estos aislados se determinó el perfil molecular por PCR Interdelta a fin de determinar que la propagación correspondió a la cepa *S. cerevisiae* utilizada.

5.1 Tipificación molecular de *S. cerevisiae*

La extracción total de ADN de las levaduras autóctonas aisladas se realizó de acuerdo con el protocolo de Hoffman y Winston (1987), mientras que la tipificación molecular de las cepas de *S. cerevisiae* se llevó a cabo mediante PCR-Interdelta optimizada (Legras y Karst, 2003). Los elementos delta son secuencias largas de repetición (LTRs por su nombre en inglés *Long Terminal Repeats*) de 0,3 kb que están repetidas de forma aislada o como parte integrante de los retrotransposones Ty1 al menos 100 veces en el genoma de *S. cerevisiae* (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Esta técnica utiliza un par de *primers* que hibridan dentro de los elementos delta (δ_{12} , 5' TCA ACA ATG GAA TCC CAA C 3' y δ_{21} , 5' CAT CTT AAC GTA TAT GA 3'), y dado que cada cepa de *S. cerevisiae* posee distinto número y distribución de estas secuencias en su genoma, la amplificación del ADN entre dos elementos delta puede variar de una cepa a otra, tanto en número como en longitud de los fragmentos amplificados, generando patrones moleculares con diferente número y peso de bandas (Fernández- Espinar et al., 2006; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Legras y Karst, 2003). Además, La generación de patrones PCR-Interdelta para cada aislado, se consideró evidencia confirmatoria para la asignación del mismo a la especie *S. cerevisiae* de acuerdo con el criterio de Legras y Karst (2003), quienes indicaron que el método es especie específico y otras especies del género *Saccharomyces* no amplifican a pesar de que presentan secuencias homólogas a los retrotrasposones Ty de *S. cerevisiae*.

Las reacciones de amplificación se hicieron en un termociclador con tapa caliente Eppendorf AG 22331 (Hamburgo, Alemania) y las condiciones de los ciclos se detallan a continuación en la Tabla 3 El programa completo de PCR-Interdelta tiene una duración aproximada de 2 horas. Una vez finalizado, los tubos con los productos de la PCR pueden conservarse por 24 horas a 4°C o bien, a – 20°C por varios meses.

TABLA 3. Programa de PCR-Interdelta utilizado

	PASO	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO
1	Desnaturalización inicial	95	4 minutos
2a	Desnaturalización	95	30 segundos
3a	Annealing	46	30 segundos
4a	Extensión	72	90 segundos
5	Extensión final	72	10 minutos

a Los pasos 2, 3 y 4 se repiten 35 CICLOS

Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1,2% (p/v) sometidos a 90 V durante 70 min en buffer TBE 1X, usando el marcador de peso molecular 100 bp (Invitrogen; Vilnius, Lituania)

Finalmente, los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 µg. mL⁻¹) y se registraron con un fotodocumentador (Bio-Rad Universal Hood II S.N 76S / 03696).

Los patrones de bandas de cada aislado se compararon entre sí para definir diferentes perfiles de amplificación Interdelta que fueron considerados como cepas distintas.

6. Determinaciones analíticas

6.1. Determinación de parámetros generales de mostos

Después del descobajado y la molienda de uvas Malbec, se determinó el contenido de azúcares (sólidos solubles expresados como °Brix) empleando el refractómetro modelo “Numak, ZGRB-32ATC”.

Se determinó el pH, mediante medidor multiparámetro modelo “EZDO PL-700PC”, el cual fue calibrado a 20° C con solución buffer estándar realizando 2 determinaciones por cada tratamiento expresando el valor de lectura con 2 decimales. La acidez titulable (ácido tartárico, g/L) se determinó mediante titulación ácido base utilizando NaOH como valorante y fenolftaleína como indicador en el mosto, según la metodología propuesta por la OIV (2012).

6.2 Determinación de parámetros generales de los vinos

En los vinos terminados se procedió a la determinación del contenido de alcohol (% v/v), acidez volátil (ácido acético, g/L), acidez total (g/L), pH, ácido málico (g/L), ácido láctico (g/L), glucosa (g/L), fructosa (g/L), azúcares residuales (g/L), densidad (g/cm³), e índice de polifenoles totales (ODS), utilizando el equipo ALPHA FT-IR Wine Analyzer (Bruker Optics, Ettlingen, 27 Germany) y Alcolyzer Wine® (Anton-Para GmbH, Austria).

6.3. Determinación de parámetros fenólicos generales y análisis de color.

Después de permanecer 60 días en botella, de cada uno de los vinos se tomó una muestra y estas fueron centrifugadas y filtradas por membrana 0.22 µm (Microclar, Buenos Aires, Argentina). Posteriormente se realizó la caracterización fenólica de los mismos mediante espectrofotometría UV-visible (Perkin-Elmer UV-visible Model Lambda 25, Hartford, CT). Se determinó el contenido de fenoles, taninos y antocianos totales junto con pigmentos poliméricos pequeños (SPP), grandes (LPP) y totales (TPP = LPP + SPP). La metodología consiste en la lectura espectrofotométrica de extractos fenólicos y en la precipitación de taninos con albúmina sérica bovina (BSA). Las mediciones se realizaron a 280 nm (fenoles totales), 510 nm (taninos) y 520 nm (antocianos y pigmentos poliméricos) (Harbertson et al., 2003; Heredia et al., 2006).

Complementariamente, se procedió a la caracterización del color de los vinos empleando el sistema CIELAB de colorimetría triestímulo (L* para claridad, 0 negro y 100 blanco; C* para saturación o pureza; h_{ab} para tonalidad; y a* b* para matices rojo/verde y amarillo/azul, respectivamente), según lo descrito por Gordillo et al. (2012), siguiendo las recomendaciones de la Commission Internationale de L'Eclairage (CIE, 2004). Los parámetros CIELAB fueron calculados a partir del espectro de absorción (380–780 nm) a intervalos de 1 nm con cubetas de vidrio de 1 mm de paso óptico, empleando un paquete del software R (colorscience R package; Gama, 2024). Las diferencias de color entre dos muestras (ΔE^*_{ab}) fue calculada como la distancia euclidiana entre dos puntos (1 y 2) en el espacio tridimensional (L* a* b*).

$$\Delta E^*_{ab} (L^*_1, a^*_1, b^*_1; L^*_2, a^*_2, b^*_2) = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Dónde $\Delta L^* = L^*_1 - L^*_2$; $\Delta a^* = a^*_1 - a^*_2$ y $\Delta b^* = b^*_1 - b^*_2$.

7. Análisis estadístico de los datos:

El análisis estadístico se realizó con el Software Statgraphics Centurion XIX (software estadístico Graphics Corp., Warrenton, VA, 2024). Se testeó la homogeneidad de la varianza en todos los resultados utilizando la prueba de Cochran, y se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) y Prueba de significancia de Tukey (HSD). Se consideró que un valor $p < 0,05$ era estadísticamente significativo.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar la influencia de la inoculación de las levaduras autóctonas en la reducción del contenido alcohólico de vinos Malbec, se utilizaron las estrategias fermentativas descritas en el punto II.2 (SE, CO, S, COM) y se observó que el tratamiento más efectivo fue **SE**, al alcanzar los menores valores de etanol. Se observaron diferencias químicas estadísticamente significativas para los vinos fermentados con las diferentes estrategias, pero dentro de rangos normales desde el punto de vista tecnológico, sin afectar la composición fenólica de los vinos terminados.

1. Parámetros analíticos de mostos Malbec

El mosto Malbec inicial, analizado en el día 0 mostró un contenido de sólidos solubles de 24°Brix, estimando por consiguiente un alcohol potencial de 14,2 % (v/v) al concluir la fermentación alcohólica (OIV, 2012). Por su parte, la acidez titulable fue de 7,2 g/L. El componente ácido mayoritario de este parámetro es ácido tartárico considerado estable a la degradación por microorganismos durante la fermentación, por lo cual el nivel cuantificado posiblemente aporte una sensación de frescura en los vinos terminados, mejorando la estructura, el equilibrio y el sabor final en boca (Jackson, 2000).

El pH del mosto fue de 3,72. Este valor es compatible con el rango de pH determinado por Fanzone (2012) para diferentes regiones vitivinícolas de Mendoza que representan condiciones de mosto que favorecen tanto una acidez equilibrada como el control microbiológico y la estabilidad el color. Barroso et al. (2017) analizó el pH de mostos de Cabernet Sauvignon en 24 viñedos de Argentina (Salta, Jujuy) y obtuvo valores de pH de 4,05 (2437 msnm). Por su parte Assof, (2019) obtuvo valores de pH = ~3,48, 1000 msnm, en las regiones de Gualtallary, Agrelo y La Libertad, Provincia de Mendoza. Ambos autores sugieren una tendencia de aumento de pH a medida que aumenta la altitud del viñedo, por lo que el valor obtenido en este estudio es menor al esperado.

2. Crecimiento de las levaduras y cinética fermentativa

En primer lugar, cabe destacar que el potencial enológico de las levaduras empleadas en este ensayo ha sido estudiado por otros autores y publicado previamente (Peynado et al., 2019; Burgos et al., 2018; Ortega et al., 2018). En el presente estudio, las levaduras iniciaron sin mayores dificultades la fermentación del mosto, tolerando la concentración inicial de $K_2S_2O_5$ (100 mg/L) y manifestando un breve periodo de latencia (Figura 3).

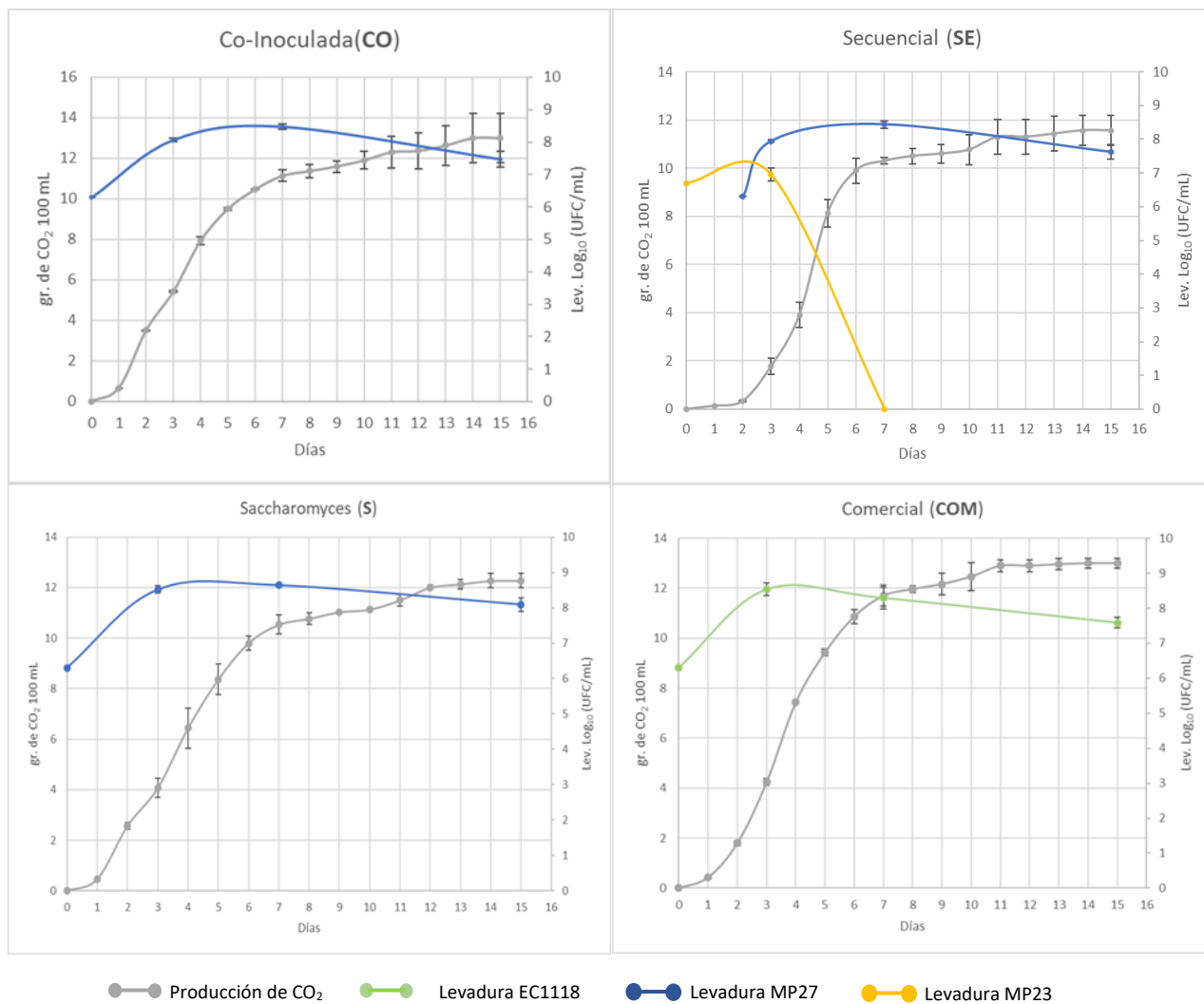


Figura 3. Evolución de las poblaciones de levadura (Log UFC/mL) y producción de CO₂ (g/100 mL) durante la fermentación de vinos Malbec. (COM) EC1118 cepa comercial de *S. cerevisiae*; (S) cepa regional de *S. cerevisiae* (MP 27); (CO), Coinoculación *S. cerevisiae*/ *M. Pulcherrima* (MP 27/MP 23); (SE) Inoculación Secuencial *M. Pulcherrima* /*S. cerevisiae* (MP 23/MP 27)

En la figura 3 puede observarse que las fermentaciones evolucionaron de manera similar en cuanto a pérdida de peso ($\text{g CO}_2/100 \text{ mL}$), con una pérdida total de $13,00 \pm 1,23$ para el tratamiento **CO**, $11,57 \pm 0,61$ para el tratamiento **SE**, $12,27 \pm 0,28$ para el tratamiento **S** y $13,00 \pm 0,19$ para el tratamiento **COM** (Tabla 4). La duración aproximada fue de 15 días, a excepción de la fermentación llevada a cabo por la levadura comercial, la cual concluyó al día 11. Este último periodo se asemeja con lo descrito por Contreras et al. (2014), quien utilizó la levadura enológica *Saccharomyces* AWRI 1631 como control, en mosto Syrah, sin condiciones de aireación modificada. Algunos autores han reportado hasta 3 semanas de duración para concluir este proceso con levaduras autóctonas (Cuello et al., 2017), cuando ensayaron fermentaciones en mosto de uva blanca.

La primera etapa de las fermentaciones mostró diferencias en función del momento y el tipo de levadura de los inóculos, con una marcada diferencia entre **SE** y el resto de los tratamientos. Para este tratamiento, **SE**, se evidenció la menor capacidad fermentativa de las levaduras *no-Saccharomyces* (Contreras et al., 2014, Gonzales et al., 2013), por un bajo desprendimiento de CO_2 en las primeras 48 h, a pesar de ser inoculadas en una concentración de 5×10^6 cel/mL inicialmente. El proceso recién se aceleró, es decir se observó el incremento en el desprendimiento de CO_2 , al tercer día, 24 h después de la inoculación con *Saccharomyces* por lo que se estima un pronto predominio de estas levaduras.

Todas las vinificaciones mostraron incremento acelerado en la población de levaduras (Figura 3) durante las primeras 72 h, manifestando similares incrementos del desprendimiento de CO_2 . Esta relación se establece por la multiplicación de células en fermentaciones ensayadas en iguales condiciones de maceración.

La tasa de producción de CO_2 del tratamiento **COM**, fue mayor que toda las demás, en el transcurso de los primeros 7 días, con una diferencia significativa respecto al tratamiento **SE** (Tabla 4). En el primer caso se puede interpretar a la levadura comercial como más eficiente en la conversión de azúcares a etanol desde el momento inicial, lo q se asemeja a lo reportado por otros autores (Lin X et al., 2022; Maturano et al., 2019, Fanzone et al., 2020). Mientras que en el tratamiento **SE**, se observó una menor eficiencia transformando azúcares a etanol y otros metabolitos de las levaduras *no-Sacharomyces* presentes durante las primeras 48 h (Goold et al., 2017), lo cual fue previamente comentado al observar el desprendimiento de CO_2 como indicador de la dinámica fermentativa. La presencia inicial de estas levaduras, previa a la inoculación de *S. cerevisiae* podría conducir a esta diferencia significativa para el tratamiento **SE**.

TABLA 4. Pérdida de Peso expresada en g de CO₂/100mL al 7° y al 15° día de fermentación

Tratamiento	Día 7			Día 15		
CO	11,13	± 0,28	AB	13,00	± 1,23	A
SE	10,30	± 0,14	A	11,57	± 0,61	A
S	10,53	± 0,38	AB	12,27	± 0,28	A
COM	11,70	± 0,42	B	13,00	± 0,19	A

*Media ± DE (Desviación estándar) (n = 2). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Prueba Tukey HSD, p<0,05). Estrategias fermentativas: (**COM**) EC1118 cepa comercial *S. cerevisiae*; (**S**) cepa autóctona de *S. cerevisiae* (MP 27); (**CO**), Coinoculación *S. cerevisiae*/ *M. pulcherrima* (MP 27/MP 23); (**SE**) Inoculación Secuencial *M. pulcherrima* /*S. cerevisiae* (MP 23/MP 27)

Las levaduras nativas alcanzaron poblaciones de 8,44-8,64 Log UFC/mL al 7° día de fermentación. Estos niveles se asemejan a lo descrito por Mestre et al., (2019) que reporta poblaciones de 8,3 Log UFC/mL al 7° día de fermentación, cuando ensayó levaduras *Saccharomyces* nativas en mostos Malbec. Estas cantidades fueron disminuyendo durante el proceso de fermentación hasta valores de 7,48-8,09 Log UFC/mL. No se observan desviaciones en los procesos fermentativos. Se puede considerar que las levaduras *Saccharomyces* lograron una implantación efectiva en las fermentaciones en función del análisis de la dinámica poblacional.

Las colonias de *M. pulcherrima* utilizada en cultivos mixtos, coinoculación e inoculación secuencial, se distinguieron de las de *S. cerevisiae* por el desarrollo de colonias de color rosa pálido rodeado de un halo marrón rojizo. Este color se debe a la producción de pulcherrimina, que actúa como quelante del hierro, común entre las cepas de *M. pulcherrima* (Kurtzman et al., 2001). Sólo se observaron colonias características de *M. pulcherrima* en el tratamiento **SE** en cantidades de 7,09 Log UFC/mL a las 72 h luego de su inoculación. Se ha mencionado que, por lo general ambas levaduras (*Saccharomyces* y *Metschnikowia*) pueden coexistir hasta 3 días (Lin et al., 2022). El descenso de *Metschnikowia* se produce por la baja resistencia al etanol producido por *Saccharomyces* (Loira et al., 2020; Wang et al., 2016; Sadoudi et al., 2012). *Saccharomyces* también es mucho más eficiente en el consumo de azúcares simples, nitrógeno asimilable y vitaminas. Esto puede dejar a *M. pulcherrima* sin recursos antes de completar su crecimiento (Wang et al., 2016). En este contexto, la capacidad de formar colonias es la primera actividad vital que se pierde y se producen cambios progresivos en la permeabilidad de la membrana celular (Andorra et al., 2010)

En **SE**, se observó una marcada diferencia en la población de levaduras *Saccharomyces* después de 24 h desde su inoculación (día 3) con respecto al mismo tiempo transcurrido en las otras fermentaciones, mostrando una multiplicación acelerada. Esto se podría atribuir al consumo de azúcares en ese periodo por parte de *Metschnikowia*, reduciendo el impacto del estrés osmótico en *Saccharomyces* disminuyendo su fase de latencia. También se puede asociar a la gran actividad proteolítica de *M. pulcherrima*, que es capaz de promover la degradación de aminoácidos, favoreciendo así una mejor disponibilidad de nitrógeno para el crecimiento de *S. cerevisiae* (Benito et al., 2019). Una situación similar fue reportada por Fanzone et al. (2020), quienes verificaron el aumento de población en el tratamiento secuencial utilizando inoculación con la levadura no-*Saccharomyces Hanseniaspora uvarum*, seguida de la levadura *Saccharomyces* comercial EC1118.

A pesar de la diferencia en la dinámica poblacional y los ritmos de fermentación, se observaron bajos valores de azúcares reductores en los vinos obtenidos con los tratamientos **SE** y **COM** (Tabla 5). El óptimo consumo de azúcar se reflejó en los volúmenes finales de alcohol con valores máximos de $16,14 \pm 0,05$ % v/v en **COM** y en contraparte el menor volumen alcohólico de $14,0 \pm 0,02$ % v/v % en **SE**. Estos valores se atribuyen a la gran eficiencia de conversión de azúcares en etanol de la levadura comercial (Bauer et al., 2000; Fleet et al., 1993) en **COM** y al trabajo compartido de conversión de azúcares a etanol y otros metabolitos, posiblemente glicerol, en **SE** (Ribereau-Gayon et al., 2006; Contreras et al., 2014). Las levaduras no-*Saccharomyces* producen glicerol en respuesta al estrés osmótico inicial por la elevada concentración de glucosa en el mosto (Noti et al; 2015), el consumo precoz de azúcares disminuye los recursos fermentables disponibles para levaduras *Saccharomyces* reduciendo el volumen alcohólico producido. Además *M. pulcherrima* utiliza la glucosa como fuente de carbono, lo que produce un efecto sinérgico entre estos factores.

La diferencia entre el CO₂ desprendido y distintos volúmenes de etanol, se atribuye a la actividad metabólica diferente y propia de cada especie de levadura. La falta de oxígeno y la acumulación de etanol pueden desviar la ruta del piruvato a la producción de alcohol, hacia la formación de metabolitos secundarios como la acetoína y el 2,3-butanodiol, derivados del metabolismo secundario de las levaduras (Romano et al., 1996). En términos generales, *M. pulcherrima* produce cantidades relativamente intermedias de estos compuestos en relación con otras levaduras (Morata et al., 2019c) lo cual podría explicar las diferencias detectadas previamente mencionadas en cuanto a producción de CO₂ y de etanol.

3. Parámetros analíticos de los vinos Malbec

La inoculación combinada de *M. pulcherrima* y *S. cerevisiae* ha sido estudiada en otras oportunidades, con el objetivo de modificar el contenido alcohólico en vinos, logrando fermentaciones reducidas hasta en un 1,6% v/v de etanol (Contreras et al., 2014; Morales et al., 2015; Canonico et al., 2016). Las estrategias de co-inoculación, ensayadas en el presente trabajo (momento de inoculación, poblaciones de cada inóculo), fueron estudiadas de forma previa, utilizando la levadura no-*Saccharomyces H. uvarum*, obteniendo resultados satisfactorios en la reducción de alcohol a escala de laboratorio (Maturano et al., 2019; Mestre et al., 2019).

Los parámetros analíticos expresados en la Tabla 5 destacan la variabilidad en el contenido de etanol de los vinos obtenidos, con una diferencia significativa entre **SE** y el resto de los tratamientos, con una reducción I de $2,11 \pm 0,03$ % v/v por parte de la estrategia secuencial. Los resultados muestran el logro del objetivo principal de este estudio. Este resultado es inclusive mejor a lo obtenido en otros trabajos similares, por ejemplo, Varela et al., (2016), quienes lograron una reducción de 1% v/v de etanol, por otro lado, Contreras et al., (2014), obtuvieron reducción de etanol de 1,6 % v/v, siendo trabajos que emplearon protocolos similares de inóculos secuenciales. Por otro lado, Canonico et al. (2019) obtuvieron una reducción en etanol del 1,38% v/v, con tratamientos en condiciones de aireación modificada, lo que contribuye al metabolismo aeróbico de no-*Saccharomyces* (Guindal et al., 2023).

TABLA 5. Parámetros analíticos generales de los vinos obtenidos aplicando estrategias fermentativas

Tratamiento	COM			SE			S			CO			Valor <i>p</i>
Etanol %v/v	16,14	±	0,05	C	14,03	±	0,02	A	14,83	±	0,30	B	0,0007
Acidez Volatil g/L	0,39	±	0,01	AB	0,47	±	0,00	B	0,33	±	0,01	A	0,0128
Acidez Total g/L	5,43	±	0,13	A	5,94	±	0,03	B	5,96	±	0,02	B	0,0175
pH	4,05	±	0,04	B	4,05	±	0,04	B	3,74	±	0,05	A	0,0032
Ácido Málico g/L	2,94	±	0,16	B	3,22	±	0,03	B	2,41	±	0,04	A	0,002
Glucosa g/L	0,00	±	0,00	A	0,00	±	0,00	A	0,20	±	0,10	A	0,0021
Fructosa g/L	0,89	±	0,27	A	0,55	±	0,01	A	1,26	±	0,04	AB	0,0099
Azucar Total g/L	0,00	±	0,00	A	0,00	±	0,00	A	1,07	±	0,47	AB	0,0047
GluFRuc g/L	0,85	±	0,34	AB	0,07	±	0,09	A	1,68	±	0,04	BC	0,0022
Densidad g/cm ³	0,99	±	0,00	A	0,99	±	0,00	B	0,99	±	0,00	A	0,025
ODS	66,34	±	4,41		66,46	±	2,38		63,77	±	0,30		0,3498

*Media ± DE (Desviación estándar) (n = 2). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos (Prueba Tukey HSD, $p < 0,05$). Estrategias fermentativas: (**COM**) EC1118 cepa comercial *S. cerevisiae*; (**S**) cepa autóctona de *S. cerevisiae* (MP 27); (**CO**), Coinoculación *S. cerevisiae*/ *M. pulcherrima* (MP 27/MP 23); (**SE**) Inoculación Secuencial *M. pulcherrima* /*S. cerevisiae* (MP 23/MP 27)

El resultado exitoso obtenido en inoculaciones mixtas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* en cuanto a la reducción de etanol se sustenta en varios comportamientos observados en este último tipo de levaduras. En mostos inoculados con 2 levaduras diferentes, la coexistencia, da lugar a la competencia por el oxígeno, ralentizando la vía piruvato deshidrogenasa, lo cual se ha sugerido, puede favorecer la formación de glicerol (Lin et al., 2022).

Se estima que *M. pulcherrima* puede metabolizar hasta un 40% de los azúcares del mosto en condiciones aeróbicas con un rendimiento de 0,31 g de etanol/g de azúcar (Contreras et al., 2014). Además *M. pulcherrima* posee una gran actividad esterasa y β -glucosidasa que da lugar a esteres etílicos y acetatos consumiendo parte del etanol en el proceso (Charoenchai et al., 1997, Comitini et al., 2011). Sin embargo, estos rasgos no son característicos de todas las cepas pertenecientes a esta especie (Contreras et al., 2014, Zoot et al., 2015).

Como se describió en el apartado III.1, el pH de los mostos, mostro valores, en función a la altitud del viñedo. En las vinificaciones el pH se elevó, y los tratamientos **COM** y **SE** alcanzaron valores que podrían afectar su estabilidad final (Tabla 5).

Respecto a la acidez total (Tabla 5), los valores se encuentran dentro del rango esperado (4,5 a 7 g/L) y los valores obtenidos se asemejan a lo reportado por Canonico et al. (2023). En la vinificación con la levadura comercial, se observa menor concentración de ácidos, y es significativa respecto a los vinos producidos con las levaduras nativas, lo que sugiere un consumo moderado de los ácidos del mosto en **COM**. Las cepas comerciales son seleccionadas por sus actividades enzimáticas específicas, brindando vinificaciones uniformes (Beltran et al., 2002, Santamaría et al., 2005). Mestre et al. (2019) reportó resultados similares cuando se compararon los tratamientos en los que se combinaron cepas *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* (*Hanseniaspora uvarum*), en donde el control fermentado sólo con *Saccharomyces* tuvo menos producción ácida.

En cuanto a la acidez volátil (Tabla 5), se observaron valores relativamente bajos, lo que indica una buena estabilidad microbiológica, describiendo bastante homogeneidad entre los tratamientos, lo que se asemeja a los resultados obtenidos por Comitini et al. (2011) y Morales et al. (2015), quienes ensayaron cultivos mixtos con la misma combinación de especies y obtuvieron valores de 0,3 a 0,4 g/L. Los tratamientos con levaduras indígenas **S** y **CO**, mostraron una acidez volátil aún menor. El tratamiento **SE** presenta el valor más alto, atribuible al metabolismo de *M. pulcherrima* durante las primeras 48 h y la consecuente producción de ácido acético (Guindal et al., 2023), sin embargo, no es estadísticamente diferente a **COM**. Estudios anteriores obtuvieron resultados similares (Contreras et al., 2014). Sin embargo, se reporta que estos valores de acidez volátil

aumentan al exponer las fermentaciones a condiciones de aireación modificada (Morales et al., 2015).

Ningún tratamiento produjo cantidades detectables de ácido láctico (Tabla 4), por lo que se estima la ausencia de fermentación maloláctica espontánea. Esta puede ocurrir espontáneamente, sin agregado de bacterias lácticas seleccionadas luego de concluida la fermentación, en condiciones de temperatura y tiempo adecuados para ello (Lonvaud-Funel, 1999), lo cual no estaba previsto en este ensayo.

Los niveles de ácido málico (Tabla 5) se mantuvieron dentro del rango normal (2 a 6,5 g/L) (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Los valores expresados están asociados a la región climática de cosecha (Gallander, 1977). En regiones con temperaturas nocturnas frías (Quebrada de Humahuaca-Jujuy), se ralentiza la degradación de este ácido (Gaiotti et al., 2018). Se obtuvieron valores menores en los tratamientos **S** y **CO**. Las diferencias de parámetros entre tratamientos se pueden atribuir a que, una porción del ácido málico del mosto puede ser degradado por la mayoría de los microorganismos del vino, estos se dividen en 2 grupos, Krebs (+) que incluye no-*Saccharomyces* y Krebs (-), principalmente *S. cerevisiae* con una aptitud variable para utilizar este recurso en función de la cepa (Mendes Ferreira et al., 2020).

Los niveles de glucosa (Tabla 5) se mantuvieron bajos demostrando que se completaron todas las fermentaciones.

Se observan bajos valores de fructosa (Tabla 5) en general. **COM** y **SE** mostraron un consumo eficiente de este azúcar, lo cual podría evidenciar un mayor carácter fructofílico respecto a los otros tratamientos. En levaduras comerciales, esta característica es dependiente de la cepa, e independiente de su capacidad fermentativa (Berthels et al., 2004). MP tiene la capacidad de usar fructosa como fuente de carbono (Morata et al., 2019a), pudiendo iniciar el consumo de azúcares en los primeros días de fermentación. Se observa la misma tendencia en los niveles de glucosa, pero en un grado mucho menor.

Respecto al azúcar residual (Tabla 5) descripto como azúcar total, se observa que las fermentaciones **COM** y **SE** fueron completas, y la menos eficiente fue **CO**, atribuible a la competencia simultánea de cepas por nutrientes, reduciendo la eficiencia fermentativa de *Saccharomyces*. Sin embargo, en todas las fermentaciones se detectaron concentraciones muy bajas (menor a 3 g/L de azúcares).

Los valores de **COM** y **SE** coinciden con lo descripto por Canónico et al. (2016) cuando ensayaron fermentaciones monocultivo y mixtas, compuestas por *S. cerevisiae* Lalvin EC1118 y

Metschnikowia pulcherrima DiSVA269, en jugo natural de uvas *verdicchio*, obteniendo valores de azúcares residuales menores a 2 g/L

Los valores de densidad (Tabla 5) fueron adecuados para una vinificación tinta, similares en todos los tratamientos a pesar de la variabilidad en el consumo de fructosa.

Respecto al IPT (Índice de polifenoles totales), no se observaron diferencias estadísticamente significativas, ($p = 0,3498$). Los valores obtenidos fueron mayores a lo descrito por otros autores (Torres-Díaz et al., 2024), en donde se proponen tratamientos con la misma combinación de cepas en mostos Tempranillo. Sin embargo, están por debajo de los valores obtenidos por Barroso et al. (2019), que mostró niveles de IPT de 78 en vinificaciones Malbec del año 2016 provenientes de uvas de una altura similar (2600 m). En el apartado **III.5** se desarrolla de forma específica este parámetro. Estos valores expresan, una buena estructura fenólica asociada a la extracción durante la vinificación y a la calidad potencial de las uvas empleadas.

La variabilidad de los distintos parámetros en estrategias de fermentación similares (**SE** y **CO**) en condiciones estandarizadas, dependen de las dinámicas de concentración de azúcar, los valores de pH y la disponibilidad de nitrógeno, afectando la interacción entre levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* (Wang et al., 2016).

4. Pureza de inóculo y control de implantación

Para controlar que la multiplicación de la levadura nativa MP27 fue realizada de manera correcta sin la incorporación de otras levaduras contaminantes se utilizó la metodología de diferenciación intraespecífica PCR Interdelta (Legras y Karst, 2003). Para ello, se evaluaron colonias *Saccharomyces* aisladas en medio de cultivo WLN agar, a partir del caldo YPD empleado como paso final del protocolo de multiplicación celular. Las colonias mostraron características macroscópicas similares, indicio de un cultivo monocepa. En la Figura 4 puede observarse que se obtuvo el mismo patrón molecular en 10 aislados, indicando una pureza del 100%.

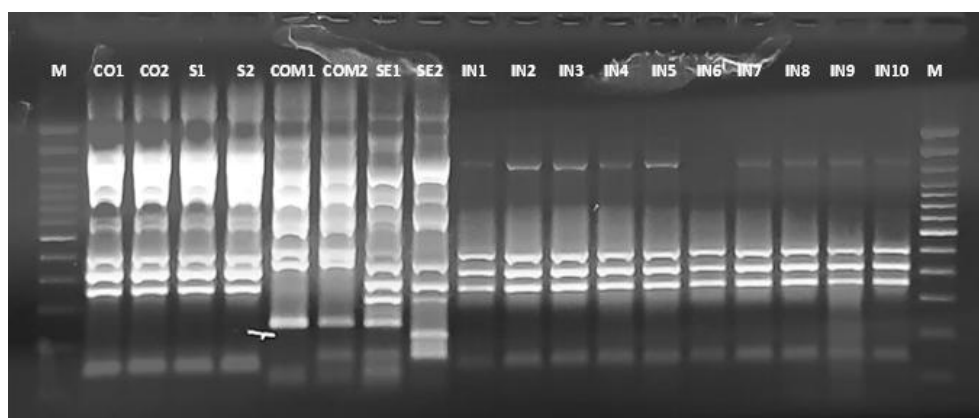


Figura 4. Gel agarosa 1,2 % de patrones PCR Interdelta de colonias aisladas en etapa final de las fermentaciones. M: marcador de peso molecular 100 bp; (**COM**) EC1118 cepa comercial de *S. cerevisiae*; (**S**) cepa autóctona de *S. cerevisiae* (MP 27); (**CO**), Coinoculación *S. cerevisiae*/ *M. Pulcherrima* (MP 27/MP 23); (**SE**) Inoculación Secuencial *M. Pulcherrima* /*S.cerevisiae* (MP 23/MP 27), (IN 1; IN2, IN3, IN4, IN5, IN6, IN7, IN8, IN9, IN10) patrones correspondientes a 10 colonias de inóculo de cepa autóctona MP27.

Por otro lado, al concluir las fermentaciones, se realizó la siembra de las muestras de cada tratamiento en el medio de cultivo WLN agar y luego del desarrollo de las colonias de levaduras, se verificó una homogeneidad a nivel de características macroscópicas de las mismas y se repicaron en YPD-agar para el almacenamiento de cultivos puros. Para cada aislado de esta etapa se obtuvo el perfil molecular por PCR Interdelta. Para cada fermentación sólo pudo contarse con el perfil molecular de un aislado, siendo entonces los resultados que se muestran a continuación orientativos de lo ocurrido en cada caso.

Para las fermentaciones con levaduras comerciales (**COM**), se observó el mismo patrón en ambas réplicas indicando que en ambos casos, la misma levadura estaba presente al final de esta fermentación, además no se observó para estas fermentaciones presencia de la levadura autóctona usada como inóculo en las fermentaciones **S**, **SE** y **CO**, lo cual podría ser indicio de que no hubo

contaminación con la misma durante los procedimientos involucrados en la etapa fermentativa. Las levaduras de las fermentaciones **CO** y **S** mostraron el mismo patrón, sin embargo, este patrón no fue coincidente con el de la levadura nativa inoculada, indicando la posibilidad de la presencia de otra levadura en esta etapa del proceso. Es una posibilidad que otra cepa *S. cerevisiae* proveniente del mosto, pudo haber predominado al final de ambas fermentaciones. Lo cual puede ocurrir si estas cepas nativas tienen mejor aptitud para la fermentación y características competitivas como, por ejemplo, la producción de toxinas killer, lo cual no ha sido estudiado en el presente trabajo. Este tipo de comportamiento ha sido reportado en otros estudios donde cepas no inoculadas, aparecen en las fermentaciones (Santamaría et al., 2005; Maturano et al., 2015). También debemos considerar que las levaduras nativas provenientes del mosto están mejor aclimatadas a las condiciones geo-botánico-climatológicas del viñedo de origen. Diferentes regiones vitícolas poseen patrones microbianos distintivos e identificables, correlacionados con las condiciones climáticas locales (Bokulich et al., 2014). La región de Quebrada de Humahuaca posee una gran variabilidad de condiciones climáticas en viñedos situados a poca distancia relativa con otras zonas productoras. Para las fermentaciones secuenciales **SE**, se observaron patrones diferentes en cada réplica y ninguno fue coincidente con el del inóculo de *Saccharomyces* nativo ni con la cepa comercial utilizada. Algunos autores describen problemas de implantación en estrategias secuenciales, por el tiempo transcurrido hasta que se inocula la levadura del género *Saccharomyces* (Pérez et al., 2018). Hay que destacar que el carácter proteolítico de *M. pulcherrima* (Charoenchai et al., 1997), produce aminoácidos que pueden promover el crecimiento de otras levaduras. Las cepas de *Saccharomyces* provenientes del mosto podrían haber aprovechado mejor estos recursos debido a su pre-adaptación a la composición nutricional del mosto y luego predominar al final del proceso.

Como ya se mencionó, los resultados están limitados en su alcance porque se contó sólo con pocas colonias representativas de cada fermentación para el análisis molecular, por ello no podemos estimar el porcentaje de implantación. Sin embargo los recuentos poblacionales, las cinéticas fermentativas expresadas en la Figura 3, en conjunto con las evidencias estadísticas expresadas en Tabla 5, sugieren que las estrategias de inoculación empleadas condujeron a las diferencias observadas en los vinos.

5. Determinación de parámetros fenólicos generales

En la Tabla 6 se puede observar que los tratamientos fermentativos influyeron de forma significativa en el contenido de Fenoles Totales, LPP (pigmentos poliméricos grandes), SPP (pigmentos poliméricos pequeños) y TPP (pigmentos poliméricos totales).

TABLA 6. Valores de probabilidad (ANOVA) para parámetros fenólicos y de color obtenidos para las estrategias fermentativas evaluadas.

Parámetro	valor <i>p</i>
Fenoles totales	0,0143
Taninos totales	0,087
Antocianos totales	0,3926
LPP	0,0141
SPP	0,002
TPP	0,0015
L*	0,0502
C* _{ab}	0,0195
h* _{ab}	0,0064

Un valor $p < 0,05$ se considera significativo. Los valores resaltados en negrita corresponden a valores p mayores a 0,05

En la Figura 5 se observan menores cantidades de Fenoles Totales en las fermentaciones con levaduras nativas (~22%), respecto a la levadura comercial. La mayor extracción de compuestos fenólicos se asocia a los menores niveles de pH (Fanzone et al., 2020), sin embargo, los tratamientos **COM** y **SE** obtuvieron valores similares de pH (~4,05) (Tabla 5) y mayores valores de fenoles totales. El tratamiento **COM (B)** mostró niveles significativamente superiores de fenoles totales y se observa cierta homogeneidad con respecto a **SE (AB)** con una diferencia del 15%. Esta comparación es de interés, porque, **SE** obtuvo el menor contenido de etanol y su tendencia se puede atribuir a la presencia de *M. pulcherrima* que produce enzimas extracelulares como pectinasas y glucosidasas, que facilitan la liberación de compuestos fenólicos, aportando al contenido de fenoles totales (Jolly et al., 2006).

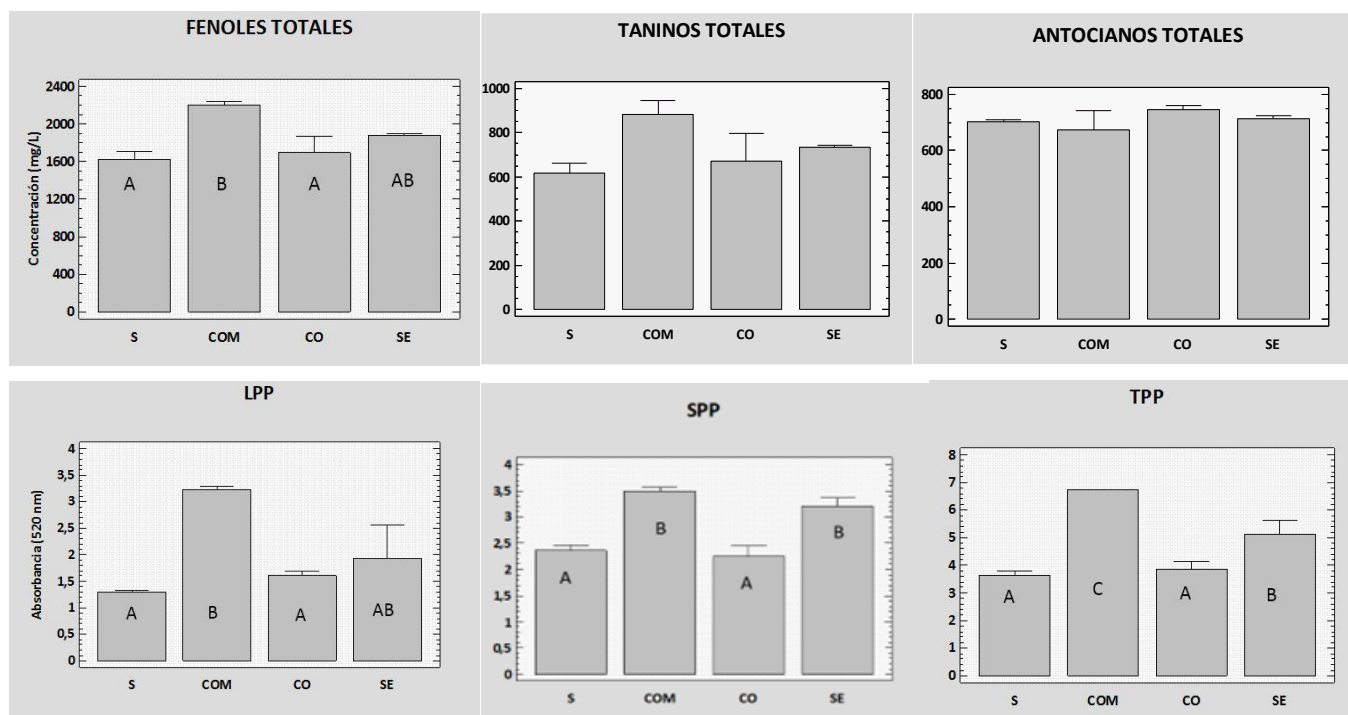


Figura 5. Parámetros fenólicos globales de vinos Malbec obtenidos aplicando estrategias fermentativas en la vinificación. Letras diferentes para cada grupo de barras indican diferencias estadísticas significativas (prueba Tukey HSD, $p < 0,05$).

En este parámetro se consideran a todos los compuestos fenólicos que contienen dihidroxilos vecinales (dos grupos -OH en posiciones adyacentes del anillo aromático) (Harbertson et al., 2006), incluyendo taninos, flavan-3-oles y flavonoles. Se obtuvieron valores de fenoles totales de ~1851,39 mg/L, estos niveles expresan una alta concentración de compuestos, en función a la maduración de la uva y una buena extracción en la vinificación (Fanzone et al., 2011; Liang et al., 2012).

Respecto a los antocianos y taninos, los polisacáridos de las levaduras son capaces de retenerlos evitando su precipitación, mejorando la estabilidad del color y reduciendo la astringencia (Escot et al., 2008). Estas moléculas se liberan de la pared celular de la levadura durante los procesos de fermentación alcohólica y crianza del vino. La cantidad liberada depende del número de células formadas (Domizio et al., 2014). Los menores valores de pH también intervienen en estos parámetros, dado que ralentizan la extracción de taninos y antocianos, favoreciendo este proceso aumentando su concentración, durante la maceración (Canals et al., 2005; Kontoudakis et al., 2011). En el presente estudio, se observa que los valores de pH (Tabla 5) influyeron solo en el contenido de antocianos (Figura 5), estableciendo una relación directa, y no hubo impacto significativo por parte de las levaduras (Tabla 6).

Estos, resultados se asemejan a lo descrito por Minnaar et al. (2019), que obtuvo mayor concentración de antocianos y menores cantidades de fenoles totales en fermentaciones mixtas con la misma combinación de especies de levaduras. Esto sugiere que las estrategias fermentativas podrían tener impacto sobre los fenoles de bajo peso molecular no-antociánicos, como ácidos fenólicos y flavonoides (Caridi et al., 2004).

Los pigmentos poliméricos que se forman en la vinificación proporcionan un color estable y generan buena sensación en boca. Su producción depende de la cantidad molar relativa de antocianinas y taninos (Kilmister et al., 2014). Los pigmentos poliméricos totales resultan de la suma de pigmentos *poliméricos pequeños* (SPP; incluyendo piranoantocianinas y aductos con puentes de etilo de flavanol-antocianina, que no pueden precipitar proteínas y son resistentes al blanqueo por SO₂) y *pigmentos poliméricos grandes* (LPP; aductos covalentes entre taninos y antocianinas, de peso molecular relativamente alto, que pueden precipitar proteínas y son resistentes al blanqueo por SO₂) (Adams et al., 2004). Se ha observado que en fermentaciones secuenciales, *M. pulcherrima* favorece la producción de fracciones oligoméricas, que actúan como puentes entre las antocianinas y los taninos, promoviendo la polimerización de pigmentos (Escott et al., 2016). También se ha observado un aporte a la concentración de manoproteínas durante ensayos de vinificación a escala de laboratorio (Domizio et al., 2014).

El contenido polimérico total (TPP) del tratamiento con levaduras comerciales, fue mayor que el de las vinificaciones con levaduras nativas. Entre estas últimas, el tratamiento **SE** obtuvo los mayores valores. La formación de LPP y SPP siguieron la misma tendencia, mostrando una relación directa con el contenido de fenoles totales. En cuanto a SPP se observaron contenidos estadísticamente similares entre los tratamientos de interés **COM (B)** y **SE (B)** con valores de 3,5 y 3,2 respectivamente, lo que contribuiría a la estabilidad del color y resistencia al SO₂ en el tratamiento experimental. En los valores de LPP, también se observaron valores similares entre estos 2 tratamientos, pero en un grado menor, lo que podría reducir la estabilidad del color y la resistencia de SO₂ a largo plazo, reduciendo el potencial de guarda. El contenido tánico también mostró la misma tendencia, con un valor *p* de 0,087, siendo insuficiente para considerarlo significativo.

De acuerdo con lo observado se puede interpretar que el tratamiento **COM** mostró mayor concentración en todos los parámetros fenólicos y el tratamiento **SE** presento una tendencia similar. En **COM**, estos resultados pueden estar asociados al mayor vigor fermentativo observado en la Figura 3, que fue determinante en las primeras etapas de fermentación, donde el aumento

temprano de la concentración alcohólica pudo favorecer la solubilidad y la liberación de estos compuestos (Gordillo et al., 2010., Kunsági-Máté, et al., 2008).

A medida que se desarrolló la fermentación, la levadura comercial pudo ser más eficiente en la producción de acetaldehído formando compuestos fenólicos más estables (Caridi, 2007) Esto coincide con lo descrito por Romano et al. (2008) quienes al fermentar utilizando 12 cepas *Saccharomyces* distintas, obtuvieron una correlación positiva entre los niveles de compuestos fenólicos de las vinificaciones y el poder fermentativo de la cepa y su rendimiento de etanol.

Por otro lado, los resultados obtenidos se asemejan a lo reportado por Caridi et al., (2004), quienes obtuvieron menor contenido fenólico en vinos reducidos en alcohol. También hay que agregar que las vinificaciones nativas fermentaron a un ritmo más lento y se obtuvo menor contenido fenólico. Esto coincide con lo reportado por Mazza et al. (1999), que encontró un comportamiento similar cuando ensayó la cepa *Saccharomyces* Wädenswil 27 en comparación con levaduras nativas. Las levaduras nativas no impactaron en el contenido de antocianos, y redujeron los contenidos fenólicos totales, influyendo en todos los pigmentos poliméricos de diferente peso molecular.

6. Análisis de Color

Para realizar una valoración adecuada del color de los vinos, se llevó a cabo un análisis utilizando el espacio de color CIELAB. La Figura 6 muestra la ubicación de los 4 tratamientos en el plano de color (a^*b^*) del espacio CIELAB y valores L^* (claridad). El análisis ANOVA representado en la TABLA 6, muestra un efecto significativo ($p < 0,05$) al aplicar las estrategias fermentativas en el color final de los vinos Malbec, en términos cuantitativos (C^*_{ab}) (saturación de color) y cualitativos (h^*_{ab}) (tonalidad); sin apreciarse impacto en la claridad (L^*).

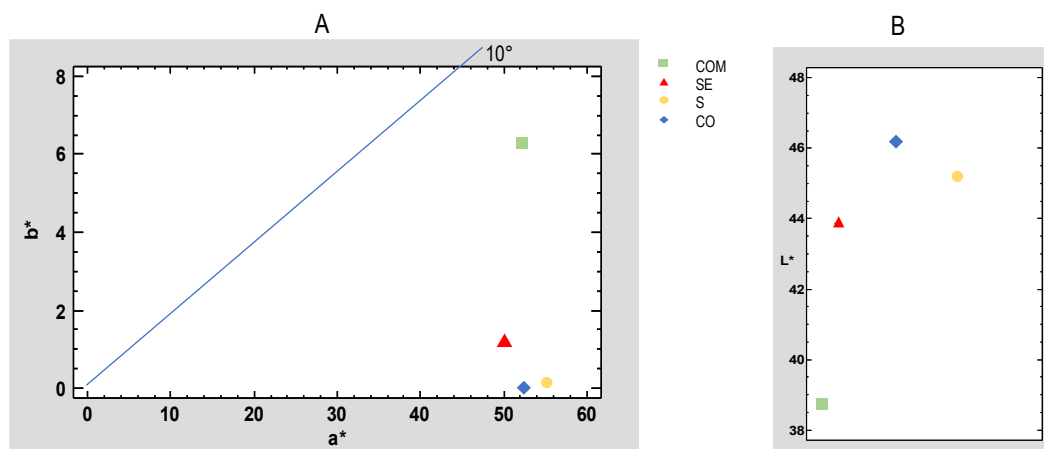


Figura 6. Parámetros CIELAB de vinos Malbec. (A) (a^*b^*) Diagrama; Chroma (C^*_{ab}) es un vector que une el punto (ubicación del vino) con el origen de coordenadas; hue (h^*_{ab}) es el ángulo de este vector. (B) Claridad (L^*).

Se observaron pequeñas diferencias de saturación de color entre los tratamientos **COM** y **SE** dados los valores de C^*_{ab} , (**COM**, 52,74; **SE** 50,47), describiendo vinos de colores vivos, mostrando gran similitud entre ambas vinificaciones (Figura 6). Las pequeñas diferencias, pueden asociarse a la degradación de pectinas de la pared celular de los hollejos en función a una actividad enzimática variable entre cepas (Caridi et al., 2004) y entre especies (Maturano et al., 2009). Asimismo, los vinos obtenidos con **SE** mostraron una tonalidad más azul-violácea ($h^*_{ab} = 1,32$) en comparación con **COM** ($h^*_{ab} = 6,83$). Por su parte, las vinificaciones **S** y **CO**, presentaron mayor tonalidad violácea respecto a los tratamientos descritos anteriormente ($h^*_{ab} \sim 0$). En general, los vinos no presentaron una marcada tonalidad violeta, característica de la variedad, asociado posiblemente a los altos valores de pH obtenidos.

Como era de esperar, el parámetro L^* ($p = 0,052$) mostró un comportamiento opuesto a C^*_{ab} , cuando el primero disminuye, el segundo aumenta (Figura 6). Esto se debe a que los compuestos

fenólicos que oscurecen el vino (reduciendo L^*), también intensifican su color (aumentando C^*_{ab}). El valor L^* es el eje vertical y define la claridad del vino, que es la propiedad por la cual, cada color puede ser considerado como un equivalente a una escala de grises, con valor de 0 para el negro y 100, para el blanco (Gordillo et al., 2014). Los valores observados (**S** 45,23; **COM** 38,69; **CO** 46,18; **SE** 43,88), expresan niveles muy elevados de componentes fenólicos, sobre todo taninos y pigmentos poliméricos (Figura 6), siendo aún mayores en la vinificación **COM**. Esta diferencia de valores en **COM**, podría deberse al vigor fermentativo y una mayor extracción de compuestos fenólicos (Gordillo et al., 2010) y a los metabolitos producidos como el acetaldehído y el piruvato que permiten formar pigmentos más estables en las cepas comerciales. También podría influir la preservación de los compuestos fenólicos, por una menor absorción de estos, en las paredes celulares de las levaduras (Caridi, 2004), aumentando el contenido fenólico, oscureciendo e intensificando el color de las vinificaciones. En **SE** los valores observados podrían estar relacionados a la sobreproducción de piruvato de *M. pulcherrima* y la consecuente formación de pigmentos más estables a los valores de pH como la vitisina A (Escott et al., 2018). Estos resultados difieren de lo estudiado por otros autores (Kontoudakis et al., 2011; Piccardo et al., 2019) quienes obtuvieron mayor C^*_{ab} , y menor L^* en los vinos con alcohol reducido, aunque en dichos estudios su estrategia de reducción alcohólica se fundamentó en fermentar mezclando mosto tradicional con uvas inmaduras procedentes de aclareo de racimos, reduciendo el pH, modificando los parámetros.

En un análisis general, se observó que las levaduras nativas, produjeron vinos con colores menos intensos (menor C^*_{ab}), con tendencia a tonalidades violáceas. Estos resultados coinciden con los niveles más bajos de taninos y más altos de antocianos expresados en la Figura 5.

6.1 Diferencia de Color

La discriminación de color es subjetiva cuando existen factores que condicionan esta observación, como la visual geométrica, el entorno, la región del color, y la habilidad, capacidad visual y formación del observador. Hay estudios que, bajo condiciones específicas, establecieron el umbral de discriminación visual en vinos, entre 3 y 5 unidades CIELAB (Martínez et al., 2001, Pérez-Magariño et al., 2003). En este contexto, se evaluó la diferencia total de color (ΔE^*_{ab}) entre las vinificaciones experimentales y el control, obteniendo una diferencia significativa entre **SE** y **COM** de 7,52 unidades CIELAB (Figura 7). Estas diferencias aumentan al comparar **S** (9,39 u.) y **CO** (9,76 u.) respecto a **COM**. Esta distancia entre valores (ΔE^*_{ab}) representa diferencias de color perceptibles al ojo humano. Por lo que se infiere que la estrategia microbiológica de reducción de alcohol impactó en el color de las vinificaciones de forma principalmente en términos cualitativos ($\% \Delta^2 H^*_{ab}$ 4,20 y en términos cuantitativos se observa una mínima diferencia ($\% \Delta^2 C^*_{ab}$ 0,40).

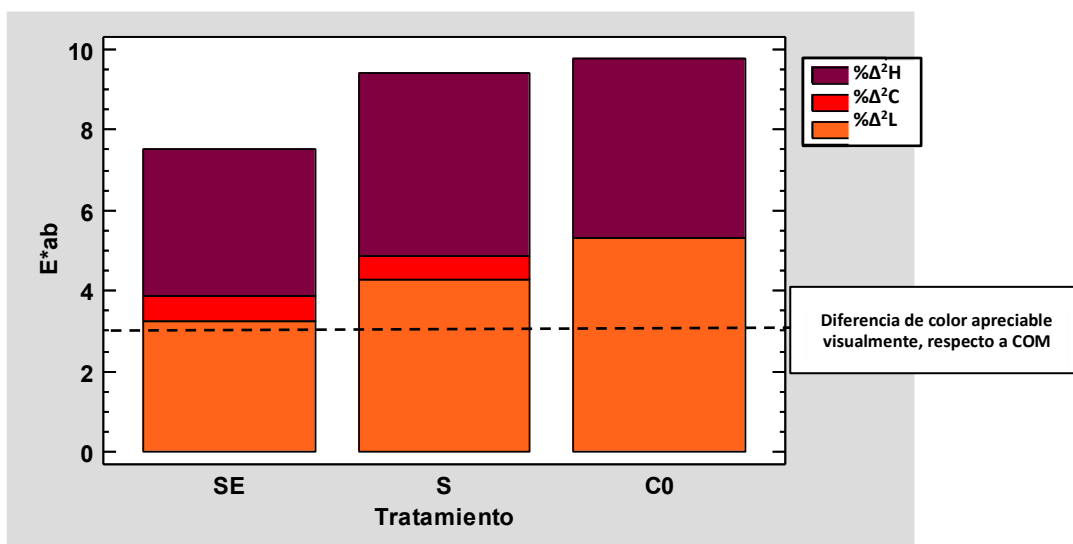


Figura 7. Diferencias de color (ΔE^*_{ab}), con la contribución relativa de luminosidad, croma y tonalidad ($\% \Delta^2 L$, $\% \Delta^2 C$, $\% \Delta^2 H$), entre vinos Malbec obtenidos aplicando diferentes tratamientos fermentativos con diferentes cepas de levadura, respecto a COM.

IV. CONCLUSIONES

El uso de inóculos de levaduras autóctonas de la quebrada de Humahuaca se muestra como alternativa válida para la producción de vinos Malbec de altura. Sin embargo, dato el interés fundamental en lograr vinos con reducción de alcohol, de todas las estrategias de inoculación evaluadas: inóculo *S. cerevisiae* MP27 autóctono puro, inoculación mixta de levadura *S.cerevisiae*/M. *pulcherrima* MP23 autóctona e inoculación secuencial de dichas levaduras, la última arrojó los resultados más prometedores.

La inoculación secuencial con levaduras nativas preseleccionadas, *M. pulcherrima* MP23 y *S. cerevisiae* MP27 constituye una estrategia fermentativa efectiva para reducir el contenido de alcohol en vinos Malbec de la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, sin afectar significativamente la composición fenólica y estabilidad general del vino.

El tratamiento secuencial logró una reducción de hasta 2,11% v/v de etanol frente al tratamiento de control. Esta diferencia se atribuyó a una fermentación menos eficiente en etanol a partir de un consumo temprano de azúcares fermentables por *M. pulcherrima*, lo que pudo haber disminuido el estrés osmótico sobre *S. cerevisiae*. La interacción metabólica entre ambas levaduras dio lugar a una fermentación controlada sin azúcares residuales significativos.

En cuanto a las características físico-químicas básicas de los vinos, el tratamiento de inoculación secuencial con *M. pulcherrima* y *S. cerevisiae* mantuvo valores adecuados de acidez total y volátil. Sin embargo, se observó un pH elevado, posiblemente relacionado con el consumo de ácidos orgánicos y la producción de glicerol, aspecto a controlar para evitar problemas de estabilidad a largo plazo del vino.

La composición fenólica, en los vinos producidos por la fermentación secuencial preservó niveles de fenoles totales expresando similitud con el control, fermentación con levadura comercial, y conservó la formación de pigmentos poliméricos, fundamentales para la estabilidad cromática en la vinificación.

El color de las vinificaciones reducidas en alcohol no se vio afectado en términos cuantitativos, y se observaron tonos azul-violáceos intensos.

El uso de la estrategia de fermentación secuencial con levaduras nativas representa una herramienta sencilla y aplicable en bodega para la elaboración de vinos de altura con menor contenido alcohólico, sin comprometer los valores químicos y la composición fenólica.

V. BIBLIOGRAFÍA:

- Adams, D., Harbertson, J., Picciotto, A. (2004). *Fractionation of red wine polymeric pigments by protein precipitation and bisulfite bleaching*. In Waterhouse, A., Kennedy, J., (Eds.), *Red wine color: Revealing the Mysteries*. American Chemical Society 886, 275-288.
- Almanza-Merchán, P., Fischer, G., Herrera-Arevalo, A., Jarma-Orozco, A., Balaguera-López, H. (2012). *Physicochemical behavior of Riesling x Silvaner grapevine fruit under the high altitude conditions of Colombia (South America)*. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85(1), 49–54.
- Alston, J., Fuller, K., Lapsley, J., Soleas, G., Tumber, K. (2013). *The High and Rising Alcohol Content of Wine*. In Giraud-Héraud, E., Pichery, M. C. (eds), *Wine Economics*. Applied Econometrics Association Series. Palgrave Macmillan, London.
- Andorrà, I., Esteve-Zarzoso, B., Guillamón, J. M., Mas, A. (2010). *Determination of viable wine yeast using DNA binding dyes and quantitative PCR*. *International Journal Food Microbiology*, 144, 257–262.
- Asssof, V. (2019) *Composición nitrogenada de mostos y vinos de Mendoza (Argentina) y su relación con la composición volátil*. Tesis Doctoral. Dra. Jofré V. UNCuyo, Mendoza.
- Avalos, L., Geronazzo, A., Abalos, M. (2024). *Vitivinicultura con Identidad Cultural en la Región de la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, Argentina*. X Congreso latinoamericano de Agroecología. San Lorenzo, Paraguay, Octubre de 2024.
- Barroso, R., Carbajal, H., Ortiz, H., Malaniuk, M., Quenol, H., Murgo, M., Coria, C., Videla R., Prieto, S., Manzano, H., Aruani, C. (2019). *Vinos de altura del noroeste argentino, características físico-químicas y sensoriales*. *BIO Web Conf.* 15 01002.
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/vinos_de_altura_publicacion_inv_170918_0.pdf
- Bauer, F., Pretorius, I. (2000). *Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine a review*. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1), 27-51.
- Beech, F., Burroughs, L., Timberlake, C., Whiting, G. (1979). *Progrès recents sur l'aspect chimique et antimicrobienne de l'anhydride sulfureux*. *Bulletin de l' OIV*: 52: 1001-1022.
- Beggs, C., Wellman, E. (1994). *Photocontrol of flavonoids synthesis*. In Kendrick, R., Kronenberg, G. (eds), *Photomorphogenesis in Plants*. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, 733–751.

- Belisario-Sánchez, Y., Taboada-Rodríguez, A., Marín-Iniesta, F., Iguaz-Gainza, A., López-Gómez, A. (2012). *Aroma recovery in wine dealcoholization by SCC distillation*. Food and Bioprocess Technology, 5, 2529–2539.
- Beltrán, G., Torija, M., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J. (2002). *Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study*. Systematic and Applied Microbiology, 25, 287–293.
- Benito, Á., Calderón, F., Benito, S. (2019). *The influence of non-Saccharomyces species on wine fermentation quality parameters*. Fermentation, 5, 54
- Benitez, C., Ortega, M., Peynado, M., Torrejón, J., Agüero, A. (2020) *Selección y caracterización enológica de levaduras nativas de Purmamarca, Jujuy, Argentina*. Revista Agraria. Vol. 13-2. ISSN 0328-8080 Facultad de Ciencias Agrarias. Jujuy, Argentina.
https://fca.unju.edu.ar/media/revista/Revista_Cientifica_FCA__2020_V_JDZVRr2.pdf
- Berli, F., Alonso, R., Beltrano, J., Bottini, R. (2015). *High-altitude solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity*. American Journal of Enology and Viticulture, 66, 65–72.
- Berli, F., Moreno, D., Hespanhol-Viana, L., Bressian-Smith, R., Cavagnaro, J. B., Bottini, R. (2010). *El ácido abscísico participa en las respuestas de las hojas de vid a la radiación UV-B incrementando los compuestos que absorben este tipo de radiación, las enzimas antioxidantes y los esteroides de membrana*. Plant Cell and Environment, 22, 1–10.
- Berthels, J., Cordero, R., Bauer, F., Thevelein, J., Pretorius, I. (2004). *Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by Saccharomyces cerevisiae wine yeast strains*. FEMS Yeast Research, 4(7), 683–689.
- Bisson, L. F. (1999). *Fermentaciones estancadas y lentas*. American Journal of Enology and Viticulture, 50, 107–119.
- Bitancor, M., Ortega, M., Lamas, E., Burgos, C., Agüero, A. (2020). *Fermentaciones mixtas con levaduras autóctonas y análisis físico, químico y sensorial de los vinos producidos de viñedos de la localidad de Tumbaya y Humahuaca*. Revista Agraria. Vol. 13-1. ISSN 0328 8080. Facultad de Ciencias Agrarias. Jujuy, Argentina.
https://www.fca.unju.edu.ar/media/revista/REVISTA_CIENTIFICA_FCA_lojYl3U_BlfOKpd.pdf
- Bokulich, N., Thorngate, J., Richardson, P., Mills, D. (2014). *Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(1), 139–148.

- Bordenave, L., Dai, Z., Lusson, A., Ollat, N., Delrot, S. (2013). *Vines accumulating less sugars. Alcohol reduction in wine*. In Teissedre, P. (ed), Alcohol reduction in wine. Oenoviti International Network. Vigne et Vin Publications Internationales, 14–20
- Boulton, R., Singleton, V., Bisson, L., Kunkee, R. (2002). *Viticultura para elaboradores de vino*. En Teoría y práctica de la elaboración del vino. Acribia, Zaragoza, España, 15–85.
- Brosché, M., Strid, A. (2003). *Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants*. *Physiologia Plantarum*, 117, 1–10.
- Burberg, F., Zarnkow, M. (2009). *Special production methods*. In Eslinger, H. (ed), Handbook of brewing: processes, technology, markets. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 235–256
- Burgos, C., Ortega, M. A., Rodríguez, C., Agüero, A. (2019) *Selección de levaduras enológicas no-Saccharomyces nativas de viñedos de la localidad de Humahuaca, Jujuy*. Revista Agraria. Edición: Vol. 12 N°19. ISSN 2362-4035. Facultad de Ciencias Agrarias. Jujuy, Argentina.
http://www.fca.unju.edu.ar/media/revista_agraria/REVISTA_AGRARIA_2019_VOL_XII_.pdf
- Canals, R., Llaudy, C., Valls, J., Canals, J., Zamora, F. (2005). *Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4019–4025.
- Canonico, L., Comitini, F., Ciani, M. (2019). *Metschnikowia pulcherrima selected strain for ethanol reduction in wine: influence of cell immobilization and aeration condition*. *Foods*, 8(9), 378.
- Canonico, L., Comitini, F., Oro, L., Ciani, M. (2016). *Sequential fermentation with selected immobilized non-Saccharomyces yeast for reduction of ethanol content in wine*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 278.
- Canonico, L., Agarbati, A., Galli, E., Comitini, F., Ciani, M. (2023). *Metschnikowia pulcherrima as biocontrol agent and wine aroma enhancer in combination with a native Saccharomyces cerevisiae*. *LWT - Food Science and Technology*, 181, 114758.
- Capece, A., Romano, P. (2019). *Yeasts and their metabolic impact on wine flavour*. In Romano, P., Ciani, M., Fleet, G. H. (eds), Yeasts in the production of wine. Springer, New York, NY, USA, 43–80.
- Capozzi, V., Berbegala, C., Tufariello, M., Grieco, F., Spano, G., Grieco, F. (2019). *Impact of co-inoculation of Saccharomyces cerevisiae, Hanseniaspora uvarum and Oenococcus oeni autochthonous strains in controlled multi starter grape must fermentations*. *LWT - Food Science and Technology*, 109, 241–249.

- Cardell, M., Amengual, A., Romero, R. (2019). *Future effects of climate change on the suitability of wine grape production across Europe*. Regional Environmental Change, 19, 1-12.
- Caridi, A., Cufari, A., Lovino, R., Palumbo, R., Tedesco, I. (2004). *Influence of yeast on polyphenol composition of wine*. Food Technology and Biotechnology, 42, 37-40.
- Caridi, A. (2007). *New perspectives in safety and quality enhancement of wine through selection of yeasts based on the parietal adsorption activity*. International Journal of Food Microbiology, 120(1-2), 167-172.
- Castrillo, D., Rabuñal, E., Neira, N., Blanco, P. (2019). *Oenological potential of non-Saccharomyces yeasts to mitigate effects of climate change in winemaking: Impact on aroma and sensory profiles of Treixadura wines*. FEMS Yeast Research, 19, 065.
- Charoenchai, C., Fleet, G., Henschke, P., Todd, B. (1997). *Screen of non-Saccharomyces wine yeasts for the presence of extracellular hydrolytic enzymes*. Australian Journal of Grape Wine Research, 3, 2-8.
- Ciani, M., Capece, A., Comitini, F., Canonico, L., Siesto, G., Romano, P. (2016). *Yeast interactions in inoculated wine fermentation*. Frontiers in Microbiology, 7, 555.
- Ciani, M., Gobbi, M., De Vero, L., Solieri, L., Comitini, F., Oro, L., Giudici, L. (2014). *Fermentative aptitude of non-Saccharomyces wine yeast for reduction in the ethanol content in wine*. European Food Research and Technology, 239, 41-48.
- 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, 123-133.
- Commission Internationale de l'Éclairage. (2004). Colorimetry (3rd ed., CIE Publication No. 15:2004). CIE Central Bureau.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I., Ciani, M. (2011). *Selected non-Saccharomyces wine yeasts in controlled multistarter fermentations with Saccharomyces cerevisiae*. Food Microbiology, 28, 873-882.
- Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A.C.P., Tavares, R.M., Sousa, M.J., Agasse, A., Delrot, S., Gerós, H. (2007). *Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality*. Food, 1, 1-22.
- Contreras, A., Hidalgo, C., Henschke, P., Chambers, P., Curtin, C., Varela, C. (2014). *Evaluation of Non-Saccharomyces Yeasts for the Reduction of Alcohol Content in Wine*. Applied and Environmental Microbiology, 80, 1670-1678.

- Coulter, A., Henschke, P., Simos, C., Pretorius, I. (2008). *When the heat is on, yeast fermentation runs out of puff*. Australian and New Zealand Wine Industry Journal, 23, 26–30.
- Cuello, R., Flores Montero, K., Mercado, L., Combina, M., Ciklic, F. (2017). *Construction of low-ethanol-wine yeasts through partial deletion of the Saccharomyces cerevisiae PDC2 gene*. AMB Express. 2017 Dec; 7(1):67. Epub Mar, 2021.
- Curzel, V., Paredes, M. (2021). *La actividad frutícola en los Valles Templados de Jujuy, Argentina: caracterización del sector*. Agrociencia Uruguay, 25(nspe1), e398. Epub Jan, 2021.
- De Barros Lopes, M., Ataur-Rehman, A., Gockowiak, H., Heinrich, A., Langridge, P., Henschke, P. (2000). *Fermentation Properties of a Wine Yeast Over-Expressing the Saccharomyces cerevisiae Glycerol 3-Phosphate Dehydrogenase Gene (GPD2)*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 6, 208–215.
- De Pascual-Teresa, S., Clifford, M. (2017). *Advances in Polyphenol Research: A Journal of Agricultural and Food Chemistry Virtual Issue*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65, 8093–8095.
- Domizio, P., Liu, Y., Bisson, L., Barile, D. (2014). *Use of non-Saccharomyces wine yeasts as novel sources of mannoproteins in wine*. Food Microbiology, 43, 5–15.
- Duchêne, E., Huard, F., Dumas, V., Schneider, C., Merdinoglu, D. (2010). *The challenge of adapting grapevine varieties to climate change*. Climate Research, 41, 193–204.
- Edo-Roca, M., Nadal, M., Lampreave, M. (2013). *How terroir affects bunch uniformity, ripening and berry composition in Vitis vinifera cvs. Carignan and Grenache*. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 47, 1–20.
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., Charpentier, C. (2008). *Release of polysaccharides by yeast and the influence of polysaccharides on colour stability and wine astringency*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 7, 153–159.
- Escott, C., Del Fresno, J., Loira, I., Morata, A., Tesfaye, W., del Carmen González, M., Suárez-Lepe, J. (2018). *Formation of polymeric pigments in red wines through sequential fermentation of flavanol-enriched musts with non-Saccharomyces yeasts*. Food Chemistry, 239, 975–983.
- Escott, C., Morata, A., Loira, I., Tesfaye, W., Suarez-Lepe, J. (2016). *Characterization of polymeric pigments and pyranoanthocyanins formed in microfermentations of non-Saccharomyces yeasts*. Journal of Applied Microbiology, 121, 1346–1356.
- Fan, G., Shengyun, T., Rong, W., Qingbin, L., Jinsheng, Z., Xiaodong, Y., Yang, L. (2012). *Fermentation Process of Low-Alcohol Cider by Biomass Reduction*. China Brew, 31, 186–190.

- Fanzone Sánchez, M. (2012) *Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (Vitis Vinifera L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial*. Tesis Doctoral. Universitat Rovira I Virgili. Tarragona.
- Fanzone, M., Sari, S., Mestre, V., Catania, A., Catelén, M., Jofré, V., Maturano, Y. (2020). *Combination of pre-fermentative and fermentative strategies to produce Malbec wines of lower alcohol and pH, with high chemical and sensory quality*. *OENO One*, 54(4).
- Fanzone, M., Zamora, F., Jofré, V., Assof, M., Peña-Neira, A. (2011). *Phenolic composition of Malbec grape skins and seeds from Valle de Uco (Mendoza, Argentina) during ripening. Effect of cluster thinning*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6120–6136.
- Fernández Espinar, M., Martorell, P., De Llanos, R., Querol, A. (2006). *Molecular methods to identify and characterize yeasts in foods and beverages*. En Querol, A., Fleet, G. (Eds.), *The Yeast Handbook Volume 2: Yeasts in Food and Beverages*, 55–82.
- Ferreira, J., Toit, M. D., Toit, W. J. D. (2006). *The effects of copper and high sugar concentrations on growth, fermentation efficiency and volatile acidity production of different commercial wine yeast strains*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12, 50–56.
- Fleet, G., Heard, G. (1993). *Yeasts - Growth during fermentation*. En: *Wine Microbiology and Biotechnology*. Chur, Suiza: Hardwood Academic Publishers GmbH, 27–54.
- Fleet, G. H. (2008). *Wine yeasts for the future*. *FEMS Yeast Research*, 8, 979–995.
- Fraga, H., Santos, J., Malheiro, A., Oliveira, A., Moutinho-Pereira, J., Jones, G. (2016). *Climatic suitability of Portuguese grapevine varieties and climate change adaptation*. *International Journal of Climatology*, 36(1).
- Gaiotti, F., Pastore, C., Filippetti, I., Lovat, L., Belfiore, N., Tomasi, D. (2018). *Low night temperature at veraison enhances the accumulation of anthocyanins in Corvina grapes (Vitis vinifera L.)*. *Scientific Reports*, 8, 1–13.
- Gallander, J. F. (1977). *Deacidification of Eastern table wines with Schizosaccharomyces pombe*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 65–68.
- Gama, J. Colorsience: Color Science Methods and Data. R Package Version 1.0.8. Available online: <http://CRAN.R-project.org/package=colorsience> (acceso 01/12/2024).
- Gardner, J., Walker, M., Boss, P., Jiranek, V. (2020). *The Effect of Grape Juice Dilution on Oenological Fermentation*. bioRxiv.

- Gil, M., Estévez, S., Kontoudakis, N., Fort, M., Canals, J., Zamora, F. (2013). *Influence of partial dealcoholization by reverse osmosis on red wine composition and sensory characteristics*. European Food Research and Technology, 237, 481–488.
- Gladstones, J. (1992) *“Viticulture and Environment”*. Winetitles. (Adelaide, Australia)
- Gobierno de Jujuy. (2023). *Oferta Productiva Jujuy, Argentina: Año 2023*. Ministerio de Desarrollo Económico y Producción.
https://www.produccion.jujuy.gob.ar/wp-content/uploads/2024/11/OProductiva_2024.pdf
- Godden, P., Muhlack, R. (2010). *Trends in the composition of Australian wine 1984–2008*. The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker, (558), 47–61.
- Goldner, M., Zamora, M. (2007). *Sensory characterization of Vitis vinifera cv. Malbec wines from seven viticulture regions of Argentina*. Journal of Sensory Studies, 22, 520–532.
- González, M., Chimeno, S., Sturm, M., Becerra, L., Lerena, M., Rojo, M., Combina, M., Mercado, L. (2023). *Populations of Saccharomyces cerevisiae in Vineyards: Biodiversity and Persistence Associated with Terroir*. Fermentation, 9, 292.
- Gonzalez, S., Alcoba-Florez, J., Laich, F. (2013). *Lachancea lanzarotensis sp. nov., an ascomycetous yeast isolated from grapes and wine fermentation in Lanzarote, Canary Islands*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63, 358–363.
- Goold, H., Kroukamp, H., Williams, T., Paulsen, I., Varela, C., Pretorius, I. (2017). *Yeast’s balancing act between ethanol and glycerol production in low-alcohol wines*. Microbial Biotechnology, 10, 264–278.
- Gordillo, B., Cejudo-Bastante, M. J., Rodríguez Pulido, F. J., Jara-Palacios, M. J., Ramírez-Pérez, P., González-Miret, M. L., Heredia, F. J. (2014). *Impact of adding white pomace to red grapes on the phenolic composition and color stability of Syrah wines from a warm climate*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62, 2663–2671.
- Gordillo, B., López-Infante, M., Ramírez-Pérez, P., González-Miret, M., Heredia, F. (2010). *Influence of prefermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic Tempranillo wines elaborated in a warm climate*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 6797–6803.
- Gordillo, B., Rodríguez-Pulido, F. J., Escudero-Gilete, M. L., González-Miret, M. L., Heredia, F. J. (2012). *Comprehensive colorimetric study of anthocyanic copigmentation in model solutions. Effects of pH and molar ratio*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 2896–2905.

- Guindal, A., Morales, P., Tronchoni, J., Gonzalez, R. (2023). *Reduction of ethanol content in wine with an improved combination of yeast strains and process conditions*. Food Microbiology, 115, 104344.
- Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Carrasco-Quiroz, M., Pérez-Álvarez, E., Martínez-Gil, A., Del Alamo-Sanza, M., Moreno-Simunovic, Y. (2018). *Volatile composition of Carignan noir wines from ungrafted and grafted onto País (Vitis vinifera L.) grapevines from ten wine-growing sites in Maule Valley, Chile*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(11).
- Gutiérrez-Gamboa, G., Pszczółkowski, P., Cañón, P., Taquichiri, M., & Peñarrieta, J. M. (2021). *UV-B radiation as a factor that deserves further research in Bolivian viticulture: A review*. South African Journal of Enology and Viticulture, 42(2), 201–212.
- Gutiérrez-Gamboa, G., Zheng, W., Martínez de Toda, F. (2020). *Strategies in vineyard establishment to face global warming in viticulture: A mini review*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(4).
- Harbertson, J., Picciotto, E., Adams, D. (2003). *Measuring polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching*. American Journal of Enology and Viticulture, 54, 301–306.
- Harbertson, J., Spayd, S. (2006). *Measuring phenolics in the winery*. American Journal of Enology and Viticulture, 57(3), 280–288.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., Ahmad, A. (2012). *Role of proline under changing environments: A review*. Plant Signaling and Behavior, 7(11), 1456–1466.
- Henderson, C. M., Lozada-Contreras, M., Jiranek, V., Longo, M. L., Block, D. E. (2012). *Ethanol production and maximum cell growth are highly correlated with membrane lipid composition during fermentation as determined by lipidomic analysis of 22 Saccharomyces cerevisiae strains*. Applied and Environmental Microbiology, 79(1), 91–104.
- Heredia, T., Adams, D., Fields, K., Held, P., Harbertson, J. (2006). *Evaluation of a comprehensive red wine phenolics assay using a microplate reader*. American Journal of Enology and Viticulture, 57(4), 497–502.
- Heux, S., Cachon, R., Dequin, S. (2006). *Cofactor engineering in Saccharomyces cerevisiae: Expression of a H₂O-forming NADH oxidase and impact on redox metabolism*. Metabolic Engineering, 8, 303–314.
- Hoffman, C., Winston, F. (1987). *A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of Escherichia coli*. Gene, 57, 267–272.

- Hou, J., Lages, N., Oldiges, M., Vemuri, G. (2009). *Metabolic impact of redox cofactor perturbations in Saccharomyces cerevisiae*. Metabolic Engineering, 11, 253–262.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2010). “Censo Nacional de Población, Hogares y Vivienda 2010”. INDEC.
- Instituto Nacional de Vitivinicultura. (2024). Informe anual de superficie 2024. Argentina.gob.ar. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2018/10/anuario_superficie_2024.pdf
- Ivit, N., Longo, R., Kemp, B. (2020). *The effect of non-Saccharomyces and Saccharomyces non-cerevisiae yeasts on ethanol and glycerol levels in wine*. Fermentation, 6(3), 77.
- Jackson, R. (2000). *Wine science. Principles and applications*. London, UK: Academic Press.
- Jin, X., Wu, X., Liu, X. (2017). *Phenolic characteristics and antioxidant activity of Merlot and Cabernet Sauvignon wines increase with vineyard altitude in a high-altitude region*. South African Journal of Enology & Viticulture, 38(2).
- Jolly, N., Augustyn, O., Pretorius, I. (2006). *The role and use of non-Saccharomyces yeasts in wine production*. South African Journal of Enology and Viticulture, 27, 15–38.
- Jones, G. (2007). *Climate change: Observations, projections, and general implications for viticulture and wine production*. Practical Winery and Viticulture, 29.
- Jones, G., White, M., Cooper, O., Storchmann, K. (2005). *Climate change and global wine quality*. Climatic Change, 73, 319–343.
- Kakani, V., Reddy, K., Zhao, D., Sailaja, K. (2003). *Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review*. Agricultural and Forest Meteorology, 120, 191–218.
- Keller, M. (2010). *Managing grapevines to optimize fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 16, 56–69.
- Kilmister, R., Mazza, M., Baker, N., Faulkner, P., Downey, M. (2014). *A role for anthocyanin in determining wine tannin concentration in Shiraz*. Food Chemistry, 152, 475–482.
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J., Zamora, F. (2011). *Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 17(2), 230–238.
- Koufos, G., Mavromatis, T., Koundouras, S., Jones, G. (2020). *Adaptive capacity of winegrape varieties cultivated in Greece to climate change: Current trends and future projections*. Oeno One, 54(4), 1201–1219.

- Koyama, K., Sadamatsu, K., Goto-Yamamoto, N. (2010). *Absciscic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape*. *Funct. Integr. Genomics*, 10, 367–381. Epub Oct, 2009.
- Kunsági-Máté, S., Ortmann, E., Kollár, L., Nikfardjam, M. (2008). *Entropy-driven complex formation of malvidin-3-O-glucoside with common polyphenols in ethanol–water binary solutions*. *Spectrochim. Acta Part A*, 70, 860–865.
- Kurtzman, C., Fell, J., Boekhout, T. (2011). *The Yeasts, a Taxonomic Study*, fifth ed. Elsevier, Amsterdam.
- Lafontaine, M., Lopes, C., Schultz, H., Bálo, B., Váradi, G. (2005). *Leaf and fruit responses of “Riesling” grapevines to UV radiation in the field*. *Acta Horticulturae*, 689, 125–132.
- Larkindale, J., Huang, B. (2005). *Effects of abscisic acid, salicylic acid, ethylene and hydrogen peroxide in thermotolerance and recovery for creeping bentgrass*. *Plant Growth Regulation*, 47(1), 17–28.
- Legras, J., Karst, F. (2003). *Optimisation of interdelta analysis for Saccharomyces cerevisiae strain characterisation*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 221, 249–255.
- Li, Z., Pan, Q., Jin, Z., Mu, L., Duan, C. (2011). *Comparison on phenolic compounds in Vitis vinifera cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China*. *Food Chemistry*, 125(1), 77–83.
- Liang, N., He, F., Bi, H., Duan, C., Reeves, M., Wang, J. (2012). *Evolution of flavonols in berry skins of different grape cultivars during ripening and a comparison of two vintages*. *European Food Research and Technology*, 235(6), 1187–1197.
- Liguori, L., Albanese, D., Crescitelli, A., Di Matteo, M., Russo, P. (2019). *Impact of dealcoholization on quality properties in white wine at various alcohol content levels*. *J. Food Sci. Technol.*, 56, 3707–3720.
- Liguori, L., De Francesco, G., Russo, P., Perretti, G., Albanese, D., Di Matteo, M. (2015). *Production and characterization of alcohol-free beer by membrane process*. *Food Bioprod. Process.*, 94, 158–168.
- Lin, X., Tang, X., Han, X., He, X., Han, N., Ding, Y., Sun, Y. (2022). *Effect of Metschnikowia pulcherrima on Saccharomyces cerevisiae PDH by-pass in mixed fermentation with varied sugar concentrations of synthetic grape juice and inoculation ratios*. *Fermentation*, 8, 480.
- Loira, I., Morata, A., Bañuelos, M., Suárez-Lepe, J. (2020). *Isolation, selection and identification techniques for non-Saccharomyces yeasts of oenological interest*. In *Biotechnological Progress*

- and Beverage Consumption; Volume 19: The Science of Beverages*; Grumezescu, A., Holban, A., Eds.; Elsevier Academic Press: Cambridge, MA, USA, 15.
- Longo, R., Blackman, J., Torley, P., Rogiers, S., Schmidtke, L. (2017). *Changes in volatile composition and sensory attributes of wines during alcohol content reduction*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97, 8–16.
- Lonvaud-Funel, A. (1999). *Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine*. Antonie van Leeuwenhoek, 76, 317–331.
- Lovisol, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., Schubert, A. (2010). *Drought-induced changes in development and function of grapevine (Vitis spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update*. Functional Plant Biology, 37, 98–116.
- Malfeito-Ferreira, M. (2011). *Yeasts and Wine Off-Flavours: A Technological Perspective*. Annals of Microbiology, 61, 95–102.
- Mansour, G., Ghanem, C., Mercenaro, L., Nassif, N., Hassoun, G., & Del Caro, A. (2022). *Effects of altitude on the chemical composition of grapes and wine: a review*. OENO One, 56(1), 227–239.
- Marangon, M., Van Sluyter, S., Robinson, E., Muhlack, R., Holt, E., Haynes, A., Godden, P., Smith, P., Waters, E. (2012). *Degradation of white wine haze proteins by Aspergillopepsin I and II during juice flash pasteurization*. Food Chemistry, 135(3), 1157–1165.
- Martínez, A., Aleixandre Tudó, J., Aleixandre Benavent, J. (2016). *Efectos de los fenómenos producidos por el cambio climático sobre la calidad de los vinos*. Enovicultura, 42, 4–26.
- Martínez, C., Cosgaya, P., Vázquez, C., Gac, S., Ganga, A. (2007). *High degree of polymorphism and geographic origin of wine yeast strains*. Journal of Applied Microbiology, 103, 2185–2195.
- Martínez, J. A., Melgosa, M., Pérez, M. M., Hita, E., Negueruela, A. I. (2001). *Visual and instrumental color evaluation in red wines*. Food Science and Technology International, 7(5), 439–444.
- Martínez-Lüscher, J., Sánchez-Díaz, M., Delrot, S., Aguirreolea, J., Pascual, I., & Gomès, E. (2016). *Ultraviolet-B alleviates the uncoupling effect of elevated CO₂ and increased temperature on grape berry (Vitis vinifera cv. Tempranillo) anthocyanin and sugar accumulation*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 22(1), 87–95.
- Massot, A., Mietton-Peuchot, M., Peuchot, C., Milisic, V. (2008). *Nanofiltration and reverse osmosis in winemaking*. Desalination, 231, 283–289.

- Mateus, N., Machado, J., De Freitas, V. (2002). *Development changes of anthocyanins in Vitis vinifera grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82(14), 1689–1695.
- Maturano, Y., Mestre, M., Kuchen, B., Toroa, M., Mercado, L., Vazquez, F., Combina, M. (2019). *Optimization of fermentation-relevant factors: A strategy to reduce ethanol in red wine by sequential culture of native yeasts*. International Journal of Food Microbiology, 289, 40–48.
- Maturano, P., Assof, M., Fabani, M., Nally, M., Jofre, V., Rodríguez Assaf, L., Toro, M., Castellanos de Figueroa, L., Vazquez, F. (2015). *Enzymatic activities produced by mixed Saccharomyces and non-Saccharomyces cultures: relationship with wine volatile composition*. Antonie van Leeuwenhoek, 108, 1239–1256.
- Maturano, P., Rodríguez Assaf, L., Toro, M., Sardella, M., Martín, M., Castellanos de Figueroa, L., Vázquez, F. (2009). *Pectinolytic activity expressed by yeasts isolated from oenological environments*. VI Congreso Argentino de Microbiología General, Villa Carlos Paz, Argentina, 110–111.
- Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B., Ewert, B. (1999). *Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4009–4017.
- Mendes Ferreira, A., Mendes-Faia, A. (2020). *The role of yeasts and lactic acid bacteria on the metabolism of organic acids during winemaking*. Foods, 9(9), 1231.
- Mercado, L., Combina, M. (2010). *Exploring the biodiversity of a wine region: Saccharomyces yeasts associated with wineries and vineyards*. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Volume 2.
- Mestre, V., Maturano, P., Mercado, L., Toro, M., Vazquez, F., Combina, M. (2016). *Evaluation of different co-inoculation time of non-Saccharomyces/Saccharomyces yeasts in order to obtain reduced ethanol wines*. BIO Web of Conferences, 7.
- Mestre, V., Maturano, Y., Gallardo, C., Combina, M., Mercado, L., Toro, M., Dellacassa, E. (2019). *Impact on sensory and aromatic profile of low ethanol Malbec wines fermented by sequential culture of Hanseniaspora uvarum and Saccharomyces cerevisiae native yeasts*. Fermentation, 5(3), 65.
- Minnaar, P., Du Plessis, H., Jolly, N., van der Rijst, M., du Toit, M. (2019). *Non-Saccharomyces yeast and lactic acid bacteria in co-inoculated fermentations with two Saccharomyces cerevisiae yeast strains: A strategy to improve the phenolic content of Syrah wine*. Food Chemistry: X, 4.

- Minzer, S., Estruch, R., Casas, R. (2020). *Wine intake in the framework of a Mediterranean diet and chronic non-communicable diseases: a short literature review of the last 5 years*. *Molecules*, 25(21), 5045.
- Mira, H., Guiomar, A., Geraldés, V., De Pinho, M. (2017). *Membrane processing of grape must for control of the alcohol content in fermented beverages*. *Journal of Membrane Science Research*, 3, 308–312.
- Montanari, L., Marconi, O., Mayer, H., Fantozzi, P. (2009). *Production of alcohol-free beer*. In *Beer in Health and Disease Prevention*; Preedy, V.R., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 61–75.
- Morales, P., Rojas, V., Quirós, M., Gonzalez, R. (2015). *The impact of oxygen on the final alcohol content of wine fermented by a mixed starter culture*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 3993–4003.
- Morata, A., Escott, C., Bañuelos, M., Loira, I., Fresno, J., González, C., Suárez-Lepe, J. (2019c). *Contribution of Non-Saccharomyces Yeasts to Wine Freshness. A Review*. *Biomolecules*, 10(1), 34.
- Morata, A., Loira, I., Escott, C., del Fresno, J., Bañuelos, M., Suárez-Lepe, J. (2019a). *Applications of Metschnikowia pulcherrima in Wine Biotechnology*. *Fermentation*, 5(3), 63.
- Moreno, J., Peinado, R. (2012). *Chapter five: Polyphenols*. In: *Enological Chemistry*.
- Motta, S., Guaita, M., Petrozziello, M., Ciambotti, A., Panero, L., Solomita, M., Bosso, A. (2017). *Comparison of the physicochemical and volatile composition of wine fractions obtained by two different dealcoholization techniques*. *Food Chemistry*, 221, 1–10.
- Mozell, M., Thach, L. (2014). *The impact of climate change on the global wine industry: Challenges & solutions*. *Wine Economics and Policy*, 3, 81–89.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2006). *Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.
- Neethling, E., Barbeau, G., Bonnefoy, C., Quénel, H. (2012). *Change in climate and berry composition for grapevine varieties cultivated in the Loire Valley*. *Climate Research*, 53, 89–101.
- Niculcea, M., Lopez, J., Sanchez-Díaz, M., Carmen Antolín, M. (2014). *Involvement of berry hormonal content in the response to pre- and post-veraison water deficit in different grapevine (Vitis vinifera L.) cultivars*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 281–291.
- Nogueira, A., Le Quéré, J., Gustin, P., Michel, A., Wosiacki, G., Drilleau, J., Brew, J. (2008). *Slow fermentation in French cider processing due to partial biomass reduction*. *Journal of the Institute of Brewing*, 114, 102–110.

- Noti, O., Vaudano, E., Pessione, E. 2015. *Short-term response of different Saccharomyces cerevisiae strains to hyperosmotic stress caused by inoculation in grape must: RT-qPCR study and metabolite analysis*. Food Microbiology, 52, 49–58.
- Observatorio Vitícola Argentino. (2024). *Caracterización edafoclimática de las provincias vitícolas de la Argentina, Provincia de Jujuy*. COVIAR y CFI.
- OIV. (2012). *Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts – Vol. 1*. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, París.
- Ollat, N., Touzard, J.-M., Van Leeuwen, C. (2016). *Climate Change Impacts and Adaptations: New Challenges for the Wine Industry*. Journal of Wine Economics, 11, 139–149.
- OMS (Organización Mundial de la Salud) (2016). *Radiation. Ultraviolet (UV) radiation*. World Health Organization.
[https://www.who.int/news-room/questions-andanswers/item/radiation-ultraviolet-\(uv\)](https://www.who.int/news-room/questions-andanswers/item/radiation-ultraviolet-(uv))
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2019). *Status Report on Alcohol Consumption, Harm and Policy Responses in 30 European Countries 2019*. World Health Organization, Ginebra, Suiza
- Oro, L., Feliziani, E., Ciani, M., Romanazzi, G., Comitini, F. (2014). *Biocontrol of postharvest brown rot of sweet cherries by Saccharomyces cerevisiae Disva 599, Metschnikowia pulcherrima Disva 267 and Wickerhamomyces anomalus Disva 2 strains*. Postharvest Biology and Technology, 96, 64–68.
- Oro, L., Ciani, M., Comitini, F. (2014a). *Antimicrobial activity of Metschnikowia pulcherrima on wine yeasts*. Journal of Applied Microbiology, 116, 1209–1217.
- Ortega, M., Rodríguez, C., Huarachi, S., Lamas, M., Lopez, A., Moya, M. (2018). *Selección y caracterización enológica de levaduras del género Saccharomyces nativas de la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, Argentina*. XI Jornada Científico- Técnicas Revista Agraria. ISBN 978-987-3926-46-4. Facultad de Ciencias Agrarias. Jujuy, Argentina.
- Paladino, S., Nazralla, J., Vila, H., Genovart, J., Sanchez, M. L., Maza, M. (2008). *Oxidación de los vinos tintos: influencia del pH*. Revistade la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo, 40(2), 105–112.
- Pallman, C., Brown, J., Olineka, T., Cocolin, L., Mills, D., Bisson, L. (2001). *Use of WL medium to profile native flora fermentations*. American Journal of Enology and Viticulture, 52, 198–203.
- Parker, A., Hofmann, R., Leeuwen, C., McLachlan, A., Trought, M. (2015). *Manipulating the leaf area to fruit mass ratio alters the synchrony of total soluble solids accumulation and titratable acidity of grape berries*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 21, 266–276.

- Pérez, D., Capaldi, C., Mercado, L., Malizia, A., Sari, S. (2018). *Efecto combinado de cepa de levadura y Terroir en vinos Malbec de Mendoza*. E3S Web of Conferences, 50, 02005.
- Pérez-Magariño, S., González-SanJosé, M. (2003) *Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines*. Food Chemistry, 81(2), 301–306.
- Peinado, M., Ortega, M., Rodríguez, C., Benítez, G., Agüero, A. (2020). Caracterización morfológica de levaduras aisladas de fermentaciones espontaneas y de uvas nativas de Purmamarca, Jujuy, Argentina. Revista Agraria. Edición: Año 2020, Vol. 13 N°19. ISSN 2362-4035 Facultad de Ciencias Agrarias. Jujuy, Argentina.
https://fca.unju.edu.ar/media/revista/REVISTA_CIENTIFICA_FCA_lojYl3U_BlfOKpd.pdf
- Pezet, R., Perret, C., Jean-Denis, J., Tabacchi, R., Gindro, K., Vireto, O. (2003). *R-Viniferin, a resveratrol dehydrodimer: one of the major stilbenes synthesized by stressed grapevines leaves*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 5488–5492.
- Piccardo, D., Favre, G., Pascual, O., Canals, J. M., Zamora, F., & González-Neves, G. (2019). *Influence of the use of unripe grapes to reduce ethanol content and pH on the color, polyphenol and polysaccharide composition of conventional and hot macerated Pinot noir and Tannat wines*. European Food Research and Technology, 245(6), 1321–1335.
- Pickering, G. (1997). *The production of reduced-alcohol wine using glucose oxidase*. Tesis Doctoral. Lincoln University.
- Porter, M. (1990). *Handbook of Industrial Membrane Technology*. Journal of Membrane Science, 53, 301–302.
- Ramos, M., Martínez de Toda, F. (2020). *Variability in the potential effects of climate change on phenology and on grape composition of Tempranillo in three zones of the Rioja DOCa (Spain)*. European Journal of Agronomy, 115, 126014.
- Raspor, P., Milek, M., Polanc, J., Mozina, S., Nadez, N. (2006). *Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the Dolenjska vine-growing region, Slovenia*. International Journal of Food Microbiology, 109, 97–102.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A. (2006). *Handbook of enology. Volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments* (2nd ed.). Hemisferio Sur.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneché, B., Lonvaud, A. (2000). *Cytology, taxonomy and ecology of grape and wine yeast*. In *Handbook of enology—The microbiology of wine and vinifications* (Vol. 1), 1, 49. Wiley, Chichester, England.

- Robinson, J. (2012) Why wines are stronger now.
[http:// www.jancisrobinson.com/articles/a201201133.html](http://www.jancisrobinson.com/articles/a201201133.html).
- Röcker, J., Schmitt, M., Pasch, L., Ebert, K., Grossmann, M. (2016). *The use of glucose oxidase and catalase for the enzymatic reduction of the potential ethanol content in wine*. Food Chemistry, 210, 660–670.
- Rolle, L., Englezos, V., Torchio, F., Cravero, F., Río Segade, S., Rantsiou, K., Giacosa, S., Gambuti, A., Gerbi, V., Cocolin, L. (2018). *Alcohol reduction in red wines by technological and microbiological approaches: a comparative study*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 24, 62–74.
- Romano, P., Capece, A., Serafino, V., Romaniello, R., Poeta, C. (2008). *Biodiversity of wild strains of Saccharomyces cerevisiae as tool to complement and optimize wine quality*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24, 1797–1802.
- Sadoudi, M., Tourdot-Maréchal, R., Rousseaux, S., Steyer, D., Gallardo-Chacón, J., Ballester, J., Vichi, S., Guérin-Schneider, R., Caixach, J., Alexandre, H. (2012). *Yeast-yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or coculture of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts*. Food Microbiology, 32, 243–253.
- Romano, P., Fiore, C., Paraggio, M., Caruso, M., Capece, A. (2003). *Function of yeast species and strains in wine flavour*. International Journal of Food Microbiology, 86, 169–180.
- Romano, P., & Suzzi, G. (1996). *Origin and production of acetoin during wine yeast fermentation*. Applied and Environmental Microbiology, 62, 309.
- Roullier-Gallet, C., Hemmler, D., Gonsior, M., Li, Y., Nikolantonaki, M., Aron, A., Coelho, C., Gougeon, R., Schmitt-Kopplin, P. (2017). *Sulfites and the wine metabolome*. Food Chemistry, 237, 106–113.
- Sadras, V., & Moran, M. (2012). *Elevated temperature decouples anthocyanins and sugar in berries of Shiraz and Cabernet Franc*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 18, 115–122.
- Sam, F., Ma, T., Salifu, R., Wang, J., Jiang, Y., Zhang, B., Han, S. (2021). *Techniques for dealcoholization of wines: Their impact on wine phenolic composition, volatile composition, and sensory characteristics*. Foods, 10, 2498.
- Santamaría, P., Garijo, P., López, R., Tenorio, C., Gutiérrez, A. (2005). *Analysis of yeast population during spontaneous alcoholic fermentation: effect of the age of the cellar and the practice of inoculation*. International Journal of Food Microbiology, 103, 49–56.
- Schmidtke, L., Blackman, J., Agboola, S. (2012). *Production technologies for reduced alcoholic wines*. Journal of Food Science, 77, 25–41.

- Schultz, H. R. (2000). *Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 6, 2–12.
- Sun, Q., Sacks, G., Lerch, S., Heuvel, J. (2012). *Impact of shoot and cluster thinning on yield, fruit composition, and wine quality of Corot Noir*. American Journal of Enology and Viticulture, 63, 49–56.
- Trillo, D. (2023). *Cambios en el clima y en la agricultura según registros de pequeños productores de la Quebrada de Humahuaca, décadas 1980 a 2020 (Jujuy, Argentina)*. Revista Estudios Ambientales, 11(2), 41–53.
- Tristezza, M., Fantastico, L., Vetrano, C., Bleve, G., Corallo, D., Grieco, F., Mita, G., & Grieco, F. (2014). *Molecular and technological characterization of Saccharomyces cerevisiae strains isolated from natural fermentation of Susumaniello grape must in Apulia, Southern Italy*. International Journal of Microbiology, 2014, 1–11.
- Tronchoni, J., Gamero, A., & Arroyo-López, F. (2009). *Differences in the glucose and fructose consumption profiles in diverse Saccharomyces wine species and their hybrids during grape juice fermentation*. International Journal of Food Microbiology, 134, 237–243.
- TTB (Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau) Fecha de consulta 13/03/2025: www.ttb.gov
- Vacher, C., Hampe, A., Porté, A., Sauer, U., Compant, S., & Morris, C. (2016). *The phyllosphere: Microbial jungle at the plant-climate interface*. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 47, 1–24.
- Valero, E., Cambon, B., Schuller, D., Casal, M., Dequin, S. (2007). *Biodiversity of Saccharomyces yeast strains from grape berries from wine-producing areas using starter commercial yeasts*. FEMS Yeast Research, 7, 317–329.
- Van Leeuwen, C., Barbe, J., Darriet, P., Geffroy, O., Gomès, E., Guillaumie, S., Helwi, P., Laboyrie, J., Lytra, G., Le Menn, N., Marchand, S., Picard, M., Pons, A., Schüttler, A., Thibon, C. (2020). *Recent advancements in understanding the terroir effect on aromas in grapes and wines*. OENO One, 54(4), 985–1006.
- Van Leeuwen, C., Darriet, P. (2016). *The impact of climate change on viticulture and wine quality*. Journal of Wine Economics, 11(1), 150–167.
- Van Leeuwen, C., Seguin, G. (2006). *The concept of terroir in viticulture*. Journal of Wine Research, 17(1), 1–10.

- Varela, C., Dry, P., Kutyna, D., Francis, I., Henschke, P., Curtin, C., Chambers, P. (2015). *Strategies for reducing alcohol concentration in wine*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 21, 670–679.
- Varela, C., Kutyna, D., Solomon, M., Black, C., Borneman, A., Henschke, P., Pretorius, I., Chambers, P. (2012). *Evaluation of gene modification strategies for the development of low-alcohol-wine yeasts*. Applied and Environmental Microbiology, 78, 6068–6077.
- Varela, C., Sengler, F., Solomon, M., & Curtin, C. (2016). *Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species Metschnikowia pulcherrima and Saccharomyces uvarum*. Food Chemistry, 209, 57–64.
- Varela, C., Borneman, A. (2017b). *Yeasts found in vineyards and wineries*. Yeast, 34(3), 111–128. Epub Dec, 2016.
- Vaughan-Martini, A., Martini, A. (1995). *Facts, myths and legends on the prime industrial microorganism*. Journal of Industrial Microbiology, 14, 514–522.
- Wang, C., Mas, A., Esteve-Zarzoso, B. (2016). *The interaction between Saccharomyces cerevisiae and non-Saccharomyces yeast during alcoholic fermentation is species and strain specific*. Frontiers in Microbiology, 7, 502.
- Wang, Y., Wang, R. (2018). *Reverse Osmosis Membrane Separation Technology*. Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands.
- Waterhouse, A., Sacks, G., Jeffery, D. (2016). *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons, UK.
- Wilkinson, K., Jiranck, V. (2013). *Wine of reduced alcohol content: Consumer and society demand vs. industry willingness and ability to deliver*. In *1st International Symposium Alcohol Level Reduction in Wine*; Institut des Sciences de la Vigne et du Vin: Villenave d'Ornon CEDEX, France, 98–104.
- Winkel-Shirley, B. (2001). *Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology*. Plant Physiology, 126, 485–493.
- Winkler, A., Cook, J., Kliewer, W., Lider, L. (1974). *General Viticulture*. University of California Press, Berkeley.
- Xing, R., He, F., Xiao, H, Duan, C, Pan, Q. (2016). *Accumulation pattern of flavonoids in Cabernet Sauvignon grapes grown in a low-latitude and high-altitude region*. South African Journal of Enology and Viticulture, 36(1), 32–43.
- Xynas, B., Barnes, C. (2022). *Yeast or water: Producing wine with lower alcohol levels in a warming climate: A review*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 103, 3249–3260.

- Zamora, F. (2016). *Dealcoholised wines and low-alcohol wines. Wine safety, consumer preference and human health*. *Wine Safety, Consumer Preference and Human Health*, 8, 163–182.
- Zott, K., Thibon, C., Bely, M., Lonvaud-Funel, A., Dubourdieu, D., Masneuf-Pomarede, I. (2011). The grape must non-Saccharomyces microbial community: Impact on volatile thiol release. *International Journal Food Microbiology*, 151, 210–215