



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE AGUA AL MOSTO SOBRE LA  
COMPOSICIÓN QUÍMICA Y SENSORIAL DE VINOS CV.  
CHARDONNAY**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de  
Magíster en Enología y Vitivinicultura

**LUIS FELIPE URRUTIA BECERRA**

Directores de tesis

ÁLVARO PEÑA NEIRA

CARLA JARA CAMPOS

SANTIAGO-CHILE

2024

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

EFECTO DE LA ADICIÓN DE AGUA AL MOSTO SOBRE LA COMPOSICIÓN  
QUÍMICA Y SENSORIAL DE VINOS CV. CHARDONNAY

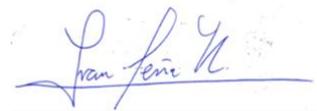
Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de  
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Enología y Vitivinicultura

**LUIS FELIPE URRUTIA BECERRA**

GUÍA DE TESIS/AFE

Álvaro Peña Neira

Ingeniero Agrónomo-Enólogo, Dr.



6,4

Carla Jara Campos

Ingeniero Agrónomo-Enólogo, Dr.



6,5

PROFESORES/AS CONSEJEROS/AS

Mariona Gil Cortiella

Químico-Enólogo, Dr.



5,7

Felipe Laurie Gleisner

Ingeniero Agrónomo-Enólogo, Dr.



5,9

Santiago, Chile  
2024

## AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, quisiera agradecer a mi familia, pareja y a mis amigos de la universidad, quienes me acompañaron y ayudaron en cada paso que di en este largo camino.

De igual forma, agradecer a los docentes e integrantes del departamento de enología, quienes siempre me ayudaron cuando lo necesité, especialmente a mis profesores guía Álvaro Peña y Carla Jara, los que me dieron la posibilidad de trabajar en esta investigación.

Agradecer también a Candela Ruiz de Villa con quien trabajamos en conjunto, en la realización de nuestras tesis ayudándonos mutuamente en este proceso y enseñándome cada vez que pudo, dado su mayor experiencia. Agradecer al ayudante Benner Giacomozzi quien también fue parte de este proyecto, siempre nos ayudó con buena disposición cuando hubo que trabajar en el laboratorio. Del mismo modo agradecer al Ingeniero Sr. Héctor Morales por su gran ayuda en los análisis cromatográficos asociados a esta tesis.

Finalmente, agradecer al Proyecto Europeo Vwise “Vine and Wine Innovation through Scientific Exchange” y al profesor Joan Miquel Canals, a la profesora Mariona Gil i Cortiella y equipo de trabajo de Vwise por recibirme de muy buena manera. Además, agradecer a los proyectos FONDECYT 1231751” Viticulture and climate change adaptation in southern Chile: site-typicity in cv. Pinot Noir grape berries and wines using metabolic profiling and sensory analysis” cuyo director es el Dr. Alvaro Peña Neira y FONDECYT 1210844 “New perspectives on tartaric stability of chilean wines” cuya directora es la Dra. Mariona Gil I Cortiella, por ser también fuente de financiamiento de este trabajo.

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo lleva una especial dedicación a quien fue una segunda madre y abuela para mí, me acompañó y apoyo en el inicio de esta etapa, a pesar de que no puedo llegar terrenalmente al final, sé que me acompaña desde alguna parte, dedicado para mi abuela Silvia Karina Vasquez Espinoza.*

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Reducción alcohólica del vino .....	2
Técnicas utilizadas pre-fermentación alcohólica.....	2
Técnicas utilizadas en fermentación alcohólica.....	3
Técnicas ejecutadas en procesos post-fermentación alcohólica .....	3
Adición de agua al mosto .....	4
Antecedentes de cv Chardonnay .....	5
<b>HIPÓTESIS</b> .....	6
<b>OBJETIVOS</b> .....	6
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	7
Ubicación del estudio .....	7
Material biológico .....	7
Equipamiento .....	7
Método.....	8
Tratamientos y diseño experimental.....	8
Manejo del experimento.....	9
Variables medidas .....	9
Análisis básicos.....	9
Análisis químicos.....	9
Análisis de polifenoles.....	9
Análisis Sensorial.....	10
Análisis estadístico.....	11
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	12
Fenoles de bajo peso molecular.....	14
Compuestos fenólicos no Flavonoides .....	15
Compuestos fenólicos Flavonoides .....	17
Compuestos volátiles .....	19
Polisacáridos .....	25
Análisis sensorial .....	26
Test triangular.....	26
Análisis descriptivo.....	27
<b>CONCLUSIONES</b> .....	29

<b>LITERATURA CITADA</b> .....	30
<b>ANEXOS</b> .....	34
Anexo 1 – Pauta de análisis sensorial para vinos con dilución por método de test triangular.....	34
Anexo 2 - Pauta de análisis sensorial para vinos con dilución por método del perfil descriptivo..	35
Anexo 3 - Publicación investigación. "physicochemical and organoleptic differences in chardonnay Chilean wines after ethanol reduction practises: pre-fermentative water addition or metschnikowia pulcherrima" .....	38

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos a realizados.....	8
Cuadro 2. Análisis iniciales del mosto utilizado. ....	12
Cuadro 3. Solidos solubles (°Brix) y densidad por tratamiento al inicio del proceso fermentativo. ....	12
Cuadro 4. Analíticas generales y de compuestos fenólicos, determinados a los vinos de los tres tratamientos. ....	13
Cuadro 5. Resultados fenoles de bajo peso molecular por HPLC-DAD organizado en familias (mg/L).....	14
Cuadro 6. Concentración de fenoles de bajo peso molecular: compuestos no flavonoides..	16
Cuadro 7. Concentración de fenoles de bajo peso molecular: compuestos flavonoides.....	18
Cuadro 8. Familias de compuestos volátiles presentes en el vino estudiado según su abundancia.....	19
Cuadro 9. Resultado de compuestos volátiles presentes en el vino estudiado, según su abundancia.....	20
Cuadro 10. Concentración de polisacáridos presentes en el vino según su tamaño molecular. ....	25
Cuadro 11. Resultados test triangular. ....	26
Cuadro 12. Resultados cata descriptiva. Tratamiento control y tratamiento con 10% adición de agua. ....	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Análisis discriminante de las muestras utilizando de compuestos volátiles.....	24
--	----

## RESUMEN

Frente al constante aumento de la temperatura a nivel global y al progresivo avance del cambio climático, se ha hecho cada vez más común en el mundo vitivinícola la producción de vinos con un nivel de grado alcohólico más elevado. Esto se debe a la constante alza en los niveles de azúcar en la uva, al momento de la cosecha, materia prima de la elaboración del vino.

Este estudio buscó evidenciar los resultados de los parámetros químicos y sensoriales de dos tratamientos de adición de agua creciente al mosto de uva, con el fin de disminuir los sólidos solubles de éste, mediante una dilución y así obtener una menor graduación alcohólica en el posterior vino.

Para la realización de este estudio, se utilizaron mostos de uva, provenientes de un cv. Chardonnay, del valle de Curicó. Se llevaron a cabo 2 tratamientos con la adición de 5% y 10% de agua, además del tratamiento control, el cual no tuvo adición de agua.

Los resultados reflejaron una disminución el grado alcohólico en ambos tratamientos. Sin embargo, el tratamiento donde se añadió un 5% dio como resultado vinos con menores cambios en sus atributos sensoriales y componentes químicos, tales como, fenoles de bajo peso molecular, compuestos volátiles y polisacáridos. En cambio, en el tratamiento con un 10% de adición de agua se observaron como resultado vinos con una mayor disminución de su grado alcohólico (-12,4%). No obstante, se evidenció, una significativa alteración de sus atributos sensoriales, específicamente en los atributos de carácter gustativo como la untuosidad y persistencia, los vinos generados de este tratamiento presentaron menor complejidad y preferencia de parte los consumidores.

Estos resultados indican la posibilidad de reducir el grado alcohólico en vinos mediante una adición controlada de agua en el mosto, no obstante, algunos atributos sensoriales y químicos podrían verse alterados levemente. Esta práctica podría ser una buena alternativa de adaptación frente al escenario climático que enfrenta la vitivinicultura hoy en día, siempre y cuando se tenga en cuenta el impacto que podría producir en el vino resultante.

**Palabras claves:** Aromas, compuestos fenólicos, polisacáridos.

## ABSTRACT

Faced with the constant increase in global temperature and the progressive advance of climate change, the production of wines with a higher alcoholic level has become increasingly common in the wine world. This is due to the constant rise in sugar levels in grape at the time of harvest, raw material of wine processing.

This study sought to demonstrate the results of the chemical and sensory parameters of two treatments of increasing water addition to the grape must, in order to decrease the soluble solids of it, by a dilution and thus obtain a lower alcoholic gradation in the subsequent wine.

For this study, were used grape musts from a cv. Chardonnay, in the Curicó valley. Two treatments were carried out with the addition of 5% and 10% water, in addition to the control treatment, which had no addition of water.

The results reflected a decrease in the alcohol level in both treatments. However, the treatment where 5% was added resulted in wines with lesser changes in their sensory attributes and chemical components, such as, low molecular weight phenols, volatile compounds and polysaccharides. In contrast, in the treatment with a 10% addition of water were observed as a result wines with a greater decrease in their alcoholic degree (-12.4%). however, a significant alteration of their sensory attributes was shown, specifically in the attributes of a tasty character such as unctuousness and persistence, the wines generated by this treatment presented less complexity and preference on the part of consumers.

These results indicate the possibility of reducing the alcoholic degree in wines by controlled addition of water to the must, however, some sensory and chemical attributes may be slightly altered. This practice could be a good alternative to adapting to the climate scenario facing wine-growing today, provided that the impact it could have on the resulting wine is taken into account.

**Key words:** Aromas, phenolic compounds, polysaccharides.

## INTRODUCCIÓN

A través del paso del tiempo, la temperatura del planeta ha ido en aumento debido al cambio climático que actualmente enfrenta en consecuencia de la actividad humana del último siglo, afectando a éste de diferentes formas. El calentamiento global también ha afectado al sector vitivinícola, teniendo algunas repercusiones en la calidad de los vinos. Este aumento de la temperatura ha traído consigo el aumento en la concentración de azúcar de las bayas al momento de la cosecha, provocando un desfase de madurez tecnológica y madurez fenólica. Por lo tanto, producto de esta alza en las temperaturas y el efecto sobre la composición de la baya, el vino se ve afectado cuando existe un aumento de la temperatura (Van Leeuwen *et al.*, 2004).

La concentración de azúcar de las bayas determina la concentración de alcohol final en el vino después del proceso fermentativo, siendo un factor clave en la calidad potencial del vino (Parker *et al.*, 2020). Debido al aumento del azúcar en las cosechas en diversas localidades del planeta, a lo largo de los años, se ha vuelto cada vez más común encontrar vinos en el mercado con una graduación alcohólica mayor. Un estudio realizado en Australia, deja en evidencia aumentos del nivel medio de alcohol de 12,4% a 14,4% para los vinos tintos y de 12,2% a 13,2% para los vinos blancos entre los años 1984 y 2008 (Godden y Muhlack, 2010). Este aumento en la graduación alcohólica de los vinos ha traído consigo aspectos negativos en la calidad y en la elaboración de éstos, como ralentización o estancamiento de procesos fermentativos, tanto en fermentación alcohólica y maloláctica (Piccardo *et al.*, 2019), generando cambios en los compuestos volátiles del producto final (Zamora, 2009) que se traducen en problemas sensoriales del vino (Fischer y Noble, 2004; Le Berre *et al.*, 2007). Cabe destacar que la concentración de alcohol en el vino puede aumentar los atributos de amargor y pungencia en la fase gustativa de la degustación de estos. También, se considera que reduce la percepción sobre la complejidad del vino, enmascarando atributos sensoriales al paladar (Gawel *et al.*, 2000). Sin embargo, el alto grado alcohólico no solo conlleva problemas en la calidad del vino, sino que también es relacionado con problemas asociados con responsabilidades sociales (Grønbaek, 2009). Por tanto, estos dos puntos han traído consigo una menor preferencia por parte del consumidor, al ver una etiqueta con una graduación alcohólica más alta, lo que ha producido una disminución en la venta de estos vinos (Saliba *et al.*, 2013).

Para suplir este escenario, existen diversas estrategias para reducir la concentración de alcohol en los vinos, utilizadas en procesos pre fermentativos, fermentativos y post fermentativos.

## Reducción alcohólica del vino

A partir de las anteriores problemáticas en vinos con graduaciones alcohólicas altas, surgen posibles soluciones para disminuir el porcentaje de etanol en éstos, como lo son los manejos agronómicos de cosechas tempranas, de manera de obtener un valor potencial de alcohol acorde a lo requerido por los consumidores y mercado. Sin embargo, en este caso se pueden obtener vinos con deficiencias sensoriales, debido a que no se alcanzará una madurez fenólica y aromática completa de la uva (Piccardo *et al.*, 2019; Teng *et al.*, 2020).

A raíz de esto, se gestan otras estrategias tecnológicas tendientes a reducir el grado alcohólico en los vinos, tales como el uso de membranas de filtración, procesos de destilación, concentración por congelación y absorción y extracción de alcohol (Longo *et al.*, 2016). Sin embargo, estas técnicas aumentan el riesgo de que la composición química del mosto y/o vino, relacionada con el color y aromas de éstos, se pierdan (Pickering, 2000; Varela *et al.*, 2015). Además, estas estrategias presentan elevados costos de aplicación y son poco amigables con el medio ambiente, debido a que poseen un gasto energético alto y generan desechos (Teng *et al.*, 2020). Además de las técnicas anteriormente mencionadas, existen técnicas microbiológicas, como la utilización de levaduras *no Saccharomyces* en secuencia con *Saccharomyces*, con el fin de una generar una menor producción de alcohol. Sin embargo, estas técnicas no son 100% efectivas, ya que, en algunos casos logran predominar las levaduras *Saccharomyces* provocando una pobre reducción del alcohol en el vino final (Ruiz de Villa *et al.*, 2023; Quiroz *et al.*, 2014). La adición de agua al mosto pre-fermentación alcohólica, método en el cual se centrará este estudio, según algunos estudios anteriores (Schelezki *et al.*, 2018; Schelezki *et al.*, 2020; Teng *et al.*, 2019), ha tenido buenos resultados respecto a otras técnicas para reducir el grado alcohólico.

A continuación, se mencionarán y describirán algunos de los métodos para reducción alcohólica más utilizados y sus características según el momento en el proceso de elaboración de un vino, en el cual se pueden realizar (Longo *et al.*, 2016).

### Técnicas utilizadas pre-fermentación alcohólica

Estas técnicas buscan la reducción de la cantidad de azúcar en el mosto, y así, disminuir la graduación alcohólica posteriormente en el vino (Longo *et al.*, 2016). Entre estas estrategias se pueden encontrar:

Prácticas vitivinícolas (modificación de riego, manejo de brotes, podas), con la cual se logra disminuir la graduación alcohólica, sin embargo, la disminución de éste es ligera (Novello *et al.*, 2013).

Realizar una cosecha temprana de la fruta, esta técnica es efectiva para la reducción del grado alcohólico, sin embargo, el vino podría preservar aromas herbáceos, pH bajos y madurez fenólica y aromática incompleta (Teng *et al.*, 2020).

La sustitución de un porcentaje de mosto con una alta madurez fenólica y tecnológica por un mosto con menor grado de maduración y concentración de azúcar, para la reducción del grado de azúcares fermentables y así una posterior disminución de graduación alcohólica, sustituyendo un en un vino realizado con un mosto de mayor madurez y graduación. Esta estrategia ha logrado buenos resultados, no obstante, su investigación aun no es suficiente (Kontoudakis *et al.*, 2011).

Filtración del mosto por membrana, esta técnica requiere una clarificación previa para correcto funcionamiento de las membranas y evitar gastos adicionales, además podrían perderse algunos precursores aromáticos (Salgado *et al.*, 2015).

Finalmente, la dilución o adición de agua al mosto, método en el cual se centrará la presente investigación. Este método es efectivo y con buenos resultados al momento de conservar compuestos fenólicos y perfil sensorial. Sin embargo, presenta problemas de legalidad en algunos países (Teng *et al.*, 2020).

### **Técnicas utilizadas en fermentación alcohólica**

Estas técnicas buscan la reducción del grado alcohólico, disminuyendo la producción de alcohol de parte de las levaduras presentes en el vino (Longo *et al.*, 2016). Dentro de esta categoría se encuentran técnicas como la utilización de levaduras *no-Saccharomyces*. Este método de reducción alcohólica utiliza levaduras con una menor eficiencia en la producción de alcohol, sin embargo, podrían generar una fermentación incompleta, además de sabores no deseados por exceso en la generación de acetaldehído y acetatos de etilo o no llegar a la reducción alcohólica deseada (Quiroz *et al.*, 2014). Otro método es la utilización de levaduras modificadas genéticamente para producir menor cantidad de alcohol, sin embargo, se ha evidenciado que podrían producir un exceso de dulzor debido a la sobreproducción de glicerol y además presenta costos más elevados (Ehsani *et al.*, 2009).

### **Técnicas ejecutadas en procesos post-fermentación alcohólica**

Las técnicas utilizadas post fermentación alcohólica, son las más utilizadas en el mundo enológico, algunas de éstas utilizan sistemas físicos, como es el caso del uso de membranas en donde se encuentra la técnica de osmosis inversa, nanofiltración, entre otras. Además, existen algunas que no usan membranas como es el caso de la destilación al vacío del vino (columna de cono rotatorio) (Longo *et al.*, 2016). La aplicación de la técnica de osmosis inversa requiere mano de obra calificada, gastos económicos, además de ser invasiva para el vino, resultando de ésta, vinos química y sensorialmente diferentes al original. Por otra parte, los vinos resultantes sensorialmente tienen una menor aceptación de parte de algunos consumidores (Meillon *et al.*, 2010). La columna de cono rotatorio o destilación al vacío es una estrategia efectiva al momento de reducir el alcohol, sin embargo, esta posee un gran consumo energético y económico (Schmidtke *et al.*, 2012).

## Adición de agua al mosto

La técnica de adición de agua en el mosto del vino en la fase de pre fermentativa de este busca aumentar el solvente de la solución presente en el mosto y así disminuir la concentración de sólidos solubles. El objetivo de esta estrategia está centrado en el metabolismo de las levaduras *Saccharomyces cereviceae*, las cuales a través de estos sólidos solubles o azúcares fermentables transforman la glucosa en etanol y otros subproductos, con una eficacia estimada de 16 a 17 gramos de azúcar por grado alcohólico formado y por tanto, así disminuir la posterior concentración de alcohólica en el vino (Hidalgo, 2003).

Se ha evidenciado a través de algunos estudios anteriores, especialmente en vinos tintos, que la adición de agua en el mosto conserva gran parte de las características sensoriales y compuestos fenólicos, como taninos y antocianinas. Por otro lado, se ha demostrado que se conserva mejor la estabilidad de color frente a cosechas tempranas, resultando vinos con colores menos marrones en su tonalidad, menor incremento de pigmentos no blanqueables, por lo tanto, estos vinos podrían tender a evolucionar lentamente y en mejor condición, respecto a vinos elaborados a partir de cosechas más tempranas (Teng *et al.*, 2020). Dicho esto, la elaboración de vinos con adición de agua podría traer como beneficio vinos con una mayor preservación de un color deseable. Es por estas razones que la adición de agua podría ser el método con mejores resultados al momento de elaborar vinos con un grado de azúcar objetivo, optimizando de mejor forma propiedades como el color y taninos en el vino (Schelezki *et al.*, 2018; Teng *et al.*, 2020).

Por otra parte, en términos sensoriales, estudios como el de Teng *et al.* (2020) mencionan que vinos elaborados con una adición de agua en el mosto, lograron retener aromas a frutos rojos, lo cual es un atributo deseable en vinos tintos, en especial Cabernet Sauvignon. Sin embargo, otros aromas catalogados como defectuosos también fueron retenidos, como aromas a puerro, los cuales se atribuyen al uso de fruta madura y algunos sabores a oxidaciones en el vino (Teng *et al.*, 2020).

En términos legislativos, la adición de agua al mosto del vino es una técnica con ciertas limitantes legales en Chile, ya que, según el Ministerio de Agricultura, solo se permiten adiciones de agua en la elaboración de vinos no superiores al 3,5% del total del vino, señalando además que solo se podrán utilizar como métodos de reducción de sólidos solubles técnicas como el uso de membranas, acoplamiento membranoso y adición de agua en mostos con contenido de sólidos solubles superiores a 23,5° Brix (Ministerio de Agricultura, 2019). Es importante mencionar que en otros países como Estados Unidos de América, la adición de agua es una práctica completamente legal y aceptada (United States Code of Federal Regulations, 2010).

## Antecedentes de cv Chardonnay

El cultivar Chardonnay es una cepa de *Vitis vinifera*, la cual presenta un origen francés, específicamente de la zona de Borgoña. Según estudios genéticos, Chardonnay es el resultado de la cruce entre las cepas Gouais Blanc con Pinot 38 (Organización Internacional de la Viña y el Vino, 2017).

Esta variedad presenta una gran importancia a nivel mundial en el área vitivinícola, debido a que es la séptima variedad con mayor superficie cultivada en el mundo con un total de 210.000 hectáreas a lo largo de 41 países, expandiéndose por Europa, América y Oceanía, presentado una tendencia al alza en su superficie (Organización Internacional de la Viña y el Vino, 2017).

Chile, se sitúa entre los 6 principales productores de esta variedad junto con España, Francia, Italia, Estados Unidos y Australia. Hoy en día Chile cuenta con un total de 10.345 hectáreas pertenecientes al cultivar Chardonnay y la mayor producción en los últimos 10 años con 104.103 litros en el año 2022. El cultivo del Chardonnay en Chile comienza desde la región de Coquimbo extendiéndose hasta la región de Los Lagos, abarcando un total 30,57% del total de vides blancas cultivadas en Chile posicionándola en la segunda variedad blanca con mayor producción después del Sauvignon blanc (SAG, 2023).

Siendo Chile uno de los principales productores de vino y de gran calidad a nivel mundial, situándose como el primer exportador del Nuevo Mundo y cuarto a nivel mundial, siendo superado por Francia, España e Italia (ODEPA, 2021), es que mejorar las condiciones de aceptabilidad de los vinos es muy importante. Por estos motivos, resulta de gran importancia, estudiar un tema que en la medida que pasan los años puede ser cada vez más relevante, dado que no hay información sobre este particular en el país, y menos con la variedad Chardonnay, dado que la mayor cantidad de estudios publicados consideran solo variedades tintas. Esto permitirá evaluar resultados y compararlos con resultados obtenidos por otros investigadores a nivel internacional.

Por último, cabe mencionar, que existe reducida información acerca de las características sensoriales de vinos elaborados a partir de mostos del cultivar Chardonnay con una elevada concentración de azúcar debido a una alta madurez de las bayas, de igual forma es escasa la información acerca del efecto sensorial que implica la reducción de la concentración de azúcar a través de la adición de agua, por lo que sería de gran importancia caracterizar sensorialmente cómo se comporta la técnica de adición de agua al momento de elaborar vinos. Lo anterior a motivado la presente investigación.

## **HIPÓTESIS**

Al adicionar 2 cantidades crecientes de agua al mosto de uva, en el proceso de elaboración de un vino blanco del cv. Chardonnay para su reducción alcohólica, no se generarán cambios en parámetros físicos y compuestos químicos, incrementando además la preferencia del consumidor con el incremento del porcentaje de agua utilizado.

## **OBJETIVOS**

Determinar el efecto de la adición de agua en una proporción creciente al mosto, como método de reducción alcohólica, sobre las características físicas, químicas y sensoriales de vinos del cv. Chardonnay.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del estudio

Los análisis básicos y específicos como, sensoriales, enológicos y de caracterización fenólica se realizaron en los laboratorios de Química Enológica, Análisis Cromatográfica y de Capacidad Antioxidante de Alimentos y Análisis Sensorial del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### Material biológico

El estudio se realizó con mosto sulfitado, proveniente de la Viña Correa Albano (35°02'45.8"S 71°18'48.1"W) de la vendimia 2022 de un cultivar Chardonnay perteneciente al Valle de Curicó. Al mosto se le disminuyó su grado alcohólico probable por la dilución con agua. Se utilizó a agua destilada y purificada, para evitar la presencia de cloro, la cual se adquirió en el laboratorio de Química Enológica, de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Los depósitos fueron inoculados con la levadura *Saccharomyces cereviceae* QA23 (Lallemand, Francia).

### Equipamiento

Los instrumentos que se emplearon para el análisis de las muestras del mosto son un refractómetro termo compensado Arquimed (Santiago, Chile) para la medición de sólidos-solubles expresados en grados Brix. El pH se obtuvo mediante un potenciómetro marca Mettler Toledo modelo S220 SevenCompact™ (Columbus, Ohio, Estados Unidos).

Los análisis fenólicos totales se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS Pharmaspec, modelo UV-1700 (Shimadzu, Kyoto, Japón). Para la determinación de los taninos totales se utilizó metilcelulosa (Sigma-Aldrich, USA). Para el fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular y fenoles de bajo peso molecular se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) Agilent 1260 Infinity Serie (Alemania), equipado con una bomba

cuaternaria G1311B, dos detectores de índice de refracción G1362A y G1315D, dos columnas en serie Shodex SB-803 HQ y SB-804 HQ (Japón) y un computador. Para la extracción de polisacáridos de las muestras de vinos, se hizo uso de una centrifuga Heraeus Labofuge 400 (Alemania), evaporador al vacío (Univapo 100ECH, Uniequip, Martinsried, Alemania) y un liofilizador. Todos los solventes que se emplearon en esta investigación fueron adquiridos en Merck S.A. (Santiago, Chile). Para los análisis de compuestos fenólicos los estándares fueron adquiridos en Sigma-Aldrich, USA y un rotavapor Büchi B-491 (Suiza).

## Método

### Tratamientos y diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar (DCA), compuesto de 3 depósitos para cada nivel de agua adicionada (tratamiento) y tratamiento control. La unidad experimental de este ensayo correspondió al mosto contenido en un depósito de 25L de plástico de uso alimentario, mientras que la unidad muestral a botellas de 750mL de vino obtenidas al término de la fermentación alcohólica.

Se realizó un ensayo con tres condiciones por triplicado, los que corresponden a cada dilución. Los tratamientos fueron determinados por la cantidad de agua que fue necesaria para alcanzar el grado alcohólico probable deseado. Se dispuso de un T<sub>0</sub> (vino control) que fue el vino elaborado con mosto sin dilución, cuya graduación alcohólica objetivo o GAP fue de ~ 12,9% v/v, el cual fue calculado con una eficiencia de 17g de azúcar fermentable por 1 grado alcohólico producido (Hidalgo, 2003). Finalmente, se agregó las siguientes dosis de agua por depósitos, indicadas en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Tratamientos a realizados

TRATAMIENTOS	DOSIS	AGUA AÑADIDA	GRADO ALCOHOLICO OBJETIVO
T <sub>0</sub>	0%	0	12,9°
T <sub>1</sub>	5%	1	12,2°
T <sub>2</sub>	10%	2	11,5°

Agua añadida: Litros.

## Manejo del experimento

Se realizaron mezclas de mostos y agua purificada dependiendo del tratamiento (Cuadro 1), en distintas proporciones para obtener los vinos con el grado alcohólico probable deseado para cada tratamiento.

Las fermentaciones alcohólicas se realizaron en 9 depósitos plásticos de uso alimentario de 25L, los cuales fueron llenados hasta un 80% de su capacidad (Unidad experimental: mosto contenido en los depósitos). Una vez realizada la mezcla del mosto base con el agua, la mezcla se homogeneizó y los depósitos fueron puestos en la sala de cerveceria de la Planta Piloto.

Los depósitos fueron inoculados con la levadura *Saccharomyces cereviceae* QA23 (Lallemand, Francia) en una dosis de  $10^6$  cel/mL. Se mantuvo la temperatura en la fermentación alcohólica a  $16^{\circ}\text{C}$  y se midió densidad y temperatura 3 veces al día (09:00hrs; 13:00hrs y 18:00hrs).

Terminado el proceso de fermentación alcohólica, entre 10 a 15 días, se realizó una corrección de la concentración de  $\text{SO}_2$  en el vino obtenido con el fin de alcanzar una concentración de 0.8 ppm de  $\text{SO}_2$  molecular, dependiendo del pH de cada vino. Una vez hecho esto, se procedió a corroborar el grado alcohólico obtenido en cada uno de los tratamientos (Bordeu y Scarpa. 1998). Los vinos se embotellaron con tapón de corcho. Se utilizaron 4 botellas de vino de 750 mL por repetición y tratamiento, que fueron destinadas para los análisis químicos y físicos más 4 botellas de 750 mL destinadas al análisis sensorial. Estas muestras fueron almacenadas en ambiente a  $16^{\circ}\text{C}$ , fresco y estable, en oscuridad en el subterráneo de la Planta Piloto de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Luego de un mes de almacenamiento a temperatura de  $16^{\circ}\text{C}$ , se procedió a realizar los análisis físicos y químicos de los vinos resultantes, correspondientes a los 2 tratamientos, control y sus respectivas repeticiones.

## Variables medidas

### Análisis básicos

Vinos: pH, acidez total, acidez volátil,  $\text{SO}_2$  libre y total, grado alcohólico y azúcares reductores (recopilados por Bordeau y Scarpa, 1998).

### Análisis Químicos

**Análisis de polifenoles.** Las determinaciones realizadas fueron:

Fenoles totales: Mediante análisis espectrofotométrico a DO 280 nm (García Barceló, 1990).

Taninos totales: Mediante la Reacción de Bate-Smith (Bate- Smith, 1981).

Fracciones de polisacáridos de diferente masa molecular mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-IR) (Fanzone *et al.*, 2012).

Compuestos fenólicos de bajo peso molecular, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) (Peña-Neira *et al.*, 2007).

Análisis del perfil aromático por cromatografía de gases (GC) acoplada a espectrometría de masas (MS), previa micro extracción en fase sólida (SPME) (Úbeda *et al.*, 2017).

### **Análisis Sensorial**

Para el análisis sensorial se realizó un test triangular y un test descriptivo.

Se realizaron test triangulares, entre el tratamiento control y los diferentes tratamientos, con el fin de encontrar diferencias significativas (Anexo 1).

El panel constaba de 30 evaluadores. Las sesiones de degustación se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis sensorial perteneciente al Departamento de Agroindustria y Enología, el cual posee cabinas individuales aisladas a  $20 \pm 1$  °C, están equipadas cada una con mesa, silla, escupidero, botón de llamada e iluminadas con luz blanca. La temperatura de servicio será de  $16 \pm 1$  °C. Se utilizaron 20 mL de muestra en copas INAO de color negro codificadas con tres dígitos al azar. Además, se otorgó un periodo de descanso entre muestras a criterio del evaluador, con el fin de que haya tenido el tiempo suficiente de recuperar la lubricación de su cavidad bucal, junto con un vaso de agua como enjuague con el fin de evitar la saturación de sus sentidos (Anexo 1).

El test descriptivo se realizó solo con el tratamiento control y el tratamiento con un 10% de adición de agua, debido a que no se presentaron diferencias significativas entre el 5% y el control en el test descriptivo.

El panel del test descriptivo constó con un total de 10 evaluadores con previo conocimiento en vinos. En este test se evaluaron características visuales, olfativas y gustativas de los distintos vinos, mediante una pauta no estructurada de 0 a 15 cm (Anexo 2). En las intensidades, 0 representa la ausencia y 15 representa la máxima intensidad del atributo.

### **Análisis estadístico**

El ensayo constó de 2 tratamientos y un control con 3 repeticiones por nivel. Los resultados de los análisis del vino se analizaron estadísticamente mediante una ANOVA.

En segundo lugar, se realizó un análisis estadístico del análisis sensorial, en donde se utilizó un diseño bloques completamente aleatorizados (DBCA), con 30 bloques. Cabe mencionar que el factor bloque (B) corresponde a cada integrante del panel. Los resultados obtenidos de las distintas pautas de degustación se analizaron estadísticamente mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA). De existir diferencias significativas se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey con una significancia de 5%, utilizando el software Infostat para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2, se exponen los análisis iniciales del mosto utilizado. El pH inicial fue de 3,36 y el Nitrógeno amino libre (FAN) tuvo un valor de 196 g/L, por lo cual se realizó una adición de nutrientes (Nutrienvit, Lallemand Inc.) a las 48 h post inoculación en una dosis de 15 g/hL, El mosto utilizado en el ensayo tuvo una concentración de sólidos solubles de 22° Brix (Cuadro 2) y una densidad inicial de 1089,9 (mg/L), valores similares a los descritos por González-Marco *et al.* (2008) para un mosto blanco del cv. Chardonnay en España.

**Cuadro 2.** Análisis iniciales del mosto utilizado.

Mosto	Valores iniciales
Sólidos solubles <sup>(1)</sup>	22
Densidad <sup>(2)</sup>	1089
pH	3,36
SO <sub>2</sub> Libre <sup>(3)</sup>	2,56
SO <sub>2</sub> Total <sup>(4)</sup>	24,32
FAN <sup>(5)</sup>	196

Unidades expresadas en (1) ° Brix, (2) mg/L, (3) ppm, (4) ppm, (5) g/L.

En forma previa a la implementación de los ensayos, se evaluó el efecto sobre el pH y la acidez total, con el fin de que los 3 tratamientos inicien su fermentación con los mismos valores, posterior a esto no se evidenció un efecto sobre éstas, por lo que no se realizó una corrección con ácido tartárico disuelto en el agua aplicada en los tratamientos T1 y T2.

**Cuadro 3.** Sólidos solubles (°Brix) y densidad por tratamiento al inicio del proceso fermentativo.

Tratamiento	Grados Brix	Densidad	Adición agua
CONTROL	22,0°	1089	0
T1	20,8°	1080	1
T2	19,6°	1075	2

Grados Brix promedios por tratamiento. Adición de agua expresado en Litros. Densidad mg/L.

La adición de agua al mosto se realizó de acuerdo con la estrategia experimental planteada en materiales y métodos (Cuadro 1). Al adicionar agua en un 5% al mosto (T1) y de 10% (T2) como parte de los tratamientos evaluados en este ensayo, las densidades iniciales disminuyeron a 1080 (-1%) y 1075 (-2,4%), respectivamente para el tratamiento 1 y 2 (Cuadro 3). De acuerdo con Xynas y Barnes (2023), se espera que la reducción de la densidad del mosto, que es proporcional al agua añadida, contribuya a alcanzar una menor graduación alcohólica debido a una mayor dilución de los azúcares fermentables.

El tiempo de fermentación estuvo estrechamente relacionado con la cantidad de azúcar de cada mosto, donde el tratamiento control y el tratamiento de adición de agua de 5%, tuvo una

duración de 22 días y el tratamiento de adición de agua de 10% duró 21 días. La temperatura de la fermentación osciló entre 16 y 18°C a lo largo de la fermentación. Esto es coincidente con lo visto por Teng *et al.* (2020) quienes señalan que tratamientos con sustitución de mosto por agua, disminuyeron la fase de adaptación o lag y el tiempo de fermentación con relación al control, para mostos del cv. Shiraz.

Las analíticas generales obtenidas en los vinos se muestran a continuación en el Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Analíticas generales y de compuestos fenólicos, determinados a los vinos de los tres tratamientos.

	<b>Control</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Grado alcohólico (1)	13,93 ± 0,21 c	13,53 ± 0,15 b	12,20 ± 0,10 a
Acidez titulable (2)	5,01 ± 0,32 a	4,91 ± 0,32 a	5,19 ± 0,34 a
pH	3,21 ± 0,01 a	3,19 ± 0,01 a	3,21 ± 0,02 a
Acidez volátil (3)	0,69 ± 0,03 a	0,68 ± 0,03 a	0,62 ± 0,09 a
Azúcar residual	2,14 ± 0,15 b	1,30 ± 0,37 a	1,82 ± 0,26 ab
Fenoles totales (4)	261,5 ± 10,3 a	209,6 ± 26,9 b	222,8 ± 8,9 ab
Índice de polifenoles totales	9,05 ± 0,36 b	7,25 ± 0,93 ab	7,71 ± 0,31 a
Taninos totales (5)	1,36 ± 0,18 b	0,36 ± 0,20 a	0,35 ± 0,06 a

Promedio ± desviación estándar. (1) v/v etanol, (2) g equiv. de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L Tart., (3) g equiv. de Ac. acético/L, (4) mg equiv./L Ac. Gálico, (5) g equiv./L Catequina. Letras iguales en sentido horizontal indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos (p>0.05).

Se observó disminución significativa del grado alcohólico obtenido en los 2 tratamientos realizados, el tratamiento 1 (5% adición de agua) disminuyó 0,4 grados alcohólicos respecto al tratamiento control, alcanzando 13,93° grados de alcohol para control y 13,53° para el T1, en el caso del tratamiento 2 (10% adición de agua) alcanzó 12,20° grados alcohólicos, obteniendo 1,63 grados de alcohol menos que el control. Esto era de esperarse según lo observado por otros autores como Teng *et al.* (2020) quienes con una adición de agua de 14,3% y 7,4%, obtuvieron una disminución de 1,3 y 1 grado alcohólico respectivamente, en un vino del cv. Shiraz.

El pH ni la acidez titulable presentaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los 3 tratamientos, por lo cual el agua no tuvo mayor efecto sobre el pH ni la acidez titulable, lo cual es coincidente con los resultados obtenidos por Schelezki *et al.* (2020), en donde los tratamientos con adición de agua no tuvieron variaciones en estos parámetros.

El índice de polifenoles totales fue estadísticamente diferente, siendo mayor para el tratamiento control, lo cual se relaciona a la dilución hecha en los otros tratamientos, y se respalda con lo que han observado otros autores como Xynas y Barnes (2023), Schelezki *et al.* (2020), Teng *et al.* (2019) quienes señalan que la adición de agua al mosto podría afectar negativamente la concentración de fenoles y taninos totales.

## Fenoles de bajo peso molecular

La uva y el vino tienen una gran cantidad de compuestos derivados de una estructura básica de fenol (hidroxibenceno) (Zoecklein *et al.*, 2001), esta gran cantidad de complejos compuestos puede ser clasificada de diferentes maneras. Sin embargo, se suelen clasificar generalmente en 2 grandes subgrupos, donde se pueden encontrar los compuestos fenólicos no flavonoides y los flavonoides (Zamora, 2003).

De los compuestos fenólicos anteriormente mencionados, los flavonoides son compuestos de gran relevancia generalmente para el vino blanco, los cuales tendrán una mayor influencia sobre el color, evolución y características organolépticas del vino, definitorias para la calidad final (Zoecklein *et al.*, 2001).

En el Cuadro 5 se presentan los resultados obtenidos en el presente estudio. En los resultados obtenidos si existieron diferencias significativas en el total de los compuestos fenólicos, lo cual era de esperar debido al efecto de dilución, en donde existe una relación entre la cantidad de agua por tratamiento y la cantidad de compuestos fenólicos, la que indica que a mayor cantidad de agua se diluye el total de compuestos fenólicos. Estos resultados son coincidentes con los observados por otros autores como Xynas y Barnes (2023) y Schelezki *et al.* (2020) quienes observaron el mismo efecto en su investigación.

**Cuadro 5.** Resultados fenoles de bajo peso molecular por HPLC-DAD organizado en familias (mg/L).

	Control	T1	T2
Ácidos hidroxibenzoico y derivados	1,88 ± 0,4 ab	2,19 ± 0,22 b	1,37 ± 0,32 a
Ácidos hidroxicinámicos y derivados	3,96 ± 2,26 a	4,94 ± 0,68 a	2,90 ± 1,02 a
Alcoholes fenolicos	9,41 ± 0,44 a	8,22 ± 0,86 a	8,05 ± 0,61 a
Flavanoles	14,33 ± 2,19 a	12,80 ± 0,74 a	11,18 ± 0,19 a
Flavonoles	9,51 ± 2,49 b	7,63 ± 0,77 ab	5,19 ± 0,87 a
Total	39,09 ± 6,94 a	35,77 ± 1,08 a	28,68 ± 2,95 a

Promedio ± desviación estándar. Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Al analizar los resultados obtenidos del total de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, solo se observaron diferencias significativas para las variables total de ácidos hidroxibenzoicos y derivados entre el T1 y T2 (Cuadro 5), en donde hubo un aumento de estos compuestos al adicionar un 5% de agua y una disminución al aumentar la dosis a 10% de adición de agua respecto al control. Por otra parte, para la variable flavonoles, disminuyó la concentración en la medida que aumenta el porcentaje de agua añadida, en donde hay diferencias significativas entre el tratamiento control y el T2 con una disminución de 45,43% para este segundo tratamiento. Dado esto, es posible observar que no todas las familias de compuestos fenólicos experimentan una disminución en la misma magnitud y que en ninguno de los casos existe una disminución proporcional al porcentaje de agua añadida. (Schelezki *et al.*, 2020; Teng *et al.*, 2019).

A continuación, los resultados de los compuestos fenólicos de este estudio se han organizado en 2 grandes grupos, los compuestos fenólicos no flavonoides y compuestos flavonoides, los cuales serán revisados en detalle a continuación.

### **Compuestos fenólicos no Flavonoides**

Los principales fenoles primarios no flavonoides derivan de los ácidos hidroxicinámicos y ácidos hidroxibenzoicos, la mayoría de estos están esterificados con azúcares, ácidos orgánicos o alcoholes. Estos compuestos proceden principalmente de la extracción del jugo de la uva (Zocklein *et al.*, 2001).

Cabe destacar que la mayor parte de los fenoles no flavonoides provienen principalmente de la pulpa de la uva, a pesar de también encontrarse en el hollejo y en la semilla en menor parte. Los derivados de los hidroxicinamatos constituyen la mayor parte de los compuestos no flavonoides, estando presentes en el mosto y en el vino como ácidos libres, ésteres de etilo y ésteres de tartrato o tartrato glucosa (Zocklein *et al.*, 2001).

Según Zamora (2003), los principales ácidos benzoicos son; ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzoico y ácido sirínico, y los principales ácidos cinámicos son: ácido cafeico, ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico (Zamora, 2003).

También existen los compuestos no flavonoides derivados de la fermentación alcohólica, ya que, durante la fermentación se produce una hidrólisis lenta o incompleta, los ésteres no flavonoides dan origen a ácidos libres y otros ésteres. Los fenoles caftáricos sufren grados de hidrólisis produciendo ácidos cinámicos libres (Zocklein *et al.*, 2001).

Durante la fermentación las levaduras producen tirosol, a partir de la tirosina, el cual sería el único compuesto fenólico producido en cantidades significativas a partir de un precursor no fenólico (Zocklein *et al.*, 2001).

A continuación, en el Cuadro 6 se muestran las concentraciones promedio obtenidas para los fenoles de bajo peso molecular no flavonoides, de la variedad Chardonnay en estudio.

En el Cuadro 6 es posible observar los resultados obtenidos de los compuestos fenólicos no flavonoides, donde destacan 3 subgrupos compuestos por ácidos hidroxibenzoicos y derivados, ácidos hidroxicinámicos y derivados y alcoholes fenólicos. Solo se observó diferencias significativas para el total de los ácidos hidroxibenzoicos.

**Cuadro 6.** Concentración de fenoles de bajo peso molecular: compuestos no flavonoides.

No flavonoides (mg/L)	Control	T1	T2
<b>Ácidos Hidroxibenzoicos y derivados</b>			
Acido gálico	1,01 ± 0,22 b	0,87 ± 0,09 ab	0,59 ± 0,13 a
Ácido protocatéquico	0,86 ± 0,17 a	1,32 ± 0,14 b	0,78 ± 0,18 a
Total	1,88 ± 0,40 ab	2,19 ± 0,22 b	1,37 ± 0,31 a
<b>Ácidos Hidroxicinámicos y derivados</b>			
Acido <i>trans</i> -caftarico	1,05 ± 1,82 a	2,42 ± 0,24 a	0,75 ± 1,29 a
Acido <i>trans</i> -cutárico	0,59 ± 0,17 a	0,67 ± 0,07 a	0,49 ± 0,14 a
Acido <i>cis</i> -cutárico	0,95 ± 0,29 a	0,66 ± 0,31 a	0,93 ± 0,27 a
Acido cafeico	1,31 ± 0,15 b	1,10 ± 0,19 b	0,70 ± 0,08 a
Ester hexosa de ácido <i>trans p</i> -cumárico	0,06 ± 0,002 a	0,09 ± 0,010 b	0,04 ± 0,003 a
Total	3,96 ± 2,38 a	4,94 ± 0,77 a	2,90 ± 1,08 a
<b>Alcoholes fenólicos</b>			
Tirosol	9,41 ± 0,43 a	8,22 ± 0,86 a	8,05 ± 0,59 a
Total No flavonoides	15,25 ± 2,35 a	15,35 ± 0,78 a	12,32 ± 1,88 a

Promedio ± desviación estándar. Concentración expresada en mg/L. Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

La cantidad de ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados en vinos blancos por lo general varía desde 1 a 5 mg/L según menciona Singleton, (1985) y Zocklein *et al.* (2001). Por otra parte, la mayoría de estos compuestos fenólicos no flavonoides se encuentran en una cantidad inferior a su umbral sensorial individual, sin embargo, en su conjunto contribuyen con el amargor y aspereza sensorial del vino (Zocklein *et al.*, 2001). Algunos autores mencionan que la degradación de estos ácidos fenólicos podría generar fenoles volátiles responsables de importantes defectos olfativos (Zamora, 2003). Dentro de los ácidos hidroxibenzoicos identificados (Cuadro 6) destaca el ácido gálico, el cual tuvo una concentración de 1,01 mg/L para el tratamiento control, tratamiento 1 un 13,8% menor que el control y el tratamiento 2 un 41,5% menor que el control, esta disminución se daría debido a que como menciona Zocklein *et al.* (2001) estos compuestos derivan de la uva y por tanto al diluir el mosto estos compuestos disminuirían su concentración a medida que aumenta la dilución.

Por otra parte, el ácido protocatéquico tuvo una concentración de 0,86 mg/L para el control, el tratamiento 1 fue un 53,4% superior al control y el tratamiento 2 fue un 9,4% inferior al control (Cuadro 6), lo que indicaría que, con una baja adición de agua, este compuesto podría mantener su concentración, no obstante, sobre un 10% este disminuiría, lo que podría haberse producido por una posible hidrólisis de estos compuestos (Zocklein *et al.*, 2001).

Entre los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados, destaca el ácido cafeico, responsable del pardeamiento acelerado de algunos vinos que presentan una alta concentración (Fernandez-Zurbano *et al.*, 1997; Zamora, 2003), el cual tuvo una concentración de 1,31 mg/L para el tratamiento control, y una concentración 16% y 46% menor para los tratamientos T1 y T2 respectivamente, siendo significativamente diferente en el tratamiento 2 (Cuadro 6), evidenciándose una dilución del compuesto. Esto podría traer consigo un posible efecto

positivo en vinos blancos con adición de agua, dónde se podría obtener vino con una menor graduación alcohólica y una mayor perdurabilidad en el tiempo al poseer una menor presencia de este compuesto responsable en parte del pardeamiento del color de los vinos.

### **Compuestos fenólicos Flavonoides**

En el siguiente grupo se encuentran los compuestos fenólicos flavonoides, responsable de gran parte de la estructura y color del vino, estos compuestos se encuentran presentes en la semilla, hollejo y pulpa de la baya. La estructura básica de estos compuestos es una aglicona compuesta por 2 anillos aromáticos, A y B, unidos por un anillo pirano (Zoecklein *et al.*, 2001).

Los compuestos fenólicos flavonoides se componen principalmente de 3 grandes familias de mayor interés enológico: los flavanoles, flavanoles o flavan-3-oles y antocianos, en el vino blanco se encuentran presentes los flavanoles y flavonoles (Zoecklein *et al.*, 2001, Flanzky, 2000).

A continuación, se presentan los resultados de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular flavonoides, obtenidos en el estudio realizado, donde destacan 2 subfamilias, los flavanoles o flavan-3-oles y flavonoles.

Dentro de la clasificación de compuestos flavanoles (Cuadro 7), se ha logrado identificar 6 compuestos, en donde destaca principalmente el monómero de flavanol (-)-epicatequina, la cual se ha encontrado en una significativa mayor concentración respecto a los demás compuestos flavanoides, con una concentración de 8,30 mg/L en el tratamiento control, el tratamiento 1 (5% adición agua) obtuvo una concentración 6,60 mg/L y por lo tanto, un 20,5% menor respecto al control, el tratamiento 2 (10% adición de agua) obtuvo una concentración de 6,16 mg/L, lo cual es un 25,7% menos que el tratamiento control y un 6,7% menos que el tratamiento 1, respondiendo así a un efecto de dilución.

También se identificaron 4 tipos de procianidinas dímeras (Cuadro 7), compuestos responsable de sabores amargos y astringentes en el vino, además asociados a la estructura y al color amarillo de los vinos (Zoecklein *et al.*, 2001, Zamora, 2003). Estos compuestos se encontraron mayoritariamente en bajas concentraciones (inferior a 1,0 mg/L), sin embargo, la Procianidina B2 destacó con una concentración superior alcanzando 1,95 mg/L en el tratamiento control, en el tratamiento 1 y 2 se encontró una menor cantidad de este compuesto respecto al control, donde el tratamiento 1 obtuvo 1,51 mg/L, y por tanto 22,5% inferior al control y el tratamiento 2 una concentración de 1,17 mg/L, siendo equivalente a 40% inferior respecto al control y un 22,5% inferior al tratamiento 1, viéndose significativamente afectada su concentración por la adición de agua.

**Cuadro 7.** Concentración de fenoles de bajo peso molecular: compuestos flavonoides.

<b>Flavonoides (mg/L)</b>			
<b>Flavonoles</b>	<b>Control</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
(+)-Catequina	1,89 ± 0,57 a	2,17 ± 0,28 a	2,13 ± 0,02 a
(-) Epicatequina	8,30 ± 0,69 b	6,60 ± 0,32 a	6,16 ± 0,13 a
Procianidina B1	0,97 ± 0,22 a	0,85 ± 0,22 a	0,56 ± 0,11 a
Procianidina B3	0,95 ± 0,14 a	0,83 ± 0,24 a	0,61 ± 0,07 a
Procianidina B2	1,95 ± 0,13 c	1,51 ± 0,17 b	1,17 ± 0,07 a
Procianidina B4	0,26 ± 0,45 a	0,84 ± 0,17 a	0,56 ± 0,12 a
<b>Total</b>	<b>14,33 ± 2,18 a</b>	<b>12,80 ± 0,74 a</b>	<b>11,18 ± 0,19 a</b>
<b>Flavonoles</b>			
Astibilina	3,23 ± 0,98 a	2,54 ± 0,11 a	2,17 ± 0,15 a
Quercetina	0,92 ± 0,11 b	0,40 ± 0,08 a	0,31 ± 0,04 a
Quercetina 3-galactosido	1,23 ± 0,44 a	1,16 ± 0,21 a	0,47 ± 0,81 a
Quercetina 3- glucósido	0,42 ± 0,13 b	0,24 ± 0,07 ab	0,15 ± 0,004 a
Quercetina-3-ramnósido	0,17 ± 0,13 a	0,11 ± 0,05 a	0,04 ± 0,01 a
Glicósido de flavonol	1,86 ± 0,13 a	1,90 ± 0,12 a	1,33 ± 0,14 a
Kaempferol-3-glucósido	0,23 ± 0,15 a	0,22 ± 0,05 a	0,02 ± 0,04 a
Kaempferol-3-galactósido	1,46 ± 0,14 b	1,06 ± 0,22 a	0,70 ± 0,03 a
<b>Total</b>	<b>9,51 ± 2,49 b</b>	<b>7,63 ± 0,76 ab</b>	<b>5,19 ± 0,87 a</b>

Promedio ± desviación estándar. Concentración expresada en mg/L. Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Por otra parte, se han identificado 8 compuestos pertenecientes a la clasificación de los flavonoles (Cuadro 7), donde destaca principalmente el dihidroxiflavonol astibilina. También se identificó la quercetina en bajas cantidades, compuesto perteneciente a 1 de los 4 principales compuestos flavonoles del vino según Zamora (2003). La quercetina presentó una concentración de 0,92 mg/L para el control, 0,40 mg/L para el tratamiento 1 y 0,31 mg/L para el tratamiento 2, y por tanto T1 Y T2 tuvieron concentraciones inferiores al tratamiento control en un 56% y 66,3% respectivamente, siendo significativamente inferior al control respondiendo al igual que otros compuestos al efecto de la dilución.

La mayoría de los compuestos no se vieron afectados significativamente por la adición de agua, lo cual es coincidente con lo observado por autores como Schelezki *et al.* (2020), no obstante, algunos compuestos si se vieron afectados por la dilución lo que es de esperarse debido a que como menciona Zoecklein *et al.* (2001) provienen principalmente de la uva y su concentración es limitada en el mosto.

Es importante mencionar que en la literatura solo se han estudiado compuestos flavonoides tales como taninos y antocianos y el efecto del uso de agua como forma de disminución del grado alcohólico (Xynas y Barnes, 2023; Teng *et al.*, 2020), pero no compuestos no flavonoides individualizados por HPLC-DAD. De esta forma los resultados presentados son novedosos dada la escasa información existente sobre este grupo de compuestos presentes en vinos blancos y tintos.

## Compuestos volátiles

El aroma del vino presenta una gran complejidad, siendo el resultado de una serie de procesos biológicos, bioquímicos y tecnológicos. Esta complejidad está asociada también directamente a los diversos compuestos volátiles que contiene el aroma, los cuales podrían ser más de 500 (Flanzy, 2000). En este estudio se ha realizado un análisis del perfil aromático mediante cromatografía de gases (GC) acoplada a espectrometría de masas (MS), previo a esto se ha realizado una micro extracción en fase sólida (SPME) para poder llevar a cabo el análisis del perfil aromático.

Los resultados han sido expresados en la abundancia relativa presente en el vino (Cuadro 8), es decir, representado por el área relativa observada en el cromatograma obtenido.

**Cuadro 8.** Familias de compuestos volátiles presentes en el vino estudiado según su abundancia relativa.

	Control	T1	T2
Total ésteres de acetato	22,36 ± 0,71 b	17,88 ± 0,32 a	17,39 ± 1,04 a
Total ésteres etílicos	60,02 ± 2,65 b	44,06 ± 4,39 a	40,06 ± 2,83 a
Total otros ésteres	1,02 ± 0,17 a	1,25 ± 0,10 a	1,04 ± 0,12 a
Total ésteres	83,32 ± 3,41 b	63,08 ± 4,55 a	58,41 ± 3,96 a
Total alcoholes	23,81 ± 0,89 a	23,44 ± 1,57 a	23,08 ± 1,04 a
Total ácidos	14,49 ± 1,09 a	14,56 ± 1,94 a	13,49 ± 1,52 a
Total cetonas	0,14 ± 0,03 a	0,09 ± 0,03 a	0,10 ± 0,01 a
Total terpenos	0,67 ± 0,07 a	0,59 ± 0,05 a	0,64 ± 0,05 a

Promedio ± desviación estándar. Los valores representan el promedio del área relativa del cromatograma. Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Los compuestos volátiles obtenidos se han observado mediante un el análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y se han clasificado según la familia a la que pertenecen. En este caso se han observado 5 familias de compuestos, en donde se observan ésteres, alcoholes, ácidos, cetonas y terpenos, destacando una mayor presencia de ésteres, seguido por alcoholes y ácidos. A nivel general, entre los tratamientos no hay diferencias significativas, lo cual, indica que los compuestos volátiles son poco sensibles a las adiciones de agua. Esto además es respaldado por otros autores como Schelezki *et al.* (2018) quienes solo obtuvieron cambios significativos en 11 de los 43 compuestos volátiles que analizó al realizar diferentes adiciones de agua en la elaboración de un vino Cabernet Sauvignon. No obstante, existen diferencias significativas en algunas familias como los ésteres de acetato, ésteres etílicos y ésteres, donde el tratamiento control fue significativamente superior la abundancia frente a los tratamientos 1 y 2, respondiendo a un efecto de dilución. Resultados similares a este ya han sido descritos previamente por Gardner *et al.* (2022), Schelezki *et al.* (2018).

**Cuadro 9.** Resultado de compuestos volátiles presentes en el vino estudiado, según su abundancia.

*Área relativa	Control	T1	T2
<b>Ésteres</b>			
<b>Ésteres de acetato</b>			
Acetato de etilo	5,23 ± 0,13 b	4,10 ± 0,09 a	4,21 ± 0,22 a
Acetato de isobutilo	0,31 ± 0,02 b	0,27 ± 0,02 b	0,09 ± 0,01 a
Acetato de isoamilo	8,01 ± 0,26 b	5,92 ± 0,43 a	6,11 ± 0,42 a
Acetato de hexilo	3,02 ± 0,2 b	2,13 ± 0,3 a	2,39 ± 0,18 a
Acetato de 3-hexenilo	0,04 ± 0,01 a	0,03 ± 0,1 a	0,03 ± 0,002 a
Acetato de heptilo	0,05 ± 0,01 a	0,04 ± 0,1 a	0,04 ± 0,009 a
Acetato de fenetilo	5,67 ± 0,04 a	5,35 ± 0,61 a	4,46 ± 0,4 a
Total	22,36 ± 0,71 b	17,88 ± 0,32 a	17,39 ± 1,04 a
<b>Ésteres etílicos</b>			
Butanoato de etilo	0,58 ± 0,02 b	0,38 ± 0,04 a	0,41 ± 0,007 a
Hexanoato de etilo	10,47 ± 0,72 b	7,15 ± 1,18 a	7,82 ± 0,42 a
Heptanoato de etilo	0,02 ± 0,008 a	0,02 ± 0,0009 a	0,02 ± 0,006 a
Octanoato de etilo	30,22 ± 0,61 b	20,13 ± 2,81 a	20,03 ± 2,06 a
7-Octanoato de etilo	0,11 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 a	0,07 ± 0,01 a
Nonanoato de etilo	0,03 ± 0,002 a	0,03 ± 0,007 a	0,03 ± 0,002 a
Decanoato de etilo	13,27 ± 2,03 b	10,58 ± 0,54 ab	8,59 ± 0,59 b
4E-Decenoato de etilo	0,04 ± 0,002 b	0,04 ± 0,008 ab	0,03 ± 0,002 a
Dodecanoato de etilo	4,93 ± 1,02 b	5,19 ± 0,31 b	2,71 ± 0,24 a
Tetradecanoato de etilo	0,15 ± 0,07 a	0,15 ± 0,02 a	0,10 ± 0,01 a
Hexadecanoato de etilo	0,16 ± 0,62 a	0,25 ± 0,009 a	0,22 ± 0,01 a
Total	60,02 ± 2,65 b	44,06 ± 4,39 a	40,06 ± 2,83 a
<b>Otros ésteres</b>			
Octanoato de isoamilo	0,32 ± 0,05 a	0,42 ± 0,06 a	0,42 ± 0,05 a
Decanoato de isoamilo	0,16 ± 0,04 a	0,20 ± 0,01 a	0,17 ± 0,01 a
Hexanoato de isobutilo	0,04 ± 0,004 a	0,04 ± 0,005 a	0,03 ± 0,0005 a
Octanoato de isobutilo	0,07 ± 0,01 a	0,06 ± 0,007 a	0,05 ± 0,008 a
9-Decenoato de butilo	0,04 ± 0,0005 a	0,07 ± 0,01 a	0,06 ± 0,009 a
Octanoato de metilo	0,15 ± 0,006 a	0,13 ± 0,01 a	0,13 ± 0,01 a
Decanoato de metilo	0,12 ± 0,01 a	0,14 ± 0,01 a	0,10 ± 0,03 a
4-Decenoato de metilo	0,04 ± 0,008 a	0,04 ± 0,008 a	0,02 ± 0,01 a
Undecanoato de metilo	0,06 ± 0,03 a	0,09 ± 0,006 a	0,04 ± 0,01 a
Total	1,02 ± 0,17 a	1,25 ± 0,10 a	1,04 ± 0,12 a
Total Ésteres	83,32 ± 3,41 b	63,08 ± 4,55 a	58,41 ± 3,96 a

Continuación Cuadro 9.

<b>Alcoholes</b>			
<b>Alcoholes de Fusel</b>			
<b>Area relativa*</b>	<b>Control</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Isobutanol	0,50 ± 0,02 a	1,51 ± 0,2 b	1,38 ± 0,1 b
3-metilbutanol	11,65 ± 0,13 a	10,98 ± 1,15 a	11,03 ± 0,7 a
Isohexanol	0,05 ± 0,02 a	0,04 ± 0,01 a	0,03 ± 0,004 a
1,3-metil-4-1-pentenol	0,14 ± 0,006 b	0,12 ± 0,007 a	0,12 ± 0,002 a
1-Hexanol	0,66 ± 0,01 a	0,66 ± 0,06 a	0,67 ± 0,02 a
1-Heptanol	0,13 ± 0,02 a	0,12 ± 0,01 a	0,12 ± 0,01 a
2,3-Butanodiol	0,21 ± 0,12 a	0,11 ± 0,05 a	0,04 ± 0,02 a
1-Octanol	0,10 ± 0,005 a	0,08 ± 0,01 a	0,08 ± 0,004 a
1-Decanol	0,09 ± 0,01 a	0,10 ± 0,005 a	0,10 ± 0,004 a
2-Feniletanol	10,75 ± 0,86 a	9,71 ± 0,09 a	9,50 ± 0,34 a
<b>Total</b>	<b>23,81 ± 0,89 a</b>	<b>23,44 ± 1,57 a</b>	<b>23,08 ± 1,04 a</b>
<b>Ácidos</b>			
<b>Area relativa*</b>	<b>Control</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Ácido acético	0,65 ± 0,08 a	0,46 ± 0,03 b	0,37 ± 0,01 b
<b>SCFA (Ácidos grasos de cadena corta)</b>			
Ácido isobutírico	0,05 ± 0,03 a	0,05 ± 0,01 a	0,04 ± 0,003 a
Ácido isovalérico	0,16 ± 0,01 a	0,16 ± 0,03 a	0,12 ± 0,004 a
<b>Total</b>	<b>0,21 ± 0,02 a</b>	<b>0,21 ± 0,04 a</b>	<b>0,16 ± 0,01 a</b>
<b>MCFA (Ácidos de grasos cadena media)</b>			
Ácido hexanoico	1,33 ± 0,08 a	1,29 ± 0,22 a	1,12 ± 0,12 a
Ácido octanoico	7,22 ± 0,49 a	7,26 ± 0,86 a	6,75 ± 0,77 a
Ácido decanoico	5,08 ± 0,43 a	5,34 ± 0,83 a	5,09 ± 0,64 a
<b>Total</b>	<b>13,62 ± 0,99 a</b>	<b>13,89 ± 1,92 a</b>	<b>12,96 ± 1,53 a</b>
<b>Total ácidos</b>	<b>14,49 ± 1,09 a</b>	<b>14,56 ± 1,94 a</b>	<b>13,49 ± 1,52 a</b>

Continuación cuadro 9.

<b>Cetonas</b>			
Isovalerona	0,11 ± 0,01 a	0,07 ± 0,02 a	0,09 ± 0,008 a
2-Undecanono	0,03 ± 0,01 a	0,02 ± 0,0006 a	0,02 ± 0,0009 a
Total	0,14 ± 0,03 a	0,09 ± 0,03 a	0,10 ± 0,01 a

<b>Terpenos</b>			
<b>Área relativa *</b>	<b>Control</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Mesitileno	0,32 ± 0,02 a	0,23 ± 0,12 a	0,27 ± 0,01 a
Benzociclobuteno	0,12 ± 0,01 a	0,08 ± 0,03 a	0,08 ± 0,003 a
<i>O</i> -Cimeno	0,04 ± 0,01 a	0,10 ± 0,06 a	0,07 ± 0,05 a
Durene	0,03 ± 0,006 a	0,03 ± 0,003 a	0,03 ± 0,004 a
Linalol	0,07 ± 0,006 a	0,07 ± 0,004 ab	0,08 ± 0,0007 b
Terpinen-4-ol	0,03 ± 0,007 a	0,03 ± 0,005 a	0,03 ± 0,005 a
Cariofileno	0,05 ± 0,01 a	0,05 ± 0,01 b	0,05 ± 0,01 b
Nerolidol	0,04 ± 0,003 a	0,04 ± 0,005 a	0,05 ± 0,005 a
Viridiflorene	0,03 ± 0,01 b	0,04 ± 0,01 c	0,03 ± 0,01 a
Total	0,67 ± 0,07 a	0,59 ± 0,05 a	0,64 ± 0,05 a

Promedio ± desviación estándar. Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Dentro de los compuestos volátiles ésteres (Cuadro 9), se determinaron 3 subclasificaciones, los ésteres de acetatos, ésteres etílicos y otros ésteres. Dentro de estas subclasificaciones se observaron diferencias significativas en los ésteres etílicos y ésteres de acetato.

Existió una mayor abundancia en los ésteres etílicos, en donde hubo diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el control el más abundante con un 26,6% mayor al tratamiento 1 (5% adición de agua) y un 33,2% mayor al tratamiento 2 (10% adición de agua). También se obtuvieron diferencias significativas en la abundancia los ésteres de acetato, en los cuales los tratamientos de adición de agua no obtuvieron diferencias significativas entre sí, no obstante, el tratamiento control si fue superior significativamente, siendo este un 20% mayor al tratamiento 1 y 22,2% mayor al tratamiento 2. Así mismo, los ésteres en total presentaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos, mostrando una abundancia superior el tratamiento control respecto a los tratamientos de adición de agua, los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí, esto podría asociarse a que los esterres son compuestos volátiles formados en el proceso de fermentación del vino, debido a reacciones entre alcoholes y ácidos carboxílicos y por tanto, en los tratamientos con adición de agua al generar una menor cantidad de alcohol, se podría como consecuencia generar una disminución de estos compuestos (Flanzy, 2000).

En los alcoholes (Cuadro 9) no se han observado diferencias significativas en su abundancia entre el tratamiento control y los tratamientos de adición de agua, destacando en estos compuestos el 3-metilbutanol, compuesto responsable de aromas asociados a crema de almendras y aceites de fusel según Flanzy (2000) y destacando también 2-feniletanol

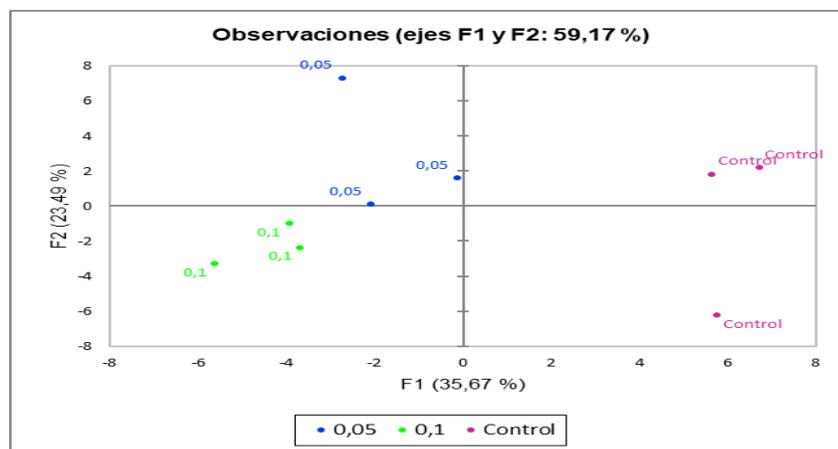
compuesto que según menciona Flanzy (2000) es responsable de aromas asociados a rosa marchita. La síntesis de estos compuestos está ligada principalmente con el metabolismo de los aminoácidos y por ende estrechamente relacionada con el nitrógeno disponible en el mosto. Por lo tanto, en condiciones no limitantes de nitrógenos no debería existir diferencias en la producción de alcoholes superiores, lo que podría explicar la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos y el control las cuales tuvieron una igual adición de nutrientes nitrogenados.

Los ácidos fueron subclasificados en 2 familias (Cuadro 9), los ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y los ácidos grasos de cadena media (MCFA). En estas subclasificaciones ni los ácidos de cadena corta ni los ácidos de cadena media exhibieron diferencias significativas en su abundancia entre los tratamientos realizados, cabe señalar que los ácidos grasos de cadena media presentaron una abundancia más elevada frente a los ácidos grasos de cadena corta. El ácido acético presentó una abundancia mayor en el tratamiento control, siendo este un 29,2% mayor al tratamiento 1 y un 43% mayor al tratamiento 2, presentando diferencias estadísticamente significativas entre a los tratamientos y respondiendo a una dilución, lo cual es coincidente a lo descrito previamente por Gardner *et al.* (2022).

Por otra parte, en las cetonas (Cuadro 9) se identificaron 2 compuestos, la isovalerona y 2-undecanona. Según algunos autores la isovalerona se ha relacionado con aromas suaves y dulces (Úbeda *et al.*, 2020). Las cetonas no presentaron diferencias significativas en este estudio, no evidenciándose así diferencias importantes en su abundancia con la adición de agua en los tratamientos y por tanto no viéndose afectadas por la adición de agua.

En la familia de los terpenos, se observaron compuestos como el mestileno, linalol, entre otros. No se observaron grandes diferencias en su concentración, no siendo significativas las diferencias de sus abundancias entre los tratamientos de adición de agua y el control, por lo tanto, no viéndose afectados estos compuestos al ser expuestos a una adición de agua.

Según Schelezki *et al.* (2020), en las condiciones de vendimia y vinificación utilizadas en su estudio en Cabernet Sauvignon con reemplazo de mosto por agua filtrada en diferentes proporciones, los niveles de volátiles mostraron fuertes correlaciones negativas con la proporción de sustitución de jugo en el caso de ésteres etílicos de ácidos grasos de carbono impar ( $R^2 = 0,99$ ), ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena lineal ( $R^2 = 0,91$ ), ésteres de HAA del azúcar de levadura y metabolismo del N ( $R^2 = 0,99$ ), alcoholes superiores ( $R^2 = 0,93$ ) y ésteres etílicos de ácidos ramificados ( $R^2 = 0,72$ ), lo que indicó un efecto decisivo de los tratamientos sobre la matriz precursora del jugo y el metabolismo de las levaduras en el proceso fermentativo.



**Figura 1.** Análisis de componentes principales compuestos volátiles.

A pesar de evidenciarse solo 3 familias con diferencias significativas en la abundancia de los compuestos volátiles observados, al comparar entre las familias aromáticas en los 2 tratamientos y control estudiados en un análisis de componentes principales (Figura 3), se observa que el control y sus repeticiones se agrupan en el sector derecho del gráfico con valores positivos para la primera componente principal. Los tratamientos 1 y 2, se agrupan en el sector izquierdo, indicando una diferencia en el perfil aromático y volátil de los tratamientos realizados al momento de observarlos como un conjunto. Por tanto, se podría evidenciar un impacto de la adición de agua sobre los compuestos volátiles en su conjunto. El tratamiento 2 (10%) es el que presentan en sus repeticiones mayor homogeneidad, con mayor cercanía al centroide de las muestras. Este comportamiento en el perfil aromático del vino en respuesta a los tratamientos de adición de agua es coincidente con lo descrito por Gardner *et al.* (2022) quienes observaron un comportamiento similar, mencionando que la dilución pre fermentativa podría provocar diferencias significativas en los compuestos volátiles y que en conjunto podrían afectar el perfil aromático vino.

## Polisacáridos

Los polisacáridos constituyen una clase compuestos de los vinos poco estudiados aún, debido a su gran complejidad de composición y estructural. Los polisacáridos poseen numerosas propiedades estructurales y funcionales que destacan por su presencia tanto en la uva como en el vino. Tienen un rol fundamental en la estructura de las paredes celulares de la uva, la cual los relaciona directamente al momento de extraer otros compuestos como los aromáticos y fenólicos. En el vino son los compuestos de mayor complejidad y masa molecular (Flanzy, 2000).

**Cuadro 10.** Concentración de polisacáridos presentes en el vino según su tamaño molecular.

Fracción	Control	T1	T2
HMWf	43,33 ± 3,02 a	44,05 ± 2,35 a	40,81 ± 4,06 a
MMWf	37,09 ± 1,74 a	35,31 ± 0,78 a	33,08 ± 3,07 a
LMWf	31,62 ± 1,06 b	20,42 ± 4,36 a	18,43 ± 1,90 a
OLIGf	41,25 ± 1,03 c	34,10 ± 0,16 b	27,76 ± 2,55 a
Total	153,29 ± 5,74 c	133,89 ± 5,62 b	120,08 ± 7,78 a

Promedio ± desviación estándar. Concentración expresada en mg/L. HMWf: Fracción de alto peso molecular (Mn = 158,7 ± 2,4 KDa), MMWf: Fracción de medio peso molecular (Mn = 34,3 ± 0,6 KDa), LMWf: Fracción de bajo peso molecular (Mn = 16,3 ± 0,6 KDa), OLIGf: Fracción de Oligosacáridos (Mn = 5,9 ± 0,2 KDa). Letras iguales en sentido horizontal indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Para realizar un análisis de los polisacáridos presentes en el vino en estudio, se llevó a cabo una clasificación según fracciones de peso molecular, observándose en una fracción de compuestos de alto peso molecular, peso molecular medio, bajo peso molecular y oligosacáridos (Cuadro 10). La fracción de mayor y mediano peso molecular no presentaron diferencias significativas. Por lo tanto, no mostraron alteración frente a una adición de agua. Dado esto, llama la atención que entre los compuestos de mayor peso molecular no exista diferencias significativas, probablemente se deba a que los polisacáridos presentes en el vino blanco son provenientes de manoproteínas que son liberadas desde la pared celular de las lías presentes, las cuales son resultantes de la autólisis de levaduras (Gawel *et al.*, 2016; Del Barrio *et al.*, 2018). Esto explicaría un balance en la liberación de manoproteínas por con una población similar de levaduras y lías.

Sin embargo, la fracción de menor peso molecular si tuvo diferencias significativas observándose que el control fue superior frente a los 2 tratamientos de adición de agua, los cuales entre si no obtuvieron diferencias estadísticamente significativas. De diferente forma, sucedió con la fracción de oligosacáridos, la cual tuvo diferencias significativas entre los 3 tratamientos realizados, siendo el control el de mayor concentración, seguido por el tratamiento 1 de un 5% de adición de agua, quien fue inferior al control en un 8%, y finalmente el tratamiento 2 de un 10% de adición de agua, siendo un 22% menor al control

y un 16% menor al tratamiento 1 en su concentración, mostrando así una alteración en su concentración y observándose un efecto de dilución por el agua añadida. El efecto de dilución en estos compuestos podría deberse a que estas fracciones podrían estar compuestas principalmente por glúcidos provenientes de la uva. Dado esto, al agregar agua al mosto, estos compuestos se diluirían, disminuyendo su concentración, inclinándose así la balanza del total de polisacáridos a obtener diferencias significativas (Gawel *et al.*, 2016). Cabe destacar que esto además es concordante con Teng *et al.* (2020) y Schelezki *et al.* (2018), quienes también observaron disminución en los polisacáridos presentes en vinos con adición de agua.

### Análisis sensorial

El análisis sensorial de los vinos obtenidos se llevó a cabo, mediante dos tipos de metodologías, un test triangular a ciegas, para analizar si los tratamientos son diferenciables entre sí y un análisis descriptivo, en caso de existir diferencias significativas en la cata triangular.

#### Test triangular

El test triangular, se realizó utilizando 3 copas negras, para no influenciar la decisión por la vista. Las copas fueron codificadas y 2 contenían el mismo tratamiento y 1 era diferente. Los evaluadores fueron 30 estudiantes al azar, sin conocimientos previos del estudio y que no manejaban conocimientos acerca de vino. Aquellos evaluadores que acertaron a la copa diferente debieron marcar la copa de su preferencia. A continuación, se exponen los resultados obtenidos en la cata triangular (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Resultados test triangular.

<b>Comparativas</b>	<b>Evaluadores (n)</b>	<b>Aciertos</b>	<b>Preferencia Control</b>	<b>Preferencia T1</b>	<b>Preferencia T2</b>
<b>Control VS T1</b>	<b>30</b>	<b>12</b>	7	5	
<b>Control VS T2</b>	<b>30</b>	<b>13</b>	8		5

Total 30 evaluadores al azar. n=30. Solo se consideró la preferencia de aquellos evaluadores que fueron capaces de acertar a la copa diferente.

Los resultados obtenidos del test triangular (Cuadro 11), no han demostrado diferencias significativas en ninguno de los dos tratamientos. Esto demuestra que evaluadores sin conocimiento mayores en vinos, degustando ciegas no son capaces de detectar un vino

elaborado con adición de agua. En ambas comparaciones, los aciertos no alcanzan a llegar a la mitad de los evaluadores que participaron en el test, siendo tan solo 12 para el tratamiento con un 5% de adición de agua y 13 para el tratamiento de un 10% de adición de agua, de un total de 30 evaluadores. Llama la atención la preferencia que ha predominado entre los evaluadores que han acertado al momento de diferenciar los tratamientos, dado que, en el test realizado para el tratamiento de 5% y 10%, los evaluadores han seleccionado principalmente c como preferencia el tratamiento control versus los tratamientos con adición de agua.

### Análisis descriptivo

El análisis descriptivo se realizó con un panel entrenado, el cual, estuvo constituido por 10 evaluadores con un alto conocimiento en vinos. Se llevó a cabo solo con el tratamiento control y el tratamiento 2 (10% adición de agua), debido a que los resultados arrojados por test triangular indicaron que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento 1 (5% adición de agua) y el control. Por lo tanto, se tomó la decisión, ejecutar esta prueba con el tratamiento 2, el cual obtuvo una mayor cantidad de aciertos en su identificación, demostrando un mayor grado de diferencia frente al control (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Resultados cata descriptiva. Tratamiento control y tratamiento con 10% adición de agua.

	Control	T2
<b>Parámetros visuales</b>		
Intensidad color	8,4 ± 1,42 a	7,6 ± 1,50 a
<b>Parámetros olfativos</b>		
Intensidad aroma nasal	5,7 ± 1,15 a	5,5 ± 1,71 a
Intensidad aroma en boca	9,1 ± 1,37 a	7,6 ± 2,17 a
<b>Parámetros gustativos</b>		
Compota, pera y manzana	9,1 ± 2,96 a	8,8 ± 2,25 a
Tropical (piña, maracuyá, plátano)	6,3 ± 1,25 a	5,7 ± 2,49 a
Fruta de hueso (Durazno, damasco)	6,5 ± 1,17 a	5,3 ± 1,82 a
Cítrico	2,7 ± 0,82 a	2,5 ± 1,26 a
Floral	4,1 ± 1,59 a	3,7 ± 1,49 a
Láctico	0,9 ± 1,10 a	0,7 ± 0,94 a
Acidez	5,8 ± 1,31 a	6,2 ± 1,22 a
Untuosidad	10,3 ± 2,45 b	7,4 ± 1,64 a
Amargor	1,2 ± 0,42 a	1,5 ± 0,70 a
Persistencia	9,0 ± 1,49 b	7,5 ± 1,35 a

Todos los datos están expresados como el promedio de la degustación de 10 evaluadores ± desviación estándar (n=10). Promedios ± desviación estándar. Letras iguales en sentido horizontal indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p>0.05$ )

Al realizar un análisis estadístico de los valores calificados por los evaluadores, no se han observado diferencias significativas en los parámetros visuales y olfativos. Sin embargo, al comparar los parámetros gustativos en el tratamiento control *versus* el tratamiento con un

10% de adición de agua, se observaron 2 variables estadísticamente diferentes en los parámetros, la persistencia y la untuosidad, donde el tratamiento control ha sido superior en ambas. Estas diferencias obtenidas se complementan con los resultados obtenidos en los análisis anteriores, ya que, se observó en la concentración de los polisacáridos, una significativa mayor cantidad de estos compuestos para el tratamiento control frente a los tratamientos con adición de agua, dado esto, cabe destacar que estos compuestos son asociados a una mayor untuosidad y persistencia del vino (Gawel *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos en este test descriptivo podrían explicar algunos resultados obtenidos en el test triangular, donde se muestra una mayor preferencia de parte de los consumidores por el tratamiento control frente a los tratamientos con adiciones de agua, evidenciando una posible mayor preferencia por la untuosidad y persistencia presente en el tratamiento control. Esto concuerda con lo descrito por Jones *et al.* (2008) quienes mencionan, que la untuosidad en el vino blanco puede ser potenciada por glicerol y polisacáridos, suprimiendo sensaciones desagradables en boca como el amargor, explicando así la preferencia por el vino con mayor untuosidad.

Finalmente, señalar que los resultados de este trabajo han sido realizados en conjunto con una investigación de reducción alcohólica con levaduras no *Saccharomyces* y publicados (Anexo 3), siendo la referencia: Ruiz-de-Villa, C., L. Urrutia, C. Jara, M. Gil i Cortiella, J. M. Canals, A. Mas, C. Reguant and N. Rozès. 2023. Physicochemical and Organoleptic Differences in Chardonnay Chilean Wines after Ethanol Reduction Practises: Pre-Fermentative Water Addition or *Metschnikowia pulcherrima*. *Fermentation*. 9: 808.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con las condiciones empleadas en este estudio es posible concluir que:

Se cumple parcialmente la hipótesis planteada, ya que, algunos de los parámetros físicos y químicos estudiados en los vinos se modificaron con la aplicación de agua en diferentes proporciones. Del mismo modo no se incrementa la preferencia de los vinos en la medida que se incrementa la adición de agua al mosto antes de la fermentación alcohólica.

La adición de agua al mosto de forma pre-fermentativa genera una disminución del grado alcohólico en un valor relacionado al porcentaje de adición empleado.

Químicamente se generaron menores cambios entre el tratamiento con un 5% de adición de agua y el control.

El tratamiento con un 10% de adición de agua disminuyó una mayor cantidad de etanol en el vino resultante, no obstante, sus compuestos químicos y físicos presentaron mayores variaciones en comparación al control

Consumidores sin experiencia en vinos no fueron capaces de distinguir diferencias significativas entre los tratamientos de adición de agua y el control, lo cual, evidencia bajos cambios en los parámetros sensoriales para un público sin conocimiento en vinos.

La adición de agua afectó directamente los parámetros físicos, dando como resultados vinos de un color menos intenso.

La adición de agua proporcionaría vinos de una complejidad levemente menor frente a paladares más sensibles.

**LITERATURA CITADA**

- Bate-Smith, E. 1981. Astringent tannins of the leaves of Germain species. *Phytochemistry* 20: 211-216.
- Belisario, Y., A. Taboada, F. Marin and A. Lopez. 2009. Dealcoholized wines by spinning cone column distillation: phenolic compounds and antioxidant activity measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:6770–6778.
- Bordeau, E. y Scarpa, J. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones Universidad Católica de Chile. 253 p.
- Buzzetti, C. 2021. Análisis de las exportaciones de vino embotellado. ODEPA. Disponible en <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/articulos/analisis-de-las-exportaciones-de-vino-embotellado> (Consultado en Octubre de 2021)
- Chile. Ministerio de Agricultura. 2019. Decreto N° 9 Modifica Decreto N° 78, de 1986, del Ministerio de Agricultura, que reglamenta ley N° 18.455, que fija normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres. 24 Diciembre 2019.
- CIE. 1986. Colorimetry. 2nd edition. 83pp. Commission Internationale de l'Eclairage, publicación 15.2. Vienna, Austria.
- Ehsani, M., M.R. Fernández, J.A. Biosca, A. Julien and S. Dequin. 2009. Engineering of 2,3-butanediol dehydrogenase to reduce acetoin formation by glycerol-overproducing, low-alcohol *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 75:3196–3205.
- Fanzone, M. 2012 Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (*Vitis vinifera* L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Tesis Doctoral. Universitat Rovira i Virgili. 178p.
- Fernandez-Zurbano, P., V. Serrano y J. Cacho. 1997. Estudio del papel relativo de algunos compuestos fenólicos en la velocidad de pardeamiento. Grupos de investigación enológica. Jornadas científicas. Zaragoza, España. 250 p.
- Fischer, U., and A. C. Noble. 2004. The effect of ethanol, catechin concentration and pH on sourness and bitterness of wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 45: 6-10.
- Flanzy, C. 2000. Enología: Fundamentos científicos y Tecnológicos. Editorial Mundi Prensa, primera edición, Madrid, España.
- García-Barceló. J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713p.

Gardner, J.M., M. E. Walker, P. K. Boss and V. Jiranek. 2022. The Effect of Grape Juice Dilution and Complex Nutrient Addition on Oenological Fermentation and Wine Chemical Composition. *J. Food Compo.* 105.

Gawel, R., P. A. Smith and E. J. Waters. 2016. Influence of polysaccharides on the taste and mouthfeel of white wine. *Australian journal of grape and wine research.* 2: 350-367.

Gawel, R., A. Oberholster, and I.L. Francis. 2000. A ‘mouth-feel wheel’: terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6:203-207.

Godden, P., and R. Muhlack. 2010. Trends in the composition of Australian wine. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemak.* 558: 47-61

González.,A. N. Jiménez and C. Ancín. 2008. Concentration of volatile compounds in Chardonnay wine fermented in stainless steel tanks and oak barrels. *Food Chemistry* 108: 213-219.

Grønbæk, M. 2009. The positive and negative health effects of alcohol- and the public health implications. *Journal of International Medical Research* 265:407-420.

Hidalgo, J. 2003. *Tratado de Enología, volumen 1.* pp 470. Fundación para la cultura del vino. Madrid, España. 1423p

Jones, P. R, R. Gawel, I. L. Francis and E.J. 2008. Waters The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference.* 19: 596–607

Kontoudakis, N., M. Esteruelas, F. Fort, J. M. Canals and F.Zamora. 2011. Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Australian Journal of Grape and Wine* 17: 230-238.

Le Berre, E., B. Atanasova, D. Langlois, P. Etiévant and T. Thomas-Danguin. 2007. Impact of ethanol on the perception of wine odorant mixtures. *Food Quality and Preference* 18:901-908.

Longo, R., J.W. Blackman, P.J. Torley, S.Y. Rogiers and L.M. Schmidtke. 2016. Changes in volatile composition and sensory attributes of wines during alcohol content reduction. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 97: 8–16.

Meillon, S., V. Dugas, C. Urbano and P. Schlich. 2010. Preference and Acceptability of Partially Dealcoholized White and Red Wines by Consumers and Professionals. *American Journal of Enology and Viticulture.* 61:1.

Novello, V. and L. de Palma. 2013. Viticultural strategy to reduce alcohol levels in wine. P.3–8 6 In: *Alcohol Level Reduction in Wine.* September, Bordeaux, France.

OIV. 2015. GRAPEVINE VARIETIES’ AREA BY COUNTRY. International Organization of Vine and Wine. Disponible en <https://www.oiv.int/js/lib/pdfjs/web/viewer.html?file=/public/medias/5882/grapevine-varieties-area-by-country-2015.pdf> (Consultado en Mayo de 2022)

- OIV. 2017. Distribution of the world's grapevine varieties. International Organization of Vine and Wine. Disponible en <https://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf> (Consultado en Mayo de 2022)
- Parker, A. K., I. G. de Cortazar-Atauri, L. Geny, J. L. Spring, A. Destrac, H. Schultz, D. Molitor, T. Lacombe, A. Graça, C. Monamy, M. Stoll, P. Storchi, M. C. T. Trought, R. W. Hofmann, and C. van Leeuwen. 2020. Temperature-based grapevine sugar ripeness modelling for a wide range of *Vitis vinifera* L. cultivars. *Agricultural and Forest Meteorology* 285-286.
- Peña-Neira, A., A. Cáceres and C. Pastenes. 2007. Low molecular weight phenolic and anthocyanin composition of grape skins from cv. Syrah (*Vitis vinifera* L.) in the Maipo Valley (Chile): Effect of clusters thinning and vineyard yield. *Food Science and Technology International*, 13(2):153 – 158.
- Piccardo, D., J. Gombau, O. Pascual, A. Vignault, P. Pons, J. M. Canals, G. González-Neves, and F. Zamora. 2019. Influence of two prefermentative treatments to reduce the ethanol content and pH of red wines obtained from overripe grapes. *Vitis* 58(5):59-67.
- Pickering, G.J. 2000. Low and reduced-alcohol wine: a review. *Journal of Wine Research* 11: 129-144.
- Quirós, M., V. Rojas, R. Gonzalez and P. Morales. 2014. Selection of non-Saccharomyces yeast strains for reducing alcohol levels in wine by sugar respiration. *International Journal of Food Microbiology*. 181:85–91.
- Ruiz-de-Villa, C., L. Urrutia, C. Jara, M. Gil i Cortiella, J. M. Canals, A. Mas, C. Reguant and N. Rozès. 2023. Physicochemical and Organoleptic Differences in Chardonnay Chilean Wines after Ethanol Reduction Practises: Pre-Fermentative Water Addition or *Metschnikowia pulcherrima*. *Fermentation*. 9: 808.
- SAG. 2016. Catastro vitícola. Servicio Agrícola Ganadero. Chile. Disponible en [https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/catastro2016\\_.pdf](https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/catastro2016_.pdf) (Consultado en junio de 2021).
- SAG. 2018. Producción de Vinos. Servicio Agrícola Ganadero. Chile. Disponible en <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/infocosecha2018.pdf> (Consultado en Mayo de 2021).
- SAG. 2023. Boletín del vino: producción, precios y comercio exterior Avance a abril 2023. Servicio Agrícola Ganadero. Chile. Disponible en <https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/bitstream/handle/20.500.12650/72395/BVino052023.pdf> (Consultado en Octubre 2023).
- Salgado, C., A. Hernández, L. Palacio, A. Hernández and P. Prádanos. 2015. Alcohol reduction in red and white wines by nanofiltration of musts before fermentation. *Food Bioproducts Process*. 96:285–295.
- Saliba, A. J., L. A. Ovington, and C. C. Morasn. 2013. Consumer demand for low-alcohol wine in an Australian sample. *International Journal of Wine Research* 5:1-8.

- Schelezki, O. J, K. Suklje, P.K. Boss and D. W. Jeffery. 2018. Pre-fermentation approaches to producing lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon and Shiraz: Implications for wine quality based on chemical and sensory analysis. *Food Chemistry*. 259: 196-206.
- Schelezki, O. J, P. A. Smith, A. Hranilovic, K. A. Bindon and D. W. Jeffery. 2018. Comparison of consecutive harvests versus blending treatments to produce lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon grapes: Impact on polysaccharide and tannin content and composition. *Food Chemistry* 244: 50-59.
- Schelezki, O. J, G. Antalick, K. Šuklje and D. W. Jeffery. 2020. Pre-fermentation approaches to producing lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon and Shiraz: Implications for wine quality based on chemical and sensory analysis. *Food Chemistry* 309.
- Schmidtke, L.M, J. Blackman and S. Agboola. 2012. Production technologies for reduced alcoholic wines. *Journal of Food Science*. 77:2-41.
- Teng, B., P. R. Petrie, P. A. Smith, and K. A. Bindon. 2020. Comparison of water addition and early-harvest strategies to decrease alcohol concentration in *Vitis vinifera* cv. Shiraz wine: impact on wine phenolics, tannin composition and colour properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 26(2):158-171.
- Úbeda, C., M. G. Cortiella, L. Villalobos-Gonzales, C. Gomez, C. Pastenes and A. Peña-Neira. 2020. Ripening and Storage Time Effects on the Aromatic Profile of New Table Grape Cultivars in Chile. *Molecules*. 25(24).
- Úbeda, C., R. del Barrio Galán, A. Peña Neira, M. Medel Marabolí y E. Durán Guerrero. 2017. Location Effects on the Aromatic Composition of 2 Monovarietal cv. Carignan Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, pp 1-28.
- United States Code of Federal Regulations. 2010. §24.176 Crushing and fermentation. United States Government. Washington, DC, USA.
- Van Leeuwen, C., and P. Darriet. 2016. The impact of climate change on viticulture and wine quality. *Journal of Wine Economics* 11:150-167.
- Varela, C., P.R. Dry, D.R. Kutyna, I.L. Francis, P.A. Henschke, C.D. Curtin, and P.J. Chambers. 2015. Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21:670-679.
- Xynas. B and C. Barnes. 2023. Yeast or water: producing wine with lower alcohol levels in a warming climate: a review. *Journal of the Science, Food and Agriculture*. 103 (7): 3249-3260.
- Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. AMV. Ediciones, Madrid, España.
- Zamora, F. 2009. Biochemistry of alcoholic fermentation. p.3-26 In: Moreno-Arribas, M. V. and M. Carmen Polo (Eds): *Wine chemistry and biochemistry*. Springer, Madrid, Spain.
- Zoecklein, B., K. Fugelsang, B. Gump and F. Nury. 2001. *Análisis y Producción de Vino*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

## ANEXOS

### Anexo 1 – Pauta de análisis sensorial para vinos con dilución por método de test triangular

#### Test Triangular

Nº de catador:

**Dispone de tres vinos, dos iguales y uno diferente.**  
Escriba el número del vino diferente y seleccione cual prefiere

**Cata 1** Puesto Nº

Copa diferente

Preferencia ( nº copa/copas que prefiere)

Preferencia

**Cata 2** Puesto Nº

Copa diferente

Preferencia ( nº copa/copas que prefiere)

Preferencia

**Anexo 2 - Pauta de análisis sensorial para vinos con dilución por método del perfil descriptivo**

Nombre:

Muestra N° \_\_\_\_\_

Por favor indique con una **línea vertical** sobre la horizontal, el punto que mejor describa el atributo de la muestra, basándose en el siguiente diagrama:

-----|-----|-----  
 0 15  
 Ausencia Máximo

**FASE VISUAL**

INTENSIDAD DEL COLOR

-----|-----|-----  
 0 15  
 Ausencia Máximo

MATIZ DEL COLOR

-----|-----|-----  
 0 15  
 Rosado Rojo Violáceo

**FASE OLFATIVA**

INTENSIDAD AROMÁTICA

-----|-----|-----  
 0 15  
 Ausencia Máximo

AROMA A FRUTOS

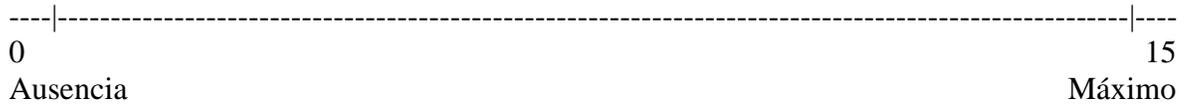
-----|-----|-----  
 0 15  
 Ausencia Máximo

AROMA A ALCOHOL

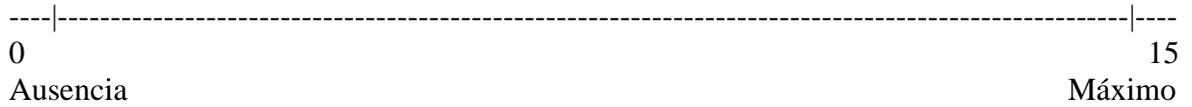
-----|-----|-----  
 0 15  
 Ausencia Máximo

**FASE GUSTATIVA**

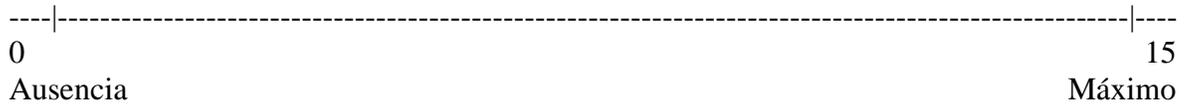
**ACIDEZ**



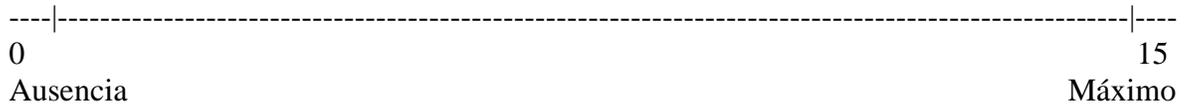
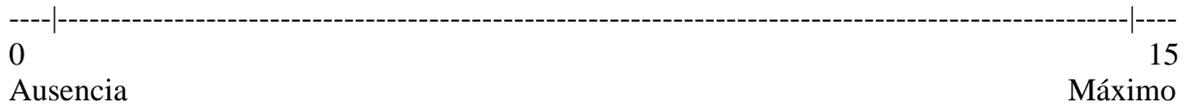
**ASTRINGENCIA**



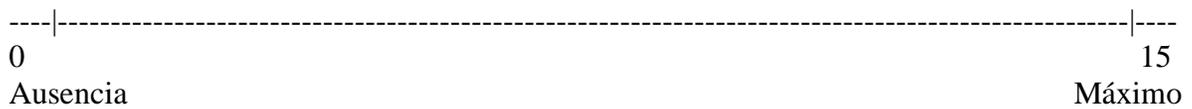
**AMARGOR**



**CUERPO**



OTROS.....





## Anexo 3 - Publicación investigación. "physicochemical and organoleptic differences in chardonnay Chilean wines after ethanol reduction practises: pre-fermentative water addition or *Metschnikowia pulcherrima*"



fermentation



Article

### Physicochemical and Organoleptic Differences in Chardonnay Chilean Wines after Ethanol Reduction Practises: Pre-Fermentative Water Addition or *Metschnikowia pulcherrima*

Candela Ruiz-de-Villa <sup>1</sup>, Luis Urrutia-Becerra <sup>2</sup>, Carla Jara <sup>2</sup>, Mariona Gil i Cortiella <sup>3</sup>, Joan Miquel Canals <sup>4</sup>, Albert Mas <sup>5,\*</sup>, Cristina Reguant <sup>2</sup> and Nicolas Rozès <sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, C/ Marçel·li Domingo s/n, 43007 Tarragona, Spain; candela.ruiz@urv.cat (C.R.-d.-V.); nicolasrozes@urv.cat (N.R.)
  - <sup>2</sup> Department of Agro-Industry and Enology, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santa Rosa 11315, Santiago 8820808, Chile; carlajara@u.uchile.cl (C.J.); cristina.reguant@urv.cat (C.R.)
  - <sup>3</sup> Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Inorganic Chemistry and Molecular Material Center, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Chile, Av. El Llano Subercaseaux 2801, Santiago 8910060, Chile; mariona.gil@uaautonoma.cl
  - <sup>4</sup> Grup de Tecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, C/ Marçel·li Domingo s/n, 43007 Tarragona, Spain
  - <sup>5</sup> Grup de Biotecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, C/ Marçel·li Domingo s/n, 43007 Tarragona, Spain
- \* Correspondence: albert.mas@urv.cat



Citation: Ruiz-de-Villa, C.; Urrutia-Becerra, L.; Jara, C.; Gil i Cortiella, M.; Canals, J.M.; Mas, A.; Reguant, C.; Rozès, N. Physicochemical and Organoleptic Differences in Chardonnay Chilean Wines after Ethanol Reduction Practises: Pre-Fermentative Water Addition or *Metschnikowia pulcherrima*. *Fermentation* **2023**, *9*, 808. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090808>

Academic Editor: Antonio Morata

Received: 26 July 2023

Revised: 18 August 2023

Accepted: 30 August 2023

Published: 2 September 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract** Climate change is posing a major challenge to the wine industry, with rising alcohol levels emerging as an issue of concern affecting quality, economics and health. This study explores two methods to reduce alcohol content in Chardonnay wines from Chile. Firstly, 5% and 10% of water was added to grape must. Secondly, the sequential inoculation of *Metschnikowia pulcherrima* with *Saccharomyces cerevisiae* was examined. The main objectives were to assess the efficacy of these treatments in reducing alcohol levels and their impact on organoleptic properties. Our findings revealed that the presence of *M. pulcherrima* in winery conditions was less effective in reducing ethanol. Nevertheless, wines resulting from this treatment exhibited an interesting composition with distinct sensory profiles. Furthermore, the Sc-5% W condition displayed promising results by reducing ethanol content by 0.47% (v/v), with less significant changes in the sensory profile. Although the Sc-10% W wines showed a more substantial ethanol reduction of 1.73% (v/v), they exhibited a decreasing trend in volatile compounds and polysaccharides, ultimately being perceived as less complex in sensory analysis and not being preferred by consumers. This research contributes to understanding how these approaches affect the alcohol content and sensory attributes of white wines and is fundamental to the sustainability of the sector and the ability of the sector to recover from climate challenges.

**Keywords:** watering; low-alcohol wines; non-*Saccharomyces*

#### 1. Introduction

In the last decades, climate change has had a significant and profound impact on the agricultural industry. Therefore, viticulture and winemaking are being affected by this issue in wine regions around the world [1–3]. While climate change is causing challenges and negative effects in traditional winemaking regions, it has also resulted in the emergence of new wine-producing areas due to the displacement of climate patterns [4,5]. Chilean wine regions are also grappling with global warming. Coquimbo, Aconcagua and Central Valley Regions have undergone a change from warm to hot climates [5]. It is worth noting that the Maule region, which provided the grape must for the study, is part of the Central

Valley region. Worldwide global warming produces an increase in temperatures and a reduction in water availability due to draught. In a vineyard, this leads to increased sugar concentrations in grape berries, a reduction in the total acidity levels in grapes and a lag between phenolic and technological maturity [1]. As a result, the wines produced present an organoleptic imbalance with higher alcohol contents and an increased risk of stuck fermentations [1,2].

Furthermore, it is important to note that the increase in alcohol content is related to higher taxes, as a result of policy interventions implemented in numerous countries [6]. Another factor contributing to the reduction in alcohol degree is the growing trend towards adopting healthier lifestyles that involve consuming less alcohol [7].

A wide variety of practices have been proposed to address the issue of increased alcohol content in wines. Many of these approaches focus on viticulture practices, such as modifying irrigation techniques or adjusting pruning management [1]. However, there is also growing research into microbiological modulation to reduce alcohol levels in wines. While carbon metabolic pathways in yeast species are generally conserved, variations exist in terms of ethanol yields [8,9]. Studies have demonstrated that certain non-*Saccharomyces cerevisiae* yeasts can effectively reduce alcohol content through co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* under aeration conditions [8,10]. Among these yeasts, *Metschnikowia pulcherrima* has been reported as one of the most effective species reducing ethanol levels through its respiratory catabolism of sugars [9–11]. Physical practices have been also proposed as osmotic distillation, reverse osmosis or vacuum distillation [12,13]. Another oenological practice studied to reduce alcoholic content is water addition or substitution in grape must. A reduction between 0.6% v/v and 5.9% v/v has been reported in the literature, and most of these studies were performed on red wines [14–17]. However, it is worth noting that Gardner et al. [18] conducted a water addition study with the Viognier and Marsanne grape cultivars. The addition of water is not authorized in all wine regions due to varying legislation. For instance, in the state of California (not below 22° Brix) and Australia (not below 24° Brix), the addition of water has been permitted to facilitate the alcoholic fermentation (AF) of must with high sugar content. However, in the European Union, South Africa and other wine-growing regions, the addition of water is generally prohibited unless necessary for additives [19]. In Chile, water addition is authorized in musts with higher levels of soluble solids up to 23.5° Brix, but it is limited to a maximum of 3.5% of the total water allowed for the addition of additives [20].

These findings highlight the potential for exploring alternative practices to mitigate the increase in alcohol content in wines. Furthermore, there is a lack of studies that focus on these practices in white wines, making the research on the Chardonnay cultivar particularly interesting due to its high grape berry maturity [21].

The objective of this study is to compare the effectiveness of reducing the alcohol content of a wine by adding water (5 and 10%) with using a microbiological treatment, *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae* sequential fermentations, under pilot-plant-like conditions. We performed an assessment of the physicochemical and sensory properties of the wines with the end goal to determine the most effective method of alcohol reduction and to understand its impact on the final product.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Microorganisms and Alcoholic Fermentation

Two yeast species were evaluated: *S. cerevisiae* QA23 (Sc) for the control and water addition conditions and *M. pulcherrima* Level 2 Flavia (Mp), both from Lallemand Inc., Montreal, BC, Canada. The yeasts were inoculated from dry active yeast and rehydrated according to the manufacturer's instructions. *S. cerevisiae* strains were rehydrated at 37 °C for 30 min, while *M. pulcherrima* strains were rehydrated at 30 °C for the same duration. *S. cerevisiae* was inoculated at a concentration of  $2 \times 10^6$  cell/mL and *M. pulcherrima* at a concentration of  $10^7$  cell/mL.

The fermentations were conducted using Chardonnay natural grape must supplied by Viña Correa Albano from the Maule region, Chile. Pilot-plant-scale fermentations were performed in 20 L food-grade plastic tanks, maintaining a temperature of 16 °C without agitation. Two different watering conditions were tested by adding distilled water to the grape must: 5% and 10% (which will be referred to in this text as Sc-5% W and Sc-10% W, respectively). In addition to the watering conditions, a sequential fermentation was carried out. *M. pulcherrima* (Mp + Sc) was initially inoculated, and it remained in grape must for 3 days at 22 °C with a manual aeration three times a day. Then, *S. cerevisiae* was inoculated and continued the AF at 16 °C without aeration. Therefore, four conditions were studied in triplicate: Sc-Control (*S. cerevisiae* under control conditions), Sc-5% W (*S. cerevisiae* under 5% watering condition), Sc-10% W (*S. cerevisiae* under 10% watering condition) and Mp + Sc (sequential fermentation with *M. pulcherrima* followed by *S. cerevisiae*). To ensure proper nutrition for yeast growth, at 48 h after the inoculation, nutrients (Nutrienvit, Lallemand Inc., Montreal, Canada) were added to the fermentations at a concentration of 150 mg/L following suppliers' indications.

Inocula and population dynamics were determined by plating a 1:10 serial dilution in YPD agar (10 g/L of yeast extract, 20 g/L of peptone, 20 g/L of glucose, 17 g/L of agar, Panreac Quimica SLU, Castellar del Vallés, Spain). In addition, populations of *M. pulcherrima* and non-*Saccharomyces* were controlled by Wallerstein selective medium (BDDifco, Billerica, MA, USA).

The monitoring of AF was performed by measuring density each day with "Densito 30PX Portable Density Meter" (Mettler Toledo, Galdakao, Spain). Fermentation was considered finished when the density remained stable and the reducing sugars concentration was less than 2 g/L. Reducing sugars were analysed following the official method of the OIV [22]. After AF, wines were sulphited (10 mg/L  $K_2S_2O_5$ ) and stabilized at 4 °C. Then, they were bottled and stored before the sensory analysis.

## 2.2. Oenological Parameters

General oenological parameters analysed after AF were the following: titratable acidity (expressed as g of equivalent tartaric acid per litre), volatile acidity (expressed as g of equivalent acetic acid per litre), ethanol contents (% v/v) and total polyphenol index ( $I_{280}$ ). They were determined by the official method of the OIV [22].

## 2.3. Analysis of Volatile Compounds

The volatile compounds in the wine samples were analysed using the procedure described in [23]. Briefly, before the analysis, the wine samples underwent a pre-treatment process to extract the volatile compounds using headspace solid-phase microextraction (HS-SPME). A 2 cm 50/30  $\mu$ m carboxen/divinylbenzene/polydimethylsiloxane (CAR/DVB/PDMS) SPME fibre (Supelco, Bellefonte, PA, USA) was employed. The sample volume used was 7.5 mL, where 10  $\mu$ L of 4-methyl-2-pentanol (0.75 mg/L), used as an internal standard, was added. Headspace sampling was conducted using an autosampler, with the vial incubated at 45 °C for 20 min and agitated at 500 rpm. Subsequently, injection was performed using the splitless mode for 3 min, with a transfer line temperature of 280 °C. Gas chromatography analysis was conducted using a 7890B Agilent GC system coupled to a quadrupole mass spectrometer Agilent 5977 inert (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). A DB Wax capillary column (60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) was used, and the carrier gas was helium flowing at a rate of 1 mL/min.

Compound identification was performed by using an MS ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Data were presented as relative area values. To calculate the relative area, the peak area of the main ion of each compound was divided by the peak area of the main ion of internal standard, normalizing it.

#### 2.4. Determination of Soluble Polysaccharides

The analysis of polysaccharides was conducted following the procedure outlined in [24]. Initially, the polysaccharides were extracted from the wine matrix using a precipitation method involving cold acidified ethanol. Then, the determination of polysaccharides was carried out using the HRSEC-RID technique.

#### 2.5. Analysis of Low-Molecular-Mass Phenolic Compounds

Low-molecular-mass phenolic compounds were analysed following the procedure described in [25]. Briefly, wine phenolic compounds were extracted three times with 25 mL of diethyl ether and three times with 25 mL of ethyl acetate. Then, the extracts were evaporated under vacuum and dissolved in 2 mL of methanol/water (1:1, v/v). Samples were analysed by using an HPLC-DAD (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Finally, identification and quantification were conducted by comparison of their spectra and retention times with external standards (Sigma Aldrich, Santiago de Chile, Chile).

#### 2.6. Sensory Analysis

Three different sensory evaluations were conducted to assess the wines. Each glass contained 50 mL of wine for all the analysis.

The first evaluation was a triangle sensory analysis, where a panel of 30 tasters, consisting of trained experts, compared the treatments with the Sc-Control to determine significant differences in a binomial test. To eliminate visual subjectivity, the wines were served in dark glasses and labelled with random 3-digit codes.

The second evaluation involved a descriptive analysis, aiming to provide a detailed sensory profile of the samples that showed significant differences in the triangular sensory analysis. Transparent glasses were used to evaluate the wines. A panel of 10 trained and expert tasters performed this analysis. The tasters used a 15 cm unstructured scale to rank the intensity of various attributes, including colour intensity, aroma intensity, mouthfeel intensity, compote aroma, tropical aroma, stone fruit aroma, floral aroma, lactic aroma, acidity, unctuousness, bitterness and persistence.

Lastly, a consumer preference evaluation was conducted, involving 75 consumers. The purpose was to compare the Sc-10% W treatment wine with the Sc-Control wine. Samples were presented following a Latin square design. The panel involved 27 females, 45 males and 3 nonbinaries, with an average age of 24.6 years old. All the consumers were students and staff from the Faculty of Agronomy (University of Chile).

#### 2.7. Statistical Analysis

All conditions were performed in triplicate biological samples. The statistical software used was XLSTAT version 2022.5.1 (Addinsoft, Paris, France). The data were analysed with two-way ANOVA with a post hoc Tukey test (honestly significant difference) with a confidence interval of 95% and significant results with a  $p$ -value  $< 0.05$ . PLS-DA was used to discriminate samples regarding volatile compounds.

Descriptive sensory analyses were conducted using the software Panel Check (V1.4.2 2012), applying an ANOVA test with a significance level of 95% and utilizing the least significant differences (LSD) test for post hoc comparisons. Consumers' paired preference analyses were assessed using the binomial distribution and the probability was calculated according to Golden et al. [26].

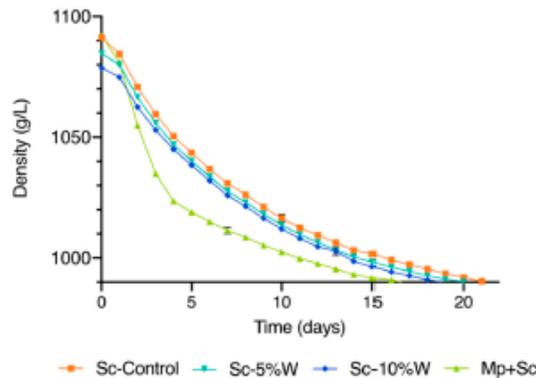
### 3. Results

#### 3.1. Alcoholic Fermentation Kinetics

There were notable differences in the fermentation times among different conditions in terms of alcoholic fermentation (AF) kinetics, considering the time needed to consume 50% of sugars (T50%) and the maximal consumption rate, as it is shown in Figure 1 and Supplementary Data Table S1. Usually, non-*Saccharomyces* species tend to prolong the AF process due to nutrient competition [27]. However, in the case of Mp + Sc wines, the

AF duration was faster compared to the other conditions (Supplementary Data Table S1). This behaviour can be attributed the presence of *S. cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeasts (Supplementary Data, Figure S1) in the grape must which started the fermentation. The sugar consumption was higher than in the other conditions, which may be due to the temperature change (22 °C) during the three-day contact period of *M. pulcherrima* with the grape must, as well as the manual aeration three times a day. These conditions were implemented to optimize the *M. pulcherrima* respiratory metabolism [28] and improve the ethanol reduction effectiveness.

Among the water addition kinetics, it is noteworthy that Sc-10% W followed by Sc-5% W exhibited a faster AF compared to Sc-Control, despite the initial lower density resulting from dilution effects.



**Figure 1.** Alcoholic fermentation kinetics of the different experimental conditions. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*. Means accompanied by standard deviations (SD) based on three replicates ( $n = 3$ ).

### 3.2. Chemical General Analysis

In terms of reducing alcohol content (Table 1), the Mp + Sc condition showed a tendency towards an ethanol reduction of approximately 0.30% ( $v/v$ ), although these differences were not statistically significant from Sc-Control. Previous studies conducted on natural white must reported alcohol reductions of up to 0.99% ( $v/v$ ) [29], ranging from 0.6% to 1.2% ( $v/v$ ) in Chardonnay must [9] or 0.84% to 1.25% ( $v/v$ ) in the case of the Malvar cultivar [30]. In Muscat wines, Zhu et al. [31] described a reduction up to 0.74% ( $v/v$ ), using the same strain combination as in the present study. It is important to note all these studies involved the sterilization of grape must. However, in our study, we aimed to replicate real semi-industrial vinification conditions, and therefore, we decided not to sterilize the fermenting must. As a result, there was naturally occurring spontaneous yeast present at the beginning of alcoholic fermentation (Supplementary Data, Figure S1). Consequently, the competition between *M. pulcherrima* and the spontaneous yeast [32] could explain the relatively low ethanol reduction observed. Additionally, the differences observed between strains in the literature [9,31] suggested that the compatibility between *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae* strains may influence the effectiveness of alcohol reduction.

**Table 1.** Main oenological parameters of final wines. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

	Sc-Control	Sc-5% W	Sc-10% W	Mp + Sc
Ethanol % (v/v)	13.93 ± 0.21 <sup>c</sup>	13.53 ± 0.15 <sup>b</sup>	12.20 ± 0.10 <sup>a</sup>	13.67 ± 0.06 <sup>bc</sup>
Titrateable acidity (g/L de T <sub>2</sub> H)	5.12 ± 0.34	4.91 ± 0.32	5.19 ± 0.34	5.16 ± 0.37
pH	3.21 ± 0.01	3.19 ± 0.01	3.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.19 ± 0.01
Volatile acidity (g/L)	0.69 ± 0.03	0.68 ± 0.03	0.62 ± 0.09	0.64 ± 0.03
Reducing sugars (g/L)	1.87 ± 0.06 <sup>ab</sup>	1.82 ± 0.26 <sup>ab</sup>	1.97 ± 0.12 <sup>b</sup>	1.30 ± 0.37 <sup>a</sup>
I <sub>280</sub>	9.05 ± 0.36 <sup>c</sup>	7.25 ± 0.93 <sup>ab</sup>	7.71 ± 0.31 <sup>a</sup>	8.95 ± 0.54 <sup>bc</sup>

Different lowercase letters indicate the existence of significant difference between the samples ( $p < 0.05$ ). Data are expressed as the mean of three experimental replicates ± standard deviation.

On the other hand, the water addition methods managed a better reduction in ethanol content. Sc-5% W resulted in 0.47% (v/v) and Sc-10% W showed a reduction of 1.73% (v/v), both significantly lower compared to Sc-Control (Table 1). Schelezki et al. [16] reported a reduction of 1% (v/v) with a similar water addition in Shiraz musts than in our study (11.6% for early harvest and 10.2% (v/v) for late harvest). The addition of water has been tested in other red wines with other percentages. For instance, an addition of 7.5% of water decreased ethanol content by 0.9% (v/v) in Shiraz wines [16], an addition of 14% v/v resulted in a reduction of 2.1% (v/v) also in Shiraz wines [17], and an addition of 8% of water decreased the ethanol content by 1.1% v/v in Tempranillo wines [14].

The results suggest that the effectiveness of ethanol reduction can depend on the fermentation approaches and grapes cultivars [19].

Regarding general chemical parameters as titrateable acidity, pH or volatile acidity, there were no significant differences among treatments. Regarding titrateable acidity, a decrease was anticipated due to the dilution effect caused by the addition of water. However, it is worth noting that the concentration of titrateable acidity could be lower in the Sc-Control and Mp + Sc treatments due to tartrate precipitation. Tartaric acid exhibits higher insolubility in ethanol, which means that as the ethanol content increases, the precipitation of tartrates becomes more pronounced compared to treatments with water addition. This way, the reduction in acidity by tartaric precipitation in Sc-Control and Mp + Sc could be compensated by a dilution effect in treatments with water addition, explaining the lack of statistical differences among treatments.

Nevertheless, I<sub>280</sub> suffered the dilution effect of grape must, being significantly higher in Sc-Control and Mp + Sc than in water treatments (Table 1). This behaviour, as expected, has been reported previously in water addition studies [15].

### 3.3. Volatile Compounds in Wines

The relative abundance of the identified 57 volatile compounds was analysed (Supplementary Data Table S3). As it was shown on Table 2, the volatile compounds detected were grouped in following families: acetate esters (7), ethyl esters (19), other esters (2), short-chain fatty acids (SCFA) (3) (acetic acid, isobutyric acid and isovaleric acid), medium-chain fatty acids (MCFA) (3) (octanoic acid, decanoic acid and dodecanoic acid), fusel alcohols (10), aldehydes (2), ketones (2) and terpenes (8).

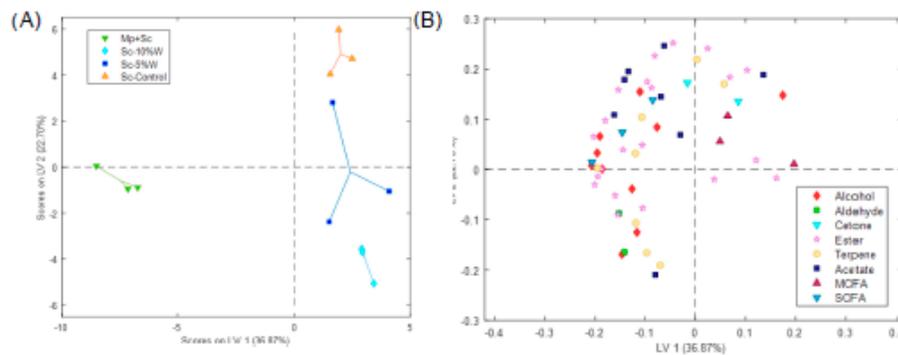
The first two latent variables (LV) of PLS-DA (partial least squares-discriminant analysis) LV1 and LV2 explained 58.48% of the total variance of the Y-block (classes of treatments) (Figure 2A). Thus, LV1 was effective in discriminating between wines treated with Sc-control and water and those produced through sequential fermentation (Mp + Sc), which were separated. Most of the volatile compounds were positively correlated with the Mp + Sc treatment (Figure 2B). On the other hand, LV2 helped in differentiating Sc-control wines from Sc-10% W wines, while Sc-5% W wines occupied a middle position between them. In this case, some esters, terpenes and MCFA were positively correlated

with Sc-Control and Sc-5% W. On the contrary, compounds appear negatively correlated with Sc-10% W.

**Table 2.** Volatile compounds expressed as relative abundance. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

	Sc-Control	Sc-5% W	Sc-10% W	Mp + Sc
∑ Acetate esters	22.36 ± 0.71 <sup>b</sup>	17.88 ± 0.32 <sup>a</sup>	17.39 ± 1.04 <sup>a</sup>	21.32 ± 1.49 <sup>b</sup>
∑ Ethyl esters	60.02 ± 2.65 <sup>c</sup>	44.06 ± 4.39 <sup>ab</sup>	40.06 ± 2.83 <sup>a</sup>	49.05 ± 2.61 <sup>b</sup>
∑ Other esters	1.02 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.25 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.05 <sup>b</sup>
∑ Total esters	83.32 ± 3.41 <sup>c</sup>	63.08 ± 4.55 <sup>a</sup>	58.41 ± 3.96 <sup>a</sup>	71.65 ± 2.93 <sup>b</sup>
∑ SCFA	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.04	0.16 ± 0.01	0.29 ± 0.06
∑ MCFA	13.62 ± 0.99 <sup>b</sup>	13.89 ± 1.92 <sup>b</sup>	12.96 ± 1.53 <sup>ab</sup>	9.65 ± 0.45 <sup>a</sup>
∑ Total acids	14.49 ± 1.09 <sup>a</sup>	14.56 ± 1.94 <sup>a</sup>	13.49 ± 1.52 <sup>a</sup>	10.56 ± 0.52 <sup>b</sup>
∑ Fusel alcohols	23.81 ± 0.89 <sup>a</sup>	23.44 ± 1.57 <sup>a</sup>	23.08 ± 1.04 <sup>a</sup>	33.37 ± 3.04 <sup>b</sup>
∑ Aldehydes	0.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.08 <sup>b</sup>
∑ Ketones	0.14 ± 0.03	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
∑ Terpenes	0.67 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.77 ± 0.07 <sup>ab</sup>

Different lowercase letters indicate the existence of significant difference between the samples ( $p < 0.05$ ). Data are expressed as the mean of three experimental replicates ± standard deviation.



**Figure 2.** First two latent variables for the PLS-DA model (58.48% of the variance) of the volatile compounds. (A) Scores and (B) loadings on the PLS-DA model. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*. Means accompanied by standard deviations (SD) based on three replicates ( $n = 3$ ).

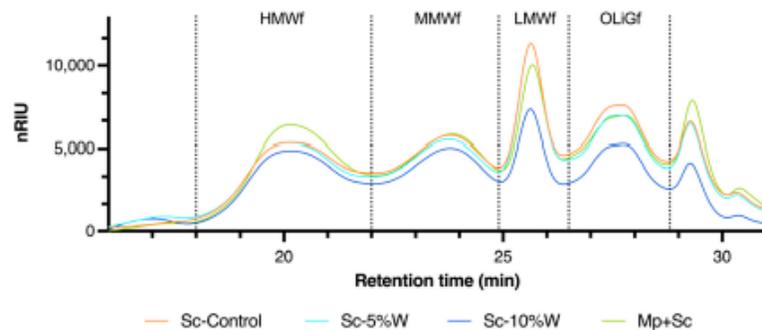
Regarding the relative abundance of volatile families, there were some interesting differences observed (Table 2). The presence of *M. pulcherrima* during AF appeared to increase the overall levels of fusel alcohols, which contributes to a floral aroma. This increase in higher alcohols has been previously reported in white wines fermented with *M. pulcherrima* in sequential culture with *S. cerevisiae* [9,29,30,33]. Specifically, the presence of 2-phenyletanol in sequential fermentation with non-*Saccharomyces* yeasts has been attributed to *M. pulcherrima* [34]. Hranilovic et al. [9] proposed that this effect could be linked to a response from sequential inoculation. Wines fermented with a combination of *M.*

*pulcherrima* and *S. cerevisiae* (Mp + Sc) also exhibited an increase in total aldehydes, which contributes to a fruity aroma. Furthermore, certain terpenes showed increased levels in Mp + Sc wines. This could be associated with the higher activity of  $\beta$ -glucosidase, activity described in *M. pulcherrima* [35]. In contrast, the abundance of ethyl esters was reduced in Mp + Sc wines, which agrees with Tronchoni et al. [36], who described a higher presence of ethyl esters in wines fermented with *S. cerevisiae* monocultures compared with wines in sequential fermentations with *M. pulcherrima*. However, other studies have reported no variation or an increase in ethyl esters with the presence of *M. pulcherrima* [9,29]. These findings suggest that the production of ethyl esters associated with *M. pulcherrima* may be influenced by the winemaking conditions. Furthermore, the abundance of MCEFA was significantly reduced in Mp + Sc wines in accordance with several reports [9,29,36]. Specifically, Balmaseda et al. [37] observed a higher reduction in the white grape variety Macabeo compared to Cabernet sauvignon, due to the differences in the vinification process. This decrease is noteworthy because these compounds are known to be toxic to *Oenococcus oeni* and consequently reduce malolactic activity [38,39].

In the context of pre-fermentative water treatments, it has been observed that the reduction in volatile compounds varies among different families. Notably, total esters show a significant decrease when subjected to water treatments. This dilution effect in water addition was previously described by other researchers [16,18]. However, other volatile families such as acids, fusel alcohols or aldehydes had no change in relation to the Sc-control. Moreover, it is worth highlighting that, apart from total terpenes, there are no significant differences observed between the two dilution percentages, Sc-5% W and Sc-10% W. This suggests that the effect of dilution with water prior to the AF on wine volatile compounds is not strongly influenced by the dilution percentage within this range.

#### 3.4. Soluble Polysaccharides in Wines

The method employed in this study enabled the identification of four distinct fractions containing polysaccharides from grapes and microorganisms (yeasts and bacteria) [24]. Figure 3 illustrates these different fractions detected, each corresponding to a specific molecular weight range: the high-molecular-weight fraction (HMWf) with a number average molecular weight Mn of  $158.7 \pm 2.4$  KDa, the medium-molecular-weight fraction (MMWf) with an Mn =  $34.3 \pm 0.6$  KDa, the low-molecular-weight fraction (LMWf) with an Mn =  $16.3 \pm 0.6$  KDa and the oligosaccharide fraction (OLIGf) with an Mn =  $5.9 \pm 0.2$  KDa.



**Figure 3.** Molecular weight distribution of soluble polysaccharides fractions, by HRSEC-RID. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

In terms of total concentration, significant differences were observed among the Chardonnay wines examined in this study. Sequential fermentation with *M. pulcherrima*

resulted in notably higher concentrations of total polysaccharides. While slight differences were observed for MMWf and OLIGf, a higher increment was found in the HMWf fraction, which exhibited a 20.45% increase in Mp + Sc wines compared to the Sc-Control wine (Table 3). Previous studies have reported that non-*Saccharomyces* yeasts release more polysaccharides during AF, which are essentially mannoproteins [40–42]. Gorzález-Royo et al. [43] concluded that the presence of *M. pulcherrima* in white wine fermentation leads to an overall increase in total polysaccharides, with the most substantial increase observed in the HMWf fraction (Figure 3).

**Table 3.** Polysaccharide fractions (mg/L). The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

Fraction (mg/L)	Sc-Control	Sc-5% W	Sc-10% W	Mp + Sc
HMWf	43.33 ± 3.02 <sup>a</sup>	44.05 ± 2.35 <sup>a</sup>	40.81 ± 4.06 <sup>a</sup>	52.19 ± 0.67 <sup>b</sup>
MMWf	37.09 ± 1.74 <sup>bc</sup>	35.31 ± 0.78 <sup>ab</sup>	33.08 ± 3.07 <sup>a</sup>	40.29 ± 0.18 <sup>c</sup>
LMWf	31.62 ± 1.06 <sup>b</sup>	20.42 ± 4.36 <sup>a</sup>	18.43 ± 1.90 <sup>a</sup>	31.58 ± 5.16 <sup>b</sup>
OLIGf	41.25 ± 1.03 <sup>c</sup>	34.10 ± 0.16 <sup>b</sup>	27.76 ± 2.55 <sup>a</sup>	43.23 ± 3.01 <sup>c</sup>
∑ Polysaccharides	153.29 ± 5.74 <sup>b</sup>	133.89 ± 5.62 <sup>a</sup>	127.61 ± 7.78 <sup>a</sup>	167.28 ± 6.07 <sup>b</sup>

Different lowercase letters indicate the existence of significant difference between the samples ( $p < 0.05$ ). Data are expressed as the mean of three experimental replicates ± standard deviation.

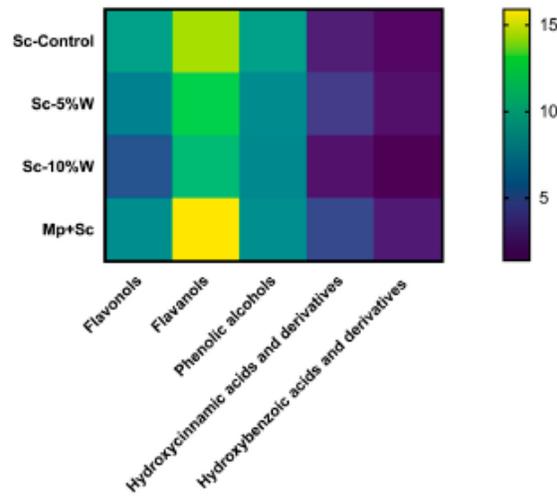
When observing the effects of water addition treatments, it was found that polysaccharides experienced a significant reduction. However, the fractions that exhibited the most significant variations were MMWf, LMWf and OLIGf (Table 3).

Moreover, noteworthy differences were observed between the different percentages of water addition (Figure 3). In the case of MMWf, a non-significant reduction of 4.8% was observed in Sc-5% W wines, while a larger reduction of 10.8% was observed in Sc-10% W wines. In the LMWf fraction, a 35.4% reduction was observed in Sc-5% W, compared to a higher reduction of 41.7% in Sc-10% W wines. Lastly, the OLIGf fraction experienced a 17.3% reduction in Sc-5% W, whereas a more significant reduction of 32.7% was observed with a 10% water addition (Table 3). Piccardo et al., Schelezki et al. and Teng et al. [14,17,44] also described a reduction in the content of polysaccharides in red wines with the addition of water.

### 3.5. Low-Molecular-Mass Phenolic Compounds in Wines

The present study investigated the impact of different treatments on the phenolic composition of wines. Various phenolic compounds were identified, including hydroxybenzoic acids (gallic acid and protocatechuic acid), hydroxycinnamic acids and derivatives (trans-caftaric acid, trans-coutaric acid, cis-coutaric acid, caffeic acid and hexose ester of trans *p*-coumaric acid), phenolic alcohols (tyrosol), flavanols (catechin, epicatechin and procyanidins) and flavonols (astilbin, quercetin, derivatives and other flavanols).

The heatmap presented in Figure 4 illustrates the proportions of phenol compounds between different treatments. In the case of Mp + Sc wines, there was a tendency towards increased levels of flavanols, hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids. Conversely, a decrease was observed in flavonols and phenolic alcohols, although these differences did not reach statistical significance. However, two notable significant variations were observed. The content of epicatechin increased from 8.30 mg/L in the Sc-Control wine to 9.47 mg/L in the presence of *M. pulcherrima*. On the other hand, quercetin levels decreased from 0.92 mg/L in the Sc-Control wine to 0.61 mg/L in Mp + Sc wines (Supplementary Table S2).



**Figure 4.** Heat map of low-molecular-mass phenolic compounds families detected in wines. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

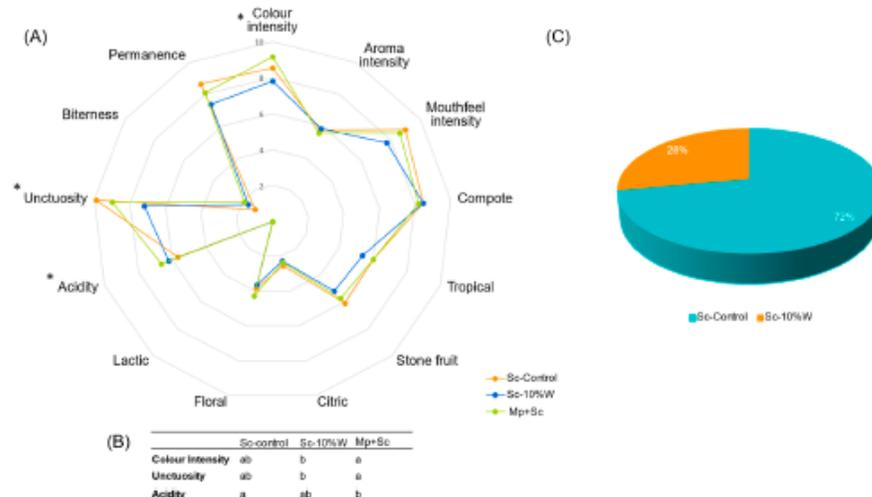
There have been relatively few studies analysing the modification of low-molecular-mass phenolic compounds in white wines with the presence of *M. pulcherrima*. However, it has been described that *M. pulcherrima* can increase polyphenolic content in red wines [37,45]. In addition, Sorrentino et al. [46] reported an increase in certain phenolic compounds such as epicatechin, catechin and gallic acid, with the use of another species of *Metschnikowia* genera: *M. fruticola*. This increase has been attributed to higher polygalacturonase activity [47], as suggested by some authors, although no statistical differences were observed for wine soluble polysaccharides, which should be also related to enzymatic activity through maturity and AF.

Regarding the Sc-5% W water treatment, there was a general decreasing trend observed in all low-molecular-mass compounds, although no significant differences were found among the phenolic compound families (Figure 4). Nevertheless, specific phenols such as epicatechin, quercetin and certain procyanidins showed reductions (Supplementary Table S2). On the contrary, Sc-10% W wines exhibited lower values across all families of compounds (Figure 4), indicating a dilution effect like what has been observed in some volatile compounds and polysaccharides. These results would agree with the reported effects of water additions to the fermenting must, although it was observed in red wines [14,15,17].

### 3.6. Sensory Analysis

A triangular sensory analysis was conducted to assess the differences between the control and the treatments. The results showed that out of 30 tasters, 21 were able to differentiate the Mp + Sc wine from the Sc-Control, 14 were able to differentiate the Sc-10% W wine, and 12 were able to differentiate the Sc-5% W wine from the Sc-Control. Based on these results, only the Mp + Sc wine and Sc-10% W wine were found to be significantly different from the Sc-Control wine, with a significance level of  $p < 0.1$ . Following the triangular analysis, a descriptive analysis was performed by a professional tasting panel to further evaluate the sensory differences between the significantly different wines. The treatments compared in this analysis were the Sc-Control, Sc-10% W and Mp + Sc, as depicted in Figure 4.

Figure 5A,B indicate that there were only significant differences between colour intensity, acidity and unctuousity. The Sc-10% W wines had significantly less unctuousity and colour intensity, suggesting that the addition of water clearly influences the decrease in unctuousity. On the contrary, the acidity perception was not the higher, as could be expected. Mp + Sc wines were rated as the most acidic in comparison to the Sc-Control; even the analytical value of total acidity was not different. Regarding aromas, although no significant differences were found between the conditions, there was a decreasing trend in aroma intensity for Sc-10% W wines, which aligns with the reduction in volatile compounds mentioned above. Other researchers studying red wines with added water also reported a decrease in flavour intensity, colour and structural characteristics, which became more pronounced with higher water addition percentages; however, the tannin levels remained stable [15,16]. Substitution methods had fewer effects on the sensory profiles. Piccardo et al. [14] described wines with the addition or substitution of water as having more vegetal and acidic characteristics. In red wines, sensory changes may be more pronounced due to the higher complexity compared to white wines.



**Figure 5.** (A) Spider plot of organoleptic parameters analysed in descriptive analysis. Asterisks (\*) indicate significant differences between conditions: \*  $p < 0.05$ . (B) Letters indicating significant differences ( $p < 0.05$ ) between conditions. (C) Percentage of preference in the analysis of consumer preference. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-10% W indicates wines with a pre-fermentative water addition of 10%. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

In wines fermented with the presence of *M. pulcherrima*, the tropical and fruity notes were not significantly perceived, which is consistent with the lower ester concentrations compared to the Sc-Control wines. However, the floral notes were still present, possibly due to a high concentration of some fusel alcohols. In addition, it has been described in other sensory analysis that wines fermented in the presence of *M. pulcherrima* had oxidation and spirit-like aromas [36], which could be attributed to the high levels of isoamyl alcohol.

Finally, to validate the impact of water addition on the wine profile, we conducted a preference test, comparing Sc-Control with Sc-10% W. The results clearly demonstrated a strong preference for the Sc-Control sample without water addition, with a  $p$ -value of  $5.6 \times 10^{-5}$  (Figure 5C). This preference could be attributed to the higher levels of unctuousity observed in the Sc-Control sample. Interestingly, while a previous study by Niimi et al. [48]

indicated that an increase in body did not influence preference in red wine, our findings suggest that consumers associate unctuousness with quality specifically in white wine.

#### 4. Conclusions

This study aimed to investigate different methods for reducing alcohol content in wines, including the use of *Metschnikowia pulcherrima* in sequential fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and the addition of water (5% and 10%) to the fermentative must. The experiments focused on Chardonnay wines, as there is a lack of research on these technologies in white wines. In order to simulate real conditions, the fermentative must was not sterilized, in order to study the reduction in ethanol and sensory modifications of treatments under competitive pressure of endogenous microorganisms.

Our findings indicated that the presence of *M. pulcherrima* in alcoholic fermentation was less effective in reducing ethanol, likely due to the presence of other yeast species in the must. However, the resulting wines had different compositions, with higher levels of HMWf polysaccharides and a tendency towards increased concentrations of certain phenolic compounds, particularly epicatechin. In terms of volatile compounds, there was an increase in fusel alcohols, which could be linked to the heightened floral notes of the wines in sensory analysis. Regarding pre-fermentative water addition, the Sc-5% W condition, which reduced ethanol by  $0.47 \pm 0.06\%$  (v/v), showed promising results in terms of analytical parameters, with no significant differences observed in low-molecular-weight phenolic compounds. This condition also exhibited a slighter reduction trend in volatile compounds and polysaccharides compared to the Sc-10% W wines, which had an ethanol reduction of  $1.73 \pm 0.10\%$  (v/v). Wines with a pre-fermentative water addition of 10% were described as less complex in sensory analysis, showing a decreasing trend in all analysed organoleptic parameters.

These results demonstrate that adding high percentages of water leads to a general decrease in the concentration of most wine components, although it can also increase wine production, which may pose a challenge. However, the addition of lower percentages of water, such as 5% or even less, can effectively reduce ethanol content without significantly altering the organoleptic profile of the wines. Further research could explore the combination of low water addition percentages with the use of non-*Saccharomyces* yeast, such as *M. pulcherrima*, to achieve both ethanol reduction and improvements in organoleptic characteristics. This line of research is important considering the rapid progress of climate change and the limited approval rates for these methods in most wine-producing countries.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/fermentation9090808/s1>, Figure S1: (A) Sc-Control, Sc-5% W and Sc-10% W yeast populations during AF. (B) Mp + Sc yeast populations during AF. The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*. Means accompanied by standard deviations (SD) based on three replicates (n = 3); Table S1: Maximal Consumption Rate (g/L/day) and days to consume 50% of sugars (T50%). The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5%W and Sc-10%W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp+Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*. Table S2: Low-molecular-mass phenolic compounds in wines (mg/L). The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5% W and Sc-10% W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*. Table S3: Volatile compounds detected in wines (relative area). The Sc-Control represents wines fermented solely with *S. cerevisiae*, while Sc-5%W and Sc-10%W indicate wines with a pre-fermentative water addition of 5% and 10%, respectively. The Mp + Sc wines depict sequential fermentation with *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae*.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J. and C.R.-d.-V.; methodology, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J. and C.R.-d.-V.; software, C.R.-d.-V. and J.M.C.; validation, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J. and C.R.-d.-V.; formal analysis, A.M., J.M.C., M.G.i.C. and C.J.; investigation, C.R.-d.-V.

and L.U.-B.; resources, A.M., J.M.C., M.G.i.C. and C.J.; data curation, C.R.-d.-V.; writing—original draft preparation, C.R.-d.-V.; writing—review and editing, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J., N.R. and C.R.; visualization, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J., N.R. and C.R.; supervision, A.M., J.M.C., M.G.i.C., C.J., N.R. and C.R.; project administration, A.M. and J.M.C.; funding acquisition, A.M. and J.M.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by grant PGC2018-101852-B-I00 awarded by the Spanish Research Agency. This publication was possible with the support of the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Empresa i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (2020 FISDU 00359; Ruiz-de-Villa, C.). C. Ruiz-de-Villa and J.M. Canals stage at University of Chile was financially supported by SC-RISE Grant vWISE from the European Union.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding authors.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank Alvaro Peña-Neira for the use of the facilities, Marcela Medel-Maraboli and Karinna Estay for their support with sensory analysis and Jokin Ezenarro for his support with Matlab 2022a software and pls toolbox 9.1.

**Conflicts of Interest:** The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## References

- Gutiérrez-Gamboa, G.; Zheng, W.; Martínez de Toda, F. Current Viticultural Techniques to Mitigate the Effects of Global Warming on Grape and Wine Quality: A Comprehensive Review. *Food Res. Int.* **2021**, *139*, 109946. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Jones, G.V.; White, M.A.; Cooper, O.R.; Storchmann, K. Climate Change and Global Wine Quality. *Clim. Chang.* **2005**, *73*, 319–343. [[CrossRef](#)]
- De Orduña, R.M. Climate Change Associated Effects on Grape and Wine Quality and Production. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 1844–1855. [[CrossRef](#)]
- Droulia, E.; Charalampopoulos, I. Future Climate Change Impacts on European Viticulture: A Review on Recent Scientific Advances. *Atmosphere* **2021**, *12*, 495. [[CrossRef](#)]
- Verdugo-Vásquez, N.; Orrego, R.; Gutiérrez-Gamboa, G.; Reyes, M.; Zurita Silva, A.; Balbontin, C.; Gaete, N.; Salazar-Parra, C. Trends and Climatic Variability in the Chilean Viticultural Production Zones: Three Decades of Climatic Data (1985–2015). *OENO One* **2023**, *57*, 345–362. [[CrossRef](#)]
- Elder, R.W.; Lawrence, B.; Ferguson, A.; Naimi, T.S.; Brewer, R.D.; Chattopadhyay, S.K.; Toomey, T.L.; Fielding, J.E. The Effectiveness of Tax Policy Interventions for Reducing Excessive Alcohol Consumption and Related Harms. *Am. J. Prev. Med.* **2010**, *38*, 217–229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Saliba, A.J.; Ovington, L.A.; Moran, C.C. Consumer Demand for Low-Alcohol Wine in an Australian Sample. *Int. J. Wine Res.* **2013**, *5*, 1–8. [[CrossRef](#)]
- Jolly, N.P.; Varsla, C.; Pretorius, I.S. Not Your Ordinary Yeast: Non-*Saccharomyces* Yeasts in Wine Production Uncovered. *FEMS Yeast Res.* **2014**, *14*, 215–237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hranilovic, A.; Gambetta, J.M.; Jeffery, D.W.; Grbin, P.R.; Jiranek, V. Lower-Alcohol Wines Produced by *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* Co-Fermentations: The Effect of Sequential Inoculation Timing. *Int. J. Food Microbiol.* **2020**, *329*, 108651. [[CrossRef](#)]
- Quirós, M.; Rojas, V.; González, R.; Morales, P. Selection of Non-*Saccharomyces* Yeast Strains for Reducing Alcohol Levels in Wine by Sugar Respiration. *Int. J. Food Microbiol.* **2014**, *181*, 85–91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Zhu, X.; Torija, M.J.; Mas, A.; Beltran, G.; Navarro, Y. Effect of a Multistarter Yeast Inoculum on Ethanol Reduction and Population Dynamics in Wine Fermentation. *Foods* **2021**, *10*, 623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Rolle, L.; Englezos, V.; Torchio, E.; Cravero, E.; Rio Segade, S.; Rantsiou, K.; Giacosa, S.; Gambuti, A.; Gerbi, V.; Coccolin, L. Alcohol Reduction in Red Wines by Technological and Microbiological Approaches: A Comparative Study. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2018**, *24*, 62–74. [[CrossRef](#)]
- Schmidtke, L.M.; Blackman, J.W.; Agboola, S.O. Production Technologies for Reduced Alcoholic Wines. *J. Food Sci.* **2012**, *77*, R25–R41. [[CrossRef](#)]
- Piccardo, D.; Gombau, J.; Pascual, O.; Vignault, A.; Pons, P.; Canals, J.M.; González-Neves, G.; Zamora, F. Influence of Two Pre-fermentative Treatments to Reduce the Ethanol Content and pH of Red Wines Obtained from Overripe Grapes. *Vitis* **2019**, *58*, 59–67. [[CrossRef](#)]
- Schelezkí, O.J.; Deloire, A.; Jeffery, D.W. Substitution or Dilution? Assessing Pre-Fermentative Water Implementation to Produce Lower Alcohol Shiraz Wines. *Molecules* **2020**, *25*, 2245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Schelezkí, O.J.; Antalick, G.; Šuklje, K.; Jeffery, D.W. Pre-Fermentation Approaches to Producing Lower Alcohol Wines from Cabernet Sauvignon and Shiraz: Implications for Wine Quality Based on Chemical and Sensory Analysis. *Food Chem.* **2020**, *309*, 125698. [[CrossRef](#)]

17. Teng, B.; Petrie, P.R.; Smith, P.A.; Bindon, K.A. Comparison of Water Addition and Early-Harvest Strategies to Decrease Alcohol Concentration in *Vitis Vinifera* Cv. Shiraz Wine: Impact on Wine Phenolics, Tannin Composition and Colour Properties. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2020**, *26*, 158–171. [\[CrossRef\]](#)
18. Gardner, J.M.; Walker, M.E.; Boss, P.K.; Jiranek, V. The Effect of Grape Juice Dilution and Complex Nutrient Addition on Oenological Fermentation and Wine Chemical Composition. *J. Food Compo. Anal.* **2022**, *105*, 104241. [\[CrossRef\]](#)
19. Xynas, B.; Barnes, C. Yeast or Water: Producing Wine with Lower Alcohol Levels in a Warming Climate: A Review. *J. Sci. Food Agric.* **2022**, *103*, 3249–3260. [\[CrossRef\]](#)
20. Ministry of Agriculture of Chile. *Amendment to Decree No. 78 of 1986 of the Ministry of Agriculture*; Leyes, reglamentos, decretos y resoluciones de orden general; Ministry of Agriculture of Chile: Santiago, Chile, 2019.
21. Sadras, V.O.; Petrie, P.R. Climate Shifts in South-Eastern Australia: Early Maturity of Chardonnay, Shiraz and Cabernet Sauvignon Is Associated with Early Onset Rather than Faster Ripening. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2011**, *17*, 199–205. [\[CrossRef\]](#)
22. OIV. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*, 2023rd ed.; International Organization of Vine and Wine (OIV): Dijon, France, 2022.
23. Übeda, C.; del Barrio-Galán, R.; Peña-Neira, A.; Medel-Maraboli, M.; Durán-Guerrero, E. Location Effects on the Aromatic Composition of Monovarietal Cv. Carignan Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **2017**, *68*, 390–399. [\[CrossRef\]](#)
24. Farzone, M.; Peña-Neira, A.; Gil, M.; Jofré, V.; Assof, M.; Zamora, F. Impact of Phenolic and Polysaccharidic Composition on Commercial Value of Argentinean Malbec and Cabernet Sauvignon Wines. *Food Res. Int.* **2012**, *45*, 402–414. [\[CrossRef\]](#)
25. Peña-Neira, A.; Coeres, A.; Pastenes, C. Low Molecular Weight Phenolic and Anthocyanin Composition of Grape Skins from Cv. Syrah (*Vitis Vinifera* L.) in the Maipo Valley (Chile): Effect of Clusters Thinning and Vineyard Yield. *Food Sci. Technol.* **2007**, *13*, 153–158. [\[CrossRef\]](#)
26. Golden, D.A.; Hartel, R.W.; Heymann, H.; Hotchkiss, J.H.; Johnson, M.G.; Montecalvo, J.; Nielsen, S.S.; Silva, J.L. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*, 2nd ed.; Food Science Text Series; Springer: New York, NY, USA, 2010. [\[CrossRef\]](#)
27. Roca-Mesa, H.; Sendra, S.; Mas, A.; Beltran, G.; Torija, M.J. Nitrogen Preferences during Alcoholic Fermentation of Different Non-Saccharomyces Yeasts of Oenological Interest. *Microorganisms* **2020**, *8*, 157. [\[CrossRef\]](#)
28. Morales, P.; Rojas, V.; Quirós, M.; Gonzalez, R. The Impact of Oxygen on the Final Alcohol Content of Wine Fermented by a Mixed Starter Culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 3993–4003. [\[CrossRef\]](#)
29. Contreras, A.; Hidalgo, C.; Henschke, P.A.; Chambers, P.J.; Curtin, C.; Varela, C. Evaluation of Non-Saccharomyces Yeasts for the Reduction of Alcohol Content in Wine. *Appl. Environ. Microbiol.* **2014**, *80*, 1670–1678. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. García, M.; Esteve-Zarzoso, B.; Cabellos, J.M.; Arroyo, T. Sequential Non-Saccharomyces and Saccharomyces cerevisiae Fermentations to Reduce the Alcohol Content in Wine. *Fermentation* **2020**, *6*, 60. [\[CrossRef\]](#)
31. Zhu, X.; Navarro, Y.; Mas, A.; Torija, M.J.; Beltran, G. A Rapid Method for Selecting Non-Saccharomyces Strains with a Low Ethanol Yield. *Microorganisms* **2020**, *8*, 658. [\[CrossRef\]](#)
32. Wang, C.; Mas, A.; Esteve-Zarzoso, B. The Interaction between Saccharomyces cerevisiae and Non-Saccharomyces Yeast during Alcoholic Fermentation Is Species and Strain Specific. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 502. [\[CrossRef\]](#)
33. Carpena, M.; Fraga-Corral, M.; Otero, P.; Nogueira, R.A.; Garcia-Oliveira, P.; Prieto, M.A.; Simal-Gandara, J. Secondary Aroma: Influence of Wine Microorganisms in Their Aroma Profile. *Foods* **2021**, *10*, 51. [\[CrossRef\]](#)
34. Padilla, B.; Gil, J.V.; Manzanares, P. Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 411. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Comitini, F.; Gobbi, M.; Domizio, P.; Romani, C.; Lencioni, L.; Mannazzu, L.; Ciani, M. Selected Non-Saccharomyces Wine Yeasts in Controlled Multistarter Fermentations with Saccharomyces cerevisiae. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 873–882. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Tronchoni, J.; Curiel, J.A.; Sáenz-Navajas, M.P.; Morales, P.; de-la-Fuente-Blanco, A.; Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Gonzalez, R. Aroma Profiling of an Aerated Fermentation of Natural Grape Must with Selected Yeast Strains at Pilot Scale. *Food Microbiol.* **2018**, *70*, 214–223. [\[CrossRef\]](#)
37. Balmaseda, A.; Rozès, N.; Leal, M.Á.; Bordons, A.; Reguant, C. Impact of Changes in Wine Composition Produced by Non-Saccharomyces on Malolactic Fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2021**, *337*, 108954. [\[CrossRef\]](#)
38. Edwards, C.G.; Beelman, R.B. Inhibition of the Malolactic Bacterium, *Leuconostoc oenos* (PSU-1), by Decanoic Acid and Subsequent Removal of the Inhibition by Yeast Ghosts. *Am. J. Enol. Vitic.* **1987**, *38*, 239–242. [\[CrossRef\]](#)
39. Capucho, I.; San Romão, M.V. Effect of Ethanol and Fatty Acids on Malolactic Activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1994**, *42*, 391–395. [\[CrossRef\]](#)
40. Giovani, G.; Rosi, I.; Bertuccioli, M. Quantification and Characterization of Cell Wall Polysaccharides Released by Non-Saccharomyces Yeast Strains during Alcoholic Fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2012**, *160*, 113–118. [\[CrossRef\]](#)
41. Domizio, P.; Liu, Y.; Bisson, L.F.; Barile, D. Use of Non-Saccharomyces Wine Yeasts as Novel Sources of Mannoproteins in Wine. *Food Microbiol.* **2014**, *43*, 5–15. [\[CrossRef\]](#)
42. García, M.; Apolinar-Valiente, R.; Williams, P.; Esteve-Zarzoso, B.; Arroyo, T.; Crespo, J.; Doco, T. Polysaccharides and Oligosaccharides Produced on Malvar Wines Elaborated with *Tonilaspura delbrueckii* CLI 918 and *Saccharomyces Cerevisiae* CLI 889 Native Yeasts from D.O. “Vinos de Madrid”. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*, 6656–6664. [\[CrossRef\]](#)
43. González-Royo, E.; Pascual, O.; Kontoudakis, N.; Esteruelas, M.; Esteve-Zarzoso, B.; Mas, A.; Canals, J.M.; Zamora, F. Oenological Consequences of Sequential Inoculation with Non-Saccharomyces Yeasts (*Tonilaspura delbrueckii* or *Metschnikowia Pulcherrima*) and *Saccharomyces cerevisiae* in Base Wine for Sparkling Wine Production. *Eur. Food Res. Technol.* **2015**, *240*, 999–1012. [\[CrossRef\]](#)

44. Schelezki, O.J.; Smith, P.A.; Hranilovic, A.; Bindon, K.A.; Jeffery, D.W. Comparison of Consecutive Harvests versus Blending Treatments to Produce Lower Alcohol Wines from Cabernet Sauvignon Grapes: Impact on Polysaccharide and Tannin Content and Composition. *Food Chem.* **2018**, *244*, 50–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Escribano-Viana, R.; Portu, J.; Garijo, P.; López, R.; Santamaría, P.; López-Alfaro, I.; Gutiérrez, A.R.; González-Arenzana, L. Effect of the Sequential Inoculation of Non-*Saccharomyces*/*Saccharomyces* on the Anthocyanins and Stilbenes Composition of Tempranillo Wines. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Sorrentino, A.; Boscaino, E.; Cozzolino, R.; Volpe, M.G.; Ionata, E.; La Cara, F. Autochthonous Fermentation Starters for the Production of Aglianico Wines. *Chem. Eng. Trans.* **2012**, *27*, 211–216. [[CrossRef](#)]
47. Belda, I.; Conchillo, L.B.; Ruiz, J.; Navascués, E.; Marquina, D.; Santos, A. Selection and Use of Pectinolytic Yeasts for Improving Clarification and Phenolic Extraction in Winemaking. *Int. J. Food Microbiol.* **2016**, *223*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Niimi, J.; Danner, L.; Li, L.; Bossan, H.; Bastian, S.E.P. Wine Consumers' Subjective Responses to Wine Mouthfeel and Understanding of Wine Body. *Food Res. Int.* **2017**, *99*, 115–122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.