



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA APLICADA

**“CARACTERÍSTICAS DE VINOS TINTOS PINOT NOIR, PRODUCIDOS CON
CEPAS AUTOCTONAS DE *Saccharomyces cerevisiae* AISLADAS DEL
VALLE DEL MAULE”**

Profesor Patrocinante:
José Mario Romero Reyes
Departamento de Ciencia de los
Alimentos y Tecnología Química
Universidad de Chile.

Directores de Memoria:
Pedro Carriles Cobos
Area Manager Lallemand Chile

Luis López Valladares
Departamento de Ciencia de los
Alimentos y Tecnología Química
Universidad de Chile

ÁNJELA SEPÚLVEDA SOTO
MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS
Santiago, 2009

DEDICATORIA

A mis padres y Cristián

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor guía José Mario Romero y a mi director de tesis Luis López, por los conocimientos entregados, calidez y alegría.

A don Oscar, por su gran ayuda en la preparación del material.

A mis amigas y compañeras de laboratorio, María José Novoa y María José Castañón, por su amistad y compañía.

A Carmen Ide, por su cariño.

A mis tíos, Ricardo, Verónica, Patricia, Juan Emilio, Cecilia y Marcelo, por su apoyo y cariño, son los mejores.

A mis tatas, Eduardo e Hilda, por su amor y apoyo que me han entregado toda la vida, son el primer eslabón de mi ser.

A mis padres, Aída y Raúl, pilares fundamentales en mi vida, éste también es su logro.
A mis hermanos Javiera y Eduardo, por su compañía y entusiasmo, por brindarme alegría con su solo recuerdo.

Y a Cristián, por estos años de completa alegría, por su amor, confianza, paciencia, empuje y apoyo incondicional.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	v
SUMMARY	vi
Capítulo I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes Generales	1
1.1.1 Descripción General Levaduras y Fermentación Alcohólica	3
1.1.2 El Vino	8
1.1.3 Evaluación Sensorial	16
1.2 Objetivos	17
1.2.1 Objetivo General	17
1.2.2 Objetivo Específicos	17
CAPITULO II MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 Materia Prima	18
2.1.1 Uva	18
2.1.2 Cepas de levadura	18
2.3 Materiales	19
2.3.1 Materiales y Equipos	19
2.3.2 Reactivos químicos	19
2.3.3 Enzimas	20
2.4 Métodos.....	20
2.4.1 Mantenición de las cepas de levaduras UCH-M ₃ y UCH-M ₄	20
2.4.2 Procedimiento de Microvinificaciones a nivel de laboratorio	21
2.4.3 Determinación de azúcar.	23
2.4.4 Determinación del pH.	23
2.4.5 Producción de CO ₂	24
2.4.6 Grado alcohólico	24
2.4.7 Acidez total	24
2.4.8 Acidez volátil	24
2.4.9 Anhídrido sulfuroso (SO ₂)	24
2.4.10 Polifenoles totales	25
2.4.11 Capacidad Antioxidante	25
2.4.12 Evaluación del color	26
2.4.13 Evaluación sensorial	26
CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIONES	27
3.1 Mantenición de las cepas de levaduras UCH-M₃ y UCH-M₄	27
3.2 Procedimiento de microvinificaciones a nivel de laboratorio	27
3.3 Control del Proceso de Fermentación.....	27
3.3.1 Determinación de Azúcar en el Mosto	27
3.3.2 Determinación del pH	29
3.3.3 Determinación de la producción de CO ₂	30
3.3.4 Determinación del factor de rendimiento Y s/p	31
3.4 Determinación de las Características del Producto Final.....	32
3.4.1 Grado alcohólico	32
3.4.2 Acidez total	33

3.4.3 Acidez volátil	34
3.4.4 Determinación de Anhídrido Sulfuroso	35
3.4.5 Color	36
3.4.5.1 Evaluación del color por espectrofotometría	36
3.4.5.2 Intensidad Colorante	36
3.4.5.3 Matiz	37
3.4.6 Polifenoles totales	38
3.4.7 Capacidad Antioxidante	39
3.5 Evaluación Sensorial	40
BIBLIOGRAFIA	49
ANEXOS	55

INDICE DE TABLAS

Tabla nº 1: Cantidades máximas permitidas de anhídrido sulfuroso en vinos	9
Tabla nº 2 Medio basal YEPD	20
Tabla nº 3 Azúcares reductores presentes en el vino	29
Tabla nº 4 Medida del pH al inicio y al final de la fermentación	29
Tabla nº 5 Factores de rendimiento	31
Tabla nº 6 Grado Alcohólico de los Vinos	32
Tabla nº 7 Acidez Total	33
Tabla nº 8 Acidez Volátil	34
Tabla nº 9 Anhídrido Sulfuroso Libre	35
Tabla nº 10 Anhídrido Sulfuroso Total	35
Tabla nº 11 Intensidad Colorante	36
Tabla nº 12 Matiz	37
Tabla nº 13 Concentración de Polifenoles	38
Tabla nº 14: Capacidad Antioxidante	39
Tabla nº 15 Diferencias significativas entre jueces y entre muestras	40
Tabla nº 16 Evaluación del aroma	46

INDICE DE FIGURAS

Figura nº 1. Cinética de crecimiento de levaduras	4
Figura nº 2. Imagen microscópica de células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	6
Figura nº 3. Compuestos fenólicos no flavonoides	11
Figura nº 4. Estructura básica de polifenoles flavonoides	12
Figura nº 5. Ubicación de los antocianos en las células del hollejo cercanas a la epidermis	15
Figura nº 6. Niveles de sólidos solubles en el mosto	28
Figura nº 7. Producción de CO ₂	30
Figura nº 8 Curvas obtenidas por espectrofotometría	36

RESUMEN

Se obtuvo vino tinto a partir de uvas viníferas variedad *Pinot Noir* por medio de fermentación con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* UCH-M₄ y UCH - M₃, seleccionadas del Valle del Maule, Área de San Javier, Región del Maule, Chile.

Los vinos presentaron valores de pH, acidez total, acidez volátil, anhídrido sulfuroso total, anhídrido sulfuroso libre, grado alcohólico y rendimiento dentro de las normas legales chilenas y conceptuales, siendo muy similares a los obtenidos por la levadura control Lalvin QA23. La velocidad de fermentación fue muy similar en todas las cepas de levaduras.

Los mostos fermentados con la levadura UCH – M₃ seca presentaron la mayor concentración de polifenoles totales. La capacidad antioxidante de los polifenoles de los mostos fermentados con levadura UCH – M₄ fue mayor que la de los demás mostos, pese a tener una menor cantidad de polifenoles totales. Por lo tanto se determinó que la actividad antioxidante de los polifenoles no tiene relación con la concentración de éstos, si no que tiene que ver con la calidad del polifenol.

El color de todos los vinos fue evaluado como rojo rubí, y sus matices e intensidades colorantes correspondieron a vinos tintos de un año.

En la evaluación sensorial, los vinos no presentaron diferencias estadísticamente significativas, siendo calificados en general con buena apariencia, poco dulces, acidez y astringencia normal y de buen sabor. El aroma fue calificado como normal, predominando las frutas ácidas y los berries, así como también el olor a alcohol. Respecto a la calidad general, los vinos se evaluaron por sobre la calificación “ni bueno ni malo”.

Con esta investigación se concluyó que las cepas UCH-M₃ y UCH-M₄ pueden ser utilizadas en la producción industrial de vinos tintos *Pinot Noir*.

CHARACTERISTICS OF PINOT NOIR RED WINES, OBTAINED WITH INDIGENOUS STRAINS OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* FROM THE MAULE VALLEY

SUMMARY

Red wine from Pinot Noir wine grapes strains was obtained through fermentation process using two strains of *Saccharomyces cerevisiae* (UCH-M3 and UCH-M4). The strains were obtained from the Maule Valley, Area of San Javier, Maule Region, Chile.

The wine parameters such as pH, total acidity, volatile acidity, total sulfur dioxide, sulfur dioxide-free, alcohol content and performance meet the Chilean legal regulations and conceptual characteristics. The results were similar to those obtained by using the QA23 control yeast. The rate of fermentation was very similar for all yeast strains.

The highest concentration of polyphenols was obtained when the UCH - dry M3 yeast was used. The antioxidant capacity of the musts fermented with yeast UCH - M4 was greater than the others, in spite of a lower content of total polyphenols. Therefore, the antioxidant activity of polyphenols is not related with its concentration, but with the quality of polyphenol.

The color of all wines was evaluated as ruby red, and hues and color intensities were similar to one year old red wines. The sensory evaluation showed no significant differences between wines. The evaluation gave as result good appearance, low sweetness, normal acidity and astringency and good taste. The aroma was found normal with marked acid fruits and berries flavour, as well as alcohol odour. The overall quality of wines was evaluated above the score of "neither good nor bad".

With this research it can be concluded that the UCH-M₃ and UCH-M₄ strains can be used for the production of industrial *Pinot Noir* wines.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes Generales

La historia de la vid y el vino está ligada a los comienzos de la Humanidad, aunque no puede determinarse la fecha exacta de su aparición en la Tierra, parece haber existido junto con el trigo, la cebada, el lino y el algodón, como una de las primeras plantas cultivadas por las poblaciones antiguas (Lakner y cols., 2000).

Con Pasteur puede decirse que nació la Enología moderna, combinación de la Biología y la Química aplicada al estudio del vino. Hoy en día el vino no se hace en los laboratorios, pero si se estudia y se analiza en ellos (Aleixandre, 1997).

En 1858, Louis Pasteur demostró que las levaduras eran las responsables de la fermentación alcohólica del mosto y que ciertas especies de bacterias eran causantes del deterioro de los vinos (Regodón, 1996).

La fermentación alcohólica constituye la etapa fundamental en la elaboración de vinos, la cual es llevada a cabo por hongos microscópicos del género *Saccharomyces* (del latín *saccharo* = azúcar y *myces* = hongo) que comúnmente reciben el nombre de levaduras (Mac Kay, 2009).

Durante esta etapa las levaduras transforman los azúcares del mosto de uva en etanol, CO₂ y compuestos secundarios que contribuyen a la composición química y calidad sensorial del vino (Life Sinergia, 2006).

Las levaduras le confieren al vino características sobre la complejidad aromática, redondez, acidez, color, etc., tanto durante la fermentación como en la crianza del vino.

La uva posee en su superficie diferentes tipos de levaduras y otros microorganismos. Sin embargo estas levaduras nativas son de resultados impredecibles, por lo que en la vinificación ha sido necesaria la utilización de levaduras seleccionadas.

Esta es una técnica enológica utilizada en los últimos años con el fin de controlar la población de levaduras indígenas que tradicionalmente dirigían el proceso, puesto que la población microbiana protagonista de la fermentación alcohólica va a condicionar notablemente la calidad del producto final (Gutiérrez, 1995).

A pesar que se mantenga la identidad propia de la región dada por las características de la vid, el suelo, clima, mano de obra y de las ventajas que tiene la utilización de las levaduras seleccionadas, cada día aumenta la reticencia a su utilización, ya que estas levaduras son foráneas, aisladas en zonas vitivinícolas alejadas y le ceden al vino parámetros enológicos, al menos cuantitativamente distintos (Bravo, 1991).

Una levadura para ser seleccionada debe poseer ciertas características, como producir fermentaciones vigorosas, reproducibles, predecibles y con baja concentración de azúcar residual, debe poseer buena tolerancia al etanol, a la temperatura y al anhídrido sulfuroso, que produzca un buen perfil aromático exento de aromas no deseados y que flocule y sedimente espontáneamente para que sea fácil de eliminar una vez finalizado el proceso. (Gil, 2009)

Este proyecto busca determinar los parámetros de fermentación y las características de vinos tintos de variedad *Pinot Noir* obtenidos a partir de dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (UCH-M₃ y UCH-M₄) autóctonas, provenientes de la región del valle del Maule, Chile.

Estas dos cepas son de distinto cariotipo, ambas son fenotipo killer neutro con buena capacidad floculante y altamente resistentes al alcohol (Morales, 2005).

Estas cepas de levaduras han sido probadas en producción de vinos blancos e hidromieles, ahora se busca probarlas en mostos de uvas tintas y así caracterizarlas y

observar su comportamiento en ellas. Además serán comparadas sensorialmente con la levadura Lalvin QA23, una cepa utilizada comercialmente.

Las levaduras fueron aisladas y caracterizadas en el Laboratorio de Microbiología Aplicada de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile (Morales, 2005) y la investigación fue patrocinada por la empresa Lallemand Inc. Chile.

1.1.1 Descripción General Levaduras y Fermentación Alcohólica

1.1.1.1 Descripción General Levaduras

Las levaduras son organismos unicelulares anaeróbicos facultativos, lo cual significa que pueden vivir sin oxígeno (Case, 2009).

En condiciones de aerobiosis las levaduras se multiplican abundantemente con un rendimiento en biomasa muy alto (Olivero, 2006). En un medio anaeróbico el metabolismo de las levaduras se desvía a la producción de alcohol.

Las levaduras se encuentran en la superficie de frutas y verduras y pueden ser transportadas por el viento, insectos y animales; cuando se encuentran en un medio favorable pueden crecer y reproducirse. El jugo de uva madura presenta las condiciones propicias para el crecimiento de este microorganismo y desarrollo de sus actividades que implica el proceso conocido como fermentación (Suárez, 1997).

1.1.1.2 Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica consiste en la conversión de azúcares en anhídrido carbónico y etanol y se representa mediante la siguiente ecuación:



En el caso de la industria vinícola el líquido transformado es el mosto (jugo de uvas) que posee entre 200 y 250 g de azúcares por litro. Estos azúcares pueden encontrarse básicamente en forma de monosacáridos, ya sea como glucosa o como fructosa.

Saccharomyces cerevisiae es la especie de levadura usada con más frecuencia en la fermentación. Estas cepas son multiplicadas a escala industrial (Lallemand, 2009) y luego son secadas en secadores de aire aclimatado a baja humedad y temperaturas controladas.

Durante la fermentación alcohólica realizada en condiciones de vinificación, pueden observarse distintas fases (Mac Kay, 2009).

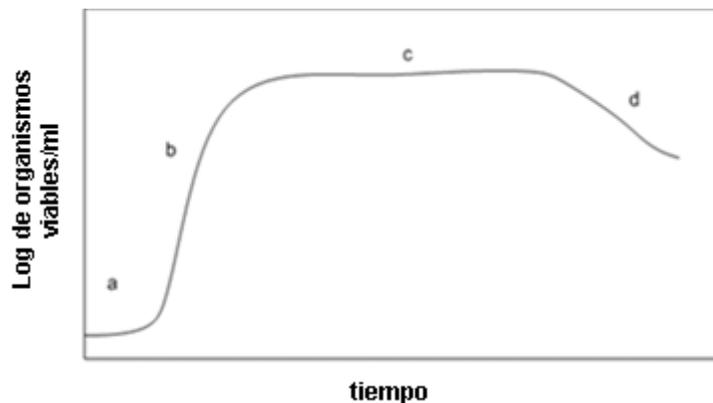


Figura nº 1. Cinética de crecimiento de levaduras (curva teórica).

- a) Fase lag: al inocular la levadura en un medio fresco, no inicia su crecimiento de forma inmediata, sino luego de un tiempo de latencia, que puede ser breve o largo dependiendo de las condiciones del medio. Esta es una fase de adaptación de la levadura al medio, donde aumenta la masa celular pero no el número de células.

- b) Fase exponencial: En esta fase las levaduras crecen a velocidad exponencial constante, lo que significa que en el mismo intervalo de tiempo (tiempo de duplicación) se dobla el número de células o la masa celular.
- c) Fase estacionaria: el crecimiento exponencial de las células cesa por el agotamiento de nutrientes indispensables, o por la producción en el medio de elementos de desecho que inhiben el crecimiento de las células de levadura. En esta fase no hay incremento ni decrecimiento de la cantidad de células, pero las funciones celulares continúan, la producción de metabolitos secundarios es realizada en su mayor parte en esta fase.
- d) Fase de muerte: durante esta fase el conteo microscópico de las células disminuye lentamente, y la viabilidad de las células disminuye. En esta etapa se produce lisis celular.

A pesar de parecer, a nivel estequiométrico, una transformación simple, la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de dióxido de carbono es un proceso muy complejo (Vásquez y col., 2007).

1.1.1.2.1 Condiciones para la Fermentación Alcohólica

Entre los factores que influyen en la fermentación alcohólica están:

- Temperatura. Factor primordial para la vida de las levaduras, éstas se desarrollan entre los 13° y 30° C como máximo. La temperatura ideal para la vinificación de tintos es entre 20 y 30° C, y para vinos blancos entre 15 y 20° C.
- Azúcar. En el mosto de uva se encuentran fácilmente satisfechas las necesidades de azúcar y minerales para las levaduras.
- Sustancias nitrogenadas. Un nivel adecuado de nitrógeno es fundamental para un buen desarrollo de la fermentación, sin embargo, su disponibilidad presenta

diferencias entre los mostos, por lo que es necesario adicionar fosfato diamónico para satisfacer las necesidades de las levaduras.

- pH. Las levaduras fermentan mejor en un medio medianamente ácido (5 a 6) (Mundo Biológico, 2009)

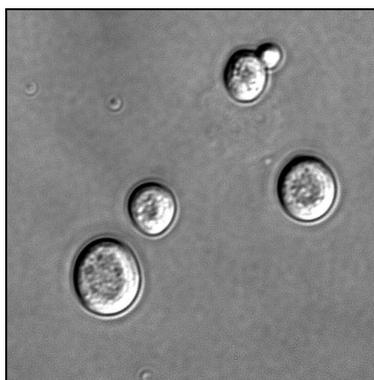
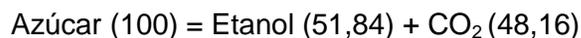


Figura nº 2. Imagen microscópica de células de *Saccharomyces cerevisiae*. (Model Organisms, 2008).

1.1.1.3 Factor de rendimiento Y s/p

Este factor permite conocer cuánto sustrato necesita la levadura para producir una cierta cantidad de producto, pero para poder entenderlo hay que saber que el mosto de uva en el proceso de fermentación responde al esquema simplista de Lavoisier cuantificado por Gay-Lussac, mediante el cual el azúcar se transforma en alcohol y anhídrido carbónico.



Este esquema está expresado en porcentaje, pero también se puede expresar por los pesos moleculares.



Pasteur estableció que la ecuación de Gay-Lussac es válida para el 90% de azúcar transformado, el resto da a lugar a otras sustancias como glicerol, ácido acético, y ácido succínico.

La ecuación al ser efectiva para el rendimiento del 90% del azúcar, presenta que

$$0,9 \times \text{Glucosa (180 g)} = 0,9 \times \text{Etanol (92 g)}$$

$$\text{Glucosa (162 g)} = \text{Etanol (82,8 g)}$$

Se puede deducir que el rendimiento práctico es

$$\text{Glucosa (1 g)} = \text{Etanol (0,46 g)} = 0,0575 \text{ grados alcohólicos}$$

Por lo tanto los factores de rendimiento $Y_{p/s}$, que cuantifican el proceso como g de producto formado / g de sustrato consumido, en este caso g etanol / g de glucosa son:

$$Y_{p/s} = 0,46 \quad Y_{p/s} = 0,0575$$

Pero en vinificación se emplea el inverso obteniendo lo siguiente:

$$Y_{s/p} = 2,17 \quad Y_{s/p} = 17,4$$

Por lo tanto para producir 1 g/L de Etanol se consumen 2,17 g/L de Glucosa, o bien para producir 1º alcohólico se consumen 17,4 g de azúcar.

1.1.2 El Vino

Vino es el producto de la fermentación alcohólica del mosto o zumo de uvas de la especie *Vitis vinífera* (Ley 18455).

Entre los factores a considerar en el vino se encuentran:

- Grado alcohólico: El contenido de alcohol en los vinos se expresa como grado alcohólico, que indica los litros de alcohol etílico puro contenidos en 100 litros de vino, así 1 grado alcohólico corresponde a 1 ml de alcohol puro en 100 ml de vino, para aplicaciones prácticas se puede aplicar : $\text{g/litro alcohol} = \text{grado alcohólico} \times 8$.

La normativa chilena según la ley 18.455 artículo 36 indica para el vino envasado, para ser expendido y destinado al consumo directo debe tener una graduación mínima de 11,5 grados alcohólicos, con un máximo de 1,5 gramos de acidez volátil por litro.

- Acidez total: No existe un límite por la regulación chilena, por lo tanto un vino de alta acidez es un vino verde, duro, y un vino de baja acidez es un vino neutro e insípido. La acidez total se encuentra en el rango entre 3 – 7 g de ácido tartárico /L.

- Acidez volátil: Son el conjunto de ácidos formados en la fermentación o por alteraciones microbianas, y son principalmente de la serie acética como: ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico. Se denominan volátiles porque tienen un punto de ebullición bajo. Según el reglamento alcohólico la acidez volátil no debe ser superior a 1,5 g/L expresado en ácido acético (Bordeu y cols, 2000), superior a esto se considera como vinagre. Los ácidos volátiles son producto de la fermentación alcohólica, maloláctica, y por alteraciones bacterianas (bacterias acéticas) que con el contacto con el aire oxidan el alcohol a ácido acético, por lo que se deben realizar fermentaciones adecuadas para obtener la menor cantidad de ellos ya que no pueden ser eliminados.

- Anhídrido sulfuroso (SO₂): El anhídrido sulfuroso es agregado al mosto y al vino, cuya función es inhibir levaduras y bacterias, prevenir la oxidación y evitar el pardeamiento (Bordeu y cols, 2000).

Las cantidades máximas permitidas en vinos se indican en la siguiente tabla:

Tabla nº 1: Cantidades máximas permitidas de anhídrido sulfuroso en vinos

Anhídrido sulfuroso	Libre	Total
Vino seco	75 mg/L	300 mg/L
Vino dulce	100 mg/L	400 mg/L

1.1.2.1 Cepas de Uvas

Existen diferentes cepas de uvas que presentan diferentes características que influyen en el color, aroma y sabor de los vinos. Entre las tintas se encuentran Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Carmenère, Syrah y entre las cepas para producir vinos blancos se encuentran Chardonnay y Sauvignon Blanc, entre otras.

En Chile de la superficie total destinada a vinificación, el 76% corresponde a cepajes tintos y el 24% a blancos, representado mayoritariamente por las variedades Cabernet Sauvignon y Chardonnay, respectivamente (Müller, 2004).

1.1.2.2 Pinot Noir

El *Pinot Noir* es una cepa originaria de Borgoña, Francia, que se caracteriza por su estructura taninosa baja, de cuerpo medio que despierta sensaciones refinadas y sutiles en boca. La característica de los productos nacionales en comparación a los franceses, es que los chilenos son más livianos.

Los aromas característicos de este vino son a frutas rojas y negras como cereza, moras, frambuesa, ciruela, entre los más destacados y a flores como rosas.

A la vista, es un vino que tiene una luminosidad especial, su color varía según su edad: de un rojo rubí o violeta cuando es joven, a un anaranjado ocre, después de 8 a 10 años de guarda.

En boca poseen baja cantidad de taninos y acidez lo que hace que se pueda apreciar con mayor nitidez la presencia de sabores a frutilla, arándanos, ciruelas, cerezas y rosas (Mundo Biológico, 2009).

1.1.2.3 Vinificación

La vinificación es el proceso que transforma el zumo de uvas en vino, al producirse la fermentación mediante la acción de las levaduras. Este fenómeno de la fermentación, convierte los azúcares que contiene el jugo de uva, en alcohol.

La vinificación puede ser en tinto o en blanco. La primera se realiza haciendo fermentar uvas tintas con su orujo, ya que es en éste en el que se encuentra la pigmentación que da el color rojo al vino. Si se hace fermentar el zumo de uvas sin orujos, sean uvas blancas o tintas, el vino resultante es blanco (Simunovic, 1999).

1.1.2.3.1 Elaboración de Vinos Tintos

La uva se vendimia una vez alcanzado el índice de madurez apropiado, el cual expresa el estado de madurez de la uva relacionando sus componentes. Se realizan análisis fisicoquímicos para determinar la madurez de la baya. La relación azúcares/acidez es la más simple y la más significativa.

La uva se transporta a la bodega donde se descarga en las tolvas de recepción; un tornillo sinfín de alimentación transporta la uva a la estrujadora-despalilladora. La uva estrujada y despalillada se encuba en los depósitos de fermentación, produciéndose la fermentación alcohólica. Terminada la misma, el vino pierde temperatura y se precipitan al fondo del depósito los elementos sólidos. Es el momento del descube y

trasiego a los depósitos de almacenamiento donde tienen lugar las operaciones de clarificación y filtración.

Existen diferentes tipos de filtración; por tierras, sobre placas, por membranas. Entre los procedimientos de filtración por membranas se encuentra; la ultrafiltración, la filtración tangencial y la osmosis inversa.

El vino se deja en reposo, obteniéndose finalmente, el vino tinto. A su vez, los orujos obtenidos se prensan obteniéndose el vino prensa (Aleixandre, 1999).

1.1.2.4 Compuestos Fenólicos en el Vino

Los compuestos fenólicos son componentes muy importantes del vino puesto que contribuyen en gran medida a sus características sensoriales, como por ejemplo en el color, aroma y astringencia.

Los compuestos fenólicos se clasifican en no flavonoides y flavonoides. Bajo la denominación de no flavonoides se encuentran los ácidos fenoles (benzoico y cinámico) y otros derivados fenólicos como los estilbenos.

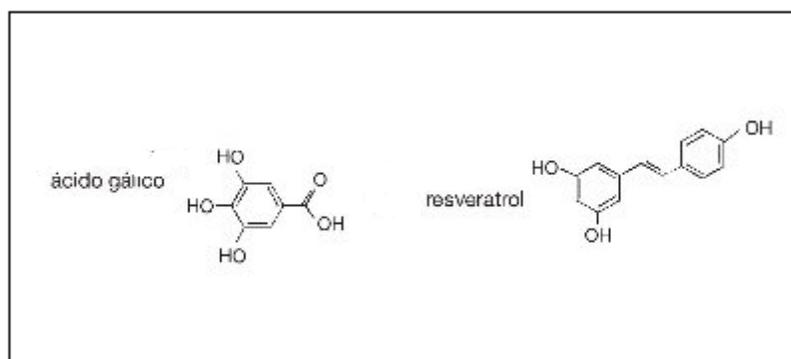


Figura nº 3. Compuestos fenólicos no flavonoides (Bravo, 1998)

Entre los flavonoides se encuentran las antocianinas (malvidol y peonidol) que dan el color a los vinos tintos, los taninos (catequina y epicatequina) principales responsables

de la astringencia y de la estructura de los vinos, y los flavonoles (quercetol, miricetol) que contribuyen al gusto amargo (Ojeda, 2007).

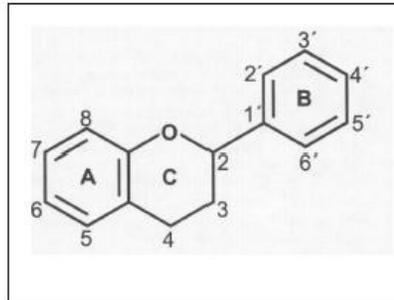


Figura nº 4. Estructura básica de polifenoles flavonoides (Bravo, 1998)

La composición fenólica del vino depende del tipo de uva utilizada para la vinificación, de la extracción, de los procesos utilizados durante la elaboración del vino y de las reacciones químicas que ocurren durante el envejecimiento del vino.

Depende de numerosos factores entre los que se encuentran la variedad de uva (blanca o tinta), el modo de estrujado, la posible inclusión o eliminación antes de la fermentación de los hollejos, semillas y pulpa de la uva (especialmente en las variedades tintas), el tipo de vinificación (temperatura y tiempo de maceración) y el envejecimiento. Un mayor tiempo de fermentación con los hollejos, semillas y pulpa permite la extracción de un mayor número de compuestos fenólicos al vino porque el etanol producido actúa como un solvente para la extracción de los fenoles. La composición fenólica también se modifica durante la fermentación por la actividad de las levaduras las cuales son capaces de metabolizar algunos de los compuestos fenólicos presentes. Y en último término, el contacto del mosto y del vino con la barrica de madera también contribuye a la presencia de compuestos fenólicos en el vino. Así, algunos fenoles sencillos, como flavonoides y taninos hidrolizables son extraídos de la madera al vino. Otro efecto es que agrega sabor y aroma: a vainilla, coco, chocolate, tostado, humo, tabaco, caramelo, y café según sea el tostado de la madera. Los altos precios de las barricas, presupuestos restringidos, altos volúmenes de producción y el uso de estanques de acero inoxidable, han llevado a que el uso de barricas disminuya

y se reserve sólo para aquellos casos que lo ameriten. Un producto alternativo a las barricas es el uso de chips, cubitos y duelas de roble que se utilizan para lograr el efecto de una barrica pero a un coste muy inferior (Rodríguez y cols, 2009).

Los compuestos fenólicos son los responsables de importantes características organolépticas de los vinos, los taninos y antocianos juegan un papel fundamental.

Las propiedades reductoras de los compuestos fenólicos les permiten actuar como antioxidantes enérgicos, incluso a dosis bajas.

Los antioxidantes son sustancias que captan y reaccionan con los radicales libres atenuando sus efectos nocivos. (Molina y cols., 2001)

Los radicales libres son altamente reactivos y por ello generan daños oxidativos sobre componentes celulares y extracelulares, comprometiendo así la función normal de los tejidos. (Echeverry y cols., 2009)

En el organismo, el contenido y la actividad de los antioxidantes en los tejidos, están entre los factores endógenos más importantes de la regulación del metabolismo y vitalidad de las células, especialmente en lo que se refiere a degeneración maligna de las células. (Aleixandre, 1997)

En vinos, los principales compuestos fenólicos son el ácido cafeico, epicatequina, catequina, ácido gálico, cianidina, malvidina-3-glucósido, rutina, miricetina, quercetina, resveratrol. Estos fenoles, además de contribuir a las características organolépticas del vino, poseen en mayor o en menor grado propiedades antioxidantes (Llano y cols, 2002).

1.1.2.5 Color del vino

El color es una de las primeras características de un vino que puede ser apreciada por el consumidor y es un atributo importante, porque puede ser utilizado, junto con otras variables, como un indicador de la calidad.

Los compuestos responsables son los Antocianos que son los pigmentos colorantes de las uvas tintas, dependiendo la intensidad del color de la acidez del medio. Son rojos en medio ácido y azules en medio neutro o alcalinos (Aleixandre, 1997). Estos compuestos son muy reactivos, y desde las primeras etapas de la vinificación interaccionan con otros compuestos. Como resultado de estos fenómenos el color de los vinos tintos envejecidos se debe casi exclusivamente a compuestos fenólicos poliméricos (González-Neves y cols, 2008).

Los Taninos son, generalmente, incoloros o amarillo pálido y determinan características sensoriales tan importantes como el amargor, la astringencia y la estabilidad del color (Peña, 2006b).

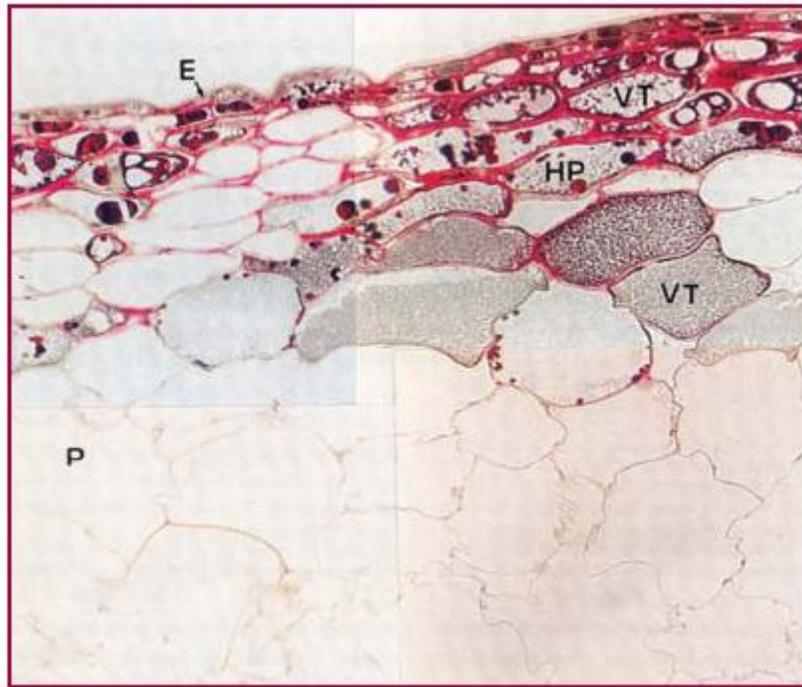


Figura nº 5. Ubicación de los antocianos en las células del hollejo cercanas a la epidermis (E: epidermis; VT: vacuola tánica; P: pulpa)

Entre los factores que inciden en la composición fenólica, y por lo tanto en el color de los vinos, pueden considerarse los que inciden sobre la composición de la uva y los que inciden en los procesos de vinificación y conservación de los vinos.

El uso de levaduras seleccionadas es un factor enológico que podría influir por:

1. Adsorción de los antocianos en la pared celular de la levadura.
2. Extracción de los componentes fenólicos.
3. Liberación de polisacáridos.

(Lallemand, 2004)

El color del vino informa sobre el cuerpo, la edad y de su estado. Un vino de color intenso se traduce en un vino con cuerpo, un vino con poca intensidad de color seguramente será ligero y suave. El matiz o tono da información del grado de evolución del vino, ya que a lo largo de su vida, éste va tomando matices que son específicos de

su evolución. Un mismo vino tiene diferente color según la fase en que se encuentre, ya sea de juventud o de envejecimiento (Aleixandre, 1997).

Si el vino tinto presenta un color rojo vivo o morado con matices granates, se trata de un joven. Los vinos viejos se caracterizan por los tonos amarillos o tejas, ya que pierden intensidad de color y cuerpo debido al envejecimiento.

La intensidad y el matiz del vino se pueden determinar por espectrofotometría. El vino tinto se mide a 420, 520 y 620 nanómetros. La suma de las absorbancias medidas entregan la intensidad del color y la relación de las absorbancias medidas a 420 y 520 nanómetros expresan el matiz (Peynaud y cols., 1996).

1.1.3 Evaluación Sensorial

1.1.3.1 Cata y Degustación

Degustar es apreciar, por el gusto y el sabor, las cualidades de un alimento. Cuando la degustación es detallada e intervienen los sentidos se llama análisis sensorial. Este tipo de análisis está definido como el conjunto de métodos y de técnicas que permiten identificar, percibir y apreciar, a través de los órganos de los sentidos, un cierto número de propiedades.

La cata es la degustación técnica de un producto. Se define como la operación de experimentar, analizar y apreciar los caracteres organolépticos de un producto. Catar es probar con atención un producto cuya calidad se quiere apreciar, enseña el dominio y el buen uso de los sentidos.

El análisis químico es un complemento del análisis sensorial. Permite asegurar que ciertos compuestos, que no son reconocibles en la degustación, están presentes o ausentes en el vino. Constituye el marco legal de protección de la salud del consumidor, por lo que no puede separarse del análisis sensorial. (Aleixandre, 1997).

En los últimos años han surgido nuevas técnicas que se están utilizando en análisis de vinos. Un ejemplo es la olfactometría, método por el cual se utiliza un cromatógrafo de gases el cual se divide en un detector químico y un detector olfatométrico que consiste en medición humana, donde panelistas entrenados miden las muestras por medio de una salida del instrumento, que es una manga adaptada que posee una máscara nasal que se utiliza para poner la nariz. Se inyecta la muestra de vino y se produce una deconstrucción aromática de la muestra lo que se utiliza para realizar una correlación entre el compuesto químico y su descriptor aromático asociado. (Espinoza, 2009)

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Obtención de vino tinto a partir de uvas viníferas (*Vitis vinífera L.*), variedad *Pinot Noir* por medio de fermentación con cepas autóctonas de *Saccharomyces cerevisiae* UCH-M₄ y UCH - M₃, seleccionadas del Valle del Maule, Área de San Javier, Región del Maule, Chile.

1.2.2 Objetivo Específicos

- Realizar microvinificaciones a nivel de laboratorio con mosto de uva variedad *Pinot Noir* fermentado con 2 cepas de *Saccharomyces cerevisiae* UCH-M₄ en crema, UCH-M₃ en crema y seca. Se utilizó como control la cepa Lalvin QA 23.
- Controlar los procesos fermentativos determinando: producción de CO₂, grados Brix y pH.
- Evaluar características finales del vino determinando: acidez volátil, acidez total, grado alcohólico y anhídrido sulfuroso.
- Determinar polifenoles totales en el vino y su capacidad antioxidante.
- Determinar y evaluar el color del vino.
- Realizar evaluación sensorial (cata) de los productos.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia Prima

2.1.1 Uva

Se utilizó uva variedad *Pinot Noir*, la cual se cosechó en el Fundo Mundo Nuevo del Valle de Casablanca. La uva se prensó y el total obtenido se dispuso en bolsas Ziploc[®] y se conservó congelado a -18° C.

2.1.2 Cepas de levadura

Las levaduras utilizadas fueron *Saccharomyces cerevisiae* UCH-M₃ y UCH-M₄, autóctonas, provenientes del valle del Maule, Zona de Loncomilla, área de San Javier. Estas levaduras fueron seleccionadas, caracterizadas y aportadas por el laboratorio de Microbiología Aplicada de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile y la Empresa Lallemand Inc. Chile Ltda.

Como cepa control se utilizó la levadura Lalvin QA23 de la Empresa Lallemand Inc. Chile Ltda., que se utiliza para fermentar uvas blancas como Sauvignon Blanc y uvas tintas como Merlot y Pinot Noir (Lallemand, 2009)

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Microbiología Aplicada y la evaluación sensorial en el laboratorio de Evaluación Sensorial, ambos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

2.3 Materiales

Los materiales, equipos y reactivos químicos utilizados para cada etapa fueron los siguientes:

2.3.1 Materiales y Equipos

- Densímetro Ambrus Gamma N° 1.072, (0,700-1,000), Chile.
- Termómetro de varilla, marca Brand (0 - 250 °C), UK.
- Balanza analítica Adam PW 124, máximo 120 g, d= 0,0001 g., UK.
- Refractómetro Cole Parmer Instrument, HSR-500, 90% ° Brix, Japón
- Contador de Colonias Brunswick Scientific C.O., C – 110, USA.
- Autoclave KSG 112, Alemania.
- Estufa con Control de Temperatura Kottermann D 3165 (0 – 120 °C), Alemania.
- Manto Calefactor Lab Tech
- pH – metro digital Hanna Instruments HI 111, pH ORP meter (0,1 pH), Rumania
- Baño Termoregulado Arquimed YCW-03S
- Espectrofotómetro Unicam UV 3
- Microondas Global Home GH – 20RC, China.
- Vortex Vision Scientific Company Ltda. Corea

2.3.2 Reactivos químicos

- NaOH p.a. Merck
- HCl p.a. Merck
- Alcohol Etílico Absoluto p.a. Merck
- Ácido Sulfúrico Concentrado p.a. Winkler Ltda.
- Fosfato Diamónico (PDF) p.a. Mallinckrodt Chemical Works
- Metabisulfito de Potasio ($K_2S_2O_5$) p.a. Merck
- Reactivo de Folin – Ciocalteu BM - 1490 Winkler Ltda.
- DPPH p.a. Merck

2.3.3 Enzimas

- Enzima Lallzyme Ex Lallemand, de origen *Aspergillus niger*, de acción pectinasa y actividades menores de hemicelulasas (Lallemand, 2009).

2.4 Métodos

2.4.1 Mantención de las cepas de levaduras UCH-M₃ y UCH-M₄

Las cepas se mantuvieron refrigeradas (5° C) en tubos con agar papa dextrosa tendido, traspasándolas cada quince días aproximadamente.

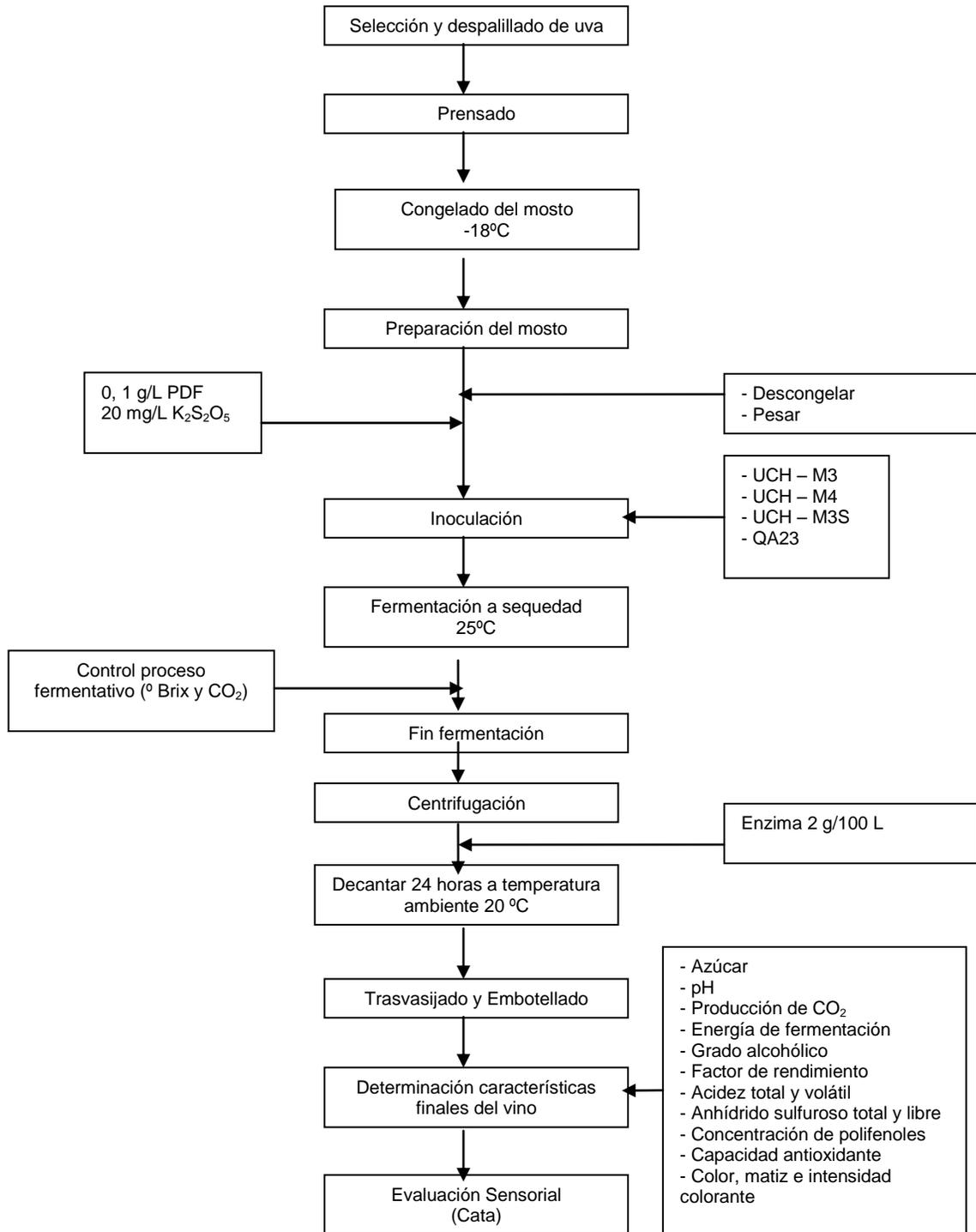
Los inóculos se prepararon sembrando la levadura en crema en 100 ml de un medio basal YEPD (tabla N° 2) líquido en matraces Erlenmeyer, que se cultivaron a 30° C por 24 horas.

Tabla n° 2 Medio basal YEPD

Medio basal YEPD modificado (Yeast Extract Peptone Dextrose)	
Extracto de levadura	1 g/L
Fosfato diácido de potasio (KH ₂ PO ₄)	1 g/L
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	5 g/L
Peptona	10 g/L
Glucosa	10 g/L

2.4.2 Procedimiento de Microvinificaciones a nivel de laboratorio

2.4.2.1 Diagrama de Bloques



2.4.2.2 Selección de las uvas

La uva se despalilló en forma manual eliminando la uva afectada por pudriciones, insectos, etc.

2.4.2.3 Prensado

La uva se prensó utilizando un recipiente de acero inoxidable provisto de un disco metálico, que actuó como pistón.

El mosto de uva obtenido se almacenó en bolsas Ziploc[®], y se congeló a - 18° C.

2.4.2.4 Preparación del mosto

El mosto se descongeló a temperatura ambiente y se traspasó a frascos Schott de 1000 mL, llegando a un volumen aproximado de 900 ml. Cada frasco fue pesado antes y después de llenarlo con mosto.

2.4.2.5 Adición de Fosfato Diamónico y Metabisulfito de Potasio

Al mosto se le agregó 0,1 g/L de fosfato diamónico (PDF), como fuente de nitrógeno para la nutrición de las levaduras y 20 mg/L de metabisulfito de potasio ($K_2S_2O_5$), para obtener una concentración de 10 mg/L de SO_2 como preservante contra bacterias.

2.4.2.6 Preparación del Inóculo

Se trabajó con inóculo fresco de 24 horas. Las levaduras UCH-M₃, UCH-M₄ se llevaron a caldo YEPD y el inóculo se ajustó para efectuar la fermentación con un nivel de 10^5 levaduras por ml.

La levadura control QA23 se rehidrató, durante 20 minutos a 35°C, siguiendo las instrucciones del envase.

La levadura seca UCH-M₃S se rehidrató y se extendió en agar papa dextrosa, cultivándose durante 24 horas a 30° C. Luego se propagó en el caldo YEPD y se procedió de la misma forma que las levaduras UCH-M₃ y UCH-M₄.

2.4.2.7 Fermentación

La fermentación se condujo en matraces aforados de 1000 ml de capacidad, los cuales fueron dispuestos en una estufa a 25°C. El mosto se fermentó a sequedad, diariamente se pesaron y se midió los grados Brix, dando por terminada la fermentación cuando se mantuvo un peso más o menos constante, alrededor de 7 °Brix.

Al término de la fermentación el mosto fue centrifugado en una centrífuga de canastillo y el líquido fue traspasado a frascos Schott. Se le agregó 2g/100L de la enzima Lallzyme Ex Lallemand de acción pectinasa, que ayuda a sedimentar las partículas presentes en el vino, ya que corta las cadenas de pectinas. Se dejó durante 24 horas a temperatura ambiente y posteriormente se traspasó a frascos Schott que fueron etiquetados indicando: cepa de levadura y fecha correspondiente al término de la fermentación. De esta forma el vino estuvo preparado para llevar a cabo los análisis de determinación de las características del producto final, y la evaluación sensorial.

2.4.3 Determinación de azúcar.

Se determinaron los azúcares al inicio y final de la fermentación mediante el método de Fehling (Bordeu y cols, 2000), y por refractometría (°Brix) cada 24 horas durante el proceso.

2.4.4 Determinación del pH.

Se realizó al inicio y final de la fermentación mediante un pH-metro digital.

2.4.5 Producción de CO₂

Se determinó por gravimetría (Morales, 2005). Pesando los frascos Schott cada 24 horas. El descenso de peso corresponde al anhídrido carbónico producido en la fermentación y se expresa en gramos.

2.4.6 Grado alcohólico

El vino se destiló y luego el grado alcohólico se determinó por aerometría. Se debió neutralizar con NaOH antes de destilar para impedir el paso de los ácidos volátiles al destilado ya que esto produce un aumento en la densidad y por ende una disminución del grado alcohólico. (Ureta, 1984).

2.4.7 Acidez total

La determinación de la acidez total valora los ácidos que se encuentran en estado libre en el mosto fermentado; se realizó por titulación ácido - base (Ureta, 1984) con hidróxido de sodio 0,1 N. El resultado se expresa como g de ácido tartárico / L.

2.4.8 Acidez volátil

La acidez volátil se determinó por el método de Duclaux – Gayon (Ureta, 1984) y se expresa en g de ácido acético / L.

2.4.9 Anhídrido sulfuroso (SO₂)

El anhídrido sulfuroso total y libre se determinó mediante el método de Ripper (Delanoe, 2003), se expresa como mg de SO₂ / L.

Para determinar el SO₂ total se crea un medio alcalino adicionando NaOH para que el SO₂ combinado pase a libre. En cambio para la determinación del SO₂ libre se crea un medio ácido fuerte el cual impedirá el paso del SO₂ combinado a libre.

En ambos métodos se utiliza almidón como indicador, el cual vira de transparente a un color azul morado, durante la valoración.

2.4.10 Polifenoles totales

Se determinaron mediante el método de Folin-Ciocalteu (Bordeu, 2000).

Se midieron las absorbancias a 765 nm y se calculó la concentración de polifenoles en Equivalentes de Ácido Gálico ug/ml.

2.4.11 Capacidad Antioxidante

Se determinó mediante el método del DPPH el cual consiste en la evaluación de la actividad antioxidante por medio de la captura de radicales libres, mediante la decoloración del radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) (Mosquera y cols., 2005).

Este método es un ensayo colorimétrico simple basado en la disminución en la absorbancia a 517 nm del radical DPPH (púrpura profunda) después de la adición de un compuesto antioxidante a la solución, el cual determina el debilitamiento de este color, lo que se relaciona con la eficacia del antioxidante (Tibysay, 2006).

Se debe graficar las distintas concentraciones utilizadas de vino-etanol versus el porcentaje de decoloración del DPPH que se obtiene a partir de las absorbancias medidas según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Decoloración DPPH} = (1 - [A_{517}/A_{\text{DPPH}}]) * 100$$

Donde A_{517} es la absorbancia de la muestra y A_{DPPH} es la absorbancia de la solución de DPPH.

A partir de las curvas obtenidas se obtiene la Concentración Eficiente CE_{50} , que se define como la cantidad de extracto necesaria a agregar para disminuir la coloración inicial del DPPH en un 50%. Finalmente, a menor concentración eficiente mayor será la capacidad antioxidante de la muestra.

2.4.12 Evaluación del color

Se determinó midiendo las absorbancias de los vinos. Se realizó un barrido en el espectrofotómetro desde los 270 nm a los 600 nm aproximadamente y se graficaron las curvas obtenidas. Luego se determinó la intensidad y matiz de las muestras según las siguientes ecuaciones:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

$$M = A_{420} / A_{520}$$

En donde I es la intensidad, M es el matiz y A es la absorbancia determinada.

2.4.13 Evaluación sensorial

Se realizó la cata de los cuatro vinos obtenidos con las cepas UCH-M₃, UCH-M₃ seca, UCH-M₄ y Lalvin QA23, a partir de uvas Pinot Noir en iguales condiciones de fermentación.

La evaluación fue realizada por 11 jueces entrenados y se determinaron atributos como color, limpidez, apariencia, aroma, dulzor, acidez, astringencia, grado alcohólico, sabor, persistencia y calidad general. Se utilizó pautas confeccionadas para estos efectos (Anexos 1 y 2).

Los datos se analizaron por medio de Análisis de Varianza (ANDEVA) y Tukey, a través del programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Mantenición de las cepas de levaduras UCH-M₃ y UCH-M₄

Las cepas de levadura UCH-M₃ y UCH-M₄ se mantuvieron refrigeradas en tubos de agar papa dextrosa tendido, no presentando problemas de contaminación con otros microorganismos.

Los inóculos también fueron preparados sembrando las levaduras de UCH-M₃ y UCH-M₄ en un medio basal YEPD, y luego cultivando en estufa a 30° C por 24 horas. La levadura UCH-M₃ seca se mantuvo refrigerada a 4°C.

3.2 Procedimiento de microvinificaciones a nivel de laboratorio

Se fermentaron los mostos de uva *Pinot Noir*, con las levaduras UCH-M₃, UCH-M₄, UCH-M₃ seca y la levadura QA23, a una temperatura controlada de 25° C hasta el término de la fermentación, controlando los procesos para todos los tratamientos obteniendo los siguientes resultados:

3.3 Control del Proceso de Fermentación

3.3.1 Determinación de Azúcar en el Mosto

Se determinó por medio de los siguientes métodos:

3.3.1.1 Refractometría

Los °Brix, que expresan el contenido de azúcares como sólidos solubles, se determinaron cada 24 horas obteniéndose los siguientes resultados:

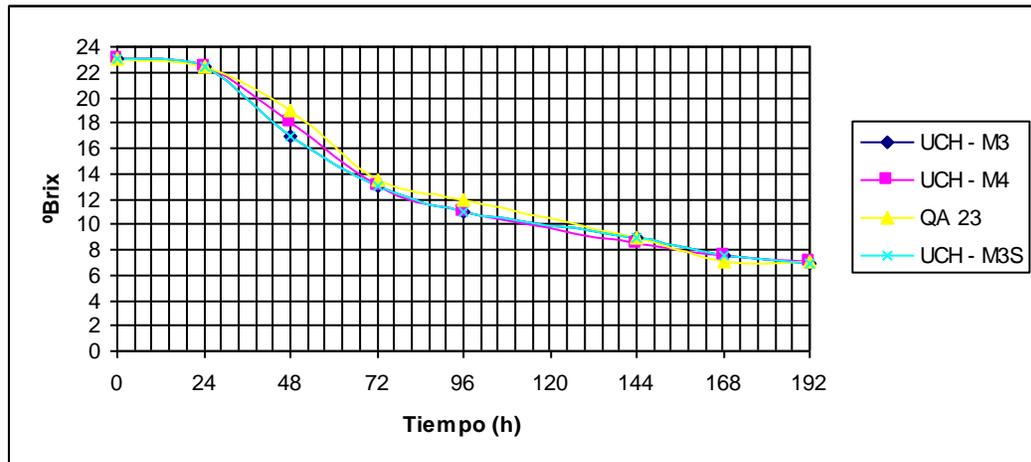


Figura nº 6. Niveles de sólidos solubles en el mosto

En la fermentación alcohólica es importante la concentración inicial de azúcar en el mosto, ya que influirá en la producción de CO₂, de etanol y en la velocidad del proceso. (Ahumada y cols, 2007). En el anexo 3 se puede ver la tabla de riqueza en azúcar del mosto y el alcohol probable a producirse.

Se utilizó mosto de 23 °Brix aproximadamente para todas las fermentaciones y en general se observa que todas las curvas siguieron una misma tendencia, disminuyendo durante el proceso, debido al consumo de azúcar por parte de las cepas de levaduras durante la fermentación, llegando todos los vinos alrededor de los 7° Brix (Anexo 4).

3.3.1.2 Método de Fehling

El método de Fehling da cuenta de la cantidad de azúcares reductores presentes en el vino:

Tabla nº 3 Azúcares reductores presentes en el vino

	Azúcar (g /100 ml)
UCH-M₃	4,6
UCH-M₄	5,5
QA23	5,3
UCH-M₃S	5,0

En la tabla nº 3 se observa que todos los vinos obtuvieron cantidades de azúcar muy similares entre ellos y menores a los obtenidos con el refractómetro, lo que era de esperar ya que en este caso se mide solamente los azúcares reductores.

Es necesario utilizar mostos con cantidades de azúcar adecuadas, para obtener un equilibrio adecuado entre el proceso y el producto final. Para mostos con azúcar inicial muy alta, la velocidad del proceso es mayor pero se obtienen vinos más dulces y lo contrario ocurre con mostos con cantidades de azúcar más bajas. Por lo general para vinos tintos se utilizan mostos con 22 a 26 °Brix.

3.3.2 Determinación del pH

El pH de las muestras se determinó mediante un pH – metro digital obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla nº 4 Medida del pH al inicio y al final de la fermentación

	pH inicial	pH final
UCH-M₃	3,12	3,5
UCH-M₄	3,12	3,5
QA23	3,12	3,5
UCH-M₃S	3,12	3,5

Los pH finales obtenidos entre los distintos vinos no presentaron diferencias y están dentro del rango normal de los vinos tintos, que se encuentra entre 3,3 a 3,6. Los vinos con pH demasiado alto, poseen mayor riesgo de oxidación de los antocianos, esto se observa en los vinos tintos con tono marrón sin que se deba a la acción del oxígeno durante el envejecimiento y además tienen mayor riesgo de que se desarrollen microorganismos no deseados.

Los vinos cuanto más bajo sea su pH son más ácidos y más fáciles de conservar, pero menos gratos para la cata.

3.3.3 Determinación de la producción de CO₂

Se determinó para las diferentes levaduras y se obtuvo lo siguiente:

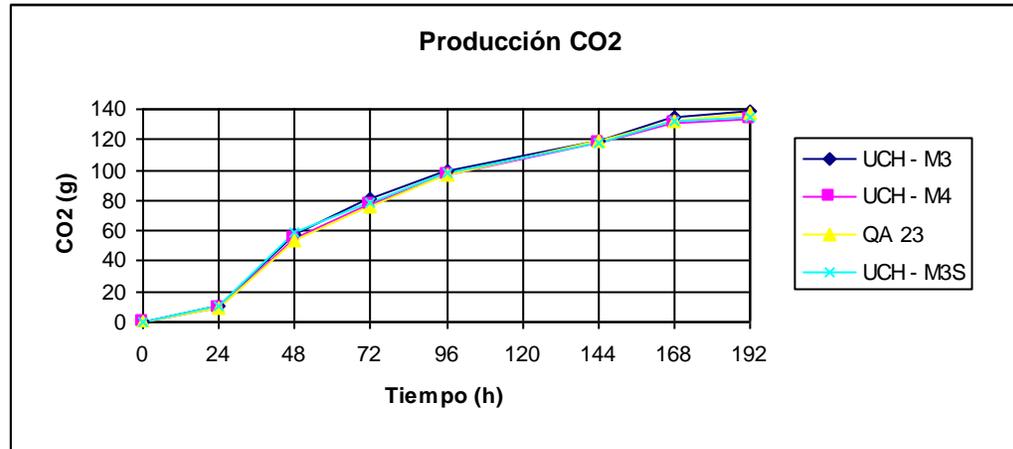


Figura nº 7. Producción de CO₂

En la figura nº7 se observa que todas las levaduras presentan una producción de CO₂ muy similar.

En vinos blancos la levadura UCH – M₄ produce más CO₂ que la levadura UCH – M₃ (Romero, 2008). Esto podría deberse, entre otros factores, a la temperatura que influye

en las levaduras, ya que el vino tinto se fermentó a 25 °C y los vinos blancos se fermentan alrededor de los 15 a 18 °C.

La producción de anhídrido carbónico es un indicativo del desarrollo de la fermentación ya que al llevarse a cabo la fermentación alcohólica, las levaduras consumen glucosa y producen CO₂, por lo que la producción de anhídrido carbónico es directamente relacionada con el consumo de glucosa.

3.3.4 Determinación del factor de rendimiento Y s/p

La siguiente tabla muestra los valores del factor de rendimiento Y s/p para las distintas levaduras:

Tabla nº 5 Factores de rendimiento

Levaduras	Gi - Gf (g/L)	° A	Y s/p	g/L EtOH
UCH-M ₃	161	13	12,38	104
UCH-M ₄	160	13	12,31	104
QA23	160	13	12,31	104
UCH-M ₃ S	161	13	12,38	104

En donde Gi – Gf es el azúcar inicial menos el azúcar final, °A es el grado alcohólico e Y s/p es el factor de rendimiento.

El factor de rendimiento Y s/p representa la cantidad de azúcar necesaria para producir 1 grado alcohólico. De acuerdo a los resultados que se muestran en la tabla nº 5 todas las cepas presentaron factores de rendimiento muy similares entre ellas, las cuales para producir un grado alcohólico consumen alrededor de 12,3 g/L de azúcar.

Los resultados son menores que el Y s/p teórico (17,4), ya que al medir los niveles de azúcar en °Brix, se miden todos los sólidos solubles que se encuentran en el mosto y no sólo el azúcar, por lo que el nivel de glucosa final debe ser menor que el

determinado (°Brix), de esta forma el consumo de glucosa sería mayor, y el factor de rendimiento Y s/p sería mas alto.

La tabla de riqueza en azúcar y alcohol probable (Anexo 3), muestra que el grado alcohólico obtenido en las vinificaciones, es similar al grado alcohólico probable. Esto comprobaría que las cepas tienen sobre el 90% de rendimiento en la transformación de azúcar en etanol.

Al utilizar estas levaduras en la producción de vinos blancos (Romero, 2008), se obtuvieron factores de rendimiento muy similares. En la producción de hidromieles (Ahumada y cols, 2007), estas levaduras presentaron también rendimientos altos, muy cercanos al teórico.

3.4 Determinación de las Características del Producto Final

3.4.1 Grado alcohólico

Se determinó según método aerométrico, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla nº 6 Grado Alcohólico de los Vinos

	°A
UCH-M ₃	13
UCH-M ₄	13
QA23	13
UCH-M ₃ S	13

La tabla nº 6 muestra que se obtuvieron valores muy similares para todas las levaduras, lo que concuerda con los resultados de los análisis que se realizaron durante el proceso de fermentación.

El grado alcohólico obtenido en los vinos tintos es similar al grado alcohólico probable a obtener de acuerdo al azúcar inicial en el mosto (Anexo nº 3), lo que indica un alto rendimiento en el proceso.

La determinación del grado alcohólico señala que todas las levaduras sobrepasaron el mínimo permitido (11,5% v/v).

Otros ensayos (Morales, 2005) indican que estas levaduras son capaces de producir en condiciones adecuadas vinos blancos e hidromieles con grados alcohólicos aún más altos que los obtenidos en esta investigación, gracias a que son altamente tolerables al alcohol.

3.4.2 Acidez total

Se realizó según el método por valoración con NaOH y se obtuvo lo siguiente:

Tabla nº 7 Acidez Total

	g/L ácido tartárico
UCH-M₃	4,5 ± 0,1
UCH-M₄	4,3 ± 0,2
QA23	4,1 ± 0,1
UCH-M₃S	4,4 ± 0,1

Se observa en la tabla nº 7 que la acidez total de todos los vinos es muy similar.

No existe una regulación de la ley chilena para el contenido de acidez total, pero se encuentran dentro del rango normal de los vinos embotellados que está entre 3 y 7 g de ácido tartárico / L. (Romero, 2008).

3.4.3 Acidez volátil

Se determinó por medio del método Duclax – Gayon y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla nº 8 Acidez Volátil

	g/L ácido acético
UCH-M₃	0,54 ± 0,01
UCH-M₄	0,40 ± 0,01
QA23	0,44 ± 0,01
UCH-M₃S	0,50 ± 0,03

En la tabla nº 8 se presentan los valores de acidez volátil obtenidos y se observa que los vinos fermentados con levadura UCH-M₄ y QA 23 presentaron valores menores de acidez volátil comparada con UCH-M₃, lo que implicaría una menor producción de ácido acético.

La levadura UCH-M₃ en crema y seca, pese a presentar valores mayores no sobrepasaron el máximo permitido que es de 1,5 g de ácido acético /L.

Los ácidos volátiles están presentes en todos los vinos, pero su exceso no es deseable ya que indica una tendencia al deterioro acético.

En vinos blancos las levaduras se comportan de manera similar (Romero, 2008) a lo visto en esta investigación, obteniendo la UCH – M₄ valores menores de acidez acética que la levadura UCH – M₃.

3.4.4 Determinación de Anhídrido Sulfuroso

3.4.4.1 SO₂ libre por el método de Ripper

Tabla nº 9 Anhídrido Sulfuroso Libre

	mg/L SO ₂ libre
UCH-M ₃	12,8 ± 0,2
UCH-M ₄	16,6 ± 0,3
QA23	13,8 ± 0,2
UCH-M ₃ S	12,3 ± 0,2

3.4.4.2 SO₂ total por el método de Ripper

Tabla nº 10 Anhídrido Sulfuroso Total

	mg/L SO ₂ total
UCH-M ₃	32,0 ± 1,6
UCH-M ₄	53,7 ± 1,5
QA23	48,6 ± 0,9
UCH-M ₃ S	31,8 ± 1,4

En las tablas nº 9 y nº 10 se observa que los contenidos de SO₂ libre y SO₂ total para los distintos vinos se encuentran por debajo de los límites permitidos, que se detallan en la tabla nº 1.

La levadura UCH-M₃ y su versión seca obtuvieron la menor cantidad de SO₂ total y libre.

Ensayos realizados en vinos blancos con estas levaduras (Romero, 2008), muestran valores similares a los obtenidos para vino tinto en esta investigación.

3.4.5 Color

3.4.5.1 Evaluación del color por espectrofotometría

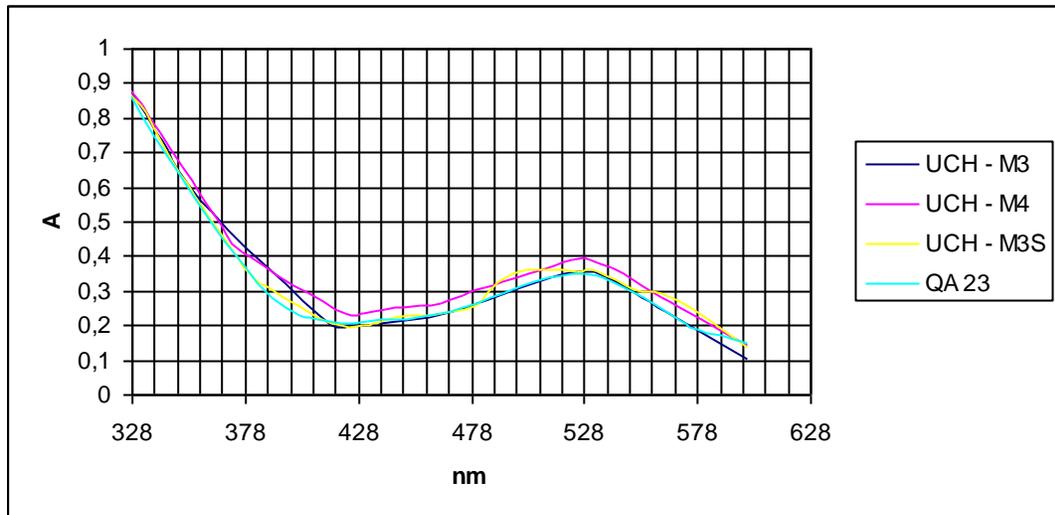


Figura nº 8 Curvas obtenidas por espectrofotometría

La figura nº 8 muestra las curvas obtenidas por espectrofotometría a partir de los vinos fermentados con las distintas levaduras. Todas las curvas presentan una tendencia similar. Bordeu y colaboradores (2000) obtuvieron resultados similares para vinos tintos de un año, sin hacer mención de las cepas utilizadas.

3.4.5.2 Intensidad Colorante

Según la suma de las absorbancias medidas a 420, 520 y 620 nm se obtuvo lo siguiente:

Tabla nº 11 Intensidad Colorante

	UCH - M ₃	UCH - M ₄	QA 23	UCH - M ₃ S
IC	14,3 ± 0,7	18,02 ± 0,1	16,7 ± 0,1	15,1 ± 0,3

Las intensidades colorantes de los diversos vinos entregan información acerca de su composición en taninos y su posible astringencia. Se observa que el vino que obtuvo el valor más alto fue el fermentado con la levadura UCH – M₄.

Pese a estas diferencias, los jueces en la evaluación sensorial, como se puede ver en el capítulo 3.5, no percibieron diferencias significativas en la astringencia de los diferentes vinos.

3.4.5.3 Matiz

Los resultados obtenidos de la relación entre los valores de absorbancia a 420 y 520 nm fueron los siguientes:

Tabla nº 12 Matiz

	UCH - M ₃	UCH - M ₄	QA23	UCH - M ₃ S
Matiz	0,57 ± 0,01	0,59 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,56 ± 0,01

El matiz de un vino tinto joven se encuentra entre 0,6 y 0,8. Durante el envejecimiento del vino tinto, la absorbancia a 520 nm disminuye y la absorbancia a 420 nm se mantiene más o menos constante, por lo que el coeficiente (matiz) aumenta.

Se observa que los valores obtenidos corresponden a matices de vinos tintos jóvenes.

Ambas cepas producen vinos de similares características de color rojo rubí intenso, con matices púrpuras.

3.4.6 Polifenoles totales

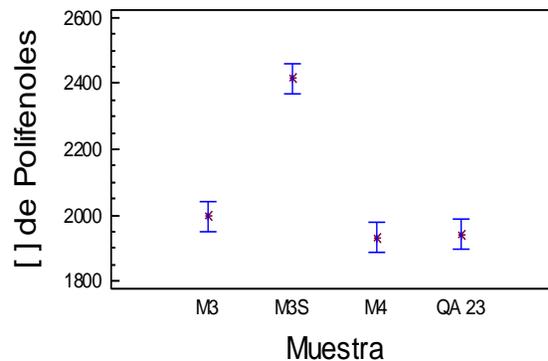
Se determinó con el Método de Folin – Ciocalteu y la concentración de polifenoles estimada se expresó en equivalentes de ácido gálico (EAG ug/ml):

Tabla nº 13 Concentración de Polifenoles

	C (EAG ug/ml)
UCH – M ₃	1996,5 ± 37,9
UCH – M ₄	1932,2 ± 8,9
QA 23	1942,9 ± 40,8
UCH - M ₃ S	2414,3 ± 5,8

Los vinos con levadura UCH-M₃ en crema y seca presentaron mayores concentraciones de polifenoles y para ver si existían diferencias significativas entre las muestras de vino, se analizaron utilizando el método de Tukey obteniéndose lo siguiente:

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



La concentración de polifenoles del vino fermentado con UCH-M₃ seca, muestra diferencias significativas con los vinos producidos con las otras cepas. La diferencia entre la levadura UCH - M₃ crema y la levadura UCH - M₃ seca podría atribuirse a que el proceso de secado al que se ve sometida la levadura cuando se industrializa, afecta

de alguna forma la actividad de la levadura, además de favorecer su concentración y pureza.

La concentración total de polifenoles de todos los vinos se encuentra dentro del rango normal, que varía entre 1,8 y 4,0 gramos por litro equivalentes en ácido gálico, con un promedio de 2,57 g/litro, para vinos tintos (Gutiérrez, 2002)

3.4.7 Capacidad Antioxidante

Se determinó mediante el método del DPPH y se expresa como Concentración Eficiente (CE_{50}):

Tabla nº 14: Capacidad Antioxidante

	CE_{50} ug/ml
UCH-M₃	6,3 ± 0,05
UCH-M₄	4,9 ± 0,05
QA23	5,1 ± 0,05
UCH-M₃S	6,2 ± 0,08

En la tabla nº 14 se observa que los polifenoles obtenidos en el vino fermentado con levadura UCH- M₄ presentaron la mayor capacidad captadora de radicales libres, ya que presentó el menor valor de Concentración Eficiente (CE_{50}) que se refiere a la cantidad de extracto, en este caso vino, necesario agregar para disminuir la coloración inicial de DPPH en un 50%.

A pesar de que los vinos obtenidos a partir de las levaduras QA23 y UCH-M₃ presentaron las más altas concentraciones de polifenoles, como se observó en el punto anterior, su capacidad antioxidante fue menor que el vino fermentado con UCH-M₄, esto indicaría que no existe relación entre cantidad de polifenoles producidos y su capacidad antioxidante. Todo dependerá del tipo de polifenol ya que todos poseen capacidades antioxidantes diferentes.

Esto podría deberse a que la levadura UCH-M₄ podría favorecer la formación de polifenoles como la quercitina, catequina y miricetina, presentes en vinos tintos, que según estudios (Ghiotto y cols, 2004) poseen mayor actividad antioxidante que otros tipos de polifenoles.

3.5 Evaluación Sensorial

En la evaluación sensorial se determinaron las características organolépticas de los vinos fermentados con las levaduras UCH-M₃, UCH-M₄ y la levadura UCH-M₃ seca teniendo como control la levadura Lalvin QA23[®]. Los vinos obtenidos con las cuatro levaduras fueron fermentados en iguales condiciones.

Los resultados se analizaron por medio del programa Statgraphics y se obtuvo lo siguiente:

Tabla nº 15 Diferencias significativas entre jueces y entre muestras

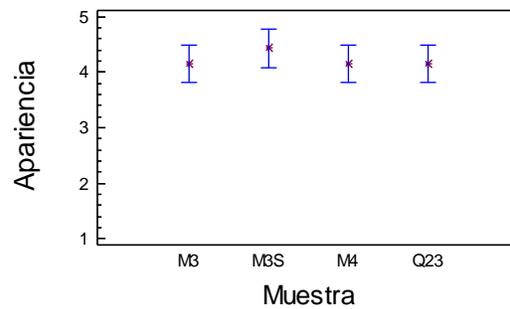
Atributo	Diferencias significativas entre jueces	Diferencias significativas entre muestras
Color Rojo Rubí	Si	Si
Limpidez	Si	No
Apariencia	No	No
Aroma	No	No
Dulzor	No	No
Acidez	No	No
Astringencia	No	No
Grado Alcohólico	Si	No
Sabor	No	No
Persistencia	Si	No
Calidad General	No	No

Fue necesario eliminar 4 jueces ya que en un principio hubo diferencias significativas entre ellos, lo que no permitía analizar los datos.

Para los atributos de apariencia, aroma, dulzor, acidez, astringencia, sabor y calidad general, que no presentaron diferencias significativas entre jueces y tampoco entre muestras, se observó lo siguiente:

- **Apariencia:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



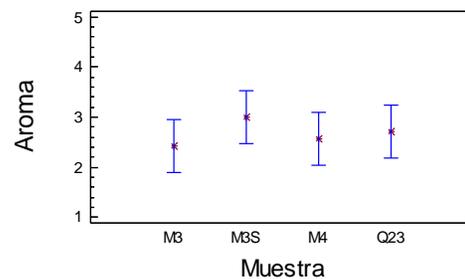
En donde:

1	Mala
2	Regular
3	Media
4	Buena
5	Muy Buena

Todas las muestras se encontraron por sobre la calificación “buena”, en cuanto a apariencia.

- **Aroma:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



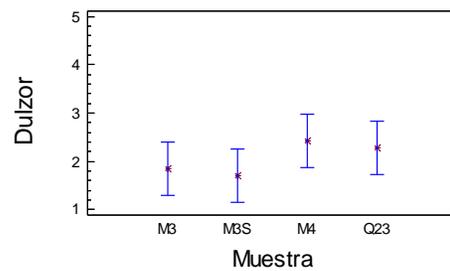
En donde:

1	Sin Aroma
2	Leve Aroma
3	Aroma Normal
4	Levemente Intenso
5	Muy Intenso

Las muestras fueron encontradas levemente aromáticas a aroma normal. El aroma mejor evaluado fue el de la muestra fermentada con UCH-M₃ seca encontrándose un aroma normal.

- **Dulzor:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



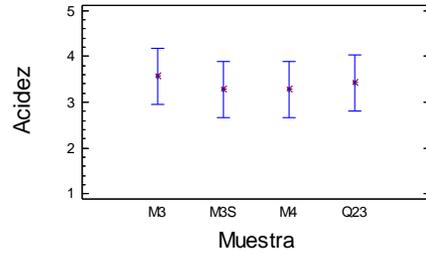
En donde:

1	Sin Dulzor
2	Poco Dulce
3	Dulzor Normal
4	Dulce
5	Muy Dulce

Las muestras se encontraron sin dulzor a dulzor normal, no encontrándose diferencias significativas entre ellas.

- **Acidez:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



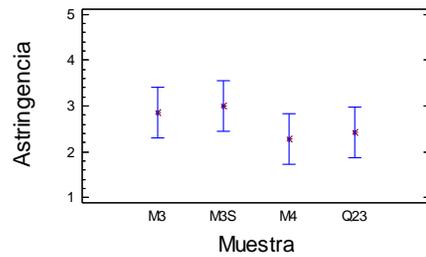
En donde:

1	Sin Acidez
2	Poco Ácido
3	Normal
4	Ácido
5	Muy Ácido

En cuanto a acidez todas las muestras se encontraron normales a ácidas.

- **Astringencia:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



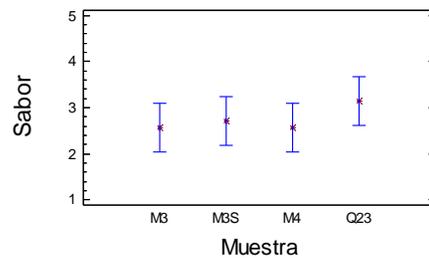
En donde:

1	Sin Astringencia
2	Poco Astringente
3	Astringencia Normal
4	Astringente
5	Demasiado Astringente

Las muestras fueron evaluadas entre poco astringentes a astringencia normal. Encontrándose las muestras fermentadas con levadura UCH-M₃ y la UCH-M₃ seca cercanas a la calificación de “astringencia normal”.

- **Sabor:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



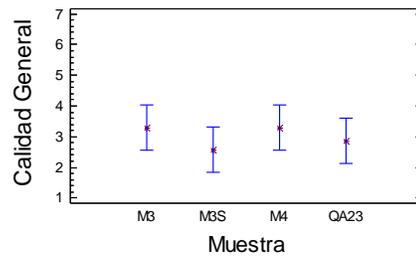
En donde:

1	Sin Sabor
2	Poco Sabor
3	Buen Sabor
4	Sabor Intenso
5	Sabor Muy Intenso

Los vinos se encontraron con poco sabor a sabor intenso. A pesar de no haber diferencias significativas entre muestras, se observa que el sabor del vino fermentado con levadura QA23 fue encontrado con sabor más intenso que el de los otros vinos.

- **Calidad General:**

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos HSD de Tukey



En donde:

1	Muy buena
2	Buena
3	Algo buena
4	Ni buena ni mala
5	Algo mala
6	Mala
7	Muy mala

Pese a no haber diferencias significativas en el parámetro de calidad general, se observa que las levaduras UCH-M₃ seca y la QA23 obtuvieron un mayor grado de calidad dentro de los evaluadores, estas dos se evaluaron como “buena” y “algo buena”. Las levaduras UCH-M₃ y la UCH-M₄ se encuentran entre “algo buena” y “ni buena ni mala”.

En la evaluación del aroma se obtuvo lo siguiente:

Tabla nº 16 Evaluación del aroma

	Aromas	Olores
UCH-M₃	Berries y frutas ácidas como la frambuesa	Alcohol
UCH-M₃ seca	Berries como las moras y frutas ácidas, cerezas	Alcohol
UCH-M₄	Berries, frutas ácidas, frambuesa, pasas	Alcohol
QA 23	Berries, ciruelas, frutillas y frutas ácidas como la frambuesa	Alcohol

Se observa que los aromas predominantes para todos los vinos fueron a berries y frutas ácidas.

El olor a alcohol fue predominante en todas las muestras lo que enmascaraba los aromas, haciendo difícil su caracterización. Esto podría deberse a la temperatura de fermentación, que fue de 25°C, ya que para obtener vinos tintos de calidad se deben utilizar temperaturas de fermentación más bajas o pueden producirse olores indeseados, como en este caso a alcohol. Además a mayor temperatura las levaduras actúan más rápido y tienen menor tiempo para producir metabolitos secundarios los cuales son responsables del cuerpo y del aroma de los vinos (Ahumada y cols, 2007).

En general se observa que todas las fermentaciones llevadas a cabo por los diferentes tipos de levaduras obtuvieron resultados exitosos, no presentándose problemas en las vinificaciones.

Al no existir una regulación por la ley chilena para el contenido de acidez total en los vinos no se puede determinar si la acidez total obtenida es buena o mala, pero se encontraron dentro del rango normal.

En cuanto a la acidez volátil, anhídrido sulfuroso total y libre, pese a tener algunas diferencias en sus valores, todos los vinos estuvieron dentro de los límites normales y legales chilenos.

Todas las cepas produjeron vinos de color rojo rubí intenso y con matices púrpuras.

En cuanto a concentración de polifenoles la levadura UCH – M₃ seca obtuvo los mayores valores, diferenciándose significativamente de las demás. Su diferencia con la UCH – M₃ en crema implicaría que el proceso de secado afectó de manera positiva a la levadura, favoreciendo la concentración de polifenoles en el vino.

Algo interesante se observó en la capacidad antioxidante y fue que la muestra de vino fermentada con UCH – M₄, pese a tener menor concentración de polifenoles que los vinos fermentados con las otras levaduras, obtuvo la mayor capacidad antioxidante de todos los vinos, demostrando que no existe relación entre cantidad de polifenoles producidos y su capacidad antioxidante. Esto lleva a pensar en otro estudio que aborde los tipos polifenoles en el vino y su calidad basada en su capacidad captadora de radicales libre.

En la evaluación sensorial no se encontraron diferencias significativas entre los vinos, encontrándose todos entre las calificaciones “bueno” y “ni bueno ni malo” en cuanto a calidad general. Pese que el olor a alcohol fue encontrado en todos los vinos, los aromas predominantes fueron a berries y frutas ácidas. El olor a alcohol pudo deberse a la temperatura demasiado alta utilizada para fermentar, ya que esto podría influir en la velocidad y producción de metabolitos secundarios, por lo que este problema podría solucionarse disminuyendo la temperatura de fermentación utilizada.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

Los vinos obtenidos a partir de mostos de uvas *Pinot Noir* empleando las levaduras UCH – M₃ crema, UCH – M₃ seca y UCH – M₄ presentaron valores fisicoquímicos y sensoriales dentro de las normas legales chilenas y conceptuales, siendo muy similares a los resultados obtenidos por la levadura control Lalvin QA23.

La cantidad de polifenoles totales determinados en estos vinos se encuentra dentro del rango normal para vinos tintos.

Los vinos elaborados con la levadura UCH – M₃ seca presentaron la mayor concentración de polifenoles totales en relación a los vinos elaborados con todas las otras cepas probadas.

Los vinos producidos con la levadura UCH – M₄ presentaron la menor concentración de polifenoles totales sin embargo, poseen la mayor capacidad antioxidante.

Por lo tanto, la actividad antioxidante de los polifenoles no tiene relación con la concentración de polifenoles totales, sino más bien estaría relacionado con el tipo de polifenol.

Con esta investigación se concluye que las cepas de levaduras UCH – M₃ y UCH – M₄ pueden ser utilizadas en la producción industrial de vinos tintos *Pinot Noir*.

BIBLIOGRAFIA

1. AHUMADA, M., ALONSO, N. (2007), Optimización de los Parámetros de Fermentación para la Elaboración de Hidromiel a partir de Miel Pura de Abeja, Universidad Tecnológica Metropolitana, Facultad de Ciencias Naturales, Matemáticas y del Medio Ambiente, Escuela de Industria Alimentaria, Santiago, Chile.
2. ALEIXANDRE, J. L. (1997), La Cultura del vino. Cata y degustación, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, Valencia España.
3. ALEIXANDRE, J. L. (1999), Vinos y Bebidas Alcohólicas, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, Valencia España.
4. BRAVO, F. (1991), en Gutiérrez, A., Santamaría, M., López, R., Sevilla, M. Selección de Levaduras Vínicas en la Denominación de Origen Calificada Rioja, Logroño, España, 1995.
5. BRAVO, L., (1998), Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance, Nutrition Reviews, International Life Sciences Institute.
6. BORDEU E., SCARPA J., (2000), Análisis Químico del Vino, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
7. CASE, C., (2009), Microbial Fermentations: Changed The Course Of Human History, Skyline College. [en línea] < <http://www.accessexcellence.org>>
8. ECHEVERRY, C., FERREIRA, M., GONZÁLEZ-NEVES, G., DABAS, F., (2009), Capacidad Antioxidante de Vinos Tintos Uruguayos y su Relación con su Composición Fenólica. Instituto de Investigaciones Biológicas, División

Neuroquímica, Montevideo, Uruguay. Instituto Nacional de Vitivinicultura, Laboratorio de Análisis y de Investigaciones, Las Piedras, Uruguay. [en línea] <<http://www.wein-uruguay.com>>

9. ESPINOZA, M., (2009), Olfactometría, Centro de Olores, DICTUC, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
10. GIL, J.V., (2009), La Nueva Biotecnología Enológica, Departamento de Biotecnología de los Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científica, Valencia. [en línea] < <http://www.argenbio.org>>
11. GHIOTTO, R., LAVARDA, F., FERREIRA, J., (2004), Antioxidant activity of flavonols, *Internacional Journal of Quantum Chemistry*, vol 97, pág. 947 – 952.
12. GONZÁLEZ-NEVES, G., BALADO, J., BARREIRO, L., BOCHICCHIO, R., GATTO, G., GIL, G., TESSORE, A., FERRER, M. (2008), Efecto de algunas prácticas de manejo del viñedo y de la vinificación en la composición fenólica y el color de los vinos tintos, X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, Brasil.
13. GUTIÉRREZ, A., SANTAMARÍA, M., LÓPEZ, R., SEVILLA, M., (1995), Selección de Levaduras Vínicas en la Denominación de Origen Calificada Rioja, Logroño, España.
14. GUTIÉRREZ, A., (2002), Vino, polifenoles y protección a la salud, Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara “Serafín Ruiz de Zarate Ruiz”, [en línea] < http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_2_02/ali07102.htm>
15. LAKNER, Z., PROCHÁZKA, P., (2000), European Wine Economy. Facultad de Agricultura, Universidad de Maribor, Maribor, Eslovenia. Editorial Szent István University

16. LALLEMAND, (2004), Color: Levaduras y Polifenoles. Ciencia y Técnica [en línea] <<http://www.lallemmandwine.com>>
17. LALLEMAND, (2009). Levaduras. Productos [en línea] <<http://www.lallemmandwine.com>>
18. LLANO, A., SGROPPO, K., AVANZA, J., (2002), Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional, Laboratorio de Tecnología Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.
19. MAC KAY, T., (2009) Apuntes de Enología [en línea] <<http://www.cmackay.org/mi-libro/>>
20. MODEL ORGANISMS, (2008). Brewer's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) [en línea] <<http://www.steve.gb.com/science>>
21. MOLINA, H., MAGGIO, S., CORVALÁN, M., ABUD, M., PONCE, C., SÁNCHEZ, D., GARCÍA, M., (2001), La Capacidad Antioxidante de Vinos y sus Probables Efectos Benéficos sobre la Mucosa Gástrica. Vino y Salud. [en línea] < <http://www.areadelvino.com>>
22. MORALES, M. F., (2005), Aislamiento y caracterización de cepas de levaduras autóctonas provenientes de mostos fermentados del valle del Maule. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
23. MOSQUERA, O.; NIÑO, J.; CORREA, Y.; BUITRAGO, D., (2005). Estandarización del Método de Captura de Radicales Libres para la Evaluación de la Actividad Antioxidante de Extractos Vegetales. Revista Scientia et Technica [en línea]

<<http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/82044231-234.pdf>>

24. MÜLLER, K., (2004), Chile vitivinícola en pocas palabras. Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Agroindustria y Enología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
25. MUNDO BIOLÓGICO, (2009). Levaduras y Bacterias Lácticas del vino, Mundo Biológico [en línea] <<http://www.mundobiologico.com/>>
26. OJEDA, H., (2007), Los Compuestos Fenólicos de la Uva, Revista Enología N°4 [en línea] < <http://www.revistaenologia.com/>>
27. OLIVERO, R., (2006), Optimización del Proceso de Clarificación en la Elaboración de Vino de Naranja Criolla (*Citrus sinensis*). Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de Maestro en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.
28. PEÑA, A., (2005), Factores que regulan el color, Grupo de Investigación Enológica, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
29. PEÑA, A., (2006a), El Color de los Vinos, Grupo de Investigación Enológica, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
30. PEÑA, A., (2006b), Los taninos y su importancia en la calidad de uvas y vino, Grupo de Investigación Enológica, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
31. PEYNAUD, E., BLOUIN, J., (1996), El Gusto del Vino, Mundi – Prensa, París, Francia.

32. PROYECTO LIFE SINERGIA, (2006). Producción Respetuosa con el Medio Ambiente en Vinicultura, La Rioja, España.
33. REGODÓN, J. (1996), Obtención y Caracterización de Cepas Autóctonas de Levaduras para la Elaboración Estandarizada de Vinos de Calidad, Departamento de Biología y Producción de los Vegetales, Universidad de Extremadura, España.
34. RODRÍGUEZ, H., LANDETE, J., RIVAS, B., CURIEL, J., LÓPEZ, F., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., MUÑOZ, R., (2009), Metabolismo de compuestos fenólicos por bacterias lácticas del vino, Ace Revista de Enología, Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC, Madrid, España.
35. ROMERO, J.L., (2008), Evaluación de la fermentación y producción de Vinos Sauvignon blanc con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas del Valle del Maule, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Facultad de Medicina Veterinaria, Ciencias Agrarias y Forestales, Departamento de Fruticultura y Enología, Santiago, Chile.
36. SIMUNOVIC, Y., (1999), Manual de bebidas alcohólicas y vinagres, Colección de manuales jurídicos, Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero, Departamento Jurídico, Santiago, Chile.
37. SUAREZ LEPE, J. A., (1997), Levaduras vínicas: funcionalidad y uso en bodega. Mundi Prensa.
38. SUAREZ, J. A.; IÑIGO, B., (1992), Microbiología enológica: fundamentos de la vinificación, 2ª edición, Mundi Prensa, Madrid, España.
39. TIBYSAY, S., (2006). Emblica Agente Innovador en Dermocosmética. Asociación Científica Colombiana de Medicina Estética. [en línea] <<http://www.acicme.com.co/emblicare.doc>>

40. URETA, F., (1984), Manual de análisis de vinos. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Departamento de Ciencias Vegetales, Santiago de Chile.
41. VÁSQUEZ, H., DACOSTA, O., (2007), Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. Departamento de Sistemas, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco (México) y Oficina de Consejo, Desarrollo y Transferencia Tecnológica (Dijon, Francia).
42. VINOS CHILENOS, (2009) Artículos y Reportajes: Cepas [en línea]
< <http://www.vinoschilenos.cl>>

ANEXOS

Anexo 1: Hoja de preguntas Evaluación Sensorial

Producto: Vino Pinot Noir

1. Deguste las muestras de vino Pinot Noir de izquierda a derecha, e indique el grado de calidad para cada atributo

Responda en orden alfabético según el sentido que se indique. Sentidos: Vista (a,b,c); Olfato (d); Gusto (e,f,g,h,i,j)

No olvide neutralizar entre cada muestra con galletas y agua

a) Color Rojo Rubí	
1	Muy Débil
2	Débil
3	Normal
4	Levemente Intenso
5	Intenso

b) Limpidez	
1	Turbio
2	Medianamente Turbio
3	Velado
4	Medianamente Velado
5	Limpio

c) Apariencia	
1	Mala
2	Regular
3	Media
4	Buena
5	Muy Buena

d) Aroma	
1	Sin Aroma
2	Leve Aroma
3	Aroma Normal
4	Levemente Intenso
5	Muy Intenso

e) Dulzor	
1	Sin Dulzor
2	Poco Dulce
3	Dulzor Normal
4	Dulce
5	Muy Dulce

f) Acidez	
1	Sin Acidez
2	Poco Ácido
3	Normal
4	Ácido
5	Muy Ácido

g) Astringencia	
1	Sin Astringencia
2	Poco Astringente
3	Astringencia Normal
4	Astringente
5	Demasiado Astringente

h) Grado Alcohólico	
1	Bajo
2	Suave
3	Normal
4	Alcohólico Suave
5	Alcohólico Fuerte

i) Sabor	
1	Sin Sabor
2	Poco Sabor
3	Buen Sabor
4	Sabor Intenso
5	Sabor Muy Intenso

j) Persistencia	
1	Sin Persistencia
2	Poco Persistente
3	Persistente
4	Muy Persistente
5	Demasiado Persistente

k) Calidad General	
1	Muy buena
2	Buena
3	Algo buena
4	Ni buena ni mala
5	Algo mala
6	Mala
7	Muy mala

2. Describa lo más detallado posible los aromas u olores que percibió en cada una de las muestras.

Anexo 2: Hoja de respuestas Evaluación Sensorial

Hoja de Respuestas

Nombre:

Fecha:

Hora:

	A	B	C	D
a) Color Rojo Rubí				
b) Limpidez				
c) Apariencia				
d) Aroma				
e) Dulzor				
f) Acidez				
g) Astringencia				
h) Grado Alcohólico				
i) Sabor				
j) Persistencia				
k) Calidad General				

2. Aromas u olores percibidos en las muestras:

A:

Aromas: _____

Olores: _____

B:

Aromas: _____

Olores: _____

C:

Aromas: _____

Olores: _____

D:

Aromas: _____

Olores: _____

Comentarios: _____

Anexo 3: Tabla de riqueza en azúcar y alcohol probable

Azúcar mosto (g/l)	° Alcohólico	g/l Etanol
66	3,7	29,6
90	5,3	42,4
100	5,9	47,2
119	7	56
130	7,6	60,8
140	8,2	65,6
170	10	80
180	10,6	84,8
191	11,2	89,6
199	11,7	93,6
210	12,3	98,4
220	12,9	103,2
231	13,6	108,8
239	14,1	112,8
250	14,7	117,6
260	15,3	122,4
271	16	128

Anexo 4: Tabla Niveles de sólidos solubles (°Brix) en el mosto

Horas	UCH - M₃	UCH - M₄	QA23	UCH -M₃S
0	23	23	23	23
24	22,5	22,5	22,5	22,5
48	17	18	19	17
72	13	13	13,5	13
96	11	11	12	11
144	9	8,5	9	9
168	7,5	7,5	7	7,5
192	6,9	7	7	6,9

Anexo 5: Tabla niveles de producción de CO₂ en gramos.

Horas	UCH - M ₃	UCH - M ₄	QA23	UCH -M ₃ S
0	0	0	0	0
24	10,4	9	9,4	10,8
48	57,8	55	53,2	58,4
72	80,5	76,8	76,2	78,9
96	99,8	96,6	97,1	98,2
144	119,1	118	118,8	117,5
168	134,7	130,7	132,7	132,1
192	138,5	133,6	136,8	135,4