Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
Facultad de Química - Farmacia
Departamento de Ingeniería Química

Desarrollo de una tecnología para elaborar vino blanco común con vitis no vinífera cultivada en Misiones, Argentina

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas

Autor : MSc. Ing. Juan Esteban Miño Valdés

Tutores : Dr. Sc. Erenio González Suárez

Dr. Ing. José Luis Herrera Garay

Santa Clara, Cuba
2012

AGRADECIMIENTOS

Por fortuna, a lo largo del trabajo fueron muchas las personas que de alguna manera, colaboraron directa o indirectamente en la realización del mismo. Por lo tanto, hago extensivo mi agradecimiento a todas ellas. No obstante, debo expresar un reconocimiento especial a las instituciones y personas que en ellas trabajan:

De la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Central de las Villas (UCLV) Cuba, al Dr. Sc. Erenio González Suárez;

De la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM) Misiones, Argentina, al DrC. José Luis Herrera y al DrC. Luis Alberto Brumovsky y a la DrC. María Alicia Martos;

De la Facultad de Agronomía de la Universidad Pontificia Católica de Chile (UCA) Santiago de Chile, al Dr. Edmundo Bordeau;

De la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo (UNCu), Mendoza, Argentina, al MSc. Ing. Marcos Maza, al Dr. Ing. Juan Carlos Formento, al DrC. Eduardo Pérez Caram;

De la Estación Experimental Agrícola del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA), Cerro Azul, Misiones Argentina a la Enóloga Ing. Débora Lavanderos y al Enólogo Ing. Pedro Bakos;

De la Universidad Nacional de Misiones, a sus autoridades anteriores y actuales en especial a los Secretarios Generales de Ciencia y Tecnología;

De la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM), a sus autoridades y a mis compañeros de trabajo de la Cátedra de Química Lic. Tirso Tannuri y MSc. Clara Záccaro y del Dpto. Ing. Electromecánico, Jorge López.

DEDICATORIA

A mis padres
Emilia Dolores y
Máximo

A mis hijas
María Gabriela y
María Agustina

A mis hermanas
María Rosa y
Laura Andrea

SÍNTESIS

Se estudió la elaboración de vino blanco común seco con uvas no viníferas *Isabella tinto* y *Niágara rosada*. Los objetivos del trabajo fueron: fundamentar desde el punto de vista científico y tecnológico la estrategia investigativa; realizar las vinificaciones en blanco común seco con *Isabella tinto* y *Niágara rosada*; evaluar el desempeño de las levaduras autóctonas respecto de *Saccharomyces cerevisiae bayanus* en las fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas; determinar si los vinos obtenidos son aptos para el consumo humano; obtener un modelado matemático de la fermentación con mostos de uvas no viníferas; establecer un procedimiento tecnológico para elaborar vino blanco a escala industrial; demostrar la viabilidad económica de la tecnología desarrollada y atenuar el impacto ambiental de los efluentes sobre el medio. Se demostró la hipótesis de que es viable desde el punto de vista científico, económico y ambiental, desarrollar una tecnología apropiada al medio rural, para elaborar vino blanco común seco apto para el consumo humano, a partir de mostos de uvas de mesa no viníferas con levaduras autóctonas o con *Saccharomyces cerevisiae bayanus*. Los resultados de este trabajo fueron aplicados en la bodega escuela instalada en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Estación Experimental Cerro Azul, Misiones, donde unos 300 productores rurales que cultivan estas vides llevan sus uvas para que el INTA les elabore su vino. Este trabajo se estructura y desarrolla en etapas que incluyen las tareas de: elaborar vino blanco común seco a escala laboratorio; evaluar los parámetros de proceso de las vinificaciones; obtener un modelo matemático de la fermentación en condiciones enológicas; valorar la aptitud de los vinos para el consumo humano; establecer un procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco en planta piloto; evaluar en planta piloto el procedimiento tecnológico establecido; seleccionar el equipamiento industrial; estimar costos y rentabilidad del proceso tecnológico industrial**.** Finalmente con la tecnología desarrollada, fue factible obtener vino blanco común apto para el consumo y rentable desde el punto de vista económico.

ÍNDICE

CONTENIDOS	pág.
Agradecimientos	II
Dedicatoria	III
Síntesis	IV
Índice	V
Lista de figuras	VII
Lista de tablas	IX
Lista de Anexos	XI
Introducción	1
1. Capítulo I: Análisis de la literatura	4
1.1 Composición de la uva, el mosto y el vino	4
1.2. Relaciones levadura-medio	6
1.2.1. Productos Formados por el metabolismo	7
1.2.2. Adaptación de la célula al medio	10
1.3. Control de la fermentación alcohólica	15
1.3.1. Descripción de una fermentación tipo	15
1.3.2. Variabilidad de la cinética fermentativa	18
1.4. Elaboración de vino blanco	20
1.4.1. La fase prefermentativa	21
1.4.2. La fase fermentativa	26
1.4.3. La fase postfermentativa	28
1.5. Los efluentes vinícolas	29
1.6. Escalado de reactores químicos y biológicos	30
1.7 Conclusiones parciales	34
2. Capítulo II: Estudio de la vinificación en blanco a escala laboratorio para desarrollar la tecnología	36
2.1. Introducción	36
2.2. Materiales y métodos	36
2.3. Resultados y discusión	43

2.3.1. Etapa A: Elaboración de vino blanco seco a escala laboratorio 43

2.3.2. Etapa B: Evaluación de los parámetros del proceso de las vinificaciones 51

2.3.3. Etapa C: Modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas 65

2.3.4. Etapa D: Verificación de la aptitud fisicoquímica de los vinos 69

2.4. Conclusiones parciales 71

3. Capítulo III: Desarrollo de la tecnología a escala industrial para vinificar en blanco vitis no viníferas de color 72

3.1. Introducción 72

3.1.1. Etapa E: Procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco 73

3.1.2. Etapa F: Evaluación en planta piloto del procedimiento tecnológico establecido 74

3.1.3. Etapa G: Selección del equipamiento industrial proyectado 86

3.1.4. Etapa H: Estimación de costos y rentabilidad del proceso tecnológico industrial 96

3.2 Conclusiones parciales 98

4. Conclusiones generales 99

5. Recomendaciones 100

Referencias bibliográficas 101

Anexos 114

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Evoluciones típicas de la población celular y de la concentración de azúcar residual durante la fermentación alcohólica en condiciones enológicas 6

Figura 02. Esquema del efecto del etanol sobre la fluidez de la membrana plásmica y su permeabilidad a los protones 10

Figura 03. Influencia de la temperatura en las tasas específicas de mortalidad celular en *S . cerevisiae* en presencia de concentraciones crecientes de etanol 11

Figura 04. Descripción de un ciclo fermentativo 16

Figura 05. Relación entre la velocidad máxima de producción de CO_2 y la concentración de nitrógeno asimilable 17

Figura 06. Variabilidad según los mostos de la velocidad máxima de producción de CO_2 y de la velocidad específica de CO_2 a 24 ºC de temperatura. 18

Figura 07. Efecto de la temperatura sobre la cinética fermentativa 20

Figura 08. Diagrama de flujo para la elaboración de vino blanco común seco en el laboratorio 42

Figura 09. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y nativas a 18, 22, 26 y 30ºC 45

Figura 10. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC 45

Figura 11. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC 46

Figura 12. Levaduras nativas contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC 47

Figura 13. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC 48

Figura 14. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC 49

Figura 15. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC 49

Figura 16. *S. bayanus* contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC 50

Figura 17. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18 ºC 52

Figura 18. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 22 ºC 52

Figura 19. Densidad contra tiempo en mostos de *Niegara rosada* a 24 ºC 53

Figura 20. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella* a 26ºC 53

Figura 21. Densidad contra tiempo en mostos de uva *Isabella* a 30 ºC 54

Figura 22. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18ºC 55

Figura 23. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 22 ºC 55

Figura 24. ºBrix contra tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC 56

Figura 25. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 26 ºC 56

Figura 26. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 30 ºC 57

Figura 27. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18 ºC 57

Figura 28. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 22 ºC
Figura 29. pH contra tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC 58
Figura 30. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 26 ºC 59
Figura 31. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 30 ºC 59
Figura 32. Curvas simuladas del consumo de glucosa por *S. bayanus* en el modelo logístico 68
Figura 33. Diagrama de flujo del desarrollo tecnológico establecido a escala industrial 98

LISTA DE TABLAS

Tabla 01. Composición del racimo de uva en por ciento sobre peso fresco 4

Tabla 02. Composición del mosto y del vino 5

Tabla 03. Incidencia de la clarificación de mostos en el contenido de volátiles 25

Tabla 04. Incidencia de la temperatura de fermentación en la formación de volátiles en Vinos 27

Tabla 05. Características fisicoquímicas de la uva *Isabella tinto* de Misiones 43

Tabla 06. Características fisicoquímicas de la uva *Niágara rosada* de Misiones 51

Tabla 07. Poder Fermentativo de levaduras en mostos de uva *Isabella tinto y Niágara Rosada* 61

Tabla 08. Actividad Fermentativa de levaduras en mostos de uva *Isabella tinto y Niágara Rosada* 62

Tabla 09. Rendimiento Fermentativo de levaduras en mostos de uva *Isabella tinto y Niágara rosada* 63

Tabla 10. Población de levaduras nativas en mostos de uva *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC 64

Tabla 11. Población de *S. bayanus* en mostos de uva *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC 65

Tabla 12. Características del vino blanco común seco obtenido en laboratorio 69

Tabla 13. Operación de elaboración de vino blanco seco con uvas de color 74

Tabla 14. Operación de elaboración de vino blanco seco sin despalillado 75

Tabla 15. Balance de masa en la prensa neumática con mostos de *Niágara rosada* a 20 ºC 75

Tabla 16. Balance de masa en la primera clarificación con mostos de *Niágara rosada* a 20ºC 75

Tabla 17. Balance de masa en la fermentación con mostos de *Niágara rosada* a 20 ºC 76

Tabla 18. Balance de masa en la segunda clarificación con mostos de *Niágara* a 20 ºC 76

Tabla 19. Análisis del vino blanco obtenido a 20ºC con *Niágara* a 20 ºC 76

Tabla 20. Operación de elaboración de vino blanco seco con despalillado en planta piloto 78

Tabla 21. Balance de masa del despalillado a 20ºC con mostos de *Isabella* 78

Tabla 22. Balance de masa en la prensa neumática a 20ºC con mostos de *Isabella* 78

Tabla 23. Balance de masa de la primera clarificación a 20 ºC con mostos de *Isabella* 79

Tabla 24. Balance de masa en la fermentación a 20 ºC con mostos de *Isabella* 79

Tabla 25. Balance de masa de la segunda clarificación a 20 ºC con mostos de *Isabella* 79

Tabla 26. Análisis del vino blanco obtenido a 20ºC con mostos de *Isabella* 80

Tabla 27. Operaciones de elaboración de vino blanco a 22 ºC con mostos de *Niágara* 81

Tabla 28. Balance de masa en la prensa neumática a 22ºC con mostos de *Niágara* 81

Tabla 29. Balance de masa en la primera clarificación a 22 ºC con mostos de *Niágara* 81

Tabla 30. Balance de masa de la fermentación a 22 ºC con mostos de *Niágara* 82

Tabla 31. Balance de masa de la segunda clarificación a 22 ºC con mostos de NR 82

Tabla 32. Análisis del vino blanco elaborado a 22 ºC con mostos de *Niágara* 82

Tabla 33. Operaciones de elaboración de vino blanco a 24 ºC con mostos de *Niágara* 84

Tabla 34. Balance de masa en la prensa neumática a 24ºC con mostos de *Niágara* 84

Tabla 35. Balance de masa en la primera clarificación a 24ºC con mostos de *Niágara* 84

Tabla 36. Balance de masa en la fermentación a 24 ºC con mostos de *Niágara* 85

Tabla 37. Balance de masa en la segunda clarificación a 24 ºC con mostos de *Niágara* 85

Tabla 38. Análisis del vino blanco elaborado a 24 ºC con mostos de *Niágara* 85

Tabla 39. Rendimientos globales proyectados de planta piloto para 8 ton de viñedo 87

Tabla 40. Balance de masa a escala industrial para mostos de uva *Niágara* a 24 ºC (k = 40) y los rendimientos proyectados de planta piloto 87

Tabla 41. Resumen de las variables calculadas para procesar 8 ton viñedo h^{-1} 93

Tabla 42. Capital fijo invertido actualizado en función de las temperaturas de fermentación 96

Tabla 43. Costos de producción actualizados en función de las temperaturas de elaboración 97

Tabla 44. Análisis dinámico en función de las temperaturas de fermentación 97

ANEXOS

Anexo 01. Compuestos volátiles : alcoholes – aldehídos – cetonas – esteres

Anexo 02. Ácidos orgánicos

Anexo 03. Nitrógeno. Compuestos nitrogenados

Anexo 04. Minerales. Elementos minerales

Anexo 05. Osas y polioles

Anexo 06. Polifenoles

Anexo 07. Vitaminas

Anexo 08. Viñedos y uvas seleccionadas

Anexo 09. Parámetros de la fermentación a 18 ºC en mostos de *Isabella* con levaduras nativas

Anexo 10. Parámetros de la fermentación a 22 ºC en mostos de *Isabella* con levaduras nativas

Anexo 11. Parámetros de la fermentación a 26 ºC en mostos de *Isabella* con levaduras nativas

Anexo 12. Parámetros de la fermentación a 30 ºC en mostos de *Isabella* con levaduras nativas

Anexo 13. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella* con levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 14. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella* con levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 15. pH contra tiempo en mostos de *Isabella* con levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 16. Levaduras nativas contra tiempo en mostos de *Isabella* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 17. Parámetros de la fermentación a 18ºC en mostos de *Isabella* con *S. bayanus*

Anexo 18. Parámetros de la fermentación a 22ºC en mostos de *Isabella* con *S. bayanus*

Anexo 19. Parámetros de la fermentación a 26ºC en mostos de *Isabella* con *S. bayanus*

Anexo 20. Parámetros de la fermentación a 30ºC en mostos de *Isabella* con *S. bayanus*

Anexo 21. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 22. ºBrix contra tiempo en mostos de uva *Isabella* con S. *bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 23. pH contra tiempo en mostos de uva *Isabella* con S. *bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 24. S. *bayanus* contra tiempo en mostos de uva *Isabella* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Anexo 25. Densidad contra tiempo en mostos a 24 ºC de *Niágara* con levaduras nativas *y S. bayanus.*

Anexo 26. ºBrix contra tiempo en mostos a 24 ºC de uva *Niágara* con levaduras nativas *y S. bayanus*

Anexo 27. pH contra tiempo en mostos de *Niágara* a 24 ºC con levaduras nativas y *S. bayanus*

Anexo 28. Diagrama heurístico de las etapas del desarrollo tecnológico

INTRODUCCIÓN

La fermentación, es definida técnicamente en su sentido más amplio, como la transformación química de compuestos orgánicos con la ayuda de enzimas producidas por microorganismos (Díaz Peralta, 2007). Hacia los años 3.000- 4.000 a.C., se inició el verdadero cultivo de la vid, en Asia (Martínez de Toda, 2005). Más tarde el vino tuvo gran auge en Grecia, Cartago y Roma donde se expandió con los Imperios (Juscafresa, 2005).

Hacia el siglo XIV d.C., la destilación de bebidas alcohólicas a partir de grano fermentado, era común en muchas zonas del mundo (Francia-Brandy; Escocia-Wisky). En 1817 Gay-Lussac establece la ecuación química básica de transformación del azúcar en alcohol. En 1866 Pasteur descubre que las levaduras transforman el azúcar en alcohol en ausencia de aire. A este proceso anaeróbico se le conoce como la fermentación alcohólica.

En 1883 Christian Hansen obtuvo el primer cultivo puro de levadura cervecera que denominó *Saccharomyces carlsbergensis*. En 1887 Buchner evidencia el carácter enzimático de la transformación del azúcar en alcohol (Ercoli, 2007). 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, *Steinberg 92*, para su uso comercial en la producción del vino. Con estos trabajos y los de Pasteur, la fermentación pasa de ser un arte (resultados imprevisibles) a ser una ciencia (resultados previsibles) (Díaz Peralta, 2009).

Desde gran parte del siglo XX hasta la actualidad, la expansión de los conocimientos ha revolucionado la manera de comprender y experimentar sobre este tema a tal punto que es difícil seguir el paso de los nuevos descubrimientos (Fuentes Berazategui, 2008).

Los únicos vinos permitidos para el comercio internacional son aquellos elaborados a partir de uvas *Vitis vinífera* (Blouin y Peynaud, 2006), por ello se encuentra información tecnológica de la fermentación alcohólica en condiciones enológicas para estas variedades y ninguna para las *Vitis labrusca* (Miño Valdés y col. 2007).

Durante la última década los cultivos tradicionales de la provincia de Misiones (yerba mate, té, tung, y tabaco), atravesaron una crisis económica signada por el 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, como lo es, la elaboración de vinos artesanales (Piekun y Rybak, 2006). Las *Vitis* no *viníferas* que se adaptaron muy bien al clima subtropical de Misiones y se cultivan son entre otras: *Niágara, Isabella* y *Venus* (Piekun, 2007). La producción de uvas de

mesa de Misiones logró abastecer la demanda del mercado misionero en el año 2009 con 0,61 kg hab^{-1} $año^{-1}$. Se dedican al cultivo de las vides actualmente unos 300 productores rurales en Misiones con una superficie total plantada de alrededor de 80 ha (Bakos, 2009). La cosecha de uvas desde noviembre 2010 hasta febrero 2011, alcanzará aproximadamente 800 Tn (Piekun, 2011a); de este total el 85 % se está comercializando como fruta fresca, y con el remanente unos 50 productores rurales están elaborando "vino de colonia" para autoconsumo familiar. (Piekun, 2011b). Los precios en la chacra estuvieron entre 8 y 10 \$ kg^{-1} uva al iniciar la cosecha en noviembre 2010 y luego bajaron al rango de 6 a 8 \$ kg^{-1} entre diciembre 2010 y enero 2011 (Bakos, 2011).

La elaboración de vinos se registró como otra actividad productiva a ser evaluada debido al aumento de la producción de uvas no viníferas en Misiones y la falta de vino blanco común de bajo precio, en el mercado regional desde el año 2004 (Miño Valdés, 2010).

El problema científico que se plantea es la falta de una tecnología conceptualizada para la elaboración de vino blanco común apto para el consumo, con las variedades de uvas de mesa no viníferas *Isabella tinto y Niágara rosada* cultivadas en Misiones, fermentadas con levaduras autóctonas o *Saccharomyces cerevisiae bayanus (S. bayanus).*

Se ha establecido la hipótesis de que es viable desde el punto de vista científico, económico y ambiental desarrollar una tecnología apropiada al medio rural, para elaborar vino blanco común apto para el consumo, a partir de mostos de uvas de mesa no viníferas, determinando además las características de las uvas, los valores de las variables de elaboración, el desempeño de las levaduras nativas o las especializadas y la viabilidad técnica, económica y ecológica del desarrollo tecnológico.

Por lo expuesto, los objetivos planteados para este trabajo fueron:

Objetivo general

Desarrollar un procedimiento tecnológico apropiado y sustentable desde el punto de vista económico y ambiental, para la elaboración de vino blanco común, apto para consumo humano, utilizando mostos de uvas no viníferas cultivadas en Misiones, y levaduras nativas o *S. bayanus.*

Objetivos específicos

1. Fundamentar desde el punto de vista científico y tecnológico, con apoyo de la literatura científica, la estrategia investigativa para lograr el objetivo previsto.
2. Realizar las vinificaciones en blanco común seco con uvas *Isabella tinto* y *Niágara rosada.*
3. Evaluar el poder, actividad, rendimiento fermentativo y población de levaduras.

4. Determinar la aptitud fisicoquímica de los vinos obtenidos.
5. Obtener un modelado matemático de la fermentación con mostos de uvas no viníferа.
6. Establecer un procedimiento tecnológico para elaborar vino blanco a escala industrial.
7. Demostrar la viabilidad económica de la tecnología desarrollada.
8. Atenuar el impacto ambiental de los efluentes sobre el medio.

Para alcanzar estos objetivos específicos se desarrollaron las siguientes tareas:

1. Se analizó el estado del arte de la elaboración de vinos.
2. Se elaboró vino blanco común seco a escala laboratorio y planta piloto.
3. Se evaluaron los parámetros de seguimiento del proceso.
4. Se obtuvo un modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas.
5. Se valoró la aptitud de los vinos para el consumo humano.
6. Se estableció un procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco.
7. Se evaluó en planta piloto el procedimiento tecnológico establecido.
8. Se proyectó a escala industrial y se dimensionó el equipamiento.
9. Se estimaron los costos y la rentabilidad del proceso tecnológico a escala industrial.
10. Se estableció una disposición final de residuos para atenuar el impacto ambiental.

Como aportes científicos de significación teórica se determinaron los parámetros de control del proceso a diferentes temperaturas, cuando la fermentación isotérmica era conducida por levaduras nativas o *S. bayanus*; se obtuvo un modelado matemático de la fermentación alcohólica en condiciones enológicas, utilizando a la glucosa como sustrato en mosto de *Isabella tinto* fermentada con *S. bayanus* que explica el comportamiento experimental encontrado y justifica el 50% del etanol producido; y se logro definir un procedimiento tecnológico para elaborar vino blanco común apto para el consumo, con mostos de uvas no viníferas *Isabella tinto* y *Niágara rosada* cultivadas en Misiones.

Como aportes científicos de significación tecnológica a 18, 22, 26 y 30ºC se calculó el poder, el rendimiento y la actividad fermentativa de las levaduras nativas o *S. bayanus*; se determinó la evolución de las generaciones de poblaciones con levaduras nativas o *S. bayanus* en las fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas y se calcularon y evaluaron los indicadores económicos dinámicos para las inversiones a escala industrial, que se recomendaron ejecutar.

Capítulo I: Análisis de la literatura

1.1 Composición de la uva, el mosto y el vino

Las uvas del género *Vitis*, son uno de los 11 géneros de la familia Vitácea. Las familias Vitáceas, Leáceas y Ramnáceas forman el orden Ramnales. La *Vitis* se subdivide en dos subgéneros: *Euvitis* (verdaderas uvas) y *Muscadinea*. *Vitis* comprende cerca de 60 especies silvestres descritas, confinadas principalmente en las zonas templadas boreales. Actualmente se conocen más de 5.000 variedades de *Vitis vinífera*s y otras tantas de híbridos con otras especies de *Vitis*. Con la continua selección clonal y las hibridaciones, la lista continúa aumentando sin límites. En la actualidad, el 90% de la superficie mundial de viñedos está ocupada por *Vitis vinífera* dedicadas a la producción de vinos, zumos, uvas de mesa y pasas de uva. (Boulton y col., 2002)

En la Tabla 1 se presenta la composición del racimo de uvas: agua, glúcidos, prótidos, lípidos, elementos minerales y compuestos fenólicos.

Tabla 1. Composición del racimo de uva en % peso fresco[1]

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

[1] Cabanis y Cabanis citado por Flanzy, 2003

El vino se obtiene por fermentación alcohólica del mosto de *Vitis vinífera* (Jackson, 2003; OIV, 2009). 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 2 se dan los principales compuestos de los mostos y los vinos, así como sus concentraciones.

Tabla 2. Composición del mosto y del vino[1]

COMPONENTES PRINCIPALES	MOSTOS g L^{-1}	VINOS g L^{-1}
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

[1] Cabanis y Cabanis citado por Flanzy, 2003.

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. En el Anexo se presentan las composiciones químicas de los mostos y vinos; los compuestos volátiles: alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres (Anexo 1); los ácidos orgánicos (Anexo 2); los compuestos nitrogenados (Anexo 3); los minerales (Anexo 4); las osas y polioles (Anexo 5); los polifenoles (Anexo 6) y las vitaminas (Anexo 7).

La información científica que se presenta a continuación se refiere a las uvas de las variedades *Vitis viníferas* y la levadura *S. cerevisiae.* Esta información se consideró como punto de partida para el desarrollo tecnológico de la elaboración de vino blanco con uvas no viníferas y levaduras autóctonas o *S. bayanus* (levadura vinífera comercial especializada en blanco a 18 ºC).

1.2. Relaciones levadura-medio

La fermentación alcohólica constituye una de las etapas más importantes de la elaboración de los vinos y 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 *Saccharomyces cerevisiae*. 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 cuando la cantidad de oxígeno (O_2) disponible en el mosto es menor a 10 mg de O_2 por litro el metabolismo de *S. cerevisiae* en tales condiciones es estrictamente fermentativo.

El mosto de uva se caracteriza por tener una alta concentración de azúcares fermentables (entre 140 y 260 g L^{-1}) según el grado de madurez de la uva (con cantidades equivalentes de glucosa y fructosa). Este mosto se caracteriza también por una 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 por ciento volumen en volumen (% v/v) de etanol, y otros co-productos fermentativos tales como el glicerol (con promedio entre 6 y 8 g L^{-1}), ácidos orgánicos tales como: el acético, el succínico y el pirúvico en cantidades < 1 g L^{-1}, y también alcoholes superiores y ésteres. 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) (Flanzy, 2003).

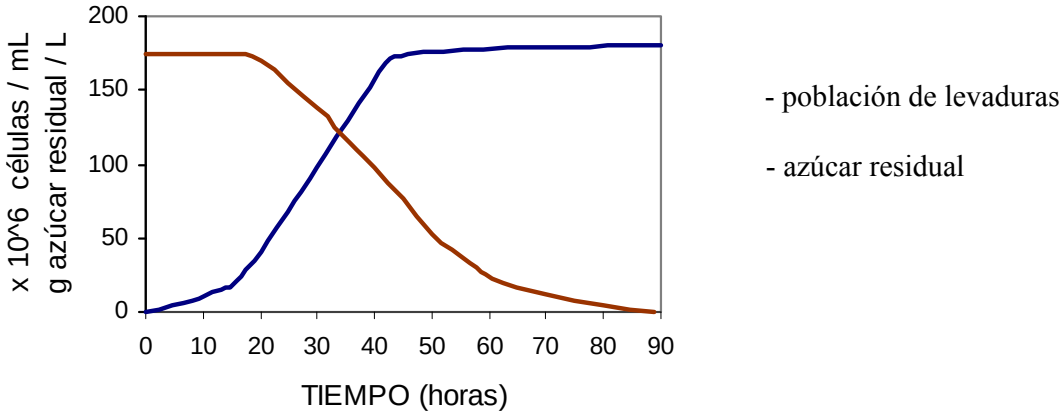


Figura 1. Evolución típica de la población celular y de la concentración en azúcares residuales durante la fermentación alcohólica en condiciones enológicas

1.2.1. 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 de carboxilasa y alcohol deshidrogenasa I) son inducidas por la glucosa (Sharma y Tauro, 1986; Rieger y Kapelli, 2003) 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 orgánicos (Ribéreau-Gayon y col., 1977a, 1977b). 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 muy distintas en condiciones enológicas (Figura 1). La primera fase no posee un crecimiento exponencial real, solo 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) 10^6 células mL^{-1} para una inoculación inicial de alrededor de 10^6 células mL^{-1}. Esta biomasa final solo representa aproximadamente 3 g L^{-1} (de 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 mg L^{-1}) es necesario para un buen crecimiento celular (Sablayrolles y Barre, 1986). Interviene en la síntesis de los esteroles y de los ácidos grasos insaturados, constituyentes esenciales de la membrana plasmática (Andreasen y Steir, 2003).

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. 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 de azúcares reductores (glucosa o fructosa) por litro de mosto. 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, este se equilibra simplemente entre una parte y otra de la membrana plasmática por simple difusión (Jones, 2002).

Dióxido de Carbono

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 dióxido de carbono (CO_2) de 0,4 a 0,5 gramos de CO_2 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_2 molecular y bicarbonato HCO_3^- permanecen aún desconocidos (Jones y col., 2001). En efecto, por debajo de valores de presión parcial de CO_2 de 0,15 a 0,20 atmósfera (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, 2002). A valores de pH externos como los encontrados en condiciones enológicas (pH muy ácido), se admite que solo la fracción de CO_2 disuelta se difunde a través de la membrana de la levadura, y no la especie bicarbonato HCO_3^-. 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 milimoles (mM) (Flanzy, 2000).

Glicerol

Es el tercer compuesto más importante en volumen en el vino después del agua y el alcohol etílico; en condiciones de fermentación enológicas varían normalmente entre 5 y 11 g L^{-1} según las cepas de levadura. En *S. cerevisiae*, el glicerol así formado deja la célula por difusión pasiva (Gancedo y col., 1998). 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). Contribuye a la percepción del "cuerpo" del vino por su densidad 1,26 g cm^{-3}. (Flanzy, 2003).

Ácidos Orgánicos

En la uva después del azúcar son los compuestos más abundantes, entre ellos se encuentran, los ácidos tartárico, málico y cítrico. 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 (Díaz Peralta, 2006).

Un cierto número (entre ellos acetato, succinato, α-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 (Flanzy, 2033).

Alcoholes superiores

La mayor parte de los alcoholes superiores producidos por la levadura derivan directamente de los esqueletos carbonados de los aminoácidos asimilados por aquella durante la fermentación alcohólica, conduciendo a la formación de un alcohol superior que posee un carbono de menos que el aminoácido de origen. Otra vía de síntesis de los alcoholes superiores ramificados a través de actividades enzimáticas específicas aún no explicadas (Derrik y Large, 1993)

Los principales alcoholes superiores sintetizados durante la fermentación alcohólica son el n-propanol, isobutanol, los alcoholes amílico e isoamílico y el feniletanol (Rapp y Versini, 1999); en los vinos se encuentran estos compuestos de 140 a 420 mg L^{-1} el más importante es el 3-metil 1-butanol que generalmente representa el 50 % de los alcoholes superiores (Diaz Peralta, 2010).

Ésteres

Los ésteres representan numéricamente el mayor grupo de compuestos con impacto organoléptico producidos en fermentación alcohólica y son producidos por una reacción enzimática poniendo en juego los derivados acil grasos del coenzima A y los alcoholes libres (Nordstrom, 1974).

1.2.2. 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); (Figura 2).

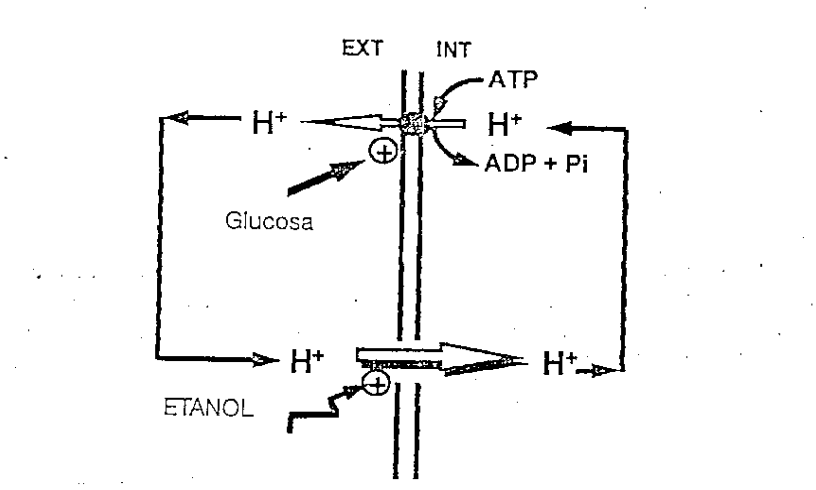


Figura 2. Efecto esquemático del etanol sobre la fluidez de la membrana plasmática y su permeabilidad a los protones.

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).

Efecto de la temperatura

La influencia de la temperatura sobre el desarrollo de la fermentación alcohólica es relativamente compleja (ver Figura 3). La disminución o el aumento de la temperatura en un intervalo comprendido entre 4 y 40 ºC 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 ºC.

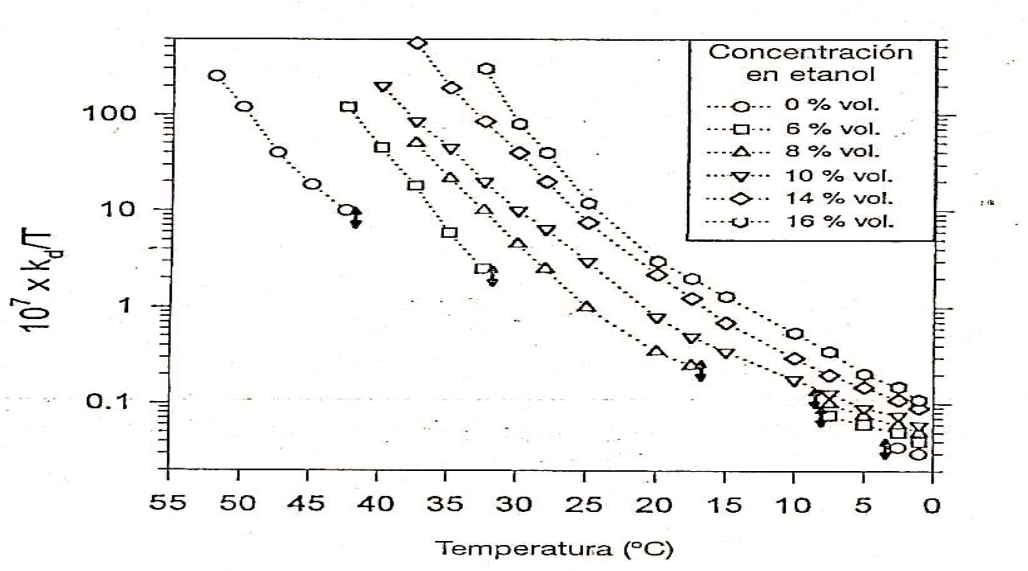


Figura 3. Influencia de la temperatura en las tasas específicas de mortalidad celular en *S. cereviseiae* en presencia de concentraciones crecientes de etanol.

En la Figura 3 (Sa-Correia y Van Uden, 1986) se puede 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^{-1}) y la temperatura en K, representación modificada de Arrhenius. El etanol indujo la muerte de *S.* cerevisiae a bajos y moderados aumentos de temperaturas. Más allá de estos límites se observa una mortalidad inducida por el calor.

Se ha observado en situaciones de temperaturas relativamente elevadas de 25 a 40 ºC, en presencia de etanol incluso en baja concentración (Sa-Correia y Van-Uden, 1986) (Figura 3), 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 ºC.

Respecto del uso de temperaturas en la elaboración de vinos con V*itis viníferas* y *S. cerevisiae* hay cuatro corrientes de tratamiento tecnológico que se tomarán como referencia para diseñar la estrategia investigativa:

La corriente francesa, según Blouin y Peynauld (2006) sugiere: a) elaborar vino blanco iniciando la fermentación alcohólica (fa) entre 18-20 ºC hasta la mitad del contenido de azúcar y luego terminarla entre 20 y 22 ºC; b) para elaborar vino tinto sugieren temperaturas entre 28 y 32 ºC.

La corriente chilena según Bordeau (2006) sugiere rangos de temperaturas de elaboración: a) desde el punto de vista de las levaduras entre 9 y 35 ºC con un óptimo entre 22 y 27 ºC y un rango razonable entre 15 y 30 ºC; b) desde el punto de vista de la calidad: elaborar vino blanco entre 16 y 18 ºC y tintos entre 28 y 30 ºC.

La corriente inglesa según Boulton y col. (2002) sugieren temperaturas de elaboración: a) para vino blanco entre 18 y 24 ºC; b) para vino tinto entre 26 y 30 ºC.

La corriente argentina según Díaz Peralta (2005) sugiere: a) para elaborar vino blanco temperaturas entre 18 y 25 ºC; b) para vino blanco fino 18 ± 2 ºC; c) para vino rosado 24 a 26 ºC; d) para vino tinto 26 a 32 ºC e) para vino tinto fino 29 ± 2 ºC.

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 fisicoquímicos. El ácido acético y otros ácidos orgánicos débiles de pKa ≥ 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 plasmática.

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 plasmática 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., 1984). 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 (agentes que bloquean la vía de biosíntesis del ergosterol en los hongos parásitos de la viña tales como el *iodium* (Tromp y Marais, 1981; Gnaegi y col., 1983; Doignon y Couty, 2002). Estos compuestos alteran la fluidez de la membrana plasmática de *Saccharomyces cerevisiae* por modificación de su contenido en esteroles y ácidos grasos insaturados, volviéndola así más sensible a la acción del etanol (Doignon y Rozes, 2002).

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 (ΔpH) y del potencial eléctrico de membrana (Em).

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: 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 plasmática 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 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 α-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, 2002). 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 uno 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 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., 1989).

Esta alteración inducida de la permeabilidad de la membrana conduce, en fermentaciones conducidas entre 12 y 20 ºC bajo 2 atmósferas de CO_2, a una liberación pronunciada de α-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).

1.3. Control de la fermentación alcohólica

Un buen desarrollo de la fermentación alcohólica con *Vitis viníferas* 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.

1.3.1. Descripción de una fermentación tipo

Se conocen 5 tipos de fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas.

1. Fermentación espontánea: es la que se produce espontáneamente, en un medio con azúcares fermentables, con los microorganismos que trae la uva o que contaminan en la bodega (más de un género, más de una especie).
2. Fermentación pura absoluta: interviene una sola cepa de levadura pura. Es el caso de la cerveza en el que el mosto se esteriliza y luego se siembra con una cepa de levaduras específica.
3. Fermentación pura relativa: es la que ocurre la mayoría de las veces en enología. Se limita el medio con dióxido de azufre (SO_2) (esterilización parcial) y luego se siembra un pie de cuba que posee alta concentración de un microorganismo dado.
4. Fermentación asociada: es una fermentación pura, absoluta o relativa, pero interviene un cultivo mixto de levaduras, o sea dos o más levaduras puras compatibles.
5. Asociación escalar: no muy común en la práctica. Se siembran sucesivamente y en distintos tiempos para que cada una intervenga de acuerdo a su capacidad, dos cepas puras. Por ejemplo: iniciar la fermentación con *S. cerevisiae cerevisiae* y terminarla sembrando *S. cerevisiae bayanus*; o iniciar con *S. cerevisiae cerevisiae* y terminar con *Schizosaccharomyces pombe*; o iniciar con *Schizosaccharomyces pombe* y terminar con *S. cerevisiae cerevisiae.*

Las llamadas fermentaciones naturales o espontáneas, son siempre conducidas finalmente por cepas vínicas de *Saccharomyces*. Actualmente se cree que las levaduras que participan en las fermentaciones espontáneas tienen dos posibles orígenes: la uva o el material de bodega (Fleet y Heard , 1993; Mortimer y Polsinelli 2002). Rosini (2003) demostró que en los meses siguientes a la vinificación, las levaduras *Saccharomyces* responsables de las fermentaciones, permanecen en la bodega y colonizan las superficies e instalaciones de la misma. Según Pretorius (2002), S. cerevisiae es la principal especie colonizadora de las superficies de la bodega.

La Figura 4 (Bely y col., 1990a) sintetiza el desarrollo de una fermentación alcohólica conducida a temperatura constante, con un seguimiento 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 CO_2. Al final de esta fase, la población es aproximadamente de 10^7 células mL^{-1}. Su duración es ante todo función de la temperatura. No excede generalmente de 24 hs.

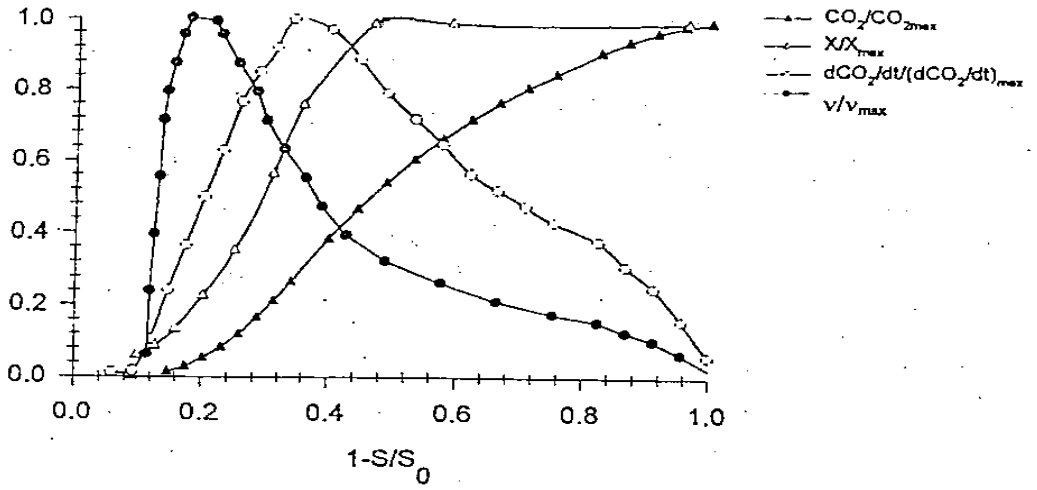


Figura 4 Descripción de un ciclo fermentativo

- evolución de CO2/CO2 máx., dCO2 / dt / (dCO2 /dt) máx. , v / máx.
- CO_2 : CO_2 producido
- X : población celular
- d CO_2/dt : velocidad de producción de CO_2
- V = 1 / X
- dCO2/dt : velocidad específica de producción de CO2
- 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 CO_2 con [$V_{máx.\ esp} = 1 / X (d CO_2 / dt)_{máx.}$]

- la velocidad máxima de liberación de CO_2 [$(d CO_2 / dt)_{máx.}$]

La $V_{máx.}$ se corresponde con la actividad máxima de las células que se alcanza muy pronto, aunque se haya producido menos de 5 g L^{-1} de CO_2 lo que se corresponde con un consumo de azúcar inferior a 10 g L^{-1}. 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) máx.] que es proporcional a la actividad fermentativa del conjunto del cultivo es alcanzada un poco mas 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 existe una relación entre el contenido de nitrógeno asimilable: (dCO_2/dt) máx. y N amoniacal + N α-aminado (Figura 5) (Bely y col.,1990a)

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 col., 1990a).

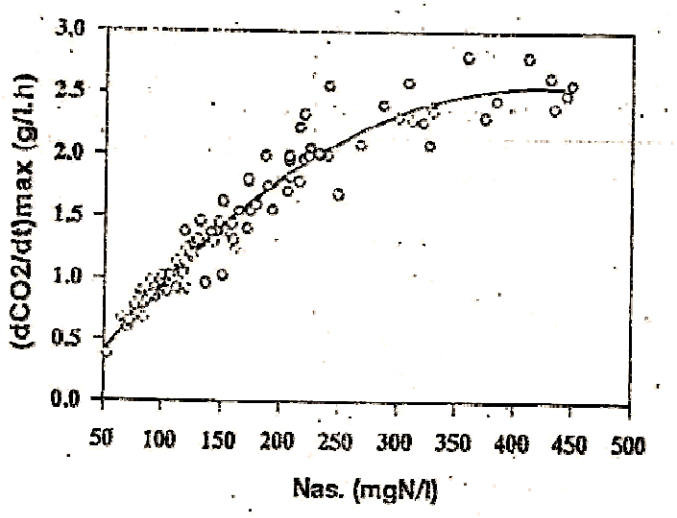


Figura 5. Relación entre la velocidad máxima de producción de CO_2 y la concentración de nitrógeno asimilable

La tercera fase (estacionaria): en ella las levaduras ya no son proliferantes. Su número es 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 nitrógeno (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). 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.

1.3.2. Variabilidad de la cinética fermentativa

Variabilidad según los mostos: Las velocidades de fermentación son muy variables según los mostos. La Figura 6 recapitula las velocidades máximas de producción de CO_2 observada sobre una centena de mostos procedentes de diferentes regiones vitícolas francesas.

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

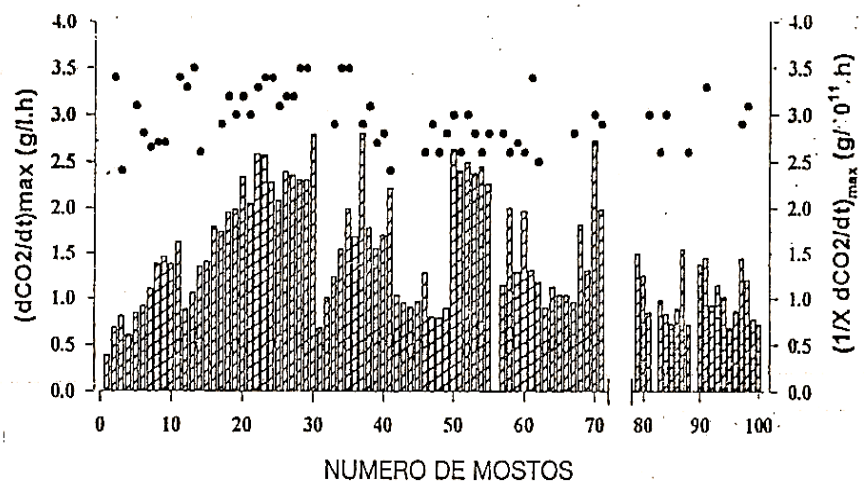


Figura 6. Variabilidad, según los mostos, de la velocidad máxima de producción de CO_2 (□) y de la velocidad específica de CO_2 (●), a 24 ºC de temperatura

Esta gran variabilidad se debe sobre todo a las diferencias de contenidos en N asimilable de los mostos (Figura 6): sobre este mismo muestreo, estos contenidos están comprendidos entre 53 y 444 mg L^{-1}.

Se constató, en cambio, que la velocidad específica máxima (proporcional a la actividad fermentativa máxima de las levaduras) varía poco (Figura 6). Así pues, sobre todo cambia el número de levaduras y no la actividad específica máxima de cada célula (Bely y col., 1990a)

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, medidas hechas durante 6 años sucesivos muestran que la media de los valores de $(dCO_2/dt)_{máx.}$ de los mostos procedentes de 6 parcelas diferentes varía entre 0,73 g L^{-1} h^{-1} en 1995 y 1,35 g L^{-1} h^{-1} 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, $(dCO_2/dt)_{máx.}$ varía solo entre 1,8 y 2,22 g L^{-1} h^{-1} y la duración de la fermentación queda comprendida entre 102 y 132 horas (Bely y col., 1990a).

Efecto de la temperatura:

La temperatura influye de manera muy importante sobre la cinética fermentativa. Así, entre 15 y 25º C, en régimen isotérmico, la velocidad de fermentación es el doble cuando la temperatura es superior en aproximadamente 8 ºC (Bely y col., 1990a).

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. En la Figura 7 (Sablayrolles y Barre, 1993) se compara la evolución de la velocidad de producción de CO_2 entre una fermentación conducida a 24 ºC y una fermentación comenzada a 18 ºC y cuya temperatura evoluciona libremente hasta 24 ºC. Se aprecian diferencias importantes entre el régimen isotérmico y el no isotérmico. 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).

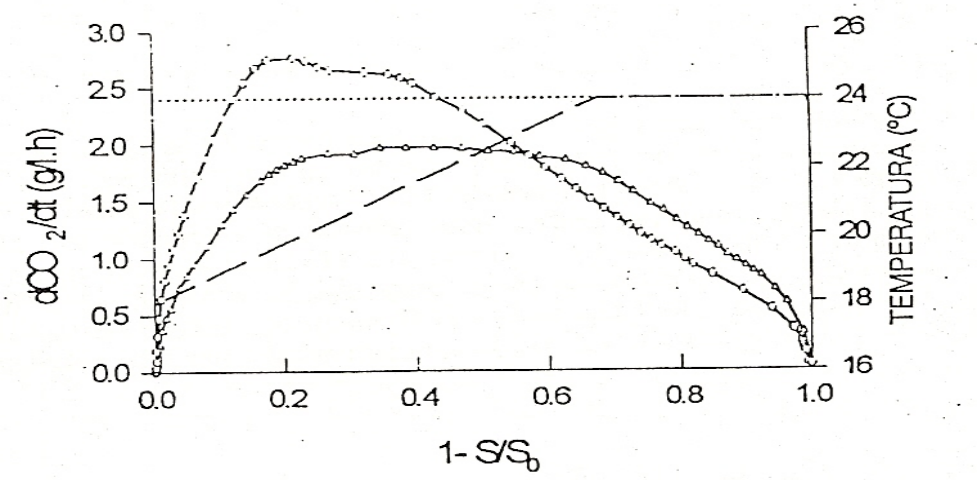


Figura 7 Efecto de la temperatura sobre la cinética fermentativa

- comparación entre el régimen isotermo (…y O) y un régimen no isotermo (- - - y Δ)
- S : concentración instantánea de azúcar
- S_o : concentración inicial de azúcar

Por otra parte según Coleman et al., (2007) al final de la fermentación, aunque la temperatura y el grado de avance de la reacción (proporcional a la cantidad de CO_2 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 se 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.

1.4. Elaboración de vino blanco

Las operaciones unitarias que se utilizan para elaborar vino blanco seco con *Vitis vinífera* y *S. cerevisiae* fueron consideradas como referencia para el desarrollo tecnológico con uvas no viníferas, y será necesario determinar experimentalmente el rendimiento de cada operación.

Existe una gran diversidad de tipos de vinos blancos, tipos que responden normalmente, a los gustos de los consumidores. Así pueden clasificarse:

a) según su aroma: aromáticos o neutros

b) según su contenido de azúcar: secos, abocados o dulces

c) según su contenido en anhídrido carbónico: tranquilos o espumosos

d) según su estado oxidativo: frescos y frutados o maderizados.

Cada uno de estos tipos responde a la aplicación de tecnologías diferentes y sus calidades dependen de los cuidados que se hayan observado en la elaboración.

Debido al avance de los conocimientos, y al control de cierto número de operaciones tecnológicas (prefermentativas, fermentativas y postfermentativas), tradicionales o no, se ha podido asegurar en la elaboración un control y una eficacia real. A cada tipo de vino le corresponde una adaptación de la técnica de vinificación. En la elaboración de este tipo de vino blanco, el objetivo general del vinificador consiste, en el transcurso del trabajo de la uva, en limitar al máximo los intercambios entre el mosto y las partes sólidas de la vendimia.

1.4.1. La fase prefermentativa

En vinificación en blanco, la optimización de la fase prefermentativa, que está consagrada a través del trabajo de la uva a la obtención de un mosto de calidad, pasa por una gestión razonada de los intercambios entre este mosto y las partes sólidas de la uva. (Delteil y Lozano, 1995a)

La extracción del mosto

Como el vino blanco procede únicamente del zumo de uva, las operaciones de extracción de este zumo tienen una importancia muy especial. En efecto, del buen manejo de las operaciones de extracción (que se deben manejar, además, rápidamente desde el momento del aporte de la uva a la bodega) depende en gran medida la calidad final del vino. Todo en la uva no es bueno, como para que sea extraído. Es indispensable, a través de una elección rigurosa, conseguir una extracción de los componentes útiles para la calidad del mosto, y al mismo tiempo de limitar los considerados como negativos para esta calidad.

El estrujado

La uva sufre en primer lugar el estrujado, que consiste en reventar la uva para liberar el jugo de las células de la pulpa. Este estrujado, que se realiza haciendo pasar la uva entre dos cilindros muy próximos y que giran en sentido contrario, se debe de aplicar con intensidad moderada con el fin de limitar toda trituración inútil de la uva, lo que puede entrañar cierto número de efectos negativos que se desarrollan posteriormente (degradación de los aromas, aumento de las tasas de fangos). En algunos casos se suprime el estrujado, concretamente en la elaboración de la mayor parte de los vinos espumosos de calidad. En vinificación en blanco, frecuentemente no se practica el despalillado, ya que los raspones juegan un papel de soporte de drenaje durante la realización del prensado, facilitándose así el escurrido del mosto. Sin embargo, en algunos casos de vinificación, incluso para cepas consideradas como neutras (Ugni blanc, o Trebbiano toscano, por ejemplo), se realiza un estrujado sin trituración y un despalillado bien cuidadoso. El objetivo

es evitar la extracción de compuestos de los raspones, pero igualmente se trata de liberar ciertos compuestos de la pulpa y de los hollejos, que favorecen el desarrollo de sensaciones en boca de redondez y de tipo carnoso.

El escurrido

El escurrido consiste en la separación del mosto liberado por el estrujado. Si es estático (escurrido en tolva, escurrido espontáneo durante el llenado de la prensa) o dinámico (de tipo tornillo sin fin inclinado), debe ser rápido con el fin de limitar la intensidad de los fenómenos de maceración y de oxidación. En el caso del escurrido dinámico, se debe realizar con precaución con el fin de limitar al máximo una trituración inútil de la vendimia que pueda dar lugar al aumento de los fangos. Se aconseja en este caso el empleo de tornillos sin fin de gran diámetro que giren lentamente.

El prensado

Realiza la extracción del mosto contenido en la vendimia estrujada y escurrida. De acuerdo con lo indicado anteriormente, esta operación, de importancia capital para la calidad de los mostos y los vinos (Blouin, 1989), se debe realizar con el mayor de los cuidados. Presión de débil intensidad, movimientos de la vendimia (removidos) limitados, selección rigurosa del mosto obtenido, constituyen los elementos clave de un prensado de calidad (Terrier y Blouin, 1975), siendo uno de los mejores ejemplos que se puedan citar el prensado «champenois» (Hardy, 1990, 1991; Pemod y Valade, 1995). Hoy en día la evolución de los equipos, a través de la difusión cada día mayor de las prensas discontinuas neumáticas, conduce de manera clara a la extracción de mostos de calidad, marginándose las prensas de tipo continuo. La degustación de los mostos ayuda a elegir el nivel de fraccionamiento de los mismos. En el momento en que aparece la dureza en boca, el mosto debe ser separado y a veces tratado en la clarificación. Desde este punto de vista, la polivinilpolipirrolidona (PVPP) es el producto que respeta mejor los equilibrios de estas fracciones de mosto de prensa tratados específicamente.

El sulfitado

Desde su obtención, el mosto recibe tradicionalmente una adición de dióxido de azufre ($S0_2$). Es la operación de sulfitado, que se realiza con un triple fin: proteger el mosto de la oxidación por el oxígeno del aire; seleccionar el medio fermentativo eliminando los microorganismos indígenas presentes de forma natural en el mosto y preparar la clarificación estática del mosto cuando se someta al mosto a esta operación.

El sulfitado como protección del mosto frente a las oxidaciones

Desde la ruptura de la compartimentación celular durante el estrujado y el prensado, la disolución del oxígeno del aire en el mosto es el origen de la oxidación de diversos compuestos. Esta oxidación, de compuestos fenólicos y de ácidos grasos, es tradicionalmente considerada como perjudicial para la calidad. El SO_2 por sus propiedades particulares, ejerce una acción de protección frente a esta oxidación: por un lado, inactiva, con distinto grado pero que puede llegar a su destrucción, las enzimas de oxidación que están presentes de manera natural en el mosto (Kovac, 1979; Macheix y col., 1991); y por otro lado, como es fácilmente oxidable, asegura una protección frente a otros compuestos (Usseglio-Tomasset, 1989).

La eficacia anti-oxígeno del sulfitado es función de varias condiciones. La primera es la rapidez de la operación. En efecto, la adición de $S0_2$, a un mosto que consume oxígeno, no implica inmediatamente la parada de este consumo. Como ha demostrado Dubernet (1984), esta parada tiene lugar después de un cierto tiempo de latencia. Este es función en particular de la dosis de $S0_2$ añadido, de la velocidad inicial de consumo de oxígeno por parte del mosto, del estado sanitario de la uva, y del pH del mosto. La segunda condición es la de una adición con dosis suficiente. En este sentido, con el objeto de conservar una concentración eficaz de $S0_2$ libre, forma que posee el poder anti oxígeno (Schopfer y Aerny, 1985), se efectúa generalmente una adición del orden de 3-4 g de $S0_2$ total por hl en el caso de mostos de uvas sanas, dosis que se aconseja doblar en el caso de presencia importante de uvas podridas en la vendimia. Por último, la tercera condición se refiere a la exigencia de una buena homogeneización del $S0_2$ añadido al mosto. Se tienen otros procedimientos para proteger el mosto contra la oxidación: trabajo de la uva bajo atmósfera de gas inerte (Poitout, 1973; Weber y col., 1975; Ribéreau-Gayon, 1981; Martiniere y Sapis, 1997), adición de ácido ascórbico y de ácido tartárico en asociación con el $S0_2$ (Blouin, 1993), refrigeración del mosto, y tratamientos térmicos.

El sulfitado como medio de selección del medio fermentativo

De una forma general, el anhídrido sulfuroso ejerce, frente a los microorganismos presentes en el mosto de forma natural, una acción antimicrobiana. Es una fracción particular del $S0_2$ la que posee este poder, la fracción no ionizada, o $S0_2$ molecular como se denomina todavía por lo anterior como $S0_2$ activo, siendo la acción antiséptica proporcional a la concentración de esta forma de $S0_2$. Según las especies y las cepas, las levaduras pueden reaccionar de forma diferente frente al anhídrido sulfuroso molecular. Las más sensibles son en general las especies aerobias, *Pichia, Candida, Hanseniaspora* (Usseglio-Tomasset, 1989), que son especies de interés enológico limitado. Las bacterias son más sensibles al $S0_2$ que las levaduras, en particular

las bacterias acéticas.

El sulfitado permite, pues, a través de la eliminación de cierto número de microorganismos no deseables, una selección eficaz del medio fermentativo, que se completa especialmente con la adición al mosto de levaduras seleccionadas, logrando una mejor eficacia de esta adición y, por lo tanto, un mejor desarrollo de la fermentación alcohólica posterior.

El sulfitado y la clarificación de los mostos

A las dosis que se utilizan normalmente, el dióxido de azufre inhibe temporalmente la actividad de las levaduras, lo que implica un retardo más o menos importante del comienzo de la fermentación. Durante este período el mosto puede decantar sus materiales en suspensión, lo que conduce a una clarificación natural.

La reglamentación relativa a la adición de este producto es estricta en particular, la limitación es cada vez más estricta en lo que se refiere a la dosis máxima autorizada que actualmente es de 210 $mg.L^{-1}$ para los vinos secos (menos de 5 g azúcares L^{-1}) y 150 mg L^{-1} para los vinos secos comunes. En estas condiciones, el sulfitado del mosto se debe limitar a lo estrictamente necesario para alcanzar los tres objetivos anteriormente citados.

Además, ciertos compradores, en el marco formalizado de su certificación ISO 9002, imponen a sus suministradores de vino a granel un límite de 80 a 100 mg L^{-1}.

La clarificación

La clarificación en enología es la eliminación controlada de las materias sólidas (llamadas fangos) compuestas principalmente por restos de vegetales, que se encuentran en suspensión.

Se conoce la importancia de la clarificación de los mostos sobre las características de los vinos; se traduce normalmente en la mejora de la calidad organoléptica a través de la modificación del aroma fermentativo. Los vinos de mostos clarificados tienen un aroma secundario más fino, mejor calidad que los procedentes de mostos no clarificados.

Esto se explica por el hecho de que induce a las levaduras, por una parte, a la formación de concentraciones menores de alcoholes superiores y ácidos grasos volátiles, compuestos que intervienen negativamente en la calidad (Bertrand, 1981; 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, ver Tabla 3. (A partir de Bertrand, 1981).

Tabla 3. Incidencia de la clarificación de mostos en el contenido de volátiles

Sustancias volátiles en vinos	Mostos no clarificados* $mg.L^{-1}$	Mostos clarificados** $mg.L^{-1}$
Alcoholes superiores	360	209
Hexanol-1	1,42	0,73
Acetatos de alcoholes superiores	1,69	4,39
Ésteres etílicos de ácidos grasos	1,56	2,80

*Media de 3 muestras **Medias de 15 muestras

En este sentido, el empleo de pectinasas constituye, con unas dosis que varía entre 0,5 y 4 g hL^{-1}, un medio eficaz para conseguir mostos bien clarificados. Se pueden utilizar igualmente medios dinámicos, como las técnicas que hacen uso de la centrifugación o la filtración. En este último caso, la filtración con filtro rotatorio a vacío permite la clarificación más avanzada, aplicándose incluso a mostos con muchos fangos, o para filtración de los mismos fangos. Por último, una nueva técnica de desarrollo reciente, la flotación, que asegura la eliminación de los fangos hacia la parte superior de la cuba a clarificar gracias a un flujo ascendente de finas burbujas de aire o de nitrógeno, permite un clarificado eficaz, como la centrifugación, un trabajo en continuo (Trousseau y Chapron, 1991; Ferrarini y col., 1992; Davin y Sahraoui, 1993).

Actualmente, se considera que el clarificado ha de conseguir una turbidez comprendida entre 50 y 200 NTU (unidades de turbiedad nefelométricas) (Dubourdieu y Ollivier, 1989), valores a modular en función de la riqueza del mosto en nutrientes solubles para las levaduras (nitrógeno asimilable, por ejemplo), de la temperatura de fermentación y, desde luego, del tipo de vino a elaborar.

Adición de bentonita

La adición de bentonita, arcilla de tipo montmorillonita, tiene por objetivo la eliminación del exceso de proteínas que se encuentran en el mosto de forma natural. Estas juegan un papel importante de cara al parámetro de calidad que es la limpidez del vino; son susceptibles, en efecto, de provocar una turbidez, la quiebra proteica. El tratamiento del mosto, durante el trasiego del mosto clarificado (Ribéreau-Gayon y col., 1977b; Peynaud, 1984) o durante la primera mitad de la fermentación permite así una adsorción de las proteínas en la bentonita, y su eliminación del medio después de la fermentación. Las dosis de utilización, variable según los mostos y las calidades de bentonita, pueden variar de 60 a 100 g hL^{-1}. Trabajos recientes de Blouin y Peynaud (2002), han demostrado la incidencia negativa de las dosis elevadas de este

producto sobre la componente aromática varietal de los vinos. En los mostos de regiones mediterráneas, la adición de bentonita durante la fermentación permite limitar las dosis necesarias a unos 20 g hL^{-1} para la mayor parte de las cepas.

1.4.2. La fase fermentativa

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

Un buen arranque de 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 y por la otra suficientes nutrientes en el mosto para las levaduras. Pero, el clarificado provoca un empobrecimiento del medio en estos dos elementos. Incluso aunque se realice la fermentación de forma espontánea, por medio de levaduras indígenas de un mosto correctamente clarificado y se pueda perfectamente obtener un vino blanco de calidad, un buen control de la fermentación pasa necesariamente, por una adecuada adición de levaduras y nutrientes.

La adición de levaduras en forma de levaduras secas activas (LSA) es una práctica que se ha convertido actualmente en corriente. Estas levaduras seleccionadas, ofrecen numerosas ventajas al vinificar: población viable muy elevada desde el comienzo de la fermentación, mejor control de la calidad organoléptica de la flora microbiana, puesta en práctica fácil y rápida y ausencia de alteración de la calidad organoléptica del vino. Estas ventajas, sin embargo, están evidentemente condicionadas a una buena implantación de la cepa seleccionada, en relación con un aporte en cantidad suficiente (de 10 a 20 g hL^{-1}; 2 a 5.10^6 células mL^{-1}) como con la eliminación máxima de las levaduras indígenas susceptibles de entrar en competición con las cepas aportadas (Delteil y Lozano, 1995b). En lo que respecta al aspecto nutricional, la levadura tiene necesidad de una nutrición equilibrada para realizar el trabajo que el vinificador espera de ella. Es el mosto el que abastece a la levadura de todos sus nutrientes. Entre ellos, el nitrógeno es un elemento importante, indispensable en la síntesis proteica, y por lo tanto para la multiplicación y actividad óptima de las levaduras. Los contenidos del mosto en nitrógeno asimilable para las levaduras (nitrógeno amoniacal, aminoácidos libres, pequeños péptidos) podrán variar según la cepa, el estado de madurez (cuanto más avanzada está menor es la tasa de nitrógeno) y el año.

Un buen desarrollo de la fermentación alcohólica debe conducir a dos resultados principales: por

una parte, al 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 condiciones podrán ser cumplidas por una elección adecuada de la cepa de levadura y de las condiciones de desarrollo de esta misma levadura.

En lo que respecta a la calidad del aroma fermentativo, factor de calidad particularmente importante en los vinos blancos secos de tipo tecnológico, se conoce desde hace tiempo la incidencia de la cepa de levadura, tanto de la cepa misma, como de sus condiciones de desarrollo. Las cepas más alcohógenas, especialmente *S. cerevisiae* y *S.bayanus,* son las que sintetizan mayores cantidades de ésteres superiores (Bertrand, 1980), que juegan un papel positivo en la calidad del aroma secundario. Por otro lado, recientemente, ciertos ensayos han puesto en evidencia la acción de las levaduras sobre el aroma primario procedente de la uva, algunos de cuyos precursores se revelan olfativamente durante el transcurso de la fermentación (Delteil y Jarry, 1992, 1993; Dubourdieu y Darriet, 1993; Tominaga y col*.,* 1995). Con el objetivo de optimizar la calidad del aroma fermentativo, se sabe desde hace tiempo que es necesario manejar la fermentación a baja temperatura. En efecto, dentro del intervalo comprendido entre 15 y 20 °C (Bisson y col*.,* 1980; Bertrand y Miele, 1984), según unos perfiles que pueden ser variables (Gerbaux y Naudin, 1991; Poupault y Cuinier, 1992; Naudin y Gerbaux, 1994; Meistermann y col.,1995) las levaduras forman, por una parte, menos alcoholes superiores (cuyo impacto organoléptico es negativo) y por otra, más acetatos de alcoholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos cuyos aromas florales y afrutados intervienen agradablemente en el aroma secundario de los vinos blancos (ver Tabla 4). Siendo la fermentación alcohólica, como se sabe, un fenómeno exotérmico, la regulación de la temperatura de fermentación será, en la mayoría de los casos, indispensable para mantener el mosto en fermentación en el intervalo térmico deseado.

Tabla 4. Incidencia de la temperatura de fermentación en la formación de volátiles en vinos (Según Bertrand, 1981)

Sustancias volátiles en vino	7 ºC	13 ºC	30 ºC
Alcoholes superiores	385	394	208
Acetatos de alcoholes superiores	17,35	18,07	2,60
Esteres etílicos de ácidos grasos	4,02	5,22	1,69

En ciertos mercados, la tendencia es a elegir cepas de levadura que producen menos alcoholes

superiores así como menos acetatos de alcoholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos.
El objetivo es aportar así aromas más dulces y más apreciados que a mostos naturales bastante neutros. Con estos aromas, los vinos adquieren aromas del tipo fruta confitada, como los vinos blancos procedentes de uvas maduras y bien concentradas. En algunos tipos de vinos, estos aromas se prefieren ahora mejor que los olores florales como los que comunican los acetatos de alcoholes superiores, percibidos como más «químicos».
Un buen seguimiento analítico de la fermentación es indispensable para asegurar el desarrollo en unas condiciones óptimas: seguimiento de la evolución de la densidad y de la temperatura del mosto, determinación de la acidez volátil en caso de bajar la rapidez o parada de fermentación, y determinación de los azúcares fermentables residuales al final de la fermentación.
Cuando la fermentación alcohólica se ha terminado, el vino se separa de sus lías. Es la operación de trasiego. En esta etapa, en algunos casos, puede intervenir la fermentación maloláctica. En este caso, el sulfitado del vino no se realiza inmediatamente para permitir que este proceso intervenga en los vinos muy ácidos, que se desean así suavizar biológicamente. Si esta fermentación maloláctica no es deseada, con el fin de conservar en el vino su acidez y su frescura organoléptica, se procede entonces a un sulfitado.

1.4.3. La fase postfermentativa

Tras el fin de la fase de fermentación, es indispensable asegurar al vino una buena conservación. Especialmente se han de evitar dos riesgos: el contacto con el oxígeno del aire, por un lado, y el mantenimiento del vino de forma prolongada a temperaturas elevadas, por otro.
El oxígeno puede ser fuente de alteraciones diversas. En primer lugar, de orden microbiológico debido al desarrollo de las levaduras de contaminación del tipo levaduras de «flor». Se desarrollan formando un velo, en la superficie del vino, mediante la oxidación del etanol en etanal, generando aroma y gusto, desde el punto de vista organoléptico negativos. Las contaminaciones bacterianas pueden ser también la causa de alteraciones. El caso más conocido es el «picado acético» que implica un aumento de la acidez volátil, alteración especialmente grave de la calidad del vino. Este puede ser también un foco de alteraciones de origen bioquímico. En los vinos blancos secos de mostos de uvas atacadas de podredumbre gris, ya que la lacasa (polifenoloxidasa de *Botrytis cinerea*) es susceptible de provocar una «quiebra parda» que altera la presentación del vino a través de un pardeamiento del color, asociado muy a menudo a una alteración del aroma.
En todos estos casos, el sulfitado constituye un medio eficaz de protección del vino, a condición

de que la concentración de SO_2 libre sea suficiente (del orden de 20 a 30 mg L^{-1}). Es pues necesaria una verificación periódica de esta concentración, acompañada o no de un ajuste.

La buena conservación de la calidad del vino exige, por otra parte, un mantenimiento de temperaturas moderadas. Un exceso de temperatura degrada la calidad del vino y en particular de su aroma (Bertrand, 1980, 1981; Usseglio-Tomasset, 1983). Una conservación óptima de los vinos implica un almacenado entre 10 y 12ºC y sin contacto del aire.

1.5. Los efluentes vinícolas (Bluoin y Peynaud, 2004)

La producción de vino genera diversos efluentes que pueden participar en la degradación del medio ambiente. Los orígenes de los efluentes vinícolas son:

• Desechos vitícolas: hojas, raspones, semillas, pulpas vertidos junto con los orujos hacia las destilerías, ricos en azúcares y alcohol, taninos y potasio.

• Desechos de fermentaciones: levaduras y bacterias que constituyen las lías recuperadas para la destilación o evacuadas con las aguas de lavado, ricas en proteínas y tártaro.

• Productos enológicos: colas, clarificantes, productos filtrantes ricos en proteínas y materias inertes (tierras de filtración).

• Productos de limpieza, ricos en sodio y cloro.

Características generales de los desechos vinícolas

• Están totalmente desprovistos de toxicidad microbiológica directa o indirecta.

• Están totalmente desprovistos de toxicidad química.

• Son igualmente muy pobres en nitrógeno y en fosfatos.

• Los riesgos de toxicidad química accidental (ej.: productos de limpieza) son casi nulos puesto que los productos utilizados son poco peligrosos y muy diluidos al utilizarse.

• La cantidad y la naturaleza de los residuos son prácticamente constantes desde hace décadas.

• Los desechos vinícolas perturban el medio ambiente únicamente creando una fuerte «demanda química de oxígeno» (DQO). Esta DQO consume el oxígeno con producción de gas carbónico que corresponde a la oxidación de la materia orgánica casi únicamente carbonada procedente de las vinificaciones. Este consumo de oxígeno en los cursos de agua estancados puede dejarlos no aptos para la vida acuática. Los desechos anuales son muy variables pero oscilan alrededor de 1 litro de residuo por cada litro de vino elaborado, con intervalos que van de 0,5 a 5 (L/L). Estos residuos, expresados en volúmenes y/o en DQO están muy irregularmente repartidos a lo largo del año, con un máximo muy fuerte durante las vendimias, después los primeros trasiegos,

seguidos de periodos con muy escasas salidas. Diversos estudios han mostrado la importancia de los residuos de las principales operaciones que demandan incluso un cuidado particular.

1.6. Escalado de reactores químicos y biológicos (García Rodriguez y Rodriguez Rico, 2006)

Aunque los avances en modelación matemática y medios de computación permiten cada vez más una interrelación mayor entre el diseño y el escalado, algunos investigadores los delimitan, considerando que en el diseño se usan correlaciones bien establecidas y propiedades físicas estimadas o medidas, mientras que en el escalado se hace modificando un resultado medido por un factor que involucra, entre otras cosas, la relación de las dimensiones lineales del modelo y el prototipo. El problema del escalado es encontrar ese factor. La verdad sobre el escalado es casi imposible de encontrar pues la verdadera similitud no existe.

Por ello, para el intento de un escalado se combinan diferentes técnicas que van desde el análisis matemático hasta la comparación de las correlaciones existentes de los resultados obtenidos del modelo experimental, incluyendo los experimentos a escala pequeña. Los sistemas biológicos, por las características especiales que tienen, son tratados en forma especial.

Bisio (1995) y Trambouze (1989) plantean como principales métodos de escalado el principio de similitud, los modelos y "mockups" (escala demostrativa o modelo de tamaño real) y el modelado matemático.

Principios de similitud: este principio involucra las relaciones entre sistemas de diferentes tamaños. En el caso de un reactor químico esta similitud se representa generalmente por grupos adimensionales, que caracterizan los fenómenos del proceso y que permanecen constantes durante el escalado. El significado físico de estos grupos es una relación de constantes de tiempo para los diferentes mecanismos involucrados. Por eso, mantener grupos adimensionales constantes significa que la importancia relativa de los mecanismos involucrados no cambia durante el escalado.

En ingeniería química se utilizan generalmente tres tipos de similitudes:

• Similitud mecánica: Se requiere de las similitudes geométricas, cinemática y dinámica. Así, la geométrica exige que el sistema tenga la misma geometría en ambas escalas, la cinemática que las velocidades de los fluidos tengan una relación constante en puntos correspondientes de los dos sistemas, mientras que la similitud dinámica exige que las fuerzas creadas por o hechas sobre los fluidos mantengan una relación constante en puntos correspondientes de uno y otro sistema

• Similitud térmica: Se tiene en cuenta principalmente en sistemas en los cuales hay un flujo de calor de características importantes para el sistema.

• Similitud química: Para todas las reacciones químicas las temperaturas o perfiles de temperatura-tiempo deben ser las mismas en las industrias grandes y en las pequeñas. En sistemas homogéneos, los tiempos de reacción y las concentraciones iniciales deberán ser los mismos.

En sistemas heterogéneos, el producto del tiempo de reacción por el área de interfase de la unidad de volumen del reactor ha de ser el mismo para ambos.

Modelos y Mockups: han alcanzado gran desarrollo, sobre todo en sistemas muy complejos tales como los que incluyen reactores heterogéneos y catalíticos. Muy usados en las industria del petróleo.

Modelación matemática: implica la representación de un sistema físico por una serie de ecuaciones, las cuales (en una forma limitada) pueden representar el sistema bajo estudio en dependencia del nivel de descripción que se decida tomar. El modelo matemático es la implementación ideal para el escalado de un proceso.

Reactores químicos: durante la investigación y desarrollo de nuevos procesos químicos uno de los problemas que marca especial atención es el escalado de los reactores químicos.

Los principales métodos para el escalado coinciden con los descritos anteriormente y por supuesto como en todo escalado, ir directamente del laboratorio a la escala industrial es poco factible. En la práctica, el punto de partida se apoya en los resultados del laboratorio; el problema radica en lograr la misma efectividad en una escala superior e incluso mejorar los resultados. Debe apuntarse que en los últimos años la situación acerca del problema del escalado de los reactores químicos se ha ampliado, pues las investigaciones se han encaminado a determinar las distribuciones de tiempos de residencia y los modelos de flujo, así como los perfiles de velocidades y concentraciones en el equipo y su influencia sobre la velocidad global del proceso.

La experiencia acumulada ha permitido establecer que para el escalado es imprescindible realizar pruebas a una escala pequeña con el fin de obtener los datos necesarios.

El desarrollo y escalado de reactores químicos, sobre todo en las industrias farmacéutica y biotecnológica, requiere de especial atención debido a la amplia variedad de complejidades cinéticas que la misma involucra, y es por esto que las reglas generales para el escalado a veces son difíciles de aplicar a estos equipos de la industria química, no obstante se reportan algunos de los principios o criterios más usados para el escalado según Galindo (1996) son:

• Potencia del agitador/volumen constante: este criterio es apropiado cuando la tarea

fundamental es mezclar el líquido. Se considera como uno de los criterios más usados, sobre todo en procesos controlados por carga. El número de Reynolds se incrementa con el volumen acorde a P/V constante.

• Coeficiente de transferencia de calor constante: es apropiado cuando el problema fundamental en el reactor es la eliminación del calor generado por la reacción. Este criterio se fundamenta en igualar las ecuaciones del coeficiente de transferencia de calor para ambos sistemas. Para arribar al mismo coeficiente de transferencia de calor las facilidades de eliminación de calor deben incrementarse debido a que la generación de calor es proporcional a V_L/V_s, mientras que el incremento del área superficial de transferencia de calor solo se incrementa en $(V_L/V_s)^{2/3}$. En algunos casos el uso de un serpentín u otro dispositivo, adicional al reactor, contribuye a esto.

• Velocidad de cizallamiento constante: este criterio mantiene constante la velocidad en los extremos de los agitadores. Muy usado en sistemas gas-líquido.

• Número de Reynolds constante: el mismo trae como consecuencia una disminución drástica de casi todos los elementos que componen el sistema de agitación, por tanto deberán calcularse las consecuencias en el escalado, por haberse adoptado ese criterio.

Cuando se lleva a cabo una estrategia de escalado manteniendo constante una serie de parámetros, otros no pueden ser controlados y pueden cambiar sustancialmente de forma no esperada. Lo anterior puede provocar efectos indeseables sobre el rendimiento, el funcionamiento del biorreactor, los consumos de energía y requerimientos de aire, entre otros, según Bidan (1986).

Modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas

Según Marín (2000) 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 caracterizadas por una gran variabilidad y un mal conocimiento de la materia prima, es bastante delicada (Boulton, 2002).

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

-Bovée y col., 1984; que considera solamente las concentraciones de azúcar y etanol.

-El Haloui y col., 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 isotermas, 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 semi deterministas 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 enología (Insa y col., 2000).

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 (Colombié et al., 2007).

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

$A \xrightarrow{C} C + R$; A es el sustrato; C la levadura y R el 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, entonces se produce la multiplicación de los microorganismos, en este caso particular la levadura *S. bayanus*, 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 esta limitada por el sustrato, cuando en bajas concentraciones de azúcares, esta cesa espontáneamente al agotarse el medio (Ostergaard et al., 2002). Sin embargo, en otros casos, la actividad fermentativa puede estar inhibida por el mismo producto de fermentación. El etanol en concentraciones superiores al 12 % puede resultar tóxica para la *S. bayanus* y en consecuencia la actividad fermentativa también puede detenerse (Pretorius I.S., 2001).

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.

Según Colombié et al., (2005) 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.

Conclusiones parciales

1. Para elaborar vinos con uvas *Vitis viníferas* existe abundante información tecnológica pero es muy escasa para la vinificación con variedades no viníferas por lo que es necesario generar información científica y tecnológica.

2. No se ha encontrado en la literatura científica información sobre las características fisicoquímicas de las uvas de mesa *Niágara rosada* e *Isabella tinto* (variedades de *Vitis labrusca*) cultivadas en Misiones para ser utilizadas como materia prima en la elaboración de vino blanco común seco, por lo que es necesario caracterizarlas.

3. Hay abundante información tecnológica sobre *S. cerevisiae* conduciendo fermentaciones en condiciones enológicas pero no hay información tecnológica procesada con metodología científica sobre el desempeño de las levaduras autóctonas o *S. bayanus*, fermentando mostos de uvas no viníferas de Misiones cuando se elabora vino blanco común seco, por lo que es necesario realizar las vinificaciones para registrar y evaluar información tecnológica.

4. Se desconocen las características del vino blanco común seco elaborado a partir de uvas de mesa de Misiones con sus levaduras nativas o *S. bayanus,* y no se conoce si son aptos para el consumo humano, por lo que deben ser elaborados y analizados para constatar su aptitud para el consumo respecto de la legislación del Instituto Nacional de Vinicultura de Argentina.

5. Para la evaluación de los mostos, las levaduras y los vinos a escala laboratorio, es necesario incluir etapas tales como elaborar vino blanco seco para conocer las variables del proceso y

evaluarlas; determinar el desempeño de las levaduras nativas o de *S. bayanus* para conocer su potencial enológico; valorar la aptitud fisicoquímica de los vinos para el consumo humano y obtener un modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas para pronosticar el comportamiento tecnológico de la biomasa, el sustrato y del 50 % del etanol producido.

6. Para establecer un procedimiento tecnológico, evaluar el mismo en planta piloto y seleccionar el equipamiento estimar costos y rentabilidad a escala industrial, se requieren incluir etapas tales como: establecer un procedimiento tecnológico de vinificación en blanco para determinar un tamaño; evaluar una tecnología de elaboración en planta piloto para obtener los rendimientos globales y la duración de los procesos; proyectar un tamaño industrial para seleccionar un equipamiento tecnológico y realizar un análisis económico dinámico del proceso tecnológico proyectado para conocer su rentabilidad.

Capítulo II: Estudio de la vinificación en blanco a escala laboratorio para desarrollar la tecnología

2.1. Introducción

Para alcanzar los objetivos propuestos de acuerdo con las conclusiones del capítulo anterior se requiere la ejecución del procedimiento recomendado en etapas.

Etapa A: Elaboración de vino blanco seco a escala laboratorio

Las acciones investigativas fueron:

- Vinificar en blanco seco con mostos de *Isabella tinto* (IT).
- Vinificar en blanco seco con mostos de *Niágara rosada* (NR).

Etapa B: Evaluación de los parámetros de proceso de las vinificaciones

Las acciones realizadas con los valores de los parámetros registrados fueron:

- Aplicar análisis estadístico
- Comparar el desempeño de las levaduras nativas con la levadura *S. bayanus*

Etapa C: Modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas

La acción realizada para simular la fermentación a partir de la biomasa conocida de *S. bayanus* y la evolución del consumo de glucosa en el mosto de IT, presente en cantidades similares a la fructosa y justificar la producción del 50% del alcohol total obtenido fue:

- Aplicar las ecuaciones de un modelo logístico y resolver por el método de regresión no lineal de Newton

Etapa D: Verificación de la aptitud de los vinos para el consumo humano

Las acciones realizadas fueron:

- Analizar los vinos desde el punto de vista fisicoquímico
- Constatar los resultados de los análisis con las exigencias del Instituto Nacional de Vitivinicultura de Argentina (INV)

2.2. Materiales y métodos

Se ha elaborado un diagrama heurístico para desarrollar la investigación en etapas (Anexo 28)

2.2.1. Etapa A: Elaboración de vino blanco seco a escala laboratorio

Las uvas elegidas para el estudio fueron las variedades de *Vitis labrusca: Isabella tinto* y *Niágara rosada.* La cosecha se inició el 20/12/2006 en el viñedo del lote 39-40 de la localidad de Andrade y el 23/12/2006 en el viñedo del lote 137 de la localidad de Cerro Azul para recolectar las uvas NR e IT respectivamente (Anexo 8).

Estas localidades misioneras se encuentran ubicadas a 27º39` de latitud Sur y 55º26` de longitud Oeste, a una altura media de 285 m sobre el nivel del mar. Los viñedos tienen una densidad de 1.904 plantas ha^{-1}, utilizan porta injertos Paulsen 1103 y se sustentan con parral sudafricano en Y. El clima de la región es húmedo subtropical mesotermal sin estación seca, con temperaturas medias anuales entre 20-22 ºC. En los últimos 5 años, los promedios de precipitaciones varían entre 1.600 y 2.200 mm $año^{-1}$, la media anual de la humedad relativa ambiental es del 75±5% (INTA, 2007).

La cosecha que se inició en diciembre del 2006 tuvo una producción baja en NR debido a las condiciones climáticas en la región (Bakos, 2007).

Microorganismos

Los microorganismos utilizados fueron: levaduras autóctonas y levaduras *S. bayanus*.

- Las levaduras nativas: utilizadas fueron las que trae naturalmente la piel de las uvas IT y NR cultivadas en la provincia de Misiones.
- *Saccharomyces cerevisiae* (variedad *bayanus):* fue la levadura enológica seleccionada como referencia. Cepa de caraterísticas killer. Proveedor Anfiquímica S.L. Origen: España. Cepa

Ficha técnica: OE_L_ES_VR44. Rendimiento alcohólico 16,5 $g.L^{-1}$ por 1 % alcohol v/v. Fermentación: 12-35ºC. Poder alcoholígeno: 16 % alcohol v/v. Características metabólicas: baja producción de: acetaldehído (30 mg L^{-1}), de acidez volátil (0,24 g L^{-1}) y de espuma.

Aditivos

- Solución de metabisulfito de potasio al 10 % p/p
- Fosfato de amonio al 5 % p/p
- Enzimas Pectolíticas: proveedor Lafazym CL. Origen: España.

Ficha técnica: preparación enzimática (pectinasa) producida por fermentación inmersa de cepas seleccionadas de *Aspergillus niger* y de *Aspergillus aculeatus*. El soporte está constituido por maltodextrina (88%) y citrato de sodio E330 – E331 (0,6%). La preparación es un producto natural que no contiene conservantes añadidos. Propiedades: Preparación enzimática concentrada y purificada (actividades secundarias controladas) destinada al desfangado de mostos y a la clarificación de vinos blancos o rosados. Permite reducir los tiempos de encubado y disminuye la turbidez y viscosidad. Dosis: 1-2 g hL^{-1}.

Cosecha: 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 debido a que los factores condicionantes del aumento de azúcares y disminución de los ácidos durante la maduración de las bayas, son independientes. La madurez se calcula con los índices de Cillis-Odifredi y el Van Rooyen-Ellis-Du Plessi. (INTA, 2009)

Determinaciones:

Sólidos solubles totales (SST) medidos *(en ºBrix):* se determinó utilizando un refractómetro con compensación automática de temperatura a 20 ºC (Atago, modelo Master-T Japón).

El ºBrix representa al (% g/g sacarosa/mosto); se pueden calcular también con la fórmula:

$$^{o}Brix = 261,3 - 261,3\ (p.e._{20/20^{o}C})^{-1}$$ (Boulton y col. 2006).

pH: se midió con un potenciómetro comercial calibrado con solución patrón a pH 4. Se puede calcular con la fórmula: $pH = - \log (H^{+})$; donde (H^{+}) son: moles H^{+} L^{-1} solución (Chang, 2002).

Peso (en g) y volumen (en mL) de las bayas: se recolectaron 200 bayas sanas por muestra sin pecíolo, previamente se lavaron y secaron con toalla de papel. El volumen se determinó por desplazamiento de líquido sumergiendo 200 bayas secas en una probeta graduada de 1.000 mL. Calculándose luego en volumen medio de las bayas. Se pesó con una balanza Marca Pocket, modelo TH 500; capacidad 500±0,1 g., se calculó el peso medio. (INV, 2005)

Densidad del mosto (en g L^{-1}): se midió con un densímetro-mostímetro marca MIV, industria argentina. Tolerancia ± 0,05.

Rendimiento de las bayas (en % p/p): se prensó la uva manualmente y se filtró. Se midió el volumen y la densidad del mosto extraído en una probeta graduada de 1.000 mL. El rendimiento se calculó en % (kg mosto/kg uva). (Bordeau, 2006)

Azúcares reductores (en g L^{-1}): se determinó utilizando dos métodos:

-Por titulación con el método del Licor de Felhing-Causse-Bonnans. La glucosa y fructosa son capaces de reducir las soluciones de cobre (Cu), mercurio (Hg) o bismuto (Bi), en medio fuertemente alcalino y en caliente. Tolerancia: para valores < 20 g L^{-1} es de ± 0,3 g L^{-1} y para valores > 20 g L^{-1} es de ± 10%.

-Por refractometría con un refractómetro de mano marca Arcano. Escala de 0-32 ºBrix; tolerancia ± 0,2 y compensación automática de temperatura. (Pszczolkowski, 2006)

Alcohol (en % v/v): se utilizó el método del densímetro-alcohómetro. El etanol separado de la muestra por destilación es medido con un alcoholímetro de marca MIV industria argentina. Tolerancia ± 0,05 % v/v. (INV, 2004)

Acidez total en ácido tartárico (en g L^{-1}): se midió por titulación con hidróxido de sodio (NaOH) y azul de bromotimol como indicador. Tolerancia ± 0,2 g L^{-1}. (INV, 2005)

Acidez volátil en ácido acético (en g L^{-1}): se eliminó el CO_2 de la muestra y se midió por titulación del destilado con NaOH (fenoftaleína como indicador). Tolerancia ± 0,2 g L^{-1}. (Pszczolkowski, 2006)

Anhídrido sulfuroso libre y total (en mg L^{-1}): se midió por titulación con el método de Rippert. El SO_2 libre es oxidado por la acción del Iodo en medio ácido. El SO_2 combinado con diversas sustancias es liberado por la acción del KOH para luego ser oxidado por el Iodo en medio ácido. Tolerancia: ± 35 mg L^{-1} (Pszczolkowski, 2004).

Temperatura (en ºC): se midió con un termómetro de alcohol (-10 a 110±0,01ºC) (INV, 2005)

Temperaturas seleccionadas para estudiar las vinificaciones en blanco

Después de evaluar la opinión de:

Blouin y Peynauld (2006) que sugiere entre 18-22 ºC.

Bordeau (2006) que sugiere entre 15 y 30 ºC.

Boulton y col. (2002) que sugiere entre 18 y 24 ºC.

Díaz Peralta (2005) que sugiere entre 18 y 25 ºC.

La temperatura más baja sugerida fue 18ºC y la más alta 30 ºC, para la investigación a escala laboratorio de vino blanco seco fueron seleccionadas: 18, 22, 24, 26 y 30 ºC.

Actividad fermentativa (AF)

El mosto de uva se caracteriza por tener una alta concentración de azúcares fermentables (140 a 260 g azúcar L^{-1} mosto), según el grado de madurez, repartidos en glucosa y fructosa en cantidades equivalentes. La actividad fermentativa se calculó con la fórmula:

AF = (g azúcar fermentado / duración de la fermentación) (Bordeau, 2006)

Rendimiento fermentativo (RF)

El rendimiento fermentativo se calculó con la fórmula:

RF = (g azúcar inicial / ºAlcohol obtenido) (Bordeau, 2002)

Poder fermentativo (PF)

El etanol representa el producto principal de la fermentación alcohólica, y puede alcanzar concentraciones extracelulares de hasta 14 % (v/v) de etanol en fermentación normal.

Es corriente admitir que la síntesis de 1 grado de etanol (1 % v/v) en fermentación alcohólica representa un consumo comprendido entre 16,5-17 g de azúcares reductores L^{-1} de mosto.

El poder fermentativo se calculó con la fórmula:

PF = [(ºAlcohol obtenido) (ºAlcohol esperado)$^{-1}$] 10^2 (Bordeau, 2007).

Recuento de levaduras (en levaduras mL^{-1}) la técnica utilizada fue la Cámara de Neubauer. Se colocaron gotas de la muestra en la cámara (previa dilución con agua destilada). La cámara tenía 16 áreas (de 16 mm^2 y 1,6 mm^3 c/u). Con ayuda del microscopio se seleccionaron 4 áreas de las 16, cada área contenía a su vez 16 subáreas (de 1 mm^2 y 0,1 mm^3 c/u); se observaron 5 subáreas con microscopio, se realizó el recuento y se promedió el resultado. (INV, 2005)

Generaciones de levaduras

Se tomó como generación 1 a la población de levaduras en el mosto al inicio de la fermentación y se utilizó para el cálculo la ecuación: $B = A\ t^{n}$ de Bordeau, (2004); donde: t (en horas) es el tiempo de generación de una levadura en mostos de uva (~ 2 horas) y n es el número de generaciones, B es la población final y A es la población inicial.

Índice Cillis-Odifredi (ICO) [en (ºBrix) (g/L ácido tartárico)$^{-1}$]

Se calculó con la fórmula: $ICO = (SST)\ (\text{acidez total})^{-1}$ (Boulton y col. 2006)

Índice Van Rooyen-Ellis-Du Plessi (IVR) (en ºBrix pH)

Se calculó con la fórmula: $IVR = (SST)\ (pH)$ (Pszczolkowski, 2002)

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico Statgraphic Plus® para Windows 1993, versión 5.1 Statistical Graphics Corporation. Los estadígrafos de prueba aplicados fueron el test de Fischer para confirmar hipótesis de variancias iguales para $\alpha = 0,05$, y el test t de Student para comparar las medias con varianzas iguales para un nivel de confianza del 95%. (Area, 2004)

Inóculos de las fermentaciones

Para comparar las variables del proceso y la evolución de las poblaciones de levaduras nativas respecto de *S. bayanus,* a lo largo de las fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas, se inocularon cantidades similares de levaduras y se iniciaron simultáneamente todas las fermentaciones a las temperaturas seleccionadas, en triplicado.

Levaduras nativas: se prensaron 2 kg de uva *Isabella tinto* con piel (sin escobajo) y se le adicionó 1 g hL^{-1} de fosfato de amonio (coadyuvante de fermentación alcohólica).

Fermentó espontáneamente durante 2 días; luego se tomó (sin piel) 3 % v/v del pie de cuba y se inoculó a 2 L de mosto *Isabella* preparado. (Martinez Vazquez, 2006).

Levaduras S. bayanus: Las levaduras se agregaron al mosto en dosis de 1 g hL^{-1} previamente hidratadas y reactivadas con agua destilada a 37 ºC durante 30 min. (Pszczolkowski, 2006).

Vino blanco seco en el laboratorio (Miño Valdés, 2011)

Debido a la escasez de uvas NR en diciembre/2006 solo se vinificó a 24 ºC mientras que la uva IT alcanzó para elaborar a 18, 22, 26 y 30 ºC. En enero de 2007 la uva NR fue suficiente para continuar con los estudios en planta piloto.

Elaboración**:** (Pszczolkowski, 2002) (Miño Valdés, 2011)

Se prepararon series de 5 kg de viñedo por cada muestra a vinificar, cada serie fue recepcionada, pesada, despalillada y prensada hasta obtener 2,5 L de mosto. Se agregó al mosto 3 g hL^{-1} de anhídrido sulfuroso (solución de metabisulfito de potasio al 10%) y 2 g hL^{-1} de enzimas pectolíticas. Los envases se obturaron con válvula de agua y se dejaron decantar por 24 h para producir la clarificación del mosto.

Al cabo de este tiempo, se separaron 0,5 litros de borra, obteniéndose 2 L de mosto listos para vinificar. Se utilizaron envases permitidos de 2,5 L c/u.

Simultáneamente a cada temperatura seleccionada se inoculó con levaduras nativas 3 muestras y con *S. bayanus* otras 3.

A cada mosto se le adicionó 1 g hL^{-1} de fosfato de amonio (coadyuvante de fermentación alcohólica).

Los envases se mantuvieron obturados con válvula de agua para producir condiciones de anaerobiosis. Se iniciaron simultáneamente todas las fermentaciones en cámara isotérmica.

La vinificación finalizó cuando la densidad se mantuvo constante 2 días consecutivos y el azúcar residual fue < 2 g L^{-1} (vino seco).

A cada envase con vino seco se adicionaron 6 g hL^{-1} de SO_2 (para favorecer el desborre, mantener la acidez, detener la fermentación maloláctica, evitar oxidaciones, inhibir desarrollo de bacterias y mohos, mejorar el color y aromas, inactivar la tirosinasa y lacasa).

Los vinos se guardaron en posición vertical a 0 ºC en una cámara refrigerada durante tres semanas (para su clarificación por decantación de gomas, mucílagos, tartrato de Ca, bitartrato de K, levaduras y partículas vegetales); la borra formada fue separada.

El vino se trasegó a botellas limpias y desinfectadas de 750 mL c/u. Se corrigió el SO_2 libre llevándolo a 35 mg L^{-1} de vino para su conservación.

Se obturaron los envases con corchos cilíndricos y se almacenaron 3 meses en posición horizontal a 0 ºC (para estabilizarlos); transcurrido este tiempo se analizaron los vinos obtenidos.

En la Figura 8 se presenta el diagrama de flujo de las operaciones que se llevan a cabo en las vinificaciones isotérmicas a 18, 22, 24, 26 y 30 ºC en el laboratorio.

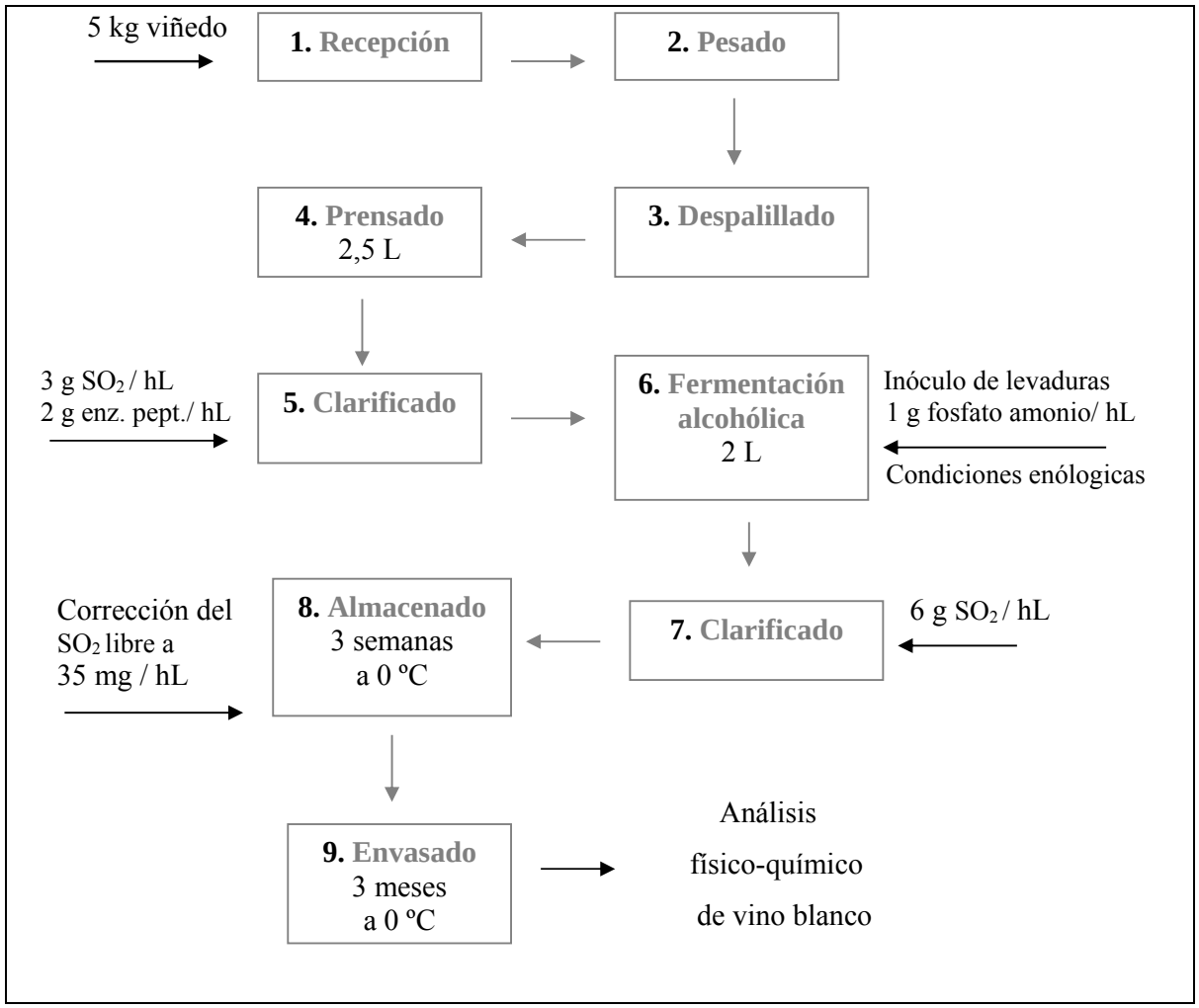


Figura 8. Diagrama de flujo para la elaboración de vino blanco común seco en el laboratorio **Fuente:** Elaboración propia

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Etapa A: Elaboración de vino blanco seco a escala laboratorio

En esta etapa se presentan los resultados de los valores de los parámetros indicadores de proceso en función del tiempo, para la elaboración de vino blanco seco a 18, 22, 26 y 30 ºC con IT y a 24 ºC con uva NR (por escasez de fruta en diciembre/2006). A cada temperatura se utilizaron 3 muestras inoculadas con levaduras nativas y otras 3 muestras sembradas con *S. bayanus*. Todas las vinificaciones a diferentes temperaturas, levaduras y mostos se iniciaron simultáneamente.

En la Tabla 5 se presentan las características físico-químicas de la uva IT para utilizar como materia prima de las vinificaciones en laboratorio.

Tabla 5. Características fisicoquímicas de la uva *Isabella Tinto* de Misiones

Parámetros (a 20 ºC)	**Valores** (medios)
Isabella Tinto	Sin número de registro (INV, 2006)
Fecha de cosecha	23/12/2006
Color	Negro azulado
Peso de 200 bayas	559 g
Peso medio de 200 bayas	2,79 g baya^{-1}
Volumen de 200 bayas	410 mL
Volumen medio de 200 bayas	2,05 mL baya^{-1}
Peso del mosto de 200 bayas	290 g
Rendimiento de extracción	51,8 % (g mosto/g uva)
Densidad del mosto (a 15 ºC)	1.074 g mosto L^{-1} mosto
SST	17,8 ºBrix
Contenido de azúcares en el mosto	168 g azúcar L^{-1} mosto
[a]Grado alcohólico probable (en vino blanco)	9,9 % (v/v)
[b]Acidez total (en ácido tartárico)	6,1 g ácido tartárico L^{-1} mosto
[c] pH	3,45
[d] ICO	2,8 [ºBrix (g/L ácido tartárico)$^{-1}$]
IVR	61,43 (ºBrix . pH)

[a] Valor obtenido de la Tabla 3 de Pszczólkowski (2006)
[b, c] Valores apropiados para variedades de *Vitis vinifera* durante las fermentaciones.
[b] Entre 5,5 y 8,5 según Jackson (2000); [c] Entre 3,1 y 3,6 según Díaz Peralta, (2008)
[d] Valores entre 3 y 5 son ideales para cosechar variedades de *Vitis vinifera* según Rosier (1995)

Fuente: Miño Valdés y Herrera, (2007)

Vinificando con de IT y levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

A continuación se presentan comparadas la variación de la densidad, ºBrix, pH, población, de las levaduras nativas entre si, a las temperaturas de vinificación isotérmicas estudiadas para mostos de uvas IT cultivada en Misiones que no se habían reportado en la literatura científica. (Miño Valdés y Herrera, 2011)

En los Anexos 9, 10, 11 y 12 se presentan los valores de los parámetros de control de las fermentaciones isotérmicas a 18, 22, 26 y 30 ºC respectivamente con IT y levaduras nativas.

- A 18 ºC con IT y levaduras nativas, la densidad y los ºBrix fueron disminuyendo desde sus valores iniciales a lo largo de la vinificación hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45-3,66; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el primer día y variaron poco hasta el día 7, alcanzaron un pico el día 9 y después decayeron hasta el día 15 donde finalizó la fermentación.
- A 22 ºC con IT y levaduras nativas la densidad y los ºBrix fueron disminuyendo desde sus valores iniciales a lo largo de la vinificación hasta que permanecieron constantes. El pH fluctuó entre 3,45 y 3,65 de manera no significativa; sin embargo las levaduras aumentaron rápidamente el 1er 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.
- A 26 ºC con IT y levaduras nativas la densidad y los SST descendieron desde sus valores iniciales hasta permanecer constante al final de la fermentación. 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.
- A 30 ºC con IT y levaduras nativas la densidad y los SST descendieron desde sus valores iniciales hasta permanecer constante al final de la fermentación. 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, alcanzaron un pico el día 8 y disminuyeron hasta el día 9.
- A 18, 22, 26 y 30 ºC los valores de densidad obtenidos en función del tiempo (Anexo 13) se presentan para mostos de IT en las fermentaciones isotérmicas con levaduras nativas.

La densidad inicial en los mostos fue igual para todas las temperaturas, fueron luego disminuyendo de manera continua a lo largo del tiempo de fermentación, hasta que permanecieron constantes. Finalizó la fermentación en 15 días a 18 ºC, en 12 días a 22 ºC, en 10 días a 26 ºC y en 9 días a 30 ºC.

En la Figura 9 se presentan graficadas las variaciones de la densidad del mosto a 4 temperaturas diferentes de fermentación isotérmica con IT y levaduras nativas, se observó que a medida que aumentaron las temperaturas de las fermentaciones estas aumentaron su cinética fermentativa originando menores tiempos de fermentación (Anexo 13). El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron diferenciándose de manera cada vez más notoria especialmente a 18 ºC con el resto a otras temperaturas mientras que a 22 y 26 ºC la diferencia entre las curvas no fue significativa, siendo a 30 ºC la de mayor rapidez. Finalizaron las fermentaciones isotérmicas con valores similares de densidades finales y tiempos de duración de fermentación diferentes.

En la Figura 10 se presentaron graficadas las variaciones de los valores de los ºBrix del mosto a 4 temperaturas diferentes de fermentación isotérmica con IT y levaduras nativas, registrados en el Anexo 14; los ºBrix iniciales fueron iguales para todas las temperaturas, luego disminuyeron gradualmente hasta permanecer constantes dos días consecutivos. La fermentación finalizó en 15, 12, 10 y 9 días a 18, 22, 26 y 30 ºC respectivamente.

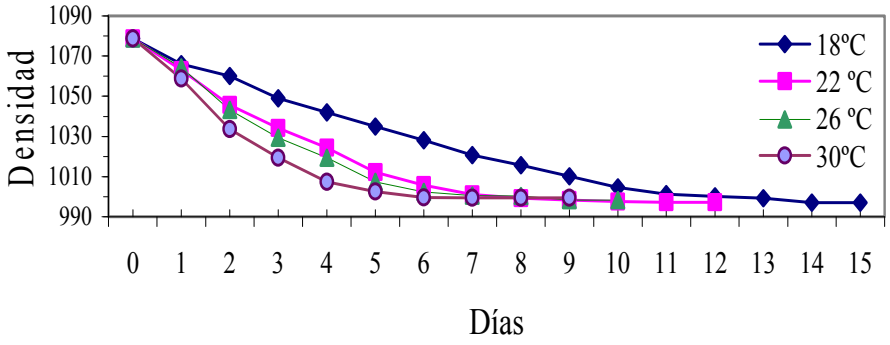


Figura 9. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto*y nativas a 18, 22,26 y 30 ºC

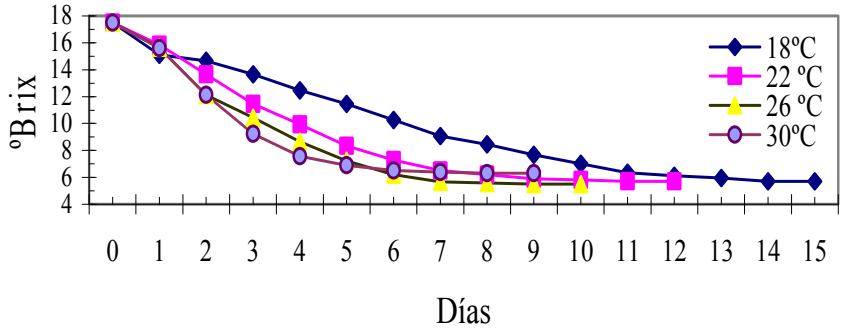


Figura 10. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y nativas a 18, 22,26 y 30 ºC

El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron diferenciándose en forma cada vez mas notoria especialmente a 18 ºC con respecto al resto de las temperaturas, mientras que a 22 ºC y 26 ºC la diferencia no fue tan significativa; a 30 ºC el cambio fue más rápido.

En la Figura 11 se presentaron graficadas las variaciones de los valores de pH del mosto a 4 temperaturas diferentes de fermentación isotérmica con IT y levaduras nativas, registrados en el Anexo 15. Se puede observar que en todas las fermentaciones el pH aumenta desde un valor de 3,45 hasta 3,6-3,7 durante el primer día. Este valor se mantuvo constante en las fermentaciones a 18, 22 y 30 ºC, mientras que a 26 ºC aumentó el pH hasta alcanzar un valor de 3,75 en 9 días.

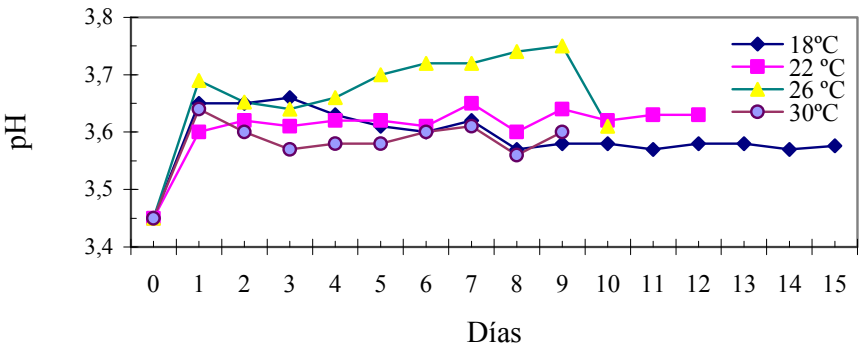


Figura 11. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Los valores de pH iniciales (corregidos a 20 ºC) fueron iguales para todas las temperaturas y aumentaron rápidamente el primer día. Luego el rango de variación estuvo entre 3,55-3,75. Al final de las fermentaciones se observaron valores de pH entre 3,55 y 3,65.

En la Figura 12 se presentan graficadas la población de levaduras mL^{-1} de mosto en función del tiempo durante las fermentaciones isotérmicas con levaduras nativas a 4 temperaturas diferentes, registrados en el Anexo 16. Durante el transcurso del primer día el número de células aumenta desde un valor inicial de 12.10^3, hasta valores entre 10^5 y 10^6 células mL^{-1}. Estos valores se mantuvieron 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.

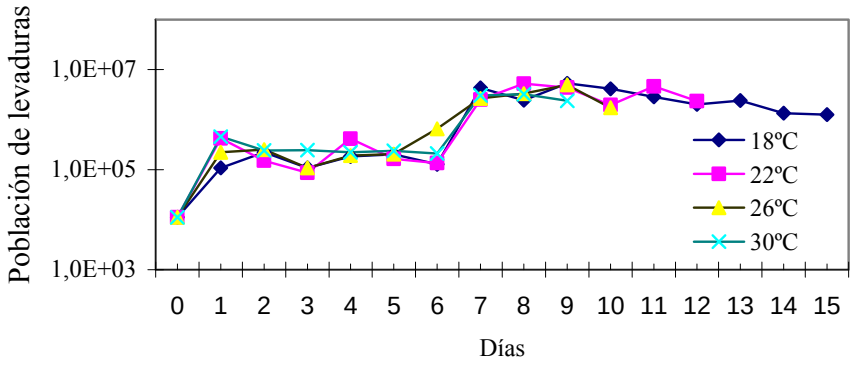


Figura 12. Levaduras nativas contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Vinificación con IT y *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

A continuación se presentan comparados los valores medios de las variaciones de densidad, ºBrix, pH y población de levaduras *S. bayanus* entre sí, a las temperaturas de vinificación isotérmicas estudiadas para mostos de uvas IT cultivadas en Misiones que no se habían reportado en la literatura científica (Miño Valdés y Herrera, 2011)

En los Anexos 17, 18, 19 y 20 se presentan los valores de los parámetros de control de las fermentaciones isotérmicas a 18, 22, 26 y 30 ºC respectivamente con IT y *S. bayanus*.

A 18 ºC con *S. bayanus.* La densidad y los ºBrix 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 1er 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.

A 22 ºC con *S. bayanus*. La densidad y los ºBrix 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 1er día variando poco hasta el día 7 donde rápidamente alcanzaron un pico que luego fue disminuyendo con altibajos hasta el día 12, donde finalizó la fermentación.

A 26 ºC con *S. bayanus*. La densidad y los ºBrix 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 1er 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.

A 30 ºC con *S. bayanus*. La densidad y los ºBrix 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 1er día fluctuando después hasta el día 7 donde aumentaron y alcanzaron un pico, para luego ir disminuyendo hasta el día 9, donde finalizó la fermentación isotérmica.

A 18, 22, 26 y 30 ºC se registraronn los valores de la densidades de las fermentaciones isotérmicas con IT y *S. bayanus* en el Anexo 21; la densidad inicial fue igual para todas las temperaturas luego fueron disminuyendo de manera continua a lo largo del tiempo hasta permanecer constantes por dos días consecutivos. Las fermentaciones concluyeron en 15 días a 18 ºC, en 12 días a 22 ºC, en 10 días a 26 ºC y en 9 días a 30 ºC.

En la Figura 13 se presentan graficados la variación de la densidad en función del tiempo a cuatro temperaturas diferentes en mostos de IT con *S. bayanus* (Anexo 21). El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar pero luego fueron diferenciándose de manera cada vez más notoria especialmente a 18 ºC respecto de 26 ºC y 30 ºC. Presentaron trazados cercanos a 18 ºC con 22 ºC y 26 ºC con 30 ºC. El proceso mas rápido se llevó a cabo a 30 ºC. Finalizaron las fermentaciones a distintas temperaturas con valores similares de densidades finales, aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

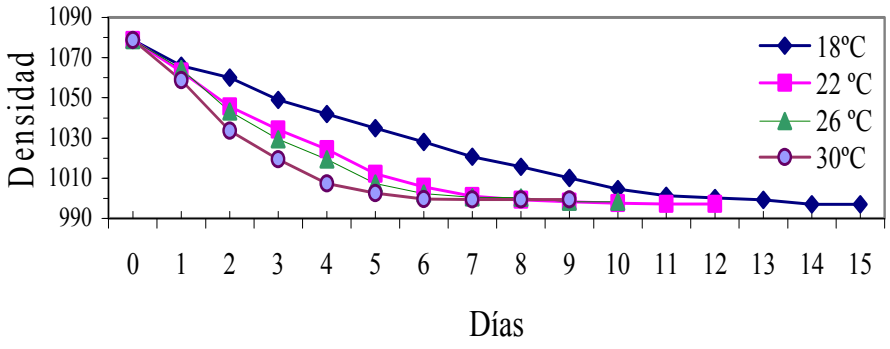


Figura 13. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* y *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

En la Figura 14 se presentan los valores obtenidos durante las fermentaciones a diferentes temperaturas con *S. bayanus* que fueron registrados en el Anexo 22.

Los ºBrix iniciales fueron iguales para todas las temperaturas, pero fueron disminuyendo gradualmente hasta que permanecieron constantes por dos días consecutivos.

Los tiempos de duración de las fermentaciones fueron: 15 días a 18 ºC, 12 días a 22 ºC, 10 días a 26 ºC y 9 días a 30 ºC. El primer día los procesos tuvieron una rapidez similar luego la diferencia se hizo cada vez mas notoria especialmente entre 18 y 30 ºC.

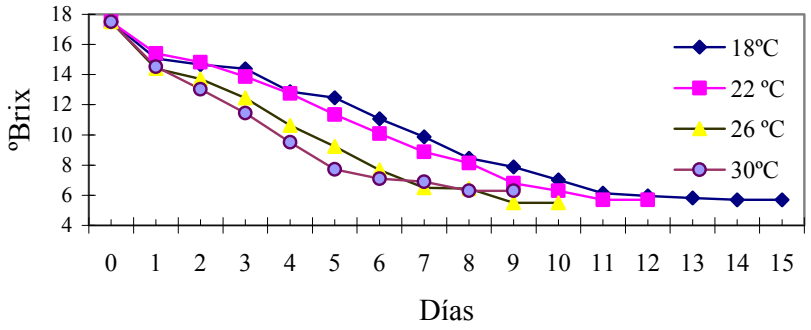


Figura 14. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Finalizó la fermentación a distintas temperaturas dando valores similares de ºBrix aunque los tiempos de fermentación fueron diferentes.

En la Figura 15 se presentan graficados los valores medios de pH obtenidos durante las fermentaciones isotérmicas en mostos de IT con *S. bayanus* registrados en el Anexo 23.

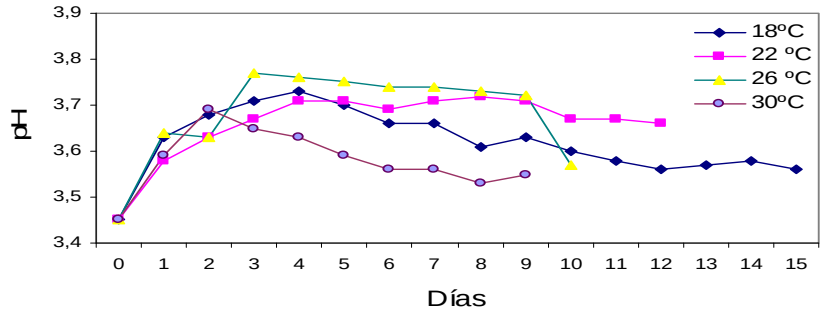


Figura 15. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

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 18ºC, en 12 días a 22 ºC, en 10 días a 26 ºC y en 9 días a 30 ºC y se obtuvieron valores finales de

pH similares. Se observó 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 ºC 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 ºC el valor se situó entre 3,6 y 3,5 desde el día 5 hasta el día 9. A 22 ºC la curva se mantuvo cerca de 3,7 hasta el día 12. A 18 ºC entre 3er a 5to. día la curva se mantuvo en 3,7; fue descendiendo hasta el día 10. Los días 10-15 estuvo entre 3,5-3,6. Las fermentaciones concluyeron a valores similares de pH y los tiempos de vinificación fueron diferentes a distintas temperaturas.

En la Figura 16 se presentan graficadas las poblaciones de levaduras en función del tiempo para fermentaciones isotérmicas a diferentes temperaturas con mostos de *IT* y *S. bayanus* registradas en el Anexo 24.

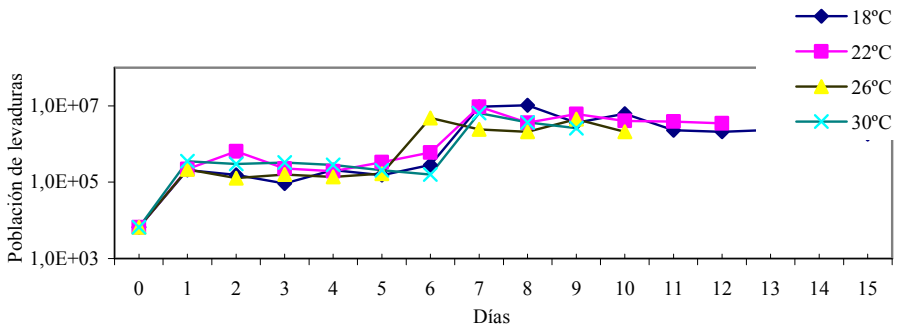


Figura 16. *S. bayanus* contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Inicialmente se partió de una concentración de 6.10^3 *S. bayanus* mL^{-1} 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 en 15 días a 18 ºC, en 12 días a 22 ºC, en 10 días a 26 ºC y en 9 días a 30 ºC.

Los valores finales de población descendieron hasta 8-9 generaciones respecto de la inicial. 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.

Vinificación con NR, levaduras nativas o ***S. bayanus*** **a 24 ºC**

En la Tabla 6 se presentan las características fisicoquímicas de las uvas NR cultivadas en Misiones que se utilizan como materia prima de las vinificaciones.

Tabla 6. Características fisicoquímicas de la uva *Niágara rosada* de Misiones

Parámetros (a 20 ºC)	**Valores** (medios)
Niágara rosada	Sin número de registro (INV, 2006)
Fecha de cosecha	20/12/2006
Color	rosado claro
Peso de 200 bayas	628 g
Peso medio de 200 bayas	3,14 g baya^{-1}
Volumen de 200 bayas	595 mL
Volumen medio de 200 bayas	2,97 mL baya^{-1}
Rendimiento de extracción	55,65 % (g mosto/g uva)
Densidad del mosto (a 15 ºC)	1.080 g L^{-1}
SST	19 ºBrix
Contenido de azúcares en el mosto	183 g L^{-1}
[a] Grado alcohólico probable en vino blanco	10,7 % (v/v)
[b]Acidez total (en ácido tartárico)	6,71 g L^{-1}
[c] pH	3,24
[d] ICO	2,83 [ºBrix (g/L ácido tartárico)$^{-1}$]
IVR	61,56 (ºBrix upH)

[a] Valor obtenido de la Tabla 3 de Pszczólkowski (2006)
[b, c] Valores apropiados para variedades de *Vitis vinífera* durante las fermentaciones.
[b] Entre 5,5 y 8,5 según Jackson (2000); [c] Entre 3,1 y 3,6 según Díaz Peralta, (2008)
[d] Valores entre 3 y 5 son ideales para cosechar variedades de *Vitis vinífera* según Rosier (1995)

Fuente: Miño Valdés y Herrera, (2007)

En los Anexos 25, 26 y 27, se presentan los valores medios de la densidad, ºBrix y pH en función del tiempo para la fermentación isotérmica a 24 ºC en mostos de uva NR con levaduras nativas o con *S. bayanus* que se analizarán en la etapa B.

2.3.2. Etapa B: Evaluación de los parámetros de proceso de las vinificaciones

En esta etapa se comparan la variación de la densidad, ºBrix, pH, población, PF, AF y RF de las levaduras nativas contra las *S. bayanus* a cada temperatura en fermentaciones alcohólicas isotérmicas en condiciones enológicas a 18, 22, 26 y 30 ºC en mostos de uvas IT y a 24 ºC para NR cultivadas en Misiones. (Miño Valdés y col., 2012)

Densidad: en la Figura 17 se presentan las curvas de densidad en función del tiempo para la fermentación a 18 ºC en mostos de *Isabella* tinto con levaduras Nativas y *S. bayanus*. La fermentación demoró 15 días en ambos casos.

En el Figura 18 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para la fermentación a 22 ºC en mostos de *Isabella* tinto con levaduras Nativas y *S. bayanus*. La fermentación demoró 12 días en ambos casos.

En la Figura 19 se presentan los valores de la densidad en función del tiempo para las levaduras nativas y *S. bayanus* en mostos de uva *Niágara* tinto a 24 ºC. La fermentación demoró 11 días en ambos casos.

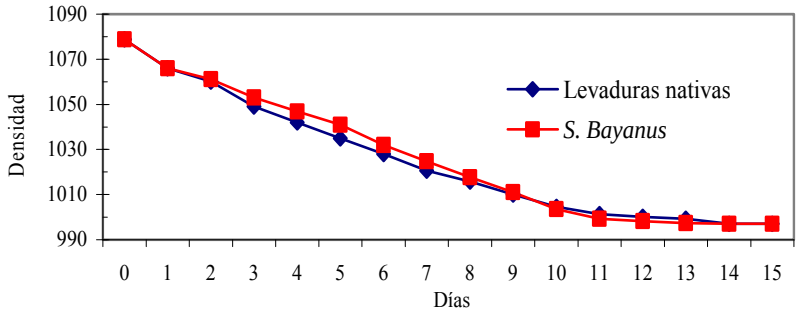


Figura 17. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18 ºC

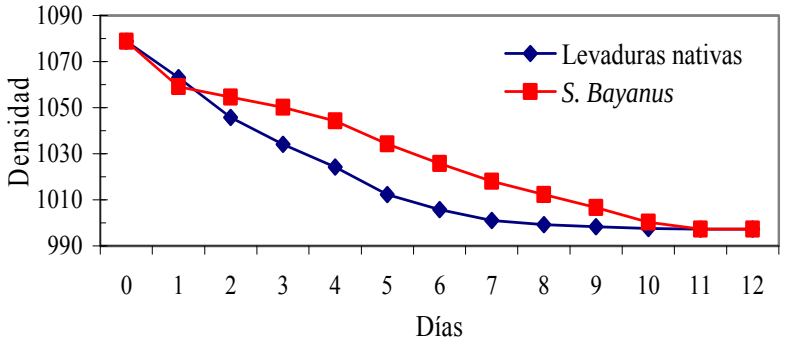


Figura 18. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 22 ºC

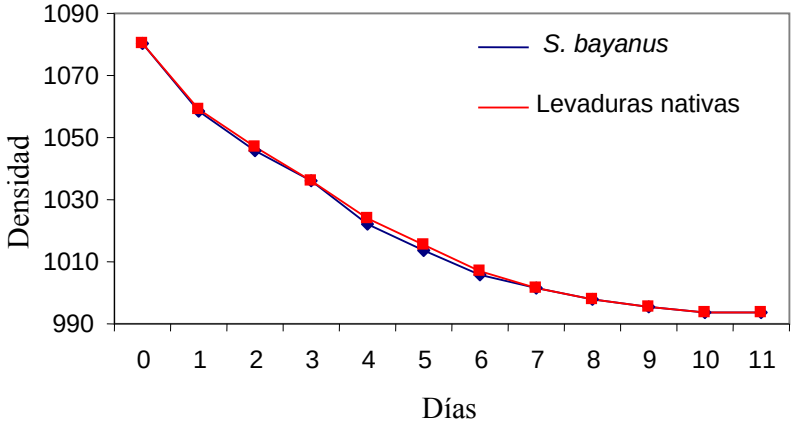


Figura 19. Densidad contra tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC

En la Figura 20 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para la fermentación a 26 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

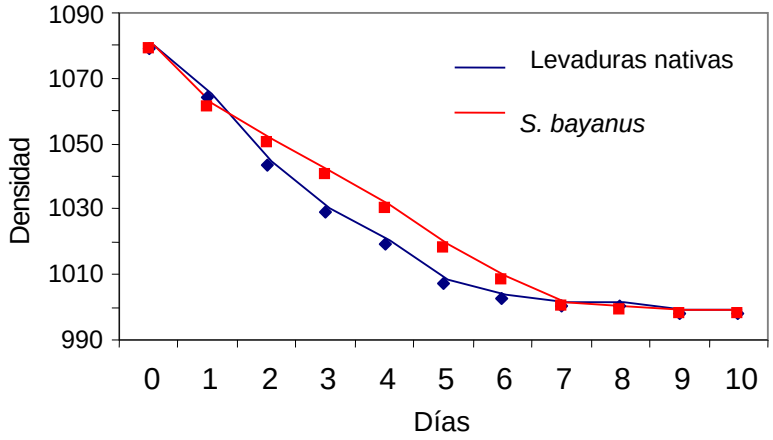


Figura 20. Densidad contra el tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 26 ºC

En la Figura 21 se presentan las curvas de la densidad en función del tiempo para las fermentaciones a 30 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y S.*bayanus.*

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

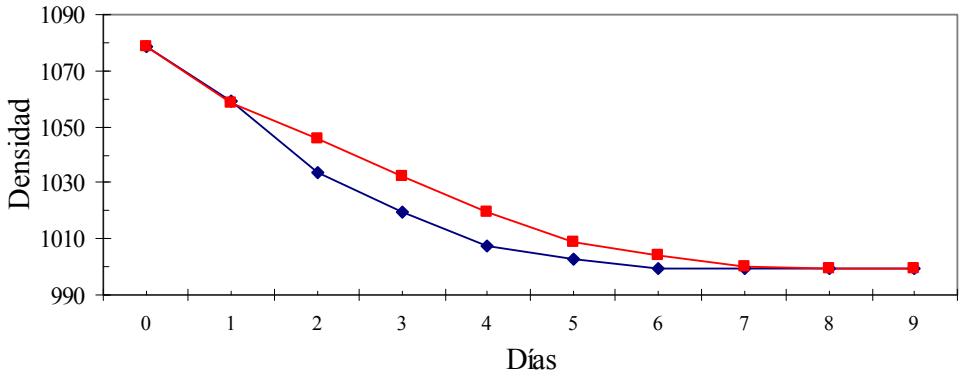


Figura 21. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 30 ºC

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

La densidad en las Figuras de 17 a 21, cuando aumentó la temperatura disminuyó el tiempo de la fermentación. A medida que transcurrieron las fermentaciones isotérmicas el contenido de azúcar fue disminuyendo y por ello también la densidad a todas las temperaturas estudiadas, como era de esperar.

Todas las fermentaciones que se iniciaron con levaduras nativas o con *S. bayanus* en mostos de IT a 18, 22, 26 y 30 ºC tuvieron igual valor inicial de densidad (1.078,8 g L^{-1} corregido a 20 ºC)*;* y al comparar los valores medios finales de densidad de nativas contra *S. bayanus* a 18 ºC: 997 y 996,2; a 22 ºC: 997,2 y 997,1; a 26 ºC: 998,3 y 998,1; a 30 ºC: 999,4 y 999,3; respectivamente, fueron similares a la misma temperatura de vinificación (ver Anexos 13 y 21). En las fermentaciones con NR a 24 ºC los valores iniciales de densidad (1.080,3 g L^{-1} corregido a 20 ºC) fueron iguales; y al comparar los valores finales de nativas contra *S. bayanus* a 24 ºC: 993,7 y 993,6; respectivamente, fueron similares (ver Anexo 26).

Grados Brix: en la Figura 22 se presentan las curvas de ºBrix en función del tiempo para las fermentaciones a 18 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S.Bayanus*.

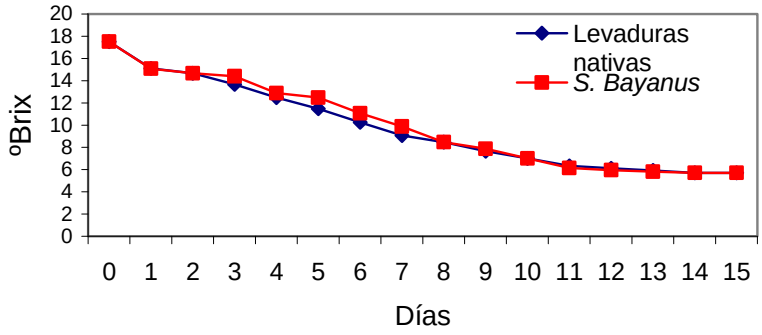


Figura 22. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18 ºC

En la Figura 23 se presentan las curvas de ºBrix en función del tiempo para las fermentaciones a 22 ºC de mostos de uva *Isabella* con levaduras Nativas y S.*bayanus*.

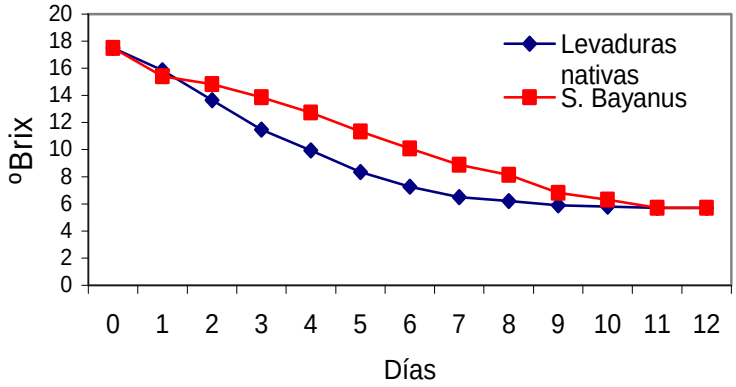


Figura 23. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 22 ºC

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

En la Figura 25 se presentan las curvas de ºBrix en función del tiempo para las fermentaciones a 26 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y S. *bayanus*.

En la Figura 26 se presentan las curvas de ºBrix en función del tiempo para las fermentaciones a 30 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y S. *bayanus*.

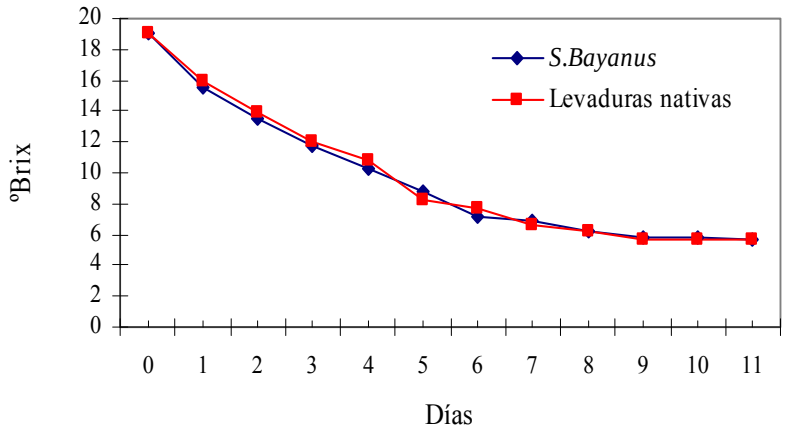


Figura 24. ºBrix contra tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC

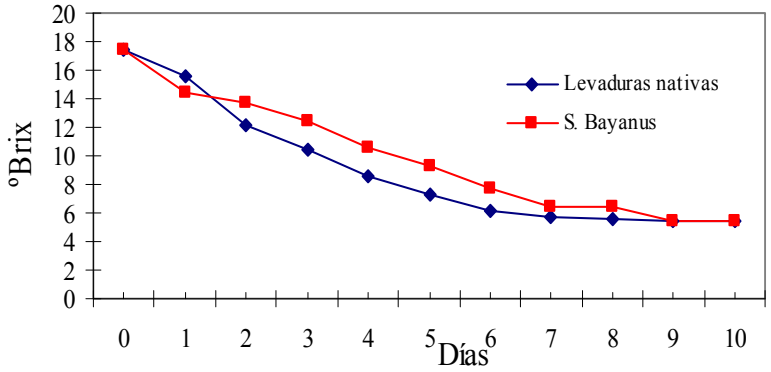


Figura 25. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 26 ºC

Se observó en las Figuras 22 a 26 que a mayor temperatura menor fue el tiempo que demoraron las fermentaciones en completarse. Los grados Brix corregidos a 20 ºC, tuvieron un comportamiento similar, fueron descendiendo a lo largo del tiempo durante las vinificaciones isotérmicas a 18, 22, 24, 26 y 30 ºC tanto para las levaduras *S. bayanus* como para las nativas. La variación de ºBrix se mantuvo en descenso, en todos los casos estudiados, hasta que transcurrido un cierto tiempo fue constante; este hecho señaló que el proceso había finalizado.

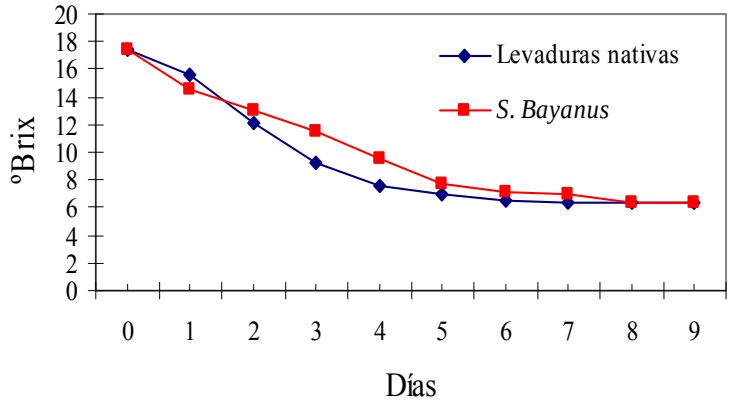


Figura 26. ºBrix contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 30 ºC

Todas las fermentaciones que se iniciaron con levaduras nativas o con *S. bayanus* en mostos de IT a 18, 22, 26 y 30 ºC tuvieron igual valor inicial de SST (17,5 ºBrix corregido a 20 ºC)*;* y al comparar los valores finales de nativas contra *S. bayanus* a 18 ºC: 5,7 y 5,4; a 22 ºC: 5,7 y 5,5; a 26 ºC: 5,5 y 5,3; a 30 ºC: 6,3 y 6; respectivamente, fueron similares a la misma temperatura de vinificación (ver Anexo 14 y 22); con NR a 24 ºC los valores iniciales fueron iguales a 19 ºBrix (corregido a 20 ºC) y al comparar sus valores finales fueron similares: 5,61 y 5,71 (Anexo 26)

pH: en la Figura 27 se presentan las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 18 ºC de mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y S. *bayanus*.

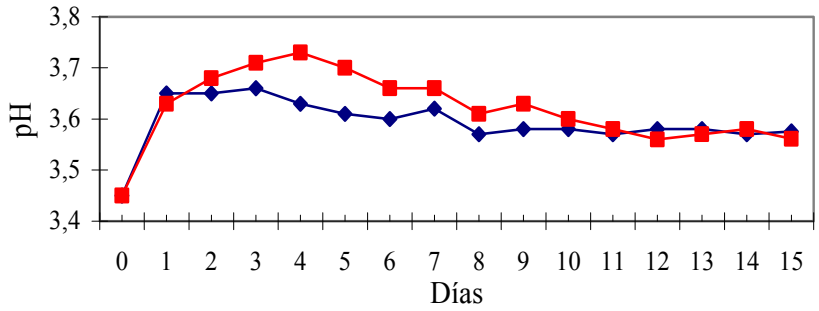


Figura 27. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 18 ºC

En la Figura 28 se trazan las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 22 ºC de mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y S.*bayanus*.

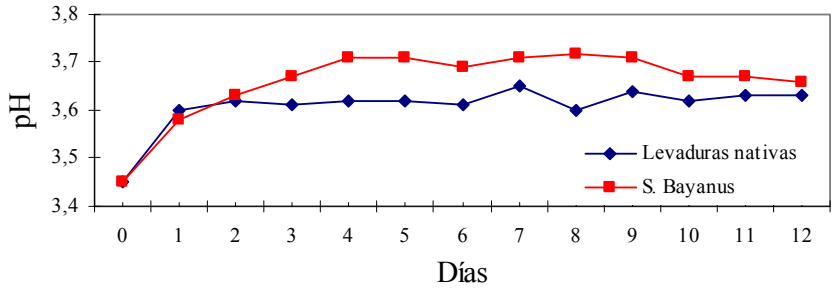


Figura 28. pH contra el tiempo en mostos de uva *Isabella tinto* a 22 ºC

Los valores de la Tabla 35 del Anexo se presentan en la Figura 29, las curvas del pH en función del tiempo para las fermentaciones a 24ºC de mostos de uva *Niágara* con nativas y *bayanus.*

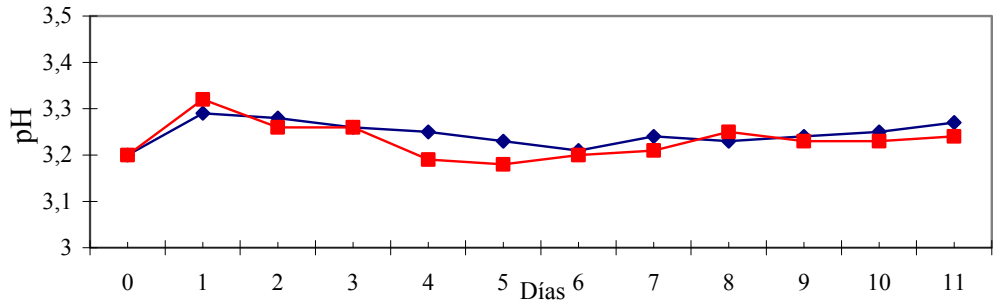


Figura 29. pH contra tiempo en mostos de uva *Niágara rosada* a 24 ºC

En la Figura 30 se graficaron las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 26 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*.

En la Figura 31 se trazaron las curvas de pH en función del tiempo para las fermentaciones a 30 ºC en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas y *S. bayanus*. Entre 3,4-3,8 en mostos de uva *Isabella y* entre 3,15-3,35 en mostos de uva

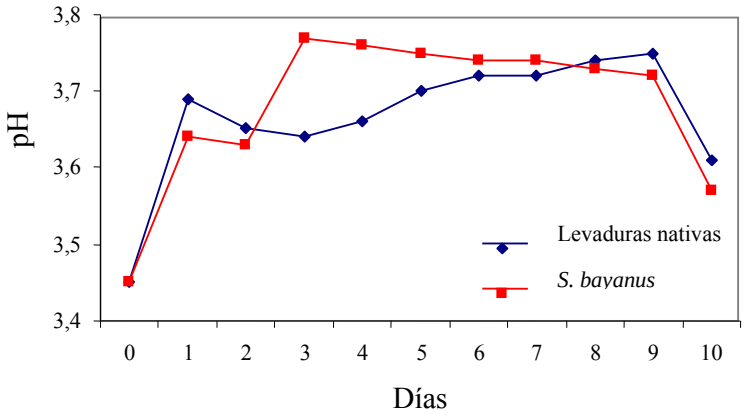


Figura 30. pH contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* a 26 ºC

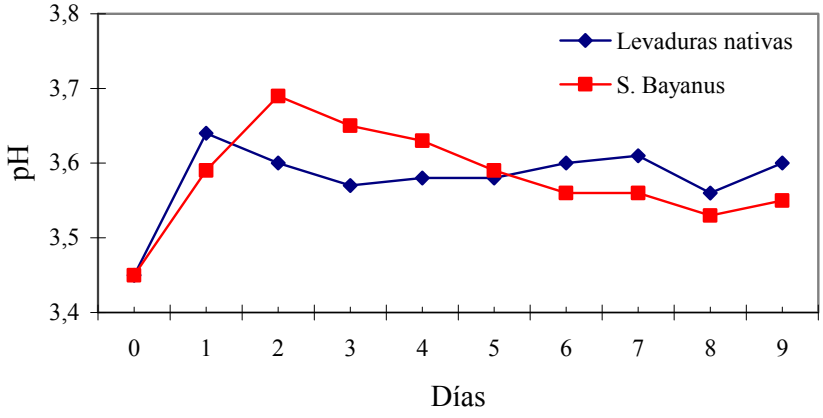


Figura 31. pH contra tiempo en mostos de *Isabella* tinto a 30 ºC

Según las Figuras 27 a 31 en las fermentaciones isotérmicas el rango de variación del pH se mantuvo entre 3,45-3,74 para vinificaciones con IT y levaduras nativas (Anexo 15); entre 3,45 y 3,77 para vinificaciones con IT con *S. bayanus* (Anexo 23) y para vinificaciones con NR entre 3,2-3,29 para *S. bayanus* y entre 3,29-3,32 con nativas (Anexo 27).

Comparando con el rango de variación 3,1-3,6 como el más indicado para vinificación con *Vitis*

vinífera y *S. cerevisiae* según Flanzy (2003), los rangos de pH registrados en mosto de NR con levaduras nativas o *S. bayanus* estuvieron dentro del rango y los mostos de IT con levaduras nativas y *S. bayanus* fueron similares.

Este hecho se presenta como favorable para la fermentación con levaduras nativas o *S. bayanus* en mostos de uvas no viníferas IT y NR ya que según Bordeau (2006a) una acidez alta limita el crecimiento de bacterias lácticas y favorece el desempeño de las levaduras vínicas.

En las vinificaciones realizadas, según el test t para un nivel de confianza (NC) del 95%:

- A diferentes temperaturas, no presentaron diferencias significativas los pH medios de las levaduras nativas al compararlos entre si en mostos de IT (Anexo 15).
- A diferentes temperaturas, no presentaron diferencias significativas los pH medios de *S. bayanus* al compararlos entre sí en mostos de IT (Anexo 23).
- A diferentes temperaturas, no presentaron diferencias significativas los pH medios de los mostos de IT con *S. bayanus* (Anexo 23) al compararlos con los pH medios de los mostos de IT con levaduras nativas (Anexo 15).
- A 24 ºC, no presentó diferencia significativa el pH medio de las levaduras nativas al compararlo con el pH medio de *S. bayanus* en mosto de NR (Anexo 27).

Poder fermentativo (PF) se expresa como: (ºAlcohol obtenido).10^2 / ºAlcohol teórico esperado.

En la Tabla 7 se presenta el PF y los valores de alcohol teóricos esperados y los obtenidos, con levaduras *S. bayanus* y levaduras nativas cuando terminaron de fermentar.

En mostos de IT a cada temperatura estudiada el PF de *S. bayanus* respecto de las nativas fue (a 18, 22 y 26 ºC) mayor en un 9,1%, 4,1% y 5 % respectivamente; sin embargo a 30 ºC las nativas tuvieron una diferencia a su favor del 8% respecto de *S. bayanus*.

También se observó que el PF de la *S. bayanus* fue un 2,8 % mayor al de las nativas a 24 ºC en mostos de uva NR. En las vinificaciones realizadas (Tabla 7) según el test t para un nivel de confianza del 95 %:

- A la misma temperatura, presentaron diferencias significativas los PF medios de *S. bayanus* respecto de los PF medios de las levaduras nativas en mostos de IT y en mostos de NR**.**
- A diferentes temperaturas, presentaron diferencias significativas los PF medios de *S. bayanus* al comparar entre sí en mostos de IT.

-A diferentes temperaturas, no presentaron diferencias significativas los PF medios

de las levaduras nativas al compararlos entre sí en mostos de IT.

De acuerdo a los resultados obtenidos a 30 ºC las nativas tuvieron mayor tolerancia a la temperatura y soportaron mejor la presencia creciente de alcohol en el medio.

Pero en el resto de las experiencias *S. bayanus* tuvo mejor PF, hecho que se acentuó a 18 ºC, donde alcanzó su mayor valor relativo.

Actividad fermentativa (AF) se expresa como g azúcar fermentado/tiempo de fermentación. En la Tabla 8 se presentaron los valores iniciales y finales de azúcar medidos en mosto antes y después de la fermentación. Como las fermentaciones se iniciaron simultáneamente las concentraciones iniciales de azúcar (a 20ºC) en los mostos fueron iguales y las concentraciones finales similares a la misma temperatura. La AF aumentó con la temperatura de la fermentación isotérmica, como se observa en la Tabla 8, de 18 a 22ºC la AF se incrementó un 2,8 %, de 22 a 26 ºC un 2,8 % y de 26 a 30 ºC un 1,8 %.

Tabla 7. Poder fermentativo de levaduras en mostos de uva IT y NR

Fermentación Uva Temperatura	**Inóculo**	**Alcohol** % v/v (a 20 ºC)		**PF**
		Esperado	obtenido	
IT; **18 ºC**	*S. bayanus*	9,9	9,8	Valor medio: 98,9*^{A} DE: 0,48
	Nativas	9,9	8,9	Valor medio: 89,8*^{B} DE: 0,66
IT; **22 ºC**	*S. bayanus*	9,9	9,3	Valor medio: 93,9*^{C} DE: 0,86
	Nativas	9,9	8,9	Valor medio: 89,8*^{B} DE: 0,68
IT; **26 ºC**	*S. bayanus*	9,9	9,5	Valor medio: 95,9*^{D} DE: 1,05
	Nativas	9,9	9,0	Valor medio: 90,9*^{B} DE: 1,02
IT; **30 ºC**	*S. bayanus*	9,9	8,2	Valor medio: 82.8*^{E} DE: 1,12
	Nativas	9,9	9,0	Valor medio: 90,8*^{B} DE: 1,14
NR; **24ºC**	*S. bayanus*	10,7	10,3	Valor medio: 97* DE: 0,489
	Nativas	10,7	10,05	Valor medio: 94* DE: 1,061

DE: desviación estándar

* Con diferencias significativas a la misma temperatura, según el test t ($\alpha = 0,05$)

Con diferencias significativas para distintas letras y temperaturas, según el test t ($\alpha = 0,05$)

Sin diferencias significativas para la misma letra a distintas temperaturas, test t ($\alpha = 0,05$)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 8. Actividad fermentativa de levaduras en mostos de uva IT y NR

Fermentación isotérmica		Inóculo	Azúcar g L^{-1}		AF
uva	temp. tiempo		inicial	final	
IT	18 ºC; 15 días	*S. b*ayanus	168	1,68	Valor medio: 11,09^{A} DE: ± 0,046
		Nativas	168	1,70	Valor medio: 11,08^{A} DE: ± 0,057
IT	22 ºC; 12 días	*S. b*ayanus	168	1,69	Valor medio: 13,86^{B} DE: ± 0,048
		Nativas	168	1,71	Valor medio: 13,85^{B} DE: ± 0,062
IT	26 ºC; 10 días	*S. b*ayanus	168	1,68	Valor medio: 16,63^{C} DE: ± 0,038
		Nativas	168	1,69	Valor medio: 16,62^{C} DE: ± 0,061
IT	30 ºC; 9 días	*S. b*ayanus	168	1,68	Valor medio: 18,48^{D} DE: ± 0,048
		Nativas	168	1,69	Valor medio: 18,47^{D} DE: ± 0,054
NR	24 ºC; 11 días	*S. b*ayanus	183	1,84	Valor medio: 16,47^{E} DE: ± 0,046
		Nativas	183	1,85	Valor medio: 16,46^{E} DE: ± 0,042

DE: desviación estándar

^{ABCDE}Sin diferencias significativas según el test t ($\alpha = 0,05$) para la misma letra

^{ABCDE}Con diferencias significativas según el test t ($\alpha = 0,05$) para distintas letras

Fuente: Elaboración propia

En las vinificaciones realizadas (Tabla 8), según el test t para un nivel de confianza del 95 %:

- A la misma temperatura**,** no presentaron diferencias significativas las AF medias de *S. bayanus* respecto de las AF medias de las levaduras nativas en mostos de IT ni en mostos de NR.

- A diferentes temperaturas, presentaron diferencias significativas las AF medias de *S. bayanus* al compararlas entre sí en mostos de IT.

- A diferentes temperaturas, presentaron diferencias significativas las AF medias de levaduras nativas al compararlas entre sí en mostos de IT.

Rendimiento fermentativo (RF) se expresa como el cociente entre los gramos de azúcar inicial y el grado de alcohol obtenido al finalizar la fermentación.

En la Tabla 9 se presenta el valor medio del RF de las levaduras en mostos de IT y NR.

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

Tabla 9. Rendimiento fermentativo de levaduras en mostos de uva IT y NR

Fermentación Isotérmica	Inóculo	Azúcar inicial g L^{-1}	Alcohol final % v/v	RF
Isabella tinto		168	9,9	Máximo teórico: 16,97
18 ºC; 15 días	*S. bayanus*	168	9,8	Valor medio: $17,14^{A}$ DE: ± 0,244
	Nativas	168	8,9	Valor medio: $18,87^{B}$ DE: ± 0,242
22 ºC; 12 días	*S. bayanus*	168	9,3	Valor medio: $18,06^{C}$ DE: ± 0,163
	Nativas	168	8,9	Valor medio: $18,87^{B}$ DE: ± 0,166
26 ºC; 10 días	*S. bayanus*	168	9,5	Valor medio: $17,68^{A}$ DE: ± 0,224
	Nativas	168	9,0	Valor medio: $18,66^{B}$ DE: ± 0,245
30 ºC; 9 días	*S. bayanus*	168	8,2	Valor medio: $20,48^{D}$ DE: ± 0,164
	Nativas	168	9,0	Valor medio: $18,66^{B}$ DE: ± 0,162
Niágara rosada		183	10,7	Máximo teórico 17,10
24 ºC; 11 días	*S. bayanus*	183	10,6	Valor medio: $17,26^{E}$ DE: ± 0,143
	Nativas	183	10,3	Valor medio: $17,76^{F}$ DE: ± 0,162

DE: desviación estándar

^{ABCDEF}Sin diferencias significativas según el test t ($\alpha = 0,05$) para la misma letra

^{ABCDEF}Con diferencias significativas según el test t ($\alpha = 0,05$) para distintas letras

Fuente: Elaboración propia

Desde este punto de vista, *S. bayanus* tuvo mayor rendimiento respecto de las nativas en 18, 22, 24 y 26 ºC, mientras que a 30 ºC el mejor RF fue para las nativas respecto de *S. bayanus*.

En las vinificaciones realizadas (Tabla 9), según el test t para un nivel de confianza del 95 %:

- A la misma temperatura, presentaron diferencias significativas los RF medios de *S. bayanus* respecto de los RF medios de las levaduras nativas en mostos de IT, ni en mostos de NR.
- A diferentes temperaturas, presentaron diferencias significativas los RF medios de *S. bayanus* al compararlos entre sí en mostos de IT.
- A diferentes temperaturas, presentaron diferencias significativas los RF medios de las levaduras nativas al compararlos entre sí en mostos de IT.

Población de levaduras

En la Tabla 10 se presentan los valores medios de (levaduras nativas mL^{-1}) al inicio, al final y el máximo alcanzado para cada temperatura de fermentación isotérmica en mostos de uva IT.

Tabla 10. Población de levaduras nativas en mostos de uva *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Vinificación		**Levaduras nativas**			
Isotérmica (ºC)	Duración (días)	Población inicial x 10^3 mL^{-1}	Generación inicial	Población x 10^5 mL^{-1}	Generación
30	9	12	1	F: 23,7 M: 53	7-8 8-9
26	10	12	1	F: 17,3 M: 52,5	7-8 8-9
22	12	12	1	F: 23,4 M: 49,3	7-8 8-9
18	15	12	1	F: 12,5 M: 32	6-7 8-9

F: final; M: máxima (ver Anexo 16)

Fuente: elaboración propia

En la Tabla 11 se presentan los valores medios de *S. bayanus* mL^{-1} al inicio, al final y el máximo alcanzado para cada temperatura de fermentación isotérmica en mostos de uva IT.

Según las Tablas 10 y 11 las poblaciones de levaduras (en generaciones) para mostos de IT:

-A todas las temperaturas, las generaciones máximas alcanzadas fueron menores para las levaduras nativas con 8-9 respecto de *S. bayanus* con 10-11 a 18 y 22 ºC y con 9-10 a 26 y 30 ºC.

-A todas las temperaturas, las generaciones finales alcanzadas fueron menores para las levaduras nativas respecto de *S. bayanus* con valores de (8-9 y 9-10) a 18 ºC; (7-8 y 8-9) a 22 ºC; (7-8 y 9-10) a 26 ºC; (7-8 y 8-9) a 30 ºC respectivamente.

Considerando que la población inicial (generación 1) sembrada fue de 12.10^3 nativas mL^{-1} el doble respecto de 6.10^3 *bayanus* mL^{-1} se infiere que las *S. bayanus* tuvieron más multiplicación que las nativas a las temperaturas y mostos evaluados.

Según Flanzy (2003) las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* en mostos de *Vitis viníferas* durante la fase de crecimiento en condiciones enológicas se multiplican hasta 6 o 7 generaciones, así una población inicial de 1.10^6 células mL^{-1} alcanza una población próxima a 120-130. 10^6 células mL^{-1}.Esta biomasa final según Formento (2009) solo representa 3 g L^{-1} de peso seco.

Las generaciones 1 sembradas 12.10^3 nativas mL^{-1} y 6.10^3 *bayanus* mL^{-1} alcanzaron rangos máximos de (8-9 y 9-11) y rangos finales de (7-9 y 9-11) respectivamente que fueron mayores a las 6-7 generaciones reportadas para *S. cerevisiae*.

Tabla 11. Población de *S. bayanus* en mostos de uva *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Vinificación		*Saccharomyces bayanus*			
Isotérmica (ºC)	Duración (días)	Población inicial x 10^3 mL^{-1}	Generación inicial	Población x 10^5 mL^{-1}	Generación
30	9	6	1	F: 18,2	8-9
				M: 93,8	10-11
26	10	6	1	F: 34,7	9-10
				M: 94,1	10-11
22	12	6	1	F: 20,9	8-9
				M: 47,9	9-10
18	15	6	1	F: 25,9	8-9
				M: 65	9-10

F: final; M: máxima (ver Anexo 24)

Fuente: Elaboración propia

Estos valores umbrales para iniciar fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas con estas levaduras en mostos de no viníferas no estaban reportadas en la bibliografía científica según Miño Valdés y col., (2011).

2.3.3. Etapa C: Modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas

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

$$r_C = \frac{k C_A C_C}{C_A + C_M};$$

Donde r_C : velocidad de crecimiento; 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 semiempíricas 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 por los resultados experimentales de Wang y Xu., (2002) que el orden de preferencia de *S. cerevisiae* por estos azúcares es el siguiente: $Glucosa \rightarrow Fructosa \rightarrow Sacarosa$

Los modelos desarrollados se basan en el comportamiento bioquímico del proceso y dan 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.

Además sus resultados son difíciles de validar y la identificación de parámetros puede acarrear problemas adicionales.

No obstante en este cálculo, se utilizaron las ecuaciones basadas en un modelo logístico de crecimiento asociado de la biomasa con la fabricación de etanol.

Para expresar la concentración de la biomasa en función del tiempo se partió de la ecuación logística (1) de Wang et al., (2004): $\boxed{dX/dt = \mu_m X (1- X / Xm)}$

Donde: t (en h) es el tiempo; X (en g L^{-1}) es la concentración de biomasa

X_m (en g L^{-1}) es la concentración máxima de biomasa

X_o (en g L^{-1}) es la concentración inicial de biomasa

μ (en h) es el tiempo de crecimiento específico medio

μ_m (en h^{-1}) es el máximo crecimiento específico medio en las condiciones de fermentación

S (en g L^{-1}) es la concentración del sustrato; S_o (en g L^{-1}) es la concentración inicial de sustrato

Integrando la ecuación logística (1) cuando t tiendo a 0, $X = X_o$, $S = S_o$ y P = 0, el modelo cinético puede ser formulado y el rendimiento de la producción media de biomasa se obtiene en la ecuación logística (2): $\boxed{X = (X_o X_m e^{\mu_m t}) (X_m – X_o + X_o e^{\mu_m t})^{-1}}$

Esta última ecuación muestra la relación entre la biomasa y el tiempo de fermentación, el parámetro μ_M fue estimado introduciendo los datos experimentales en el software matemático SAS 8.01 System.

La producción de etanol, P, en este modelo logístico es visto como un crecimiento asociado con la biomasa, e incluye un término de retardo asociado, (Δt), que fue encontrado en la fermentación cuando fue comparado el crecimiento celular con la pequeña producción de etanol en la fase inicial de crecimiento de la población de levaduras.

La producción de etanol en función del tiempo de fermentación se planteó con la ecuación logística (3) de Wang et al., (2004): $(dP/dt) = Y_{p/x}\, dX\, [d\,(t - \Delta t]^{-1}$

Donde: P (en g L^{-1}) es la concentración de producto

Δt (en h^{-1}) es el retraso de la formación de etanol como consecuencia del desarrollo de biomasa.

$Y_{p/x}$ (en g etanol / g biomasa) es el rendimiento para la biomasa.

La ecuación (3) se integró utilizando μ_m y Xm, y el modelo es descripto por la ecuación logística (4): $P = Y_{p/x}\, [(Xo\ Xm\ e^{\mu m\,(t-\Delta t)}/Xm\text{-}Xo\text{+}Xo\ e^{\mu m\,(t-\Delta t)}) - Xo\ Xm\ e^{-\mu m\,\Delta t}/\ Xm\text{-}Xo\text{+}Xo\ e^{-\mu m\,\Delta t}]$

Después, con los datos experimentales del etanol obtenido con esta ecuación se calculó el coeficiente de rendimiento $Y_{p/x}$ y el tiempo de retardo Δt.

Para el proceso de fermentación alcohólica, la ecuación describiendo el consumo medio de sustrato considerando dos aspectos: el consumo de azúcar en la formación de biomasa y el mantenimiento de la biomasa.

El consumo medio de azúcar fue descrita por la ecuación logística (5) según Caro et al., (1991) y Marín (1999): $-(dS/dt) = (1/Yx/s)\, [(dX/dt) + m\ X]$

Combinando con la ecuación (1), la ecuación (3) y estimando parámetros, esta ecuación (5) se integra y la ecuación del azúcar consumido puede ser obtenida como ecuación logística (6):

$S=So - (1/Yx/s)\, [(Xo\ Xm\ e^{\mu m\, t}/\ Xm\text{-}Xo\text{+}Xo\ e^{\mu m\, t})\text{-}Xo] - (Xm\ m/\mu_m)\ \ln\ (Xm\text{-}Xo\text{+}Xo\ e^{\mu m\,(t-\Delta t)})/Xm$

Donde: *m* (en g azúcar /g biomasa h) es el coeficiente de mantenimiento de la biomasa.

Yx/s (en g biomasa /g azúcar) es el coeficiente de rendimiento para el sustrato.

Con este modelo logístico se describió la vinificación isotérmica a 18 ºC de mostos de IT con *S. bayanus* en función de tres ecuaciones y cinco parámetros a estimar.

Para los parámetros iniciales Xo, So y para Xm se tomaron de los valores de las condiciones experimentales de la vinificación. Los otros parámetros fueron todos estimados con el método de regresión no lineal de Newton obteniéndose: $\mu_M = 0{,}04\ h^{-1}$; $m = 0{,}02$ g glucosa / g biomasa h

$Yx/s = 0{,}2$ g biomasa (g glucosa) $^{-1}$; $\Delta t = 14{,}56\ h^{-1}$; $Y\ p/x = 5{,}78$ g etanol / g biomasa

Para ello se utilizó el software matemático SAS System 8.01, 5 Iterative Serarch Techniques, que incluye Newton-Gauss, Marguardt, Gradient y Dud Technique, utilizados para minimizar y evaluar la suma de cuadrados de los residuos.

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 glucosa a partir de la concentración de biomasa conocida y la evolución del consumo de glucosa, presente en cantidades similares a la fructosa en el mosto procesado.

La formación de etanol como producto, la variación de la población de levaduras y la disminución de sustrato fueron los observados ver Figura 32 para la fermentación del mosto de *Isabella tinto* a 18 ºC con *S. bayanus*.

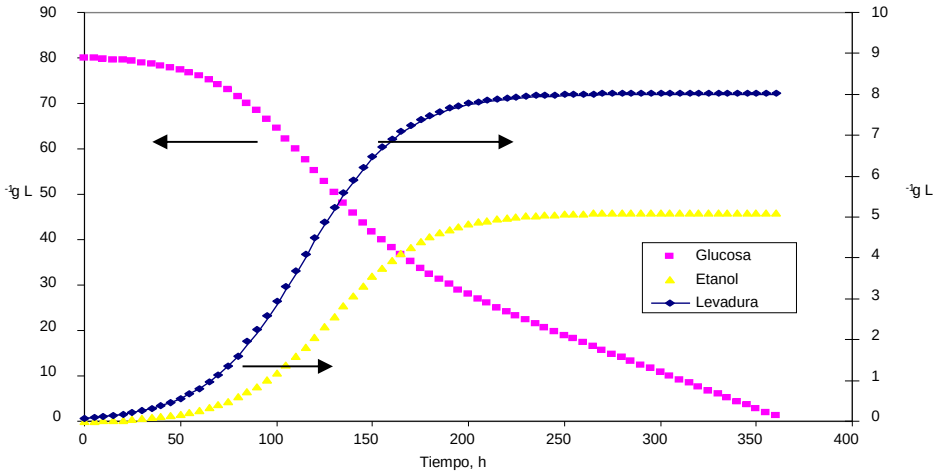


Figura 32. Curvas simuladas del consumo de glucosa por *S. bayanus* en el modelo logístico

El aporte fue del 50% del total de etanol producido, por lo cual se consideró que la simulación obtenida representó adecuadamente el fenómeno observado.

Para desarrollar una tecnología de vinificación en blanco con V*itis* no *híferas*, se consideró oportuno introducir estos elementos de cálculo, en forma preliminar, para predecir comportamientos numéricos en el cambio de escala, pronosticar y controlar el desempeño de la levadura, el consumo de azúcar y la producción de etanol en planta piloto o a nivel industrial.

2.3.4. Etapa D: Verificación de la aptitud fisicoquímica de los vinos

En la Tabla 12 se presentan las características fisicoquímicas del vino blanco seco obtenido a diferentes temperaturas en vinificación isotérmica a escala laboratorio.

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 con Vitis viníferas. También es corriente admitir que la síntesis de un grado de etanol (1% v/v) en fermentación alcohólica en condiciones enológicas representa un consumo comprendido entre 16,5 y 17 g L^{-1} de azúcares reductores (Bordeau, 2002).

Tabla 12. Características del vino blanco común seco obtenido en laboratorio

Uva temperatura del mosto	Inóculo	pH	°Alcohol (% v/v)	mg SO_2 L^{-1} libre *	mg SO_2 L^{-1} total	g acido L^{-1} (tartárico) total	g acido L^{-1} (acético) volátil
Isabella tinto	Nativas	3,57	8,9	16,6	96	6,52	0,98
18 ºC	*S.bayanus*	3,67	9,8	14	107,5	6,97	0,986
Isabella tinto	Nativas	3,63	8,9	12,8	119	6,07	0,78
22 ºC	*S.bayanus*	3,66	9,3	7,6	108,8	7,42	1,05
Isabella tinto	Nativas	3,61	9	14	102,4	6,07	1,04
26 ºC	*S.bayanus*	3,57	9,5	14	96	5,92	1,06
Isabella tinto	Nativas	3,60	9	8,9	115,2	7,05	0,84
30 ºC	*S.bayanus*	3,55	8,2	25,6	98,5	6,75	0,86
Niágara rosada	Nativas	3,24	10,3	19,2	81,9	5,85	0,27
24 ºC	*S.bayanus*	3,27	10,6	34,5	82	5,92	0,36
**INV	Máximos				180 ± 35		1 ± 0,2
	Apropiados	3-4	12-14,5	25-30		4-8	

* SO_2 libre: todas las concentraciones se llevaron a 35 mg L^{-1} antes de guardar el vino a 0ºC. ** INV (2008)

En la Tabla 12 se presentaron los valores de etanol (en % v/v) obtenidos en vino blanco para mostos de IT a diferentes temperaturas, el rango obtenido con nativas fue de 8,9-9 y con *S. bayanus* de 9,8-8,2; en mosto de NR fue de 10,3 y 10,6 respectivamente.

La baja graduación se debe al bajo contenido inicial de azúcares reductores en el mosto, que son característicos de uvas no viníferas.

La diferencia de alcohol obtenido (en % v/v) con inóculos de *S. bayanus* en mostos de IT respecto inóculos de levaduras nativas fue de 0,9 a 18 ºC; 0,4 a 22 ºC; 0,5 a 26 ºC y mostos de NR 0,3 a 24 ºC. A 30 ºC en mosto de IT, la diferencia de alcohol obtenido (en % v/v) fue a favor de las levaduras nativas con un valor de 0,8.

Las mayores diferencias de etanol producido fueron a 18 ºC con 0,9 % v/v mayor para *S. bayanus* respecto de las nativas; pero a 30 ºC fue un 0,8 % v/v mayor para nativas respecto de *S. bayanus.*

SO_2 libre y total: la relación de equilibrio entre el SO_2 combinado y el libre es de carácter dinámico, siendo afectada básicamente por la acidez y la temperatura.

Los valores sugeridos de SO_2 libre están entre 25-30 mg L^{-1} para lograr una buena conservación del vino elaborado.

El INV fijó límites para el contenido de SO_2 total permitido en 180 ±35 mg L^{-1} para vinos blancos secos, en los vinos blancos obtenidos con no viníferas este valor se puede ajustar al envasarlos.

pH: entre 3-4 son los valores 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 encuentran en los mostos lo constituyen el ácido tartárico, el ácido málico y el ácido cítrico

(Perez Caram, 2009).

En los vinos blancos obtenidos todos se encuentran dentro del rango sugerido por el INV.

Acidez total y volátil: todos los vinos aptos para el consumo tienen reacción ácida; esta acidez modifica el sabor, (a mayor acidez: sabor mas fresco, color mas intenso, menor peligro para el desarrollo de 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; el ácido acético, el ácido láctico y el ácido succínico lo son entre los volátiles.

Los vinos de V*itis viníferas* tienen normalmente una acidez total entre 5-7 g ácido tartárico L^{-1}; igual que los vinos obtenidos.

El INV no fija límites legales para acidez total.

En todos los vinos blancos obtenidos la acidez total estuvo entre 4-8 g ácido tartárico L^{-1} (valores aptos para la conservación).

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. Los vinos blancos obtenidos estuvieron por debajo de 1,2 g L^{-1} de ácido acético volátil permitido. Todos los vinos blancos comunes secos de laboratorio, cumplen con sus exigencias del INV desde el punto de vista de los parámetros de control: pH, ºAlcohólico, dióxido de azufre (libre y total), la acidez total en acido tartárico y la acidez volátil en ácido acético.

2.4. Conclusiones parciales

1. Los mostos de uva no viníferas *Isabella tinto* y *Niágara rosada* con el agregado de un coadyuvante de fosfato de amonio, enzimas peptolíticas y dióxido de azufre, fueron aptos para vinificar a 18, 22, 26 y 30 ºC las uvas IT y a 24 ºC las uvas NR.

2. Los inóculos de levaduras fueron suficientes en cantidad para iniciar, conducir y concluir las fermentaciones en condiciones enológicas; las levaduras *Saccharomyces cerevisiae bayanus* tuvieron mejor desempeño respecto de las levaduras autóctonas desde el punto de vista del RF y del PF.

3. Las fermentaciones en condiciones enológicas a escala laboratorio fueron continuas, sin paradas; a mayor temperatura de fermentación menor fue el tiempo de fermentación, completándose en tiempos similares las fermentaciones con inóculos de *S. bayanus* respecto de inóculos de levaduras autóctonas.

4. Los vinos blancos secos obtenidos a escala laboratorio fueron aptos para consumo humano desde el punto de vista de los parámetros de control fisicoquímicos de la legislación vigente.

5. Se obtuvo un modelado matemático de acuerdo al modelo logístico resuelto para la evolución de la fermentación del mosto de IT a 18 ºC con inóculo de *S. bayanus.*

6. El proceso tecnológico para la elaboración de vino blanco común seco a escala laboratorio quedó establecido con las operaciones: recepción, pesado, prensado, despalillado, clarificado, fermentado, clarificado, almacenado y envasado.

7. Para la etapa siguiente y basados en las experiencias de la escala laboratorio y la bibliografía consultada la elaboración de vino blanco seco en planta piloto se continuará con fermentación isotérmica a 20, 22 y 24 ºC, con mostos de IT y NR e inóculos de *S. bayanus*. Aunque en planta piloto no se utilizarán las levaduras nativas, fue importante registrar su desempeño, porque no se descarta su utilización en vinificaciones a mayor escala, como inóculo puro o mezclado.

Capítulo III: Desarrollo de la tecnología a escala industrial para vinificar en blanco V*itis* no *viníferas* de color

3.1. Introducción

Para el diseño y construcción de equipos industriales, existen dos caminos posibles, que pasan por la construcción de modelos. Estos modelos pueden ser matemáticos o empíricos. De modo general, el criterio de semejanza puede expresarse según la ecuación lineal m`= k.m; donde m y m` son las medidas de una misma magnitud en el modelo y en el prototipo, respectivamente. La constante k recibe el nombre de factor de escala (Ibarz y Barboza, 2005).

Los criterios de semejanza aplicados entre el modelo y el prototipo fueron:

- Semejanza geométrica, referida a la proporcionalidad entre las dimensiones de equipos.
- Semejanza mecánica, referida a la oxigenación, agitación, decantación y prensado.
- Semejanza térmica, referida a su aplicación en la fermentación y almacenado de vinos.
- Semejanza de concentración, aplicada en la clarificación, fermentación y envasado.

Para alcanzar los objetivos propuestos de acuerdo con las conclusiones del capítulo anterior se requiere un procedimiento que fue recomendado en el Capítulo I y graficado en el diagrama heurístico del Anexo 28, y cuyas etapas se desarrollan a continuación.

Etapa E: Procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco

Las acciones realizadas fueron:

- proponer una unidad productiva de uvas no viníferas de color
- estimar un tamaño de la planta para satisfacer la oferta de uvas
- establecer una tecnología para la elaboración de vino blanco seco

Etapa F: Evaluación en planta piloto el procedimiento tecnológico establecido

Las acciones realizadas fueron:

- Vinificar en blanco a 20 ºC con *Niágara rosada* (con k =40).
- Vinificar en blanco a 20 ºC con *Isabella tinto* (con k = 40).
- Vinificar en blanco a 22 ºC con *Niágara rosada* (con k >40 en aditivos y levaduras)
- Vinificar en blanco a 24 ºC con *Niágara rosada* (con k >40 en aditivos y levaduras)

Etapa G: Selección del equipamiento industrial

Las acciones realizadas fueron:

- Calcular y seleccionar las capacidades y características de los equipos a nivel industrial utilizando k = 40

- Atenuar los impactos ambientales de los efluentes industriales

Etapa H: Estimación de costos y rentabilidad del proceso tecnológico

Las acciones realizadas fueron:

- Estimar la inversión de capital y costos de producción.
- Realizar un análisis dinámico de las alternativas de producción

3.1.1. Etapa E: Procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco

Unidad productiva de uvas no viníferas de color

En primer lugar es necesario constituir una unidad productiva que cultive las uvas que serán la materia prima procesada en la elaboración de vino.

La unidad productiva estaría compuesta por 12 familias que sembrarían en promedio 27 ha cada una con un subsidio del gobierno provincial o con préstamos a mediano y largo plazo.

Al tercer año se puede iniciar la cosecha de 8-13 ton viñedo/ha y a partir del 4to año de 13-18 ton viñedo/ha. (INTA, 2007)

A fin de elegir un tamaño de planta adecuado, cada familia (flía) necesitará plantar 27 ha de V*itis labrusca*. Estas 27 ha/flía estarán conformadas por variedades diferentes: 9 ha de uva *Venus* para cosechar en noviembre, 9 ha de uva *Niágara rosada* para cosechar en diciembre y 9 ha de uva *Isabella tinto* para cosechar en enero. (MAyP, 2007)

Cálculo de la producción total de viñedo por mes:

Reemplazando los valores seleccionados y aplicados se obtuvieron según Formento, (2006):

ton/mes flía= 9 (ha viñedo/mes flía) 13 (ton viñedo/ha viñedo) = 117 ton viñedo / mes flía

ton/mes = (117 ton viñedo/mes flía) (12 flías) = 1.404 ton viñedo / mes

Cálculo de la producción de viñedo por año:

ton/año flía = 117 (ton viñedo/mes flía) (3 meses/año) = 351 ton viñedo / año flía

ton/año = 351 (ton viñedo/año flía) (12 flías) = 4.212 ton viñedo / año

Tamaño de la planta para satisfacer a la unidad productiva

Para una jornada laboral de 8 h/día a razón de 30 días/mes

La materia prima = (1.404 ton viñedo/mes). (1 mes/30 días) = 46,8 ton viñedo / día

Se considera como alimentación adecuada = 48 ton viñedo/día

Para operar la planta 6 h / jornada con 1 h de limpieza

Tamaño = (48 ton viñedo/ día) (1 día / 6 h) = 8 ton viñedo / h

Tecnología para la elaboración de vino blanco seco

En la Tabla 13 se representan las operaciones para la elaboración de vino blanco que fueron seleccionadas para la elaboración de vinos blancos tradicionales pero aplicados aquí a los mostos de *Vitis* no *viníferas* de color inoculados con *S. bayanus.*

Tabla 13. Operación de elaboración de vino blanco seco con uvas de color

OPERACIONES	**ADITIVOS**	***Vitis* no *viníferas* de color** Viñedo
1		Recepción
2		Pesado
3		Despalillado (Optativo)
4		Estrujado
5		Prensado
6	3 g SO_2 / hL 2 g enz. pept./ hL	Clarificado
7	1 g fosfato amonio/ hL 1 g *S.bayanus* / hL	Fermentación Alcohólica En Condiciones Enológicas
8	6 g SO_2/ hL	Clarificación
9		Almacenado
10		Filtrado
11	Llevar a 35 mg SO_2 libre/hL	Envasado

Fuente: Elaboración propia

3.1.2. Etapa F: Evaluación en planta piloto del procedimiento tecnológico establecido.

En esta etapa se evaluó el procedimiento tecnológico establecido, para ello se aplicó un cambio de escala con factor k = 40, siendo m = 5 kg de viñedo por muestra preparada en laboratorio.

m`(muestra en planta piloto) = k.m = 40. 5 = 200 kg de viñedo por muestra en planta piloto.

A escala planta piloto se aplicaron las semejanzas: mecánicas, geométricas, térmicas y de concentración para todos los ensayos de vinificaciones respecto a las realizadas en laboratorio.

A continuación se desarrollan las vinificaciones de planta piloto para uvas *Niágara* e *Isabella.*

Elaboración de vino blanco a 20 ºC con 200 kg del viñedo de *Niágara rosada.*

La ficha técnica de la uva *Niágara rosada* fue presentada en la Tabla 6 de la página 50.

En la Tabla 14 se presentan las operaciones unitarias aplicadas para la elaboración de vino blanco seco a escala planta piloto.

Tabla 14. Operaciones de elaboración de vino blanco seco sin despalillado

APLICADO	ADITIVOS	OPERACIONES
SI		Recepcion y Pesado
NO		Despalillado
SI		Estrujado
SI		Prensado
SI	3 g SO_2 / hL 2 g enz. pept./ hL	Clarificación
SI	1 g fosfato de amonio/ hL 1 g *S.bayanus* / hL	Fermentación Alcohólica en condiciones enológicas
SI	6 g SO_2/ hL	Clarificación
SI		Almacenado
NO		Filtrado
NO	Llevar a 35 mg SO_2 libre/hL	Envasado

Fuente: Elaboración propia

Recepción y pesado:

Se recibieron en cajas de 10-15 kg y fueron pesadas en una báscula de piso.

Se pesaron 200 kg de viñedo.

Estrujado y prensado neumático: en la Tabla 15 se presenta el balance de masa

Tabla 15. Balance de masa en la prensa neumática con mostos de NR a 20ºC

Entra		Sale
200 kg de viñedo (100% p/p)	Estrujado y Prensado neumático	132 kg de mosto (66% p/p) 28 kg (escobajo+hollejo+semillas (14% p/p) 40 kg de mosto embebido (20% p/p)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del mosto = 1,080 kg $.L^{-1}$

Volumen del mosto = (132 kg de mosto) $(1{,}08 \text{ kg } L^{-1})^{-1}$ = 122,2 L mosto

Clarificación: en la Tabla 16 se presenta el balance de masa de la primera clarificación.

Tabla 16. Balance de masa de la primera clarificación con mostos de NR a 20ºC

Entra		Sale
3 g SO_2 / hL 2 g enz. pept./ hL 122,2 L mosto (100% v/v)	Clarificación Duración: 1 día	114,8 L mosto útil (94% v/v) 7,33 L borras (6% v/v)

Fuente: Elaboración propia

El mosto clarificado para fermentar fue de 114,8 L

Fermentación: en esta operación la semejanza geométrica estuvo dada por la misma relación (diámetro/altura) (1/3) respecto del recipiente utilizado en laboratorio y por el enfriamiento de la pared exterior del recipiente en ambos casos mediante cámara térmica.

El volumen producido fue inferior al del mosto que le dio origen en 2 % v/v debido:

- La contracción de la mezcla alcohol-agua
- Las pérdidas por el desprendimiento del CO_2
- El arrastre de algunas sustancias volátiles (alcohol y otras)
- Precipitaciones de sales tartáricas.

En la siguiente Tabla 17 se presenta el balance de masa para la fermentación en planta piloto.

Tabla 17. Balance de masa en la fermentación con mostos de NR a 20 ºC

Entra		Sale
1 g fosfato de amonio/ hL 1 g *S.bayanus* / hL 114,8 L mosto (100% v/v)	Fermentación Duración:14 días a 20ºC	112,5 L vino con borra (98% v/v) 2,29 L pérdidas varias (2% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino con borras = 0,994 kg L^{-1}

Peso del vino con borras = (112,5 L vino con borra) (0,994 kg L^{-1}) = 111,8 kg vino con borra

Clarificado: en la Tabla 18 se expresa el balance de masa.

Tabla 18. Balance de masa en la segunda clarificación con mostos de NR a 20 ºC

Entra		Sale
6 g SO_2/ hL 112,5 L vino con borra (100% v/v)	Clarificación Duración: 2 días	104,6 L vino (93% v/v) 7,87 L borra (7% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino: 0,992 kg L^{-1} (medida en planta piloto)

El rendimiento global = (104,6 L vino)10^2 (200 kg viñedo)$^{-1}$ = 52,3 % (L vino) (kg viñedo)$^{-1}$

Con 1 kg de viñedo *Niágara rosada* se pudo elaborar 0,523 L de vino blanco seco con el procedimiento tecnológico establecido en la Tabla 14 de la página 73.

Los resultados de los análisis físico-químicos de los vinos elaborados en planta piloto se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Análisis del vino blanco obtenido a 20 ºC con NR*

Acidez total g tartárico L^{-1}	Acidez volátil g acético L^{-1}	SO_2 libre mg L^{-1}	SO_2 total mg L^{-1}	Azúcares g L^{-1}	Ext. Seco g L^{-1}	Metanol mL L^{-1}	Etanol % v/v	pH
6,1	0,39	25	133	1,02	16,04	0,08	10,4	3,4

*(INV, 2007)

De acuerdo a los valores presentados en la Tabla 19 los vinos elaborados con la tecnología establecida cumplieron con las exigencias del INV para sus variables de control.

Tanque de fermentación usado para el modelo de planta piloto:

La condición es que la altura (L) sea igual a 3 veces el diámetro (D) para k = 40 en viñedo; por lo tanto para 5 kg de viñedo en laboratorio le corresponden 200 kg viñedo en planta piloto.

Se calcula con la fórmula del volumen de mosto: 114,8 L = 0,1148 m^3 = (π D^2 / 4) 3D

Reemplazando y despejando D = 0,365 m y L = 1,09 m

Aunque no se produjo formación de espuma en el laboratorio se agregó una altura de 20 cm más: L = (1,2) (1,09 m) = 1,3 m; el tanque fue de V = 0,136 m^3

Este tanque en acero inoxidable se utilizó en la fermentación.

Se mantuvo el mosto a 20 ºC en cámara de refrigeración.

Si se hubiera utilizado un recipiente encamisado, donde el agua de refrigeración estuviera disponible a 7 ºC (como en los equipos industriales), el caudal másico del agua de enfriamiento es una información tecnológica útil.

Por este motivo se realizó el siguiente cálculo, partiendo de valores conocidos como:

Calor desprendido durante la fermentación (H) = - 24,5 kcal mol^{-1} de glucosa (Bordeau, 2005)

Peso molecular azúcar (PM) = 180 g mol^{-1} ($C_6H_{12}O_6$) (Chang, 2006)

Para uva *Niágara* en planta piloto

Contenido inicial de azúcar (CA)= 183 g L^{-1} mosto (Miño Valdés y Herrera, 2007)

Por lo que el calor disipado por litro de mosto resulta: Q= H CA PM^{-1} (Bordeau, 2007)

El calor disipado = (24,5 kcal mol^{-1}) (183 g azúcar L^{-1}) (180 g mol^{-1})$^{-1}$ = 24,9 kcal L^{-1}

Volumen inicial del mosto (Vo)= 114,8 L (dato de planta piloto)

Duración de la fermentación (t_f) = 14 días (Miño Valdés y Herrera, 2007)

La cantidad de calor liberado por hora en la fermentación:

q = Q Vo t^{-1} = (24,9 kcal L^{-1}) (114,8 L) (14 días)$^{-1}$ (1día) (24 h)$^{-1}$= 8,5 kcal h^{-1}

Calor específico del agua (Cp) $_{10ºC}$ = 1,002 kcal (kg ºC)$^{-1}$ (Earle, 2003)

ΔT = (20 – 7) ºC = 13 ºC

El caudal másico de agua de enfriamiento para el interior del encamisado:

m = q/(Cp ΔT) = (8,5 kcal h^{-1}) (1,002 kcal.13ºC / kgºC)$^{-1}$ = 0,652 kg agua h^{-1}

Elaboración de vino blanco a 20 ºC con uva *Isabella tinto*

En la Tabla 20 se presentan las operaciones unitarias aplicadas para la elaboración de vino blanco seco a escala planta piloto para uva *Isabella tinto*.

Tabla 20. Operación de elaboración de vino blanco seco con despalillado en planta piloto

APLICADO	ADITIVOS	OPERACIONES
SI		Recepción y Pesado
SI		Despalillado
SI		Estrujado
SI		Prensado
SI	3 g SO_2 / hL 2 g enz. pept./ hL	Clarificación
SI	1 g fosfato de amonio/ hL 1 g *S.bayanus* / hL	Fermentación Alcohólica en condiciones enológicas
SI	6 g SO_2/ hL	Clarificación
SI		Almacenado (3 Semanas 0ºC)
NO		Filtrado
SI	Llevar a 35 mg SO_2 libre/hL	Envasado

Fuente: Elaboración propia

Recepción y pesado:

Se recibieron en cajas de 10-15 kg y fueron pesadas en una báscula.

Se pesaron 200 kg de viñedo.

Despalillado y Estrujado: en la Tabla 21 se expresa el balance de masa.

Tabla 21. Balance de masa del despalillado a 20 ºC con mostos de IT

Entra		Sale
200 kg de viñedo (100% p/p)	Despalillado y Estrujado	192 kg de mosto (96% p/p) 8 kg escobajo (4% p/p)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del mosto = 1,070 kg $.L^{-1}$

Volumen del mosto = (192 kg de mosto) $(1{,}07 \text{ kg } L^{-1})^{-1}$ = 179,43 L mosto

Prensado neumático: en la Tabla 22 se expresa el balance de masa.

Tabla 22. Balance de masa en la prensa neumática a 20 ºC con mostos de IT

Entra		Sale
179,4 L mosto (100% v/v)	Prensado neumático	132 L de mosto (69% v/v) 19,7 L (hollejo+semillas (11% v/v) 35,8 L de mosto embebido (20% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Volumen de mosto para clarificar fue de 132 L.

Clarificación: en la Tabla 23 se expresa el balance de masa de la primera clarificación.

Tabla 23. Balance de masa de la primera clarificación a 20 ºC con mostos de IT

Entra		Sale
3 g SO_2 / hL 2 g enz. pept./ hL 132,43 L mosto (100% v/v)	Clarificación Duración: 1 día	124 L mosto útil (94% v/v) 7,94 L borras (6% v/v)

Fuente: Elaboración propia

El mosto clarificado para fermentar fue de 124 L

Fermentación: en esta operación la semejanza geométrica estuvo dada por la misma relación (diámetro/altura) (1/3) respecto del recipiente utilizado en laboratorio y por el enfriamiento de la pared exterior del recipiente en ambos casos mediante cámara térmica.

El vol. producido fue inferior al del mosto que le dio origen en 2 % v/v (Díaz Peralta, 2008)

En la siguiente Tabla 24 se presenta el balance de masa para la fermentación en planta piloto.

Tabla 24. Balance de masa en la fermentación a 20 ºC con mostos de IT

Entra		Sale
1 g fosfato de amonio/ hL 1 g *S.bayanus* / hL 124 L mosto útil (100% v/v)	Fermentación	121,5 L vino con borra (98% v/v) 2,5 L pérdidas varias (2% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino con borras = 0,997 kg L^{-1}

Peso del vino con borras = (121,5 L vino con borra) (0,997 kg L^{-1}) = 121,1 kg vino con borra

Clarificación: en la Tabla 25 se presenta el balance de masa.

Tabla 25. Balance de masa de la segunda clarificación a 20 ºC con mosto de IT

Entra		Sale
6 g SO_2/ hL 121,5 L vino con borra (100% v/v)	Clarificación	112,9 L vino (93% v/v) 8,6 L borra (7% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino: 0,995 kg L^{-1} (medida en planta piloto)

El rendimiento global = (112,9 L vino)10^2 (200 kg viñedo)$^{-1}$ = 56,4 % (L vino) (kg viñedo)$^{-1}$

Con 1 kg de viñedo *Isabella tinto* se pudo elaborar 0,564 L de vino blanco seco aplicando el procedimiento tecnológico establecido en la Tabla 20 de la página 76.

En la Tabla 26 se presentan los resultados del análisis físico-químico de los vinos blancos elaborados a 20 ºC con mostos de IT.

Tabla 26. Análisis del vino blanco obtenido a 20 ºC con mostos de IT*

Acidez total g tartárico L^{-1}	Acidez volátil g acético L^{-1}	SO_2 libre mg L^{-1}	SO_2 total mg L^{-1}	Azúcares g L^{-1}	Ext. Seco g L^{-1}	Metanol mL L^{-1}	Etanol % v/v	pH
5,7	0,49	35	110	2,1	25,19	0,31	9,6	3,7

*(INV, 2007)

De acuerdo a los valores presentados en la Tabla 26 los vinos elaborados con la tecnología establecida fueron aptos para el consumo humano o la guarda.

De acuerdo al cálculo realizado en la página 75 para el tanque de fermentación usado en planta piloto y a efectos de estandarizar tamaños las dimensiones se fijaron en:

Diámetro D = 0,365 m, L = 1,3 m y V = 0,136 m^3.

Se mantuvo el mosto a 20 ºC en cámara de refrigeración.

Para un recipiente con encamisado y agua disponible a 7 ºC, el caudal másico del agua sería:

Contenido inicial de azúcar (CA) = 168 g L^{-1} mosto (Miño-Valdés y Herrera, 2007)

Por lo que el calor disipado por litro de mosto resulta: 24,5 kcal mol^{-1} (Bordeau, 2007)

Calor disipado $Q = H\ CA\ PM^{-1} = (24{,}5\ \text{kcal mol}^{-1})(168\ \text{g azúcar L}^{-1}\ \text{mosto})(180\ \text{g mol}^{-1})^{-1} =$

$= 22{,}86\ \text{kcal L}^{-1}$

Volumen inicial del mosto (Vo)= 124 L

Duración de la fermentación (t_f) = 14 días

El calor liberado por hora en la fermentación:

$q = Q\ Vo\ t^{-1} = (22{,}86\ \text{kcal L}^{-1})\ (124\ \text{L})\ (14\ \text{días})^{-1}(1\ \text{día})\ (24\ \text{h})^{-1} = 8{,}46\ \text{kcal h}^{-1}$

Calor específico del agua $(Cp)_{10^oC} = 1{,}002\ \text{kcal (kg ºC)}^{-1}$ (Ibarz, 2008)

$\Delta T = (20 - 7)\ ºC = 13\ ºC$

El caudal másico de agua de enfriamiento para el interior del encamisado:

$m = q/(Cp\ \Delta T) = (8{,}46\ \text{kcal h}^{-1})\ (1{,}002\ \text{kcal}.13\ ºC / \text{kgºC})^{-1} = 0{,}649\ \text{kg agua h}^{-1}$

Elaboración de vino blanco a 22 ºC con 200 kg del viñedo de *Niágara rosada.*

En la siguiente Tabla 27 se presentan las operaciones unitarias aplicadas para la elaboración de vino blanco seco a escala planta piloto y los aditivos en otras concentraciones.

Tabla 27. Operaciones de elaboración de vino blanco a 22 ºC con mosto de NR

APLICADO	ADITIVOS	OPERACIONES
SI		Recepción y Pesado
NO		Despalillado
SI		Estrujado
SI		Prensado
SI	2 g enzimas peptolíticas/ hL 5 g SO_2 / hL	Clarificación
SI	20 g *S.bayanus* / hL 2.(2,5 g fosfato de amonio/hL) 5 g tiamina / hL 2,4 g acido ascórbico/ hL 20 g bentonita / hL	Fermentación Alcohólica en condiciones enológicas
SI	6 g SO_2/ hL	Clarificación
SI		Almacenado
NO		Filtrado
NO	Llevar a 35 mg SO_2 libre/hL	Envasado

Fuente: Elaboración propia

Recepción y pesado:

Se recibieron en cajas de 10-15 kg y fueron pesadas en una báscula de piso.

Se pesaron 200 kg de viñedo.

Estrujado y prensado neumático: en la Tabla 28 se presenta el balance de masa.

Tabla 28. Balance de masa en la prensa neumática a 22 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
200 kg de viñedo (100% p/p)	**Estrujado y Prensado neumático**	**136 kg de mosto** (68% p/p) 26 kg (escobajo+hollejo+semillas)(13% p/p) 38 kg de mosto embebido (19% p/p)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del mosto = 1,080 kg $.L^{-1}$

Volumen del mosto = (136 kg de mosto) $(1{,}08 \text{ kg } L^{-1})^{-1}$ = 126 L mosto

Clarificación: en la Tabla 29 se expresa el balance de materia.

Tabla 29. Balance de masa en la primera clarificación a 22 ºC con IT

Entra		Sale
2 g enzimas peptolíticas/ hL 5 g SO_2 / hL 126 L mosto (100% v/v)	Clarificación Duración 1 día	118 L mosto útil (94% v/v) 7,56 L borras (6% v/v)

Fuente: Elaboración propia

El mosto clarificado para fermentar fue de 118 L

Fermentación: en esta operación la semejanza geométrica estuvo dada por la misma relación (diámetro/altura) (1/3) respecto del recipiente utilizado en laboratorio y por el enfriamiento de la pared exterior del recipiente en ambos casos mediante cámara térmica. No se aplicó el factor de proporcionalidad a las concentraciones sino que se trabajó con las sugerencias de la bibliografía para *Vitis viníferas* a nivel industrial.

El vol. producido fue inferior al del mosto que le dio origen en 2 % v/v (Díaz Peralta, 2008)

En la siguiente Tabla 30 se presenta el balance de masa para la fermentación en planta piloto.

Tabla 30. Balance de masa en la fermentación a 22 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
20 g *S.bayanus* / hL 2.(2,5 g fosfato de amonio/hL) 5 g tiamina / hL 2,4 g acido ascórbico/ hL 20 g bentonita / hL 118 L mosto útil (100% v/v)	Fermentación Duración:10 días a 22ºC Con 2 remontajes	115,6 L vino con borra (98% v/v) 2,4 L pérdidas varias (2% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino con borras = 0,994 kg L^{-1}

Peso del vino con borras = (115,4 L vino con borra) (0,994 kg L^{-1}) = 114,7 kg vino con borra

Clarificado: en la Tabla 31 se presenta el balance de masa.

Tabla 31. Balance de masa en la segunda clarificación a 22 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
115,4 L vino con borra (100% v/v)	Clarificación	107,3 L vino (93% v/v) 8,07 L borra (7% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino: 0,992 kg L^{-1} (medida en planta piloto)

El rendimiento global = (107,3 L vino) 10^2 (200 kg viñedo)$^{-1}$ = 53,5 % (L vino) (kg viñedo)$^{-1}$

Con 1 kg de viñedo *Niágara rosada* se pudo elaborar 0,535 L de vino blanco seco con el procedimiento tecnológico establecido en la Tabla 57.

En la **Tabla 32** se presentan los resultados de los análisis físico-químicos de los vinos elaborados a 22 ºC con mostos de NR en planta piloto.

Tabla 32. Análisis del vino blanco elaborado a 22 ºC con mostos de NR*

Acidez total g tartárico L^{-1}	Acidez volátil g acético L^{-1}	SO_2 libre mg L^{-1}	SO_2 total mg L^{-1}	Azúcares g L^{-1}	Ext. Seco g L^{-1}	Metanol mL L^{-1}	Etanol % v/v	pH
6,7	0,45	28	122	<1	15	0,09	10,5	3,5

*(INV, 2007)

De acuerdo a los valores presentados en la Tabla 32 los vinos elaborados con la tecnología establecida cumplieron con las exigencias del INV para sus variables de control.

De acuerdo al cálculo realizado en la página 75 para el tanque de fermentación en planta piloto a 22 ºC y a efectos de estandarizar tamaños se tomó:

El diámetro D = 0,365 m, L = 1,3 m y V = 0,136 m^3

Se mantuvo el mosto a 22 ºC en cámara de refrigeración.

Agua de enfriamiento para el encamisado en la fermentación a 22 ºC.

Con agua de refrigeración a 7 ºC (como en los equipos industriales) los requerimientos serían:

Calor desprendido durante la fermentación (H) = - 24,5 kcal mol^{-1} de glucosa

Peso molecular azúcar (PM) = 180 g mol^{-1} ($C_6H_{12}O_6$)

Para mosto de uva *Niágara* en planta piloto

Contenido inicial de azúcar (CA) = 183 g L^{-1} mosto

Por lo que el calor disipado por litro de mosto resulta: $Q= H\ CA\ PM^{-1}$

El calor liberado = (24,5 kcal mol^{-1}) (183 g azúcar L^{-1} mosto) (180 g $mol^{-1})^{-1}$ = 24,9 kcal L^{-1}

Volumen inicial del mosto para fermentar (Vo)= 118 L

Duración de la fermentación (t_f) = 10 días (Miño-Valdés y Herrera, 2007)

Por lo que la cantidad de calor liberado por hora de la fermentación es:

$q = Q\ Vo\ t^{-1}$ = (24,9 kcal L^{-1}) (118 L) (10 días)$^{-1}$(1día) (24 h)$^{-1}$= 12,24 kcal h^{-1}

Calor específico del agua $(Cp)_{10ºC}$ = 1,002 kcal (kg ºC)$^{-1}$ (Ercoli, 2009)

ΔT = (22 – 7) ºC = 15 ºC

El caudal másico de agua de enfriamiento para el interior del encamisado del recipiente utilizado en planta piloto fue:

$m = q/(Cp\ \Delta T)$ = (12,24 kcal h^{-1}) (1,002 kcal 15 ºC / kgºC)$^{-1}$ = 0,81 kg agua h^{-1}

Elaboración de vino blanco a 24 ºC con 200 kg del viñedo de *Niágara rosada.*

En la Tabla 33 se presentan las operaciones unitarias aplicadas para la elaboración de vino blanco seco a escala planta piloto y los aditivos en otras concentraciones.

Tabla 33. Operaciones de elaboración de vino blanco a 24 ºC con mostos de NR

APLICADO	ADITIVOS	OPERACIONES
SI		Recepcion y Pesado
NO		Despalillado
SI		Estrujado
SI		Prensado
SI	2 g enzimas peptolíticas/ hL 5 g SO_2 / hL	Clarificación
SI	20 g *S.bayanus* / hL 2.(2,5 g fosfato de amonio/hL) 5 g tiamina / hL 2,4 g acido ascórbico/ hL 20 g bentonita / hL	Fermentación Alcohólica
SI	6 g SO_2/ hL	Clarificación
SI		Almacenado
NO		Filtrado
NO	Llevar a 35 mg SO_2 libre/hL	Envasado

Fuente: Elaboración propia

Recepción y pesado:

Se recibieron en cajas de 10-13 kg y fueron pesadas en una báscula de piso.

Se pesaron 200 kg de viñedo.

Estrujado y prensado neumático: en la Tabla 34 se presenta el balance de masa.

Tabla 34. Balance de masa en la prensa neumática a 24 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
200 kg de viñedo (100% p/p)	Estrujado y Prensado neumático	138 kg de mosto (69% p/p) 26 kg (escobajo+hollejo+semillas)(13% p/p) 36 kg de mosto embebido (18% p/p)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del mosto = 1,080 kg $.L^{-1}$

Volumen del mosto = (138 kg de mosto) $(1{,}08 \text{ kg } .L^{-1})^{-1}$ = 127,7 L mosto

Clarificación: en la Tabla 35 se presenta el balance de materia.

Tabla 35 Balance de masa en la primera clarificación a 24 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
2 g enzimas peptolíticas/ hL 5 g SO_2 / hL 127,7 L mosto (100% v/v)	Clarificación Duración 1 día	120 L mosto útil (94% v/v) 7,66 L borras (6% v/v)

Fuente: Elaboración propia

El mosto clarificado para fermentar fue de 120 L.

Fermentación: en esta operación la semejanza geométrica estuvo dada por la misma relación (diámetro/altura) (1/3) respecto del recipiente utilizado en laboratorio y por el enfriamiento de la

pared exterior del recipiente en ambos casos mediante cámara térmica. No se aplicó el factor de proporcionalidad a las concentraciones sino que se trabajó con las sugerencias de la bibliografía para *Vitis viníferas* a nivel industrial.

El volumen producido fue inferior al del mosto que le dio origen en 2 % v/v (Díaz Peralta, 2006)

En la Tabla 36 se presenta el balance de masa para la fermentación en planta piloto.

Tabla 36. Balance de masa en la fermentación a 24 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
20 g *S.bayanus* / hL 2.(2,5 g fosfato de amonio/hL) 5 g tiamina / hL 2,4 g acido ascórbico/ hL 20 g bentonita / hL 120 L mosto útil (100% v/v)	Fermentación 8 días a 24 ºC 2 remontajes	117,6 L vino con borra (98% v/v) 2,4 L pérdidas varias (2% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino con borras = 0,994 kg L^{-1}

Peso del vino con borras = (115,4 L vino con borra) (0,994 kg L^{-1}) = 117,6 kg vino con borra

Clarificado: en la Tabla 37 se presenta el balance de masa.

Tabla 37. Balance de masa en la segunda clarificación a 24 ºC con mostos de NR

Entra		Sale
6 g SO_2/ hL 117,6 L vino con borra (100% v/v)	Clarificación	109,36 L vino (93% v/v) 8,23 L borra (7% v/v)

Fuente: Elaboración propia

Densidad del vino: 0,992 kg L^{-1} (medida en planta piloto)

El rendimiento global = (109,36 L vino) 10^2 (200 kg viñedo)$^{-1}$ = 54,7 % (L vino) (kg viñedo)$^{-1}$

Con 1 kg de viñedo *Niágara rosada* se pudo elaborar 0,547 L de vino blanco seco con el procedimiento tecnológico establecido en la Tabla 33 de la página 82.

En la Tabla 38 se presentan los resultados de los análisis físico-químicos de los vinos elaborados a 24 ºC con mostos de NR en planta piloto.

Tabla 38. Análisis del vino blanco elaborado a 24 ºC con mostos de NR*

Acidez total g tartárico L^{-1}	Acidez volátil g acético L^{-1}	SO_2 libre mg L^{-1}	SO_2 total mg L^{-1}	Azúcares g L^{-1}	Ext. Seco g L^{-1}	Metanol mL L^{-1}	Etanol % v/v	pH
7	0,55	22	128	<1	18	0,06	10,5	3,4

*(INV, 2007)

De acuerdo a los valores presentados en la Tabla 67 los vinos elaborados con la tecnología establecida fueron aptos para el consumo humano o la guarda.

De acuerdo al cálculo realizado en la página 75 para el tanque de fermentación en planta piloto y a efectos de estandarizar tamaños se tomó para 24 ºC un tanque con: diámetro D = 0,365 m; L = 1,3 m; y V = 0,136 m^3.

Se mantuvo el mosto a 24 ºC en cámara de refrigeración.

Con agua disponible a 7 ºC (como en los equipos industriales) los requerimientos serían:

Calor desprendido durante la fermentación (H) = - 24,5 kcal mol^{-1} de glucosa

Peso molecular azúcar (PM) = 180 g mol^{-1} ($C_6H_{12}O_6$)

Para uva *Niágara rosada* en planta piloto:

Contenido inicial de azúcar (CA) = 183 g L^{-1} mosto

Por lo que el calor disipado por litro de mosto resulta: $Q= H\ CA\ PM^{-1}$

El calor disipado = (24,5 kcal mol^{-1}) (183 g azúcar L^{-1} mosto) (180 g $mol^{-1})^{-1}$ = 24,9 kcal L^{-1}

Volumen inicial del mosto (Vo) = 120 L

Duración de la fermentación (t_f) = 8 días (Miño-Valdés y Herrera, 2007)

Por lo que la cantidad de calor liberado por hora en la fermentación fue:

$q = Q\ Vo\ t^{-1}$ = (24,9 kcal L^{-1}) (120 L) (8 días)$^{-1}$(1día) (24 h)$^{-1}$= 15,56 kcal h^{-1}

Calor específico del agua $(Cp)_{10ºC}$ = 1,002 kcal (kg ºC)$^{-1}$ (Earle, 2003)

ΔT = (24 – 7) ºC = 17 ºC

El caudal másico de agua de enfriamiento para el interior del encamisado:

$m=q/(Cp\ \Delta T)$=(15,56 kcal h^{-1}).(1,002 kcal.17ºC / kgºC)$^{-1}$ = 0,91 kg agua . h^{-1}

3.1.3. Etapa G: Selección del equipamiento industrial proyectado

En esta etapa se calculó y seleccionó el equipamiento para el procedimiento tecnológico evaluado en la etapa E (planta piloto); para ello se aplicó k = 40 (factor de escala) siendo m = 200 kg de viñedo por muestra preparada en planta piloto y m` (escala industrial).

m`= k m = 40 200 kg = 8.000 kg de viñedo/hora en la planta industrial.

Las semejanzas aplicadas fueron mecánicas, geométricas, térmicas y de concentración.

En la Tabla 39 se presentan los rendimientos proyectados de planta piloto a escala industrial.

El mayor rendimiento fue a 24 ºC para 8 ton de viñedo NR con 8.000 kg se esperan obtener 4.376 L vino blanco seco que envasados representan 5.834 botellas de vino de 0,75 L c/u.

Tabla 39. Rendimientos globales proyectados de planta piloto para 8 ton de viñedo

A 20 ºC fue de: 52,3 % (kg vino blanco / kg viñedo *Níágara rosada*) Con 8.000 kg viñedo NR se podrían obtener 4.184 L vino blanco seco ≡ 5.578 botellas de vino
A 20 ºC fue de: 56,4 % (kg vino blanco / kg viñedo *Isabella tinto*) Con 8.000 kg viñedo IT se podrían obtener 4.512 L vino blanco seco ≡ 6.016 botellas de vino
A 22 ºC fue de: 53,5 % (kg vino blanco / kg viñedo *Níágara rosada*) Con 8.000 kg viñedo NR se podrían obtener 4.280 L vino blanco seco ≡ 5.706 botellas de vino
A 24 ºC fue de: 54,7 % (kg vino blanco / kg viñedo *Níágara rosada*) Con 8.000 kg viñedo NR se podrían obtener 4.375 L vino blanco seco ≡ 5.834 botellas de vino

Fuente: elaboración propia

En la Tabla 40 se presentó el balance de masa utilizando un factor k=40 respecto del modelo tecnológico establecido en planta piloto que duró menos días.

Tabla 40. Balance de masa a escala industrial para uva NR a 24 ºC (k = 40) con los rendimientos proyectados de planta piloto

ENTRADAS a las operaciones	**OPERACIONES BÁSICAS**	**SALIDAS** de las operaciones	**Efluentes** de las operaciones
8.000 kg viñedo →	RECEPCION y PESADO →	8.000 kg viñedo	
8.000 kg viñedo →	ESTRUJADO y PRENSADO →	5.520 kg mosto (5.111,1 L mosto) →	2.480 kg de escobajo, hollejo, mosto y semillas
5.111,1 L mosto →	CLARIFICADO Duración: 1 día →	4.800 L mosto →	306,4 L borra
4.800 L mosto →	FERMENTACION ALCOHOLICA (8 días a 24 ºC) →	4.704 L vino con borra 4.676 kg vino →	96 L pérdidas
4.704 L vino con borra →	CLARIFICACION Duración: 2 día →	4.376 L vino →	328 L borra
4.377 L vino →	ALMACENADO 3 semanas a 0 ºC →	4.377 L vino	
4.377 L vino →	FILTRADO →	4.376 L vino	
4.376 L vino →	ENVASADO →	5.834 botellas de vino	SALIDA Efluentes → Sólidos: 2480 kg Líquidos: 634,4 L

Fuente: elaboración propia

A continuación se inician los cálculos y la selección del equipamiento para el prototipo teniendo en cuenta k = 40 respecto del laboratorio.

Pesado del viñedo:

El viñedo es descargado manualmente en la bodega en cajas de plástico con 10-13 kg viñedo.

Se seleccionó una balanza de 250 kg de capacidad para pesar las cajas apiladas a mano en 2 columnas (de 5 cajas c/u) de 10-13 kg por caja.

Tolva para cajas:

Es el primer equipo de la línea de carga a la despalilladora, su velocidad variable permite la operación manual de la carga y la posibilidad de maximizar el rendimiento de la despalilladora, evitando cargas en exceso y dosificando el grano separado para la carga en serie de la prensa neumática.

El volumen unitario de la tolva se expresa en m^3/h.

El diámetro del tornillo (en m) se calcula mediante la fórmula de (Jacquet, 1995b)

$Dv = (\pi \ dv^2 / 4) (p \ N \ \rho_v \ 6 \ 10^{-2})$

Donde:

Dv: caudal medio de alimentación de una tolva de tornillo (8 ton viñedo/h)

dv: diámetro del tornillo en metros (incógnita a calcular)

p: paso del tornillo (0,5 m)

N: velocidad de rotación del tornillo (60 rpm)

ρ_v: densidad volumétrica de la vendimia (55 kg/m^3)

despejando queda:

$dv^2 = (Dv \ 4) / (\pi \ p \ N \ \rho_v \ 6.10^{-2})$

Reemplazando y calculando queda:

$dv = \{ (8 \ . \ 4) / (\pi \ . \ 0{,}5 \ . \ 60 \ . \ 55 \ . \ 6 \ .10^{-2} \ \}^{-1/2} = 0, 32$ m

Equipo seleccionado: se descartó el tornillo sin fin y se eligió un transporte con cinta elevadora. Las características técnicas son: construcción en acero inoxidable AISI 304; voltaje: 380 V / 50 Hz; moto-reductor: 1,5 kW; patas con ruedas fijas y giratorias.

Estrujadora y despalilladora: fue seleccionada para elaborar vinos blancos macerados.

Este equipo es necesario para separar el grano de uva del racimo. El diámetro del grano de uva estándar es de 19 mm; en su parte inferior los granos de uva se comprimen suavemente facilitando su tratamiento posterior. Posee un dispositivo para regular el ajuste.

Las características técnicas son: producción 7.000-9.000 kg h^{-1}; potencia instalada: 1,87 Kw; construcción en acero inoxidable AISI-304; árbol batido: 245/660 giros min^{-1}; alimentación tornillo sin fin: 24/63 giros min^{-1}; largo: 2.995 mm; ancho: 910 mm; alto salida escobajo: 1.420 mm; altura salida vendimia: 400 mm; cilindro perforado en acero inoxidable; rodillos de goma regulables para el triturado de uvas; panel de comando; árbol batidor a paleta en acero inoxidable patas con ruedas para desplazamientos; tablero eléctrico; variador mecánico de velocidad

Prensado

En la prensa se obtiene el mosto que previo clarificado se envía al tanque de fermentación.

Se calcula del volumen de la caja a instalar (Vca) puede ser estimada por la fórmula:

Vca = (M) (10) / (Cc) (n)

C_c es el coeficiente de carga de la caja de prensa, varía en función de la vendimia y de las condiciones de utilización (tipo de aprovisionamiento, tiempo de escurrido, número de rotaciones de la caja en el llenado). Para vendimia escurrida varía entre 2 y 3.

M = 48 ton de carga máxima en un día pico.

n = 6 (número de ciclos diarios de funcionamiento de la prensa) y Cc = 2,5

Reemplazando: Vca = (48) (10) / (2,5) (6) = 32 hL

El tiempo de prensado depende de numerosos factores como tr, Cc, estado de la vendimia y del rendimiento de extracción final exigido.

Caudal unitario (Du) en ton/h en una prensa discontinua: cálculo.

$Du = (C_c)\,(V_{ca})\,(60) / (10)(t_r + t_p + t_v)$

Vca = 32 hL (volumen de la caja a instalar calculado).

tr: tiempo de llenado en minutos

tp: tiempo de prensado en minutos

tv: tiempo de vaciado min

tr + tp + tv = 45 minutos

Reemplazando y calculando: Du = (2,5.32.60)/10.(45) = 10,6 ton / h

Se obtuvo un caudal unitario (Du) = 10,6 ton / h

Fue seleccionada una prensa neumática con membrana central.

Las características técnicas son: construcción: completa en acero inoxidable; tambor perforado de acero inoxidable con boca para carga y descarga; capacidad del tambor: 32 hL; potencia compresor: 4,4 kW; moto-reductor eje del tambor: 2,2 kW; conexión carga uva: diámetro nominal 100 mm; conexión salida mosto: diámetro nominal 50 mm; potencia total instalada: 6,6

kW; presión máxima 1,8 bar; boca de carga 605 x 435 mm; peso: 1.000 kg; cubeta para la recolección del mosto; moto-reductores de activación del tambor y del soporte de la membrana; panel de mando equipado con controlador PLC de fácil programación; equipo completo de protecciones contra accidentes (topes de seguridad); compresor incorporado.

Bomba a tornillo: para trasiego de molienda o mosto.

El mosto o el vino son similares al comportamiento del agua. Si el diámetro de las tuberías es > 70 mm las pérdidas de carga significativas están solo ligadas a los intercambiadores de calor, filtros, y membranas que son indicadas por los proveedores de equipamiento para un caudal determinado. La potencia eléctrica consumida por la bomba debe tener en cuenta el coeficiente de rendimiento.

$Pp\ (W) = (mca)\ g\ D\ \rho\ /\ Cb$

(mca) = 70 metros columna de agua y g = 9,81 m/s^2

De acuerdo al balance de masa se tratan unos 5.000 L mosto h^{-1}

Para un caudal D = 10 (m^3/h). (1 h/3.600 s) = $2,77.10^{-3}$ m^3/s, se toma = 0,003 m^3/s

Coeficiente de rendimiento de la bomba (Cb) = 0,7

ρ = 1.080 kg mosto /m^3 (dato de laboratorio y de planta piloto)

$Pp = 70.\ 9,81.3.10^{-3}.\ (1.080)/0,7$ = 3.178 W; potencia eléctrica a utilizar 4 kW

Fue seleccionada una bomba, con tolva de carga para trasiego de molienda o mosto, con carro, sensores de llenado, e inversor de polaridad. Las características técnicas son: potencia 4 kW; caudal: 10 m^3/h; presión: 1,8 bar; 200 rpm; peso: 185 kg; largo: 1 m; ancho: 1 m; ancho la tolva: 470 mm; tolva: 850 mm.

Clarificador (V_c) y Fermentador (V_f)

Se tomó para los cálculos el mayor volumen obtenido (fermentación a 24 ºC de NR)

A partir de 8.000 kg de viñedo y un k=40 se espera obtener un volumen V de mosto sucio para clarificar de 30,7 m^3, clarificado de 28,8 m^3, fermentado de 28,2 m^3 y clarificado de 26,2 m^3 vino.

A los efectos de tener cubas de tamaños estandarizados en diámetros y alturas se tomó el diámetro (D) = 2,5 m y un volumen (V) de mosto con borra de 30,7 m^3 = (π. D^2 / 4).L, se obtuvo una altura (L) = 6,2 m. y se agregaron 0,3 m de altura para prevenir la formación de espuma, la altura total fue: L = 6,2 m + 0,3 m = 6,5 m

El volumen del tanque de clarificación (V_c) = (π. D^2 / 4). L = (π. $2,5^2$ / 4). 6,5 = 31,9 m^3

Como se necesitan clarificar 30,7 m^3 mosto, un V_c de 31,9 m^3 es suficiente.

Se adoptan cubas de diámetro D = 2,5 m; L = 6,5 m y V = 31,9 m^3.

El $V_c = V_f$ = 31,9 m^3 para clarificar 30 m^3 mostos con borra y fermentar 28 m^3 de mostos sedimentados.

Tiempo de clarificado (Tc)

Las partículas a separar del mosto o del vino tienen forma esférica de diámetro (d), densidad (ρ_ρ), no están aglomeradas, y sedimentan a una velocidad (v) en el líquido de densidad (ρ_f) y viscosidad (μ). La ecuación utiliza fue:

$v = d^2 g (\rho_\rho - \rho_f) \mu / 18$ (según Flanzy, 2003)

El cálculo de v es mas preciso en la medida en que las partículas se alejan de la forma esférica ideal y en la medida en que interaccionan entre si. Para fangos obtenidos de una vendimia sana sin triturado excesivo: v = 0,15 m/h según Flanzy, (2003).

Tc = L / v. Donde la altura del líquido es (L). Reemplazando y calculando se obtiene:

Tc = 6,8 m / (0,15 m / h) = 45 h

Tc = (45 h) / (24 h/día) = 1,8 días

Para ajustar a la jornada laboral se consideró a Tc = 2 días y como el clarificado debe ser parcial, se toma 1 día como apropiado para la clarificación del mosto antes de la fermentación y se adoptan 2 días para la clarificación del vino después de la fermentación que debe ser mas severo.

Tanque para vinos (V_v)

De cada clarificador se obtienen 26,2 m^3 vino para almacenar y estabilizarlos por 3 meses a temperatura ambiente. Se previeron operar con 9 tanques de 270 m^3 c/u de mampostería impermeabilizada con revoque fino y pintura apropiada. Cada tanque para vino tendrá 30 m de largo por 3 m de ancho y 3 m de profundidad; con un declive de 2 grados en el piso.

Calor perdido por el fermentador Q:

El proceso de fermentación del mosto se lleva a cabo en un tanque de fermentación con encamisado, por donde circula agua de refrigeración disponible a 7 ºC. Para mantener constante la temperatura de la fermentación del mosto en 24 ºC; es necesario calcular la cantidad de agua de refrigeración necesaria por unidad de tiempo que recorrerá en el interior del encamisado.

Calor desprendido durante la fermentación (H) = - 24,5 kcal mol^{-1} de glucosa (Bordeau, 2008)

Peso molecular azúcar (PM) = 180 g mol^{-1} ($C_6H_{12}O_6$) (Chang, 2006)

Por lo que el calor disipado (Q) por litro de mosto resulta: $Q = H\ CA\ PM^{-1}$ (Bordeau, 2008)

El contenido inicial de azúcar (Ca) = 183 g L^{-1} mosto de NR

El calor perdido por litro de mosto(Q) = H Ca / PM reemplazando y calculando:

$Q = (24{,}5 \text{ kcal mol}^{-1})\ (183 \text{ g azúcar L}^{-1} \text{ mosto})\ (180 \text{ g mol}^{-1})^{-1} = 24{,}9 \text{ kcal L}^{-1}$

El volumen inicial del mosto (Vo) = 28,8 m^3 para la fermentación a 24 ºC con NR

La duración de la fermentación (t_f) = 8 días (Miño-Valdés y Herrera, 2007)

Por lo que la cantidad de calor liberado por hora en 8 días de fermentación fue:

$q = Q\ Vo\ t^{-1} = (24{,}9 \text{ kcal L}^{-1})\ (28.800 \text{ L})\ (8 \text{ días})^{-1}\ (1\text{día})\ (24 \text{ h})^{-1} = 3.735 \text{ kcal h}^{-1}$

Calor específico del agua $(Cp)_{10ºC} = 1{,}002 \text{ kcal (kg ºC)}^{-1}$ (Earle, 2003)

El agua con un $\Delta T = (24 - 7)$ ºC = 17 ºC

El caudal másico de agua de enfriamiento para el interior del encamisado en 1 cuba de fermentación con encamisado utilizado a escala industrial:

$m = q / (Cp\ \Delta T) = (3.735 \text{ kcal h}^{-1})\ (1{,}002 \text{ kcal } 17 \text{ ºC / kg ºC})^{-1} = 219{,}3 \text{ kg agua h}^{-1}\text{cuba}$

Para 8 cubas de fermentación operando simultáneamente y suponiendo una liberación de calor no constante a lo largo de 8 días con un factor de simultaneidad = 1,4 debido a que hay días en que la fermentación es más intensa y que el rendimiento del equipo de frío es del 85%. (Rodríguez Caram, 2006)

$\text{Calor liberado} = 3.735 \text{ kcal h}^{-1} \text{ cuba}^{-1}\ 8 \text{ cubas } 1{,}4\ (0{,}85)^{-1} = 49.214 \text{ kcal h}^{-1}$

En la Tabla 41 se presentan los resultados de los cálculos efectuados y la selección del equipamiento para el prototipo teniendo en cuenta los rendimientos industriales esperados.

El proceso requiere fermentaciones a temperatura controlada; por ello fue necesario seleccionar una central de refrigeración. Este equipo enfriador de líquidos suministra agua fría para control de temperatura de fermentación y tiene las siguientes características técnicas: tensión de alimentación: 380 V; Trifásico de 50 Hz; compresor: potencia nominal 24 hp; número de compresores: 2 herméticos x 12 hp; evaporador: potencia frigorífica: 54.000 fr. h^{-1}; temperatura entrada de agua: 12 ºC; temperatura salida de agua: 7 ºC; tuberías de cobre; carga de gas refrigerante ecológico R 407 C; bomba primaria de circulación; tensión de alimentación 380 V; trifásico 50 Hz.

Para trasiego se requiere una bomba móvil con rotor flexible y sensor de líquidos. Esta bomba opera con fluidos que contienen sólidos en suspensión, su rotor flexible permite minimizar la producción de borras al impulsar el fluido suavemente.

Las características técnicas son: 1 motor de 2 hp y 2 velocidades; 470 rpm; caudal: 12 $m^3\ h^{-1}$; capacidad de elevación de 0 a 16 m; bomba con carro móvil.

Tabla 41. Resumen de las variables calculadas para procesar 8 ton viñedo h^{-1}

EQUIPOS y DISPOSITIVOS	VARIABLES	RESULTADOS CALCULADOS
Tolva para cajas	Diámetro de tornillo	0,32 metros (m)
Prensa Neumática	Capacidad y potencia	32 hL; 6,6 kilowatt (kW)
Fermentador- clarificador	Volumen	31,9 metros cúbicos (m^3)
	Altura	6,5 m
	Diámetro	2,5 m
	Velocidad de fangos	0,15 m h^{-1}
	Tiempo de clarificado	2 días
	Cubas	8
Tanque de vino	Volumen	270 m^3
	Largo, ancho, alto	30 m, 3 m, 3 m
	Tiempo de estabilizado	3 meses
	Piso declive	2 grados
	Cantidad de tanques	9
Fermentador	Peso molec. $C_6H_{12}O_6$	180 g mol^{-1}
	Calor generado por mol	24,5 kilocalorías (kcal) (mol glucosa)$^{-1}$
	Calor generado por L	24,9 kcal L^{-1}
	Tiempo de fermentación	8 días
	Calor generado en 8 días	3.735 kcal h^{-1}cuba^{-1}
Agua del Encamisado	Cp agua	1,002 kcal kg^{-1} ºC^{-1}
	Agua de enfriamiento	219,3 kg h^{-1} cuba^{-1}
	Factor de simultaneidad	1,4
	Rendimiento	85%
	Calor a disipar total proceso	49.214 kcal h^{-1}

Fuente: elaboración propia

Para la filtración antes del almacenado se requiere un filtro de tierras de diatomeas con descarga manual. Este filtro se utiliza para filtración gruesa del vino en proceso, opera reteniendo partículas mayores y persistiendo las más finas en suspensión y sus características técnicas son: modelo ECP-2; construcción en acero inoxidable; rendimiento máximo: 4 m^3 h^{-1}; capacidad de campana: 85 L; presión máxima: 6 bar; potencia instalada: 1,75 kW.

Para después del añejamiento de los vinos se requiere un filtro de marcos y placas. El vino tiene un período de maduración variable entre 90 días y 2 años, antes de su envasado para la venta.

Sus características técnicas son: 40 placas; mínimo 20 placas; máximo 41 placas; rendimiento: 50 L/placa/h (esterilización); 80 L/placa/h (abrillantamiento); 100 L/placa/h (asperezas).

Para las operaciones de trasiego o para trasladar el vino almacenado en planta o como parte del proceso de vinificación, se requiere un sistema de bombeo que no afecte la calidad del mosto o del vino, por ello se ha seleccionado una bomba de pistón que permite en poco tiempo el vaciado o llenado de los fermentadores.

Sus características técnicas son: material de construcción: todas las partes en contacto con acero AISI-304; motor de 2 velocidades: la primera velocidad mueve un caudal de 4.300 L h^{-1} y la segunda velocidad 8.500 L h^{-1}; potencia del motor: 1 - 1,5 hp.

Para enfriar el mosto obtenido y evitar el inicio espontáneo de la fermentación o la elevación de temperatura sin control, que ocasiona una pérdida de calidad del producto fue necesario seleccionar un enfriador de vendimia de tubos concéntricos con curvas y acoples desmontables con las siguientes características técnicas: diámetro interior: 80 mm; diámetro exterior: 114 mm; Completo con accesorios y 4 tubos de 6 m de largo.

Para la elaboración de vinos se requieren tanques en serie uno a lado del otro; por esta razón se considera oportuna la interconexión de los tanques por arriba con una pasarela de acero que comunique como un puente y facilite el acceso de los operarios a la parte superior de los mismos. Las pasarelas de acero seleccionadas son: completas, con baranda pasamano, guarda pierna y guarda pie, con piso de rejilla y escalera al final de la línea de tanques.

Para transportar el agua de refrigeración a los tanques de fermentación se requieren cañerías para el agua fría (refrigerador-tanques) de ida y vuelta; se seleccionaron cañerías de PVC reforzado por presentar una vida útil más prolongada sin aparición de incrustaciones y accesorios de fácil reposición (codos, válvulas, etc.)

Para almacenar el agua fría se seleccionaron 2 tanques pulmón con capacidad 3.000 L c/u. El agua fría en circulación por la planta se almacena e impulsa según la demanda que se presente.

Para la impulsión del líquido de refrigeración se requieren 3 bombas de circulación, los equipos seleccionados presentan una bomba primaria y dos secundarias; son necesarias para evitar cuellos de botella en el caso de salida de servicio por rotura o mantenimiento de alguna de ellas.

Para la fermentación se seleccionaron 8 tanques y para la clarificación otros 5; estos tanques de acero inoxidable están acordes a la tecnología exigida por la normativa vigente en el país, para la elaboración de productos alimenticios. El volumen seleccionado fue de 31,9 m^3 para c/u.

Para el envasado manual de botellas de 0,75 L y damajuanas de 5 L se seleccionó una llenadora marca Ganbert, modelo GBLM-03, con tres válvulas de llenado, por caída libre, y nivelado para vinos tranquilos, con tres válvulas para 3 botellas o tres damajuanas simultáneamente. Construida, todas las partes que entran en contacto con el vino, en acero inoxidable 304. Posee una válvula de inyección de gas carbónico o gas inerte, para el barrido del aire (oxigeno) antes del taponado de la botella. Además de la llenadora cuenta con una tapadora manual, marca Ganbert modelo GBTM-01 con cabezal construido en acero inoxidable, con compresor

diafragmático con cuatro mordazas en SAE 65 con baño de cromo duro; sistema de vacío para deprimir la cámara entre el corcho y el vino; un juego de mordazas y campana adicional para botellas o damajuanas.

Atenuación del impacto ambiental de los efluentes

A pesar de la diversidad de bodegas (volúmenes, tipos de vino, condiciones de crianza, de conservación y de embotellado), se establecerán reglas comunes para reducir los volúmenes de vertidos y eliminar lo más preventivamente posible las materias orgánicas responsables de DQO.

Las medidas de control general serán para medir los consumos de agua de toda clase, utilizadas en las actividades:

-Se instalarán medidores de agua doméstico y se separarán cuidadosamente a las aguas pluviales y limpias que no se han usado en ningún tratamiento particular.

Esta separación es primordial para:

• Controlar el caudal de las aguas de refrigeración; usar depósitos de 100 a 200 hL solamente. Esta técnica sólo se puede mantener con un reciclaje de las aguas, con pérdidas por evaporación: la eficacia se mantiene o mejora, con una fuerte reducción del consumo de agua de 90 a 95 %.

• Aislar completamente las aguas domésticas (cocinas, baños) a tratar específicamente.

• Eliminar todos los consumos de agua inútiles tales como grifos abiertos fuera de servicio.

• Utilizar grifos de caudal regulable, de parada automática, de alta presión.

• Utilizar al máximo las técnicas de recuperación tales como la filtración de fangos, decantación de lías y aguas de lavado; se elimina de este modo entre del 20 al 60 % de DQO conformado en un pequeño volumen de fangos pastosos a tratar por separado. (Purves y col., 2005)

Se aplicarán técnicas sencillas y económicas de esparcimiento para los efluentes líquidos y de enterramiento: para los efluentes sólidos según Seoanez y Calvo, 2003:

a) Esparcimiento: los residuos líquidos serán distribuidos (mediante aspersores) sobre el suelo agrícola cultivado; respetando las siguientes reglas: alejamiento de los cauces de agua y sus fuentes; usar suelos con pendientes suaves, no inundables y con buena filtración; dispersar entre 200-300 m^3/ha. Estos esparcimientos se realizarán desde un recipiente de almacenamiento temporalmente adaptado sin fugas con una capacidad 126 m^3 (50 % de los residuos líquidos anuales), y llevando un registro de esparcimiento. El valor fertilizante es escaso, con un aporte despreciable de nitrógeno y ácido fosfórico y de 0,5-1 kg óxido de dipotasio por 1 m^3 efluente.

b) Relleno sanitario: se reunirán todos los desechos sólidos (en origen) para seleccionar los materiales, se reducirán y dispondrán en el suelo agrícola de acuerdo a normas para viñedos.

3.1.4. Etapa H: Estimación de costos y rentabilidad del proceso tecnológico industrial

Estimación de la inversión de capital y costos de producción

Se pueden utilizar diversos métodos para analizar la inversión de capital. La elección del método depende de la cantidad de información detallada disponible y la exactitud que se desea obtener. En esta oportunidad se utilizó el método C de porcentaje de equipo entregado. A continuación, los restantes rubros de costo directo de la planta se estiman como porcentajes del costo de los equipos entregados. Los componentes adicionales de la inversión de capital se basan en porcentajes (%) promedios del costo directo total de la planta, en los costos totales directos e indirectos o en la inversión total de capital (Peters y Timmerhaus, 1981).

En la Tabla 42 se presenta el capital fijo invertido para las alternativas estudiadas en planta piloto y proyectadas a escala industrial con un factor de proporcionalidad de k = 40.

Tabla 42. Capital fijo invertido actualizado en función de las temperaturas de fermentación

CONCEPTOS	**Costo U$D**	**Costo U$D**	**Costo U$D**	**Costo U$D**
Año/índice de cálculo	2005 (441)	2012 (620)	2012 (620)	2012 (620)
Variante Nº / (uva)		1 / (NR)	2 / (NR)	3 / (IT)
Temperatura de fermentación	a 20 ºC	a 24 ºC	a 22 ºC	a 20 ºC
Inóculo de levaduras		20 g bayanus.hL^{-1}	20 g bayanus.hL^{-1}	1 g bayanus. hL^{-1}
I. Costos Directos	533 341.0	702 000.1	747 619.1	900 363.0
1.1. Equipamiento (cotización de oferta)				
A. Equipamiento adquirido	360 633.0	507 013.9	535 646.25	645 083.40
•Costo de instalación	21 793.0	30 638.78	32 369.03	38 982.30
•Instrumentos y controles	2 200.0	3 092.98	3 267.64	3 935.25
•Cañerías y tuberías	3 200.0	4 498.88	4 752.94	5 724.01
•Instalación eléctrica	2 800.0	3 936.52	4 158.82	5 008.50
B. Obras civiles (incluyendo servicios)	141 115.0	198 393.6	209 597.3	252 419.9
C. Instalaciones de servicio (montadas)	1 100.0	1 546.49	1 633.82	1 967.62
D. Terreno	500.0	702.95	742.64	894.37
II. Costos Indirectos		100 332	101 764	107 236
A. Ingeniería y supervisión	7 330.0	37 491.25	37 491.21	37 491.26
B. Gastos construcción y honorarios	20 000.0	37 491.25	37 491.21	37 491.26
C. Eventuales	18 031.6	25 350.6	26 782.30	32 254.1
III. Capital fijo invertido = I + II		802 332.1	849 383.1	1 007 599

Fuente: elaboración propia

En la Tabla 43 se presentan los costos de producción para las variantes 1, 2 y 3 ensayadas en planta piloto y proyectada a escala industrial. Respecto de la capacidad de la planta para procesar 8 ton de viñedo/hora; entre los considerando del análisis económico se estableció que el 1er año se trabajaría al 70%, el 2do al 85 % el 3ro al 90% y a partir del 4to al 95%.

El precio de venta del vino embotellado listo para la venta se fijó en 1,5 U$D durante el análisis económico y el día laboral en 6 horas.

Tabla 43. Costos de producción actualizados en función de las temperaturas de elaboración

CONCEPTOS y forma de estimación Variantes Nº /año / uva Temperatura de fermentación	**Costo U$D** 1/2012/NR a 24 ºC	**Costo U$D** 2/2012/NR a 22 ºC	**Costo U$D** 3/2012/IT a 20 ºC
I. Costos de fabricación			
A. Costos directos de producción			
1. Materias primas Cotización de ofertas	2 800 899	2 799 032	2 792 173.50
2. Gastos de trabajo 10 % del costo total del producto	361 029,6	360 799.27	360 746.48
3. Supervisión directa. 1 % del costo total del producto	36 102,9	36 079.93	36 074.65
4. Utilidades Datos de cálculo	3 960	3 960	3 960
5. Mantenimiento y reparación 2 % del Capital Fijo Invertido	16 594.6	16 594.6	17 487.9
6. Suministros operacionales 0.5 % del Capital Fijo Invertido	4 148.6	4 148.6	4 371.9
7. Gastos de laboratorio 1 % del costo total del producto	36 102,9	36 079.9	36 074.6
8. Patentes y royalties 1 % del costo total del producto	36 102,9	36 079.9	36 074.6
B. Cargos fijos.			
1. Depreciación 10 % del Capital Fijo Invertido.	82 973.4	82 973.4	87 439.9
2. Impuestos locales 1 % del Capital Fijo Invertido	8 297.3	8 297.3	8 743.9
3. Seguros 0.4 % del Capital Fijo Invertido.	3 318.94	3 318.94	3 497.59
4. Renta (terreno propio)	0	0	0
II. Gastos Generales			
a.Costos administrativos: 2 % del costo total del producto	72 205.8	72 159.8	72 149.3
b. Costos de distrib. y ventas: 2% del costo total producto	72 205.8	72 159.8	72 149.3
c.Investigación y desarrollo: 2% del costo total producto	72 205.8	72 159.8	72 149.3
d. Interés Financieros: 0.5 del Capital fijo Invertido	4 148.6	4 148.6	4 371.9
III. Costo Total del Producto = I + II	3 610 296.7	3 607 992.7	3 607 464.8

Fuente: Elaboración propia

Análisis dinámico de las alternativas de producción

Para elegir la mejor alternativa de producción en la Tabla 44 se presenta el análisis dinámico de las alternativas de producción.

Tabla 44. Análisis Dinámico en función de las temperaturas de fermentación

Variante Nº **Temperatura / uva**	**1** **24 ºC / NR**	**2** **22 ºC / NR**	**3** **20 ºC / IT**
Producción de vino	5 834 botellas h^{-1}	5 706 botellas h^{-1}	6 016 botellas h^{-1}
[1]VAN (2012)	6.602.660	5.403.308	5.647.471
[2]TIR%	60	56	53
[3]PRD años	3	3,4	3,6

[1]Valor actualizado neto (VAN)
[2]Tasa interna de retorno (TIR)
[3]Período de recuperación de Inversión a valor actualizado (PRD)

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la Tabla 44 las tres alternativas son viables para la inversión desde el punto de vista del valor actualizado neto (VAN), la taza interna de retorno (TIR) y el periodo de recuperación de la inversión a valor actualizado (PRD).

En la Figura 33 se presenta el diagrama de flujo del desarrollo tecnológico establecido a escala industrial, para el procesamiento de 8 ton de viñedo de la variante 1 de la Tabla 44.

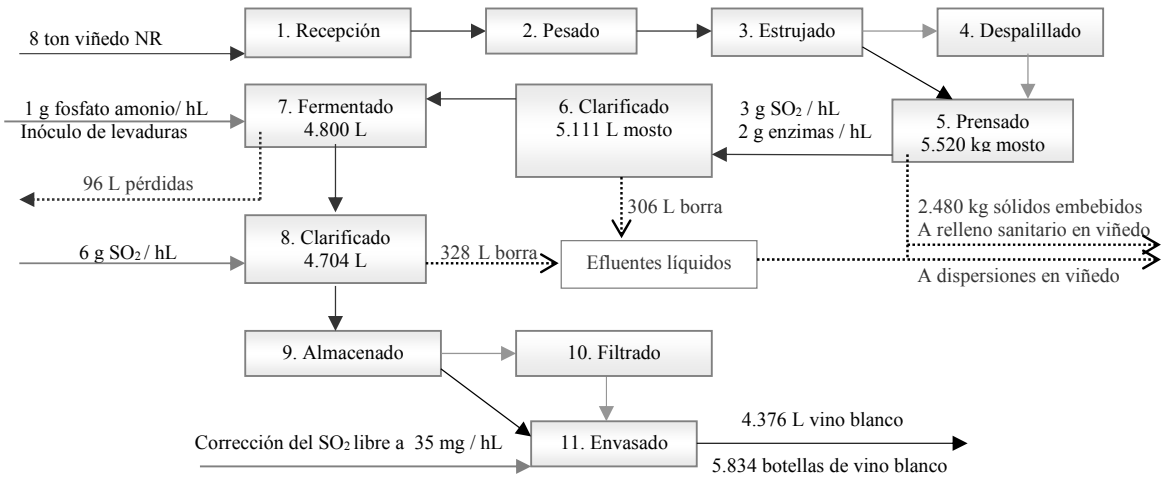


Figura 33. Diagrama de flujo del desarrollo tecnológico establecido a escala industrial
Fuente: elaboración propia

Este método se utiliza comúnmente para en el caso de plantas comparables con capacidades diferentes, y a veces los resultados de las evaluaciones son exactas (Peters y Timmerhaus, 1981).

3.2. Conclusiones Parciales

1. En planta piloto, al comparar entre si los rendimientos globales en % de (kg vino/ kg de viñedo) fueron similares al elaborar vinos blancos con mostos de NR fermentados con *S. bayanus*, con valores de 52,3 a 20 ºC; 53,5 a 22 ºC y 54,7 a 24 ºC; y para mostos de IT fermentados con *S. bayanus* a 20 ºC el rendimiento global de elaboración fue el mayor respecto de los anteriores con 56,4. Los tiempos de fermentación pasaron de 8 a 14 días cuando las temperaturas de fermentación isotérmica disminuyeron de 24 a 20 ºC respectivamente.

2. Los vinos elaborados fueron aptos para el consumo humano desde el punto de vista de las variables evaluadas por el INV, que incluyó además al metanol y al extracto seco.

3. Se estableció un desarrollo tecnológico a escala piloto (con k = 40) donde quedaron establecidas las operaciones básicas de elaboración de vino blanco común seco en el siguiente orden: recepción, pesado, estrujado, despalillado, prensado, primer clarificado, fermentado, segundo clarificado, almacenado, filtrado y envasado.

4. Se estimaron los costos y la rentabilidad del proceso tecnológico establecido obteniéndose tres alternativas viables.

5. Se establecieron los procedimientos para mitigar los efectos de los efluentes sobre el medio ambiente para la tecnología desarrollada.

CONCLUSIONES GENERALES

1. Son aptos los mostos de las uvas no viníferas de color NR e IT como materia prima para elaborar vino blanco común con levaduras autóctonas o con *S. bayanus.*

2. Es viable establecer una unidad productiva integrada por 12 familias de agricultores en Misiones que cultiven 27 hectáreas de viñedos cada uno.

3. De acuerdo a los resultados dinámicos del análisis económico en función de la temperatura de fermentación, la mejor proyección de inversión fue a 24 ºC con *Niágara rosada* con un:
VAN = 6 602 666 U$D; un TIR = 60 % y PRD = 3 años.

4. Desde el punto de vista económico fue rentable elaborar vino blanco seco a 1,5 U$D la botella a partir de *Vitis* no *viníferas* de color cultivadas en Misiones Argentina, todo ello para una capacidad instalada de 8 ton de viñedo por hora.

5. Se constató con los análisis del INV que es factible con la tecnología desarrollada obtener vinos blancos aptos para consumo humano; y con los ensayos de planta piloto se corroboró que el factor de proporcionalidad aplicado para el cambio de escala de laboratorio a planta piloto fue apropiado.

6. El desarrollo tecnológico proyectado a escala industrial, con disposición final de efluentes, se estableció en el diagrama de flujo de la Figura 33 (página 96), para la mejor alternativa de inversión con un total de 11 operaciones unitarias, donde las número 4 y 10 se presentan como tratamientos alternativos y complementarios.

RECOMENDACIONES

1. Que continúen los incentivos para que aumente la oferta de uvas de mesa no viníferas en Misiones para disponer de materia prima suficiente para elaborar vinos blancos como una alternativa de diversificación productiva.

2. Que se estudie la macrolocalización de las instalaciones industriales de manera que se asocien a la capacidad instalada un número de familia que garantice el suministro de la materia prima.

3. Que se realicen las inversiones para la mejor proyección establecida en el análisis económico para elaborar vino blanco común seco a partir de la uva NR.

4. Que se profundicen los estudios para verificar la rentabilidad futura para elaborar vino blanco seco a 1,5 U$D la botella a partir de *Vitis* no *viníferas* de color cultivadas en Misiones Argentina, para una capacidad instalada de 8 ton de viñedo por hora, considerando un aumento en la oferta de materia prima y la inflación.

5. Que se continúen los estudios de las vinificaciones con las uvas no viníferas y sus levaduras autóctonas en busca de cepas con buen potencial para fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas.

6. Que se establezca el desarrollo tecnológico proyectado a escala industrial, con disposición final de efluentes para elaborar vino blanco común seco con uvas no viníferas de color cultivadas en Misiones.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. 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.

2. Andreasen A.A.; Steir T.J.B. (2003). Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. I: Ergosterol requirement form growth in a defined medium. J Cell Comp Physiol, 41: 23 - 36.

3. 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.

4. Area M.C. (2004). Metodología de la Investigación. Facultad de Ciencias Exactas UNaM Argentina. Ed. Univ. pp. 50-80.

5. Bakos P. (2007). "Cosecha 2006", Diario el Territorio, Posadas (03/04/2007) Suplemento Económico pp.4. Misiones Argentina.

6. Bakos P. (2009). "Uvas para todo Misiones", Diario el Territorio, Posadas (09/12/2009) Suplemento Económico pp.6. Misiones Argentina.

7. Bakos P. (2011). "Uvas de Misiones", Diario el Territorio, Posadas (24/01/2011) Suplemento Económico pp.8. Misiones Argentina.

8. 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.

9. Bely M.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1990a). Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in enological conditions. J Ferm Bioeng, 70:246-252.

10. 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.

11. Bertrand A., (1980). L'arome des vins blancs. Évolution des substances volatiles au cours de la conservation du vin 3 des températures et 3 des pH différents. *CR Act Rech Inst OEnol Bordeaux* 1978-1979, 65-67.

12. Bertrand A. (1981) Influence de la nature des levures et des conditions de leur développement sur la production des ara mes et les conditions de leur stabilité. *En: Ribéreau-Gayon P, Sudraud P (1981). Actualités cenologiques et viticoles,* Dunod, Paris, 266-273.

13. Bidan P., (1986). Les vins mousseux. *Bull* OIV, 59: 663-664: 563-626.

14. Bisio, A.(1995). Scaleup of chemical processes. Ed. John Wiley and Sons. Inc.pág.699.

15. Bisson J., Daulny B., Bertrand A. (1980). Influence de la température de fermentation sur la

composition d'un vin blanc seco *Conn Vígne Vín,* 14: 195-202.

16. Blouin J. (1989). La qualité par le pressurage. Rev Fr OEnol, 118: 31-36.

17. Blouin J. (1993). Le SO_2: qu'en savons nous en 1993. Rev OEnologues, 67: 13-17.

18. Bluoin J., Peynaud E. (2006). Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 4ta Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.354.

19. Bluoin J., Peynaud E. (2004). Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 3ra Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.345.

20. Bluoin J., Peynaud E. (2002). Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 2da Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.332.

21. Bordeau E. (2002). Levaduras Enológicas. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 120-122. Mendoza Argentina.

22. Bordeau E. (2004). Las Levaduras de Fermentación Alcohólica. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 2-140 Argentina.

23. Bordeau E. (2005). *S. bayanus* en condiciones Enológicas. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 65. Mendoza Argentina.

24. Bordeau E. (2006). Tecnología de las Fermentaciones Alcohólicas en condiciones Enológicas. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 2-80 Mendoza Argentina.

25. Bordeau E. (2006a). Microorganismos en Enológia. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 70-75 Mendoza Argentina.

26. Bordeau E. (2007). Fermentación Alcohólica en condiciones enológicas. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. p. 28, Mendoza Argentina.

27. Bordeau E. (2008). Azúcares fermentables en condiciones enológicas. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. p. 45, Mendoza Argentina.

28. Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. (2002). Teoría y Práctica de la elaboración de Vino. Ed Acribia S.A. Zaragoza España. pp.15-25

29. Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F. (2006). Práctica de la elaboración de Vino. Ed Acribia S.A. Zaragoza España. pp.34-36

30. Boulton R. (2002). The prediction of fermentation behavior by a kinetic model. Am J Enol

Vitic, 31: 40 – 44. Ed Acribia S.A. Zaragoza España.

31. 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.

32. Busturia A.; Lagunas B. (1986). Catabolic inactivation of the glucose transport system in *Saccharomyces cerevisiae*. J Gen Microbiol, 132: 379

33. Cabras P.; Meloni M.; Pirisi F.M. (1987). Pesticide fate from vine to wine. Rev Env Contamin Toxicol, 99: 83 – 117.

34. Cantarelli D.; Tarufy F.; Martín A. (1984). Chemical and microbiological surveys on the effects of dithiocarbamate fungicides on wine-making. J Sci Food Agric, 15: 186 – 196.

35. 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.

36. Caro I.; Pérez L.; Cantero D., (1991). Development of a kinetic model for the alcoholic fermentation of must. Journal Biotechnol.Bioeng. (38): 742-748.

37. Castelli A.; Littaru G.P.; Barbaresi G. (1989). Effect of pH and CO_2 concentration changes on lipids and fatty acids of *Saccharomyces cerevisiae*. Arch Microbiol, 66: 34 – 39.

38. Coleman M.; Fish R.; Block D. (2007). Temperature-Dependent Kinetic Model form Nitrogen-Limited Wne Fermentations. In Appl.Environ.Microbiol. 73 (18): 5875-5884.

39. Colombié S.; Malherbe S.; Sabrayrolles J., (2005). Modeling alcoholic fermentation in enological conditions. American Journal of Enology and Viticulture, 56 (3): 238-245.

40. Colombié S.; Malherbe S.; Sabrayrolles J., (2007). Modeling of heat transfer in tanks during wine making fermentation. Journal Food Control 18:953-960 .

41. Chang R. (2006). Química. Ed. Mc Graw Hill. 6ta.Ed. pp.:101-109

42. Chang R. (2002). Química. Ed. Mc Graw Hill. 3ta.Ed. pp.:61-65

43. Dasari G.; Roddick F.; Connor M.A.; Pamment N.B. (1983). Factors affecting the estimation of intracellular ethanol concentrations. Biotechnol Lett, 5: 715 – 720.

44. Davin A., Sahraoui A., (1993). Débourbage rapide des moûts de raisin par flottation à l'aide de bulles générées au sein du liquide par dépressurísation. *Rev Fr OEnol,* 140: 53-63.

45. Delteil D., Jarry J.M., (1992). Characteristic effects of two commercial yeast strains on Chardonnay wine volatiles and polysaccharide composition. *N Z & Aust Wíne Ind* J, 7: 29-33.

46. Delteil D., Jarry J.M. Étude des profils aromatiques de vins doux naturels de Muscat.

Composés volatils variétaux et fermentaires. *En: Bayonove C, Crouzet J, Flanzy C, Martin JC, Sapis JC (1993). Connaíssance aromatíque des cépages et qualíté des víns. Actes du Symposíum Internatíonal de Montpellíer, Rev Fr OEnol,* Lattes, 192-194.

47. Delteil D., Lozano L., (1995a). Travail des raisins blancs. Contraintes et mâltrise de la gestion des échanges entre le jus et les parties solides. *Rev Fr OEnol,* 153: 57-59.

48. Delteil D., Lozano L. (1995 b). Les criteres de choix d'une souche de levures sélectionnées pour la vinification en blanc. *Rev Fr OEnol,* 153: 79-82.

49. Derrick S., Large P:J: (1993). Activities of the Ehrlich pathway and foormation of branched-chain alcohols in S. Cerevisiae and Candida utilis grown in continuous culture on valine or ammonium as cole nitrogen source. J Gen Microbiol, 139: 2783-2792.

50. Díaz Peralta E., (2006). Composición química del mosto. Cátedra de Enología I. Facultad de Ciencias Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. Ed. Univ. 1ra Ed. pp.44. Mendoza, Argentina.

51. Díaz Peralta E., (2007). Los mostos. Biotecnología. Maestria en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 1ra edición pp.4. Mendoza Argentina.

52. Díaz Peralta E., (2008). Química de la Fermentación Alcohólica. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Edit. Univ.UNCu. 1ra edición pp.34. Mendoza Argentina.

53. Díaz Peralta E., (2009). Historia del vino. Enología. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 2ra edición pp.9. Mendoza Argentina.

54. Díaz Peralta E., (2010). El mosto concentrado. Cátedra de Enología II. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 2ra edición pp.64. Mendoza Argentina.

55. Dubernet M., (1984). *Recherches sur la tyrosinase de Vitis vinifera et la laccase de Botrytis cinerea. Applications technologiques.* Thèse de Doctorat, université de Bordeaux II.

56. Dubourdieu D., Ollivier C., (1989). Évolutions récentes des techniques d'élaboration des vins blancs en Bordelais. *CR Act Rech Inst OEnol Bordeaux* 1986-1988, 98-99.

57. Dubourdieu D., Darriet P. Recherches sur I'arome variétal du cépage Sauvignon. Mise en évidence dans les vins de composés soufrés a fort pouvoir odorant formés au cours de la fermentation alcoólique a partir de précurseurs non volatils du moût. *En: Bayonove C, Crouzet J Flanzy C., Martin J.C., Sapis J.C. (1993). Cónnaissance aromatique des cépages et qualité des vins. Actes du Symposium International de Montpellier,* Revue Française d'OEnologie, Lattes, 58-64.

58. Doignon F. ; Couty, C. (2002). Action des inhibiteurs de la biosynthese de I`ergostérol sur la fermentation alcoolique du moût de raisin blanc. *J Int Scei Vigne Vin,* 26 :8797.

59. Doignon F.; Rozes N. (2002). Effect of triazole fungicides on lipid metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. Lett Appl Microbiol, 15: 172 – 174.

60. 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.

61. 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.

62. Earle R.L. (2003). Ingeniería de los Alimentos. Las operaciones básicas del procesado de Alimentos. 2da ed. Ed.Acribia S.A. Zaragoza España. Apéndice 4 pp.104.

63. El Haloui N., Cleran Y., Corrieu G., Gheruy A., (1989). Method for online monitoring of kinetics of alcoholic fermentation in wine making. J Ferm Technol, 30:402-407

64. Ercoli E. (2007). Maceración pelicular. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza Argentina. 2ra.Ed. Edit.Univ. Pp.7.

65. Ercoli E. (2009). Termomaceración. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza Argentina. 1ra.Ed. Edit.Univ. Pp.49.

66. Ferrarini R., Zironi R., Celotti E., Buiatti S., (1992). Premiers résultats de l'application de la flottation dans la clarification des moûts de raisin. *Rev Fr OEnol,* 124: 58-64.

67. Flanzy C. (2000). Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV y Mundi-Prensa. 1ra. Edición. Madrid, España, pp. 274 – 293.

68. Flanzy C. (2003). Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV y Mundi-Prensa. 2da.Edición. Madrid, España, pp. 443 – 461.

69. Fleet G.H.; Heard G.M. (1993). Yeast: growth during fermentation. In: Wine Microbiology and Biotechnology. Ed. Fleet G.H. pp. 27-54. Switzerland: Hardwood Academic Publishers.

70. Formento J.C. (2006). Industrias Afines. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias.. 1ra. Ed. pp.70. Mendoza Argentina

71. Formento J.C. (2009). Enología II. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. 2da. Ed. Ed. Univ. pp.56. Mendoza Argentina.

72. Fuentes Berazategui J. (2008). Biotecnología. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 2da ed. Ed. Univ. Pp.67.

73. Jackson R.S., (2003). Wine Sciencie: principles, practice, perception. Ed. Academic Press, 2nd edition, SanDiego, USA. p. 648.

74. Jordan, D.G.: *Chemical pilot plant practice*, 403 pp., Interscience, New York, 1982.

75. Galindo, E.: "V Curso latinoamericano de biotecnología", Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Chile, 1996.

76. Gamal B., (1990). Maîtrise des gaz dans la conservation des vins. Rev Fr OEnol, 124: 85-89.

77. Gancedo C.; Gancedo I.M.; Sols A. (1998). Glycerol metabolism in yeast: pathways of utilization and production. Eur J Biochem 5: 165 – 172.

78. García Rodriguez A.; Rodriguez Rico I. (2005). "Vias para el diseño de nuevas instalaciones de la industria de procesos químicos, fermentativos y farmacéuticos". Editorial Científico Técnica. Editor Erenio Gonzalez Suarez. La Habana Cap 4 pp. 74-103

79. Gerbaux V.; Naudin R., (1991). Application de trois profils thermiques pour la réalisation de la fermentation alcoolique du Chardonnay. Ed. Travaux Inst Techn Vigne Vin pp.46-50.

80. 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.

81. Gnaegi F.; Aerny J.; Bolay A.; Crettenand J. (1983). Influence des traitements viticoles antifongiques sur la vinification et laqualité du vin. Rev Suisse Vitic Arboric Hortic 15:243-250.

82. Guijarro J.M.; Lagunas R. (1984). *Saccharomyces cerevisiae* does not accumulate ethanol against a concentration gradient. J Bacteriol, 160: 874 – 878.

83. Guilloux-Benatier M., Guerreau J., Feuillat M., (1995). Influence of ínítíal colloid content on yeast macromolecules production and on the metabolism of wine microorganisms. *Am J Enol Vítíc,* 46: 486-492.

84. Hardy G., (1990). Le pressurage, élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Rev OEnologues,* 55: 17-25.

85. Hardy G., (1991). Le pressurage, élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Rev OEnologues* 60: 25-30.

86. Ibarz A., Barboza-Cánovas G. (2005). Colección Tecnología de Alimentos. Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España p.870.

87. Ibarz A., (2008). Colección Tecnología de Alimentos. Ingeniería de Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España pp. 465.

88. INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Exp. Cerro Azul. (2009)

http: www.inta.gov.ar/region/misiones/boletines/plan-frutal.htm; (acceso 10/02/2009). Misiones Argentina.

89. INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Exp. Cerro Azul, (2007). http: www.inta.gov.ar/cerroazul/info/boletines/plan_frutal.htm; (acceso, 24/04/2007). Misiones Argentina.

90. Insa G., Sabrayrolles J., Douzal V. (2000). Alcoholic fermentation Ander enological conditions. Use of a combination of data análisis and neural networks to predicto sluggish and sutck fermentations. Bioproc Eng, 13: 171-176.

91. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura (2008). Mendoza Argentina. Normativas pp.1-5 http: www.inv.gov.ar/normativas.php?ind=2 (acceso 25/03/2008)

92. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura (2007) Mendoza Argentina. Protocolo de Análisis. Laboratorio. Mendoza Argentina.

93. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura (2006) Mendoza Argentina. Código de Variedades pp.4. http: www.inv.gov.ar/pdf/parametros/variedad.pdf (acceso 22/07/2006)

94. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura (2005) Mendoza Argentina. Tecnicas Analiticas pp.1-10. http: www.inv.gov.ar/pdf/normativas/tecnicasanaliticas.pdf (acceso 02/04/2005)

95. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura (2004) Mendoza Argentina. Analiticas pp.5-6. http: www.inv.gov.ar/pdf/normativas/analisis.pdf (acceso 05/06/2004)

96. Jacquet P. (citado por Flanzy 2003). Les systemes de transport : bac, remorques et bennes. In : Vigne et Vin Publications Internationales (1995b). Matériel de réception et de traitement de la vendange. J Int Sci Vigne Vin, hors série: 15-19

97. Jackson R.S., (2000). Wine sciencie: principles, practice, perception. 2nd Ed. San Diego Academic press, p. 648.

98. Jones R.P.; Pamment N. Greenfield P.F. (2001). Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. Process Biochem, 39: 42 – 49.

99. Jones R.P.; Greenfield P.F. (2002). Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation. Enzyme Microbiol Technol, 4: 210 - 223.

100. Jones R.P. (2002). Intracellular ethanol accumulation and exit from yeast and other cells. FEMS Microbiol Reviews, 54: 239 – 258.

101. 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.

102. Juscafresa B. (2005). Cultivo de la Vid. In: Pardo Gonzalez J.E. (2005). El Sistema de

Análisis y Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Industria del Vino. Ed. Mundi Prensa. 1: 15-18.

103. Kovac V., (1979). Étude de I'inactivation des oxydases par des moyens chimiques. *Bull OIV,* 52, 584: 809-826.

104. 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.

105. 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.

106. 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.

107. Lopez A., Secanell P.A. (1992). A simple mathematical empirical model for estimating the rate of heat generation during fermentation in white wnemaking. Int J Refrig, 15 (4):1-5.

108. Macheix J.J., Sapis J.C., Fleuriet A., (1991). Phenolic compounds and polyphenoloxidases in relation to browning in grapes and wines. *Crit Rev Food Scí Nut,* 30: 441 -486.

109. 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.

110. Marín M.R., (1999). Alcoholic fermentation modeling: current state and perspectives. Am. Journal Enol.Vitic.,50 (2): 166-178.

111. Marín M., (2000). Alcoholic fermentation modeling. Am.Journal Enol.Vitic.51(1):155-167.

112. Martínez de Toda F. (2005). Mecanización integral del viñedo. En: Pardo Gonzalez J.E. (2005). El Sistema de Análisis y Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Industria del Vino. Ed. Mundi Prensa. 1: 15-18. Madrid España

113. Martinez Vazquez F. (2006). Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias Exactas Qcas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Ed.Univ. 1ra Ed. pp. 92.

114. Martiniere P., Sapis J.C., (1997). Essais de pressurage et de vinification sous atmosphere de gaz carbonique. *Conn Vigne Vin,* 1: 64-69.

115. Meistermann E., Anocibar Beloqui A., Bertrand A. Recherche des meilleurs profils thermiques à appliquer durant la fermentation alcoolique des vins blancs. *En: Lonvaud-Funel A* (1995)*, CEnologie* 95, 5e *Symposium International d'OEnologie,* Lavoisier, Paris, 579-582.

116. MAyP, Ministerio del Agro y la Producción. Gobierno de la Provincia de Misiones. (2004).

En http: www.mayp.gov.ar/planfrutal. (acceso 10/08/2007)

117. Miño Valdés J.E., Herrera J.L., (2007). Vinificación en blanco de uvas cultivadas en Misiones. VI Congreso Científico Tecnológica de la FCEQyN. Ed Univ. UNaM pp. 369-370. Posadas Misiones Argentina.

118. Miño Valdés J.E.; Herrera J.L.; Martinez Vazquez F.; Martos M.A. (2007). Microvinificación tipo blush de uvas Misioneras. VI Congreso Científico Tecnológica de la FCEQyN. Ed Univ. UNaM pp. 369-370. Posadas Misiones Argentina.

119. Miño Valdés J.E.; Herrera J.L.,(2011). Microvinificación en blanco a 18ºC de uva *Isabella* cultivada en Misiones (NE Argentina). Revista de Ciencia y Tecnología. Año 13 (15): 11-16

120. Miño Valdés J.E. (2011). Microvinificación en blanco de *Isabella tinto* y *Niágara rosada* cultivadas en Misiones. 2ra. Ed. Editorial Universitaria pp.101. Bs.As. Argentina

121. Miño Valdés J.E.; Martos M.A.; Herrera J.L., (2012). Vino blanco común elaborado con levaduras autóctonas y Vitis labrusca de Cerro Azul Misiones. Revista de Ciencia y Tecnología. (aceptada para su publicación el 04/10/12)

122. Mortimer R.; Polsinelli M., (2002). On The Origin of Wine Yeast. Journal of Microbiol. (150): 199-204. USA.

123. Naudin R., Gerbaux V., (1994). Étude de profils thermiques pour la fermentation alcoolique du Chardonnay en Bourgogne. C R Travaux Inst Teehn Vigne Vin, 37-42.

124. Nordstrom K. (1974). Studies on the formation of volatile esters in fermentations with brewer`s yeast. Svensk Kemisk lidster, 76: 510-543.

125. 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.

126. OIV (2009). Organización internacional de la viña y el vino. Organización intergubernamental.Resoluciones. Http://www.oiv.int/oiv/cms/index?lang=es (acceso 10/7/09)

127. Ostergaard S.; Olsson L.; Nielsen J. (2002). Metabolic engineering of saccharomyces cerevisiae. Journal of Microbiol. Mol.Biol.,(20):34-50

128. Oldshue J.Y. (1986). Fermentation mixing scale up technique. Biotechnol. Bioeng. (8):3-24.

129. Ollivier C., Stonestreet T., Larue F., Dubourdieu D. (1987). Incidence de la composition colloldale des moûts blancs sur leur fermentescibilité. *Conn Vigne Vin,* 21: 59-70.

130. 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.

131. Pena A., Cinco G., Gomez-Puyol A., Tuena M. (1972). Effect of pH of the incubation medium on glycolysis and respiration in S. Cervisiae. Arch Biochem Biophys, 153: 413-425

132. Petrov W.; Okorokov L.A. (1990). Increase of the anion and proton permeability of *S. carlsbergensis* plasmalenma by n-alcohols as a possible cause of its deenergization. Yeast, 6: 313 – 318.

133. Pemod N., Valade M. (1995). Le pressurage en Champagne: tradition et innovation. *Rev Fr OEnol,* 153: 61-67.

134. Perez Caram E. (2009). Mostos concentrados. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza Argentina. 1ra.Ed. Edit.Univ.Pp.67.

135. Peters M., Timmerhaus K. (1981). Diseño de Plantas su evaluación económica para ingenieros químicos. Estimación de costos. 4ta.Edición Mc Graw Hill. Pp.97-161.

136. Peynaud E. Traitement du moût a la bentonite. *In:* Peynaud E *(1984). Connaissance et travaíl du Vin,* Dunod, Paris, 194-195.

137. Piekun A., Rybak R.M. (2006). El Cultivo de la vid en Misiones, una alternativa para la diversificación. En http: www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/alternativas/diversivid.htm (acceso 20/02/2006)

138. Piekun A., (2007). El renacer de las vides Misioneras. En http: www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/alternativas/uvas.htm (acceso 12/03/2007)

139. Piekun A. (2011a). "Estiman que la cosecha de uva alcanzará 800.000 kg", Diario el Territorio, Posadas (28/01/2011). Suplemento Económico pp.9. Misiones Argentina.

140. Piekun A. (2011b). "Uva en Misiones ", Diario el Territorio, Posadas (20/02/2011). Suplemento Económico pp.10. Misiones Argentina.

141. 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.

142. Poitout M., (1973). L'utilisation des gaz inertes en oenologie. *Vins d'A/sace,* 12: 425-431.

143. Poupault P., Cuinier C. (1992). Qualité des vins blancs. Recherche des meilleurs profils thermiques a appliquer durant la fermentation alcoolique. Travaux Inst Techn Vigne Vin 48-51.

144. Pretorious I .S., (2002). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast (16): 675-729.

145. Pretorius I.S., (2001). Gene technology in winemaking:new approaches toa n ancient art. Journal Agr. Consp.Sci., (66):1-20.

146. Pszczolkowski P. (2002). Vinificación en Laboratorio. Cátedra de Enología I. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Chile. Editorial Univ. 1ra. Edición. pag.7-8

147. Pszczolkowski P. (2004). Vinificación en blanco . Cátedra de Enología II. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Chile. Editorial Univ. 2ra. Edición. pag.34-35

148. Pszczolkowski P. (2006). Manual de Microvinificación. Cátedra de Enología I. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Chile. Editorial Univ. pag. 49-50.

149. Purves W.K.; Sadava D.; Gordon H.O.; Heller H.C., (2005). Vida: La Ciencia de la Biología. Editorial Médica Panamericana, 6ta. Ed. Madrid. pag.129.

150. Rapp A., Versini G. Influence of nitrogen compuunds in grapes on aroma compounds of wine. In: Rantz J. (1999). Proceedings of the international Symposium on nitrogen in grapes and wines. American Society for Enology and Viticulture, Davis, 156-164.

151. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., Stabilisation des vins par la bentonite. *In:* Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P. (1977 b). *Traité d'OEnologie. Sciences et techniques du vin, tome* 4, Dunod, Paris, 320-345.

152. Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1977b). Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 1. Am J Enol Vitic, 7: 53 – 61.

153. Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1977b). Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 2. Am J Enol Vitic, 7: 112 – 118.

154. Rieger M.; Kapelli O.A. (2003). The role of limited respiration in the incomplete oxydation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. J Gen Microbiol, 129: 653 – 661.

155. Riou C.; Nicaud J.M.; Barre P. Gaillardin C. (1996). Stationary –phase expression in *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. Yeast, 13: 903 – 915.

156. 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.

157. Rodriguez Caram E. (2006). Enología I. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza Argentina. 1ra. Ed. Editorial Universitaria. Pp.62.

158. Rosier J.P., (1995). Manual de elaboración de vino para pequeñas cantinas. 2da.ed. Florianápolis Brasil EPAGRI, p.72.

159. Rosini G., (2003). Assessment of dominance of added yeast in wine fermentation and origin of S. cerevisiae in wine-making. Journal Gen.Appl.Microbiol. (30):249-256.

160. Rowe S.M.; Simpson W.J.; Hammond J.R.M. (1994). Intracellular pH of yeast during brewery fermentation. Lett Appl Microbiol, 18: 135 – 137.

161. 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.

162. Sablayrolles J.M., Salmon J.M., Barre P., (1996). Carences nutritionnelles des moûts. Efficacité des ajouts combinés d'oxygene et d'azote ammoniacal. *Rev Fr OEnol,* 159: 25-32.

163. 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.

164. Sablayrolles J.M.; Barre P. (1986). Evaluation du besoin en oxygene de fermentations alcoholiques en conditions œnologiques simulées. Sci Alim, 6: 373 – 383.

165. Sa Correia I. (1986). Synergistic effects of ethanol, octonoic and decanoic acids on kinetics and the activation parameters of thermal death in S. Bayanus. Biotechnol Bioeng, 28: 761-763

166. Sa Correia I.; Van Uden N. (1986). Ethanol-induced death of *Saccharomyces cerevisiae* at low and intermediate growth temperatures. Biotechnol Bioeng, 28: 301 – 303.

167. Seoanez Calvo M., (2003). Manual de Tratamiento reciclado, aprovechamiento y gestión de las aguas residuales de las industrias agroalimentarias. Ediciones Mundi-Prensa, p.465, España.

168. Sharma S.; Tauro P. (1986). Control de ethanol production by yeasts: Role of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase. Biotech Lett, 8: 735 – 738.

169. Slaughter J.C.; Flint P.W.N.; Kular K.S. (1987). The effect of CO_2 on the absorption of amino acids from a malt extract medium by *Saccharomyces cerevisiae*. GEMS Microbiol Letters, 40: 239 – 243.

170. Schopfer J.F., Aerny I., (1985). Le rôle de I'anhydride sulfureux en vinification. *Bu"* OIV, 58: 652-653, 515-542.

171. Stanley G.A.; Pamment N. (1993). Transport and intracellular accumulation of acetaldehyde in *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnol Bioeng, 42: 24 – 29.

172. Terrier A., Blouin J., (1975). Observations sur I'extraction des jus de raisins blancs. *Conn Vigne Vin,* 9: 273-303.

173. Tominaga T, Masneuf I., Dubourdieu D. Role des levures de vinification sur la Iibération de 4-MMP. *In:* Lonvaud-Funel A (1995). *CEnologie 9S,* Se *Symposium International d'OEnologie,* Lavoisier, Paris, 47.

174. Trambouze P. (1989). Reactor scale up philosophy. Chemical Engineering, (10):122-130.

175. Tromp A., Marais P. (1981). Triamefon, a systemic fungicide against Uncinula necator

(Oldium) on wine grapes : diseases control residues and effect on fermentation and wine quality. S Afr J Enol Vitic, 2 : 25-28

176. Trousseau M., Chapron P. (1991). L'application de la flottation au débourbage des mouts. *Rev OEnologues,* 60: 37-40.

177. Usseglio-Tomasset L. (1983). Influence de la température sur les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques des vins. *Bull OIV,* 623: 19-34.

178. Usseglio-Tomasset L. L'anhydride sulfureux en cenologie. *In:* Usseglio-Tomasset L. (1989). *Chimie cenologique,* Lavoisier, Paris, 269-284.

179. Viegas C.A., Supply P., Capieaux E., Van Dyck L., Goffeay A., Sa Correia I. (1994). Regulation of the expression of the H+ATPase genes PMA1 and PMA2 during growth and effects of octanoic acid in S. Cervisiae.Biochim Biophys Acta, 127:74-80

180. Wang D., Xu Y., (2002). Fermentation kinetics of different sugars by wine yeast Saccharomyces cerevisiae. J Inst Brew, 109 (3), 233.

181. 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.

182. Weber J., Bensoussan D., Schaeffer A. (1975). Utilization des gazz inertes en oenologie. *Vignes et Vins,* 243 : 9-14.

183. Williams L.A. (1982). Heat release in alcoholic fermentation : a critical reapraisal. Am J Enol Vit, 33 (3): 149-153.

ANEXOS

Anexo 1 Compuestos volátiles: alcoholes – aldehídos - cetonas – esteres[1]

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

[1] Flanzy, 2000; ND: no determinado; - sin datos

Anexo 2 Ácidos orgánicos[1]

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

[1] Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003

* 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 fisico-químico o microbiológico.

Anexo 3 Nitrógeno: compuestos nitrogenados[1]

Compuestos Nitrogenados	MOSTOS			VINOS TINTOS			VINOS BLANCOS		
	mín.	máx	media	mín.	máx.	media	mín.	máx.	media
	g L^{-1}			g L^{-1}			g L^{-1}		
N total	0,20	0,16	ND	0,15	0,60	0,30	0,10	0,40	0,28
N amoniacal	30.10^{-3}	0,10	40.10^{-3}	ND	10.10^{-3}	ND	ND	10.10^{-3}	ND
N nítrico	$4,10^{-3}$	25.10^{-3}	6.10^{-3}	2.10^{-3}	25.10^{-3}	5.10^{-3}	ND	ND	ND
N aminado	80.10^{-3}	0,30	ND	60.10^{-3}	0,20	ND	10.10^{-3}	0,15	ND
N peptídico	0,1	0,20	ND	80.10^{-3}	0,20	ND	80.10^{-3}	0,35	ND
N proteico	10.10^{-3}	0,10	ND	10.10^{-3}	80.10^{-3}	30.10^{-3}	5.10^{-3}	8.10^{-3}	ND
Aminoácidos									
Ac. aspártico	15.10^{-3}	0,10	35.10^{-3}	1.10^{-3}	28.10^{-3}	8.10^{-3}	4.10^{-3}	32.10^{-3}	9.10^{-3}
Ac glutámico	53.10^{-3}	0,27	0,14	12.10^{-3}	0,22	36.10^{-3}	8.10^{-3}	0,21	35.10^{-3}
Alanina	7.10^{-3}	0,26	30.10^{-3}	$2,6.10^{-3}$	64.10^{-3}	22.10^{-3}	6.10^{-3}	49.10^{-3}	25.10^{-3}
Arginina	55.10^{-3}	1,20	0,35	18.10^{-3}	0,42	45.10^{-3}	15.10^{-3}	0,18	32.10^{-3}
Cistina	ND	2.10^{-3}	ND	1.10^{-3}	30.10^{-3}	6.10^{-3}	2.10^{-3}	25.10^{-3}	4.10^{-3}
Glicina	2.10^{-3}	42.10^{-3}	22.10^{-3}	5.10^{-3}	50.10^{-3}	14.10^{-3}	4.10^{-3}	22.10^{-3}	8.10^{-3}
Histidina	8.10^{-3}	26.10^{-3}	12.10^{-3}	3.10^{-3}	14.10^{-3}	5.10^{-3}	2.10^{-3}	12.10^{-3}	5.10^{-3}
Isoleucina	2.10^{-3}	10.10^{-3}	3.10^{-3}	2.10^{-3}	36.10^{-3}	6.10^{-3}	4.10^{-3}	30.10^{-3}	22.10^{-3}
Leucina	3.10^{-3}	58.10^{-3}	18.10^{-3}	6.10^{-3}	13.10^{-3}	8.10^{-3}	7.10^{-3}	15.10^{-3}	5.10^{-3}
Lisina	5.10^{-3}	63.10^{-3}	28.10^{-3}	5.10^{-3}	72.10^{-3}	25.10^{-3}	ND	62.10^{-3}	20.10^{-3}
Metionina	ND	15.10^{-3}	ND	1.10^{-3}	10.10^{-3}	3.10^{-3}	ND	8.10^{-3}	4.10^{-3}
Ornitina	ND	5.10^{-3}	ND	1.10^{-3}	80.10^{-3}	6.10^{-3}	55.10^{-3}	9.10^{-3}	1.10^{-3}
Prolina	40.10^{-3}	3,80	0,75	40.10^{-3}	2,60	0.60	ND	0,59	0,44
Hidroxiprolina	ND	14.10^{-3}	ND	ND	$8,9.10^{-3}$	2.10^{-3}	ND	10.10^{-3}	1.10^{-3}
Fenilalanina	4.10^{-3}	62.10^{-3}	15.10^{-3}	5.10^{-3}	34.10^{-3}	10.10^{-3}	4.10^{-3}	22.10^{-3}	6.10^{-3}
Serina	5.10^{-3}	81.10^{-3}	36.10^{-3}	2.10^{-3}	20.10^{-3}	8.10^{-3}	5.10^{-3}	18.10^{-3}	86.10^{-4}
Treolina	9.10^{-3}	0,13	85.10^{-3}	2.10^{-3}	90.10^{-3}	6.10^{-3}	2.10^{-3}	54.10^{-3}	8.10^{-3}
Tirosina	2.10^{-3}	75.10^{-3}	15.10^{-3}	2.10^{-3}	58.10^{-3}	6.10^{-3}	2.10^{-3}	17.10^{-3}	9.10^{-3}
Triptófano	5.10^{-3}	0,31	0.31	ND	25.10^{-3}	5.10^{-3}	ND	12.10^{-3}	3.10^{-3}
Valina	ND	0,11	0.11	1.10^{-3}	45.10^{-3}	5.10^{-3}	ND	36.10^{-3}	7.10^{-3}
Amina Biógena									
UVA									
Cadaverina	ND	ND	ND	ND	22.10^{-3}	$1,4.10^{-3}$	ND	29.10^{-3}	14.10^{-4}
Putrescina	ND	3.10^{-3}	ND	$0,4.10^{-3}$	82.10^{-3}	$8,8.10^{-3}$	1.10^{-4}	$9,1.10^{-3}$	2.10^{-3}
Espermita	1.10^{-4}	2.10^{-4}	ND	1.10^{-5}	$0,4.10^{-3}$	$0,1.10^{-3}$	-	-	-
Espermidina	3.10^{-4}	22.10^{-4}	ND	$0,5.10^{-3}$	$5,2.10^{-3}$	$2,4.10^{-3}$	-	-	-
VINO									
Etilamina	ND	ND	ND	$0,1.10^{-3}$	17.10^{-3}	$2,6.10^{-3}$	1.10^{-4}	20.10^{-3}	23.10^{-4}
Histamina	ND	ND	ND	$0,2.10^{-3}$	30.10^{-3}	$4,5.10^{-3}$	ND	$4,9.10^{-3}$	12.10^{-4}
Isoamilamina	ND	ND	ND	ND	16.10^{-3}	$0,9.10^{-3}$	ND	20.10^{-3}	9.10^{-4}
Isopropilamina	ND	ND	ND	ND	$0,3.10^{-3}$	$0,1.10^{-3}$	ND	1.10^{-3}	1.10^{-4}
Metilamina	ND	ND	ND	ND	$1,9.10^{-3}$	$0,7.10^{-3}$	ND	$2,2.10^{-3}$	6.10^{-4}
Feniletilamina	ND	ND	ND	$0,1.10^{-3}$	6.10^{-3}	$0,9.10^{-3}$	ND	13.10^{-3}	5.10^{-4}
Tiramina	ND	ND	ND	ND	$16,7.10^{-3}$	$1,5.10^{-3}$	ND	$6,5.10^{-3}$	9.10^{-4}

[1] Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003
N = Nitrógeno

Anexo 4 Minerales y elementos minerales[1]

MINERALES	MOSTOS O VINOS		
	Mínimo	Máximo	Media
Elementos		$g\ L^{-1}$	
Potasio*	0.40	1.84	0,97
Calcio *	30.10^{-3}	0.20	70.10^{-3}
Magnesio	40.10^{-3}	0.16	90.10^{-3}
Sodio*	$(3–30)10^{-3}$	0,05-0,35	0,025 –0,1
Silicio	20.10^{-3}	90.10^{-3}	35.10^{-3}
Fosfato (PO_4^{-3})	0.10	0.80	0,40
Sulfato (SO_4^{-2})	40.10^{-3}	0.60	0,10
Cloruros* (Cl^-)	10.10^{-3}- 60.10^{-3}	0.2-0,8	0,058
Oligo-elementos			
Hierro	25.10^{-3}	13.10^{-3}	4.10^{-3}
Manganeso	24.10^{-3}	$7.5.10^{-3}$	$1,5.10^{-3}$
Zinc	40.10^{-6}	$7.8.10^{-3}$	$0,90.10^{-3}$
Aluminio	$0.1.10^{-3}$	$2.75.10^{-3}$	$0,76.10^{-3}$
Cobre *	10.10^{-6}	$1.8.10^{-3}$	$0,12.10^{-3}$
Níquel	5.10^{-6}	90.10^{-6}	25.10^{-6}
Litio	5.10^{-6}	$0.12.10^{-3}$	30.10^{-6}
Cromo	4.10^{-6}	90.10^{-6}	20.10^{-6}
Molibdeno	1.10^{-6}	15.10^{-6}	4.10^{-6}
Cobalto	1.10^{-6}	15.10^{-6}	8.10^{-6}
Vanadio	4.10^{-6}	$0.45.10^{-3}$	59.10^{-6}
Bromuro	10.10^{-6}	$2.6.10^{-3}$	40.10^{-6}
Yoduro	2.10^{-6}	30.10^{-6}	10.10^{-6}
Elementos traza			
Fluoruros	40.10^{-6}	$1.7.10^{-3}$	$0,2.10^{-3}$
Plomo	10.10^{-6}	$0.35.10^{-3}$	60.10^{-6}
Arsénico	1.10^{-6}	12.10^{-5}	5.10^{-6}
Cadmio	10.10^{-9}	5.10^{-5}	1.10^{-6}
Selenio	$0.2.10^{-6}$	$0.8.10^{-6}$	$0,4.10^{-6}$
Mercurio	10.10^{-9}	60.10^{-9}	6.10^{-9}
Platino	ND	24.10^{-6}	1.10^{-6}
Cianuro	4.10^{-6}	66.10^{-6}	10.10^{-6}

[1] Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003

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

Anexo 5 Osas y Polioles[1]

OSAS Y POLIOLES	MOSTOS			VINOS					
				TINTOS			BLANCOS		
	mín	máx	media	mín	máx	media	mín	máx	media
	g L^{-1}			g L^{-1}			g L^{-1}		
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

[1] Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003

Anexo 6 Polifenoles[1]

POLIFENOLES	VINO BLANCO		VINO TINTO	
	(g L^{-1}) 10^{-3}			
	media	mín - máx	media	mín-máx
No-Flavonoides				
Ácidos benzoicos				
Ácido gálico	7	1 – 18	95	2 – 130
Ácido protocatéquico*	-	-	12	0,2 – 20
Ácido *p*-hidroxibenzoico*	-	-	5	0,2 – 15
Acido vinílico*	-	-	4	0,3 - 10
Acido siríngico*	-	-	8	1,3 – 15
Acido sinápico*	-	-	1	0,3 – 2
Ácidos hidroxicinámicos				
Ácido caféico	4	0,4 - 8	10	0,3 - 26
Acido *p*-cumárico	-	-	6	0,4 - 15
Acido ferúlico	-	-	ND	0,1
Acido cafeoiltartárico (caftárico)	50	1 - 225	60	7 - 200
Acido *p*-cumaroiltartárico (cutárico)	15	0,2 - 70	15	2 - 20
Acido 2-S-glutationilcafeoiltartárico	20	5 - 50	-	-
Fenoles volátiles				
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
Otros				
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
Flavonoides				
Antocianos	-	-	300	20 – 500
3-glucósido de delfinidol	-	-	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 *p*-cumárico del 3 glucósido de petunidol	-	-	ND	1 – 8
Ester *p*-cumárico del 3 glucósido de malvidol	-	-	ND	2 - 35
Flavonoles	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
Flavanoles				
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-*o*-galato	ND	0,02 - 0,1	ND	0,5 - 6
B2-3-*o*-galato	ND	0,04 - 1	ND	1 – 7
B2-3$^{'}$-*o*-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
Flavanonoles				
Alstibina	ND	0,1 - 2,3	-	-
Engeletina	ND	0,06 - 2	-	-

[1] Cheynier y Teissedre citado en Flanzy, 2003

*Valores obtenidos por coinyección con un compuesto testigo

Anexo. 7 Vitaminas[1]

V I T A M I N A S	MOSTOS g L^{-1}	VINO BLANCO g L^{-1}	VINO TINTO g L^{-1}
Tiamina	$0{,}16.10^{-3}$-$0{,}45.10^{-3}$	2.10^{-6} - 58.10^{-6}	103.10^{-6}-245.10^{-6}
Riboflavina	3.10^{-6} - 60.10^{-6}	8.10^{-6} – 130.10^{-6}	$0{,}47.10^{-6}$-$1{,}9.10^{-6}$
Nicotinamida	$0{,}68.10^{-6}$ - $2{,}6.10^{-6}$	$0{,}44.10^{-6}$-$1{,}33.10^{-6}$	$0{,}79.10^{-6}$-$1{,}7.10^{-6}$
Ácido pantoténico	$0{,}5.10^{-6}$ - $1{,}4.10^{-6}$	$0{,}55.10^{-6}$ -$1{,}20.10^{-6}$	$0{,}13.10^{-6}$-$0{,}69.10^{-6}$
Piridoxina	$0{,}16.10^{-6}$ - $0{,}5.10^{-6}$	$0{,}12.10^{-6}$ -$0{,}67.10^{-6}$	$0{,}13.10^{-6}$ -$0{,}68.10^{-6}$
Colina	19.10^{-6} - 45.10^{-6}	19.10^{-6} – 27.10^{-6}	20.10^{-6} - 43.10^{-6}
Biotina	$1{,}50.10^{-6}$ - $4{,}2.10^{-6}$	1.10^{-6} - $3{,}6.10^{-6}$	$0{,}6.10^{-6}$ - $4{,}6.10^{-6}$
Ácido fólico	0 – $1{,}8.10^{-6}$	$0{,}40.10^{-6}$ -$4{,}50.10^{-6}$	$0{,}4.10^{-6}$ - $4{,}5.10^{-6}$
Ac.*p*-aminobenzoico	15.10^{-6} - 92.10^{-6}	15.10^{-6} - 133.10^{-6}	15.10^{-6} - 133.10^{-6}
Cianocobalamina	0 - $0{,}20.10^{-6}$	0 - $0{,}16.10^{-6}$	$0{,}04.10^{-6}$-$0{,}10.10^{-6}$
Mesoinositol	$0{,}38.10^{-3}$-$0{,}71.10^{-3}$	$0{,}38.10^{-3}$-$0{,}17.10^{-3}$	$0{,}29.10^{-3}$-$0{,}33.10^{-3}$
Ácido ascórbico	30.10^{-3} - 50.10^{-3}	$1{,}10^{-3}$ - 5.10^{-3}	1.10^{-3} - 5.10^{-3}

[1] Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003

Anexo 8. Viñedos y uvas en la región de Cerro Azul, Misiones

	Viñedos	Localización	Variedades de uvas
A	EEA[1]	INTA[2] de Cerro Azul	*Riesling*
B	Nº 103.647 INV[3]	Lote 39-40 Olegario V. Andrade	*Niágara Rosada* *Isabella*
C	Nº 3.659 INV[3]	Lote 137 Cerro Azul	*Isabella Tinto* *Riesling – Syrah – Oberling – Niágara Blanca – Cerecita – Sultanina – Isabella Precoz – Cardinal – Niágara Rosada – Blanca Común*

[1]EEA Estación Experimental Agropecuaria
[2]INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
[3]INV Instituto Nacional de Vitivinicultura

Anexo 9. Parámetros de la fermentación a 18 ºC en mostos de *Isabella tinto* con levaduras nativas

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20 ºC)	pH	Levaduras nativas x 10^5
0	1.078,8	17,50	3,45	0,12
1	1.066,0	15,10	3,65	1,09
2	1.060,1	14,67	3,65	2,21
3	1.049,0	13,67	3,66	1,09
4	1.042,0	12,47	3,63	1,82
5	1.034,9	11,47	3,61	2,02
6	1.028,0	10,27	3,60	1,28
7	1.020,7	9,06	3,62	43,2
8	1.015,7	8,46	3,57	24,4
9	1.010,1	7,67	3,58	53,0
10	1.004,6	7,01	3,58	41,6
11	1.001,3	6,34	3,57	28,5
12	1.000,2	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

Fuente: elaboración propia

Anexo 10. Parámetros de la fermentación a 22 ºC en mostos de *Isabella tinto* con levaduras nativas

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20 ºC)	pH	Levaduras Nativas x 10^5
0	1.078,8	17,50	3,45	0,12
1	1.063,1	15,87	3,60	4,19
2	1.045,7	13,65	3,62	1,50
3	1.034,1	11,47	3,61	0,84
4	1.024,3	9,94	3,62	4,13
5	1.012,2	8,34	3,62	1,63
6	1.005,8	7,28	3,61	1,34
7	1.001,1	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

Fuente: Elaboración propia

Anexo 11. Parámetros de la fermentación a 26 ºC en mostos de uva *Isabella tinto* con levaduras nativas

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20 ºC)	pH	Levaduras Nativas x 10^5
0	1.078,8	17,50	3,45	0,12
1	1.064,3	15,64	3,65	2,21
2	1.043,3	12,14	3,65	2,53
3	1.029,3	10,44	3,64	1,09
4	1.019,3	8,64	3,66	1,92
5	1.007,3	7,24	3,70	2,05
6	1.002,4	6,20	3,72	6,53
7	1.000,4	5,67	3,72	26,6
8	1.000,3	5,60	3,74	33,3
9	998,3	5,50	3,75	49,3
10	998,3	5,50	3,61	17,3

Fuente: Elaboración propia

Anexo 12. Parámetros de la fermentación a 30 ºC en mostos de *Isabella tinto* con levaduras nativas

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20 ºC)	pH	Levaduras Nativas x 10^5
0	1.078,8	17,50	3,45	0,12
1	1.058,8	15,61	3,64	4,54
2	1.033,6	12,12	3,60	2,40
3	1.019,4	9,24	3,57	2,46
4	1.007,4	7,56	3,58	2,21
5	1.002,6	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

Fuente: Elaboración propia

Anexo 13. Densidad contra tiempo en mostos de uva *Isabella tinto* con levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Tiempo	Densidad (20 ºC) g L^{-1}			
(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	1.078,8	1.078,8	1.078,8	1.078,8
1	1.066,0	1.063,1	1.064,3	1.058,8
2	1.060,1	1.045,7	1.043,3	1.033,6
3	1.049,0	1.034,1	1.029,3	1.019,4
4	1.042,0	1.024,3	1.019,3	1.007,4
5	1.034,9	1.012,2	1.007,3	1.002,6
6	1.028,0	1.005,8	1.002,4	999,6
7	1.020,7	1.001,1	1.000,4	999,5
8	1.015,7	999,3	1.000,3	999,4
9	1.010,1	998,3	998,3	999,4
10	1.004,6	997,6	998,3	
11	1.001,3	997,2		
12	1.000,2	997,2		
13	999,3			
14	997,0			
15	997,0			

Fuente: Elaboración propia

Anexo 14. ºBrix contra tiempo en mostos de uva *Isabella* con levaduras nativas a 18,22,26 y 30 ºC

Tiempo	ºBrix (20 ºC)			
(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	17,5	17,5	17,5	17,5
1	15,1	15,8	15,6	15,6
2	14,6	13,6	12,1	12,1
3	13,6	11,4	10,4	9,2
4	12,4	9,9	8,6	7,5
5	11,4	8,3	7,2	6,9
6	10,2	7,2	6,2	6,5
7	9,0	6,5	5,6	6,4
8	8,4	6,2	5,6	6,3
9	7,6	5,9	5,5	6,3
10	7,0	5,8	5,5	
11	6,3	5,7		
12	6,1	5,7		
13	5,9			
14	5,7			
15	5,7			

Fuente: Elaboración propia

Anexo 15. pH contra tiempo en mostos de uva *Isabella tinto* con levaduras nativas a 18, 22, 26 y 30 ºC

Estadígrafo	Tiempo	pH			
n = (nº datos)	(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
1	0	3,45	3,45	3,45	3,45
2	1	3,65	3,60	3,65	3,64
3	2	3,65	3,62	3,65	3,60
4	3	3,66	3,61	3,64	3,57
5	4	3,63	3,62	3,66	3,58
6	5	3,61	3,62	3,70	3,58
7	6	3,60	3,61	3,72	3,60
8	7	3,62	3,65	3,72	3,61
9	8	3,57	3,60	3,74	3,56
10	9	3,58	3,64	3,74	3,60
11	10	3,58	3,62	3,61	
12	11	3,57	3,63		
13	12	3,58	3,63		
14	13	3,58			
15	14	3,57			
16	15	3,57			
n		16	13	11	10
Valor medio		*3,59	*3,60	*3,65	*3,57
Desv. estándar		± 0,049	± 0,047	± 0,08	± 0,048
Rango de variación		3,45-3,66	3,45-3,65	3,45-3,74	3,45-3,64

*No hay diferencias significativas según el test t para varianzas iguales ($\alpha = 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

Anexo 16. Levaduras nativas contra tiempo en mostos de *Isabella* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Tiempo de fermentación	levaduras nativas x 10^5 (en células mL^{-1})			
(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	0,12	0,12	0,12	0,12
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			

* Valores máximos de población de levaduras

Fuente: Elaboración propia

Anexo 17. Parámetros de la fermentación a 18 ºC en mostos de *Isabella tinto* y *S. bayanus*

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20ºC)	pH	Levaduras x 10^5
0	1.078,8	17,5	3,45	0,06
1	1.066	15,07	3,63	2,08
2	1.061,1	14,67	3,68	1,57
3	1.053	14,39	3,71	9,28
4	1.046,9	12,87	3,73	2,08
5	1.040,9	12,47	3,70	1,54
6	1.032	11,07	3,66	2,85
7	1.024,7	9,87	3,66	93,8
8	1.017,7	8,46	3,61	102
9	1.011,1	7,87	3,63	36,2
10	1.003,6	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

Fuente: Elaboración propia

Anexo 18. Parámetros de la fermentación a 22 ºC en mostos de *Isabella tinto* y *S. bayanus*

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20ºC)	pH	Levaduras x 10^5
0	1.078,8	17,5	3,45	0,06
1	1.059,1	15,40	3,58	2,21
2	1.054,6	14,82	3,63	6,46
3	1.050,1	13,87	3,67	2,27
4	1.044,3	12,74	3,71	1,95
5	1.034,3	11,34	3,71	3,33
6	1.025,8	10,09	3,69	5,98
7	1.018,1	8,87	3,71	94,1
8	1.012,3	8,14	3,72	36,3
9	1.006,7	6,8	3,71	61,4
10	1.000,3	6,3	3,67	40,3
11	997,2	5,7	3,67	38,9
12	997,2	5,70	3,66	34,7

Fuente: Elaboración propia

Anexo 19. Parámetros de la fermentación a 26 ºC en mostos de *Isabella tinto* y *S. bayanus*

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20ºC)	pH	*Bayanus* x 10^5
0	1.078,8	17,5	3,45	0,06
1	1.061,1	14,40	3,64	2,18
2	1.050,4	13,7	3,63	1,28
3	1.040,3	12,44	3,77	1,60
4	1.030,3	10,64	3,76	1,38
5	1.018,3	9,24	3,75	1,66
6	1.008,4	7,67	3,74	47,9
7	1.000,4	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

Fuente: Elaboración propia

Anexo 20. Parámetros de la fermentación a 30 ºC en mostos de uva *Isabella tinto* con *S. bayanus*

Días	Densidad g L^{-1}	SST (ºBrix) (20ºC)	pH	*S. bayanus* x 10^5
0	1.078,8	17,50	3,45	0,06
1	1.058,6	14,53	3,59	3,55
2	1.045,6	13,03	3,69	3,01
3	1.032,3	11,44	3,65	3,26
4	1.019,6	9,52	3,63	2,82
5	1.008,6	7,71	3,59	2,05
6	1.003,8	7,1	3,56	1,60
7	1.000,4	6,9	3,56	65,0
8	999,4	6,3	3,53	36,5
9	999,4	6,3	3,55	25,9

Fuente: Elaboración propia

Anexo 21. Densidad contra tiempo en mostos de *Isabella tinto* con S. *Bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Tiempo	Densidad g L^{-1} (a 20 ºC)			
(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	1.078,8	1.078,8	1.078,8	1.078,8
1	1.066	1.059,1	1.061,1	1.058,6
2	1.061,1	1.054,6	1.050,4	1.045,6
3	1.053	1.050,1	1.040,3	1.032,3
4	1.046,9	1.044,3	1.030,3	1.019,6
5	1.040,9	1.034,3	1.018,3	1.008,6
6	1.032	1.025,8	1.008,4	1.003,8
7	1.024,7	1.018,1	1.000,4	1.000,4
8	1.017,7	1.012,3	999,2	999,3
9	1.011,1	1.006,7	998,1	999,3
10	1.003,6	1.000,3	998,1	
11	999,3	997,1		
12	998,2	997,1		
13	997,3			
14	996,2			
15	996,2			

Fuente: Elaboración propia

Anexo 22. ºBrix vs Tiempo en mostos de uva *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Tiempo	º Brix (a 20 ºC)			
(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	17,5	17,5	17,5	17,5
1	15,0	15,4	14,4	14,5
2	14,6	14,8	13,7	13,0
3	14,3	13,8	12,4	11,4
4	12,8	12,7	10,6	9,5
5	12,4	11,3	9,2	7,7
6	11,0	10,0	7,6	7,1
7	9,8	8,8	6,5	6,7
8	8,4	8,1	6,4	6
9	7,7	6,8	5,3	6
10	7,1	6,3	5,3	
11	6,1	5,5		
12	5,9	5,5		
13	5,8			
14	5,4			
15	5,4			

Fuente: Elaboración propia

Anexo 23. pH contra el tiempo en mostos de *Isabella tinto* con *S. bayanus* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Estadígrafo	Tiempo	pH			
n = (nº datos)	(días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
1	0	3,45	3,45	3,45	3,45
2	1	3,63	3,58	3,64	3,59
3	2	3,68	3,63	3,63	3,69
4	3	3,71	3,67	3,77	3,65
5	4	3,73	3,71	3,76	3,63
6	5	3,7	3,71	3,75	3,59
7	6	3,66	3,69	3,74	3,56
8	7	3,66	3,71	3,74	3,56
9	8	3,61	3,72	3,73	3,53
10	9	3,63	3,71	3,72	3,55
11	10	3,6	3,67	3,57	
12	11	3,58	3,67		
13	12	3,56	3,66		
14	13	3,57			
15	14	3,58			
16	15	3,56			
n		16	13	11	10
Valor medio		*3,61	*3,66	*3,68	*3,58
Desv. estándar		± 0,068	± 0,071	± 0,095	± 0,063
Rango de variación		3,45-3,73	3,45-3,72	3,45-3,77	3,45-3,69

* No hay diferencia significativa según el test t para varianzas iguales ($\alpha = 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

Anexo 24. *S. bayanus* contra tiempo de fermentación en mostos de *Isabella tinto* a 18, 22, 26 y 30 ºC

Tiempo de Fermentación	Levaduras *S. bayanus* x 10^5 (en células mL^{-1})			
(Días)	18 ºC	22 ºC	26 ºC	30 ºC
0	0,06	0,06	0,06	0,06
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			

* valores máximos de población de levaduras

Fuente: Elaboración propia

Anexo 25. Densidad contra tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC

Tiempo	Densidad g L^{-1} (20 ºC)	
Días	*S. bayanus*	Nativas
0	1.080,3	1.080,3
1	1.058,6	1.058,8
2	1.045,8	1.046,7
3	1.035,8	1.035,8
4	1.021,9	1.023,7
5	1.013,7	1.015,7
6	1.005,6	1.006,7
7	1.001,7	1.001,4
8	997,7	997,7
9	995,7	995,6
10	993,5	993,6
11	993,5	993,6

Anexo 26. ºBrix contra el Tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC con levaduras nativas y *S. bayanus*

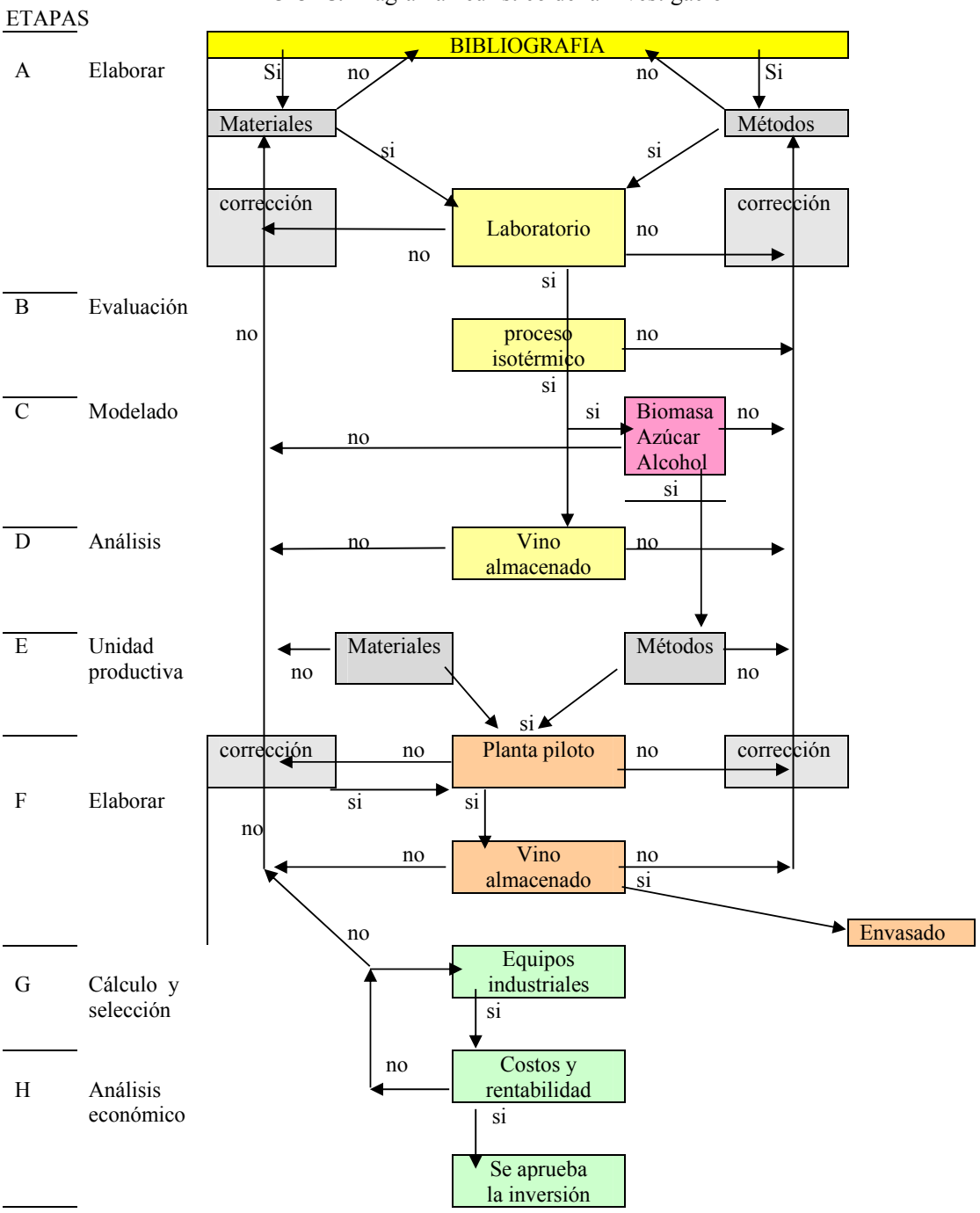
Tiempo	ºBrix (20 ºC)	
Días	*S. bayanus*	Nativas
0	19,0	19,0
1	15,5	15,89
2	13,4	13,85
3	11,6	12,09
4	10,3	10,75
5	8,75	8,25
6	7,21	7,75
7	6,84	6,60
8	6,24	6,24
9	5,74	5,71
10	5,74	5,71
11	5,71	5,61

Fuente: Elaboración propia

Anexo 27. PH contra el Tiempo en mostos de *Niágara rosada* a 24 ºC con levaduras nativas y *S. bayanus*

Estadígrafo	Tiempo	pH	
n = (nº datos)	(días)	*S. bayanus*	Nativas
1	0	3,20	3,20
2	1	3,29	3,32
3	2	3,28	3,26
4	3	3,26	3,26
5	4	3,25	3,19
6	5	3,23	3,18
7	6	3,21	3,20
8	7	3,24	3,21
9	8	3,23	3,25
10	9	3,24	3,23
11	10	3,25	3,23
12	11	3,27	3,24
n		12	12
Valor medio		3,24*	3,23*
Desv. estándar		± 0,025	± 0,037
Rango de variación		3,2-3,29	3,2-3,32

* Sin diferencia significativa según el test t para varianzas iguales ($\alpha = 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

Anexo 28. Diagrama heurístico de la investigación