

Juan Esteban Miño Valdés

*Microvinificación en blanco  
de Tsabella tinto y Niágara rosada  
cultivadas en Misiones - Argentina*



EDITORIAL UNIVERSITARIA



**Juan Esteban Miño Valdés**

*Microvinificación en blanco  
de Tsabella tinto y Niágara rosada  
cultivadas en Misiones - Argentina*

EDITORIAL UNIVERSITARIA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES



**Juan Esteban Miño Valdés**

*Microvinificación en blanco  
de Isabella tinto y Niágara rosada  
cultivadas en Misiones - Argentina*



EDICIONES ESPECIALES

EDITORIAL UNIVERSITARIA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

San Luis 1870  
Posadas - Misiones - Telfax (03752) 428601  
correos electrónicos:  
edunam-admini@arnet.com.ar  
edunam-direccion@arnet.com.ar  
edunam-produccion@arnet.com.ar  
edunam-ventas@arnet.com.ar

Colección: Ediciones Especiales  
Coordinación de la Edición: Claudio O. Zalazar  
Armado de Interiores: Javier B. Giménez  
Corrección: Liliana Coutto

Miño Valdés, Juan Esteban  
Microvinificación en blanco de Isabella tinto y Niágara rosadas  
en Misiones, Argentina. - 1a ed. -  
Posadas: EdUNaM - Editorial Universitaria de la Universidad  
Nacional de Misiones, 2011.  
174 p. ; 22x15 cm.  
ISBN 978-950-579-183-5  
I. Vinicultura. I. Título  
CDD 663.2

Fecha de catalogación: 22/12/2010

Hecho el depósito de la Ley N° 11.723  
Impreso en Argentina  
ISBN: 978-950-579-183-5  
©Editorial Universitaria  
Universidad Nacional de Misiones, Posadas, 2010.  
Todos los derechos reservados para la primera edición.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	17
RESUMEN .....	19
PRÓLOGO.....	21
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN .....	25
Generalidades.....	25
Revisión Histórica.....	25
Perfil Vitivinícola Argentino .....	26
Justificación.....	28
Objetivos .....	31
General .....	31
Específicos .....	31
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	35
Composición del Racimo de Uva, el Mosto y el Vino.....	35
El Racimo de Uva .....	35
El Mosto y el Vino .....	36
Variedades de <i>Vitis Labrusca</i> .....	45
Relaciones Levadura-Medio .....	46
Incorporación de Sustratos.....	48
Transporte de los Azúcares .....	48

Transporte e Incorporación de Vitaminas .....	50
Transporte de los Compuestos Nitrogenados.....	51
Vías Metabólicas.....	52
Metabolismo de los Azúcares .....	52
Metabolismo del Nitrógeno .....	56
Metabolismo del Azufre.....	58
Productos Formados por el Metabolismo .....	58
Crecimiento y Biomasa.....	59
Etanol .....	60
CO <sub>2</sub> .....	61
Glicerol .....	61
Ácidos Orgánicos.....	62
Adaptación de la Célula al Medio.....	62
Efecto del Etanol y el Oxígeno .....	63
Efecto de la Temperatura .....	65
Efecto del pH .....	67
Inhibidores Exógenos.....	68
Inhibidores Endógenos.....	68
La Curva de Fermentación Alcohólica.....	70
Descripción de una Fermentación Tipo .....	70
Variabilidad de la Cinética Fermentativa .....	73

### CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.....	81
Análisis Físicoquímico de Bayas y Mostos .....	81
Determinación de la Madurez de las Bayas.....	81
Muestreo .....	81
Índices de Madurez.....	82
Determinación del Peso de las Bayas .....	83
Determinación del Volumen de las Bayas.....	84
Rendimiento en Mosto de las Bayas.....	84
Determinación de Azúcares del Mosto .....	84
Método de Fehling .....	84
Grados Brix .....	85
Densidad .....	85
Determinación de la Acidez del Mosto.....	86
Acidez Total .....	86
pH.....	87
Recuento de Levaduras .....	87
Control de Temperatura .....	88



Microvinificación de Laboratorio .....	88
Uvas y Viñedos Seleccionados en Misiones .....	88
Cosecha .....	92
Procedimiento de Microvinificación Tipo Blush .....	92
Análisis Físicoquímico del Vino .....	94
Densidad .....	94
Grado Alcohólico .....	94
Acidez Total .....	95
Acidez Volátil .....	96
Corrección de la Acidez Volátil .....	96
Corrección de SO <sub>2</sub> libre .....	96

## CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	101
Influencia de la Temperatura en la Microvinificación de Uva <i>Isabella</i> .....	101
Características Físicoquímicas de la Uva <i>Isabella</i> .....	101
Microvinificación isotérmica de la Uva <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas .....	102
Microvinificación de Uva <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> .....	110
Análisis de la Evolución de los Parámetros Físicoquímicos .....	118
Influencia de la Temperatura en la Microvinificación de Uva <i>Niágara</i> .....	132
Características Físicoquímicas de la Uva <i>Niágara</i> .....	132
Microvinificación de Uva <i>Niágara</i> con Levaduras Nativas y <i>bayanus</i> .....	133
Poder, Actividad y Rendimiento Fermentativo de Levaduras Nativas y <i>bayanus</i> .....	134
Aptitud Físicoquímica de los Vinos Elaborados para Consumo Humano .....	140
Modelado de Fermentación Alcohólica en condiciones Enológicas .....	144

## CAPÍTULO V

CONCLUSIONES GENERALES .....	153
------------------------------	-----

## CAPÍTULO VI

APORTES Y NOVEDADES CIENTÍFICAS .....	157
Aportes .....	158
De significación teórica .....	158

De significación tecnológica.....	158
Novedades.....	159
BIBLIOGRAFÍA.....	161

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evoluciones típicas de la Población Celular y de la Concentración de Azúcar residual durante la Fermentación Alcohólica en Condiciones Enológicas .....	47
Figura 2. Evolución del Nitrógeno Asimilable en el Mosto, la Tasa de Síntesis Proteica y la velocidad de Transporte de los Azúcares -primera mitad de la fermentación-.....	49
Figura 3. Evolución de la Velocidad Específica de Producción de CO <sub>2</sub> .....	50
Figura 4. Esquema de funcionamiento del Unipuerto Electroforético Acumulativo responsable de la Entrada del Ión Amonio en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	53
Figura 5. Esquema de Funcionamiento de la Vía de la Glicólisis .....	55
Figura 6. Esquema de Fermentación del Ácido Láctico y la Fermentación Alcohólica .....	56
Figura 7. Filiación entre Aminoácidos y Precursores Carbonados Procedentes del metabolismo de los Azúcares .....	57
Figura 8. Esquema Abreviado del Metabolismo del Azufre en la Levadura .....	58
Figura 09. Esquema del Efecto del Etanol sobre la Fluidez de la Membrana Plásmica y su permeabilidad a los Protones .....	63
Figura 10. Esquema del Papel de la ATPasa de Protones de Membrana Plásmica en el Transporte de los Nutrientes y la Regulación del pH Intracelular .....	64
Figura 11. Influencia de la Temperatura sobre las tasas específicas de mortalidad celular en <i>S. cerevisiae</i> en presencia de concentraciones crecientes de etanol .....	66
Figura 12. Descripción de un Ciclo Fermentativo .....	71
Figura 13. Relación entre la Velocidad Máxima de Producción de CO <sub>2</sub> y la Concentración de Nitrógeno Asimilable.....	72

Figura 14. Variabilidad según los Mostos de la Velocidad Máxima de Producción de CO <sub>2</sub> y de la Velocidad Específica de CO <sub>2</sub> a T = 24°C.....	74
Figura 15. Efecto de la Temperatura sobre la Cinética Fermentativa .....	76
Figura 16. Curvas Normalizadas de velocidad de producción de CO <sub>2</sub> a 20, 25 y 30°C .....	77
Figura 17. Viñedo B - Características .....	89
Figura 18. Viñedo C - Características .....	91
Figura 19. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con nativas.....	105
Figura 20. °Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con nativas .....	107
Figura 21. pH vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con nativas .....	108
Figura 22. Levaduras nativas vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	109
Figura 23. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con <i>bayanus</i> .....	113
Figura 24. °Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con <i>bayanus</i> .....	115
Figura 25. pH vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C con <i>bayanus</i> .....	116
Figura 26. <i>bayanus</i> vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	118
Figura 27. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18°C.....	118
Figura 28. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 22°C.....	119
Figura 29. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Niágara</i> a 24°C.....	119
Figura 30. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 26°C.....	120
Figura 31. Densidad vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 30°C.....	121
Figura 32. ° Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18°C.....	122
Figura 33. ° Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 22°C.....	122
Figura 34. ° Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Niágara</i> a 24°C .....	122
Figura 35. ° Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 26°C.....	123
Figura 36. ° Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 30°C.....	123

Figura 37. pH vs. Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18°C .....	124
Figura 38. pH vs. Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 22°C .....	125
Figura 39. pH vs. Tiempo en mostos de uva <i>Niágara</i> a 24°C.....	125
Figura 40. pH vs. Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 26°C .....	126
Figura 41. pH vs. Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 30°C .....	126
Figura 42. Levaduras vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18°C.....	127
Figura 43. Levaduras vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 22°C.....	128
Figura 44. Levaduras vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 26°C.....	129
Figura 45. Levaduras vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 30°C.....	129
Figura 46. Curvas Simuladas de la evolución de la Fermentación de Fructosa por <i>S. cerevisiae</i> de acuerdo al modelo logístico .....	150

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Posición relativa de Argentina en el mundo.....	26
Tabla 2. Totales de vinos Argentinos .....	27
Tabla 3. Composición del Racimo de Uva en% sobre peso fresco....	36
Tabla 4. Composición del Mosto del Vino.....	37
Tabla 5. Compuestos Volátiles: Alcoholes - Aldehídos - Cetonas - Ésteres.....	38
Tabla 6. Ácidos Orgánicos.....	39
Tabla 7. Nitrógeno, Compuestos Nitrogenados .....	40
Tabla 8. Minerales - Elementos Minerales.....	42
Tabla 9. Osas y Polioles.....	43
Tabla 10. Polifenoles.....	43
Tabla 11. Vitaminas.....	45
Tabla 12. Sistemas de Transporte de Vitaminas en <i>S. cerevisiae</i> .....	51
Tabla 13. Aminoácidos: Velocidad de Asimilación por <i>S. cerevisiae</i> en condiciones Enológicas.....	52
Tabla 14. Genes Específicos de la Fase Estacional en <i>S. cerevisiae</i> en condiciones de Laboratorio y Enológicas .....	60
Tabla 15. Viñedos y Uvas Seleccionados.....	89
Tabla 16. Viñedo B - Características .....	90
Tabla 17. Viñedo C - Características.....	92

Tabla 18. Parámetros de la Fermentación a 18°C en mostos de <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas.....	102
Tabla 19. Parámetros de la Fermentación a 22°C en mostos de <i>Isabella</i> con Lev. Nativas.....	103
Tabla 20. Parámetros de la Fermentación a 26°C en mostos de <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas.....	104
Tabla 21. Parámetros de la Fermentación a 30°C en mostos de <i>Isabella</i> con Lev. Nativas.....	104
Tabla 22. Densidad vs Tiempo en mostos de <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas a 18, 22, 26 y 30°C.....	105
Tabla 23. °Brix vs. Tiempo en mostos de <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas a 18, 22, 26 y 30°C.....	106
Tabla 24. pH vs Tiempo en mostos de <i>Isabella</i> con Levaduras Nativas a 18, 22, 26 y 30°C.....	108
Tabla 25. Levaduras Nativas vs Tiempo en mostos de <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	109
Tabla 26. Parámetros de la Fermentación a 18°C en mostos de <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> .....	110
Tabla 27. Parámetros de la Fermentación a 22°C en mostos de <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> .....	111
Tabla 28. Parámetros de la Fermentación a 26°C en mostos de <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> .....	112
Tabla 29. Parámetros de la Fermentación a 30°C en mostos de <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> .....	112
Tabla 30. Densidad vs Tiempo en mostos de <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	113
Tabla 31. °Brix vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	114
Tabla 32. pH vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> con <i>S. bayanus</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	116
Tabla 33. <i>S. bayanus</i> vs Tiempo en mostos de uva <i>Isabella</i> a 18, 22, 26 y 30°C.....	117
Tabla 34. Densidad vs Tiempo en mostos a 24°C de <i>Niágara</i> con Levaduras <i>nativas</i> y <i>bayanus</i> .....	133
Tabla 35. °Brix vs Tiempo en mostos a 24°C de <i>Niágara</i> con Levaduras <i>nativas</i> y <i>bayanus</i> .....	133
Tabla 36. pH vs Tiempo en mostos a 24°C de <i>Niágara</i> con Levaduras <i>nativas</i> y <i>bayanus</i> .....	134
Tabla 37. Poder Fermentativo de Levaduras con mostos a 18, 22, 26 y 30°C de <i>Isabella</i> .....	135

Tabla 38. Poder Fermentativo de Levaduras en mostos a 24°C de uva <i>Niágara</i> .....	136
Tabla 39. Actividad Fermentativa de Levaduras en mostos a 18, 22, 26 y 30°C de <i>Isabella</i> .....	137
Tabla 40. Actividad Fermentativa de Levaduras en mostos a 24°C con uva <i>Niágara</i> .....	138
Tabla 41. Rendimiento Fermentativo de Levaduras en mostos de uva <i>Isabella</i> y <i>Niágara</i> .....	139
Tabla 42. Etanol y Borra en Vinos obtenido .....	140
Tabla 43. Acidez Total y Volátil; SO <sub>2</sub> Total y Libre en Vino obtenido .....	143

*A mis hijas*  
*María Gabriela*  
*María Agustina*

*A mis padres*  
*Emilia Dolores*  
*Máximo*





## AGRADECIMIENTOS

A lo largo de este trabajo, fueron muchas las personas que colaboraron directa o indirectamente en la realización de esta investigación; por eso hago extensivo mi agradecimiento a todas ellas y además expreso un reconocimiento especial a las siguientes personas y a las Instituciones a las que pertenecen:

- De la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales -FCE-QyN- Universidad Nacional de Misiones al Dr. Ing. Qco. José Luis Herrera por facilitarme el uso del Laboratorio de Enología y su dirección en el desarrollo de las investigaciones. A la Mgter. en Tecnología de los Alimentos Ing. Qca. María Alicia Martos por facilitarme el uso del Laboratorio de Biotecnología y por la evaluación interna del trabajo. A la Ing. Química Gabriela Velazquez por su valiosa ayuda en la parte experimental.
- De la Maestría en Tecnología de los Alimentos -FCEQyN- Universidad Nacional de Misiones al Dr. en Ciencias Técnicas Ing. Qco. Luis Alberto Brumovsky por el apoyo permanente y la evaluación interna del trabajo.
- Del Centro de Investigación y Desarrollo de Fermentaciones Industriales del CONICET y la Universidad Nacional de la Plata al Dr. en Ciencias Bioqcas. Lic. en Bioqca. Roque Alberto Hours por la revisión y evaluación externa del trabajo.

- De la Facultad de Ciencias Agrarias -FCA- de la Universidad Católica de Chile al PhD en Microbiología Bqco. Edmundo Bordeau por la bibliografía específica y su asesoramiento.
- De la Maestría en Viticultura y Enología -FCA- de la Universidad Nacional de Cuyo al Master en Viticultura Ing. Agrónomo Marcos Maza por su asistencia técnica.
- De la Bodega Escuela de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Cerro Azul Misiones a la Enóloga Ing. Agrónomo Débora Lavanderos por la bibliografía general y asistencia técnica inicial.
- De la Editorial Universitaria de la UNaM al Profesor Claudio Zalazar por la coordinación, al Diseñador Gráfico Javier Jiménez por el diseño y diagramación, a Liliana Coutto por la corrección de este libro.

## RESUMEN

Durante la última década los cultivos tradicionales de la provincia de Misiones: yerba mate, té, tung, tabaco atravesaron una crisis económica signada por un valor del producto muy por debajo de los costos de producción. A ello se suma una estructura socio productiva minifundista con una caída en la rentabilidad del rubro que lleva a las familias agrícolas a buscar alternativas de diversificación productivas. Entre estas alternativas está la vitivinicultura. En Misiones existen pequeñas cuencas que poseen plantaciones de uvas y elaboran vinos en forma artesanal. Cultivan fundamentalmente las variedades no viníferas *Niágara* e *Isabella*. Existe escasa información para la elaboración de vinos de estas variedades no viníferas.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el proceso de microvinificación en blanco a partir de mostos de uvas americanas de las variedades *Isabella Tinto* y *Niágara Rosada* habitualmente empleados en la elaboración de vinos artesanales a escala familiar en Misiones.

Las prácticas enológicas aplicadas fueron fermentaciones isotérmicas a 18, 22, 24, 26 y 30°C. Las levaduras utilizadas en las microvinificaciones fueron levaduras nativas y *Saccharomyces cerevisiae bayanus*. Los materiales y métodos aplicados correspondieron a las normativas oficiales del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV).

Las fermentaciones isotérmicas realizadas con mostos de uva *Isabella* a 18, 22, 26 y 30°C duraron 15, 12, 10 y 9 días respectivamente y con *Niágara* 11 días a 24°C. La densidad y los °Brix fueron dismi-

nuyendo a distinta rapidez hasta mantenerse constantes. La variación de la temperatura no tuvo efecto significativo sobre el pH, el que se mantuvo entre 3,4 y 3,8 con mostos de uva *Isabella* y entre 3,15 y 3,35 con *Niágara*.

El poder fermentativo utilizando mostos de uva *Isabella* fue de 89,8 a 90,9% para levaduras nativas y 82,8 a 98,9% para *S.cerevisiae bayanus* y utilizando mostos de uva de la variedad *Niágara* se obtuvieron valores de 96,3% y 98,9% para levaduras nativas y *S. cerevisiae bayanus* respectivamente. La actividad fermentativa de las levaduras nativas y *S. cerevisiae bayanus* fue de igual valor a cada temperatura estudiada, siendo de 11,2 a 18°C, 14 a 22°C, 16,8 a 26°C y 18,6 a 30°C, utilizando uva *Isabella* y de 16,6 a 24°C con uva de la variedad *Niágara*. El Rendimiento Fermentativo de las levaduras nativas y *S. cerevisiae bayanus* utilizando mostos de uva *Isabella* fue de 18,87 y 17,14 a 18°C; 18,87 y 18,06 a 22°C; 18,66 y 17,68 a 26°C; 18,66 y 20,48 a 30°C respectivamente y utilizando uva *Niágara* fue de 17,76 (levadura nativa) y 17,26 a 24°C (*S. cerevisiae bayanus*). La generación de levaduras nativas y *bayanus* en mostos de uvas *Isabella* fue 6 a 8 y 8 a 9, con máximos de 8 a 9 y 9 a 11 respectivamente.

Todos los vinos elaborados con ambas levaduras, utilizando mostos de uvas de las variedades *Isabella* y *Niágara* fueron aptos para el consumo humano desde el punto de vista físicoquímico.

Se incluyeron en el último capítulo siete novedades científicas aportadas por este trabajo: tres de significación teórica y cuatro de significación tecnológica.

## PRÓLOGO

Este trabajo provee información básica para la elaboración de vinos blancos a escala artesanal a partir de las uvas *Isabella tinto* y *Niagara rosada*, variedades bien adaptadas al clima y suelo de la provincia de Misiones (NE Argentino).

Para la fermentación se utilizaron inóculos de las levaduras nativas (provenientes de la piel de estas bayas) y como levadura especializada para comparación *S. cerevisiae bayanus*.

Los resultados físicoquímicos de los vinos blancos obtenidos a partir de las dos variedades de uvas indicaron su aptitud para el consumo humano.

Este texto se recomienda a los que deseen iniciarse en la elaboración de vinos blancos artesanales a partir de uvas de color a escala familiar, ya que presenta parámetros guías como temperaturas, densidades, pH, °Brix, tiempos de proceso, además de población, actividad, rendimiento y poder fermentativo de levaduras entre otros.

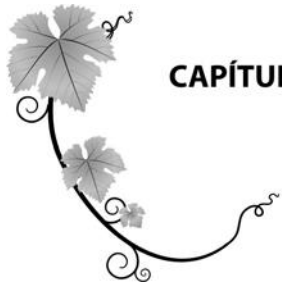
*Luis A. Brumovsky*

Ingeniero Químico

Magíster en Tecnología de los Alimentos

Doctor en Ciencias Técnicas





## **CAPÍTULO I**





# INTRODUCCIÓN

## GENERALIDADES

### REVISIÓN HISTÓRICA

El arte de la fermentación, definido técnicamente en su sentido más amplio como la transformación química de compuestos orgánicos con la ayuda de enzimas producidas por microorganismos, es muy antiguo. La capacidad de las levaduras para producir alcohol en forma de cerveza la conocían ya los *sumerios* y *abilónicos* antes del año 6000 A.C. Más tarde, aproximadamente hacia el año 4000 a.C., los egipcios descubrieron que por la acción de las levaduras del grupo *Saccharomyces* podían fermentar la harina.

En referencia al vino, otro antiguo producto de fermentación, se hallan en el Génesis, donde consta que Noé consumía algo más de lo debido.

Hacia el siglo XIV d.C., la destilación de bebidas alcohólicas a partir de grano fermentado, práctica originaria de china, era común en muchas zonas del mundo (Francia-*Brandy*; Escocia-*Whisky*).

El papel de las levaduras como agentes fermentadores no fue reconocido hasta mediados del siglo XIX cuando Pasteur descubrió que las levaduras transforman el azúcar en alcohol en ausencia de aire. A este proceso anaeróbico se le conoce como fermentación alcohólica.

A finales del siglo XIX y gracias al desarrollo de las técnicas de cultivos puros, se aísla y distribuye la primera cepa de levadura vínica, la *Steinberg 92*, para su uso comercial en la producción del vino.

Anteriormente en 1883, Emil Christian Hansen obtuvo el primer cultivo puro de levadura cervecera que denominó *Saccharomyces carlsbergensis*. Con estos trabajos y los de Pasteur, la fermentación pasa de ser un arte (resultados imprevisibles) a ser una ciencia (resultados pre- visibles).

Para gran parte del siglo XX y hasta la actualidad la expansión de los conocimientos ha revolucionado la manera de comprender y experi- mentar sobre este tema a tal punto que es difícil seguir el paso de los nuevos descubrimientos (www.uncu.edu.ar, 2007).

## PERFIL VITIVINÍCOLA ARGENTINO

En la actualidad, del total de vinos elaborados en el mundo 65 mil- lones de hL -12666 millones U\$S- se exportan el 23,5% de este total el resto es para consumo interno. La Argentina participa con el 1,1% del volumen total de vinos exportados en el mundo.

El posicionamiento relativo de Argentina en el mercado mundial de uvas y vinos se puede observar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Posición relativa de Argentina en el mundo.

Parámetros	Cantidades -año 2003-	Posición Relativa -año 2003-
Uvas		
Superficie plantada	221.000 ha	Décimo
Producción	23.015.000 quintales	Octavo
Vinos		
Elaboración	13.225.000 hL	Quinto
Consumo interno	12.338.000 hL	Sexto
Exportación	1.852.000 hL	Undécimo

**Fuente:** www.inv.gov.ar, 2007.

La recuperación de la actividad vitivinícola en los últimos años se relaciona con la mayor demanda internacional y el dinámico proceso de reconversión protagonizado por el sector. En el 2000 las inversiones en viñedos y bodegas superaron los 300 millones de U\$S, monto que refleja la potencialidad y el desarrollo de la actividad.

Mientras en 1996 se exportaba un 9% de la producción total de vinos (Tabla 2), en el año 2006 se exportó un 13% del total elaborado en el país. El incremento de la exportación fue del 260% en volumen entre 1996 y 2006, mientras que medido en divisas el aumento fue del 576%.

**Tabla 2.** Totales de vinos argentinos.

<b>Año</b>	<b>Exportados (millones hL)</b>	<b>Valor FOB en (millones U\$S)</b>
1996	1,12	65,85
2002	1,23	128,4
2006	2,93	379,4

**Fuente:** www.inv.gov.ar, 2007.

El consumo de vino en Argentina desde 1977 al 2006 disminuyó de 88 a 29 litros por habitante por año. Aunque la tendencia es decreciente los vinos finos son los únicos que han ganado algo de participación relativa en el mercado nacional. La población de 36 a 55 años es la que más demanda el producto. Los jóvenes prefieren los jugos, las gaseosas o la cerveza. (www.inv.gov.ar, 2007).

La zona vitivinícola Argentina en la actualidad puede ser dividida en tres regiones bien diferenciadas por sus características ecológicas y la diversidad de suelos:

**Zona Cuyo:** representa el 91,7% de la superficie con viñedos del país, además de concentrar la oferta nacional de vino (91,8%), mosto (96,5%), uva de mesa (89,2%) y pasas de uva (90,7%), extendiéndose desde los 29,5° a 36° de latitud sur, abarcando las provincias de Mendoza (áreas: Norte, Centro, Este y Sur y Valle de Uco) y San Juan (área Centro).

**Zona Noroeste:** representa el 5,7% de la superficie con viñedos y el 6,6% de la producción de uvas del país, además de posicionarse en la oferta nacional de vino con el 7,4% en mosto con el 3,4%, en uva de mesa el 0,8% y en pasas de uva con el 9,3%, extendiéndose desde los 22° a 29° de latitud sur, abarcando las provincias de la Rioja, Catamarca y Salta.

**Zona Patagonia:** representa el 2,1% de la superficie con viñedos y el 0,9% de la producción de uvas del país, además de posicionarse en la oferta nacional de vino con el 0,8%, en mosto con el 0,2% y en uva de mesa el 10,1%, extendiéndose desde los 37° a 40°

de latitud sur, abarcando las provincias de Neuquén y Río Negro. (www.alimentosargentinos.gov.ar, 2007).

## JUSTIFICACIÓN

Durante la última década los cultivos tradicionales de la provincia de Misiones (yerba mate, té, tung, tabaco) atravesaron una crisis económica signada por un valor del producto muy por debajo de los costos de producción. A ello se suma una estructura socio productiva minifundista, con una caída en la rentabilidad del rubro que lleva a las familias agrícolas a buscar alternativas de diversificación productiva. Entre estas alternativas está la vitivinicultura, existiendo emprendimientos en toda la provincia. Algunos aprovechan la existencia de variedades de mesa tempranas y otros las posibilidades que brindan las variedades de doble propósito. (www.inta.gov.ar).

En Misiones existen pequeñas cuencas que poseen plantaciones de uvas y elaboran vino en forma artesanal. Cultivan fundamentalmente las variedades: *Niágara*, *Venus* (primicia en el país) e *Isabella* también llamada uva chinche o Isabel.

En el siglo pasado y hasta 1960, Misiones llegó a contar con una Cooperativa Vitivinícola en el Alto Paraná. La producción, en aquel entonces, se basaba en la variedad *Isabella* que en su época de esplendor llegó también a Buenos Aires originando el conocido “vino de la costa”. Desde entonces alrededor de 150 productores rurales con viñedos siguieron elaborando unos 3000 hL de vino por año en forma artesanal para consumo estrictamente local mientras otros productores venden la uva fresca a granel también al mercado local. (Margalot, 1994).

En 1991 la EEA (Estimación Experimental Agropecuaria) INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) Cerro Azul a través del Programa Minifundio, firma un convenio con el Instituto Provincial de Fomento Agroindustrial (IFAI) para iniciar la ejecución del Programa de Desarrollo Frutihortícola para el Área Tabacalera de la zona centro sur de la provincia de Misiones.

En 1992 se incorpora el Programa de Crédito y Apoyo técnico para Pequeños Productores Agropecuarios del NEA. (FIDA-BID/GOA).

En 1993 comienzan a incentivarse las acciones tendientes a diversificar o reconvertir los cultivos tradicionales de Misiones con la implantación de diversas variedades de frutas no tradicionales para

nuestra provincia como uvas, duraznos, manzanas, ciruelas y cítricos en general.

En el 2002 el costo de implantación de 1 hectárea de vid era de \$ 13000 (medidos al tercer año de implantación) y las producciones promedio obtenidas eran de 13000 kg de uva por hectárea. El precio de la uva en la chacra se comercializaba entre \$ 1,5 y \$ 2 el kg.

En el 2004 entre el Gobierno de la Provincia de Misiones, el INTA y la UNaM firman un Convenio de Cooperación para iniciar procesos de adecuación y alfabetización tecnológica para desarrollar tecnologías adaptables del sector vitícola de Misiones.

En el 2005 por iniciativa conjunta del Ministerio del Agro de Misiones el INTA y la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (UNaM), se instala una Bodega Escuela en la EEA INTA de Cerro Azul (Mnes) con una capacidad de 60.000 litros. A partir de este proyecto se ven beneficiados pequeños productores misioneros de cuencas de uvas establecidas en Jardín América, Cerro Azul, Olegario Víctor Andrade, Aristóbulo del Valle, 25 de Mayo, 2 de Mayo, San Vicente y Oberá entre otras.

En Misiones las plantaciones comerciales de vid son realizadas sobre porta injertos tolerantes a *Margarodes* y hongos del suelo. El INTA ha producido el pie *Paulsen 1103* que tiene las características mencionadas y además es una combinación adecuada con las variedades que se plantan aquí. La plantación de las estacas se realiza durante el mes de julio en el lugar definitivo, para ser injertadas el siguiente invierno. La densidad adoptada es 1904 plantas por hectárea.

En la provincia se han introducido y evaluado con éxito dos variedades: *Isabella* y *Niágara*. La primera del tipo *Vitis Labrusca x Vitis vinífera* y la segunda americana pura *Vitis Labrusca*. (www.inta.gov.ar, 2007).

El en año 2006 en la bodega escuela del INTA se procesaron: 2082 kg de uva *Niágara* obteniéndose 1350 litros de mosto, y 3889 kg de uva *Isabella* obteniéndose 2580 litros de mosto. Los mostos fueron fermentados con levaduras *Saccharomyces cerevisiae bayanus* a 20°C el vino blanco y 24°C el tinto.

Al finalizar la vinificación se enviaron las muestras al Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) a los efectos de obtener el permiso legal y la aptitud fisicoquímica para su comercialización con las marcas misioneras “Laterita” el tinto y “Cascada” el blanco.

Los vinos elaborados fueron embotellados y etiquetados en la Bodega Escuela. Por cada 4 botellas producidas (de 750 mL c/u) 3 fueron

para el proveedor de uva y 1 para el INTA por los gastos en corcho, etiqueta y envases.

El precio de comercialización quedó a criterio de cada productor rural. En algunos supermercados de Posadas y Oberá en góndola se ofertaban desde los \$ 9,50 hasta los \$ 14,50 por botella. (www.inta.gov.ar, 2007).

En 2009 la merma del 25% en la producción de uvas argentinas, debido al cambio climático, generalizó la escasez de sobrantes de uvas para la fabricación de vinos de consumo popular. Esto causó la suba de los precios de las diferentes marcas de vino alrededor de un 30%; estos vinos llegaban al consumidor -en botellas o tetrabrik- entre 5-7 \$/litro (mayoristas 3,5-4 \$/litro). De la producción nacional que se destina al mercado interno se estima que un 45 % v/v es vino para consumo popular de bajo precio. En 1993 ante la escasez se importó 1,3 % del vino consumido en Argentina. Algunas bodegas estudian nuevamente importar vino económico de Chile para satisfacer la demanda interna. (Villanueva, 2009). La producción de uvas de mesa de la provincia de Misiones logró abastecer la demanda del mercado Misionero en 2009; actualmente se dedican entre otras actividades a las vides entre 250-300 productores rurales alcanzando un total de plantaciones de 70-80 ha. En la chacra se vende el kg de uva entre 4-5 \$, en Alem y Posadas en góndola cuesta entre 6-7 y 8-9 \$ respectivamente. Para 2010 se espera que la cosecha de *Venus* llegue a 1.000 Tn sin contar las otras especies *Isabella* o *Niágara*, lo que se busca es colocar el excedente en el mercados no explotados. (Bakos, 2009)

A pesar de elaborar vino blanco y tinto en forma tradicional, es escasa la información respecto a las uvas americanas *Niágara*, *Venus* e *Isabella* procesadas en condiciones enológicas a diferentes temperaturas y con diferentes levaduras.

Para consolidar la cultura vitivinícola de la zona rural misionera, se debe acompañar con una alfabetización tecnológica como la que está llevando a cabo el INTA, más la que puede aportar la UNaM con el fin de elaborar vinos a pequeña escala con la mejor calidad posible, para participar del circuito local de comercialización cada vez más competitivo.

La fermentación alcohólica en condiciones enológicas se efectúa de manera muy específica (anaerobiosis, alta concentración de azúcares, bajo valor de pH), este hecho explica el poco número de trabajos llevados a cabo en este ámbito. (Flanzy, 2003).

La inexistencia de conocimiento científico y tecnológico sobre elaboración de vino blanco regional con inóculo de levaduras nativas e inóculo de *S. bayanus* a partir de uvas de mesa -no viníferas- *Isabella tinto* y *Niágara rosada*, que se cultivan en Misiones exige la obtención por metodología científica de conocimientos que permitan conocer su viabilidad.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el comportamiento de parámetros indicadores de proceso durante la fermentación isotérmica a diferentes temperaturas, en mostos de uvas americanas no viníferas cultivadas en Misiones utilizando levaduras nativas y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* (levadura enológica).

### **ESPECÍFICOS**

Realizar la microvinificación de las variedades de uvas *Isabella* y *Niágara* con inóculo de levaduras nativas y con inóculo de *S. bayanus* como referencia.

Determinar la influencia de la temperatura sobre las microvinificaciones.

Seguir la evolución de los parámetros fisicoquímicos durante las microvinificaciones.

Evaluar la actividad, poder y rendimiento fermentativo de las levaduras nativas y especializadas.

Determinar la aptitud fisicoquímica de los vinos obtenidos para consumo humano.

Desarrollar el modelado matemático de la curva de fermentación.







## **CAPÍTULO II**



## **REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **COMPOSICIÓN DEL RACIMO DE UVA, EL MOSTO Y EL VINO**

#### **EL RACIMO DE UVA**

El racimo de uva contiene los constituyentes que pertenecen a las distintas clases del reino vegetal: agua, glúcidos, próticos, lípidos, elementos minerales y compuestos fenólicos. (Tabla 3).

En los mostos de uva, los constituyentes proceden principalmente de la pulpa de las bayas, que representan en función de las cepas del 83 al 91% del conjunto de la baya.

**Tabla 3.** Composición del racimo de uva en% sobre peso fresco.

Raspones 3 a 6%		Agua	78-80
		Osas	0,5-1,5
		Ácidos orgánicos	0,5-1,6
		pH	4-4,5
		Taninos	2-7
		Minerales	2-2,5
		Compuestos nitrogenados	1-1,5
Baya 94 a 97%	Piel 7% a 12% media 9,6%	Agua	78-80
		Ácidos orgánicos	0,8-1,6
		Taninos	0,4-3
		Antocianos	0-0,5
		Compuestos nitrogenados	1,5-2
		Minerales	1,5-2
		Ceras	1-2
		Sustancias aromáticas	-
	Pepitas 0% a 6% media 4,4%	Agua	25-45
		Compuestos glucídicos	34-36
		Taninos	4-10
		Compuestos nitrogenados	4-6,5
		Minerales	2-4
		Lípidos	13-20
	Pulpa 83% a 91%	Ver composición del mosto de uva	

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado por Flanzy, 2000.

## EL MOSTO Y EL VINO

El vino se obtiene por fermentación alcohólica del mosto de uva. Este proceso modifica la composición original de los mostos provocando la desaparición de los azúcares (glucosa y fructosa) y la formación de alcoholes junto con productos secundarios tales como los polioles, el glicerol, diversos ácidos orgánicos y numerosos compuestos volátiles que constituyen el aroma.

La composición del vino es todavía más compleja que la del mosto, siendo difícil de precisar el número de constituyentes, que se eleva a varias centenas. Las técnicas analíticas de precisión actuales habrán permitido poner en evidencia sustancias muy a menudo en estado de concentraciones ínfimas, volátiles generalmente, que participan en el aroma del vino, que es de extremada complejidad. En la Tabla 4 se dan los principales compuestos de los mostos y los vinos, así como sus concentraciones.

**Tabla 4.** Composición del Mosto y del Vino.

COMPONENTES PRINCIPALES	MOSTOS g L <sup>-1</sup>	VINOS g L <sup>-1</sup>
Agua	700 a 850	750 a 900
Osas	140 a 250	0,1 a 2
Polisacáridos	3 a 5	2 a 4
Alcoholes	-	69 a 121
Polioles	-	5 a 20
Ácidos orgánicos	9 a 27	3 a 20
Polifenoles	0.5	2 a 6
Comp. Nitrogenados	4 a 7	3 a 6
Minerales	0,8 a 2,8	0,6 a 2,5
Vitaminas	0,25 a 0,8	0,2 a 0,7

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado por Flanzky, 2000.

En lo que respecta a sustancias aromáticas, resulta interesante dar las concentraciones mínimas, máximas y medias, calculadas a partir de los datos de la bibliografía.

Sin embargo, como las concentraciones de los compuestos volátiles, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas y ésteres están ligadas a numerosos factores tecnológicos tales como la temperatura, se han indicado las concentraciones medias.

**Tabla 5.** Compuestos Volátiles: Alcoholes - Aldehídos - Cetonas - Ésteres.

Compuestos Volátiles	Vinos Tintos		Vinos Blancos	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
	g L <sup>-1</sup>		g L <sup>-1</sup>	
<b>Alcoholes</b>				
Etanol	1.061	1.109,5	1.061	1.109,5
Metanol	43.10 <sup>-3</sup>	32.10 <sup>-2</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	14,8.10 <sup>-3</sup>
Propanol-1	11.10 <sup>-3</sup>	68.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-3</sup>	48.10 <sup>-3</sup>
Metil -2- Propanol-1	9.10 <sup>-3</sup>	14,8.10 <sup>-2</sup>	28.10 <sup>-3</sup>	17.10 <sup>-2</sup>
Metil -2-butanol -1	18.10 <sup>-3</sup>	150.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>	82.10 <sup>-3</sup>
Metil -3 butanol -1	49.10 <sup>-3</sup>	49.10 <sup>-2</sup>	45.10 <sup>-3</sup>	31,6.10 <sup>-2</sup>
Butanol -1	0,5.10 <sup>-3</sup>	2,3.10 <sup>-3</sup>	0,6.10 <sup>-3</sup>	8,5.10 <sup>-3</sup>
Hexanol -1	0,3.10 <sup>-3</sup>	10.10 <sup>-3</sup>	1,3.10 <sup>-3</sup>	12.10 <sup>-3</sup>
Fenil 2- etanol	10.10 <sup>-3</sup>	18,3.10 <sup>-2</sup>	-	-
<b>Aldehídos</b>				
Etanal	23.10 <sup>-3</sup>	66.10 <sup>-3</sup>	24.10 <sup>-3</sup>	218.10 <sup>-3</sup>
Propanal	-	-	-	-
Hexanal	ND	ND	ND	ND
Sexenal	ND	ND	ND	ND
Benzaldehído	0,3.10 <sup>-5</sup>	ND	0,3.10 <sup>-5</sup>	4.10 <sup>-3</sup>
Cinnamaldehído	ND	10 <sup>-6</sup>	ND	10 <sup>-6</sup>
Vanillina	-	-	-	-
Hidroxí-2- metil-5 furfural	-	-	ND	4,2.10 <sup>-3</sup>
<b>Cetonas</b>				
2-3 butanodiona (diacetilo)	0,2.10 <sup>-3</sup>	3,8.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	2,4.10 <sup>-3</sup>
3-oxi-2 butanona (acetoina)	2.10 <sup>-3</sup>	43.10 <sup>-3</sup>	2,9.10 <sup>-3</sup>	54.10 <sup>-3</sup>
2-3 pentanodiona	-	-	2.10 <sup>-5</sup>	2,8.10 <sup>-4</sup>
3-oxi-2 pentanona	-	-	4.10 <sup>-4</sup>	2,8.10 <sup>-3</sup>
<b>Ésteres no volátiles</b>				
Tartrato de dietilo	ND	150.10 <sup>-3</sup>	-	-
Malato de dietilo	-	-	0,2.10 <sup>-3</sup>	0,8.10 <sup>-3</sup>
Succionato de dietilo	5.10 <sup>-4</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-4</sup>	1.10 <sup>-3</sup>
Cafeoil tartrato	-	-	55.10 <sup>-3</sup>	175.10 <sup>-3</sup>
<b>Ésteres volátiles</b>				
Formiato de etilo	1,8.10 <sup>-4</sup>	2,8.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-5</sup>	2,2.10 <sup>-3</sup>
Acetato de metilo	0,5.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-4</sup>	ND	1.10 <sup>-4</sup>
Acetato de etilo	41.10 <sup>-3</sup>	180.10 <sup>-3</sup>	26.10 <sup>-3</sup>	160.10 <sup>-3</sup>
Lactato de etilo	10.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>
Propionato de etilo	0,5.10 <sup>-4</sup>	2,5.10 <sup>-4</sup>	ND	4.10 <sup>-3</sup>
Metil 2 propionato de etilo	3.10 <sup>-5</sup>	1.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-5</sup>	0,8.10 <sup>-3</sup>
Acetato de metil 2 propilo	1.10 <sup>-5</sup>	0,9.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-5</sup>	0,8.10 <sup>-3</sup>
Acetato de isoamilo	0,2.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-3</sup>	1,1.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>
Butirato de etilo	1.10 <sup>-5</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-5</sup>	3.10 <sup>-3</sup>
Metil 2 butirato de etilo	ND	0,9.10 <sup>-3</sup>	ND	3,2.10 <sup>-4</sup>
Metil 3 butirato de etilo	ND	0,7.10 <sup>-3</sup>	ND	0,7.10 <sup>-3</sup>
Acetato de metil 3 butilo	3.10 <sup>-5</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-5</sup>	8.10 <sup>-3</sup>
Hexanoato de etilo	7.10 <sup>-5</sup>	1.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-5</sup>	1,5.10 <sup>-3</sup>
Octanoato de etilo	5.10 <sup>-4</sup>	3,4.10 <sup>-3</sup>	5,5.10 <sup>-4</sup>	4.10 <sup>-3</sup>
Decanoato de etilo	0,3.10 <sup>-3</sup>	1,8.10 <sup>-3</sup>	3,6.10 <sup>-4</sup>	2,5.10 <sup>-3</sup>
Dodecanoato de etilo	1.10 <sup>-4</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-5</sup>	0,7.10 <sup>-3</sup>
Acetato de hexilo	1.10 <sup>-4</sup>	6.10 <sup>-4</sup>	7.10 <sup>-5</sup>	5.10 <sup>-4</sup>
Acetato de fenil 2 etilo	1.10 <sup>-5</sup>	2,10.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	4,5.10 <sup>-3</sup>

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2000 .

ND: no determinado; sin datos.

**Tabla 6.** Ácidos Orgánicos.

ÁCIDOS ORGÁNICOS	MOSTOS			VINOS		
	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media
	g L <sup>-1</sup>			g L <sup>-1</sup>		
Ácido tartárico	3,56	7,42	ND	1,2	4,80	2,50
Ácido málico	0,70	8,60	ND	0,16	5,20	ND
Ácido D- málico	46.10 <sup>-3</sup>	76.10 <sup>-3</sup>	60.10 <sup>-3</sup>	11.10 <sup>-3</sup>	79.10 <sup>-3</sup>	44.10 <sup>-3</sup>
Ácido cítrico	0.13	0,90	0,18	0,12	0,88	0,20
Ácido ascórbico	10.10 <sup>-3</sup>	75.10 <sup>-3</sup>	45.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	12.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>
Ácido L(+) láctico	-	-	-	40.10 <sup>-3</sup>	4,20	3,10
Ácido D(-)láctico	-	-	-	40.10 <sup>-3</sup>	0,39	0,15
Ácido succínico	-	-	-	35.10 <sup>-3</sup>	0,90	0,55
Ácido acético	-	-	-	0,15	0,90	0,35
Ácido pirúvico	-	-	-	11.10 <sup>-3</sup>	0,46	75.10 <sup>-3</sup>
Ácido oxo- glutámico	-	-	-	2.10 <sup>-3</sup>	0,34	80.10 <sup>-3</sup>
Ácido citramálico	-	-	-	10.10 <sup>-3</sup>	0,14	70.10 <sup>-3</sup>
Ácido glicérico	-	-	-	5.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>
Ácido dimetil glicérico	-	-	-	ND	6.10 <sup>-3</sup>	ND
Ácido oxálico	ND	50.10 <sup>-3</sup>	ND	ND	30.10 <sup>-3</sup>	ND
Ácido fumárico	ND	10.10 <sup>-3</sup>	ND	4.10 <sup>-3</sup>	50.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>
Ácido glicurónico*	-	-	-	0,12	2,50	<0,10
Ácido galacturónico*	-	-	-	ND	1,50	0,15
Ácido glucónico	-	-	-	<10.10 <sup>-3</sup>	2,80	30.10 <sup>-3</sup>
Ácido músico	ND	2	ND	< 80.10 <sup>-3</sup>	0,45	ND
Ácido oxo 2 glucónico	-	-	-	ND	0,70	<0,10
Ácido oxo 5 glucónico*	-	-	-	ND	0,50	<0,10

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2000.

(\*) Las concentraciones de los ácidos que llevan el asterisco pueden ser muy elevadas para los vinos licorosos y los vinos procedentes de bayas dañadas desde el punto de vista fco-qco o microbiológico.

Por otro lado, para las concentraciones de los elementos minerales de los mostos, que son para la mayoría de ellos idénticos a las de los vinos, no se ha diferenciado entre vinos y mostos.

En el potasio, el calcio, el cobre, el plomo que sufren variaciones durante los procesos fermentativos, se ha indicado un asterisco para llamar la atención del lector. (Tabla 8).

**Tabla 7.** Nitrógeno: compuestos nitrogenados.

Compuestos Nitrogenados	Mostos			Vinos Tintos			Vinos Blancos		
	Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media
	g L <sup>-1</sup>			g L <sup>-1</sup>			g L <sup>-1</sup>		
Nitrógeno total	0,20	0,16	ND	0,15	0,60	0,30	0,10	0,40	0,28
N amoniacal	30.10 <sup>-3</sup>	0,10	40.10 <sup>-3</sup>	ND	10.10 <sup>-3</sup>	ND	ND	10.10 <sup>-3</sup>	ND
N nítrico	4.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	ND	ND	ND
N aminado	80.10 <sup>-3</sup>	0,30	ND	60.10 <sup>-3</sup>	0,20	ND	10.10 <sup>-3</sup>	0,15	ND
N peptídico	0,1	0,20	ND	80.10 <sup>-3</sup>	0,20	ND	80.10 <sup>-3</sup>	0,35	ND
N proteico	10.10 <sup>-3</sup>	0,10	ND	10.10 <sup>-3</sup>	80.10 <sup>-3</sup>	30.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	ND
Aminoácidos									
Acido aspártico	15.10 <sup>-3</sup>	0,10	35.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-3</sup>	28.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>	32.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-3</sup>
Acido glutámico	53.10 <sup>-3</sup>	0,27	0,14	12.10 <sup>-3</sup>	0,22	36.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	0,21	35.10 <sup>-3</sup>
Alanina	7.10 <sup>-3</sup>	0,26	30.10 <sup>-3</sup>	2,6.10 <sup>-3</sup>	64.10 <sup>-3</sup>	22.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	49.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>
Arginina	55.10 <sup>-3</sup>	1,20	0,35	18.10 <sup>-3</sup>	0,42	45.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>	0,18	32.10 <sup>-3</sup>
Cistina	ND	2.10 <sup>-3</sup>	ND	1.10 <sup>-3</sup>	30.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>
Glicina	2.10 <sup>-3</sup>	42.10 <sup>-3</sup>	22.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	50.10 <sup>-3</sup>	14.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>	22.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>
Histidina	8.10 <sup>-3</sup>	26.10 <sup>-3</sup>	12.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	14.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	12.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>
Isoleucina	2.10 <sup>-3</sup>	10.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	36.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>	30.10 <sup>-3</sup>	22.10 <sup>-3</sup>
Leucina	3.10 <sup>-3</sup>	58.10 <sup>-3</sup>	18.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	13.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	7.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>
Lisina	5.10 <sup>-3</sup>	63.10 <sup>-3</sup>	28.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	72.10 <sup>-3</sup>	25.10 <sup>-3</sup>	ND	62.10 <sup>-3</sup>	20.10 <sup>-3</sup>
Metionina	ND	15.10 <sup>-3</sup>	ND	1.10 <sup>-3</sup>	10.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	ND	8.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>
Ornitina	ND	5.10 <sup>-3</sup>	ND	1.10 <sup>-3</sup>	80.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	55.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-3</sup>
Prolina	40.10 <sup>-3</sup>	3,80	0,75	40.10 <sup>-3</sup>	2,60	0,60	ND	0,59	0,44
Hidroxiprolina	ND	14.10 <sup>-3</sup>	ND	ND	8,9.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	ND	10.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-3</sup>
Fenilalanina	4.10 <sup>-3</sup>	62.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	34.10 <sup>-3</sup>	10.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>	22.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>
Serina	5.10 <sup>-3</sup>	81.10 <sup>-3</sup>	36.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	20.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	18.10 <sup>-3</sup>	8,6.10 <sup>-3</sup>
Treolina	9.10 <sup>-3</sup>	0,13	85.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	90.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	54.10 <sup>-3</sup>	8.10 <sup>-3</sup>
Tirosina	2.10 <sup>-3</sup>	75.10 <sup>-3</sup>	15.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	58.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>	17.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-3</sup>
Triptófano	5.10 <sup>-3</sup>	0,31	0,31	ND	25.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	ND	12.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>
Valina	ND	0,11	0,11	1.10 <sup>-3</sup>	45.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	ND	36.10 <sup>-3</sup>	7.10 <sup>-3</sup>
Amina Biógena									
UVA									
Cadaverina	ND	ND	ND	ND	22.10 <sup>-3</sup>	1,4.10 <sup>-3</sup>	ND	29.10 <sup>-3</sup>	1,4.10 <sup>-3</sup>
Putrescina	ND	3.10 <sup>-3</sup>	ND	0,4.10 <sup>-3</sup>	82.10 <sup>-3</sup>	8,8.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	9,1.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-3</sup>
Espermita	1.10 <sup>-4</sup>	0,2.10 <sup>-3</sup>	ND	1.10 <sup>-5</sup>	0,4.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	-	-	-
Espermidina	0,3.10 <sup>-3</sup>	2,2.10 <sup>-3</sup>	ND	0,5.10 <sup>-3</sup>	5,2.10 <sup>-3</sup>	2,4.10 <sup>-3</sup>	-	-	-
VINO									
Etilamina	ND	ND	ND	0,1.10 <sup>-3</sup>	17.10 <sup>-3</sup>	2,6.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	20.10 <sup>-3</sup>	2,3.10 <sup>-3</sup>
Histamina	ND	ND	ND	0,2.10 <sup>-3</sup>	30.10 <sup>-3</sup>	4,5.10 <sup>-3</sup>	ND	4,9.10 <sup>-3</sup>	1,2.10 <sup>-3</sup>
Isoamilamina	ND	ND	ND	ND	16.10 <sup>-3</sup>	0,9.10 <sup>-3</sup>	ND	20.10 <sup>-3</sup>	0,9.10 <sup>-3</sup>
Isopropilamina	ND	ND	ND	ND	0,3.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>	ND	1.10 <sup>-3</sup>	0,1.10 <sup>-3</sup>
Metilamina	ND	ND	ND	ND	1,9.10 <sup>-3</sup>	0,7.10 <sup>-3</sup>	ND	2,2.10 <sup>-3</sup>	0,6.10 <sup>-3</sup>
Feniletilamina	ND	ND	ND	0,1.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	0,9.10 <sup>-3</sup>	ND	13.10 <sup>-3</sup>	0,5.10 <sup>-3</sup>
Tiramina	ND	ND	ND	ND	16,7.10 <sup>-3</sup>	1,5.10 <sup>-3</sup>	ND	6,5.10 <sup>-3</sup>	0,9.10 <sup>-3</sup>

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2000.

N = Nitrógeno.



Las sustancias minerales de la uva, como para el conjunto de los vegetales, proceden de los suelos y son vehiculizadas por la planta. Se localizan sobre todo en las partes sólidas de las bayas (pieles, paredes celulares de la pulpa, semillas) y en el raspón.

Estas sustancias cationes y aniones están presentes en el mosto en forma de sales minerales (halogenuros, sulfatos, fosfatos, etc.) y orgánicas (tartrato, malato, lactato, etc.) y subsisten en su mayor parte en el vino, pero en proporciones más débiles en algunos casos, dadas las insolubilidades que se producen durante las fermentaciones y durante el envejecimiento del vino. Eschnauer (1974) indica en su tratado las concentraciones del conjunto de estos elementos en mostos y vinos de numerosas regiones vitícolas europeas.

**Tabla 8.** Minerales y Elementos minerales.

MINERALES	MOSTOS O VINOS		
	Mínimo	Máximo	Media
Elementos	g L <sup>-1</sup>		
Potasio*	0.40	1.84	0,97
Calcio *	30.10 <sup>-3</sup>	0.20	70.10 <sup>-3</sup>
Magnesio	40.10 <sup>-3</sup>	0.16	90.10 <sup>-3</sup>
Sodio*	(3-30)10 <sup>-3</sup>	0,05-0,35	0,025 -0,1
Silicio	20.10 <sup>-3</sup>	90.10 <sup>-3</sup>	35.10 <sup>-3</sup>
Fosfato (PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> )	0.10	0.80	0,40
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> )	40.10 <sup>-3</sup>	0.60	0,10
Cloruros* (Cl)	10.10 <sup>-3</sup> - 60.10 <sup>-3</sup>	0.2-0,8	0,058
Oligo-elementos			
Hierro	25.10 <sup>-3</sup>	13.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-3</sup>
Manganeso	24.10 <sup>-3</sup>	7.5.10 <sup>-3</sup>	1,5.10 <sup>-3</sup>
Zinc	40.10 <sup>-6</sup>	7.8.10 <sup>-3</sup>	0,90.10 <sup>-3</sup>
Aluminio	0.1.10 <sup>-3</sup>	2.75.10 <sup>-3</sup>	0,76.10 <sup>-3</sup>
Cobre *	10.10 <sup>-6</sup>	1.8.10 <sup>-3</sup>	0,12.10 <sup>-3</sup>
Níquel	5.10 <sup>-6</sup>	90.10 <sup>-6</sup>	25.10 <sup>-6</sup>
Litio	5.10 <sup>-6</sup>	0.12.10 <sup>-3</sup>	30.10 <sup>-6</sup>
Cromo	4.10 <sup>-6</sup>	90.10 <sup>-6</sup>	20.10 <sup>-6</sup>
Molibdeno	1.10 <sup>-6</sup>	15.10 <sup>-6</sup>	4.10 <sup>-6</sup>
Cobalto	1.10 <sup>-6</sup>	15.10 <sup>-6</sup>	8.10 <sup>-6</sup>
Vanadio	4.10 <sup>-6</sup>	0.45.10 <sup>-3</sup>	59.10 <sup>-6</sup>
Bromuro	10.10 <sup>-6</sup>	2.6.10 <sup>-3</sup>	40.10 <sup>-6</sup>
Yoduro	2.10 <sup>-6</sup>	30.10 <sup>-6</sup>	10.10 <sup>-6</sup>
Elementos traza			
Fluoruros	40.10 <sup>-6</sup>	1.7.10 <sup>-3</sup>	0,2.10 <sup>-3</sup>
Plomo	10.10 <sup>-6</sup>	0.35.10 <sup>-3</sup>	60.10 <sup>-6</sup>
Arsénico	1.10 <sup>-6</sup>	12.10 <sup>-5</sup>	5.10 <sup>-6</sup>
Cadmio	10.10 <sup>-9</sup>	5.10 <sup>-5</sup>	1.10 <sup>-6</sup>
Selenio	0.2.10 <sup>-6</sup>	0.8.10 <sup>-6</sup>	0,4.10 <sup>-6</sup>
Mercurio	10.10 <sup>-9</sup>	60.10 <sup>-9</sup>	6.10 <sup>-9</sup>
Platino	ND	24.10 <sup>-6</sup>	1.10 <sup>-6</sup>
Cianuro	4.10 <sup>-6</sup>	66.10 <sup>-6</sup>	10.10 <sup>-6</sup>

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2000.

\* La concentración del elemento en los mostos depende del contenido en los suelos.

**Tabla 9.** Osas y Poliols.

OSAS Y POLIOLES	MOSTOS			VINOS					
				TINTOS			BLANCOS		
	Mín	Máx	Media	Mín	Máx	Media	Mín	Máx	Media
	g L <sup>-1</sup>			g L <sup>-1</sup>			g L <sup>-1</sup>		
Glucosa	70	125	95	0,01	0,95	0,15	0,09	0,50	0,17
Fructosa	70	125	95	0,01	0,83	0,25	0,04	0,78	0,34
Arabinosa	0,01	0,30	0,08	0,01	0,30	0,08	0,01	0,25	0,06
Xilosa	ND	0,15	0,04	ND	0,15	0,04	ND	0,12	0,03
Trealosa	ND	ND	0,02	0,03	0,65	0,30	0,02	0,50	0,25
Sacarosa	0,50	15	1,5	-	-	-	-	-	-
Galactosa	-	-	-	ND	0,13	ND	-	-	-
Glicerol	-	-	-	3	14	5,90	0,50	15	6,20
Butanodiol 2,3	-	-	-	0,35	1,50	0,72	0,42	1,25	0,65
Mesoinositol	0,32	0,75	0,40	0,11	0,69	0,37	0,18	0,68	0,40
Manitol	0,03	0,10	0,06	0,09	0,53	0,21	0,08	0,39	0,18
Eritritol	-	-	-	0,06	0,14	0,069	0,03	0,11	0,07
Arabitol	-	-	-	0,02	0,20	0,08	0,04	0,14	0,05
Xilitol	-	-	-	0,01	0,12	0,04	0,01	0,06	0,02
Ribitol	-	-	-	ND	0,08	0,02	ND	0,05	0,01
Sorbitol	ND	ND	0,01	0,07	0,19	0,12	0,03	0,11	0,07

Fuente: Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2000.

**Tabla10.** Polifenoles.

POLIFENOLES	VINO BLANCO		VINO TINTO	
	media	mín - máx	media	mín - máx
<b>No-Flavonoides</b>	(g L <sup>-1</sup> ) 10 <sup>-3</sup>		(g L <sup>-1</sup> ) 10 <sup>-3</sup>	
<b>Ácidos benzoicos</b>				
Ácido gálico	7	1 - 18	95	2 - 130
Ácido protocatéquico*	-	-	12	0,2 - 20
Ácido p-hidroxibenzoico*	-	-	5	0,2 - 15
Ácido vinílico*	-	-	4	0,3 - 10
Ácido siríngico*	-	-	8	1,3 - 15
Ácido sinápico*	-	-	1	0,3 - 2
<i>Ácidos hidroxicinámicos</i>				
Ácido caféico	4	0,4 - 8	10	0,3 - 26
Ácido p-cumárico	-	-	6	0,4 - 15
Ácido ferúlico	-	-	ND	0,1
Ácido cafeoiltartárico (caftárico)	50	1 - 225	60	7 - 200
Ácido p-cumaroiltartárico (cutárico)	15	0,2 - 70	15	2 - 20
Ácido 2-S-glutathionilcafeoiltartárico	20	5 - 50	-	-
<i>Fenoles volátiles</i>				

JUAN ESTEBAN MIÑO VALDÉS

4-vinilfenol	0,3	0,07 - 1	0,03	0 - 0.1
4-vinilguayacol	0,2	0,015 - 0,05	0,01	0 - 0,06
<b>Otros</b>				
Tirosol	-	-	25	1,7 - 80
Triptofol	-	-	8	0,9 - 18
Trans-resveratrol	0,04	ND - 1,1	1,5	0,6 - 10
Cis-resvertrol	5,6	0,011 - 0,221	0,7	0,2 - 3
Trans-piceido	0,16	0,02 - 0,45	1,5	1 - 4
Cis-piceido	0,12	0,025 - 0,45	0,3	0,3 - 2
<b>Flavonoides</b>				
<i>Antocianos</i>				
3-glucósido de delphinidol	-	-	ND	2 - 70
3-glucósido de cianidol	-	-	ND	0,4 - 30
3-glucósido de petunidol	-	-	ND	4 - 60
3-glucósido de malvidol	-	-	ND	24 - 240
Ester acético del 3 glucósido de malvidol	-	-	ND	1 - 12
Ester <i>p</i> -cumárico del 3 glucósido de petunidol	-	-	ND	1 - 8
Ester <i>p</i> -cumárico del 3 glucósido de malvidol	-	-	ND	2 - 35
<i>Flavonoles</i>	ND	Trazas	ND	10 - 80
3- glucósido de miricetol	-	-	3	2 - 6
3- glucósido de quercetol	-	-	9	3 - 30
Miricetol	-	-	10	2 - 20
Quercetol	-	-	10	3 - 20
Rutino *	-	-	15	2 - 35
<b>Flavanoles</b>				
Catequiza	35	1 - 46	190	8 - 400
Epicatequina	20	0,1 - 60	80	6 - 160
Procianidol B1	6	0,1 - 55	80	25 - 200
Procianidol B2	4	0,1 - 11	40	2 - 152
Procianidol B3	2	0,02 - 3	17	1 - 55
Procianidol B4	1,5	0,01 - 8	50	5 - 250
Procianidol A2 *	0,3	0,1 - 1	60	1 - 12
B1-3- <i>o</i> -galato	ND	0,02 - 0,1	ND	0,5 - 6
B2-3- <i>o</i> -galato	ND	0,04 - 1	ND	1 - 7
B2-3- <i>o</i> -galato	ND	0,02 - 0,1	ND	0,5 - 3
Procianidol C1	1	0,1 - 7	20	7 - 50
Trimero ec-ec-cat	ND	0,1 - 2	ND	7 - 66
<b>Flavanonoles</b>				
Alstibina	ND	0,1 - 2,3	-	-
Engeletina	ND	0,06 - 2	-	-

Fuente: Cheynier y Teissedre citado en Flanzly, 2000.

(\*) Valores obtenidos por coinyección con un compuesto testigo.

**Tabla 11.** Vitaminas.

VITAMINAS	MOSTOS	VINOS	
		Blancos	Tintos
	g L <sup>-1</sup>	g L <sup>-1</sup>	g L <sup>-1</sup>
Tiamina	0,16.10 <sup>-3</sup> -0,45.10 <sup>-3</sup>	2.10 <sup>-6</sup> - 58.10 <sup>-6</sup>	103.10 <sup>-6</sup> -245.10 <sup>-6</sup>
Riboflavina	3.10 <sup>-6</sup> - 60.10 <sup>-6</sup>	8.10 <sup>-6</sup> - 130.10 <sup>-6</sup>	0,47.10 <sup>-6</sup> -1,9.10 <sup>-6</sup>
Nicotinamida	0,68.10 <sup>-6</sup> - 2,6.10 <sup>-6</sup>	0,44.10 <sup>-6</sup> -1,33.10 <sup>-6</sup>	0,79.10 <sup>-6</sup> -1,7.10 <sup>-6</sup>
Ácido pantoténico	0,5.10 <sup>-6</sup> - 1,4.10 <sup>-6</sup>	0,55.10 <sup>-6</sup> -1,20.10 <sup>-6</sup>	0,13.10 <sup>-6</sup> -0,69.10 <sup>-6</sup>
Piridoxina	0,16.10 <sup>-6</sup> - 0,5.10 <sup>-6</sup>	0,12.10 <sup>-6</sup> -0,67.10 <sup>-6</sup>	0,13.10 <sup>-6</sup> -0,68.10 <sup>-6</sup>
Colina	19.10 <sup>-6</sup> - 45.10 <sup>-6</sup>	19.10 <sup>-6</sup> - 27.10 <sup>-6</sup>	20.10 <sup>-6</sup> - 43.10 <sup>-6</sup>
Biotina	1,50.10 <sup>-6</sup> - 4,2.10 <sup>-6</sup>	1.10 <sup>-6</sup> - 3,6.10 <sup>-6</sup>	0,6.10 <sup>-6</sup> - 4,6.10 <sup>-6</sup>
Ácido fólico	0 - 1,8.10 <sup>-6</sup>	0,40.10 <sup>-6</sup> -4,50.10 <sup>-6</sup>	0,4.10 <sup>-6</sup> - 4,5.10 <sup>-6</sup>
Ac. <i>p</i> -aminobenzoico	15.10 <sup>-6</sup> - 92.10 <sup>-6</sup>	15.10 <sup>-6</sup> - 133.10 <sup>-6</sup>	15.10 <sup>-6</sup> - 133.10 <sup>-6</sup>
Cianocobalamina	0 - 0,20.10 <sup>-6</sup>	0 - 0,16.10 <sup>-6</sup>	0,04.10 <sup>-6</sup> -0,10.10 <sup>-6</sup>
Mesoinositol	0,38.10 <sup>-3</sup> -0,71.10 <sup>-3</sup>	0,38.10 <sup>-3</sup> -0,17.10 <sup>-3</sup>	0,29.10 <sup>-3</sup> -0,33.10 <sup>-3</sup>
Ácido ascórbico	30.10 <sup>-3</sup> - 50.10 <sup>-3</sup>	1,10 <sup>-3</sup> - 5.10 <sup>-3</sup>	1.10 <sup>-3</sup> - 5.10 <sup>-3</sup>

**Fuente:** Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2000.

## VARIETADES DE *VITIS LABRUSCA*

La uva *Isabella* es un híbrido franco-americano cultivada en limitadas extensiones de tierra en el estado de Nueva York. También encontrada aún en regiones más frías de Europa oriental. Derivado de la nativa *Vitis Labrusca* de Norteamérica y una variedad vinífera desconocida, probablemente creada por polinización aleatoria como resultado de los intentos del siglo XVIII para implantar vides europeas en los EE.UU.

El término híbrido indica que, a diferencia de muchas de las vides evolucionadas naturalmente y sus cruzamientos (cubiertos anteriormente), dos o más vides derivaron de diferentes especies y han sido cruzadas genéticamente por intervención humana para producir una única especie que combina las mejores características posibles de las vides predecesoras y eliminan las debilidades dentro de lo posible.

El término “franco-americano” indica que los dos desprendimientos provienen, por un lado de una vid europea, la *Vitis vinífera* y, por otro de la *Vitis Labrusca* que evolucionó de una vid nativa de América del Norte, la *Vitis Labrusca*. Muchos de estos híbridos fueron creados como una respuesta a los extremos de temperaturas estacionales comúnmente encontrados en las zonas del Norte de Europa y Norteamérica; y por su resistencia a diversas enfermedades que pueden afectar a

la mayoría de los cultivos de vid transplantados después de su importación de Norteamérica a Europa.

La otra variedad de uva de mesa (pero que en realidad es de doble propósito) es la *Niágara*. La planta es rústica y de vigor medio.

En 1933 en Louveira, Brasil, apareció una mutación somática de la *Niágara Blanca*, a la que se le llamó rosada en obvia alusión a su color. Es una uva muy apreciada por su sabor y aroma característico, propiedades que confiere a los vinos que con ella se elaboran. En Misiones tiene la ventaja de cosecharse en época navideña, lo que asegura su mercado tanto por la ocasión especial de las festividades como por ser primicia respecto de las variedades del sur que aparecen recién en enero.

*Niágara* es una vid nativa americana pura *Vitis Labrusca* por lo que se adapta muy bien a nuestro clima. De piel rosada, muy aromática y de buen sabor, inicia su cosecha hacia la Navidad por lo que no tiene la característica de ser primicia, y además posee semillas.

Sin embargo es una variedad que se vende fácilmente como fruta fresca y lo que no se logra comercializar de esta manera se puede vinificar, tiene buena aceptación como vino por ser muy aromático, podría convertirse en el “torrontés misionero”. ([www.inta.gov.ar](http://www.inta.gov.ar), 2007).

## RELACIONES LEVADURA-MEDIO

La fermentación alcohólica constituye una de las etapas más importantes de la elaboración de los vinos; es conducida por las levaduras. Aunque en mayor o menor medida, puede intervenir un cierto número de especies e incluso de géneros, es claro que el papel principal lo realiza la *Saccharomyces cerevisiae*.

Como en toda vinificación, tres criterios permiten la optimización de esta fase de gran importancia en la transformación del mosto en vino: un buen inicio de fermentación, un buen desarrollo de la fermentación y un buen seguimiento de la fermentación.

Un buen inicio en la fermentación se caracteriza por la rápida puesta en marcha de la actividad de las levaduras. Esto implica dos exigencias: por una parte, una fuerte población de levaduras viables, bien adaptadas a las características de los mostos y a las condiciones de

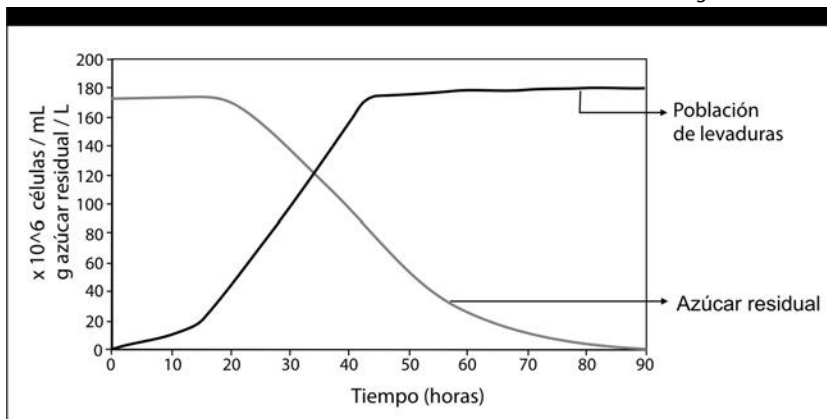
fermentación; por otra parte, concentraciones suficientes en nutrientes para las levaduras.

La fermentación alcohólica en condiciones enológicas se efectúa en condiciones muy específicas, lo que explica el poco número de trabajos llevados a cabo en este ámbito. Además la cantidad de oxígeno disponible en el mosto al comienzo de la fermentación menor a 10 mg de O<sub>2</sub> por litro. El metabolismo de la *S. cerevisiae* en tales condiciones es pues estrictamente fermentativo.

El mosto de uva se caracteriza por tener una alta concentración de azúcares fermentables (de 140 a 260 g L<sup>-1</sup>) según el grado de madurez de la uva (cantidades equivalentes de glucosa y fructosa). Este mosto se caracteriza también por una muy fuerte acidez (pH entre 3,0 y 3,5). La fermentación completa del mosto por *S. cerevisiae* conduce a la producción de 8 a 15% (v/v) de etanol, y otros co-productos fermentativos tales como el glicerol (6 a 8 g L<sup>-1</sup> en promedio), ácidos orgánicos tales como el acético, el succínico y el pirúvico en cantidades menores a 1 g L<sup>-1</sup>, y también alcoholes superiores y ésteres.

Por último, cabe destacar que se observa sistemáticamente en condiciones enológicas un desacoplamiento entre fase de crecimiento y consumo de azúcares, ya que una proporción importante de los azúcares es consumida durante la fase estacionaria. (Figura 1). (Salmon citado en Flanzy, 2000).

**Figura 1.** Evoluciones típicas de la población celular y de la concentración en azúcares residuales durante la fermentación alcohólica en condiciones enológicas.



## INCORPORACIÓN DE SUSTRATOS

### Transporte de los Azúcares

En condiciones enológicas, los azúcares fermentables por la levadura son exclusivamente la glucosa y la fructosa que están presentes en elevadas concentraciones.

En estas condiciones, el transporte de estas hexosas hacia el interior de la célula se efectúa por medio de sistemas de transporte caracterizados por su débil afinidad por la glucosa ( $K_m = 10$  a  $20$  mM) y la fructosa ( $K_m = 50$  a  $70$  mM). (Serrano y Delafuente, 1974).

Unos estudios recientes han mostrado que el transporte de los azúcares en *S. cerevisiae* es extremadamente controlado y particularmente complejo.

*S. cerevisiae* posee un sistema multigénico de transportadores de glucosa como el observado en las células superiores (mamíferos). Entre 11 genes sospechosos de estar implicados en este transporte de hexosas, solamente 2 (HXT1 Y HXT3) están realmente activos en condiciones enológicas (debido a la fuerte concentración de azúcares en el medio) (Bissón y col., 1993; Ozcan y Johnston, 1995). Esta actividad de transporte de las hexosas está regulada por la disponibilidad de nitrógeno asimilable en el medio exterior y por la actividad de síntesis proteica de las células, en el momento en que la actividad de síntesis proteica decrece o cesa, se observa una disminución de la actividad de transporte de las hexosas (fenómeno llamado inactivación catabólica). (Basturia y Lagunas, 1986). Esta disminución de actividad se correspondería con un secuestro de los transportadores membranares por endocitosis, seguido de una degradación posterior de estos transportadores por proteólisis.

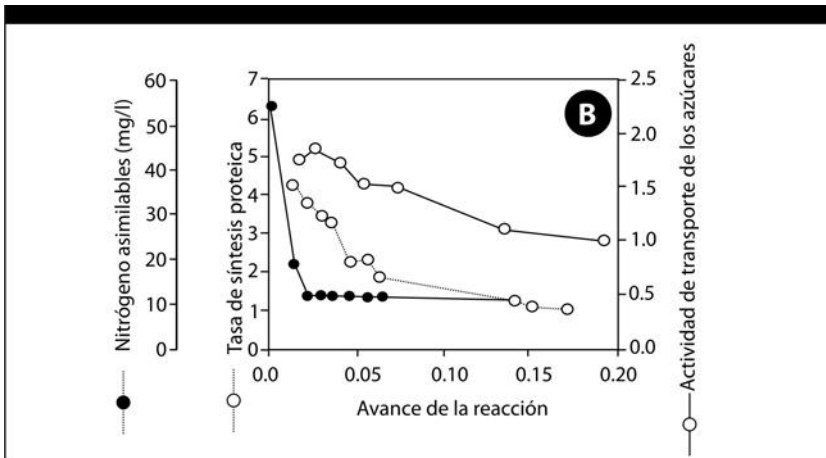
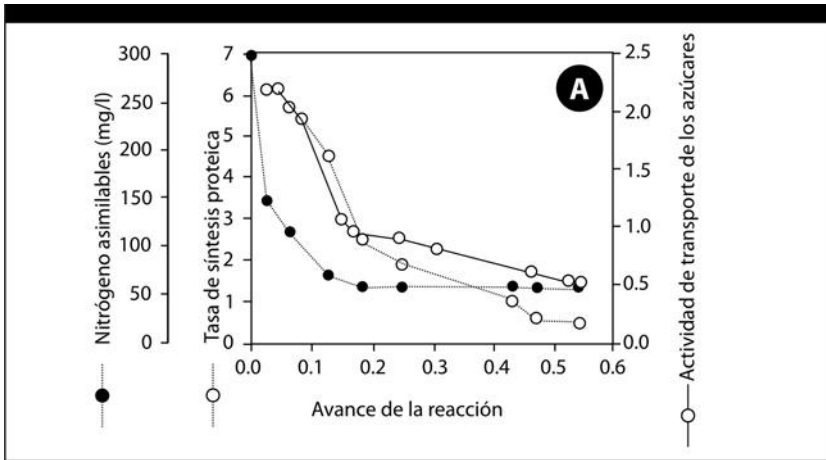
En condiciones enológicas, la tasa de síntesis proteica comienza a decrecer muy pronto durante la fermentación, antes de que se alcance un nivel de biomasa máximo. (Salmon, 1989). El fenómeno de inactivación catabólica de los sistemas de transporte de las hexosas interviene entonces y es especialmente acelerado cuando se tienen carencias en el medio en nitrógeno asimilable. (Figura 2). (Salmon y col., 1993).

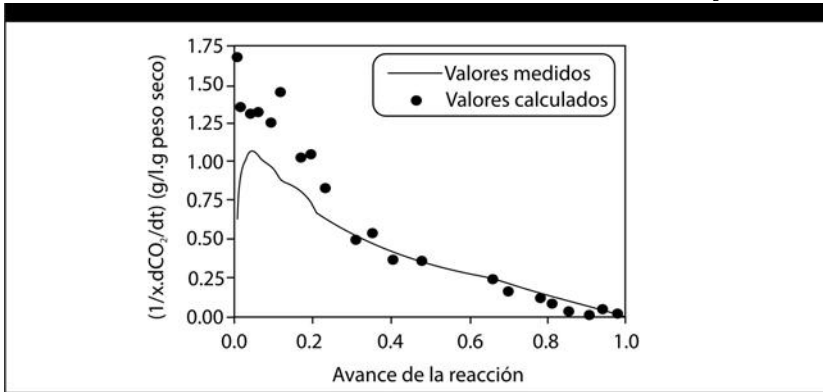
La importancia de este fenómeno en enología es grande ya que, en estas condiciones, la actividad de transporte de las hexosas representa el principal factor limitante de la fermentación alcohólica en fase estacionaria: alrededor del 50 a 70% de la fermentación alcohólica es realizada por células en fase estacionaria, para las que se ha encontrado



una estrecha relación entre velocidad de fermentación medida experimentalmente y la velocidad de fermentación deducida de las velocidades de transporte de los azúcares sobre mostos reales. (Salmon y col., 1993). (Figura 3).

**Figura 2.** Evolución del N asimilable en el mosto, tasa de síntesis proteica y velocidad de transporte de los azúcares en la primera mitad de la fermentación. Conc. inicial de N en el mosto: A = 300 mg N/L; B = 60 mg N/L.



**Figura 3.** Evolución de la velocidad específica de producción de CO<sub>2</sub>.

Una adición de N asimilable durante la fase estacionaria, pero siempre y cuando no se realice de forma demasiado tardía, permite restaurar parcialmente una actividad de síntesis proteica y en consecuencia, una reactivación de los sistemas de transporte de las hexosas, restaurando así una cierta actividad fermentativa. (Bely y col., 1994).

### Transporte e incorporación de Vitaminas

*S. cerevisiae* en condiciones enológicas requiere necesariamente las siguientes vitaminas para su crecimiento: biotina, ácido pantoténico, mioinositol y ácido nicotínico. (Ough y col., 1989). La tiamina es un caso particular ya que la levadura, aunque es capaz de sintetizarla de *novo*, ve su crecimiento acelerado y ampliado en presencia de esta vitamina. Estas diferentes vitaminas están presentes generalmente en cantidad suficiente en los mostos de uva, excepto en casos raros debidos a determinados tratamiento prefermentativos. (Ough y col., 1989). Los sistemas de transporte conocidos para algunas de estas vitaminas son sistemas de transporte activos específicos, muy eficaces y generalmente reprimidos por las fuertes concentraciones de la vitamina transportada. (Tabla 12).

**Tabla 12.** Sistemas de transporte de Vitaminas en *S. cerevisiae*.

VITAMINAS	CARACTERISTICAS	REFERENCIAS
Biotina	Km aparente 0,3 $\mu$ M Factor de concentración 1.100	Rogers y Lichstein, 1969 a,b
Inositol	Km aparente 0,1 mM Factor de concentración 35	Nikita et al., 1982
Tiamina	Km aparente 0,1 $\mu$ M Factor de concentración 10.000	Iwashima et al., 1973 Iwashima y Nose, 1976

**Fuente:** Salmon citado en Flanzy, 2000) (Tabla 12).

El sistema de transporte de la tiamina requiere una atención particular por su rapidez y su eficacia: en condiciones enológicas, unas poblaciones de *Saccharomyces cerevisiae* de  $10^6$  y  $10^5$  células por mL pueden agotar totalmente la tiamina de un mosto en solamente 2 y 12 horas respectivamente. (Bataillon y col., 1996).

### Transporte de los Compuestos Nitrogenados

El mosto de uva contiene una gran cantidad de compuestos nitrogenados susceptibles de ser asimilados por la levadura: iones amonio libres ( $\text{NH}_4^+$ ), aminoácidos, péptidos, y pequeños polipéptidos. La variabilidad cualitativa y cuantitativa de estas fuentes de N en el mosto depende en gran medida de factores vitícolas: la concentración en N total puede variar así de 60 a 2.400  $\text{mg L}^{-1}$ , la concentración en iones ( $\text{NH}_4^+$ ) puede variar de 19 a 240  $\text{mg L}^{-1}$ . (Henscke y Jiranek, 1991).

El ión amonio, los aminoácidos y ciertos péptidos de bajo peso molecular pueden, por lo tanto, ser incorporados en la célula y posteriormente metabolizados. Las diferencias observadas entre las velocidades de absorción de los diversos aminoácidos y del ión amonio en condiciones enológicas han llevado a clasificar estos compuestos en 4 grupos que se corresponden con velocidades decrecientes. (Tabla 13).

**Tabla 13.** Aminoácidos según su Velocidad de Asimilación por *S. cerevisiae* en Condiciones Enológicas.

GRUPOS	CARACTERÍSTICAS	COMPUESTOS
A	Rápidamente absorbidos	Arginina, Ácido aspártico, Asparagina, Glutamina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Serina, Tironina y $\text{NH}_4^+$
B	Lentamente absorbidos	Ácido glutámico, Alanina, Histidina, Metionina, Fenilalanina, Valina.
C	Absorbidos únicamente tras agotar el mosto en comp. de los puntos A y B	Glicina, Triptófano, Tirosina
D	Absorción parcial o nula	Prolina

**Fuente:** Jiranek y col., 1990.

Adiciones de Nitrógeno más tardías, durante la fase estacionaria, no han confirmado las clases anteriores. (Manginot y col., 1996).

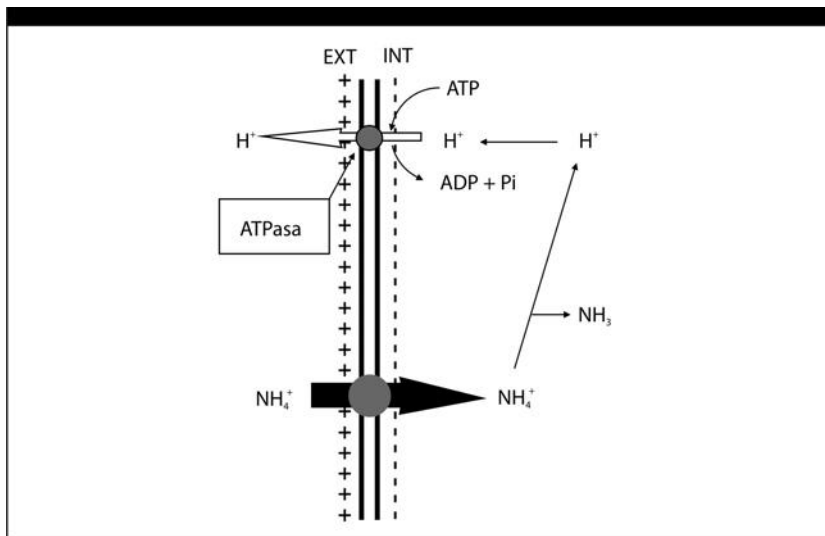
El transporte del ión amonio en *S. cerevisiae* se efectúa por medio de un unipuerto electroforético acumulativo que permite alcanzar concentraciones intracelulares del orden de 850 a 1000 veces la concentración extracelular. (Dubois y Greson, 1979). (Figura 4).

## VÍAS METABÓLICAS

### Metabolismo de los Azúcares

La primera etapa de la fermentación alcohólica, una vez efectuada la entrada de la glucosa o de la fructosa en la célula, es la fosforilación del azúcar.

**Figura 4.** Esquema de funcionamiento del unipuerto electroforético acumulativo responsable de la entrada del ión amonio en *S. cerevisiae*.



Esta etapa es muy rápida y tan eficaz que es imposible dosificar la fructosa o la glucosa libre en la célula en concentraciones superiores a  $70 \text{ mg L}^{-1}$  de citoplasma, incluso en la fermentación en medios que contienen concentraciones en azúcares superiores a  $200 \text{ g.L}^{-1}$ . (Becker y Betz, 1972). Esta etapa de fosforilación se basa seguramente en condiciones enológicas en la intervención de 2 enzimas hexocinas PI y PII, las que son capaces de fosforilar la glucosa y la fructosa pero con rendimientos diferentes (relación 3:1 a favor de la glucosa), mientras que la enzima glucocinasa fosforila exclusivamente la glucosa. Estas diferencias explican por qué la glucosa es consumida a una velocidad más importante que la fructosa en el transcurso de la fermentación y como consecuencia, al final de la fermentación, la concentración relativa de la fructosa es más elevada que la de glucosa. (D' Amore y col., 1989).

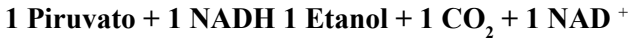
El mecanismo del metabolismo de los azúcares se basa en la transformación de los azúcares-fosfatos en piruvato a través de la vía clásica de la glicólisis.

Las hexosas-fosfatos (fructosa 6-fosfato y glucosa 6-fosfato) son unas moléculas importantes ligadas a otros metabolismos secundarios, especialmente al de la síntesis de los polisacáridos, moléculas que intervienen en la síntesis de la pared de la levadura. El conjunto de la glicólisis conduce a la formación de 2 moléculas de piruvato por molécula de azúcar metabolizada siguiendo las reacciones globales siguientes:



Aunque numerosas enzimas de esta vía se han revelado como enzimas-claves del metabolismo en *S. cerevisiae* (especialmente por su modo de regulación) parece, sin embargo, que su superproducción por métodos de la ingeniería genética no afecta el nivel de metabolitos de la vía en sí misma, ni a la velocidad de producción del etanol. (Schaaf y ot., 1989; Van de Aar y col., 1990). Parece, pues, que la glicólisis no constituye una etapa limitante del metabolismo en la fermentación alcohólica.

En anaerobiosis, el piruvato está principalmente orientado hacia la producción de etanol para regenerar el cofactor  $\text{NAD}^+$  consumido a nivel de gliceraldehído 3-fosfato. (Figura 5). (Salmon citado por Flanzy, 2000). El piruvato es pues descarboxilado en acetaldehído por el enzima piruvato descarboxilasa, el acetaldehído es reducido en etanol por medio de la enzima alcohol deshidrogenasa. Es en esta fase cuando se produce una molécula de  $\text{NAD}^+$  siguiendo la reacción siguiente:



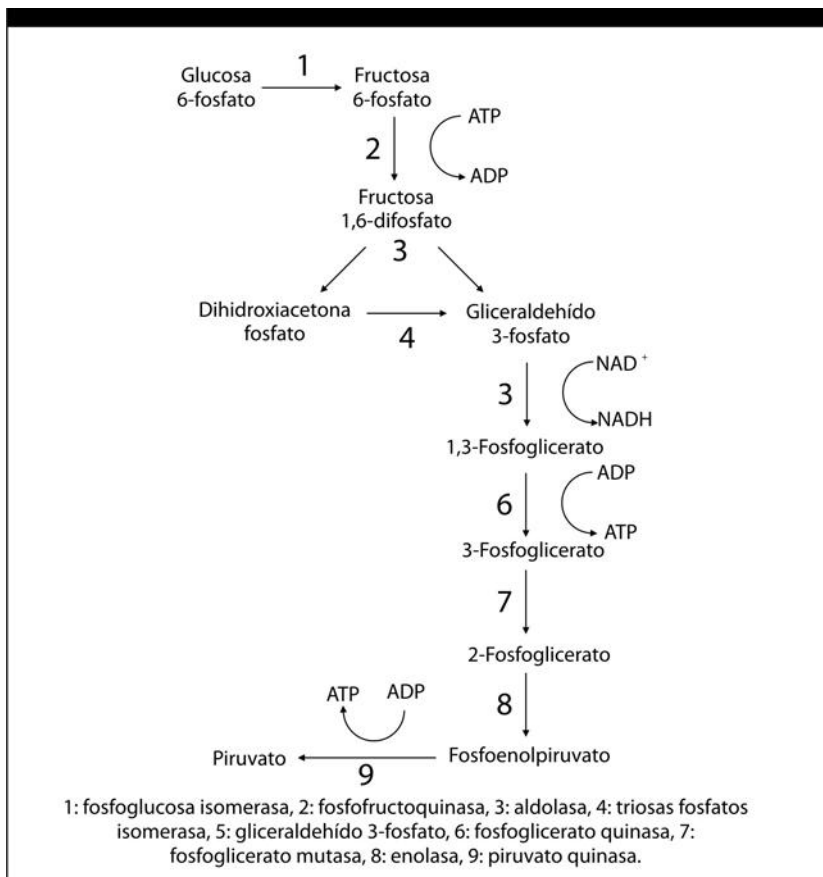
El balance global de la fermentación alcohólica es pues el siguiente:



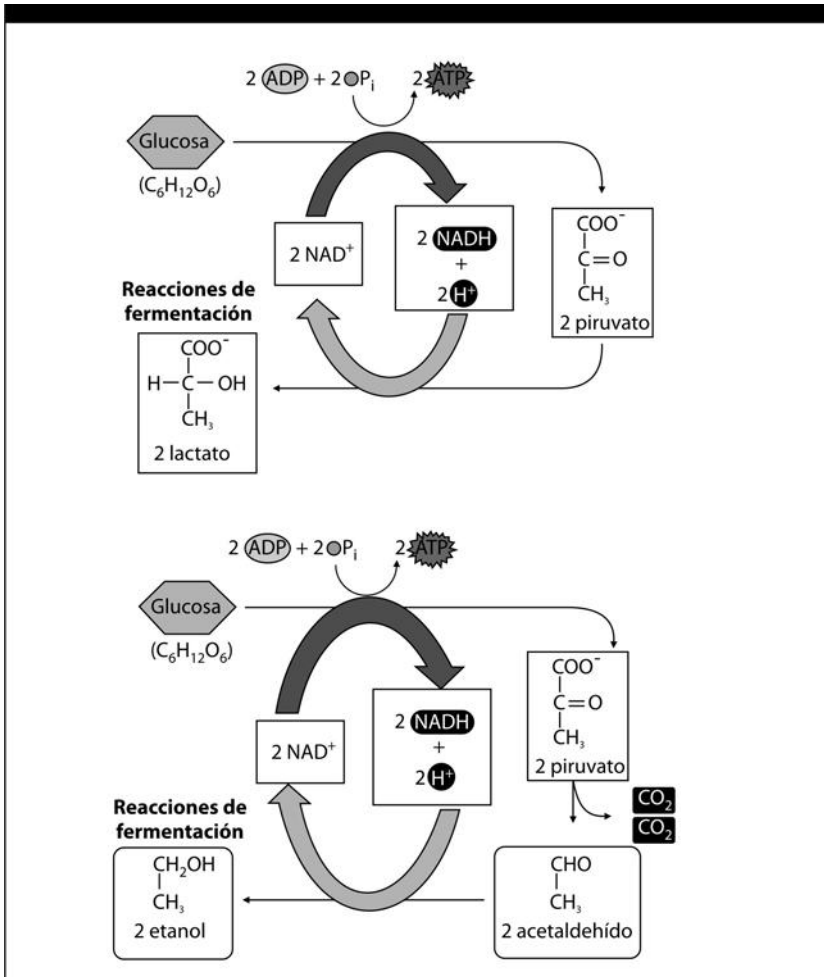
En cualquier caso, durante la fermentación alcohólica se producen otros subproductos fermentativos y sobre todo biomasa, a partir de los azúcares. Su producción siempre es pequeña en comparación con la cantidad de azúcares transformados en etanol y gas carbónico.

El esquema de la fermentación del ácido láctico y la fermentación alcohólica se observa en la Figura 6. (Purves, y col., 2005).

**Figura 5.** Esquema de funcionamiento de la vía de la glicólisis.



**Figura 6.** Fermentación del ácido láctico y Fermentación alcohólica.



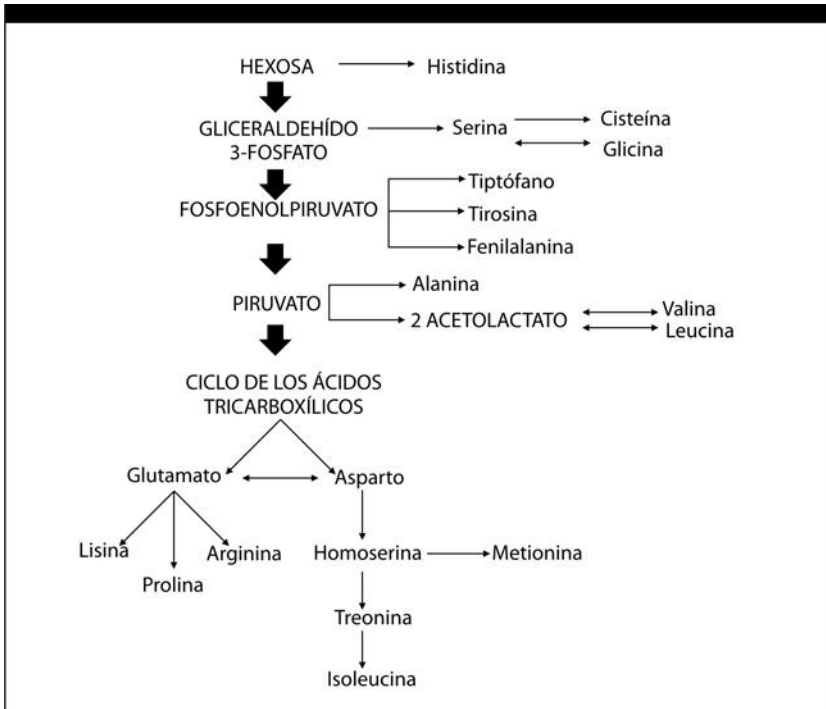
## Metabolismo del Nitrógeno

*S. cerevisiae* debe sintetizar durante su crecimiento todas las proteínas que le son necesarias, incluso aunque no tenga la posibilidad de incorporar en un momento dado la totalidad de las fuentes de nitrógeno a su disposición en el mosto. Esta constatación explica porqué la levadura en condiciones enológicas debe ser capaz de sintetizar el conjunto de los aminoácidos de los que tiene necesidad a partir de las fuentes de nitrógeno disponibles, con este fin *S. cerevisiae* posee extraordinarias



capacidades de transaminación entre aminoácidos y ácidos  $\alpha$ -cetónicos. De hecho, la levadura es capaz, a partir de un aminoácido exógeno transportado, de incorporarlo directamente en una proteína, o bien de utilizar como fuente de carbono después de la desaminación, o como precursor en la síntesis de otro aminoácido después de la desaminación. La *S. cerevisiae* realiza muy pocos reajustes de esqueletos carbonados entre aminoácidos incorporados. (Jones y col., 1969). La síntesis de los aminoácidos en *S. cerevisiae* se basa pues en la existencia de los esqueletos carbonados correspondientes. Es por esta razón que existe una relación directa entre los compuestos intermedios del metabolismo de los azúcares y los aminoácidos. (Figura 7). (Salmon citado en Flanzy, 2000).

**Figura 7.** Filiación entre aminoácidos y precursores carbonados procedentes del metabolismo de los azúcares.

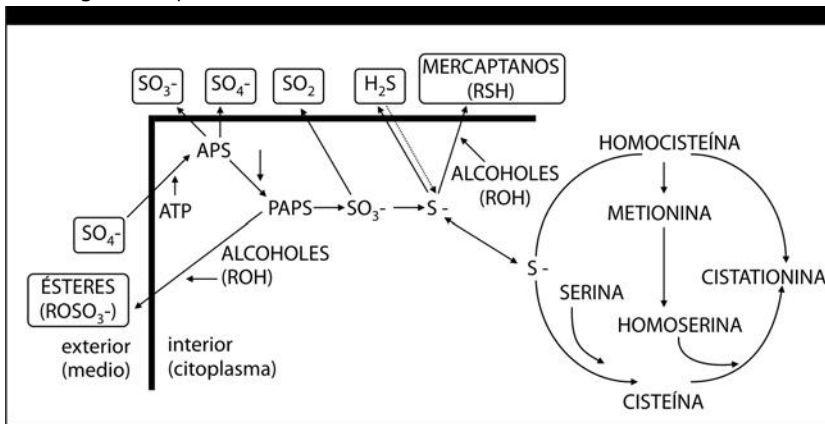


## Metabolismo del Azufre

El metabolismo del azufre en *S. cerevisiae* -(Figura 8) (Salmon citado por Flanzy, 200)- reviste una importancia particular en enología, debido al papel significativo que tienen los compuestos azufrados en el equilibrio organoléptico de los vinos. Estos compuestos son de hecho generalmente volátiles, muy reactivos y se perciben en muy débiles concentraciones. (Schutte, 1975).

La levadura puede incorporar y metabolizar los compuestos azufrados ya presentes en el mosto -sulfatos, aminoácidos azufrados, glutatión, tiamina, biotina- pero también puede producir diferentes clases de compuestos azufrados susceptibles de ser excretados en el medio: -sulfitos, sulfuro de hidrógeno, dimetilsulfuro, mercaptanos, tioésteres, sulfuro y disulfuro de carbono, etc. (Rauhut, 1992).

**Figura 8.** Esquema abreviado del metabolismo del azufre en la levadura.



## Productos Formados por el Metabolismo

Cuando el mosto de uva es inoculado con *S. cerevisiae*, la producción de etanol no es inmediata. (Pena y col., 1972). En efecto, ciertas enzimas esenciales de la fermentación alcohólica (piruvato decarboxilasa y alcohol deshidrogenasa I) son inducibles por glucosa (Rieger y col., 1983; Sharma y Tauro, 1986) y son pues expresadas en sus niveles máximos al principio de la fermentación alcohólica. En consecuencia, numerosos compuestos además del etanol, son formados al comienzo de la fermentación: glicerol, piruvato, succinato y otros ácidos orgáni-

cos. (Ribéreau-Gayon y col., 1956 a, 1956 b). Además, la biosíntesis de elementos carbonados -aminoácidos y azúcares especialmente- necesarios en la elaboración de la biomasa se efectúa a partir del metabolismo de las hexosas y no conduce pues a la formación de etanol. En estas condiciones, se forman numerosos subproductos fermentativos con el fin de restablecer los balances de equilibrio químico en la célula.

## **Crecimiento y Biomasa**

La fase de crecimiento y la fase estacionaria son fases orientables y muy distintas en condiciones enológicas. (Figura 1). La fase de crecimiento no es una fase de crecimiento exponencial real más que durante un corto intervalo de tiempo al comienzo del crecimiento. Las levaduras durante esta fase de crecimiento solo se multiplican durante 6 o 7 generaciones, generando así una población máxima de alrededor de  $(120 - 130) \cdot 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  para una inoculación inicial de alrededor de  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Esta biomasa final solo representa aproximadamente 3 g  $\text{L}^{-1}$  (peso seco). El crecimiento de las levaduras es naturalmente dependiente de ciertas carencias nutricionales de los mostos, especialmente en nitrógeno asimilable (Bely y col., 1990) y más particularmente en tiamina. (Bataillon y col., 1996). El oxígeno en pequeñas cantidades (algunos  $\text{mg L}^{-1}$ ) es necesario para un buen crecimiento celular. (Sablayrolles y Barre, 1986). Interviene en la síntesis de los esteroides y de los ácidos grasos insaturados, constituyentes esenciales de la membrana plásmica. (Andreassen y Stier, 1953, 1954).

**Tabla 14.** Genes Específicos de fase estacionaria en *S. cerevisiae* en Condiciones de Laboratorio y Enológicas.

GENES	CONDICIONES DE LABORATORIO	CONDICIONES ENOLÓGICAS
CPS 1	Limitaciones en iones $\text{NH}_4^+$	Constitutivo (fases de crecimiento y estacionario).
STI 1	Proteínas de estrés	Constitutivo (fases de crecimiento y estacionario).
SSA 3	Gen de expresión tardía	Jamás detectado
YVH 1	Limitación en Nitrógeno asimilable	Jamás detectado
RVS 161	Esencial para la viabilidad celular cuando se tiene una limitación en N asimilable	Jamás detectado
GAC 1	Expresión paralela de a la acumulación de glicógeno	Jamás detectado
MSI 3	Supresor de la sensibilidad al estrés térmico	Jamás detectado

La fase estacionaria es una fase importante pues representa la adaptación de la levadura al medio, (Figura 1), además de ser una fase no comprendida totalmente. En condiciones enológicas, sus características se alejan notablemente de las descritas en medios de laboratorio, medios en los cuales se ejerce a menudo limitaciones en cuanto a sustratos o nutrientes que condicionan la entrada en fase estacionaria. En este sentido, un estudio reciente (Riou y col., 1996) ha podido demostrar que los genes clásicamente descritos como específicos de la fase estacionaria de *S. cerevisiae* no obedecen a los mismos criterios en condiciones enológicas. (Tabla 14). Esta fase estacionaria, durante la cual se efectúa una gran parte de la fermentación alcohólica, reviste pues una importancia particular en cuanto a los fenómenos de adaptación de *S. cerevisiae* al medio que lo rodea.

## **Etanol**

El etanol representa el producto principal de la fermentación alcohólica, y puede alcanzar concentraciones extracelulares de hasta 12 a 14% (v/v) en fermentación normal. Es corriente admitir que la síntesis de grado de etanol (1% v/v) en fermentación alcohólica representa un consumo comprendido entre 16,5 y 17 gramos por litro de azúcares reductores (glucosa o fructosa). Después de largos años de controversia, debido especialmente a la torpeza de los protocolos experimentales utilizados, ahora se admite que *S. cerevisiae* no acumula etanol en el seno

de su citoplasma durante la fermentación alcohólica -(Dasari y col., 1983; Guijarro y Lagunas, 1984; Dombek e Ingram, 1986)-, en la membrana celular que presenta una gran permeabilidad frente a pequeñas moléculas hidrófilas como el etanol, el etanol se equilibra simplemente entre una parte y otra de la membrana plásmica por simple difusión. (Jones, 1998).

## **CO<sub>2</sub>**

En importancia, el gas carbónico representa el segundo producto de la fermentación alcohólica. Según las cepas de *S. cerevisiae* utilizadas y en condiciones enológicas, se puede considerar un rendimiento medio en CO<sub>2</sub> de 0,4 a 0,5 gramos de CO<sub>2</sub> por gramo de azúcares degradados. Aunque los efectos del gas carbónico sobre los organismos son conocidos desde hace mucho tiempo, los diferentes efectos de las dos especies presentes en fermentación (CO<sub>2</sub> molecular y bicarbonato HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) permanecen aún desconocidos. (Jones y ot., 1981). En efecto, por debajo de valores de presión parcial de CO<sub>2</sub> de 0,15 a 0,20 atm, no se afecta el crecimiento y la actividad de la levadura es más bien estimulada. Por encima de estos valores, el crecimiento y la actividad metabólica son reducidas. (Jones y Greenfield, 1982). A valores de pH externos como los encontrados en condiciones enológicas (pH muy ácido), se admite que solo la fracción de CO<sub>2</sub> disuelta difunde a través de la membrana de la levadura, y no la especie bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). En cambio, en el interior de la célula siendo el pH intracelular próximo a la neutralidad, la forma preponderante es el ión bicarbonato. Esta molécula puede ejercer efectos inhibidores frente al metabolismo cuando su concentración intracelular sobrepasa 10 a 20 mM.

## **Glicerol**

Aunque la producción de etanol representa la vía principal de regeneración de NAD<sup>+</sup> en la fermentación alcohólica, existe otra vía importante que permite consumir NADH y por consiguiente regenerar el NAD<sup>+</sup>, se trata de la vía de producción del glicerol.

Las concentraciones de glicerol alcanzadas en condiciones de fermentación enológicas varían normalmente entre 5 y 11 gramos por litro según las cepas de levadura. En *S. cerevisiae*, el glicerol así formado

deja la célula por difusión pasiva. (Gancedo y col., 1968). La producción de glicerol le sirve también a la levadura para hacer frente a las fuertes presiones osmóticas, acumulando mayor concentración de glicerol en su citoplasma, el exceso de glicerol deja la célula por difusión simple (sin intervención de la proteína específica).

## **Ácidos Orgánicos**

Durante la fermentación alcohólica se forman más de una centena de ácidos orgánicos, su origen depende principalmente de tres vías del metabolismo de la levadura.

Un cierto número (entre ellos acetato, succinato,  $\alpha$ -cetoglutarato, malato y citrato) derivan directamente del piruvato por un funcionamiento limitado del ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Estos ácidos orgánicos pueden tener un efecto directo sobre la característica organoléptica del producto acabado, e intervienen en el valor del pH del vino. Entre estos ácidos orgánicos el succinato representa, como el glicerol, uno de los subproductos mayoritarios de la fermentación. Las concentraciones alcanzadas al final de la fermentación son inferiores al gramo por litro y pueden representar de 0,3 a 0,5% de los azúcares fermentados. (Oura, 1977).

## **Adaptación de la Célula al Medio**

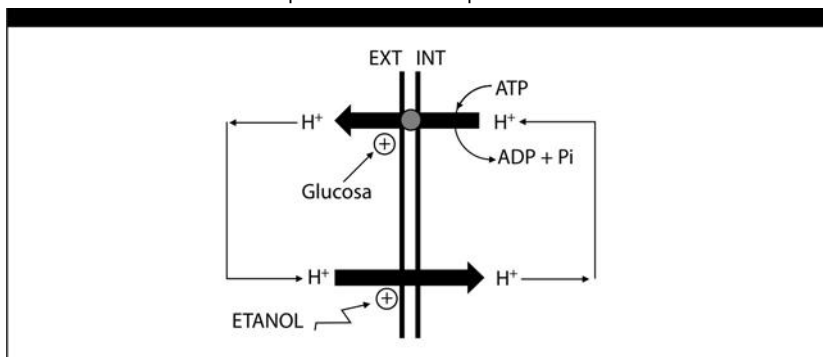
La levadura *S. cerevisiae*, en las condiciones de fermentación de tipo enológico, se encuentra confrontada, especialmente durante la fase estacionaria, a un conjunto de condiciones fisicoquímicas particularmente desfavorables. El estudio de estas condiciones particulares se ha tratado a menudo estudiando el impacto de cada factor independientemente de los otros. En cualquier caso, es necesario tener en cuenta que en condiciones reales de fermentación, estos factores en su conjunto intervienen normalmente de manera sinérgica, reforzando así sus efectos tóxicos.

## Efectos del Etanol y del Oxígeno

La fase tardía de la caída de la actividad fermentativa está caracterizada por un aumento sensible del etanol en el medio. El etanol influye sobre todo en esta parte de la fermentación perturbando la permeabilidad de la membrana citoplásmica y disminuyendo su selectividad. (Alexandre y col., 1994; Leao y Van Uden, 1980, 1984). A nivel de membrana, el etanol parece sobre todo acelerar el influjo pasivo de protones del mosto (medio ácido, pH # 3,0) hacia el interior de la célula. (Juroszek y col., 1987; ver figura 9).

Para mantener un pH intracitoplasmático próximo a la neutralidad, *S. cerevisiae* debe activar su ATPasa membranar -bomba de protones-, actividad consumidora de energía y en sí misma sensible al etanol. (Rosa y Sa-Correia, 1991). (Figura 9).

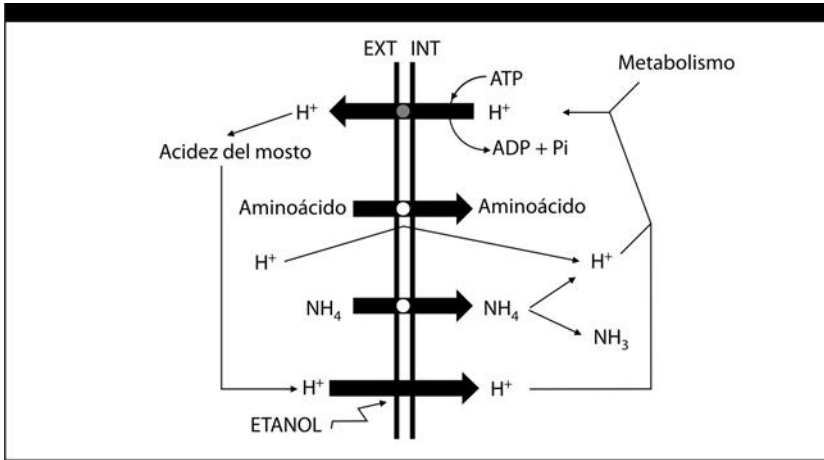
**Figura 9.** Efecto esquemático del etanol sobre la fluidez de la membrana plásmica y su permeabilidad a los protones.



Al mismo tiempo, la actividad ATPasa de la membrana plásmica está también implicada en numerosas componentes de sistemas de transporte (excreción de protones generados por el metabolismo, entrada de sustratos nitrogenados, excreción de ácidos orgánicos, etc. (Figura 10 ). (Salmon citado en Flanzy, 2000).

El aumento de la permeabilidad membranar a los protones puede, por tanto, tener múltiples consecuencias, y finalmente conducir a una fuerte bajada de la viabilidad celular.

**Figura 10.** Papel esquemático de la ATPasa de protones de membrana plásmica en el transporte de los nutrientes y la regulación del pH intracelular.



Aunque sea posible demostrar por métodos fisicoquímicos que se observa un aumento de la fluidez membranar en presencia de etanol (Alexandre y ot., 1994), existen pocos datos sobre la modificación concomitante de la composición de la membrana.

Están disponibles únicamente algunos datos sobre la respuesta de *Saccharomyces cerevisiae* a un pulso débil de etanol durante el crecimiento.

Así, en tales condiciones, diversos autores han podido poner en evidencia, en el seno de la membrana plásmica, una modificación en las concentraciones relativas de diversas clases de fosfolípidos, (Thomas y Rose, 1979; Beavan y col., 1982; Ghareib y col., 1988), una disminución notable del índice de saturación de los ácidos grasos, (Sajbidor y Grego, 1992), y una bajada del contenido global en esteroides. (Walker-Caprioglio y col., 1990).

Estas diferentes modificaciones podrían reflejar un aumento de la fluidez membranar. Por último, se ha observado la síntesis específica de diversas proteínas de estrés, en respuesta a un choque "etanol", síntesis preferente de las proteínas Hsp90, Hsp70, y Hsp104, pero también activación del nivel de síntesis de la ATPasa y de la proteína Hsp30, proteínas integradas en la membrana plásmica (Piper y col., 1994); estos diferentes elementos revelan claramente la existencia de un estrés "etanol" en *S. cerevisiae*.

La integridad de la membrana plásmica aparecía, pues, como un factor limitante de la fermentación alcohólica al final de la fase estacio-



naria. A este nivel, es de destacar que una adición de oxígeno al final de la fase de crecimiento puede permitir a la célula reforzar sus potencialidades de resistencia frente al etanol; en efecto, el oxígeno interviene en la síntesis de los esteroides y de los ácidos grasos insaturados, constituyentes esenciales de la membrana plásmica. (Andreasen y Stier, 1953, 1954).

Por último, es de destacar que ciertas actividades enzimáticas de la vía glicolítica son particularmente sensibles al etanol en fuerte concentración (10% v/v); se trata concretamente de la hexokinasa, pero también de la glicerol 3-fosfato deshidrogenasa, enzima clave de la producción de glicerol en fermentación alcohólica. (Nagodawithana y col., 1977).

### **Efecto de la Temperatura**

La influencia de la temperatura sobre el desarrollo de la fermentación alcohólica es relativamente compleja. La disminución o el aumento de la temperatura en un intervalo comprendido entre 4 y 40°C afecta el funcionamiento de numerosas actividades enzimáticas, pero en ausencia de productos tóxicos no induce mortalidad celular.

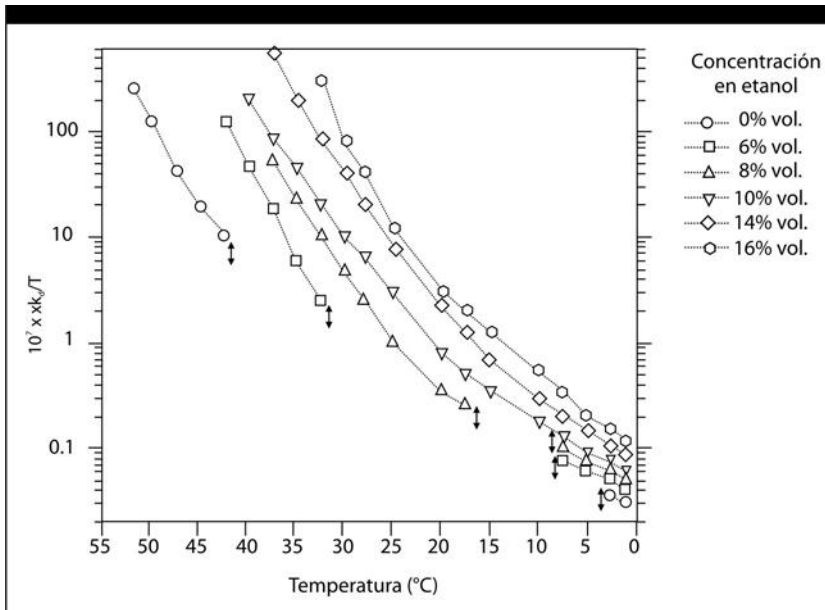
En este intervalo, una variación de temperatura afecta negativamente la tasa de crecimiento alrededor de un óptimo situado entorno a 30°C.

En la Figura 11. (Sa-Correia y Van Uden, 1986), se pueden observar las partes vacías no materializadas sobre las curvas correspondientes a 0,6 y 8% v/v de etanol -cuyos extremos acaban en una doble flecha- se corresponden con zonas de temperatura donde no se observa ninguna muerte celular.  $K_d$  y  $T$  representan respectivamente las tasas específicas de mortalidad (en segundos<sup>-1</sup>) y la temperatura (en °K; representación modificada de Arrhenius).

El Etanol indujo la muerte de *Saccharomyces cerevisiae* a bajos y moderados aumentos de temperaturas.

Más allá de estos límites se observa una mortalidad inducida por el calor.

**Figura 11.** Influencia de la Temperatura en las tasas específicas de mortalidad celular en *S. cerevisiae* en presencia de concentraciones crecientes de etanol.



Se ha observado en situaciones de temperaturas relativamente elevadas de 25 a 40°C, y en presencia de etanol incluso en baja concentración, (Van Uden, 1985; Sa Correia y Van Uden, 1986) (Figura 11), pero también en presencia de ácidos grasos de cadena corta (Sa Correia, 1986), ciertos ácidos monocarboxílicos de cadena corta ácidos propiónico, butírico y pentanoico; (Cardoso y Leao, 1992), o de ácido acético (Pinto y col., 1989), una inducción exponencial de mortalidad celular; esta inducción se manifiesta igualmente, aunque en menor medida, con valores de temperatura moderados y bajos de 4 a 25°C.

A altas temperaturas la entalpía de activación de la mortalidad celular, por estas sustancias es del mismo orden de magnitud que la observada en su ausencia, y correlacionada con la hidrofobicidad del producto correspondiente.

Este tipo de mortalidad celular estaría ligada a fenómenos de desnaturalización proteica, cuyo blanco principal parecería situarse a nivel de la membrana interna de la mitocondria. (Simoës-Mendes y col., 1978).

A temperaturas débiles o moderadas se observa un segundo modo de mortalidad inducida, la entalpía de activación de la mortalidad celu-

lar por estas sustancias presenta valores mucho más pequeños. En este caso, la acidificación intracelular parece ser el mecanismo subyacente de esta inducción de mortalidad. (Cardoso y Leao, 1992).

Es de destacar que la entalpía de activación medida es, entre los procesos biológicos conocidos, del orden de magnitud la activación del transporte de los iones a través de la membrana plásmica. (Sa Correia y Van Uden, 1986). Por otra parte se debe resaltar que una disminución de temperatura afecta especialmente el funcionamiento de la ATPasa membranar (bomba de protones), mientras que afecta mucho menos a la difusión pasiva de los protones del medio exterior hacia el interior de la célula.

## **Efecto del pH**

En condiciones de fermentación, aunque el medio exterior sea relativamente ácido, el pH intracelular se mantiene en un valor próximo a la neutralidad de manera activa por la levadura. (Pampulha y Loureiro-Dias, 1989; Rowe y col., 1994).

Además de la difusión pasiva de los protones a través de la membrana plásmica que contribuye a acidificar el citoplasma, intervienen en el mismo sentido otros mecanismos físicoquímicos, el ácido acético y otros ácidos orgánicos débiles de  $pK_a \geq$  al pH del medio exterior, normalmente producidos durante la fermentación alcohólica como subproductos fermentativos, pueden acumularse en el interior de la célula debido a diferencias de pH transmembranares; su forma no disociada difunde libremente a través de la membrana plásmica.

En el interior de la célula, estos ácidos débiles se disocian pudiendo contribuir en gran medida a una bajada sensible del pH intracelular (40 mM de ácido acético generan por ejemplo a un pH extracelular de 3,5 una bajada del pH intracelular de 2 unidades de pH). Tal acidificación intracelular deberá entonces ser contrarrestada por un funcionamiento aumentado de la ATPasa bomba de protones de la membrana plásmica con el fin de preservar la viabilidad celular. Este efecto sobre el pH intracelular es especialmente reforzado por fuertes concentraciones en etanol y un valor débil de pH extracelular. (Pampulha y Loureiro-Dias, 1989).

## Inhibidores Exógenos

**Pesticidas:** diversos pesticidas utilizados en el tratamiento de la viña pueden ser detectados en unas dosis no despreciables posteriormente en los mostos. (Cabras y col., 1987). Las vías de degradación de algunos de ellos por las levaduras han sido elucidadas y pueden claramente conducir a malos olores azufrados. (Cantarelli y col., 1964). Varios estudios de toxicidad de ciertos fungicidas sistémicos han mostrado una clara interferencia con la cinética de fermentación de *S. cerevisiae*, especialmente para los fungicidas pertenecientes a las familias de los triazoles e imidazoles.

Estos compuestos alteran la fluidez membranar de la membrana plásmica de *Saccharomyces cerevisiae* por modificación de su contenido en esteroides y ácidos grasos insaturados, volviéndola así más sensible a la acción del etanol. (Doignon y Rozes, 1992).

## Inhibidores Endógenos

**Alcoholes superiores:** de la misma manera que el etanol, los alcoholes superiores producidos durante la fermentación alcohólica ejercen un efecto tóxico sobre la *S. cerevisiae*.

El efecto tóxico de los alcoholes superiores es especialmente revelado por una disipación total del gradiente de protones transmembranar  $\Delta pH$  y del potencial eléctrico de membrana ( $E_m$ ).

La amplitud de este efecto está directamente ligada a la longitud de la cadena carbonada del alcohol superior correspondiente en el orden siguiente  $C_2 < C_3 < C_4 < C_5 \leq C_6 \geq C_7 > C_8 > C_9 > C_{10} > C_{11}$ . El objeto inicial de estos efectos tóxicos parece ser principalmente el aumento inducido de la permeabilidad de la membrana plásmica a los protones y a los aniones, y particularmente al ión  $M^{+2}$ . (Petrov y Okorokov, 1990).

**Acetaldehído:** unos datos recientes han probado que el acetaldehído se acumula en el interior de la célula durante la fermentación alcohólica en una concentración del orden de 10 veces la concentración observada en el medio exterior.

El efecto tóxico correspondiente no se ha podido demostrar todavía pero podría ser variable de una cepa a otra de *Saccharomyces cerevisiae*. (Stanley y Pamment, 1993).

**Ácidos Grasos de Cadena Corta:** los ácidos grasos de cadena corta (ácidos octanoico y decanoico especialmente) producidos por la levadura durante la fermentación alcohólica ejercen un efecto tóxico sobre las mismas levaduras. (Lafon-Lafoucade y col., 1984).

El ácido octanoico, por su estructura fuertemente lipófila, aumenta la permeabilidad de la membrana plásmica (PMA 1) por un mecanismo post-transcripcional, haciendo decrecer fuertemente la tasa de esta enzima en la membrana. (Viegas y col., 1994).

**Bicarbonato:** en el interior de la célula, la especie química bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), desde que alcanza una concentración de 10 mM, puede ejercer efectos inhibidores sobre numerosas reacciones de decarboxilación que pueden conducir a diversas alteraciones del metabolismo: decarboxilación de isocitrato en  $\alpha$ -cetoglutarato conduciendo a una reducción de síntesis de los aminoácidos que derivan del ácido glutámico, decarboxilación de 6-fosfogluconato en ribulosa 5-fosfato que conducen a una reducción de la biosíntesis de los nucleótidos y de la histidina, y por último la decarboxilación de piruvato en acetil Coenzima A que conduce a una reducción de la síntesis de los lípidos, de los ácidos grasos y de los aminoácidos que derivan del ácido glutámico. (Jones y Greenfield, 1982).

Estos efectos inhibidores son más marcados en la medida en que el contenido de etanol del medio se eleva.

**Gas Carbónico:** hay que resaltar que una de las enzimas decarboxilantes mayores de la fermentación alcohólica, la piruvato decarboxilasa -que cataliza la decarboxilación del piruvato en acetaldehído- es una enzima muy poco sensible al  $\text{CO}_2$ . (Norton y Krauss, 1972).

Por otro lado, el gas carbónico puede tener un efecto sobre las estructuras de las membranas afectando su composición en ácidos grasos (Castelli y col., 1969).

Esta alteración inducida de la permeabilidad de la membrana conduce, en fermentaciones conducidas entre 12 y 20°C bajo 2 atmósferas de  $\text{CO}_2$ , a una liberación pronunciada de  $\alpha$ -acetohidroxi-ácidos y a la formación de fuertes niveles de dicetonas vecinales (Arcay-Ledezma y Slaughter, 1984).

En las mismas condiciones, se observa un aumento importante del volumen celular, reflejando una desorganización profunda de las estructuras intracelulares de la célula (especialmente de la vacuola). Se

observa una proteólisis intracelular y se produce una fuerte pérdida de viabilidad celular. (Slaughter y col., 1987).

## **LA CURVA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

Los fenómenos microbiológicos y bioquímicos puestos en juego durante las fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas están cada vez mejor identificados y explicados. El desarrollo de las fermentaciones están también actualmente mejor descritas gracias, especialmente, a la utilización de sistemas de control o seguimiento en línea.

Esta aproximación y estos conocimientos nuevos, que han permitido progresar sobre los temas de interés enológico inmediato, especialmente en lo que se refiere a las dificultades de acabado de fermentación, abren nuevas perspectivas, a medio o largo plazo, sobre la mejora del control de la fermentación alcohólica.

La posibilidad de seguir en tiempo real el desarrollo de la fermentación permite tener en cuenta la variabilidad enológica y optimizar el control de la fermentación. Son de destacar también otros avances tecnológicos, especialmente la puesta en marcha de levaduras inmovilizadas.

Un buen desarrollo de la fermentación alcohólica debe conducir a dos resultados principales por una parte, el agotamiento completo del medio en azúcares fermentables, dentro de unos márgenes razonables; y por otra parte, a la obtención de un aroma fermentativo de calidad óptima, elemento importante de la calidad general de los vinos blancos.

Estas dos podrán ser cumplidas por una elección adecuada de la cepa de levadura y de las condiciones de desarrollo de esta misma levadura.

Cada vez más, las fermentaciones son realizadas con cepas puras gracias a la disponibilidad y aporte de levaduras secas activas. Por ello, su desarrollo es más reproducible. Este aporte no basta sin embargo para estandarizar las fermentaciones; la variabilidad de las condiciones del medio lo impiden.

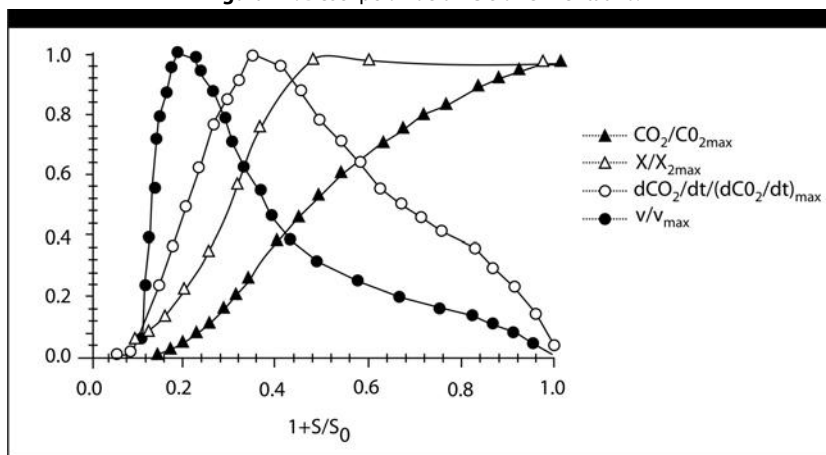
## **DESCRIPCIÓN DE UNA FERMENTACIÓN TIPO**

La Figura 12 (Bely y col., 1990) sintetiza el desarrollo de una fermentación alcohólica conducida a temperatura constante, con un se-

guimiento en línea de la liberación de gas carbónico y de la velocidad instantánea de esa liberación (proporcional a la velocidad de fermentación). Para que las curvas sean independientes de la variabilidad ligada al mosto y la cepa de levadura, se normalizan los diferentes parámetros con respecto a su valor máximo. La curva puede ser dividida en tres fases.

**La fase de latencia:** que se corresponde con el período de saturación del medio en  $\text{CO}_2$ . Al final de esta fase, la población es aproximadamente de  $10^7$  células.mL<sup>-1</sup>. Su duración es ante todo función de la temperatura. No excede generalmente de 24 hs.

Figura 12. Descripción de un Ciclo Fermentativo.



Evolución de  $\text{CO}_2/\text{CO}_2 \text{ max}$ ,  $d\text{CO}_2 / \text{dt} / (d\text{CO}_2 / \text{dt}) \text{ max}$ ,  $v / v_{\text{max}}$

$\text{CO}_2$ :  $\text{CO}_2$  producido.

X: población celular.

$d \text{CO}_2/\text{dt}$ : velocidad de producción de  $\text{CO}_2$ .

$V = 1 / X$ .

$d\text{CO}_2/\text{dt}$ : velocidad específica de producción de  $\text{CO}_2$ .

S: concentración instantánea de azúcar.

$S_0$ : concentración inicial de azúcar.

**La segunda fase:** dura hasta el final del crecimiento celular. Durante esta fase, pasan sucesivamente por un máximo:

- la velocidad específica de liberación de  $\text{CO}_2$  con  $[V_{\text{max. esp}} = 1 / X (d \text{CO}_2 / \text{dt})_{\text{max}}]$ ;

- la velocidad máxima de liberación de  $\text{CO}_2$   $[(d \text{CO}_2 / \text{dt})_{\text{max}}]$

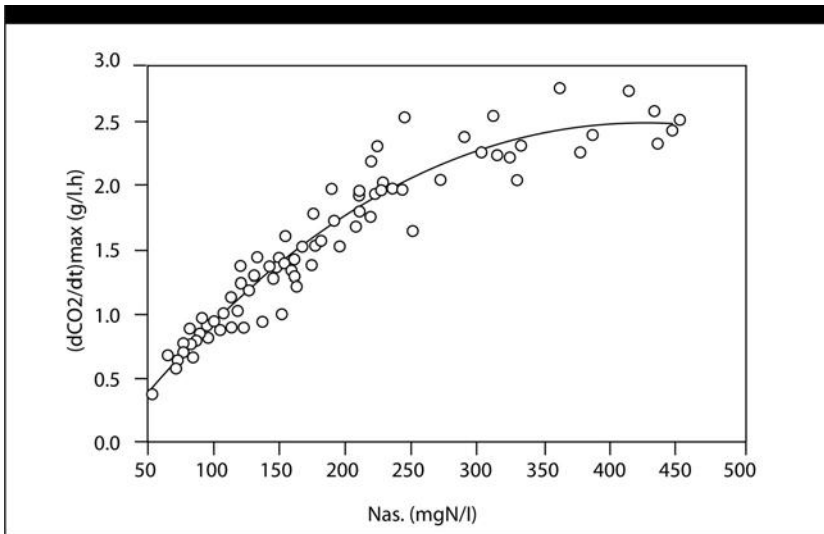
La  $V_{\text{max}}$  se corresponde con la actividad máxima de las células que se alcanza muy pronto, aunque se haya producido menos de  $5 \text{ g.L}^{-1}$  de

CO<sub>2</sub> lo que se corresponde con un consumo de azúcar inferior a 10 g L<sup>-1</sup>. En este momento, el número de células es inferior al tercio de la población final. La actividad de cada célula disminuye pues durante la casi totalidad de la fermentación.

La  $[(dCO_2/dt)_{max}]$  que es proporcional a la actividad fermentativa del conjunto del cultivo es alcanzada un poco más tarde, en momentos diferentes según las fermentaciones, pero siempre antes del final del crecimiento celular y siempre durante el primer tercio de la fermentación. Su valor es interesante en tres aspectos:

- a) Permite detectar los mostos con carencia de nitrógeno, (Bely y col.,1990) (Figura 13) existe una relación entre el contenido de nitrógeno asimilable:  $(dCO_2/dt)_{max}$  y  $N \text{ amoniacal} + N \alpha\text{-aminado}$ .

**Figura 13.** Relación entre la Velocidad máxima de producción de CO<sub>2</sub> y la concentración en Nitrógeno asimilable.



- b) Está ligada a la liberación de calor máxima y, por lo tanto, a la necesidad máxima de frigorías, necesarias para regular la temperatura.
- c) Permite estimar la duración de la fermentación. (Bely y ot., 1990).



***Durante la tercera fase*** (fase estacionaria): las levaduras ya no son proliferantes. Su número es pues constante, aunque en las cubas de gran tamaño su concentración en el medio puede llegar a ser heterogénea al final del cultivo, a causa de fenómenos de decantación. Durante toda esta fase, la actividad de las levaduras continúa disminuyendo progresivamente, a pesar de que en la mayoría de los casos, se conserva una fuerte tasa de viabilidad.

Varios fenómenos están implicados en esta caída de actividad de la levadura, siendo lo principal el agotamiento del medio en nutrientes nitrogenados asimilables. El N interviene no solo sobre el nivel de crecimiento de la levadura, sino también sobre la cinética de transporte de los azúcares por las levaduras a lo largo de la fermentación. Esta velocidad de transporte es a menudo la etapa limitante de la cinética fermentativa. (Busturia y Lagunas, 1986; Salmon y col., 1993). Para mantener el nivel de actividad de las levaduras constante durante la fase estacionaria, es necesaria una adición continua de nitrógeno, como lo han mostrado. (Manginot y col., 1996).

Al final de la fermentación, cuando los azúcares residuales están ya en pequeñas concentraciones, la velocidad cae y después se anula. Esta caída puede ser brutal, o muy progresiva -en caso de las fermentaciones largas-. La cinética final es sobre todo función del número de levaduras viables.

## **VARIABILIDAD DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA**

### **Variabilidad según los mostos**

Las velocidades de fermentación son muy variables según los mostos. La Figura 14 recapitula las velocidades máximas de producción de CO<sub>2</sub> observada sobre una centena de mostos procedentes de diferentes regiones vitícolas francesas.

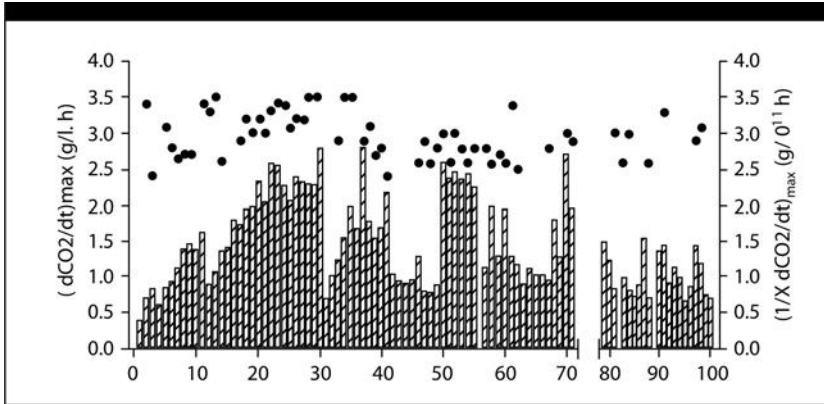
Estas velocidades máximas que están ligadas, como ya se ha visto con la duración de las fermentaciones, se escalonan, 24°C entre 0,4 y 2,8 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; lo que se corresponde con las velocidades de consumo de azúcar comprendidas entre 0,9 y 6 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Esta gran variabilidad se debe sobre todo a las diferencias de contenidos en N asimilable de los mostos (Figura 13): sobre este mismo muestreo, estos contenidos están comprendidos entre 53 y 444 mg L<sup>-1</sup>.

Se constata, en cambio, que la velocidad específica máxima (proporcional a la actividad fermentativa máxima de las levaduras) varía poco. (Figura 14). (Bely y col., 1990).

Así pues, sobre todo cambia el número de levaduras y no la actividad específica máxima de cada célula. (Bely y col., 1990)

**Figura 14.** Variabilidad, según los mostos, de la Velocidad máxima de producción de CO<sub>2</sub> (□) y de la Velocidad específica de CO<sub>2</sub> (•). Temperatura 24°C.



### **Efecto de la cepa de levadura, del año y del grado de madurez**

La gran variabilidad observada según los mostos se debe sobre todo a la viña y al terreno, aunque el año es también un factor importante. Así, unas medidas hechas durante 6 años sucesivos muestran que la media de los valores de  $(dCO_2/dt)_{max}$  de los mostos procedentes de 6 parcelas diferentes varía entre 0,73 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en 1995 y 1,35 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en 1992. El grado de maduración influye también, pero estas variaciones son menos importantes. (Dubois y col., 1996).

La cepa de levadura, por sí misma, induce una variabilidad claramente inferior a la ligada con el mosto. Así, en un mismo medio, y para 10 cepas industriales sembradas de manera idéntica,  $(dCO_2/dt)_{max}$  varía solo entre 1,8 y 2,22 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y la duración de la fermentación queda comprendida entre 102 y 132 horas. (Bely y col., 1990).

### **Efecto de la temperatura**

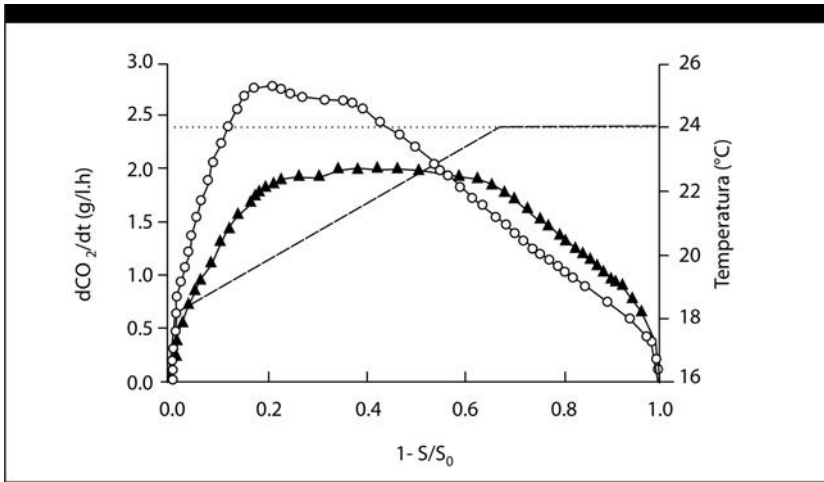
La temperatura influye de manera muy importante sobre la cinética fermentativa. Así, entre 15 y 25°C, en régimen isoterma, la velocidad

de fermentación es doble cuando la temperatura es superior en aproximadamente 8°C. (Bely y col., 1990).

No solo el nivel de temperatura es importante sino también el régimen térmico. Así, una evolución de la temperatura de algunos grados durante la fermentación (caso muy corriente en enología) cambia profundamente la cinética fermentativa. La Figura 15, (Sablayrolles y Barre, 1993), compara la evolución de la velocidad de producción de CO<sub>2</sub> entre una fermentación conducida a 24°C y una fermentación comenzada a 18°C y cuya temperatura evoluciona libremente hasta 24°C. Se aprecian diferencias importantes entre el régimen isoterma y el no isoterma. De una parte, la marcha de la curva de velocidad está profundamente modificada durante la fase de evolución libre de la temperatura, la velocidad de fermentación es mantenida casi constante gracias al calentamiento del medio causado por la transformación azúcar-alcohol (producción de aprox. 23,5 kcal / mol azúcar fermentada). (Williams, 1982). Por otra parte, al final de la fermentación, aunque la temperatura y el grado de avance de la reacción (proporcional a la cantidad de CO<sub>2</sub> liberada y a la concentración en alcohol) son idénticos, la tasa de fermentación es superior en el caso de la fermentación no isoterma. Lo anterior explica porque:

- para un estado de fermentación o de avance dado, la velocidad de fermentación es función de la temperatura actual pero también del régimen de temperatura precedente;
- las elevaciones de temperatura durante la fermentación (frecuentes en enología) permiten finales de fermentación más rápidos.

**Figura 15.** Efecto de la Temperatura sobre la Cinética Fermentativa.

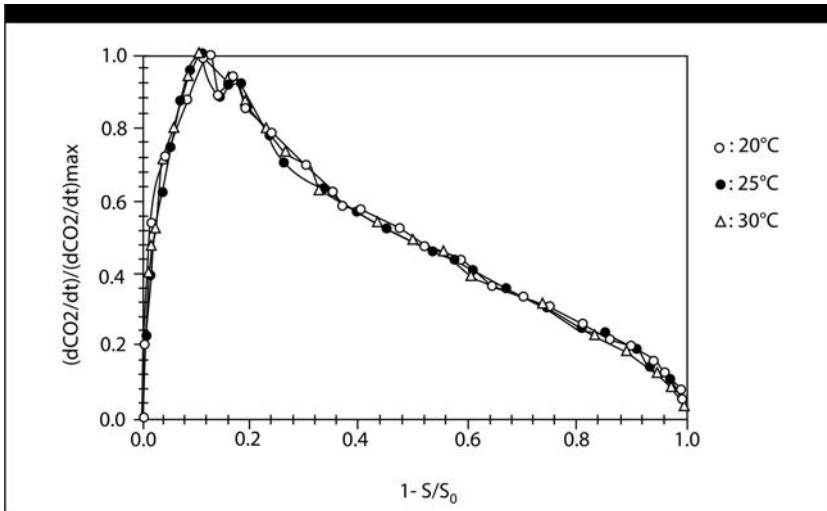


- Comparación entre el régimen isotermo (...y O) y un régimen no isotermo (- - - y  $\Delta$ ).
- S: concentración instantánea de azúcar.
- $S_0$ : concentración inicial de azúcar.

### Forma de la curva de velocidad

Aunque la velocidad de fermentación está muy influenciada por la temperatura, es importante destacar que, para las fermentaciones conducidas a temperatura constante (en isoterma), la forma de la curva de velocidad es la misma, tal como lo indica la Figura 16, (Bely y col., 1990), sobre la cual están superpuestas las curvas (normalizadas con respecto a la velocidad máxima) obtenidas durante fermentaciones conducidas a 20, 25 y 30 $^{\circ}C$ . Así, esta forma parece específica de un acoplamiento mosto-cepa. Se trata pues, de una información cinética ligada a datos analíticos y fisiológicos, potencialmente interesante para optimizar un control depósito a depósito de fermentación.

**Figura 16.** Curvas Normalizadas de Velocidad de Producción de CO<sub>2</sub>.







### **CAPÍTULO III**





## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE BAYAS Y MOSTOS**

#### **DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ DE LAS BAYAS**

##### **Muestreo**

Dado que la uva es un fruto no climatérico, el grado de madurez de cosecha es uno de los principales factores que condiciona la calidad del vino, e incluso del tipo de vino obtenido. De acuerdo a las características que se desee en un vino, la fecha de inicio de los muestreos se adelanta o atrasa. Generalmente es interesante abarcar la última etapa del período precedente, para poder determinar con exactitud el inicio del período de interés para la producción de un determinado tipo de vino. La frecuencia de muestreos varía según el objetivo buscado. En un comienzo los muestreos cada 7 a 15 días son adecuados, pudiendo luego, próximo a cosecha, ser más frecuentes, cada 4 a 3 días. En la provincia de Misiones debido a las altas temperaturas de noviembre, diciembre y enero el seguimiento de la maduración puede requerir muestreos diarios.

El muestreo se efectúa individualmente para cada unidad de interés (viñedo, cuartel, repetición de un tratamiento, etc.). Generalmente, para una determinada fecha las diferentes vides de un viñedo, sus ra-

cimos o sus bayas presentan una gran heterogeneidad. El muestreo de bayas, en general, o el de pequeños trozos de racimo (3 a 5 bayas), en cepajes de racimos compactos, ha sido señalado como el método más preciso. Este muestreo generalmente lo realiza una sola persona, pero es recomendable que sea un conjunto de 3 a 4 personas.

Sin embargo, en cierta medida los resultados están en función de la persona que realiza el muestreo, algunas tienden a tomar bayas grandes (más ricas en sólidos solubles y de menor acidez) y otras bayas pequeñas (menor contenido de sólidos solubles y mayor acidez). Por ello si se requiere de una gran precisión, como en el caso de una investigación, se debe disponer de un equipo de personas, donde cada una recolecta 100 bayas, lo cual es suficiente para obtener una buena aproximación para azúcares y acidez total; en cambio, para estimar correctamente el peso de bayas y su volumen se necesitan al menos 200 a 250 bayas por persona.

El muestreo de bayas presenta problemas cuando los racimos son compactos, están sobre maduros o atacados por *Botrytis cinerea*.

El muestreo de trozos de racimos es otra alternativa para determinar la evolución de la madurez. Se recolectan 100-200 trozos de racimos (3-5 bayas cada uno), provenientes de racimos diferentes ubicados en plantas distintas. Este muestreo no presenta los inconvenientes del muestreo de bayas, donde por una parte es difícil extraer bayas ubicadas al interior de los racimos y, por otra parte, se minimiza la influencia que pueda tener la persona que realiza el muestreo (Pszczolkowski, 2006).

Se tomaron 200 bayas provenientes de racimos diferentes ubicados en plantas distintas, cambiando aleatoriamente la ubicación de las bayas en los diferentes racimos. Con este número de bayas se obtiene una buena aproximación, para peso de bayas, volumen de bayas, rendimiento del mosto, azúcares, acidez total, ácido tartárico, ácido málico y pH. Las bayas recolectadas se pusieron en bolsas de polietileno, en las cuales se incluyó la identificación de la muestra. Las bolsas se colocaron en recipientes refrigerados (cajas isotérmicas con una fuente de frío) y de esta manera fueron transportadas al laboratorio, donde se conservaron refrigeradas, por el menor tiempo posible, hasta que fueron analizadas.

## Índices de Madurez

La mayor limitante de los índices de madurez radica en el hecho que los factores condicionantes del aumento de azúcares y disminución

de los ácidos durante la maduración de las bayas, son más bien independientes. El aumento de los azúcares depende de la radiación fotosintéticamente activa, en cambio la disminución del ácido tartárico depende de la temperatura y disponibilidad de agua en el suelo; y la disminución del ácido málico, de la temperatura, proporción de ácidos libres, salificados del agua en el suelo y de la composición de este último. Sin embargo, para un viñedo determinado, el uso de un índice, durante varias temporadas consecutivas, es mejor guía.

Los Índices de Madurez son ciertas fórmulas propuestas para calcular la madurez industrial de la uva. Se basan en que el grado de maduración de la uva se caracteriza principalmente por la cantidad de azúcar y concentración de los ácidos tartárico y málico en la baya. De los innumerables índices propuestos, los más utilizados son:

- Índice de Cillis y Odifredi =  $^{\circ}\text{Brix} / (\text{Acidez total en g L}^{-1} \text{ de ácido tartárico})$ .

Para este índice, la madurez industrial varía de 3 a 5, según la variedad.

- Índice de Van Rooyen, Ellis y Du Plessi =  $^{\circ}\text{Brix} \times \text{pH}$ .

Para este índice, los autores señalan valores comprendidos entre 85 a 95 como adecuados para obtener vinos de calidad en los cv. *Cabernet sauvignon* y *Pinotage*.

En el presente trabajo se utilizaron ambos índices de madurez y fueron incluidos en las características físicoquímicas de cada variedad de uva seleccionada.

## **Determinación del Peso de las Bayas**

Los análisis físicoquímicos más frecuentes realizados a las bayas fueron: peso de baya (o volumen de bayas o rendimiento en mosto), porcentaje de sólidos solubles (o densidad del mosto), acidez total (ocasionalmente ácido tartárico y ácido málico) y pH.

Se contaron de 200 bayas por muestra, se lavaron y secaron (con toalla de papel) y se eliminó el pecíolo de aquellas que lo tenían adherido. Las bayas reventadas fueron eliminadas. Se pesaron en una balanza las bayas que estaban en condiciones de ser procesadas.

## **Determinación del Volumen de las Bayas**

Dependiendo del número y tamaño de las bayas, se usaron probetas graduadas de 1000 mL, a las cuales se le agregó un volumen conocido y suficiente de agua destilada. Se introdujeron las 200 bayas secas y se determinó el volumen de líquido desplazado.

## **Rendimiento en Mosto de las Bayas**

El mosto se extrajo de las bayas sin laceración del hollejo y pepas y fue procesado mediante una exprimidora doméstica; el puré obtenido se prensó en forma manual y se filtró lo que permitió la separación del mosto. Se determinó el volumen extraído a través de una probeta graduada. Esta medición permitió estimar el rendimiento, sobre la base del volumen de mosto obtenido por kg de uva y expresarlo en porcentaje.

## **Determinación de Azúcares del Mosto**

Los azúcares predominantes en las bayas de *Vitis vinifera* son glucosa y fructosa (azúcares reductores). Cuando se requiere de una mayor precisión su contenido debe ser determinado por métodos químicos como el Método de Fehling, por el contrario, cuando por razones prácticas se requiere solo de valores de referencia su contenido se determina por métodos indirectos entre los cuales destaca la Densidad y el Porcentaje de Sólidos Solubles del Mosto.

## **Método de Fehling**

En el método químico la glucosa y fructosa son capaces de reducir algunos agentes oxidantes ( $\text{Cu}^{+2}$ , ferrocianuro o agua oxigenada), principio que se utiliza para su determinación.

*Procedimiento:* este método requiere como reactivo al Licor Fehling A y B (disponibles comercialmente), azul de metileno (0,1 g aforados a 10 mL con etanol) y solución de glucosa 5 g L<sup>-1</sup> (se utiliza para titulación del Licor de Fehling).

En un matraz Erlenmeyer (250 mL) se colocaron 5 mL de licor Fehling A y 5 mL de licor Fehling B y se añadió aproximadamente 10

mL de agua destilada calentando hasta ebullición. En una bureta de 50 mL se colocó el mosto defecado (\*) o la solución de glucosa usada para determinar el título del Licor y se comenzó a titular agregando al matraz anterior pequeños volúmenes de mosto con agitación constante, evitando que deje de ebullición. Se dio por terminada la titulación cuando el Licor se decoloró. Para un viraje más nítido se añadieron algunas gotas de azul de metileno cuando el líquido inicial en proceso de titulación perdió su coloración azulada, tornándose celeste.

(\*) La defecación del mosto consiste en mezclar unos 100 mL con 1 a 2 g de carbón activado en polvo, se deja reposar y al cabo de media hora a temperatura ambiente y agitando periódicamente se filtra a través de papel Whatman 1, repasando las veces que sea necesario hasta obtener un mosto claro e incoloro.

## **Grados Brix**

Este método se basa en la medición del índice de refracción de un rayo de luz que al atravesar el líquido transparente es desviado de su trayectoria original por sustancias disueltas. Esta desviación será mayor si mayor es el contenido de sólidos solubles.

*Procedimiento:* se ajustó el lente ocular hasta que se vio nítida la escala interior. Se calibró con agua destilada de modo que el límite de la zona clara y oscura quede en el cero de la escala. Se secó el prisma, se colocó 1 o 2 gotas de mosto y se leyó, obteniéndose directamente el porcentaje de sólidos solubles o grados Brix. Existen también refractómetros que entregan directamente el grado de alcohol probable. (GAP).

Hay tablas donde se encuentran la correspondencia entre el porcentaje de sólidos solubles y el contenido de azúcar expresado en g L<sup>-1</sup>. Si el instrumento no compensa temperatura, debe registrarse además la temperatura del termómetro incluido en el instrumento. Se debe corregir el índice de refracción a 20°C.

## **Densidad**

Este método está basado en la densidad del mosto con relación a la del agua. El mosto contiene diversas sustancias disueltas como azúca-

res, ácidos, sales, polifenoles, etc., sin embargo, el 90% de estos sólidos solubles están constituidos por azúcares.

*Procedimiento:* en una probeta de 250 mL, se colocaron 200 mL de mosto y se introdujo un densímetro (mostímetro) con un leve movimiento giratorio. La lectura se efectuó en la parte superior del menisco que se forma. Se sacó el densímetro y se midió la temperatura al centro del líquido, si ésta es diferente de 15°C se corrige la lectura mediante tablas especiales. Con esta corrección, se obtuvo la densidad real a 15°C y con dicho valor se buscó en Tabla la correspondencia entre densidad con el contenido de azúcar y el grado alcohólico probable en el futuro vino.

## Determinación de la Acidez del Mosto

Los principales ácidos que se encuentran en los mostos (sobre el 90%) son el ácido tartárico, el ácido málico y el ácido cítrico. En la práctica se mide su conjunto como acidez total y el pH de los mostos.

### Acidez total

Se determinó mediante titulación, con NaOH o KOH generalmente de concentración 0,1 N usando azul de bromotimol como indicador (4 g L<sup>-1</sup> disueltos en una solución hidroalcohólica al 20%).

*Procedimiento:* de acuerdo a la menor o mayor madurez de la uva, en un vaso de precipitado se colocaron 2 mL de mosto, se adicionaron gotas de azul de bromotimol y se tituló con NaOH 0,1 N hasta viraje de verde a azul verdoso. La acidez total del mosto se expresa en g L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, sin embargo, ésta también se puede expresar en ácido sulfúrico.

(Cálculo) Acidez total (g L<sup>-1</sup>) = mL de NaOH gastados x Normalidad NaOH x 1000  
mL muestra.

Donde:

mL = Mililitros de NaOH o KOH usados en la titulación;

N = Normalidad del NaOH o KOH;

mL muestra = Mililitros de la muestra;

meq = miliequivalentes del ácido en que se desea expresar el resultado:

- 0,075 para ácido tartárico;
- 0,07 para ácido cítrico;
- 0,06 para ácido acético;
- 0,049 para ácido sulfúrico.

Si la acidez total está expresada en un ácido determinado y se desea expresarla en otro ácido cualquiera, se divide el valor de la acidez total por los miliequivalentes del ácido en que esta expresada y el resultado se multiplica por los miliequivalentes del ácido en que se desea expresar.

## pH

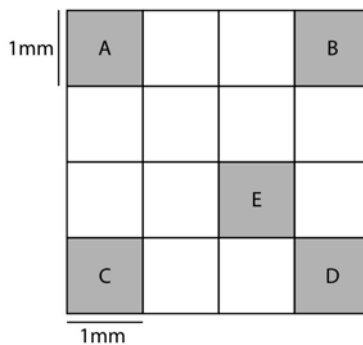
Se midió utilizando un potenciómetro calibrado con solución tampón a pH 4 y 7. Los análisis se hicieron por triplicado y los datos se expresaron con 2 cifras decimales.

## Recuento de Levaduras

La técnica utilizada es el recuento con Cámara de Neubauer.

*Procedimiento:* colocar unas gotas de la muestra en la cámara de Neubauer (haciendo una dilución apropiada previamente con agua destilada).

Ver al microscopio. Buscar 4 áreas de las 16 que presenta la cámara, elegir una, y en dicho campo volver a elegir 5 áreas de referencia:



Superficie =  $1\text{mm}^2$  para A, B, C, D y E respectivamente.

Volumen =  $1\text{mm}^2 \times 0,1\text{mm} = 0,1\text{mm}^3 = 0,0001\text{cm}^3 = 10^{-4}\text{cm}^3 = 10^{-4}\text{mL}$ .

D = dilución utilizada para diluir la muestra.

X = total de células de levaduras calculada con la dilución utilizada.

$N_T$  cel promediado = n° total de células =  $\frac{(NA + NB + NC + ND + NE)}{5} \times 16$ .

como:  $10^{-4} \text{ mL} / 1 \text{ mL} = N_T \text{ cel prom} / (X) \times (1/D)$ .

$X = (1 \text{ mL} \times N_T \text{ cel. prom.}) / 10^{-4} \text{ mL} \times D$ .

## Control Temperatura

Procedimiento para medir temperatura en el aire: el termómetro digital se encendió en el ambiente donde se llevaba a cabo la fermentación y se leyeron los números en la pantalla cuando estos se mantuvieron estables.

Procedimiento para medir temperatura en el mosto: se sumerge la punta del termómetro digital, se enciende y se leen los números en la pantalla cuando estos se mantienen estables.

## MICROVINIFICACIÓN DE LABORATORIO

### Uvas y Viñedos Seleccionados en Misiones

Las uvas seleccionadas para realizar las microvinificaciones a diferentes temperaturas fueron las variedades *Isabella Tinto* y *Niágara Rosada*.

En la Tabla 15 se observan los viñedos B y C que fueron seleccionados para el seguimiento de maduración y posterior microvinificación en Laboratorios de la FCEQ y N.

Las variedades de Uvas y Viñedos fueron seleccionadas por la Enóloga a cargo de la Bodega Escuela de la EEA del INTA de Cerro Azul Misiones teniendo en cuenta la vinificación a realizarse en la misma.



**Tabla 15.** Viñedos y Uvas Seleccionadas.

Viñedos	Instituto Nacional Vitivinicultura	Localización	Variedades de Uvas
<b>A</b>	EEA Estación Experimental Agropecuaria	INTA Cerro Azul	<i>Riesling</i>
<b>B</b>	Nº 103.647	Lote 39-40 Olegario V. Andrade	<b>Niágara Rosada</b> <i>Isabella</i>
<b>C</b>	Nº 3.659	Lote 137 Cerro Azul	<b>Isabella Tinto</b> <i>Riesling - Syrah - Oberling - Niágara Blanca - Cerecita - Sultanina - Isabella Precoz - Cardinal - Niágara Rosada - Blanca Común</i>

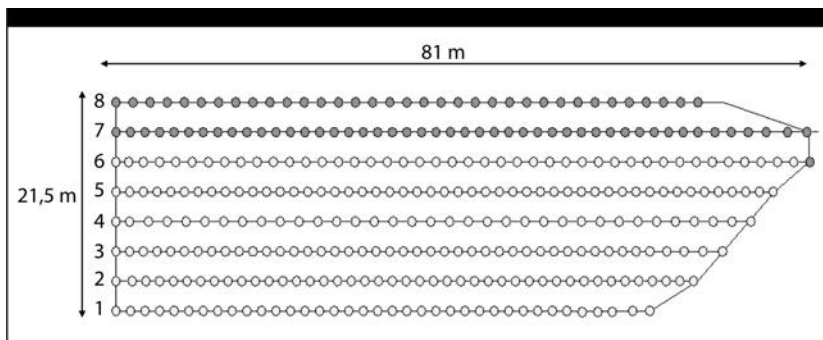
**Viñedo A:** EEA INTA Cerro Azul (Misiones).

Se encuentra en el predio de la Estación Experimental INTA Cerro Azul (Misiones), consiste de 50 plantas de *Vitis Vinífera* que producen uva blanca de la variedad *Riesling*.

Las conducciones son del tipo sudafricano con postes soportes en forma de “Y”, con lo que se logra una buena calidad de sombra y ventilación del parral.

Los factores climáticos tuvieron amplio impacto en los viñedos, un ejemplo claro fueron las inesperadas heladas tardías en septiembre, época de floración de la vid, que ha interferido notablemente con la fructificación de los viñedos en seguimiento. Como consecuencia, el Viñedo A, localizado en predio del INTA resultó sin producción en esta temporada 2006 y no se registraron datos.

**Figura 17.** Viñedo B características.



**Tabla 16.** Viñedo B -Características-

Nº de línea	Cantidad de vides	Long. de Línea (m.)	
1	37	62,5	
2	43	68	
3	44	71	
4	35	74	
5	49	77	
6	44	81	
7	47	81	
8	35	71	
<b>Total</b>	<b>334</b>		

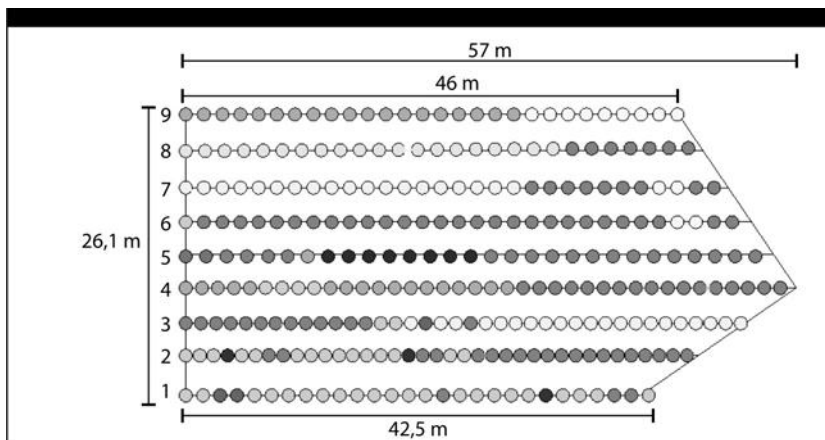
Claves
Var. <i>Niágara</i>
Var. <i>Isabella</i>

**Viñedo B:** Olegario Victor Andrade (Misiones).

Se encuentra localizado en una zona serrana de difícil acceso (Figura 17, Tabla 15 y 16). En el mismo se desarrollan principalmente dos variedades de *Vitis* franco-americana *Isabella* y *Vitis* americana *Niagara*. Si bien el área de cultivo abarca unas 3 hectáreas, se ha seleccionado la parcela que se indica en la Figura 17 en virtud de la facilidad de acceso y buen estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario.

Otros datos del viñedo B:

- Edad del viñedo: aproximadamente 2 años.
- Tratamiento fitosanitario: fungicida *Folpan*, insecticida, acaricida en sequía, en época vegetativa, cada 15 días antes y después de lluvia, en invierno una vez.
- Poda: cuando está en receso; junio y julio para incidir en la brotación o según el clima imperante.
- Fertilización: no se hace o si es necesario se utiliza triple 15.
- Porta injerto: *Pausen 1103* o *Rupestre*.

**Figura 18.** Viñedo C características.**Viñedo C:** Cerro Azul (Misiones).

Se encuentra localizado sobre la Ruta Nacional 14 distante unos 3 Km de la zona urbana de Cerro Azul (Figura 18 y Tabla 17). El mismo es muy interesante puesto que representa una colección de todas las variedades de uvas, que se encuentran en la Provincia de Misiones.

Otros datos del viñedo C:

- Edades: desde 15 años algunas vides de *Isabella* o *Isabel*, en adelante.
- Tratamiento fitosanitario: fungicida todo el año en sequía, insecticida y acaricida. Fumigan en época de floración aproximadamente 2 veces; en época vegetativa, antes y después de lluvia, en invierno una vez.
- Poda: junio y julio (optativo) según clima.
- Porta injerto: *Pausen 1103* (predominantemente) o *Rupestre*.
- Presenta gran heterogeneidad de especies de vid.

**Tabla 17.** Viñedo C Características.

Nº de líneas	Vides Cantidad	Color	Variedad
1	28		S/N
2	37		Rieslig
3	38		Isabel
4	38		Syrah
5	29		Overlig
6	31		Niagara Blanca
7	30		Cerecita
8	27		Sultanina
9	28		Isabel Precoz
<b>Total</b>	<b>286</b>		Cardinal
			Niagara Rosada
			Blanca Común

## COSECHA

Las variedades elegidas fueron: *Isabella Tinto* y *Niágara Rosada*. Las cosechas se realizaron por la mañana con 4 semanas de diferencia. La variedad *Isabella* maduró antes. Las uvas fueron recibidas en un recipiente de cartón con el objeto de que no se dañen. El mismo día se trasladaron para iniciar la microvinificación.

Se cosechó uvas con la madurez adecuada después de un seguimiento realizado al efecto. La masa de uvas necesaria se determinó de acuerdo a las necesidades de la microvinificación a realizar, dado que el manual de procedimiento está orientado a establecer un criterio uniforme de investigación, de modo tal que las diferencias de hipotéticos tratamientos sean atribuibles a ellos y no a diferencias en los procesos de microvinificación.

## Procedimiento de Microvinificación Tipo *Blush*

El procedimiento de microvinificación tipo *Blush*, corresponde a uvas de color fermentadas como uva blanca tradicional.

**Microorganismos:** para la fermentación se utilizaron levaduras especializadas *S. cerevisiae bayanus* y levaduras nativas (preparadas como pie de cuba) con dos días de anticipación al inicio de la fermentación. La levadura utilizada fue *S. cerevisiae* variedad *bayanus*, por su capacidad de fermentar en ambiente rico en alcohol, hasta presiones

elevadas y a temperaturas bajas de hasta 10 a 12°C. Además al final del ciclo coagula fácilmente, deslizándose hacia el cuello de la botella sin pegarse al vidrio. Esta levadura es la misma que se utilizó en la Bodega Escuela del INTA.

**Preparación del Mosto:** se procesaron series de 5 kg de uva *Isabella* y 5 kg de uva *Niágara*, se prensaron separadamente a mano sin escobajo, hasta recibir 2,5 L respectivamente de mosto con borra en un recipiente aforado. Se agregaron al mosto 3 g hL<sup>-1</sup> de anhídrido sulfuroso (solución de metabisulfito de potasio al 10%) y 2 g hL<sup>-1</sup> de enzimas pectolíticas. Los envases se obturaron con válvula de agua y se dejaron decantar por 24 h para producir el desborre del mosto. Al cabo de este tiempo, se separaron 0,5 litros de borra de cada recipiente, obteniéndose 2 litros de mosto desbornado de cada uva para vinificar.

**Inóculo Levadura nativa:** se utilizó como inóculo el 3% v/v de un pie de cuba conteniendo mosto macerado con dos días de anticipación de uvas *Isabella*. Esto permitió obtener una concentración inicial de 0,11.10<sup>5</sup> cel nativas mL<sup>-1</sup> de mosto.

**Inóculo *S. cerevisiae bayanus*:** las levaduras envasadas secas se hidrataron con agua destilada al 3% p/v, y se mantuvieron a 37°C, durante 30 minutos para reactivarlas. Al sembrar se obtuvo una concentración inicial de 0,066.10<sup>5</sup> cel mL<sup>-1</sup> de mosto.

**Fermentación:** se inocularon los mostos con las respectivas levaduras. Se agregó a cada recipiente un coadyuvante de la fermentación alcohólica que contenía 1 g hL<sup>-1</sup> de fosfato de amonio. Los envases se mantuvieron obturados con válvula de agua para producir condiciones de anaerobiosis y se iniciaron las fermentaciones a las temperaturas mencionadas. Los envases conteniendo los mostos de *Isabella Tinto* se repartieron en cámaras isotérmicas de fermentación, las que se mantuvieron a 18, 22, 26°C y en planta piloto a 30°C. El mosto de *Niágara Rosado* se fermentó a 24°C también en cámara isotérmica.

Desde la extracción del mosto y durante toda la fermentación se realizaron controles diarios de los distintos parámetros fisicoquímicos los que fueron anotados en una planilla confeccionada al efecto. La fermentación finalizó cuando la densidad llegó a mantenerse constante por dos días consecutivos, en ese momento se efectuó el trasiego.

El final de la fermentación alcohólica también se confirmó al obtener un valor menor a 2 g L<sup>-1</sup> de azúcar residual con una varilla Gluco Merck Ognost. (Artículo 47.305 de Merck).

A cada vino obtenido se le agregó 6 g hL<sup>-1</sup> de anhídrido sulfuroso para su conservación y se guardaron en botellas limpias. Se taparon

con corchos cónicos y las botellas se almacenaron paradas en cámara refrigerada a 0°C, donde permanecieron por un lapso de tres semanas para producir la decantación de turbios y sales de bitartrato de potasio. Después de este tiempo y al momento del trasiego se corrigió el anhídrido sulfuroso libre llevándolo a 35 mg L<sup>-1</sup>. El vino blanco escurrido elaborado se transvasó a botellas limpias, las que se obturaron con corchos 37/25 cilíndricos y se almacenaron en posición horizontal en espera de ser analizados química y sensorialmente.

## ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL VINO

Se efectuaron análisis en vinos recién elaborados, los cuales permitieron una adecuada orientación del resultado de este proceso y de la toma de decisiones para su conservación.

Los análisis más frecuentes realizados fueron: Densidad, Grado Alcohólico, Acidez total, Acidez volátil, pH y SO<sub>2</sub> libre.

### DENSIDAD

Indica si el vino contiene o no azúcar residual. La fermentación se considera completa cuando la densidad en los vinos tintos llega alrededor de 0,992 a 0,994 g L<sup>-1</sup> y en los blancos 0,990 a 0,992 g L<sup>-1</sup> para variedades de *Vitis viníferas*.

*Procedimiento:* se colocaron 200 mL de vino límpido en una probeta de 250 mL. Se introdujo el densímetro dándole un ligero movimiento giratorio y se efectuó la lectura en la parte superior del menisco. Se midió la temperatura del mosto y se corrigió la densidad a 15°C.

### GRADO ALCOHÓLICO

Basado en la separación del alcohol de los otros constituyentes del vino mediante destilación o arrastre de vapores. El destilado obtenido puede ser considerado como una mezcla de agua y alcohol con una aproximación de 0,5 a 1% v/v.

*Procedimiento:* en un matraz aforado se colocaron 200 mL de vino y se midió la temperatura. Se virtió el vino al balón de destilación, se

neutralizó el vino con 4 mL de soda 5 N. Se agregaron bolitas de vidrio de modo de obtener una ebullición uniforme. En vinos nuevos, a fin de evitar una formación exagerada de espuma, se puede agregar una espátula de tanino. Se destiló hasta ebullición recogiendo aproximadamente 75% del volumen del matraz.

Se tomó la temperatura del destilado y se llevó a la temperatura inicial del vino, la cual era de 20°C. Luego se aforó el matraz con agua destilada y se homogenizó.

El destilado se colocó en una probeta de 250 mL y se introdujo suavemente el alcoholímetro, leyendo en la parte inferior del menisco.

Se tomó la temperatura y se efectuó la corrección de temperatura si es necesario; siempre es preferible leer una temperatura cercana a la que está graduado el alcoholímetro. Si el alcoholímetro usado está graduado a 15°C, debe corregirse la lectura a 20°C dado que es esa temperatura la considerada en la legislación vigente.

Para evitar frecuentes errores, por suciedad de los alcoholímetros o probetas utilizadas, es conveniente cada cierto tiempo lavarlos sumergiéndolos en solución sulfocrómica: 120 g dicromato de sodio ( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ); 1000 mL de agua destilada y 1600 mL de ácido sulfúrico comercial.

## ACIDEZ TOTAL

*Procedimiento:* en un vaso precipitado, se introdujeron 5 mL de vino, previa eliminación del  $\text{CO}_2$  y se agregaron 4 a 5 gotas de azul de bromotimol. Se tituló con soda 0.1 N hasta el viraje de color verde a azul verdoso ( $n = \text{mL de soda gastados}$ ).

(Cálculo) Acidez Total ( $\text{g L}^{-1}$ ) =  $\text{mL N } 1000 \text{ meq} / \text{mL M}$ .

mL = Mililitros de soda usado en la titulación.

N = Normalidad de la soda.

mL M = Mililitros de la muestra.

meq = Miliequivalentes del ácido en que se desea expresar

el resultado:

0,075 para el ácido tartárico.

0,049 para el ácido sulfúrico.

## ACIDEZ VOLÁTIL

*Procedimiento:* en un matraz de 200 mL se introdujeron 20 mL de vino previa eliminación del CO<sub>2</sub> y 35 mL de agua destilada. La mezcla se trasvasó a un balón de destilación dejando escurrir la totalidad del líquido sin enjuagar. Se recogieron 50 mL del destilado en un matraz aforado y se tituló la acidez del destilado con soda 0.1 N en presencia de fenofaleína.

(Cálculo) Acidez Volátil = ( mL N 1000 meq / mL M ) + 25%.

mL = Mililitros de soda.

N = Normalidad de la soda.

mL M = Mililitros de la muestra: 20 .

meq = Miliequivalentes del ácido acético ( 0,060 ).

### **CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ VOLÁTIL**

Se realiza descontado CO<sub>2</sub> y SO<sub>2</sub>.

El CO<sub>2</sub> previo a la destilación se debe agitar el vino bajo vacío.

El SO<sub>2</sub> libre y total inmediatamente después de la titulación acidimétrica del destilado, se pasó a medio ácido con una gota de HCl al 1/4, se agregó 1 mL de almidón y se tituló el SO<sub>2</sub> libre con Iodo 0,02N (n' = mL Iodo gastado). Para el SO<sub>2</sub> total se alcalinizó el medio hasta viraje a color rosado de fenofaleína con una solución de borato de sodio. Se agregó un cristal de yoduro de potasio y se tituló con yodo 0,02 N hasta coloración azul estable (n'' = mL Iodo gastado ).

(Cálculo) Acidez volátil real = 0,375 ( n - n'/5 - n''/10 ) (en g L<sup>-1</sup> de ácido acético).

### **CORRECCIÓN DE SO<sub>2</sub> LIBRE**

Al agregar anhídrido sulfuroso a un vino, hay una parte que se combina con diferentes especies químicas. Cuando el vino posee un nivel inferior a 20 mg L<sup>-1</sup>, puede considerarse que se combina un 50% del anhídrido sulfuroso que se agrega, de donde la dosis determinada debe ser el doble.

Para niveles iniciales de 20 a 75 mg L<sup>-1</sup>, se estima que un 33% el anhídrido sulfuroso está combinado, por lo tanto la dosis determinada debe ser un tercio mayor (multiplicar por 1,5).



Para niveles iniciales mayores de  $75 \text{ mg L}^{-1}$  se estima que el anhídrido sulfuroso combinado es despreciable.

*Procedimiento:* en un vaso de precipitado se colocaron 25 mL de vino, 1 mL de almidón y 2 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1/3 (2 partes de agua destilada por una parte de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Se tituló con Iodo 0,02 N hasta obtener una coloración azul-morada persistente por 30 segundos.

(Cálculo)  $\text{SO}_2$  libre  $\text{g L}^{-1} = \text{mL I} \times \text{N} \times 1000 \times \text{meq SO}_2 / \text{mL M}$ .

mL I = Mililitros de Iodo gastado.

N = Normalidad del Iodo.

mL M = Mililitros de muestra.

meq  $\text{SO}_2$  = Miliequivalentes  $\text{SO}_2 = 0,032$ .

(Pszczolkowski y col., 2006).





## **CAPÍTULO IV**



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA MICROVINIFICACIÓN DE UVA *ISABELLA TINTO*

#### CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA UVA *ISABELLA TINTO*

- Código de Variedad N° 951 del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV).
- Cepa Franco-americana: *Vitis Labrusca x Vitis vinífera*.
- Fecha de cosecha: 23/12/06.
- Viñedo: Sr. Pedro Ibachuta - Cerro Azul - Misiones.
- Observaciones
  - Estado sanitario del viñedo: bueno.
  - Color de las bayas: negro violáceo.
- Peso de 200 bayas: 559 g.
- Volumen ocupado por 200 bayas: 410 ml.
- Rendimiento en mosto: 51,88% (p/p) (kg mosto / kg uva).
- Densidad del mosto a (15/15): 1.074 g mosto / L mosto.
- Sólidos solubles: 17,8° Brix.
- Contenido de azúcares: 168 g azúcar / L mosto.
- Grado alcohólico probable del vino blanco: 9,9% (v/v) a 20°C.
- Acidez total: 6,375 g ácido tartárico / L mosto.

PH: 3,45.

Índices de madurez:

Índice de *Cillis y Odifredi*: 2,8.

Índice de *Van Rooven, Ellis y Du Plessi*: 61,43.

## Microvinificación Isotérmica de la uva *Isabella* con Levaduras Nativas

En la Tabla 18 se presentan los parámetros fisicoquímicos medidos en el transcurso de la fermentación isotérmica a 18°C. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo de los días hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,66 de manera no significativa; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día y variaron poco hasta el día 7, desde ahí aumentaron y alcanzaron un pico el día 9 pero después decayeron hasta el día 15, donde finalizó la fermentación.

**Tabla 18.** Parámetros de la Fermentación a 18°C en mostos de uva *Isabella*.

Días	Densidad	° Brix	pH	Levaduras Nativas x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,50	3,45	0,11
1	1066,0	15,10	3,65	1,09
2	1060,1	14,67	3,65	2,21
3	1049,0	13,67	3,66	1,09
4	1042,0	12,47	3,63	1,82
5	1034,9	11,47	3,61	2,02
6	1028,0	10,27	3,60	1,28
7	1020,7	9,06	3,62	43,2
8	1015,7	8,46	3,57	24,4
9	1010,1	7,67	3,58	53,0
10	1004,6	7,01	3,58	41,6
11	1001,3	6,34	3,57	28,5
12	1000,2	6,11	3,58	20,2
13	999,3	5,94	3,58	24,0
14	997,0	5,70	3,57	13,5
15	997,0	5,70	3,57	12,5

En la Tabla 19 se presentan los resultados obtenidos durante la fermentación a 22°C. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo de los días hasta permanecer constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,65 de manera no significativa; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día fluctuando después hasta el día 7 donde otra vez rápidamente alcanzaron un pico el día 8, que luego fue disminuyendo con altibajos hasta el día 12, donde finalizó la fermentación.

**Tabla 19.** Parámetros de la Fermentación a 22°C en mostos de uva *Isabella*.

Días	Densidad	° Brix	pH	Levaduras Nativas x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,50	3,45	0,11
1	1063,1	15,87	3,60	4,19
2	1045,7	13,65	3,62	1,50
3	1034,1	11,47	3,61	0,84
4	1024,3	9,94	3,62	4,13
5	1012,2	8,34	3,62	1,63
6	1005,8	7,28	3,61	1,34
7	1001,1	6,50	3,65	25,0
8	999,3	6,20	3,60	52,5
9	998,3	5,90	3,64	43,5
10	997,6	5,80	3,62	19,5
11	997,2	5,70	3,63	46,4
12	997,2	5,70	3,63	23,4

En la Tabla 20 se presentan los valores obtenidos durante la fermentación a 26°C. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo de los días hasta permanecer constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,75 de manera no significativa; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día fluctuando después hasta el día 6 donde otra vez aumentaron y alcanzaron un pico el día 9 pero luego disminuyeron hasta el día 10, donde finalizó la fermentación.

**Tabla 20.** Parámetros de la Fermentación a 26°C en mostos de uva *Isabella*.

Días	Densidad	° Brix	pH	Levaduras Nativas x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,50	3,45	0,11
1	1064,3	15,64	3,65	2,21
2	1043,3	12,14	3,65	2,53
3	1029,3	10,44	3,64	1,09
4	1019,3	8,64	3,66	1,92
5	1007,3	7,24	3,70	2,05
6	1002,4	6,20	3,72	6,53
7	1000,4	5,67	3,72	26,6
8	1000,3	5,60	3,74	33,3
9	998,3	5,50	3,75	49,3
10	998,3	5,50	3,61	17,3

En la Tabla 21 se presentan los valores obtenidos en la fermentación a 30°C. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo de los días hasta permanecer constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,64 de manera no significativa; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día fluctuando después hasta el día 7 donde otra vez aumentaron y alcanzaron un pico el día 8 pero luego disminuyeron hasta el día 9, donde finalizó la fermentación.

**Tabla 21.** Parámetros de la Fermentación a 30°C en mostos de uva *Isabella*.

Días	Densidad	° Brix	pH	Levaduras Nativas x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,50	3,45	0,11
1	1058,8	15,61	3,64	4,54
2	1033,6	12,12	3,60	2,40
3	1019,4	9,24	3,57	2,46
4	1007,4	7,56	3,58	2,21
5	1002,6	6,90	3,58	2,37
6	999,6	6,50	3,60	2,11
7	999,5	6,40	3,61	30,4
8	999,4	6,30	3,56	32,0
9	999,4	6,30	3,60	23,7

En la Tabla 22 y en la Figura 19 se presentan los resultados de densidad obtenidos en función del tiempo durante las diferentes fermentaciones con levaduras nativas. La densidad inicial en los mostos es igual

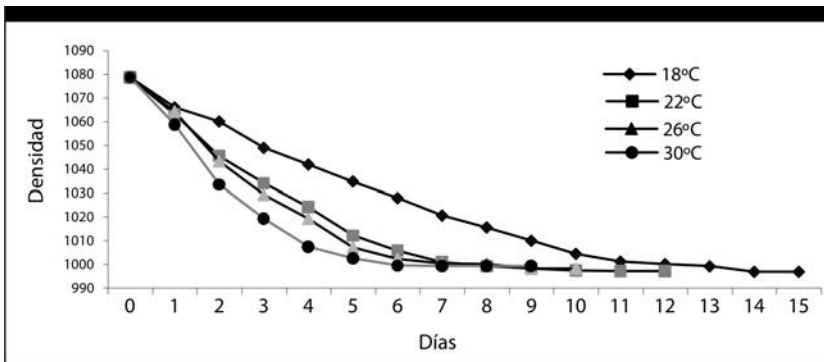


para todas las temperaturas, luego disminuyeron de manera continua a lo largo del tiempo, hasta que permanecieron constantes por dos días consecutivos. Finalizó la fermentación en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C.

**Tabla 22.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con nativas.

Tiempo (días)	Densidad			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	1078,8	1078,8	1078,8	1078,8
1	1066,0	1063,1	1064,3	1058,8
2	1060,1	1045,7	1043,3	1033,6
3	1049,0	1034,1	1029,3	1019,4
4	1042,0	1024,3	1019,3	1007,4
5	1034,9	1012,2	1007,3	1002,6
6	1028,0	1005,8	1002,4	999,6
7	1020,7	1001,1	1000,4	999,5
8	1015,7	999,3	1000,3	999,4
9	1010,1	998,3	998,3	999,4
10	1004,6	997,6	998,3	
11	1001,3	997,2		
12	1000,2	997,2		
13	999,3			
14	997,0			
15	997,0			

**Figura 19.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con nativas.



En la Figura 19 se puede observar que a medida que aumentaron las temperaturas de las fermentaciones estas transcurrieron con mayor

velocidad. El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron diferenciándose de manera cada vez más notoria especialmente a 18°C con el resto a otras temperaturas mientras que a 22 y 26°C la diferencia entre las curvas no fue significativa; pero a 30°C el cambio fue más rápido. Finalizaron las fermentaciones isotérmicas dando valores similares de densidades finales, aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

En la Tabla 23 y en la Figura 20 se presentan los resultados de los °Brix obtenidos en función del tiempo durante las fermentaciones con levaduras nativas. Los grados Brix iniciales fueron iguales para todas las temperaturas, luego fueron disminuyendo gradualmente hasta que permanecieron constantes por dos días consecutivos. Finalizó la fermentación en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C.

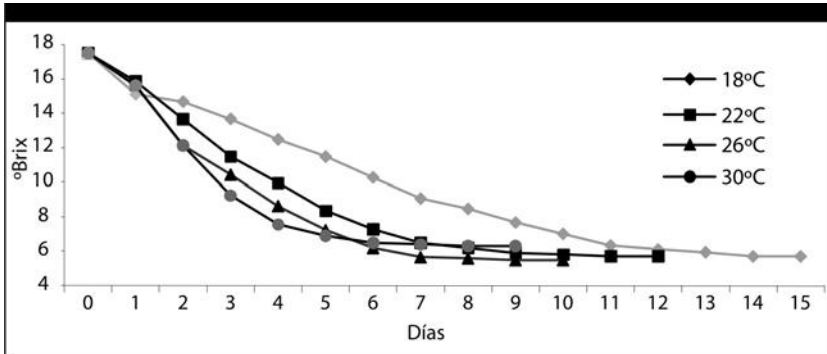
**Tabla 23.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con nativas.

Tiempo (días)	°Brix			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	17,5	17,5	17,5	17,5
1	15,10	15,87	15,64	15,61
2	14,67	13,65	12,14	12,12
3	13,67	11,47	10,44	9,24
4	12,47	9,94	8,64	7,56
5	11,47	8,34	7,24	6,9
6	10,27	7,28	6,2	6,5
7	9,06	6,5	5,67	6,4
8	8,46	6,2	5,6	6,3
9	7,67	5,9	5,5	6,3
10	7,01	5,8	5,5	
11	6,34	5,7		
12	6,11	5,7		
13	5,94			
14	5,7			
15	5,7			

En la Figura 20 se puede observar que a medida que aumentó la temperatura la fermentación se llevó a cabo con mayor velocidad. El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron

diferenciándose en forma cada vez mas notoria especialmente a 18°C con respecto al resto de las temperaturas, mientras que a 22°C y 26°C la diferencia no fue tan significativa; a 30°C el cambio fue mas rápido. Finalizaron las fermentaciones a distintas temperaturas dando valores similares de °Brix aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

**Figura 20.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con nativas.



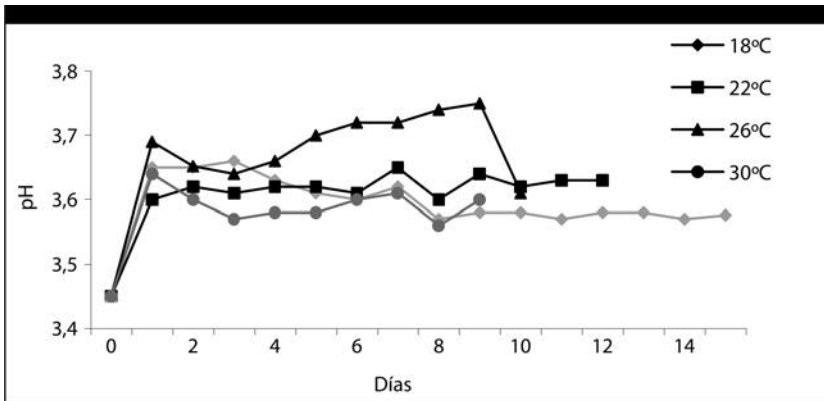
En la Tabla 24 y en la Figura 21 se presentan los valores de pH, en función del tiempo, obtenidos durante las difentes fermentaciones realizadas con levaduras nativas.

Los valores de pH iniciales fueron iguales para todas las temperaturas y aumentaron rápidamente el primer día. Luego fueron fluctuando de manera no significativa. Finalizaron las fermentaciones y se observaron valores finales de pH similares.

**Tabla 24.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con Nativas.

Tiempo (días)	pH			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	3,45	3,45	3,45	3,45
1	3,65	3,60	3,65	3,64
2	3,65	3,62	3,65	3,60
3	3,66	3,61	3,64	3,57
4	3,63	3,62	3,66	3,58
5	3,61	3,62	3,70	3,58
6	3,60	3,61	3,72	3,60
7	3,62	3,65	3,72	3,61
8	3,57	3,60	3,74	3,56
9	3,58	3,64	3,75	3,60
10	3,58	3,62	3,61	
11	3,57	3,63		
12	3,58	3,63		
13	3,58			
14	3,57			
15	3,57			

**Figura 21.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con nativas.



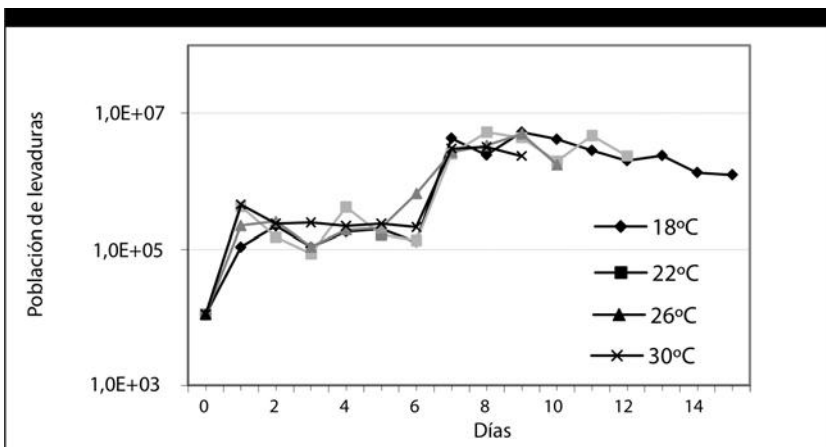
En la Figura 21 se puede observar que en todas las fermentaciones el pH aumenta desde un valor de 3,45 hasta valores entre 3,6 y 3,7, durante el primer día. Este valor se mantuvo constante en las fermentaciones a 18, 22 y 30°C, mientras que a 26°C, aumentó el pH hasta alcanzar un valor de 3,75 en 9 días.

En la Tabla 25 y en la Figura 22 se presentan el número de células de levaduras mL<sup>-1</sup> de mosto en función del tiempo durante las diferentes fermentaciones con levaduras nativas.

**Tabla 25.** Levaduras Nativas vs Tiempo en mostos de uva *Isabella*.

Tiempo (días)	Levaduras x 10 <sup>5</sup>			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	0,11	0,11	0,11	0,11
1	1,09	4,19	2,21	4,54
2	2,21	1,50	2,53	2,40
3	1,09	0,84	1,09	2,46
4	1,82	4,13	1,92	2,21
5	2,02	1,63	2,05	2,37
6	1,28	1,34	6,53	2,11
7	43,2	25,0	26,6	30,4
8	24,4	52,5	33,3	32,0
9	53,0	43,5	49,3	23,7
10	41,6	19,5	17,3	
11	28,5	46,4		
12	20,2	23,4		
13	24,0			
14	13,5			
15	12,5			

**Figura 22.** Levaduras Nativas vs Tiempo en mostos de uva *Isabella*.



Durante el transcurso del primer día, el número de células aumenta desde un valor inicial de  $0,11 \cdot 10^5$ , hasta valores entre  $10^5$  y  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 22). Estos valores se mantienen aproximadamente constantes hasta el día 7, a partir de allí todas las curvas de población aumentan y se sitúan entre  $10^6$  y  $10^7$ . Al finalizar la fermentación cada curva mantiene su tendencia de situar la población de levaduras por encima de  $10^6$  individuos para las distintas temperaturas de fermentación.

### MICROVINIFICACIÓN DE UVA ISABELLA CON *S. BAYANUS*

En la Tabla 26 se presentan los parámetros obtenidos durante la fermentación a  $18^\circ\text{C}$  con *bayanus*.

La densidad y los  $^\circ\text{Brix}$  disminuyeron continuamente (a partir sus valores iniciales) a lo largo de los días hasta que permanecieron constantes.

El pH fluctuó entre 3,45 y 3,73; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día y variaron poco hasta el día 7, desde aquí aumentaron y alcanzaron un pico el día 8 que luego fue disminuyendo hasta el día 15, donde concluyó la fermentación isotérmica.

**Tabla 26.** Parámetros de la Fermentación a  $18^\circ\text{C}$  en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.

Días	Densidad	$^\circ\text{Brix}$	pH	Levaduras $\times 10^5$
0	1078,8	17,5	3,45	0,066
1	1066	15,07	3,63	2,08
2	1061,1	14,67	3,68	1,57
3	1053	14,39	3,71	9,28
4	1046,9	12,87	3,73	2,08
5	1040,9	12,47	3,70	1,54
6	1032	11,07	3,66	2,85
7	1024,7	9,87	3,66	93,8
8	1017,7	8,46	3,61	102
9	1011,1	7,87	3,63	36,2
10	1003,6	7,01	3,60	10,1
11	999,3	6,14	3,58	23,0
12	998,2	5,96	3,56	20,8
13	997,3	5,81	3,57	23,4
14	997	5,7	3,58	25,9
15	997	5,7	3,56	18,2

**Tabla 27.** Parámetros de la Fermentación a 22°C en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.

Días	Densidad	° Brix	pH	Levaduras x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,5	3,45	0,066
1	1059,1	15,40	3,58	2,21
2	1054,6	14,82	3,63	6,46
3	1050,1	13,87	3,67	2,27
4	1044,3	12,74	3,71	1,95
5	1034,3	11,34	3,71	3,33
6	1025,8	10,09	3,69	5,98
7	1018,1	8,87	3,71	94,1
8	1012,3	8,14	3,72	36,3
9	1006,7	6,8	3,71	61,4
10	1000,3	6,3	3,67	40,3
11	997,2	5,7	3,67	38,9
12	997,2	5,70	3,66	34,7

En la Tabla 27 se presentan los resultados obtenidos en la fermentación a 22°C con *bayanus*. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo del tiempo hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,72; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día variando poco después hasta el día 7 donde rápidamente alcanzaron un pico que luego fue disminuyendo con altibajos hasta el día 12, donde finalizó la fermentación isotérmica.

En la Tabla 28 se presentan los valores obtenidos durante la fermentación a 26°C con *bayanus*. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo del tiempo hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,77; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día fluctuando luego hasta el día 6 donde otra vez aumentaron y alcanzaron un pico que fue disminuyendo hasta el día 10, donde finalizó la fermentación isotérmica.

**Tabla 28.** Parámetros de la Fermentación a 26°C en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.

Días	Densidad	° Brix	pH	<i>bayanus</i> x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,5	3,45	0,066
1	1061,1	14,40	3,64	2,18
2	1050,4	13,7	3,63	1,28
3	1040,3	12,44	3,77	1,60
4	1030,3	10,64	3,76	1,38
5	1018,3	9,24	3,75	1,66
6	1008,4	7,67	3,74	47,9
7	1000,4	6,5	3,74	24,3
8	999,2	6,43	3,73	20,8
9	998,3	5,5	3,72	44,8
10	998,3	5,5	3,57	20,9

En la Tabla 29 se presenta los valores obtenidos durante la fermentación a 30°C con *bayanus*. La densidad y los °Brix disminuyeron desde sus valores iniciales a lo largo de los días hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,69; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día fluctuando después hasta el día 7 donde aumentaron y alcanzaron un pico, para luego fue disminuyendo hasta el día 9, donde finalizó la fermentación isotérmica.

**Tabla 29.** Parámetros de la Fermentación a 30°C en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.

Días	Densidad	° Brix	pH	<i>bayanus</i> x 10 <sup>5</sup>
0	1078,8	17,50	3,45	0,066
1	1058,6	14,53	3,59	3,55
2	1045,6	13,03	3,69	3,01
3	1032,3	11,44	3,65	3,26
4	1019,6	9,52	3,63	2,82
5	1008,6	7,71	3,59	2,05
6	1003,8	7,1	3,56	1,60
7	1000,4	6,9	3,56	65,0
8	999,4	6,3	3,53	36,5
9	999,4	6,3	3,55	25,9

En la Tabla 30 y la Figura 23 se presentan los valores obtenidos durante las fermentaciones a diferentes temperaturas con *S. bayanus*. La densidad inicial fue igual para todas las temperaturas luego fueron disminuyendo de manera continua a lo largo del tiempo hasta permane-

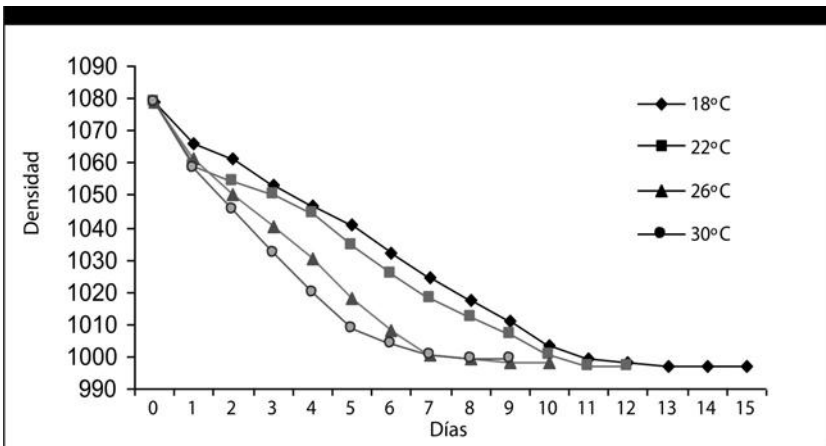


cer constantes por dos días consecutivos. Finalizó la fermentación en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C.

**Tabla 30.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *S. bayanus*.

Tiempo (días)	Densidad			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	1078,8	1078,8	1078,8	1078,8
1	1066	1059,1	1061,1	1058,6
2	1061,1	1054,6	1050,4	1045,6
3	1053	1050,1	1040,3	1032,3
4	1046,9	1044,3	1030,3	1019,6
5	1040,9	1034,3	1018,3	1008,6
6	1032	1025,8	1008,4	1003,8
7	1024,7	1018,1	1000,4	1000,4
8	1017,7	1012,3	999,2	999,4
9	1011,1	1006,7	998,3	999,4
10	1003,6	1000,3	998,3	
11	999,3	997,2		
12	998,2	997,2		
13	997,3			
14	997			
15	997			

**Figura 23.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.



En la Figura 23 se presenta la variación de la densidad en función del tiempo. El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero

luego fueron diferenciándose en forma cada vez más notoria, especialmente a 18°C respecto de 26°C y 30°C. Presentaron trazados cercanos a 18°C con 22°C y 26°C con 30°C. El proceso mas rápido se llevó a cabo a 30°C. Finalizaron las fermentaciones a distintas temperaturas con valores similares de densidades finales, aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

En la Tabla 31 y en la Figura 24 se presentan los valores obtenidos durante las fermentaciones a diferentes temperaturas con *bayanus*. Los °Brix iniciales fueron iguales para todas las temperaturas, pero fueron disminuyendo gradualmente hasta que permanecieron constantes por dos días consecutivos.

Finalizó la fermentación en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C.

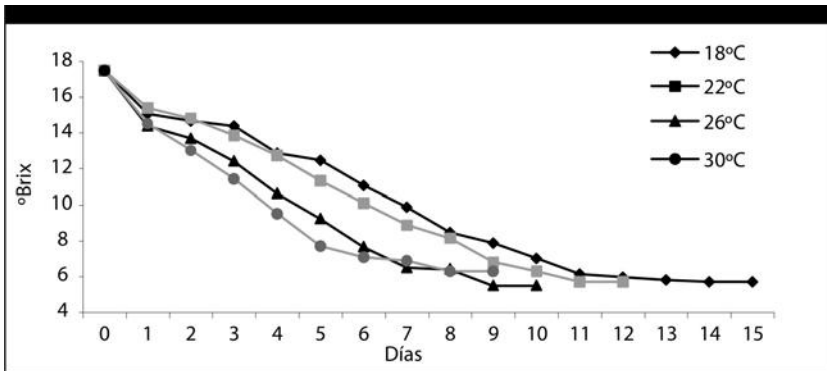
**Tabla 31.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *S. bayanus*.

Tiempo (días)	° Brix			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	17,5	17,5	17,5	17,5
1	15,07	15,40	14,40	14,53
2	14,67	14,82	13,7	13,03
3	14,39	13,87	12,44	11,44
4	12,87	12,74	10,64	9,52
5	12,47	11,34	9,24	7,71
6	11,07	10,09	7,67	7,1
7	9,87	8,87	6,5	6,9
8	8,46	8,14	6,43	6,3
9	7,87	6,8	5,5	6,3
10	7,01	6,3	5,5	
11	6,14	5,7		
12	5,96	5,7		
13	5,81			
14	5,7			
15	5,7			

En la Figura 24 se puede observar que a medida que aumentó la temperatura de fermentación, ésta fue aumentando su velocidad. El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron diferenciándose en manera cada vez más notoria especialmente entre 18 y 30°C. Se observó que las curvas entre 18°C y 22°C y entre 26°C y 30°C se encontraban mas próximas entre sí. A 30°C el cambio se llevó a cabo

a mayor velocidad. Finalizó la fermentación a distintas temperaturas dando valores similares de °Brix aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

**Figura 24.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.



En la Tabla 32 y en la Figura 25 se presentan los valores obtenidos durante las fermentaciones a diferentes temperaturas con *bayanus*. Los valores de pH iniciales fueron iguales para todas las temperaturas y aumentaron el primer día. Luego fueron fluctuando de manera no significativa. Finalizó la fermentación en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C y se obtuvieron valores finales de pH similares.

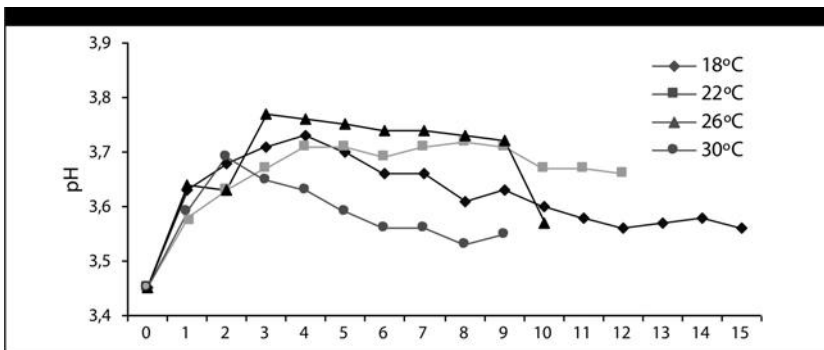
**Tabla 32.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *S. bayanus*.

Tiempo (días)	PH			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	3,45	3,45	3,45	3,45
1	3,63	3,58	3,64	3,59
2	3,68	3,63	3,63	3,69
3	3,71	3,67	3,77	3,65
4	3,73	3,71	3,76	3,63
5	3,7	3,71	3,75	3,59
6	3,66	3,69	3,74	3,56
7	3,66	3,71	3,74	3,56
8	3,61	3,72	3,73	3,53
9	3,63	3,71	3,72	3,55
10	3,6	3,67	3,57	
11	3,58	3,67		
12	3,56	3,66		
13	3,57			
14	3,58			
15	3,56			

En la Figura 25 se puede observar que el primer día aumentaron todos los valores iniciales de pH hasta situarse entre 3,6 y 3,7 hasta el día 3. La curva de 26°C se situó entre 3,7 y 3,8 hasta el día 9 y terminó el día 10 entre 3,5 y 3,6. A 30°C el valor se situó entre 3,6 y 3,5 desde el día 5 hasta el día 9. A 22°C la curva fluctuó alrededor de 3,7 hasta el día 12. A 18°C los días 3, 4 y 5 la curva se mantuvo en 3,7 pero fue descendiendo hasta ubicarse desde el día 10 al 15 entre 3,5 y 3,6.

Finalizaron las fermentaciones a valores similares de pH aunque los tiempos de microvinificaciones fueron diferentes entre las distintas temperaturas.

**Figura 25.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* con *bayanus*.



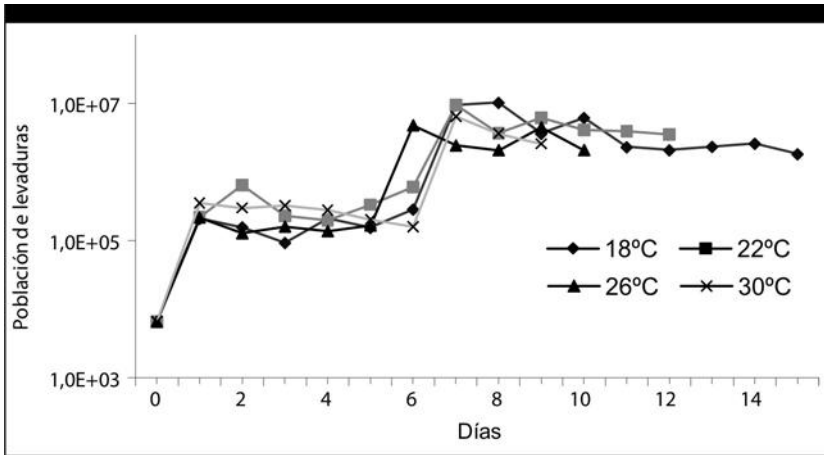
En la Tabla 33 y en la Figura 26 se presentan las poblaciones de levaduras *S. bayanus* obtenidas durante las fermentaciones a diferentes temperaturas. Inicialmente se partió de una concentración de  $0,066 \cdot 10^5$  *S. bayanus* mL<sup>-1</sup> de mosto para las diferentes temperaturas. Aumentaron llegando de 5 a 6 generaciones el primer día. Luego fueron fluctuando de manera continua hasta que alcanzaron un máximo de 9 a 11 generaciones entre los días 6-8. A partir del pico todos los valores comenzaron a descender con altibajos hasta que finalizaron las fermentaciones en 15 días a 18°C, en 12 días a 22°C, en 10 días a 26°C y en 9 días a 30°C.

Los valores finales de población descendieron hasta a ubicarse entre 8 y 9 generaciones respecto de la población inicial.

**Tabla 33.** *S. bayanus* vs Tiempo en mostos de uva *Isabella*.

Tiempo (Días)	Levaduras x 10 <sup>5</sup>			
	18°C	22°C	26°C	30°C
0	0,066	0,066	0,066	0,066
1	2,08	2,21	2,18	3,55
2	1,57	6,46	1,28	3,01
3	9,28	2,27	1,60	3,26
4	2,08	1,95	1,38	2,82
5	1,54	3,33	1,66	2,05
6	2,85	5,98	47,9	1,60
7	93,8	94,1	24,3	65,0
8	102	36,3	20,8	36,5
9	36,2	61,4	44,8	25,9
10	10,1	40,3	20,9	
11	23,0	38,9		
12	20,8	34,7		
13	23,4			
14	25,9			
15	18,2			

**Figura 26.** *bayanus* vs Tiempo en mostos de uva *Isabella*.



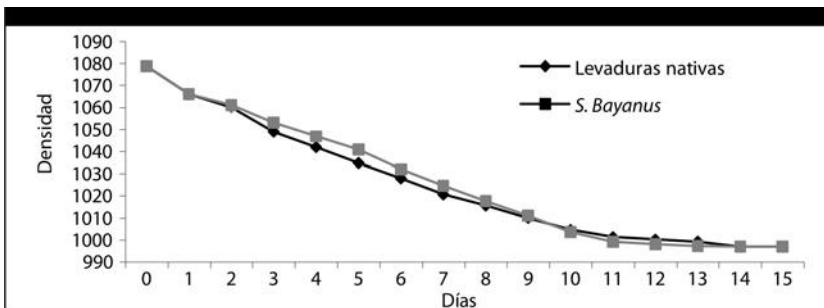
En la Figura 26 se observó que el primer día aumentaron todos los valores iniciales de población hasta que se situaron entre  $10^5$  y  $10^6$ ; el día 6 aumentaron todas las poblaciones a valores comprendidos entre  $10^6$  y  $10^7$ , desde el día 7 todas las curvas mantuvieron sus poblaciones con pocos cambios. Cuando finalizó la fermentación cada curva mantuvo su tendencia de situar la población de levaduras por encima de  $10^6$  individuos a las diferentes temperaturas.

## ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

### Densidad

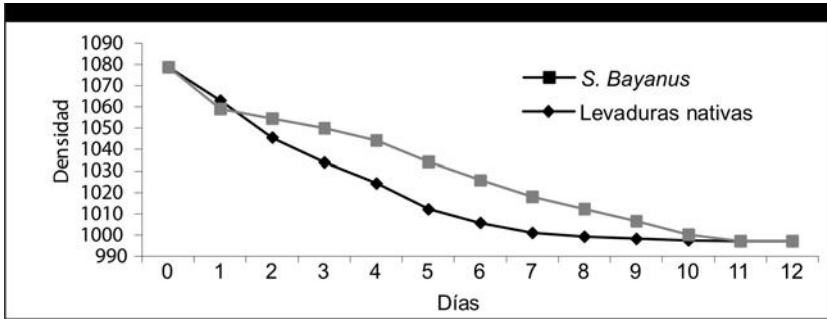
En la Figura 27 se presentan las curvas de densidad en función del tiempo para la fermentación a  $18^\circ\text{C}$  en mostos de *Isabella* con levaduras Nativas y *S. bayanus*.

**Figura 27.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a  $18^\circ\text{C}$ .



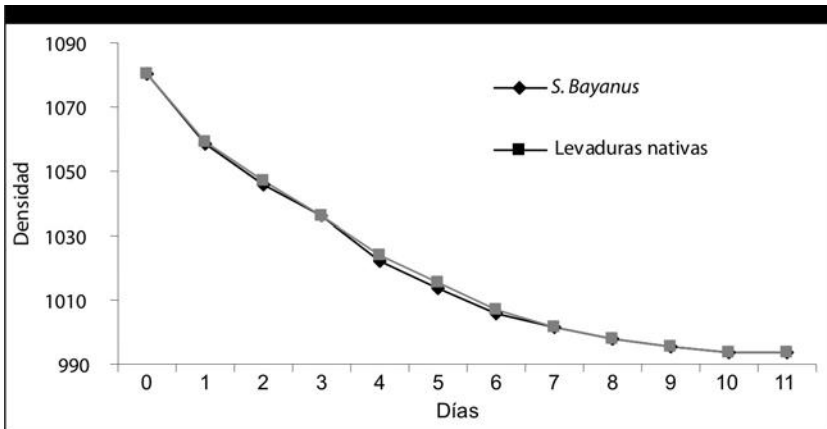
En el Figura 28 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para la fermentación a 22°C en mostos de *Isabella* con levaduras Nativas y *S. bayanus*.

**Figura 28.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 22°C.



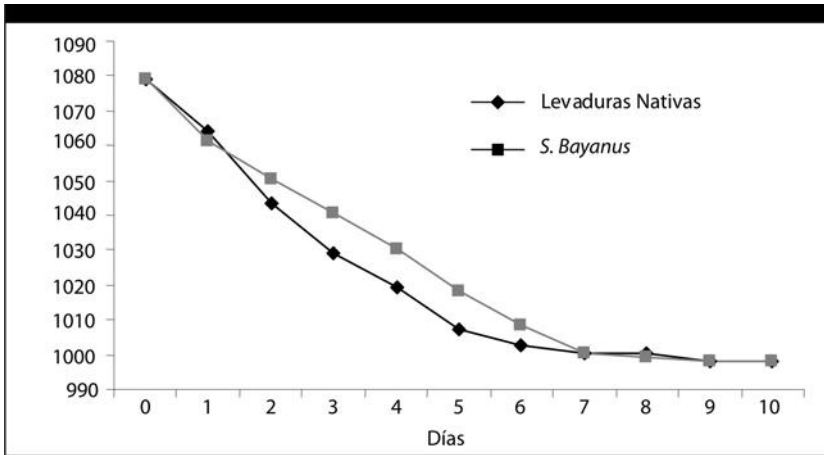
En la Figura 29 se presentan los valores de la densidad en función del tiempo para las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de uva *Niágara* a 24°C. La fermentación demoró 11 días en ambos casos.

**Figura 29.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Niágara* a 24°C.



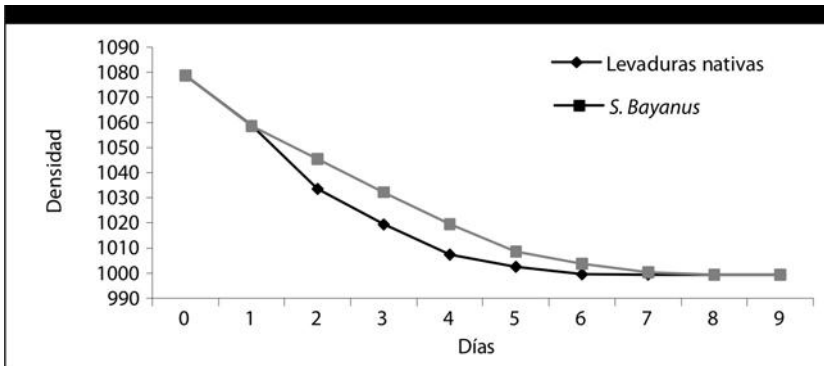
En la Figura 30 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para la fermentación a 26°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *bayanus*.

**Figura 30.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 26°C.



En la Figura 31 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para las fermentaciones a 30°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras Nativas y *S. bayanus*.

**Figura 31.** Densidad vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 30°C.



Las Densidades corregidas -a 15°C, tuvieron un comportamiento similar, fueron descendiendo a lo largo del tiempo durante la microvinificación isotérmica a 18, 22, 24, 26 y 30°C tanto para las levaduras nativas como para las *S. bayanus*.

La rapidez del cambio en la densidad -desde el inicio al final de las fermentaciones- fue directamente proporcional a las temperaturas estudiadas.



La densidad en las Figuras 27 a 31 a medida que era mayor la temperatura era menor el tiempo ocupado por la fermentación.

A medida que transcurren la fermentaciones isotérmicas el contenido de azúcar va disminuyendo y por ello también la densidad a todas las temperaturas estudiadas.

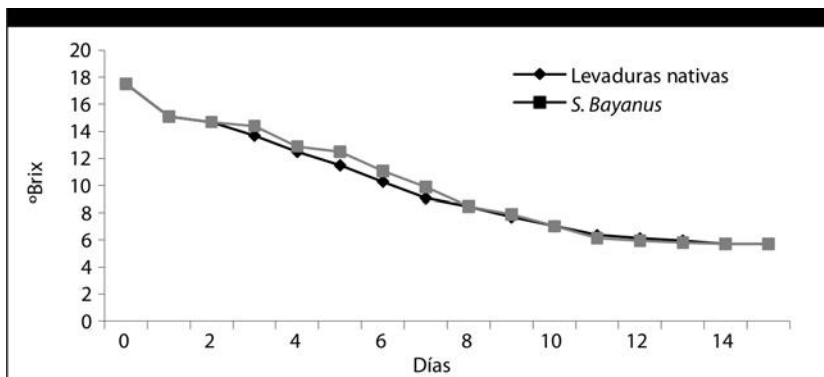
El Análisis de Varianza de la densidad (con un límite de confianza del 95%) para los mostos de uva *Isabella* no presentaron diferencias significativas desde el inicio al final de la fermentación en los siguientes casos a:

- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con levaduras nativas.
- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con levaduras *S. bayanus*.
- 18°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 22°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 26°C al comparar mostos de levaduras nativas otro de *S. bayanus*.
- 30°C al comparar mostos de nativas con otro de *S. bayanus*.

### Grados Brix:

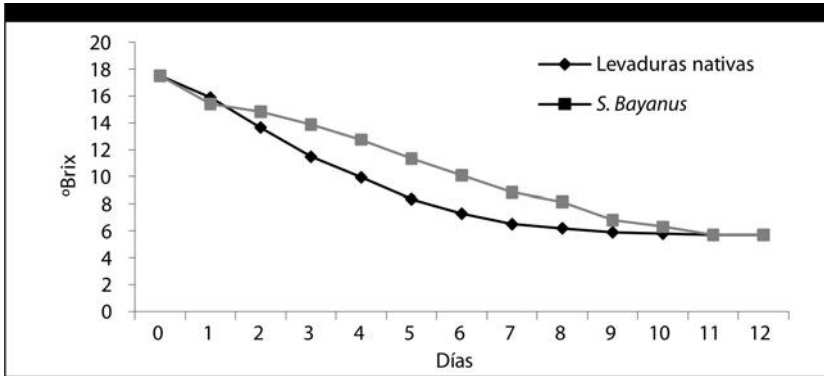
En la Figura 32 se presentan las curvas de °Brix en función del tiempo para las fermentaciones a 18°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 32.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 18°C.



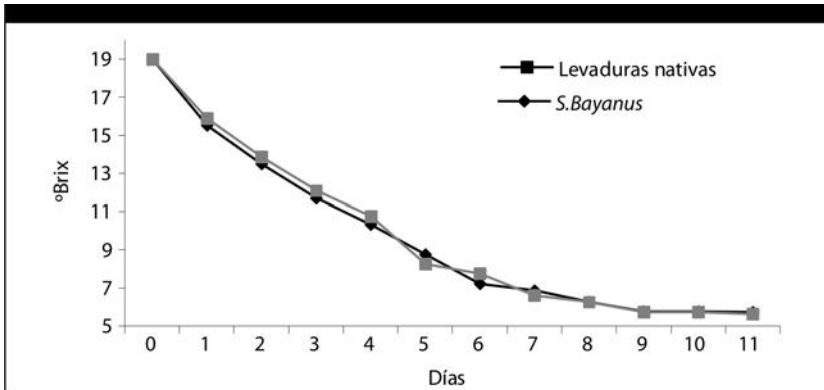
En la Figura 33 se presentan las curvas de °Brix en función del tiempo para las fermentaciones a 22°C de mostos de uva *Isabella* con levaduras Nativas y *S. bayanus*.

**Figura 33.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 22°C.



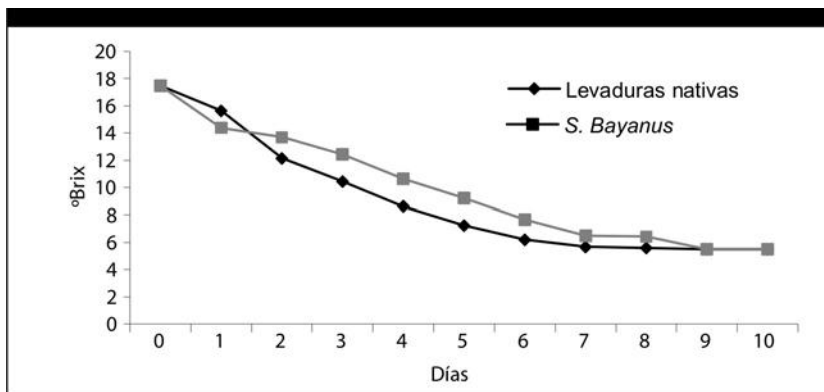
En el Figura 34 se presentan las curvas de °Brix en función del tiempo para las fermentaciones a 24°C de mostos de uva *Niágara* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 34.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Niágara* a 24°C.



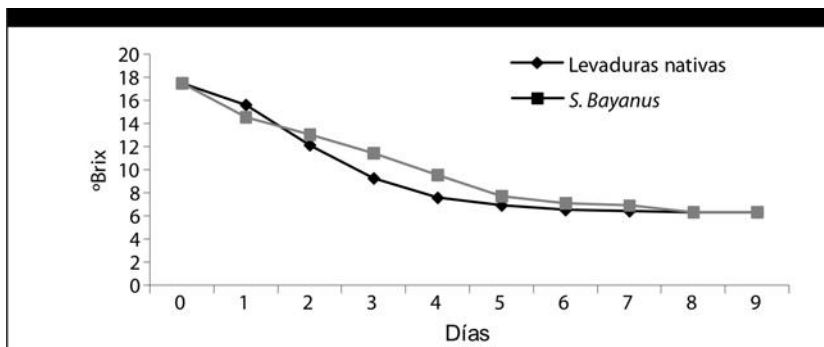
En la figura 35 se presentan las curvas de °Brix en función del tiempo para las fermentaciones a 26°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 35.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 26°C.



En la Figura 36 se presentan las curvas de °Brix en función del tiempo para las fermentaciones a 30°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 36.** °Brix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 30°C.



Se observó en las Figuras 32 a 36 que a medida que fue mayor la temperatura fue menor el tiempo de las fermentaciones.

Los grados Brix corregidos a 20°C, tuvieron un comportamiento similar, fueron descendiendo a lo largo del tiempo durante la microvinificación isotérmica a 18, 22, 24, 26 y 30°C tanto para las levaduras *S. bayanus* como para las nativas.

La variación de los grados Brix se mantuvo en descenso, en todos los casos estudiados, hasta que transcurrido un cierto tiempo se hizo constante; este hecho señaló que el proceso finalizó.

La rapidez del cambio total de los grados Brix -desde inicio al final- fue directamente proporcional a la temperatura, a mayor T mayor tasa de variación total. Sin embargo a una misma T las levaduras nativas y *S. bayanus* demoraron el mismo tiempo para producir el cambio total en los grados Brix.

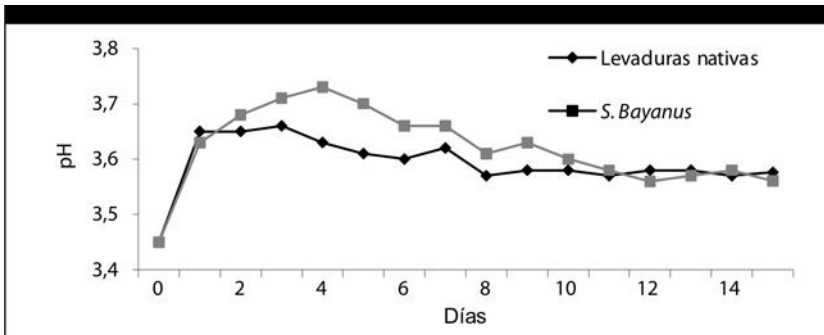
El Análisis de Varianza de los °Brix (con un límite de confianza del 95%) no presentaron diferencias significativas en los mostos de uva *Isabella* desde el inicio al final de la fermentación en los siguientes casos a:

- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con levaduras nativas.
- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con *S. bayanus*.
- 18°C al comparar los mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 22°C al comparar los mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 26°C al comparar los mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 30°C al comparar los mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.

## El pH

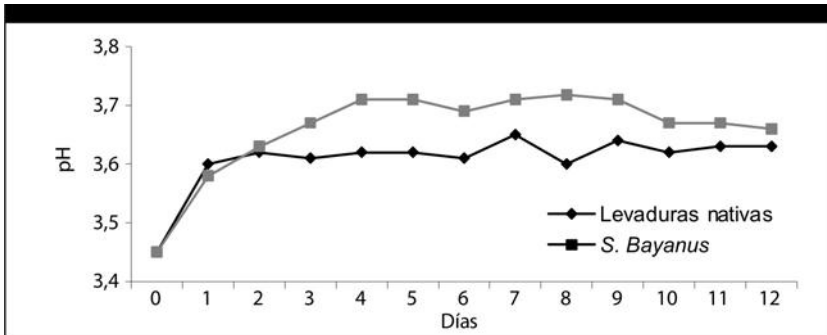
En la Figura 37 se presentan las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 18°C de mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 37.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 18°C.



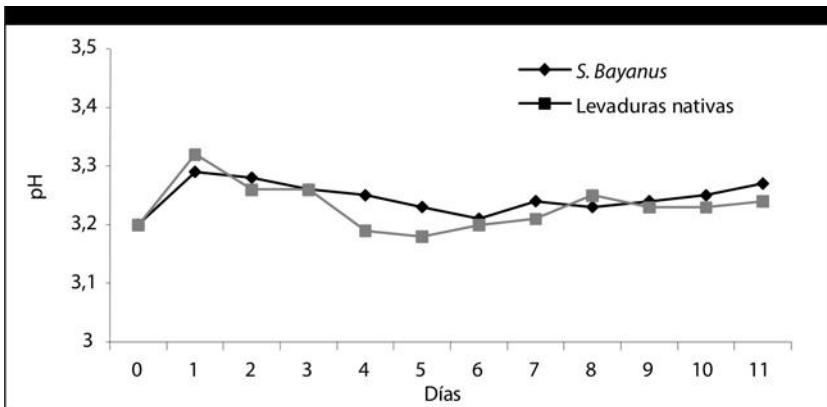
En la Figura 38 se trazan las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 22°C de mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 38.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 22°C.



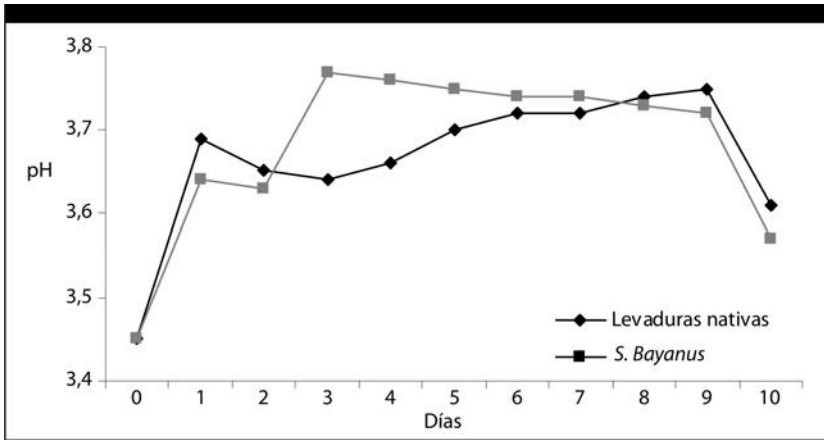
En la Figura 39 se presentan las curvas del pH en función del tiempo para las fermentaciones a 24°C de mostos de uva *Niágara* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 39.** pH vs. Tiempo en mostos de uva *Niágara* a 24°C.



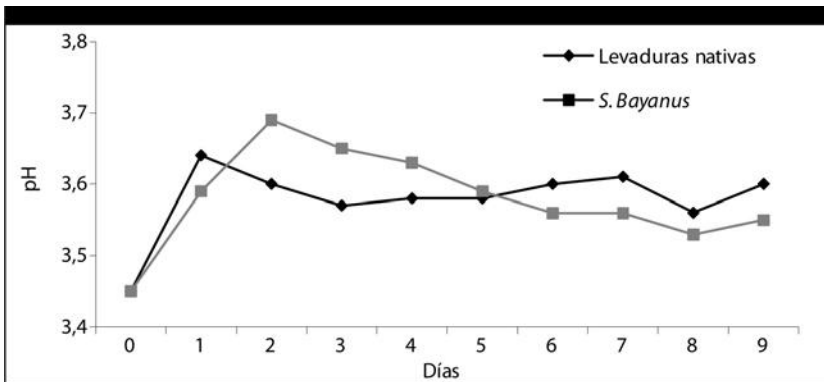
En la Figura 40 se graficaron las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 26°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 40.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 26°C.



En la Figura 41 se trazaron las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 30°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 41.** pH vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 30°C.



En las Figuras 37 a 41 se observó que todas las fermentaciones isotérmicas estudiadas a 18, 22, 24, 26 y 30°C el valor del pH se mantuvo entre 3 y 4 desde el inicio al final de cada microvinificación. Entre 3,4 y 3,8 con mosto de uva *Isabella* entre 3,15 y 3,35 con mosto de uva *Niágara*.

El pH no es limitante de la microvinificación entre 3 a 4 ni entre 2 y 7.

Una acidez alta limita el crecimiento de bacterias lácticas.

El Análisis de Varianza del pH (con un límite de confianza del 95%) no presentó diferencias significativas en los mostos de uva *Isabella* desde el inicio al final de la fermentación en los siguientes casos, a:

- 18, 22 y 26°C al comparar mostos con levaduras nativas.
- 18, 22 y 26°C al comparar mostos con levaduras *S. bayanus*.
- 18°C al comparar mostos de levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 22°C al comparar mostos de levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 26°C al comparar mostos de levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 30°C al comparar mostos de levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.

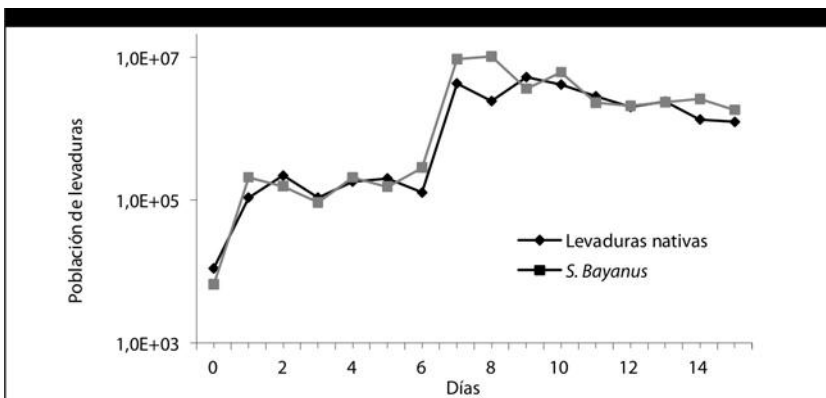
El Análisis de Varianza del pH (con un límite de confianza del 95%) presentó diferencias significativas en los mostos de uva *Isabella* desde el inicio al final de la fermentación en los siguientes casos a:

- 30°C respecto de 18, 22 y 26°C en mostos con levaduras nativas.
- 30°C respecto de 18, 22 y 26°C en mostos con levaduras *S. bayanus*.

### Las Levaduras

En la Figura 42 se presenta la población de levaduras en función del tiempo para fermentaciones isotérmicas a 18°C en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 42.** Levaduras vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 18°C.

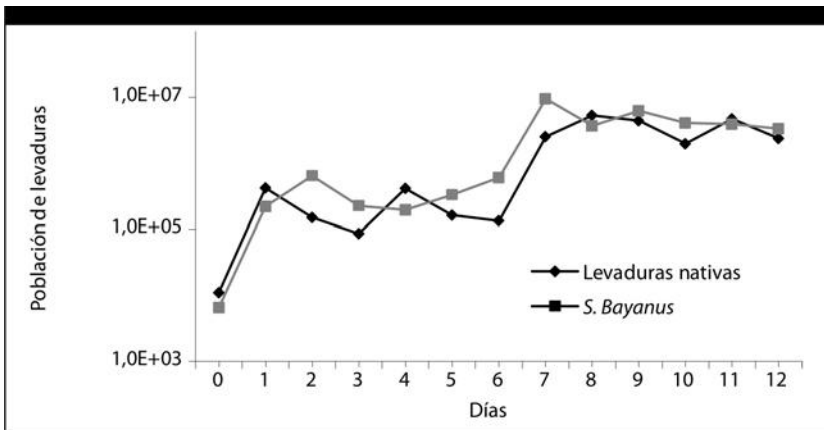


Las curvas presentaron un comportamiento similar coincidiendo los días en que las poblaciones de uno y otro tipo aumentaron y disminuyeron, con excepción de los días 7 y 8 en que las *S. bayanus* alcanzaron un máximo de población.

Las poblaciones de levaduras fluctuaron entre  $10^5$  y  $10^6$  entre los días 2 y 6 luego aumentó para ubicarse entre  $10^7$  y  $10^6$  a partir del día 7 y hasta que finalizaron las fermentaciones. Concluyeron a los 15 días y sus valores finales de población tendieron a coincidir.

En la Figura 43 se presentan las curvas de población de levaduras en función del tiempo para fermentaciones a 22°C en mostos de uvas *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 43.** Levaduras vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 22°C.



En la Figura 43 las curvas presentaron un comportamiento similar coincidiendo los días en que las poblaciones de uno y otro tipo aumentaron y disminuyeron, con excepción del día 7 en que las *S. bayanus* alcanzaron un máximo de población.

Las poblaciones fluctuaron entre  $10^5$  y  $10^6$  entre los días 2 al 6 luego aumentaron para ubicar entre  $10^7$  y  $10^6$  a partir del día 7 y así hasta la finalización de las fermentaciones.

Las fermentaciones terminaron a los 12 días y sus valores finales de población tendieron a coincidir.

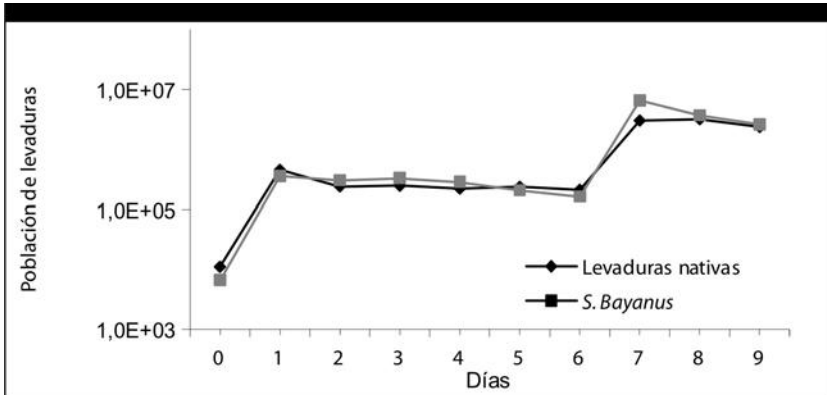
En la Figura 44 se presentan las poblaciones de levaduras en función del tiempo para fermentaciones a 26°C en mostos de uvas *Isabella* nativas y *S. bayanus*. En la Figura 44 las curvas presentaron un comportamiento similar coincidiendo los días en que las poblaciones de uno



y otro tipo aumentaron y disminuyeron, con excepción del día 6 en que las *S. bayanus* alcanzaron un máximo.

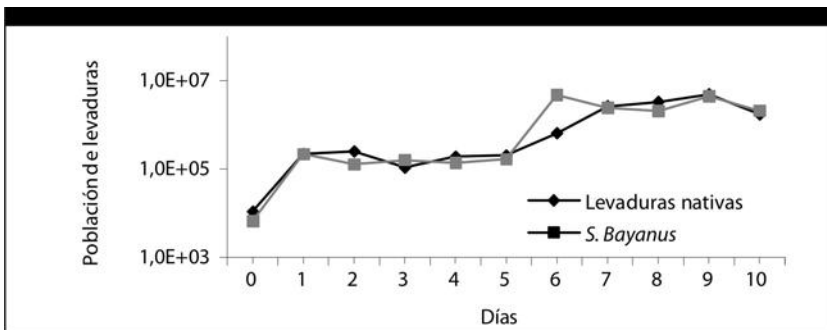
Las poblaciones fluctuaron entre  $10^5$  y  $10^6$  entre los días 2 y 5 luego aumentaron y se ubicaron entre  $10^7$  y  $10^6$  a partir del día 6 y hasta el final. Las fermentaciones terminaron a los 10 días y sus valores finales de población tendieron a coincidir.

**Figura 44.** Levaduras vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 26°C.



En la Figura 45 se presenta el recuento de levaduras en función del tiempo para fermentaciones a 30°C en mostos de uvas *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Figura 45.** Levaduras vs Tiempo en mostos de uva *Isabella* a 30°C.



En la Figura 45 las levaduras presentan un comportamiento similar coincidiendo los días en que las poblaciones de uno y otro tipo

aumentaron y disminuyeron, con excepción del día 7 en que las *S. bayanus* alcanzaron un máximo.

Las poblaciones fluctuaron entre  $10^5$  y  $10^6$  los días 2 al 6 luego aumentaron para ubicarse entre  $10^7$  y  $10^6$  los 2 últimos días. Las fermentaciones terminaron el día 9 y sus valores finales de población tendieron a coincidir.

Las levaduras durante la fase de crecimiento en condiciones enológicas se multiplican hasta 6 o 7 generaciones, así una población próxima a 120-130.  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  para una inoculación inicial de  $1 \cdot 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Esta biomasa final solo representa  $3 \text{ g L}^{-1}$  de peso seco.

El crecimiento de las levaduras es naturalmente dependiente de ciertas carencias nutricionales de los mostos, especialmente de Nitrogeno asimilable (Bely y col., 1990), en Vitaminas (Ough y col., 1989), y más particularmente en Tiamina (Bataillon y col., 1996).

El Oxígeno en pequeñas cantidades (algunos  $\text{mg L}^{-1}$ ) es necesario para un buen crecimiento celular (Sabrayroles y Bayes, 1986). Interviene en la síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados, constituyentes esenciales de la membrana plásmica. (Andreasen y Steir, 1953,1954).

Con Levaduras nativas la población inicial fue de  $1,1 \cdot 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  de mosto para todas las nativas y con *S. bayanus* la población inicial fue de  $0,66 \cdot 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  de mosto preparados.

En mostos de uva *Isabella* se obtuvieron los siguientes resultados

Población máxima alcanzada respecto de la inicial expresadas en generaciones:

- $18^\circ \text{C}$ : Nativas: 8 - 9.
- $18^\circ \text{C}$ : *S. bayanus*: 10 - 11.
- $22^\circ \text{C}$ : Nativas: 8 - 9.
- $22^\circ \text{C}$ : *S. bayanus*: 10 - 11.
- $26^\circ \text{C}$ : Nativas: 8 - 9.
- $26^\circ \text{C}$ : *S. bayanus*: 9 - 10.
- $30^\circ \text{C}$ : Nativas: 8 - 9.
- $30^\circ \text{C}$ : *S. bayanus*: 9 - 10.
- Se pudo observar que las nativas produjeron entre 8 y 9 generaciones de máximos a todas las temperaturas, y *S. bayanus* 1 generación menos de máximo a  $26$  y  $30^\circ \text{C}$ .

Las poblaciones máximas de nativas estuvieron constituidas por 8 a 9 generaciones mientras que *S. bayanus* por 9 a 11.

Población final respecto de la inicial expresada en generaciones:

- $18^\circ \text{C}$ : Nativas 6 - 7 generaciones.

- 18°C: *S. bayanus* 8 - 9 generaciones.
- 22°C: Nativas 7 -8 generaciones.
- 22°C: *S. bayanus* 9 - 10 generaciones.
- 26°C: Nativas 7 - 8 generaciones.
- 26°C: *S. bayanus* 8 - 9 generaciones.
- 30°C: Nativas 7 - 8 generaciones.
- 30°C: *S. bayanus* 8 - 9 generaciones.

Se observó que la población final de las nativas presentó 1-2 generaciones menos de levaduras respecto de *S. bayanus*. Las poblaciones finales de nativas llegaron a contituir de 6 a 8 generaciones mientras que *S. bayanus* de 8 a 10.

Las poblaciones de levaduras nativas y *S. bayanus* aumentan durante las microvinificaciones respecto de sus valores iniciales de células mL<sup>-1</sup> sembradas a diferentes temperaturas con uva *Isabella*.

Las máximas poblaciones respecto del valor inicial de siembra a 18, 22, 26 y 30°C con uva *Isabella* llegaron a:

- 8 y 9 generaciones para las nativas.
- 9 y 11 generaciones para *bayanus*.

La Variación de Poblaciones Finales -respecto del valor inicial de siembra- a 18, 22, 26 y 30°C con uva *Isabella* fueron para:

Las Nativas de (125 - 237).10<sup>4</sup> células mL<sup>-1</sup> que equivalen de 6 a 8 generaciones.

Las *bayanus* de (182 - 347).10<sup>4</sup> células mL<sup>-1</sup> que equivalen de 8 a 10 generaciones.

Las medias de las Poblaciones Finales para 18, 22, 26, 30°C -respecto del valor inicial de siembra- con uva *Isabella* son para:

- Nativas = 192,2.10<sup>4</sup> células mL<sup>-1</sup> y equivalen a 7,4 generaciones.
- *S. bayanus* = 206,5.10<sup>4</sup> células mL<sup>-1</sup> y equivalen a 8,2 generaciones.

El Análisis de Varianza de la población de levaduras con un límite de confianza del 95% no presentó diferencias significativas en los mostos de uva *Isabella* desde el inicio al final en las fermentaciones en los siguientes casos, a:

- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con levaduras nativas.
- 18, 22, 26 y 30°C al comparar mostos con levaduras *S. bayanus*.

- 18°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 22°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 26°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.
- 30°C al comparar mostos con levaduras nativas con otro de *S. bayanus*.

## **INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA MICROVINIFICACIÓN DE UVA NIÁGARA**

### **Características Físicoquímicas de la Uva Niágara**

- Variedad: *Niágara Rosada*.
- Código de Variedad: s / nº en el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV).
- Cepa Americana pura: *Vitis Labrusca*.
- Fecha de cosecha: 20/12/06.
- Viñedo: Sr. Pedro Ibachuta - Cerro Azul - Misiones.
- Observaciones:
  - Estado sanitario del viñedo: bueno.
  - Color de las bayas: rosado claro.
- Peso de 200 bayas: 628 g.
- Volumen ocupado por 200 bayas: 595 mL.
- Rendimiento en mosto: 55,65% (p/p) (kg mosto / kg uva).
- Densidad del mosto a (15/15): 1,080 g mosto L<sup>-1</sup> mosto.
- Sólidos solubles: 19 ° Brix.
- Contenido de azúcares: 183 g azúcar L<sup>-1</sup> mosto.
- Grado alcohólico probable del vino blanco: 10,7% (v/v) a 20°C.
- Acidez total: 6,71 g ácido tartárico L<sup>-1</sup> de mosto.
- pH: 3,24.
- Índices de madurez:
  - Índice de *Cillis y Odifredi*: 2,83.
  - Índice de *Van Rooyen, Ellis y Du Plessis*: 61,56.

**Microvinificación de uva *Niágara* con levaduras nativas y *bayanus***

En la Tabla 34 se presentan los valores de la densidad en función del tiempo para la fermentación isotérmica a 24°C en mostos de uva *Niágara* con levaduras nativas y *bayanus*.

**Tabla 34.** Densidad vs Tiempo en mostos a 24°C de uva *Niágara*.

TIEMPO Días	DENSIDAD	
	<i>bayanus</i>	Nativas
0	1080,3	1080,3
1	1058,6	1058,8
2	1045,8	1046,7
3	1035,8	1035,8
4	1021,9	1023,7
5	1013,7	1015,7
6	1005,6	1006,7
7	1001,7	1001,4
8	997,7	997,7
9	995,7	995,6
10	993,7	993,6
11	993,6	993,6

En la Tabla 35 se presentan los valores de los °Brix en función del tiempo para la fermentación isotérmica a 24°C en mostos de uva *Niágara* con levaduras nativas y *bayanus*.

**Tabla 35.** °Brix vs Tiempo en mostos a 24°C de uva *Niágara*.

TIEMPO Días	°BRIX	
	<i>bayanus</i>	Nativas
0	19,0	19,0
1	15,5	15,89
2	13,4	13,85
3	11,6	12,09
4	10,3	10,75
5	8,75	8,25
6	7,21	7,75
7	6,84	6,60
8	6,24	6,24
9	5,74	5,71
10	5,74	5,71
11	5,71	5,61

En la Tabla 36 se transcriben los resultados de la variación del PH en la fermentación isotérmica a 24°C con la variedad *Niágara Rosada*.

**Tabla 36.** PH vs Tiempo en mostos a 24°C de uva *Niágara*.

TIEMPO	PH	
	<i>bayanus</i>	Nativas
Días		
0	3,20	3,20
1	3,29	3,32
2	3,28	3,26
3	3,26	3,26
4	3,25	3,19
5	3,23	3,18
6	3,21	3,20
7	3,24	3,21
8	3,23	3,25
9	3,24	3,23
10	3,25	3,23
11	3,27	3,24

El Análisis de Varianza (con un límite de confianza del 95%) no presentó diferencias significativas en los mostos de uva *Niágara* desde el inicio al final de la fermentación en los siguientes casos, a:

- 24°C al comparar la densidad en mostos con levaduras nativas vs *S. bayanus*.
- 24°C al comparar los °Brix en mostos con levaduras nativas vs *S. bayanus*.
- 24°C al comparar el pH en mostos de levaduras nativas vs *S. bayanus*.

### **PODER, ACTIVIDAD Y RENDIMIENTO FERMENTATIVO DE LEVADURAS NATIVAS Y BAYANUS**

**El Poder Fermentativo (PF)** se expresa como el porcentaje de alcohol etílico formado respecto del alcohol etílico esperado cuando la fermentación ha concluido.

En la Tabla 37 se presentan los valores de alcohol etílico esperado y obtenido de las diferentes fermentaciones isotérmicas -con levaduras *bayanus* y Nativas- cuando estas terminaron de fermentar; se calculó el (PF) en cada caso.

Se comparó para cada temperatura el poder fermentativo de las *bayanus* y fue más elevado que el de las nativas a 18°C un 9,1%, a 22°C un 4,1% a 26°C un 5%; mientras que a 30°C las nativas tenían un 8% de diferencia respecto de las *bayanus*.

Se calculó el promedio del (PF) de las nativas a 18, 22, 26 y 30°C se obtuvo 90,35%; mientras que el mismo cálculo para las *bayanus* fue de 92,87%; la diferencia es de 2,55%.

**Tabla 37.** Poder Fermentativo de Levaduras en mostos de uva *Isabella*.

FERMENTACIÓN ISOTÉRMICA Uva ISABELLA TINTO	LEVADURA	ALCOHOL ETÍLICO % v/v a 20°C		PODER FERMENTATIVO % máximo de alcohol etílico obtenido
		Esperado	obtenido	
18°C	<i>bayanus</i>	9,9	9,8	98,9%
	Nativas	9,9	8,9	89,8%
22°C	<i>bayanus</i>	9,9	9,3	93,9%
	Nativas	9,9	8,9	89,8%
26°C	<i>bayanus</i>	9,9	9,5	95,9%
	Nativas	9,9	9,0	90,9%
30°C	<i>bayanus</i>	9,9	8,2	82,8%
	Nativas	9,9	9,0	90,8%
	<i>bayanus</i>	9,9	9,2	Media = 92,87%
	Nativas	9,9	8,9	Media = 90,32%

Por lo tanto desde el punto de vista del (PF) medio a las cuatro temperaturas diferentes las *S. bayanus* presentaron mejor valor respecto de las nativas. Aumentó la diferencia a 18, 22 y 26°C, sin embargo las nativas presentaron un mayor (PF) solo a 30°C (podrían estar más acostumbradas a fermentar a esta temperatura).

Los valores de las medias aritméticas del (PF) en% máximo de etanol obtenido a 18, 22, 26 y 30°C fueron para:

- Las nativas = 90,32% (con uva *Isabella*).
- Las *bayanus* = 92,87% (con uva *Niágara*).

En 30°C las nativas tienen 90,8% mayor en 8% respecto de *S. bayanus*.

En 26°C las *bayanus* tienen 99,1% mayor en 2,8% respecto de las nativas.

A menos de 26°C las *bayanus* presentan mejor (PF) se podría suponer que toleran más la presencia creciente de etanol en el medio respecto de las nativas y además tener más acostumbrado su metabolismo a las temperaturas menores.

Por encima de 26°C las nativas presentan mejor (PF) podrían tener mejor tolerancia a la presencia creciente de etanol en el medio respecto de las *S. bayanus* y estar acostumbradas a operar a temperaturas mayores.

En la Tabla 38 se observó que el (PF) de la *bayanus* es un 2,8% mayor respecto de las nativas a 24°C en mostos de uva *Niágara*.

La influencia de la temperatura sobre el desarrollo de la fermentación alcohólica fue relativamente compleja. La disminución o el aumento de la temperatura en un intervalo comprendido entre 4 y 40°C afectó el funcionamiento de numerosas actividades enzimáticas, pero en ausencia de productos tóxicos no indujo a mortalidad celular. En este intervalo la variación de temperatura afectó negativamente la tasa de crecimiento celular alrededor de un óptimo situado en torno a 30°C. Más allá de estos límites se observa una mortalidad inducida por el calor. (Sa Corrieda y Van Uden, 1986).

**Tabla 38.** Poder Fermentativo de Levaduras en mostos de uva *Niágara*.

FERMENTACIÓN ISOTÉRMICA	LEVADURA	BORRA % v/v	ALCOHOL ETÍLICO % v/v a 20°C		PODER FERMENTATIVO % máximo de alcohol etílico obtenido
			esperado	obtenido	
<i>Niágara</i> a 24°C	<i>bayanus</i>	14,3	10,7	10,6	99,1%
	Nativas	19,2	10,7	10,3	96,3%

De acuerdo a los resultados obtenidos a 30°C las nativas tuvieron mayor tolerancia a la temperatura y soportaron mejor la presencia creciente de etanol en el medio. Pero en el resto de las experiencias las *S. bayanus* tuvieron mayor (PF) -hecho que se acentuó a los 18°C- donde alcanzaron su mayor valor relativo.

**La Actividad Fermentativa (AF)** son los g azúcar fermentada / tiempo.

En la Tabla 39 se presentaron los valores iniciales y finales de azúcar medidos en mosto antes y después de la fermentación. Como iniciamos todas las fermentaciones simultáneamente con el mismo mosto



todas tienen igual valor inicial de azúcar, y todas dieron igual valor final medidas con  $\pm 1\%$  de error en azúcar final.

La actividad fermentativa a cada temperatura de fermentación isotérmica fue igual para ambas levaduras. Esto se debe a que fermentaron la misma cantidad de azúcar en el mismo período de tiempo.

A medida que aumentó la temperatura de fermentación isotérmica en  $4^{\circ}\text{C}$  también aumentó la actividad fermentativa de la siguiente manera: de  $18$  a  $22^{\circ}\text{C}$  un  $2,8\%$ , de  $22$  a  $26^{\circ}\text{C}$  un  $2,8\%$  y desde  $26$  a  $30^{\circ}\text{C}$  un  $1,8\%$  (todos los valores de actividad fermentativa con una aproximación de  $\pm 1\%$  peso/peso).

A cada temperatura de fermentación la actividad fermentativa de las levaduras *bayanus* y nativas fue la misma. El promedio de la actividad fermentativa fue de  $14,6 \pm 0,14$  para las cuatro microvinificaciones.

**Tabla 39.** Actividad Fermentativa de Levaduras en mostos de uva *Isabella*.

FERMENTACIÓN ISOTÉRMICA CON UVA ISABELLA TINTO		LEVADURA	AZÚCAR g L <sup>-1</sup> mosto		ACTIVIDAD FERMENTATIVA
TEMPERATURA °C	DURACIÓN en días		INICIAL	FINAL	g / día
18	15	bayanus	168	< 1,68	$11,2 \pm 0,11$
		Nativas	168	< 1,68	$11,2 \pm 0,11$
22	12	bayanus	168	< 1,68	$14,0 \pm 0,14$
		Nativas	168	< 1,68	$14,0 \pm 0,14$
26	10	bayanus	168	< 1,68	$16,8 \pm 0,16$
		Nativas	168	< 1,68	$16,8 \pm 0,16$
30	9	bayanus	168	< 1,68	$18,6 \pm 0,18$
		Nativas	168	< 1,68	$18,6 \pm 0,18$
Media = 24	Media = 11,5	bayanus	168	< 1,68	$14,6 \pm 0,14$
		Nativas	168	< 1,68	$14,6 \pm 0,14$

Por lo tanto desde el punto de vista de la actividad fermentativa las levaduras Nativas y *bayanus* no presentaron diferencias significativas entre ellas pues fermentaron la misma cantidad de azúcar en el mismo tiempo a  $18$ ,  $22$ ,  $26$  y  $30^{\circ}\text{C}$ .

En la Tabla 40 se observó que las dos levaduras tuvieron la misma actividad fermentativa a  $24^{\circ}\text{C}$  en mostos de *Niágara* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

**Tabla 40.** Actividad Fermentativa de Levaduras en mostos de *Niágara*.

FERMENTACIÓN ISOTÉRMICA		LEVADURA	AZÚCAR g L <sup>-1</sup> mosto		ACTIVIDAD FERMENTATIVA g / día
TEMPERATURA	DURACIÓN en días		INICIAL	FINAL	
NIAGARA a 24°C	11	bayanus	183	< 1,83	16,6 ± 0,16
	11	Nativas	183	< 1,83	16,6 ± 0,16

Esta (AF) de la Tabla 40 se situó entre las temperatura 22 y 26 respecto de la Tabla 39 para uvas *Isabella*, por lo que parecería ser un valor independiente del tipo de uva sino mas bien función de la Temperatura y cantidad de azúcar a fermentar.

Las medias de la (AF) son para:

Las nativas y las *bayanus* = 14,6 ± 0,14 con uva *Isabella* a 18, 22, 26 y 30°C.

Las nativas y las *bayanus* = 16,6 ± 0,16 (con uva *Niágara* a 24°C).

**El Rendimiento Fermentativo (RF)** (Tabla 41) es el cociente entre los gramos de azúcar disponible inicialmente y los grados de alcohol obtenidos.

**Tabla 41.** Rendimiento Fermentativo de Levaduras en mostos de uva *Isabella* y *Niágara*.

FERMENTACIÓN ISOTÉRMICA		LEVADURA	AZÚCAR INICIAL	ETANOL FINAL	RENDIMIENTO DE LA MICROVINIFICACIÓN
TEMP. °C	DURACIÓN (días)		g L <sup>-1</sup>	% v / v	g azúcar / °Alcohol
CON UVA ISABELLA		<i>Máximo Rendimiento Teórico</i>	168 17,8 °Brix	9,9	16,97
18	15	bayanus	168	9,8	17,14
		Nativas	168	8,9	18,87
22	12	bayanus	168	9,3	18,06
		Nativas	168	8,9	18,87
26	10	bayanus	168	9,5	17,68
		Nativas	168	9,0	18,66
30	9	bayanus	168	8,2	20,48
		Nativas	168	9,0	18,66
CON UVA NIÁGARA		<i>Máximo Rendimiento Teórico</i>	183 19 °Brix	10,7	17,10
24	11	bayanus	183	10,6	17,26
		Nativas	183	10,3	17,76

Para una dada cantidad de azúcar inicial a mayor cantidad de etanol producido menor fue el cociente y por lo tanto mejor fue el rendimiento de la microvinificación.

Las levaduras en condiciones enológicas pueden fermentar en un rango de 5-35°C mientras que el óptimo está entre 22-27°C y el rango del trabajo estuvo entre 15-30°C.

Desde este punto de vista del resultado fue *S. bayanus* quien tuvo más rendimiento respecto de las nativas en 18, 22, 24 y 26°C mientras que a 30°C el mejor rendimiento lo obtuvieron las nativas respecto de las *bayanus*.

Las medias del (RF) a 18, 22, 26, 30°C son para:

- Las *bayanus* = 18,34 (con mosto de uva *Isabella*).
- Las nativas = 18,76 (con mosto de uva *Isabella*).

**APTITUD FÍSICOQUÍMICA DE LOS VINOS ELABORADOS PARA CONSUMO HUMANO**

**Etanol y Borra**

El etanol representa el producto principal de la fermentación alcohólica, y puede alcanzar concentraciones extracelulares de hasta 15% v/v de etanol en fermentación normal. Es corriente admitir que la síntesis de un grado de etanol (1% v/v) en fermentación alcohólica representa un consumo comprendido entre 16,5 y 17 g L<sup>-1</sup> de azúcares reductores.

En la Tabla 42 están los resultados de la borra (% v/v) y el etanol (% v/v) obtenidos en vino con fermentación isotérmica.

**Tabla 42.** Etanol y Borra en vinos elaborados.

VINO BLANCO obtenido con	LEVADURA	BORRA % v/v	BORRA DIFERENCIA % v/v	ETANOL % v/v 20°C	ETANOL DIFERENCIA % v/v
ISABELLA A 18°C	Bay	5,3	0,3	9,8	0,9
	Nat	5,7		8,9	
ISABELLA A 22°C	Bay	7,3	6,5	9,3	0,4
	Nat	13,8		8,9	
NIÁGARA A 24°C	Bay	14,3	4,9	10,6	0,3
	Nat	19,2		10,3	
ISABELLA a 26°C	Bay	9,0	2,2	9,5	0,5
	Nat	11,2		9,0	
ISABELLA A 30°C	Bay	6,0	3,8	8,2	0,8
	Nat	9,8		9,0	

Se observa que la diferencia de borra (% v/v) con *bayanus* es menor que con nativas a todas las temperaturas; siendo a 22°C la mayor diferencia con 6,5% y a 24°C con 4,9%.

La borra debe ser separada del vino obtenido siendo un porcentaje de pérdida en la elaboración. El desfogado consiste en la clarificación del mosto por eliminación más o menos importante de las materias sólidas que se encuentran en suspensión.

Se conoce la influencia del desfogado de los mostos sobre las características de los vinos; mejora la calidad organoléptica de los vinos a través de la modificación del aroma fermentativo.

Los vinos de mostos desfogados tienen un aroma secundario más fino, mejor calidad que los procedentes de mostos no desfogados. Esto

se explica por el hecho que el desfangado induce a la formación de menores concentraciones de alcoholes superiores y ácidos grasos volátiles, influyendo negativamente en la calidad (Bertrand y Miele, 1984), y por otra parte, las levaduras producen concentraciones más importantes de acetatos de alcoholes superiores y ésteres de ácidos grasos que juegan un papel positivo en la calidad del aroma.

Comparando las dos levaduras, la concentración de alcohol a 18, 22, 24, y 26°C es mayor para las *bayanus* y a 30°C es mayor para las Nativas.

Las diferencias de concentraciones de alcohol para cada temperatura se muestran en la Tabla 42.

Las mayores diferencias de etanol producido están a 18°C con 0,9% v/v mayor para *S. bayanus* y a 30°C con 0,8% v/v mayor para levaduras nativas.

## SO<sub>2</sub> libre, total

El anhídrido sulfuroso es usado hace mucho tiempo en enología, por su poder antiséptico y antioxidante. El SO<sub>2</sub> adicionado a mostos y vinos se combina parcialmente con el acetaldehído, los azúcares, los polifenoles y otras sustancias, esta fracción del anhídrido sulfuroso se encuentra combinada o fijada. La fracción libre del SO<sub>2</sub> es la que realmente tiene poder antiséptico, es el anhídrido sulfuroso que se encuentra como gas.

La relación de equilibrio entre el anhídrido sulfuroso combinado y el libre, es de carácter dinámico, siendo afectada básicamente por la acidez y la temperatura. A mayor acidez (menor pH), hay mayor contenido de SO<sub>2</sub> libre; a mayor temperatura, mayor contenido de SO<sub>2</sub>. Para lograr una buena conservación del vino, los valores deseables de anhídrido sulfuroso libre son de 25 a 30 mg L<sup>-1</sup>.

La legislación fijó límites legales para el contenido de anhídrido sulfuroso total, máximo permitido para libre circulación del producto. Estos límites son:

- |                                   |                        |
|-----------------------------------|------------------------|
| • Vinos tintos secos              | 130 mg L <sup>-1</sup> |
| • Vinos tintos abocados y dulces  | 180 mg L <sup>-1</sup> |
| • Vinos blancos secos             | 180 mg L <sup>-1</sup> |
| • Vinos blancos abocados y dulces | 210 mg L <sup>-1</sup> |

Existe una tolerancia de 35 mg L<sup>-1</sup> en más o en menos.

En la tabla 43 se observó que el SO<sub>2</sub> libre debe ser ajustado para la correcta conservación del vino, previniendo la acción antimicrobiana y de oxidantes.

PH entre 3 y 4 son los deseables al final de una fermentación alcohólica porque los ácidos de los mostos en general son todos débiles y el principal es el ácido tartárico por encontrarse en mayor cantidad respecto de los otros ácidos.

El 90% de los ácidos que se encontraban en los mostos están constituidos por el ácido tartárico, el ácido málico y el ácido cítrico. (Pszczolkowski y col., 2006).

### **La Acidez Total y Volátil**

Todos los vinos tienen reacción ácida. La acidez del vino modifica el sabor, (a mayor acidez, sabor más fresco); el color (a mayor acidez, color más intenso) y la estabilidad microbiológica (a mayor acidez, mayor dificultad para el desarrollo de las bacterias).

La acidez total es la suma de los ácidos volátiles y fijos.

Los ácidos fijos que más influyen son el ácido tartárico, el ácido málico y el ácido cítrico. Mientras que el ácido acético, el ácido láctico y el ácido succínico lo son entre los volátiles.

Los vinos pueden tener una acidez total entre 5 y 7 g de ácido tartárico por litro.

El vino es un medio menos ácido que el mosto que le ha dado origen, ya que durante la fermentación una cierta cantidad de tartrato ácido de potasio se insolubiliza y además durante el añejamiento ciertas precipitaciones pueden reducir la acidez.

La zona, la variedad, el manejo de la canopia, la fecha de cosecha, la ocurrencia o no de la fermentación maloláctica, la presencia o no de algunas enfermedades, provocan una variación en los valores normales de acidez.

El Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) no fija límites legales para acidez total, pero existe una tolerancia de 0.25 g de ácido tartárico por litro entre dos análisis de una misma muestra. En todos los vinos obtenidos la acidez total estuvo comprendida entre 4 y 8 valores aptos para la conservación.

**Tabla 43.** Acidez total y volátil; SO<sub>2</sub> total y libre en Vino .

VINO obtenido con	L E V A D U R A	pH	SO <sub>2</sub> mg L <sup>-1</sup> vino		ACIDEZ g ácido L <sup>-1</sup> vino	
			Libre	Total	TOTAL como tartárico	VOLATIL como acético
ISABELLA a 18°C	Bay	3,56	14	107,52	6,97	0,9864
	Nat	3,57	16,6	96	6,52	0,9809
ISABELLA a 22°C	Bay	3,66	7,60	108,8	7,42	1,0549
	Nat	3,63	12,8	119	6,07	0,785
NIÁGARA a 24°C	Bay	3,27	34,5	81,92	5,92	0,36
	Nat	3,24	19,2	81,92	5,85	0,27
ISABELLA a 26°C	Bay	3,57	14	96	5,92	1,0631
	Nat	3,61	14	102,4	6,07	1,0412
ISABELLA a 30°C	Bay	3,55	25,6	98,56	6,75	0,8644
	Nat	3,60	8,90	115,2	7,05	0,8411
Límite Legal Máximo (Vino Blanco seco)		4		180 ± 35	No tiene	1 ± 0,2
Ajustar (para su conservación)			25-30		4 a 8	

(SO<sub>2</sub> libre) todas las concentraciones de SO<sub>2</sub> libre se llevaron a 35 mg L<sup>-1</sup>

antes de guardar el vino.

La acidez volátil es el conjunto de ácidos grasos de la serie acética que se encuentra en el vino, básicamente son los ácidos acético, fórmico, propiónico y butírico. Se excluyen de la acidez volátil los ácidos láctico y succínico, lo mismo que el anhídrido carbónico, como ácido carbónico y el anhídrido sulfuroso, como ácido sulfuroso.

En todo vino sano se encuentra acidez volátil, ya que los ácidos volátiles que la forman son productos secundarios de la fermentación alcohólica. Durante el transcurso de la fermentación maloláctica también se genera acidez volátil.

Fundamentalmente la acidez volátil tiene valor de diagnóstico en el vino, ya que todas las enfermedades bacterianas del vino producen ácidos volátiles. Debe recordarse que las bacterias acéticas son aerobias, de modo que cuando una vasija no se mantiene completamente llena de

vino (vasija merma), se dan condiciones favorables a las bacterias para desarrollar y producir en consecuencia incrementos de acidez volátil. En vinos sanos encontramos  $< 0,80 \text{ g L}^{-1}$  expresado en ácido acético. Estos tenores contribuyen en su forma natural al perfume del vino.

El límite legal en Argentina para que un vino pueda salir al consumo es de  $1 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ .

Los mostos que no tienen acidez volátil, provienen de uvas enfermas con podredumbre ácida.

En la Tabla 43 observamos que todos los vinos están por debajo de  $1,2 \text{ g L}^{-1}$  de ácido acético volátil, si no lo estuvieran deberían ser consumidos antes de los 3 meses desde la fecha en que fueron elaborados.

Para obtener calidad en vino blanco se aconseja trabajar entre 18 y 22°C y para tinto entre 28 y 30°C. (Pszczolkowski y col., 2006).

## **MODELADO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA EN CONDICIONES ENOLÓGICAS**

La modelización del proceso fermentativo, y por lo tanto la posibilidad de predicción del desarrollo de la fermentación, tiene un verdadero interés tecnológico, en particular para gestionar mejor la sala de fermentación y las instalaciones frigoríficas, o incluso para prevenir eventuales riesgos de parada de fermentación.

La posibilidad de seguimiento en línea abre nuevas perspectivas también en este campo.

Se han publicado numerosos modelos, basados en consideraciones bioquímicas y fisiológicas, para describir el desarrollo de la fermentación alcohólica. La mayor parte de estos trabajos se han realizado en medios sintéticos. Su aplicación a las condiciones enológicas (Boulton, 1980) -caracterizadas por una gran variabilidad y un mal conocimiento de la materia prima- es bastante delicada.

Conscientes de estas dificultades, otros autores han preferido buscar modelos menos descriptivos o de tipo caja negra. Es concretamente el caso de:

Bovée y colaboradores (1984); que consideran solamente las concentraciones de azúcar y etanol.

El Haloui y colaboradores (1989); que han tratado de predecir la cinética fermentativa a partir de medidas cinéticas en línea hechas al comienzo de la fermentación.



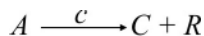
López y Secanell (1992); que han propuesto un modelo matemático simple para estimar la velocidad de generación de calor durante la fermentación en vinificación en blanco.

Estos modelos son válidos únicamente en condiciones isotérmicas. Sablayrolles y Barre (1993); han propuesto un método para estimar la cinética en condiciones no isoterma, con evoluciones de temperatura que cubren el intervalo de interés enológico, pero esta estimación necesita el conocimiento previo o estimación de la cinética a temperatura constante.

Todos estos modelos que se pueden clasificar de semideterministas tienen campos de aplicación variables, pero ninguno de ellos permite tener en cuenta todas las situaciones enológicas. Por otro lado por lo general describen mal las cinéticas de final de fermentación. Recientemente se han llevado a cabo varios estudios para estimar el interés de la utilización de las redes neuronales en la predicción de la cinética fermentativa en condiciones enológicas (Bochereau y Sablayrolles, 1993; Insa y col., 1995).

En efecto estos modelos de tipo caja negra tienen en general una buena capacidad de generalización y una gran estabilidad. Ciertos resultados ya obtenidos son verdaderamente alentadores, pero estos modelos no tendrán gran interés práctico hasta que no se haya demostrado su validez sobre una muestra suficientemente grande. Esto necesita la utilización de un banco de datos cinéticos suficientemente importante. Por otra parte la adición de datos de tipo experto -observaciones que tienen en cuenta la experiencia de los enólogos prácticos- a los datos numéricos -cinéticas fermentativas, y datos analíticos de los mostos- debería permitir perfeccionar su fiabilidad.

En términos sencillos se plantea una reacción de fermentación microbiana del tipo:



Donde:

A: sustrato

C: microorganismo responsable de la fermentación

R: producto

Dadas, la existencia de sustrato que en el caso del mosto se constituye -principalmente de azúcares fermentables-, la concentración adecuada de nutrientes del medio y la temperatura apropiada, se produce la multiplicación de los microorganismos, en este caso particular la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con el consumo de sustrato para formar

biomasa como también para la formación del producto, en este caso mayoritariamente Etanol.

En algunos casos la actividad fermentativa está limitada por el sustrato, cuando en bajas concentraciones de azúcares, ésta cesa espontáneamente al agotarse el medio. Sin embargo, en otros, la actividad fermentativa puede estar inhibida por el mismo producto de fermentación. El Etanol en concentraciones superiores al 12% resulta tóxico para la *S. cerevisiae* y en consecuencia la actividad fermentativa también cesa.

Se presentan así los modelos matemáticos para aplicar a la descripción del fenómeno:

- a) Modelos de Crecimiento.
- b) Modelos de Proceso fermentativo limitado por el sustrato.
- c) Modelos de Proceso fermentativo inhibido por el producto.

Estos modelos contemplan también los efectos de factores como ser restricciones de nitrógeno y oxígeno disponibles, valores extremos de temperatura, entre otros.

El contacto de la levadura con el mosto implica un período de adaptación seguido de un período de crecimiento exponencial.

El modelo de Monod, describe el crecimiento de la levadura, luego del período de inducción:

$$r_c = \frac{kC_A C_c}{C_A + C_M}$$

Donde:

$r_c$ : velocidad de crecimiento de la levadura

$k$ : coeficiente cinético

$C_A$ : concentración de sustrato

$C_c$ : concentración de levadura

$C_M$ : concentración de sustrato cuando la levadura alcanza la mitad de la velocidad máxima de multiplicación.

$$C_M = C_A \quad \therefore r_c = \frac{r_{C_{\max}}}{2}$$

Este modelo sencillo de aplicar no ha sido suficiente para describir el proceso de vinificación aunque se han introducido modificaciones semi-empíricas para el mejor ajuste.

Una de ellas es la suposición cierta de que el coeficiente cinético es función del efecto inhibitorio del producto Etanol, a saber:

$$k_{obs} = k \left( 1 - \frac{C_R}{C_{R^*}} \right)^n$$

Donde:

$k_{obs}$ : coeficiente cinético observado

$k$ : coeficiente cinético

$C_R$ : concentración de producto

$n$ : orden de la reacción de inhibición

$C_{R^*}$ : concentración de producto a la cual cesa la actividad fermentativa

El problema surge de considerar que el mosto es una mezcla compleja que tiene mayoritariamente tres tipos de azúcares factibles de utilizar por la levadura: Glucosa, Fructosa y Sacarosa. Por lo tanto, el resultado de la producción de Etanol es consecuencia de tres procesos diferentes y probablemente a distintas velocidades.

Se sabe que el orden de preferencia de *S. cerevisiae* por estos azúcares es el siguiente:



En experimentos realizados por Wang y colaboradores (2004) sugieren que los valores máximos de crecimiento específico para *S. cerevisiae* se alcanzan con Glucosa como único sustrato presente en el medio, como también la máxima producción de biomasa, lo que confirma que *S. cerevisiae* tiene un comportamiento preponderantemente glucofilico.

Los modelos desarrollados se basan en el comportamiento bioquímico del proceso. Esto da lugar a un conjunto de ecuaciones que describen los fenómenos que ocurren durante la vinificación.

La ventaja de estos modelos es que los parámetros que se obtienen proveen explicaciones y tienen un significado desde el punto de vista de la bioquímica del proceso. Sin embargo, la principal desventaja es que los sistemas de ecuaciones a resolver son de tipo no lineal, con la complejidad que implica el manejo de estas ecuaciones acopladas. Son

dificiles de validar y la identificación de parámetros puede acarrear problemas adicionales.

En trabajos recientes se ha planteado un modelo logístico, de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

Para la Biomasa,

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \mu_M X \left( 1 - \frac{X}{X_M} \right)$$

sujeito a las siguientes condiciones de contorno:

$$a t = 0, \quad \therefore \quad X = X_0, S = S_0 \quad y \quad P = 0$$

Donde:

$X$ : concentración de biomasa, g L<sup>-1</sup>

$X_M$ : concentración máxima de biomasa, g L<sup>-1</sup>

$X_0$ : Concentración inicial de biomasa, g L<sup>-1</sup>

$\mu_M$ : Parámetro de crecimiento específico máximo, h<sup>-1</sup>

$S$ : Concentración de sustrato, g L<sup>-1</sup>

$S_0$ : Concentración inicial de sustrato, g L<sup>-1</sup>

$P$ : Concentración de producto, g L<sup>-1</sup>

Para el Sustrato,

$$-\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{\partial X}{\partial t} + mX$$

Donde:

$S$ : Concentración de sustrato, g L<sup>-1</sup>

$m$ : Parámetro de mantenimiento, g (azúcar) g (biomasa)<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>

$Y_{X/S}$ : Parámetro de rendimiento para sustrato, g (biomasa) g (azúcar)<sup>-1</sup>

Para el Producto,

$$\frac{\partial P}{\partial t} = Y_{P/X} \frac{\partial X}{\partial(t - \Delta t)}$$

Donde:

$P$ : Concentración de producto, g L<sup>-1</sup>

$\Delta t$ : Parámetro de retraso en la formación de producto como consecuencia del desarrollo de biomasa,  $\text{h}^{-1}$

$Y_{P/X}$ : Parámetro de rendimiento para biomasa,  $\text{g (Etanol) g (biomasa)}^{-1}$

Resulta así, un modelo para describir la vinificación en función de tres ecuaciones y cinco parámetros a estimar.

Este modelo puede ser aplicado para los azúcares individuales componentes del mosto o bien para el proceso en su conjunto.

Esta tesis de maestría, tiene como finalidad describir la tecnología de vinificación, sin embargo se considera oportuno introducir estos elementos que hacen aportes a la ciencia de la fermentación, en forma preliminar, puesto que los experimentos de vinificación *blush* no se han diseñado para obtener datos experimentales suficientes para un ajuste de parámetros.

No obstante ello, la resolución de las ecuaciones por el método de Newton de regresión no lineal ha conducido a la simulación del proceso de fermentación de la fructosa a partir de la concentración de biomasa conocida y la evolución del consumo de fructosa (presente en cantidades similares a la glucosa en el mosto procesado) presente en el mosto ha dado lugar al siguiente conjunto parámetros:

$$\mu_M: 0,04 \text{ h}^{-1}$$

$$m: 0,02 \text{ g (Fructosa) g (biomasa)}^{-1} \text{ h}^{-1}$$

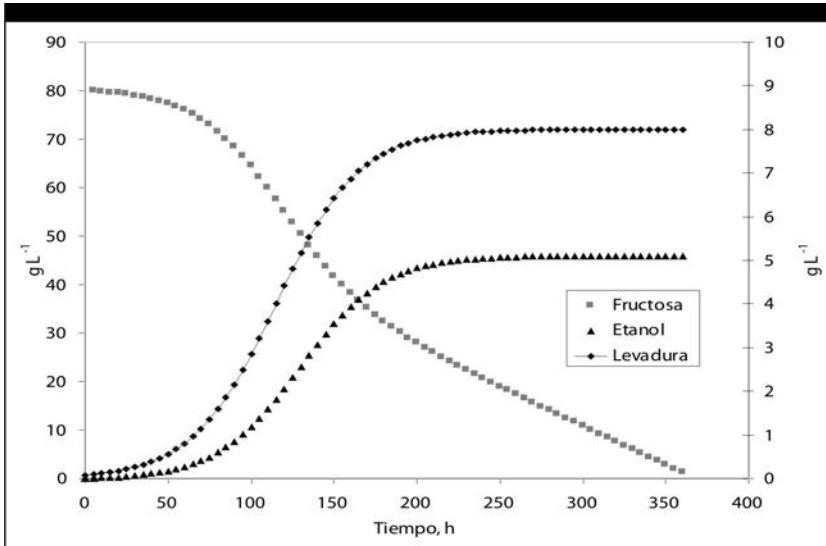
$$Y_{X/S}: 0,2 \text{ g (biomasa) g (Fructosa)}^{-1}$$

$$\Delta t: 14,56 \text{ h}^{-1}$$

$$Y_{P/X}: 5,78 \text{ g (Etanol) g (biomasa)}^{-1}$$

Si la contribución a la formación de producto etanol es similar para la fermentación de la glucosa entonces el aporte sería de aproximadamente el 50% al total de etanol obtenido, por lo cual se considera que la simulación obtenida podría representar adecuadamente el fenómeno observado, aun considerando la insuficiencia de datos experimentales obtenidos *ex profeso* para validar el modelo y sus parámetros. (Figura 46).

**Figura 46.** Curvas simuladas de la evolución de la fermentación de Fructosa por *S. cerevisiae* de acuerdo al modelo logístico.





## **CAPÍTULOV**





## CONCLUSIONES GENERALES

- Los mostos de uvas americanas *Isabella* y *Niágara* y el coadyuvante de fosfato de amonio agregado aportaron todos los nutrientes necesarios para llevar cabo las microvinificaciones a escala laboratorio en condiciones enológicas con las levaduras estudiadas.
- Las levaduras nativas son viables para la elaboración de vinos con mostos de uva *Isabella* y *Niágara* a las temperaturas estudiadas y además presentaron parámetros similares cuando se utilizó el doble de inóculo de levaduras nativas respecto de *S. cerevisiae bayanus* en los mismos mostos.
- El desarrollo de las microvinificaciones isotérmicas a escala laboratorio en condiciones enológicas no presentaron inhibidores internos ni externos a las levaduras nativas ni a *S. cerevisiae bayanus* en mostos de uvas *Isabella* y *Niágara* a las temperaturas de los ensayos.
- Los vinos obtenidos en las microvinificaciones isotérmicas en condiciones enológicas con las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de uvas *Isabella* y *Niágara* son aptos para el consumo humano y, además, pueden ser conservados para su añejamiento ajustando la concentración de SO<sub>2</sub> libre.





## **CAPÍTULO VI**



## APORTES Y NOVEDADES CIENTÍFICAS

La inexistencia de conocimiento científico y tecnológico sobre elaboración de vino blanco regional a partir de levaduras nativas y uvas de mesa -no viníferas- que se cultivan en Misiones, exige la obtención por metodología científica y de conocimientos que permitan conocer su viabilidad. Esto motivó a que las tareas de la investigación fueran:

- 1- Analizar las microvinificaciones de las variedades de uvas *Isabella* (a 18, 22, 26 y 30°C) y de *Niágara* (a 24°C) con levaduras nativas y *S. bayanus* como referencia.
- 2- Evaluar los parámetros indicadores de proceso en función del tiempo durante las microvinificaciones de las variedades de uvas *Isabella* y *Niágara* con levaduras nativas y *S. bayanus*.
- 3- Evaluar la actividad, poder y rendimiento fermentativo de las levaduras nativas respecto de *S. bayanus* a igual temperatura de microvinificación.
- 4- Determinar las diferencias significativas entre los parámetros de proceso en función de la levadura y la temperatura.
- 5- Respecto al consumo humano constatar el cumplimiento de las normas del Instituto Nacional de Vitivinicultura -INV Argentina-.

## APORTES

### APORTES DE SIGNIFICACIÓN TEÓRICA

**Los parámetros indicadores de proceso** no presentaron diferencias significativas entre levaduras iguales a diferentes temperaturas ni entre levaduras distintas a igual temperatura.

**Modelado matemático** se graficaron las curvas simuladas de la evolución de la fermentación de la fructosa por *S. bayanus* de acuerdo al modelo logístico resuelto; el aporte sería de aproximadamente el 50% del total de etanol obtenido (glucosa y fructosa están en iguales cantidades en los mostos de uva) aún considerando la insuficiencia de datos experimentales obtenidos *ex profeso* (no era la finalidad de la investigación) para validar el modelo y sus parámetros.

**Los vinos fueron aptos** para el consumo utilizando levaduras nativas o *S. bayanus* y mostos de uvas *Isabella* o *Niágara*, a las temperaturas de elaboración.

### APORTES DE SIGNIFICACIÓN TECNOLÓGICA

1- **El (PF)** utilizando mostos de uva *Isabella* fue de 89,8 a 90,9% para levaduras nativas y 82,8 a 98,9% para *S. bayanus* y utilizando mostos de uva de la variedad *Niágara* se obtuvieron valores de 96,3% y 98,9% para levaduras nativas y *S. bayanus* respectivamente.

2- **La (AF)** de las levaduras nativas y *S. bayanus* fue de igual valor a cada temperatura estudiada, siendo de 11,2 a 18°C, 14 a 22°C, 16,8 a 26°C y 18,6 a 30°C, utilizando uva *Isabella* y de 16,6 a 24°C con uva de la variedad *Niágara*.

3- **El (RF)** de las levaduras nativas y *S. bayanus* utilizando mostos de uva *Isabella* fue de 18,87 y 17,14 a 18°C; 18,87 y 18,06 a 22°C; 18,66 y 17,68 a 26°C; 18,66 y 20,48 a 30°C respectivamente y utilizando uva *Niágara* fue de 17,76 (levadura nativa) y 17,26 a 24°C (*S. bayanus*).

4- **La generación de levaduras** nativas y *S. bayanus* en mostos de uvas *Isabella* fue 6-8 y 8-9, con máximos de 8-9 y 9-11 respectivamente (la generación 1 fue el inóculo).

## NOVEDADES

1- Parámetros **indicadores de proceso**: se determinaron las diferencias significativas de los parámetros indicadores a igual y a diferente temperatura de proceso, en función de las levaduras.

2- La **Actividad Fermentativa** (AF) de las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de *Isabella* a 18, 22, 26 y 30°C y de *Niágara* a 24°C.

La (AF) expresa el cociente entre gramos azúcar fermentada y el tiempo requerido.

3- El **Poder Fermentativo** (PF) de las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de *Isabella* a 18, 22, 26 y 30°C y de *Niágara* a 24°C.

El (PF) expresa el % de etanol obtenido respecto del etanol esperado (100%), cuando la fermentación ha concluido.

4- El **Rendimiento Fermentativo** (RF) de las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de *Isabella* a 18, 22, 26 y 30°C y de *Niágara* a 24°C.

El (RF) expresa el cociente entre los gramos de azúcar disponible inicialmente y el grado alcohólico obtenido.

5- El **número de generaciones** de levaduras nativas y *S. bayanus* que crecen en mostos de uva *Isabella* durante las microvinificaciones.

6- La **aptitud para consumo** humano de los vinos blancos secos obtenidos a 18, 22, 26 y 30°C con *Isabella* y a 24°C con *Niágara* con levaduras nativas y con *S. bayanus*.

7- La **simulación con un modelo matemático** del proceso de fermentación de la fructosa a partir de la concentración de biomasa conocida y la evolución del consumo de fructosa presente en el mosto de uva *Isabella tinto* mediante la resolución de las ecuaciones por el método de Newton de regresión no lineal.





## BIBLIOGRAFÍA

- Alexandre H.; Berlot J.P.; Charpentier C. (1994).  
Effect of ethanol on membrane fluidity of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* grown with or without, measured by fluorescence anisotropy. *Biotechnol Tech*, 8: 295 - 300.
- Alexandre H.; Nguyen Van Long T.; Feuillat M.; Charpentier C. (1994).  
Contribution a l'étude des bourbes: Influence sur la fermentescibilité des moúts. *Rev Fr OEnol*, 146: 11 - 19.
- Andreasen A.A.; Steir T.J.B. (1953).  
Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. I: Ergosterol requirement for growth in a defined medium. *J Cell Comp Physiol*, 41: 23 - 36.
- Andreasen A.A.; Stier T.J.B. (1954).  
Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. II: Unsaturated fatty acid requirement for growth in a defined medium. *J Cell Comp Physiol*, 43: 271 - 281.
- Arcay-Ledezma G.J.; Slaughter J.C. (1984).  
The response of *Saccharomyces cerevisiae* to fermentation under carbon dioxide pressure. *J Inst Brew*, 90: 81 - 84.

- Bakos, P. (2009)  
“Uvas para todo Misiones”, Diario el Territorio, Posadas  
(9/12/2009) Suplemento Económico p. 8. Misiones Argentina.
- Basturia A.; Lagunas B. (1986).  
Catabolic inactivation of the glucose transport system in *Saccharomyces cerevisiae*. J Gen Microbiol, 132: 379 - 385.
- Bataillon M.; Rico A.; Sabrayrolles I.M.; Salmon J.M.; Barre P. (1996).  
Early thiamin assimilation by yeasts under enological conditions: impact on alcoholic fermentation kinetics. J Ferm Bioeng, 82: 101-106.
- Beavan M.I.; Charpentier C.; Rose A.H. (1982).  
Production and tolerance of ethanol in relation to phospholipids fatty-acyl composition of *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431. J Gen Microbiol, 128: 1445-1447.
- Becker J.U.; Betz A. (1972).  
Membrane transport as controlling pace-maker of glycolysis in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochim Biophys Acta, 274: 584 - 597.
- Bely M.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1990).  
Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in enological conditions. J Ferm Bioeng, 70: 246 -252.
- Bely M.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1990).  
Description of alcoholic fermentation kinetics: its variability and interest. Am J Enol Vitic, 41(4): 319 - 324.
- Bely M.; Salmon J.M.; Barre P. (1994).  
Assimilable nitrogen addition and hexose transport activity during enological fermentations. J Inst Brew, 100: 279 - 282.
- Bertrand A.; Miele A., (1984).  
Influence de la clarification du mout de raisin sur sa teneur en acides gras. Conn Vigne Vin, 18(4): 293 - 297.

- Bissón L.F.; Coons D.M.; Kruckeberg A.L.; Lewis D.A. (1993).  
Yeast sugar transport. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 28: 259 - 308.
- Bochereau L.; Sablayrolles J.M. (1993).  
Modeling alcoholic fermentation with neural networks. Proceedings of the International Conference on Artificial Intelligence for Food and Agriculture, Nimes, 285 - 293.
- Boulton R. (1980).  
The prediction of fermentation behavior by a kinetic model. *Am J Enol Vitic*, 31: 40 - 44.
- Bovée J.P.; Strehaiano P.; Goma G.; Sevely Y. (1984).  
Alcoholic fermentation: modelling based on sole substrate and product measurement. *Biotechnol Bioeng*, 26: 328 - 334.
- Busturia A.; Lagunas B. (1986).  
Catabolic inactivation of the glucose transport system in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Gen Microbiol*, 132: 379 -385.
- Cabras P.; Meloni M.; Pirisi F.M. (1987).  
Pesticide fate from vine to wine. *Rev Env Contamin Toxicol*, 99: 83 - 117.
- Cantarelli D.; Tarufy F.; Martín A. (1964).  
Chemical and microbiological surveys on the effects of dithiocarbamate fungicides on wine-making. *J Sci Food Agric*, 15: 186 - 196.
- Cardoso H.; Leao C. (1992).  
Mechanisms underlying the low and high enthalpy death induced by short-chain monocarboxylic acids and ethanol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 38: 388 - 392.
- Castelli A.; Littaru G.P.; Barbaresi G. (1969).  
Effect of pH and CO<sub>2</sub> concentration changes on lipids and fatty acids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch Microbiol*, 66: 34 - 39.

- D' Amore T.; Russell I.; Stewart G.G. (1989).  
Sugar utilization by yeast during fermentation. *J Ind Microbiol*, 4:  
315 - 324.
- Dasari G.; Roddick F.; Connor M.A.; Pamment N.B. (1983).  
Factors affecting the estimation of intracellular ethanol concentra-  
tions. *Biotechnol Lett*, 5: 715 - 720.
- Doignon F.; Rozes N. (1992).  
Effect of triazole fungicides on lipid metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *Lett Appl Microbiol*, 15: 172 - 174.
- Dombek K.M.; Ingram L.O. (1986).  
Determination of the intracellular concentration of ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Appl Environ Microbiol*, 51: 197 - 200.
- Dubois C.; Manginot C.; Roustan J.L.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1996).  
Effect of variety, year and grape maturity on the kinetics of alcoholic fermentation. *Am J Enol Vitic*, 47: 363 - 368.
- Dubois E.; Greson M. (1979).  
Methylamine/ammonia uptake systems in *Saccharomyces cerevisiae*: Multiplicity and regulation. *Mol Gen Genetics*, 175: 67 - 76.
- El Haloui N.; Cleran Y.; Corrieu G.; Cheruy A. (1989).  
Method for online monitoring of kinetics of alcoholic fermentation in wine making. *J Ferm Technol*, 30: 402 - 407.
- Eschnauer H. (1974).  
Spurenelemente in wein und anderen getranken. Verlag Chemie, GmbH, Weinheim.
- Flanzy C. (2003).  
Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV y Mundi-Prensa. Madrid, España, 2º edición, pp. 274 - 293.

- Gancedo C.; Gancedo I.M.; Sols A. (1968).  
Glycerol metabolism in yeast: pathways of utilization and production. *Eur J Biochem* 5: 165 - 172.
- Ghareib M.; Youssef K.A.; Khalil A.A. (1988).  
Ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* and its relationship to lipid content and composition. *Folia Microbiol*, 3, 447 - 452.
- Guijarro J.M.; Lagunas R. (1984).  
*Saccharomyces cerevisiae* does not accumulate ethanol against a concentration gradient. *J Bacteriol*, 160: 874 - 878.
- Henske P.A.; Jiranek V. (1991).  
H<sub>2</sub>S formation during fermentation: effect of nitrogen composition in model grape musts. *International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines*. American Society of Enology and Viticulture, Seattle.
- Insa G.; Sabrayrolles J.M.; Douzal V. (1995).  
Alcoholic fermentation under enological conditions. Use of a combination of data analysis and neural networks to predict sluggish and stuck fermentations. *Bioproc Eng*, 13: 171 - 176.
- Iwashima A.; Nishino H.; Nose Y. (1973).  
Carrier-mediated transport of thiamin in baker's yeast. *Biochim Biophys Acta*, 330: 222 - 234.
- Iwashima A.; Nose Y. (1979).  
Regulation of thiamine transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol*, 128: 855 - 857.
- Jones M.; Pragnell M.J.; Pierce J.S. (1969).  
Absorption of amino acids from wort by yeasts. *J Inst Brew*, 70: 307-315.
- Jones R.P.; Pamment N. Greenfield P.F. (1981).  
Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. *Process Biochem*, 39: 42 - 49.

- Jones R.P.; Greenfield P.F. (1982).  
Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation. *Enzyme Microbiol Technol*, 4: 210 - 223.
- Jones R.P. (1998).  
Intracellular ethanol accumulation and exit from yeast and other cells. *FEMS Microbiol Reviews*, 54: 239 - 258.
- Juroszek J.R.; Feuillat M.; Charpentier C. (1987).  
Effect of ethanol on the glucose induced movements of protons across the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431. *Can J Microbiol*, 66: 9397.
- Lafon-Lafoucade S.; Geneix C.; Ribereau Gayon P. (1984).  
Inhibition of alcoholic fermentation of grape musts by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. *Appl Environ Microb*, 47: 1246-1249.
- Leao C.; Van Uden N. (1980).  
Effect of ethanol and other alcohols on the temperature relations of glucose transport and fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng*, 22: 359 - 363.
- Leao C.; Van Uden N. (1984).  
Effect of ethanol and other alcohols on the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng*, 26: 403 - 405.
- López A.; Secanell P.A. (1992).  
A simple mathematical empirical model for estimating the rate of heat generation during fermentation in white-winemaking. *Int J Refrig*, 15 (4): 1 - 5.
- Manginot C.; Sablayrolles J.M.; Roustan I.L.; Barre P. (1996).  
Use of constant rate alcoholic fermentations to compare the effectiveness of different nitrogen sources during the stationary phase. *Enz Micro Technol*, 20: 373 - 380.

- Margalot J.A. (1994).  
Geografía de Misiones. 6ta Edición. Bs. As. pag. 172.
- Nagodawithana T.W.; Whitt J.T.; Cutaia A.I. (1977).  
Study of the feedback effect of ethanol on selected enzymes of the glycolytic pathway. J Am Soc Brew Chem, 39: 179 - 183.
- Nikita J.I.; Nagumo T.; Yamashita S., (1982).  
Myo-inositol transport in *Saccharomyces cerevisiae* protoplasts. J Bact, 150(2): 960 - 962.
- Norton J.S.; Krauss R.W. (1972).  
The inhibition of cell division in *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen) by carbon dioxide. Plant Cell Physiol, 13: 139 - 149.
- Ough C.S.; Davenport M.; Joseph K. (1989).  
Effect of certain vitamins on growth and fermentation rate of several commercial active dry wine yeasts. Am J Enol Vitic, 40: 208 - 213.
- Oura E. (1977).  
Reaction products of yeast fermentations. Process Biochem, 12: 19 - 21.
- Ozcan S.; Johnston M. (1995).  
Three different regulatory mechanisms enable yeast hexose transporter (HXT) genes to be induced by different levels of glucose. Mol Cell Biol, 15: 1564 - 1572.
- Pampulha M.E.; Loureiro-Dias M.C. (1989).  
Combined effects of acetic acid, pH and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast. Appl Microbiol Biotechnol, 31: 547 - 550.
- Pena A.; Cinco G.; Gomez-Puyol A.; Tuena M. (1972).  
Effect of pH of the incubation medium on glycolysis and respiration in *Saccharomyces cerevisiae*. Arch Biochem Biophys, 153: 413 - 425.

Petrov W.; Okorokov L.A. (1990).

Increase of the anion and proton permeability of *Saccharomyces carlsbergensis* plasmalenma by n-alcohols as a possible cause of its deenergization. *Yeast*, 6: 313 - 318.

Pinto I.; Cardoso H.; Leao C.; Van Uden N. (1989).

High enthalpy and low enthalpy death in *Saccharomyces cerevisiae* induced by acetic acid. *Biotechnol Bioeng*, 33: 1350 - 1352.

Piper P.W.; Taljera K.; Panaretou B.; Moradas-Ferreira P.; Byrne K.; Praekelt U.M.; Meacock P.; Recnacq M.; Boucherie H. (1994).

Induction of major heat shock proteins of *Saccharomyces cerevisiae* including plasma membrane Hsp30, by ethanol levels above a critical threshold. *Microbiology*, 104: 3031 - 3038.

Pszczolkowski P.; Bordeau E. (2006).

Manual de Microvinificación. Cátedra de Enología. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Chile. Edit. Univ., pp. 2-40.

Purves W.K.; Sadava D.; Gordon H.O.; Heller H.C., (2005).

Vida: La Ciencia de la Biología. Editorial Médica Panamericana, 6ta. Ed. Madrid. pág.129.

Rauhut D. (1992).

Yeasts production of sulfur compounds. In: Fleet GH. *Wine Microbiology and Bio-technology*, Harwood Academic Publishers, Chur, 225 - 242.

Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1956a).

Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 1. *Am J Enol Vitic*, 7: 53 - 61.

Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1956b).

Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 2. *Am J Enol Vitic*, 7: 112 - 118.



- Rieger M.; Kapelli O.A. (1983).  
The role of limited respiration in the incomplete oxydation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. J. Gen Microbiol, 129: 653 - 661.
- Riou C.; Nicaud J.M.; Barre P. Gaillardin C. (1996).  
Stationary -phase expression in *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. Yeast, 13: 903 - 915.
- Rogers T.O.; Lichstein H.C.; (1969 a).  
Characterization of the biotin transport system in *Saccharomyces cerevisiae*. J Bacteriol, 100: 557 - 564.
- Rogers T.O.; Lichstein H.C. (1969 b).  
Regulation of biotin transport in *Saccharomyces cerevisiae*. J Bacteriol, 100: 565 - 572.
- Rosa M.F.; Sa-Correia I. (1991).  
In vivo activation by ethanol of plasma membrane ATPase of *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Environ Microbiol, 57: 830 - 835.
- Rowe S.M.; Simpson W.J.; Hammond J.R.M. (1994).  
Intracellular pH of yeast during brewery fermentation. Lett Appl Microbiol, 18: 135 - 137.
- Sa Correia I.; Van Uden N. (1986).  
Ethanol-induced death of *Saccharomyces cerevisiae* at low and intermediate growth temperatures. Biotechnol Bioeng, 28: 301 - 303.
- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1993).  
Kinetics of alcoholic fermentation in anisothermal enological conditions. 1 Influence of temperature evolution on the instantaneous rate of fermentation. Am J Enol Vit, 44 (2): 127 - 133.
- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1993).  
Kinetics of alcoholic fermentation in anisothermal enological conditions. 2 Prediction from the kinetics in isothermal conditions. Am J Enol Vit, 44 (2): 134 - 138.

- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1986).  
Evaluation du besoin en oxygene de fermentations alcooliques en conditions œnologiques simulées. *Sci Alim*, 6: 373 - 383.
- Sajbidor J.; Grego J. (1992).  
Fatty acid alterations in *Saccharomyces cerevisiae* exposed to ethanol stress. *FEMS Microbiol Lett*, 93: 13 - 16.
- Salmon J.M.; Vincent O.; Mauricio I.C.; Bely M.; Barre P. (1993).  
Sugar transport inhibition and apparent loss of activity in *Saccharomyces cerevisiae* as a major limiting factor of enological fermentations. *Am J Enol Vit*, 44: 127 - 133.
- Salmon J.M. (1989).  
Effect of sugar transport inactivation in *Saccharomyces cerevisiae* on sluggish and stuck enological fermentations. *Appl Environ Microbiol*, 55: 953 - 958.
- Schaaf I.; Heinisch J.; Zimmermann F.K. (1989).  
Overproduction of glycolytic enzymes in yeast. *Yeast*, 5: 285 - 290.
- Schutte L. (1975).  
Precursors of sulfur containing flavor compounds. In: Furia TE, Bellanca N. *Fevaroli's Handbook of Flavor compounds*. CRC Press, Cleveland, pp. 184 -227.
- Serrano R.; Delafuente G. (1974).  
Regulatory properties of the constitutive hexose transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biochem*, 5: 161 - 171.
- Sharma S.; Tauro P. (1986).  
Control de ethanol production by yeasts: Role of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase. *Biotech Lett*, 8: 735 - 738.
- Simoës-Mendes B.; Madeira-Lopes A.; Van Uden N. (1978).  
Kinetics of petite mutation and thermal death in *Saccharomyces cerevisiae* growing at superoptimal temperatures. *ZAllg Microbiol*, 18: 275 - 279.

Slaughter J.C.; Flint P.W.N.; Kular K.S. (1987).

The effect of CO<sub>2</sub> on the absorption of amino acids from a malt extract medium by *Saccharomyces cerevisiae*. GEMS Microbiol Letters, 40: 239 - 243.

Stanley G.A.; Pamment N. (1993).

Transport and intracellular accumulation of acetaldehyde in *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnol Bioeng, 42: 24 - 29.

Thomas D.; Rose A.H. (1979).

Inhibitory effect of ethanol on growth and solute accumulation by *Saccharomyces cerevisiae* as affected by plasma-membrane lipid composition. Arch Microbiol, 117: 239 - 245.

Van de Aar P.C.; Lopes T.S.; Klootwijk I.; Groeneveld P.; Van Verseveld H.W.; Stouthamer A.H. (1990).

Consequences of phosphoglycerate kinase for the growth and physiology of *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Microbiol Biotechnol, 32: 577 - 587.

Van Uden N. (1985).

Ethanol toxicity and ethanol tolerance in yeasts. Ann Rep Ferment Proc, 8: 11 - 58.

Viegas C.A.; Supply P.; Capieaux E.; Van Dyck L.; Goffeau A.; Sa-Correia I. (1994).

Regulation of the expression of the H<sup>+</sup>ATPase genes PMA1 and PMA2 during growth and effects of octanoic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochim Biophys Acta, 127: 74 - 80.

Villanueva, S. (2009)

“Faltan vinos de consumo masivo”, Diario el Territorio, Posadas, (13/09/2009), Suplemento Económico, p.16. Misiones Argentina.

Walker-Caprioglio H.M.; Casey W.M.; Parks L.W. (1990).

*Saccharomyces cerevisiae* membrane sterol modifications in response to growth in the presence of ethanol. Appl Environ Microbiol, 56: 2853 - 2857.

Wang, D.; Xu, Y.; Hu, J.; Zhao, G. (2004)

Fermentation kinetics of different sugars by apple wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. J Inst Brew, 110(4), 340.

[www.agroalimentosargentinos.gov.ar/vinos.htm](http://www.agroalimentosargentinos.gov.ar/vinos.htm); 2007

[www.inta.gov.ar/cerroazul/info/boletines/plan\\_frutal.htm](http://www.inta.gov.ar/cerroazul/info/boletines/plan_frutal.htm); 2007

[www.inta.gov.ar/estadísticas.htm](http://www.inta.gov.ar/estadísticas.htm); 2007

[www.uncu.edu.ar/fi/biotecnología](http://www.uncu.edu.ar/fi/biotecnología); 2007



La inexistencia de conocimiento científico y tecnológico sobre la elaboración de vino blanco regional a partir de levaduras nativas y uvas de mesa, que se cultivan en Misiones (NE Argentino), fue una de las razones que motivó esta investigación.

El objetivo fue estudiar la vinificación en blanco escala artesanal, a partir de mostos de uvas *Vitis labrusca* de las variedades *Isabella tinto* y *Niágara rosada*.

Las prácticas enológicas aplicadas fueron fermentaciones isotérmicas a 18, 22, 24, 26 y 30°C, donde se utilizaron levaduras de la piel de las bayas y *Saccharomyces cerevisiae bayanus*.

Los materiales y métodos aplicados correspondieron a las normativas del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV).

Todos los vinos obtenidos fueron aptos para el consumo humano.

Se incluyeron al final siete novedades científicas.



ISBN 978-950-579-183-5



9 789505 791835



UNIVERSIDAD NACIONAL  
DE MISIONES