

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EVALUACIÓN DE DOS LEVADURAS, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES DE UN VINO CHARDONNAY
OBTENIDO CON DIFERENTES FORMAS DE NUTRICIÓN NITROGENADA.**

GABRIELA ALEJANDRA CASTRO SALINAS

SANTIAGO-CHILE

2014

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EVALUACIÓN DE DOS LEVADURAS, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES DE UN VINO CHARDONNAY
OBTENIDO CON DIFERENTES FORMAS DE NUTRICIÓN NITROGENADA.**

**EVALUATION OF TWO YEASTS, ON THE PHYSICAL, CHEMICAL AND
SENSORY CHARACTERISTICS OF A WINE CHARDONNAY OBTAINED WITH
DIFFERENT FORMS OF NITROGEN NUTRITION**

GABRIELA ALEJANDRA CASTRO SALINAS

SANTIAGO-CHILE

2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EVALUACIÓN DE DOS LEVADURAS, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES DE UN VINO CHARDONNAY
OBTENIDO CON DIFERENTES FORMAS DE NUTRICIÓN NITROGENADA.**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Enología y Viticultura

GABRIELA ALEJANDRA CASTRO SALINAS

PROFESORES GUÍAS

Sr. Eduardo Loyola M.
Ingeniero Agrónomo, Enólogo M.S. Dr.

CALIFICACIONES

6,3

PROFESORES EVALUADORES

Sra. Cielo Char A.
Bioquímico, Mg. Sc. Dr.

5,3

Sra. Paola Silva C.
Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. Dr.

6,3

SANTIAGO-CHILE
2014

AGRADECIMIENTOS

A Cristóbal por ser mi fuente de amor, energía e inspiración vital.

A mi compañero y amigo Sebastián, por su apoyo, comprensión y motivación.

A mi profesor guía Dr, Eduardo Loyola, por su paciencia, voluntad y consejo sabio.

Este trabajo se realizó con la colaboración de:

- Viña Santa Rita S.A. Instalaciones y personal de la Bodega de Palmilla.
- Laffort Chile.
- Departamento de Agroindustria y Enología de la Universidad de Chile.

Mis mas sinceros agradecimientos por hacer este trabajo posible.

ÍNDICE

RESUMEN	4
Palabras claves	4
ABSTRACT	5
Key words.....	5
INTRODUCCIÓN	6
Ciclo de crecimiento de las levaduras y velocidad de la fermentación	6
Metabolismo nitrogenado durante la fermentación alcohólica	7
Compuestos aromáticos en los vinos	8
Evaluación sensorial de vinos.....	9
Objetivo General.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Lugar de estudio.....	10
Materiales	10
Método	11
Tratamientos y Diseño de Experimental.....	11
Procedimiento	11
Variables medidas	12
Análisis estadístico	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
Comportamiento fermentativo	14
Determinaciones analíticas del vino.....	18
Evaluación sensorial.....	20

Calidad general	20
Perfil aromático específico	27
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS.....	37
Anexo 1. Evaluación de calidad general.	37
Anexo 2. Evaluación perfil aromático.....	39

RESUMEN

La industria enológica, permanentemente desarrolla nuevos productos que buscan mejorar las características técnicas y organolépticas de los vinos elaborados. La decisión de uso debe equilibrar variables técnicas y económicas junto a la búsqueda de atributos de calidad reconocibles y valorables por el consumidor.

En este trabajo se comparó el efecto de dos levaduras sobre las características físicas, químicas y sensoriales de un vino Chardonnay obtenido con diferentes formas de nutrición nitrogenada. Para ello, se utilizó un mosto deficiente en nitrógeno asimilable al que se adicionó nitrógeno inorgánico (sal de amonio) y un suplemento nutritivo complejo.

Durante la fermentación alcohólica, mediante registros diarios de densidad, temperatura y conteos poblacionales de levaduras viables, se evaluó el comportamiento de las cepas utilizadas y se comprobó, que la velocidad y duración del proceso fermentativo, es diferente independiente del tipo de nutrición utilizada.

Los vinos fueron analizados físico químicamente y se comprobó que las diferencias obtenidas por efecto de las cepas de levaduras o por el tipo de nutrición nitrogenada, no comprometen analíticamente al producto final.

Sensorialmente, las cepas estudiadas presentaron diferencias cuantitativas y/o cualitativas respecto a atributos como intensidad aromática, aromas a frutos tropicales y aceptabilidad, mientras que el uso de un suplemento nutritivo complejo, generó diferencias en la percepción del panel de estos y otros atributos, como la persistencia, acidez y amargor.

Se pudo comprobar que el perfil aromático específico presentó diferencias por acción de la cepa de levadura utilizada, pero una suplementación compleja, no generó diferencias en tipo, cantidad e intensidad de descriptores aromáticos identificables por el panel.

Palabras claves

Fosfato diamónico; levaduras; nitrógeno orgánico; nitrógeno fácilmente asimilable; atributos sensoriales.

ABSTRACT

The wine industry, constantly develop new products to improve the technical and organoleptic characteristics of wines produced. The decision of use, must balance technical and economic variables beside obtaining appreciated quality attributes by the consumer.

In this study, the analytical and sensory effect of wine obtained with two yeasts and different forms of nitrogen nutrition, using a Chardonnay grape juice, deficient in this element was compared

Through daily records of density, temperature and counts of viable population it was demonstrated that the breeds of yeast respond differently on the rate fermentation and duration of the process regardless of the type of nitrogen nutrition.

The analytical differences obtained, product of the effect of the yeast breeds or the type of nitrogen nutrition, does not compromise final parameters of wine.

The studied breeds showed quantitative and/or qualitative sensorial differences especially on aromatic intensity, aromas of tropical fruits and acceptability. The use of a complex nutritional supplement made differences in the perception of the panel of these and other attributes, such as persistence, acidity and bitterness.

The aromatics profiles due the actions of yeast breeds were different, however a complex supplementation were not generated differences on quantity and intensity of aromatics descriptors recognizable by the panel.

Key words

Diammonium phosphate; yeast; organic nitrogen; free amino nitrogen; sensory attributes.

INTRODUCCIÓN

La fermentación alcohólica, es uno de los procesos más importantes en la elaboración de vino, y consiste en términos simples, en una transformación enzimática de los azúcares del mosto, en etanol y CO₂, por acción metabólica de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. Su seguimiento y monitoreo es fundamental pues, una detección oportuna de desviaciones respecto del perfil fermentativo normal, permite controlar el proceso y conducirlo a término, bajo los estándares de calidad deseados (Bisson y Butzke, 2000).

Existen amplios estudios sobre sus características y variables de manejo, no obstante, el desarrollo de productos y procesos de optimización, constituyen un desafío de interés permanente para la industria enológica. Las levaduras industriales son ejemplo de ello y resultado de diversos métodos de selección de la flora nativa. Lambrechts y Pretorius (2000); Fleet (2003) y Domizio *et al.* (2007), indican que los vinos obtenidos con cepas *Saccharomyces cerevisiae* comerciales difieren significativamente de vinos fermentados con levaduras nativas. Estos preparados, en general, garantizan con gran nivel de confianza, las características técnicas y organolépticas descritas por el fabricante. Sin embargo, muchas de las investigaciones y conocimiento adquirido, es producto de trabajos realizados en condiciones de laboratorio y con fines diversos; por tanto, realizar ensayos, evaluar insumos enológicos adaptados a las materias primas, tecnología, y protocolos, es una práctica que contribuye a la toma de decisiones enológicas informadas.

Ciclo de crecimiento de las levaduras y velocidad de la fermentación

Las levaduras, en medios con una alta concentración de azúcares, obtienen su energía exclusivamente por vía fermentativa. Durante la fermentación alcohólica, su ciclo de crecimiento consta de tres fases características. En la primera, las poblaciones de levaduras muestran un incremento rápido y limitado, que se extiende por dos a cinco días; le sigue una fase estacionaria, donde se equilibran nacimiento y mortalidad de células, y finalmente una tercera fase de declinación donde se reduce progresivamente la población viable. En las dos primeras fases de crecimiento, la velocidad de fermentación es máxima y prácticamente constante, mientras que en la tercera fase y final, la fermentación se hace más lenta y habitualmente, tres a cuatro veces más larga que las anteriores (Ribereau-Gayon *et al.*, 2008).

El desarrollo de la fermentación está directamente ligado a este ciclo, y a las operaciones realizadas en el proceso de elaboración, tales como el prensado de uvas, nivel de clarificación del mosto, aireación, acidificación, temperaturas de inoculación y

fermentación, suplementación nitrogenada, entre otras; las que condicionan directamente la velocidad de las reacciones metabólicas (Bisson, 1999).

Metabolismo nitrogenado durante la fermentación alcohólica

El mosto es un medio complejo que contiene todos los constituyentes necesarios para el crecimiento y actividad fermentativa, pero no en concentraciones balanceadas. Los azúcares (glucosa y fructosa), elementos minerales y vitaminas, habitualmente exceden las necesidades nutricionales, mientras que las fuentes nitrogenadas son altamente variables en composición y cantidad, actuando en la práctica, como factores limitantes del crecimiento, tasa y tiempo de fermentación (Thaillandier *et al.*, 2007).

El nitrógeno utilizado para la síntesis de proteínas y rendimiento de biomasa, se encuentra en forma de amonio (nitrógeno inorgánico), α -aminoácidos, proteínas y péptidos (nitrógeno orgánico) y su concentración y disponibilidad depende de diversos factores como la variedad de la uva, el grado de madurez, las características edafoclimáticas y aspectos tecnológicos (Henschke y Jiranek, 1993).

Durante la fermentación alcohólica, y en respuesta al desbalance al que son sometidas, *Saccharomyces cerevisiae* utiliza selectivamente las fuentes nitrogenadas más asimilables y de mejor calidad (amonio, glutamina y asparagina) y reprime el uso de fuentes más pobres como estrategia adaptativa (Cooper, 2002).

El catión amonio, es muy asimilable y por sí sólo satisface todas las necesidades de las levaduras, incluida la síntesis de aminoácidos, por tanto, *Saccharomyces cerevisiae* no tiene necesidad de un aporte obligatorio de ellos, pero se ha descrito que una adición de nitrógeno orgánico en una concentración equilibrada, genera un efecto estimulante mayor que el del nitrógeno amoniacal y actúan como precursores aromáticos, favoreciendo la formación de esteres etílicos asociados a aromas frutales (Bisson, 1996 y Bordeu, 1998).

La cantidad de nitrógeno requerido para no tener problemas fermentativos depende de la composición del medio y de la cepa del género *Saccharomyces sp.* utilizada, pues estas son ampliamente variables en sus demandas nitrogenadas. Sin embargo, se ha demostrado que una adición de nitrógeno es necesaria a valores inferiores de nitrógeno fácilmente asimilable (FAN) de 140 mg L^{-1} (Bell y Henschke, 2005)

Varela, Pizarro y Agosin (2004), señalan que levaduras sometidas a un medio deficiente de nitrógeno, desarrollan rendimiento de biomasa inferior, generando fermentaciones lentas o paralizadas. No obstante, el desequilibrio en la concentración de nitrógeno, es un problema

parcialmente resuelto en la enología, mediante el uso de sal de amonio y/o suplementos nutritivos complejos.

Compuestos aromáticos en los vinos

La elección de la cepa y el tipo de nutrición a utilizar debe equilibrar el objetivo principal, que es realizar una fermentación confiable, completa y en un tiempo acotado, junto con el desarrollo de perfiles aromáticos y gustativos deseados. El aroma del vino es el resultado final de una secuencia de procesos biológicos, bioquímicos y tecnológicos, constituido por sustancias volátiles (fracción libre), presentes en concentraciones variables, y por compuestos no volátiles ni odorantes (fracción ligada), susceptibles de liberar aromas por influencia de otros factores (Flanzy, 2000).

Wondra y Berovic (2001); Swiegers *et al.* (2006) y Vilanova y Sieiro (2006), describen a la fermentación alcohólica como el proceso de transformación más importante en la formación de los constituyentes volátiles del aroma. Los principales compuestos aromáticos fermentativos presentes en el vino son los alcoholes superiores, los ácidos grasos y sus esteres.

Los alcoholes superiores se encuentran en un contenido total de 400 - 500 mg L⁻¹ y su formación está ligada al metabolismo de aminoácidos por vía catabólica o por vía anabólica. Su producción, por tanto, es dependiente de la cepa de levadura, del perfil de utilización de aminoácidos, así como de la demanda de nitrógeno total. Son constituyentes de aromas secundarios y su impacto no es proporcional a su cuantía, pues individualmente son compuestos que no presentan olor marcado, pero juntos actúan sinérgicamente (Suárez, 2001).

Los ácidos grasos y sus esteres junto a los alcoholes, son los principales marcadores del aroma fermentativo. Son producidos en cantidades elevadas, generalmente de cadena corta, que individualmente son calificados como agradables y asociados al aroma frutal. Su producción y conservación está en relación estrecha con las condiciones de fermentación, concentración de oxígeno, temperatura y clarificación (Guth, 1997; Aragón *et al.*, 1998; Torija *et al.*, 2003 y Gomez-Miguez *et al.*, 2007).

La presencia y cantidad de compuestos aromáticos de un vino, se puede cuantificar mediante un análisis cromatográfico de gases. Sin embargo y dado que no todos los compuestos volátiles tienen propiedades aromáticas, sumado a que las concentraciones perceptibles de los compuestos que contribuyen al aroma son variables, y que existen relaciones de sinergismo y antagonismo entre ellos, hace necesario un análisis sensorial del

producto, de manera de acceder a la información de la forma más práctica posible (Campo *et al.*, 2005 y Loscos *et al.*, 2007).

Evaluación sensorial de vinos

El análisis sensorial del vino implica, mediante degustación, estimar y apreciar sus cualidades organolépticas. Es en sí mismo, un proceso subjetivo, pues depende de la interpretación de sensaciones, emociones y recuerdos que un determinado individuo pueda realizar al interactuar, sus receptores sensoriales con las moléculas presentes en el vino. Así, la percepción visual, gustativa y olfatoria, interrelaciona procesos bioquímicos y psicológicos de identificación (Stone y Sidel, 2004).

Con el fin de reducir la subjetividad del catador, se intenta que el proceso y descripción se realicen de una manera estandarizada, estableciendo normas respecto a todos los elementos que puedan afectar la apreciación, como los materiales a utilizar, salas de degustación, metodologías de análisis de atributos, terminología, entrenamiento y control de degustadores, entre otras, de manera de lograr la mayor rigurosidad posible del proceso (Noble *et al.*, 1987).

En el caso de un vino blanco joven, la cantidad y tipo de aromas perceptibles son algunas de las características sensoriales que el consumidor más reconoce, valora y prefiere. Su apreciación es compleja; pues es el resultado de la presencia, cuantía e interacción de constituyentes químicos volátiles de naturaleza y origen diverso, que se producen y liberan en la cadena biotecnológica de elaboración y conservación (Flanzy, 2000 y De la Presa-Owenace, 2004).

Elaborar vinos acordes a las preferencias del consumidor, es un desafío constante para la industria enológica. Información de uso práctico, como la que se presenta a continuación, contribuye a que el enólogo pueda elegir un método de trabajo, en coherencia al estilo de vino que desea obtener, la materia prima disponible y los productos de uso enológico, ofrecidos por la industria.

Objetivo General

Evaluar el efecto de dos levaduras sobre las características físicas, químicas y sensoriales de un vino Chardonnay obtenido con diferentes formas de nutrición nitrogenada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El ensayo y los análisis físicos químicos, se realizaron en la bodega y laboratorio enológico de Viña Santa Rita S.A., ubicados en Fundo Las Majadas s/n, comuna de Palmilla, provincia de Colchagua, región del Libertador General Bernardo O'Higgins, durante la vendimia 2011.

Las evaluaciones sensoriales del estudio se efectuaron en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Alimentos del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

La investigación se realizó con uvas del cv. Chardonnay, proveniente de un viñedo de la empresa establecido en Fundo El Consuelo s/n, comuna de Pumanque, provincia de Colchagua, región del Libertador General Bernardo O'Higgins.

Se utilizaron dos levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* producidas industrialmente en formato seco activo. Las cepas utilizadas fueron EC1118 (LALVIN), obtenida por selección en la región de Champagne, Francia y Zymaflore X16 (LAFFORT), proveniente del cruzamiento o conjugación de cepas parentales.

La suplementación nitrogenada se realizó con fosfato diamónico, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (PRAYON S.A.), en formato de polvo granulado y con Nutristart Arom (LAFFORT), preparación de levaduras inactivas enriquecido con aminoácidos, sales de amonio y vitamina B1, comercializado como un activador de efecto dual, que favorece la nutrición y desarrollo de las levaduras durante la fermentación alcohólica, y que optimiza la producción de aromas fermentativos.

Para el establecimiento de los tratamientos, se utilizaron bidones plásticos de 20 L, en cuyo interior se realizaron las fermentaciones, un bins plástico con agua y un pequeño serpentín conectado a la red de frío que mantuvo la temperatura dentro de los rangos requeridos para el ensayo. El vino terminado se envasó en botellas de 750 mL.

Para los análisis químicos básicos se utilizó material de vidrio y reactivos de uso común.

Un panel entrenado compuesto por 12 personas realizó los análisis sensoriales de los vinos resultantes. El material de vidrio (copas) y las instalaciones reglamentarias para este tipo de evaluación fueron proporcionados por el Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Método

Tratamientos y Diseño de Experimental

Para evaluar el objetivo de este ensayo, se realizaron tres tratamientos (T1, T2 y T3) con cuatro repeticiones. El detalle de cada uno se presenta a continuación en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos realizados para el ensayo.

Tratamiento	Levadura	Suplemento Nutritivo
T1 (control)	EC1118	Fosfato diamonio
T2	Zymaflore X16	Fosfato diamonio
T3	Zymaflore X16	Nutristart Arom

El tratamiento control (T1) corresponde a la combinación de levaduras y nutrición usada habitualmente por la empresa.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con tres tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental fueron 12 bidones plásticos de 20 L de capacidad y la unidad muestral fue una botella de vino de 750 mL.

En el análisis sensorial, las repeticiones correspondieron a los 12 evaluadores miembros del panel y la unidad muestral correspondió a 3 L de vino.

Procedimiento

La cosecha se realizó en forma manual, los racimos se transportaron a la bodega, temprano en la mañana, en bins plásticos con una aplicación superficial de metabisulfito de potasio.

Tras la recepción en el pozo, los racimos se despallaron y los granos obtenidos siguieron la ruta hacia la prensa neumática pasando por un intercambiador de calor, que ayudó a enfriar la vendimia a 12°C, previo al prensado.

El mosto utilizado para todos los tratamientos y sus respectivas repeticiones se obtuvo a partir del primero de dos cortes de prensa, es decir, correspondió al mosto “gota” de mejor calidad, al cual se le aplicó una dosis de 1,0 g hL⁻¹ de enzimas pectolíticas y se decantó por 24 horas en cuba de acero inoxidable a una temperatura entre 5,0 – 8,0 °C.

Tras el desborre, el nivel de turbidez obtenido fue de 150-200 NTU, según el protocolo de vinificación para esta variedad establecido por la empresa colaboradora. Se escogió un mosto medianamente pobre en nitrógeno, esto es con un rango de nitrógeno fácilmente asimilable FAN entre 80 y 150 ppm.

La inoculación se realizó con una temperatura del mosto de 13° C, con una dosis de 20 g hL⁻¹ de levadura. Durante la fermentación se mantuvo la temperatura entre 15 y 16° C. Al final de la fermentación, bajo densidad 1005 g cm⁻³, se permitió un aumento de temperatura hasta 18° C.

En el caso del T1 y T2, se adicionaron sales de amonio para alcanzar una concentración de nitrógeno fácilmente asimilable de 250 ppm, dividido en dos aplicaciones a densidad 1080 g cm⁻³ y 1060 g cm⁻³ respectivamente. Para el T3 se realizó una aplicación a densidad 1080 g cm⁻³ de Nutristart Arom para alcanzar la concentración recomendada.

Los vinos obtenidos se separaron de las lías y se sulfitaron a 30 ppm de SO₂ libre.

Variables medidas

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el comportamiento fermentativo, se llevó un registro diario de densidad mediante el método aerométrico y un recuento de levaduras totales, además se determinó el porcentaje de viabilidad, utilizando una cámara de Neubauer y tinción de azul de metileno (Loyola y Prieto, 2006).

Las determinaciones analíticas del mosto correspondieron a la medición de Nitrógeno fácilmente asimilable, expresado en ppm de FAN, determinados por el índice de formaldehído según Bordeu y Scarpa (1998) y el grado de turbidez expresado en NTU, usando un turbidímetro portátil HANNA modelo HI 93125.

Para el vino, se realizaron las determinaciones analíticas indicadas a continuación:

- Grado alcohólico, por destilación y aerometría (Bordeu y Scarpa, 1998).

- pH, por potenciometría, usando pH-metro HANNA 211.
- Acidez de titulación, expresada en (g L⁻¹ de ácido tartárico), usando NaOH 0,1 N y fenolftaleína como indicador (Bordeu y Scarpa, 1998).
- Acidez volátil, expresada en (g L⁻¹ de ácido acético) y usando el Método de Blarez (Bordeu y Scarpa, 1998).
- Azúcares reductores, expresado en (g L⁻¹ de glucosa) y a través del Licor de Fehling (Bordeu y Scarpa, 1998).
- Anhídrido sulfuroso libre y total, expresados en (ppm) y a través del método de aspiración (Bordeu y Scarpa, 1998).

En la evaluación sensorial se utilizó un método descriptivo aplicando una pauta no estructurada con escalas de 0 a 15 cm y con la participación de 12 evaluadores miembros de un panel entrenado (Araya, 2006).

Se determinaron características de calidad general y aceptabilidad, mediante la apreciación de atributos olfato gustativos de interés y el perfil aromático específico considerando presencia e intensidad de descriptores aromáticos típicos de la variedad.

Los parámetros evaluados se presentan en los anexos I y II.

Análisis estadístico

El comportamiento fermentativo de cada tratamiento se evaluó mediante un análisis de varianza de las velocidades o pendientes obtenidas en cada una de las tres etapas características del proceso fermentativo y de la población total de levaduras viables.

Mediante el mismo análisis se evaluaron los parámetros físicos y químicos de cada una de las repeticiones.

La evaluación sensorial de calidad general y de perfil aromático específico se realizó mediante análisis de varianza con bloqueo y se complementó con un análisis cualitativo de las frecuencias de respuestas por clase.

Para los análisis estadísticos se utilizó el software estadístico Minitab 17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento fermentativo

Con los datos de temperatura y densidad promedio de las repeticiones, se obtuvieron las curvas del proceso fermentativo para cada tratamiento (Figura 1).

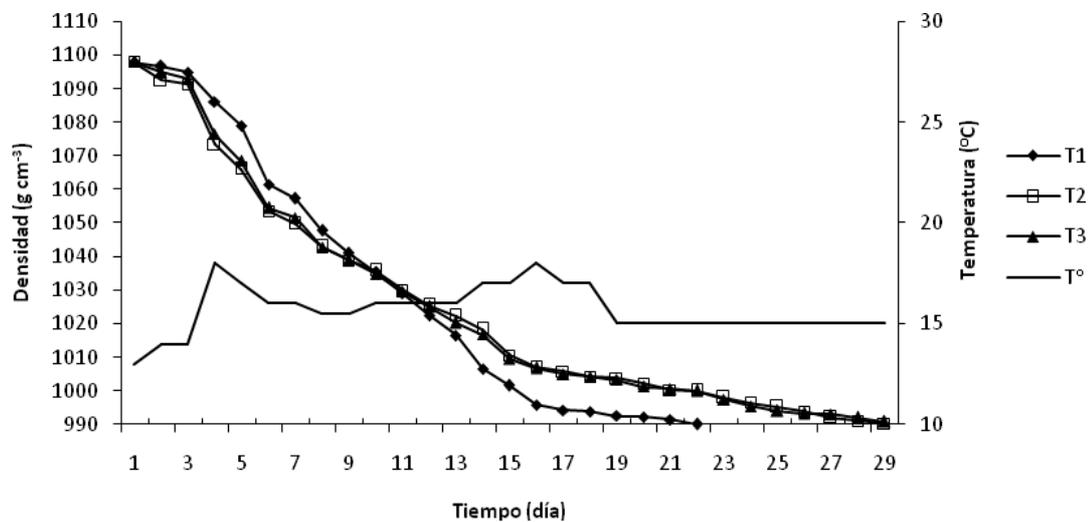


Figura 1. Curvas de fermentación promedio de los tratamientos.

El recuento de levaduras totales diario y el cálculo del porcentaje de viabilidad en los distintos tratamientos permitió elaborar las curvas de crecimiento de población viable, presentadas en la Figura 2.

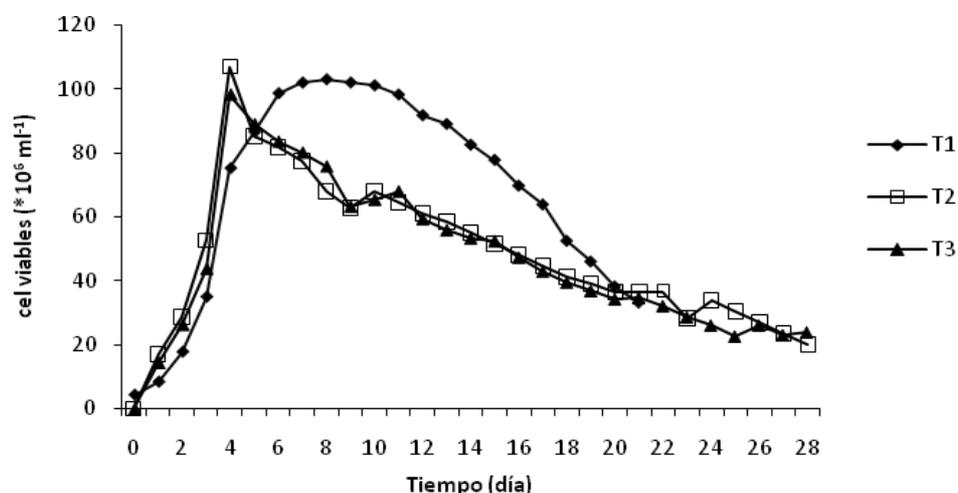


Figura 2. Curva de crecimiento de levaduras viables por tratamiento.

El comportamiento fermentativo se relacionan directamente con el crecimiento, desarrollo y metabolismo de las levaduras en el medio, condicionado por variables propias del mosto y de los manejos operacionales. El análisis de las pendientes obtenidas en las Etapas I, II y III se presentan en los cuadros 2 y 3.

Cuadro 2. Pendientes de fermentación por etapa.

Tratamientos	Etapa I	DS	Etapa II	DS	Etapa III	DS
T1	-7,82 a	± 0,19	-6,05 b	± 0,64	-1,75 b	± 0,19
T2	-9,14 b	± 0,37	-4,50 a	± 0,07	-1,56 ab	± 0,07
T3	-8,96 b	± 0,13	-4,96 a	± 0,20	-1,46 a	± 0,03

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0,05$)

Cuadro 3. Pendiente de levaduras viables por etapa.

Tratamientos	Etapa I	DS	Etapa II	DS	Etapa III	DS
T1	17,00 b	± 1,05	-3,05 a	± 1,76	-6,96 b	± 1,02
T2	20,58 a	± 0,26	-3,10 a	± 0,31	-2,30 a	± 0,04
T3	20,40 a	± 0,18	-3,83 a	± 0,11	-2,31 a	± 0,05

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0,05$)

En la Etapa I del proceso, es decir, cuando la población de levaduras experimenta un crecimiento acelerado, la curva de fermentación de la cepa EC1118 (T1), presentó una velocidad promedio menor y estadísticamente diferente, respecto a las velocidades presentadas por la cepa Zymaflore X16 (T2 y T3), las cuales, no presentaron diferencias entre sí. Además, el valor de la pendiente de la curva poblacional de levaduras viables de la cepa EC1118, en promedio fue menor y diferente que las de Zymaflore X16, por tanto, es posible indicar en suma, que la cepa Zymaflore X16 presentó mejores características de implantación en el mosto, y mostraron una tasa de crecimiento y actividad fermentativa

mayor respecto de EC1118, cuando la cantidad de etanol del medio es escasa y previo a la suplementación nitrogenada programada para el ensayo.

En la segunda etapa de la fermentación, las condiciones de restricción aumentan, y progresivamente los sistemas fisiológicos de las levaduras son inhibidos. La sobrevivencia, por tanto, exige un mayor gasto energético. Las poblaciones de levaduras de la cepa EC1118 suplementadas con sales de amonio, presentaron en esta etapa un comportamiento estable, con tasas de nacimiento y mortalidad que tendieron al equilibrio durante varios días, a diferencia de las poblaciones de la cepa Zymaflore X16 que, bajo las dos modalidades de nutrición, mantuvieron una tendencia continua a la baja, y por ende, una desaceleración en la velocidad de fermentación, expresada en pendientes mayores y diferentes de la cepa EC1118. En consecuencia, con una nutrición compuesta exclusivamente de sales de amonio, EC1118 presentó una velocidad de fermentación mayor respecto de Zymaflore X16, independiente del tipo de nutrición.

Los resultados obtenidos corroboran lo señalado por Egli *et al.* (1998) y Mas *et al.* (2013) quienes señalan que las cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, tienen una respuesta fermentativa diferente y técnicamente su comportamiento varía a iguales condiciones del medio.

Pretorius (2000), describe que no sólo la cantidad, sino la calidad de la nutrición es un factor que condiciona la respuesta metabólica de las levaduras. Así, una suplementación compuesta de nitrógeno orgánico y mineral, en conjunto con vitaminas y levaduras inactivas, ayudaría a desintoxicar el medio y proveer la nutrición suficiente, oportuna y equilibrada, que contribuiría a una condición fisiológica capaz, de asegurar la sobrevivencia y actividad fermentativa, ante condiciones desfavorables crecientes. Sin embargo, la asimilación de aminoácidos, depende del funcionamiento de los sistemas de transporte y de la regulación de los sistemas metabólicos, y dada la diversidad constitutiva de los mostos, las cepas no responden homogéneamente. Las levaduras eligen los aminoácidos más asimilables para transformarlos fácilmente, pero no necesariamente son los elementos constitutivos más importantes, también varían en mayor o menor medida su uso, dependiendo de la disponibilidad de otros aminoácidos. Bajo las condiciones de este ensayo, no se pudo comprobar que el desarrollo de las levaduras fuera favorecido y una suplementación de este tipo, comparada con la sal de amonio, no mostró diferencias sobre las velocidades de fermentación y crecimiento de levaduras de la cepa Zymaflore X16 en la misma línea con lo expuesto por otros trabajos (Salmon, 1989; Bely *et al.*, 1990; Blateyron y Sablayrolles, 2001; Cramer *et al.*, 2002 y Vilanova *et al.*, 2007).

Estudios similares, indican que las distintas cepas de levaduras requieren concentraciones de nitrógeno variables para obtener su biomasa máxima (Valor de Referencia de Nitrógeno o NRV); por tanto, si la concentración de nitrógeno es suficiente para alcanzar el máximo poblacional, el efecto de una nutrición compleja sobre la velocidad de fermentación y el crecimiento poblacional, podría no ser evidenciado (Mas *et al.*, 2013).

El tiempo de fermentación es un factor a considerar al momento de evaluar la elección de cepas de levaduras y su nutrición. Habitualmente durante la vendimia, las bodegas presentan una alta demanda por espacio, la rotación de estanques de acuerdo a un tiempo programado, es una variable de importancia operacional. En el tercer tramo y final de la fermentación alcohólica, la fermentación con cepa EC1118 suplementada con nitrógeno mineral mantuvo una actividad fermentativa y población viable de levaduras mayor y diferente a las fermentaciones con la cepa Zymaflore X16 suplementada con ambas fuentes nitrogenadas, lo que indica que la levadura EC1118 presentó mayores aptitudes de sobrevivencia en presencia de un elevado contenido de alcohol, lo que permitió terminar la fermentación alcohólica siete días antes que Zymaflore X16.

En la misma línea, Torrea *et al.* (2011) concluyen que la concentración de nitrógeno asimilable disponible en el medio, modifica considerablemente el comportamiento fermentativo influyendo sobre la velocidad, duración de fermentación alcohólica, biomasa de levaduras formada y su viabilidad, sin embargo, el uso de distintos suplementos nitrogenados en mostos deficientes, corregidos a iguales valores moderados de FAN (320 mgN L^{-1}), generaron diferencias discretas sobre estos parámetros.

Determinaciones analíticas del vino

Finalizada la fermentación alcohólica, los vinos fueron analizados para evaluar el efecto de los tratamientos sobre los parámetros físico-químicos. Los resultados obtenidos, se presentan en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 4. Análisis físico químicos por tratamiento.

Tratamiento	Grado alcohólico (% v v ⁻¹)	DS	SO ₂ libre (ppm)	DS	SO ₂ total (ppm)	DS	pH	DS
T1	14,5 a	± 0,05	29,6 a	± 2,07	34,8 a	± 1,03	3,16 a	± 0,04
T2	14,5 a	± 0,10	28,0 a	± 2,07	34,6 a	± 1,51	3,14 a	± 0,02
T3	14,5 a	± 0,12	29,7 a	± 2,07	37,2 a	± 2,49	3,17 a	± 0,07

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí (p≤ 0,05)

Cuadro 5. Análisis físico químicos por tratamiento.

Tratamiento	Acidez volátil (g L ⁻¹ A. acético)	DS	Acidez total (g L ⁻¹ A. tartárico)	DS	Azúcar residual (g L ⁻¹ glucosa)	DS
T1	0,22 b	± 0,04	6,07 b	± 0,03	1,56 a	± 0,07
T2	0,13 a	± 0,02	5,98 b	± 0,18	1,87 b	± 0,14
T3	0,13 a	± 0,01	5,57 a	± 0,08	1,94 b	± 0,05

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí (p≤ 0,05)

Los datos sugieren que a pesar de que los vinos obtenidos con los distintos tratamientos, presentan diferencias estadísticamente significativas en varios de los parámetros evaluados, éstas son irrelevantes a nivel operacional y no comprometen la analítica del producto final.

Así, las levaduras estudiadas no difieren en su capacidad de conversión de azúcar a etanol, pues los vinos obtenidos en promedio, no presentaron diferencias en su graduación alcohólica final.

La acidez volátil, usada como indicador de alteración microbiológica del vino, y en consecuencia, relacionada a buenas prácticas de elaboración, conservación y calidad del producto, presentó diferencias significativas, sin embargo, todos los valores se encontraron muy por debajo del límite legal para vinos, de acuerdo a Ministerio de Agricultura, Chile que fija un valor menor o igual 1,50 g L⁻¹ de ácido acético, y para todos los destinos a nivel mundial, recomendado por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (O.I.V.), que sugiere valores inferiores a 1,20 g L⁻¹ de ácido acético. Comercialmente, el rango óptimo es fluctuante dentro de la normativa legal, sin embargo, un valor inferior a 0,50 g L⁻¹ de ácido acético, da cuenta de vinos sanos y estables microbiológicamente.

El azúcar residual obtenido en cada uno de los tratamientos, alcanzó diferencias significativas, sin embargo, los valores registrados fueron inferiores a $2,0 \text{ g L}^{-1}$ lo que técnicamente califica a los vinos como "secos", es decir, que han terminado su proceso fermentativo de manera exitosa y que, con una cantidad de anhídrido sulfuroso adecuada, pueden conservarse de manera segura, con escasa probabilidad o riesgo de alteraciones microbiológicas y/o refermentaciones indeseadas.

Los valores de acidez total de las cepas EC1118 y Zymaflore X16 suplementadas con sal de amonio, no presentaron diferencias significativas entre sí, pero ambas fueron mayores y diferentes respecto al tratamiento de la cepa Zymaflore X16, con un suplemento nutritivo complejo. Se puede sugerir que los tratamientos medidos, con valores mayores, pudieron producir durante el proceso ácidos orgánicos detectables por el método analítico, pero dado que éstos no fueron cuantificados individualmente, no es posible asegurar que alguna de las levaduras estudiadas tenga un impacto mayor sobre este parámetro.

Respecto al pH, Torrea *et al.* (2011), verificaron valores menores y diferentes en el pH del mosto suplementado con nitrógeno orgánico, respecto a uno con uso exclusivo de nitrógeno inorgánico. Además, se ha demostrado que la absorción de iones de amonio está asociado con la excreción de protones, como una manera de controlar el pH intracelular, acidificando el medio, mientras que la absorción de aminoácidos conduce a una excreción baja de protones (Peña *et al.*, 1987 y Torija *et al.*, 2003). Esta respuesta metabólica distinta, supone que los vinos suplementados sólo con amonio debieran presentar valores más bajos de pH, sin embargo y dado que el suplemento nutritivo complejo utilizado en este ensayo, contiene un porcentaje de nitrógeno inorgánico, se puede presumir que éste pudo influir parcialmente en el pH final del tratamiento y en consecuencia, no se pudo evidenciar las diferencias significativas esperables sobre este parámetro.

Las mediciones de anhídrido sulfuroso libre y total se realizaron tras el primer sulfitado, una vez que el vino fue separado de sus lías fermentativas. Estas variables analíticas no presentaron diferencias, lo que garantizó que las características sensoriales evaluadas por el panel entrenado no sufrieran alteraciones producto de este procedimiento.

Evaluación sensorial

Calidad general

Los resultados de los atributos de calidad general evaluados por el panel entrenado se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Atributos de calidad general de los tratamientos

Atributo evaluado	T1 (puntos)	DS	T2 (puntos)	DS	T3 (puntos)	DS
Intensidad Aromática	9,99 a	± 1,98	6,86 b	± 3,07	8,40 ab	± 3,12
Aroma a Frutos Tropicales	9,18 a	± 2,66	6,13 b	± 3,17	8,11 ab	± 2,64
Aroma a Frutos Cítricos	6,56 a	± 3,33	6,31 a	± 3,61	6,10 a	± 3,51
Aromas Herbáceos	4,96 a	± 3,13	4,40 a	± 3,57	4,15 a	± 2,88
Aromas Lácticos	7,08 a	± 3,64	6,87 a	± 4,01	5,77 a	± 3,32
Cuerpo	7,45 a	± 2,30	6,94 a	± 2,33	5,13 a	± 3,32
Dulzor	3,88 a	± 1,56	2,26 b	± 1,17	3,43 ab	± 1,93
Astringencia	3,84 a	± 1,65	3,82 a	± 1,75	4,43 a	± 2,24
Acidez	9,65 a	± 1,60	7,93 ab	± 2,69	7,87 b	± 2,93
Amargor	7,44 a	± 3,32	6,81 a	± 3,67	5,68 a	± 2,95
Persistencia	8,74 a	± 2,49	8,60 a	± 3,42	6,56 a	± 2,32
Aceptabilidad	4,58 b	± 1,98	7,49 a	± 2,14	8,20 a	± 2,01

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0,05$)

Tras el análisis estadístico se pudo verificar que, en general, las respuestas del panel presentaron una alta dispersión, expresada en valores altos de desviación estándar y dado que un análisis cuantitativo de los resultados en promedio podría omitir, en cierta medida, la opinión mayoritaria del panel, se complementó la discusión de los resultados sensoriales clasificando la frecuencia de las respuestas de acuerdo a las clases que se muestran en el Cuadro 7, de manera de validar cualitativamente la expresión de los panelistas.

Cuadro 7. Interpretación de evaluación de atributos sensoriales.

Interpretación de respuesta	Puntuación
Muy baja	0,00 - 2,99
Baja	3,00 - 5,99
Media	6,00 - 8,99
Alta	9,00 - 11,59
Muy Alta	12,00 - 15,00

Del análisis combinado, se puede indicar que el panel clasificó al vino obtenido con la cepa EC1118 suplementado con sal de amonio (T1), con una intensidad aromática alta a muy alta (83,3%), siendo mayor y diferente respecto del vino obtenido con la cepa Zymaflore X16 con un suplemento nutritivo complejo (T3), que a su vez presentó un valor mayor y diferente, al vino suplementado con nitrógeno mineral (T2), considerado por el 66,6% del panel con una intensidad aromática baja a media (Figura 3).

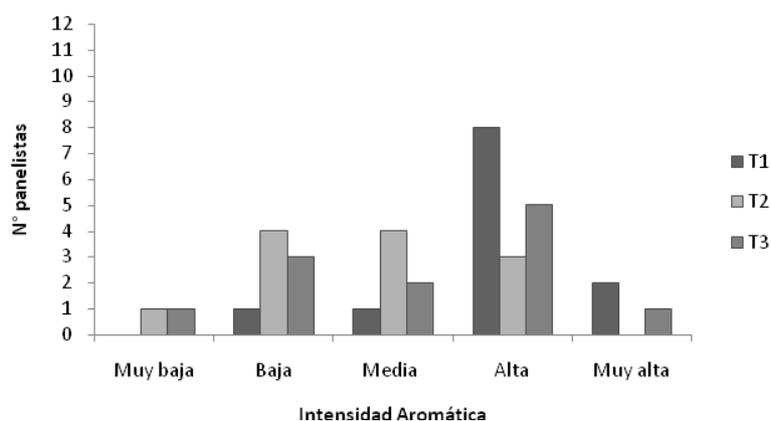


Figura 3. Niveles de intensidad aromática por tratamiento.

Asimismo, la Figura 4, muestra la distribución de la respuesta para el aroma a frutos tropicales, característicos de muchos vinos blancos varietales. La opinión mayoritaria del panel (83,3%), consideró al vino obtenido de la fermentación con la cepa EC1118 y nitrógeno mineral con una intensidad media a alta, mayor y diferente, respecto al vino de la cepa Zymaflore X16 con suplemento nutritivo complejo, que por su parte, fue considerado mayor y diferente, respecto del vino obtenido con la misma cepa suplementado con sal de amonio.

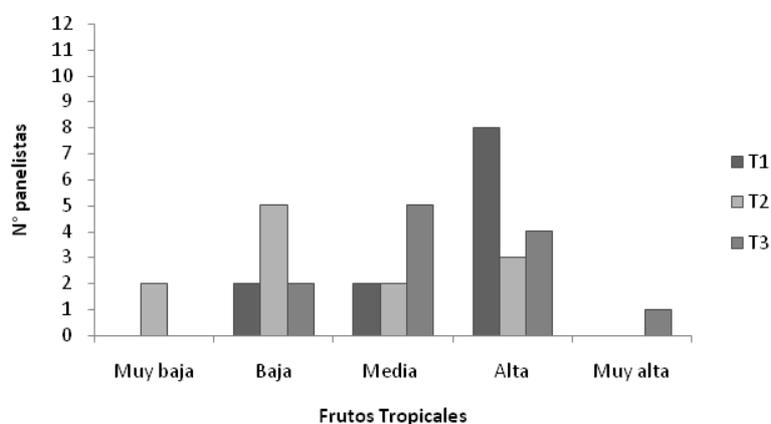


Figura 4. Intensidad de aroma a frutos tropicales por tratamiento.

En consecuencia, hay evidencia experimental que la cepa EC1118 genera vinos con mayor intensidad aromática y matices a frutos tropicales, y que una nutrición compleja favorece positivamente las características aromáticas del producto, en concordancia con lo expuesto por Guitart *et al.*, 1999, que señalan que los vinos ricos en esteres de etilo, asociados a aromas frutales, se obtienen de los mostos con el más alto contenido de aminoácidos.

En las figuras 5 y 6, se puede observar que el panel no fue concluyente respecto de que alguno de los tratamientos presentara un efecto claro sobre los aromas cítricos y tampoco sobre los aromas lácticos, característicos más bien de vinos Chardonnay que han realizado fermentación maloláctica. Las cepas en estudio, y las distintas formas de nutrición nitrogenada evaluadas, no presentaron diferencias estadísticamente significativas sobre ambos atributos.

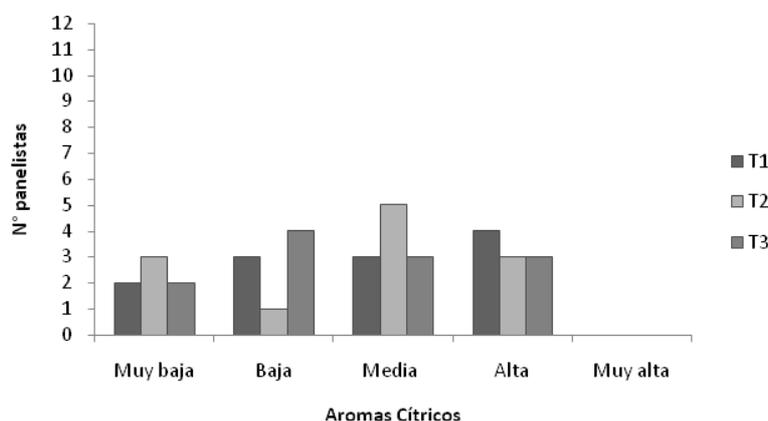


Figura 5. Intensidad de aromas cítricos por tratamiento.

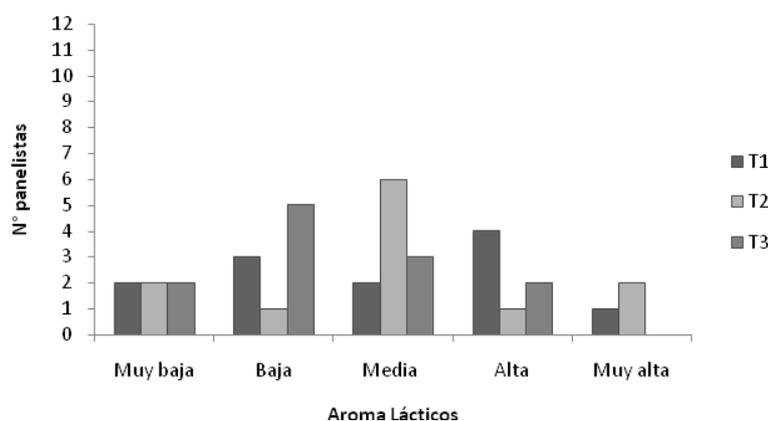


Figura 6. Intensidad de aromas lácticos por tratamiento.

La astringencia y los aromas herbáceos son atributos no deseables para un vino Chardonnay varietal. Los tratamientos evaluados por el panel, no presentaron diferencias significativas y las respuestas, presentadas en la figuras 7 y 8, indican que éstas se agruparon mayoritariamente en las categorías de muy baja a baja intensidad, de acuerdo a lo esperable para este tipo de producto.

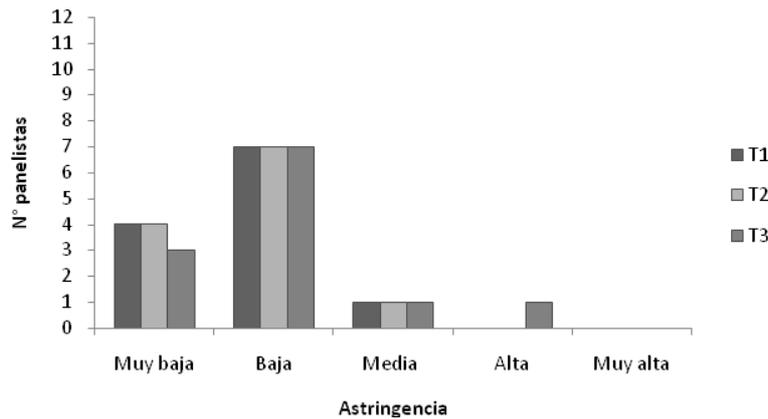


Figura 7. Niveles de astringencia por tratamiento.

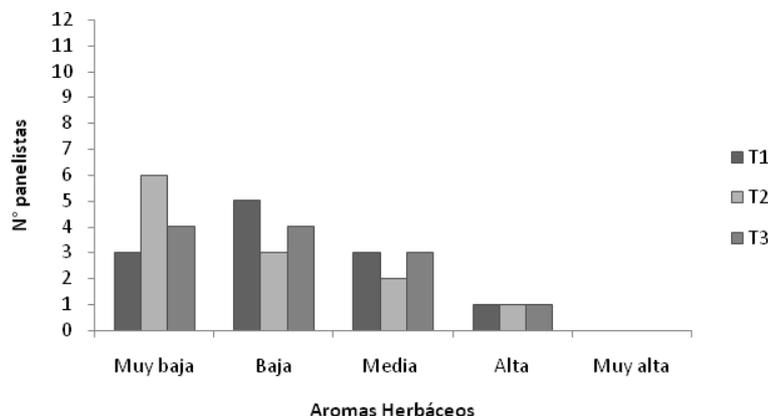


Figura 8. Aromas herbáceos por tratamiento.

En la Figura 9, se presenta la percepción sensorial de dulzor, que aunque presentó diferencias entre los tratamientos, estas no tienen significancia práctica ni operacional, dado que todos fueron calificados mayoritariamente por los panelistas en rangos de muy bajo a bajo, acordes a las mediciones analíticas de azúcar residual (Cuadro 5).

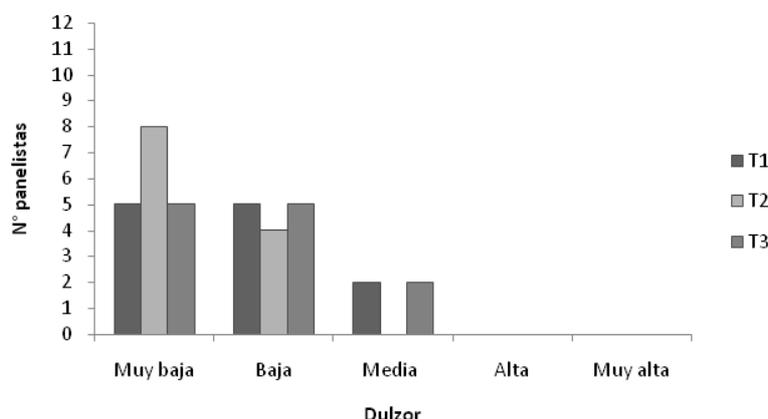


Figura 9. Niveles de dulzor por tratamiento.

La Figura 10, muestra la opinión del panel respecto a la sensación de acidez. Los vinos de las cepa EC1118 y Zymaflore X16 suplementados con sal de amonio, presentaron diferencias significativas entre sí, y ambos se evaluaron mayores y diferentes, respecto a los vinos obtenidos con Zymaflore X16 y un suplemento nutritivo complejo. El primer tratamiento, fue considerado por la mayoría del panel con una acidez alta, el segundo con una respuesta media a alta y el tercero muy baja a baja. La opinión del panel, muestra coherencia con la información analítica, anteriormente presentada para este atributo (Cuadro 5).

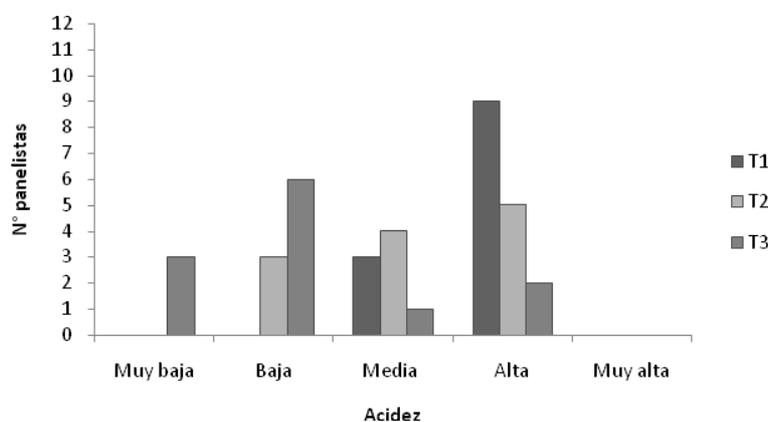


Figura 10. Niveles de acidez por tratamiento.

La Figura 11, muestra los resultados de la evaluación respecto al cuerpo de los vinos. El vino obtenido de la cepa EC1118, suplementado con sal de amonio y el de la cepa Zymaflore X16 con suplemento nutritivo complejo, fueron considerados respectivamente, por el 75,0% y el 66,6% de los panelistas en las categorías media a alta. Por su parte, el tratamiento de Zymaflore X16 con sal de amonio fue evaluado por el 75,0% con respuesta el resultado indica que una nutrición nitrogenada compleja puede tener impacto sensorial

sobre este atributo y que eventualmente su uso contribuiría a la obtención de vinos con mayor volumen en boca.

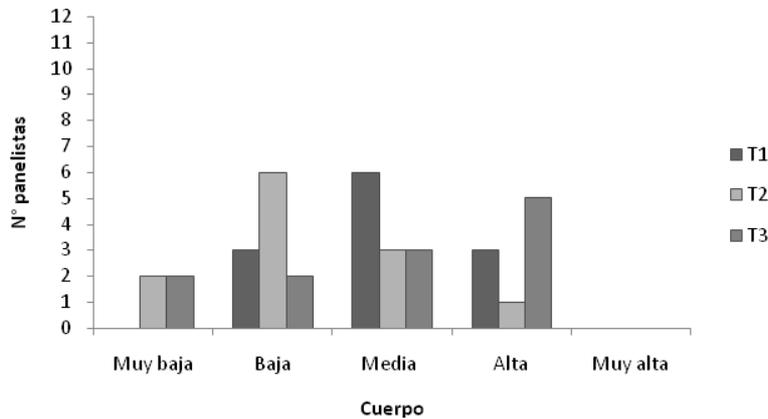


Figura 11. Distribución de las calificaciones de cuerpo de los tratamientos.

El amargor, no presentó diferencias significativas, sin embargo, como se muestra en la Figura 12, las respuestas se agruparon en un 75,0%, y un 58,8% en las categorías medias a altas, para los vinos de las cepas EC1118 y Zymaflore X16, ambos suplementado con sal de amonio y en un 75,0% como baja a media, para el vino de la cepa Zymaflore X16 con un suplemento nutritivo complejo. En consecuencia, el resultado indica que una nutrición compleja tendría efecto sobre este atributo sensorial indeseable, y que el uso de este tipo de producto, disminuiría esta característica, propia de vinos que han terminado recientemente su fermentación y que no han sido natural o inducidamente clarificados.

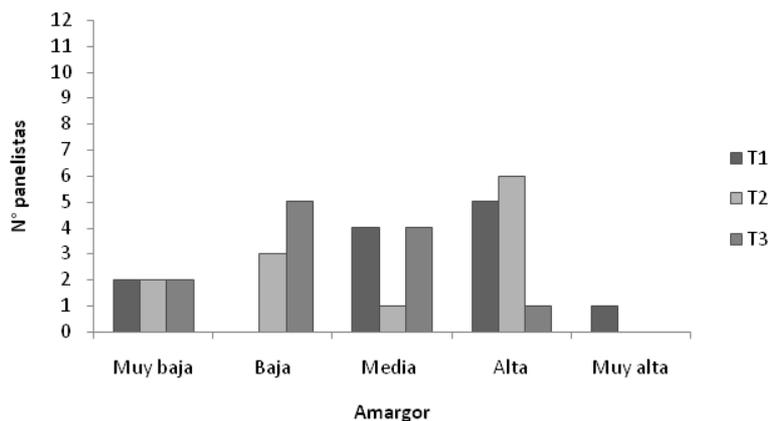


Figura 12. Niveles de amargor por tratamiento.

No se presentaron diferencias significativas de persistencia entre los tratamientos, sin embargo, las respuestas del panel (83,3%) se agruparon en las categorías de media a alta

para la cepa EC1118 con adición de nitrógeno mineral y para la cepa Zymaflore X16 con suplemento nutritivo complejo. Por tanto, la cepa EC1118 genera vinos mas persistentes que Zymaflore X16 y que una nutrición compleja, contribuye a mejorar esta característica respecto a la sal de amonio (Figura 13).

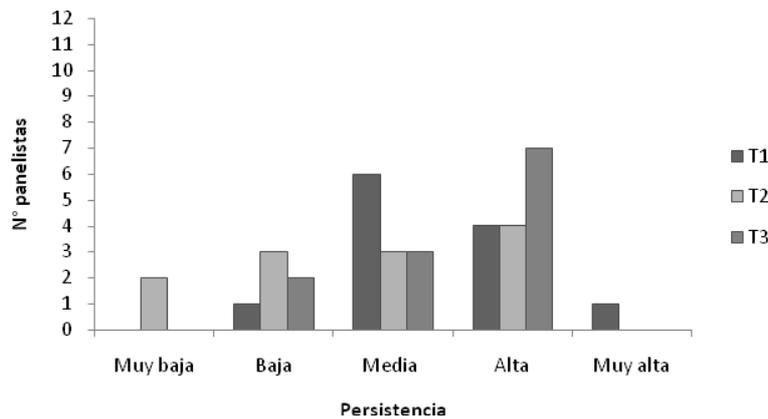


Figura 13. Niveles de persistencia por tratamiento.

De los parámetros sensoriales evaluados, la aceptabilidad es uno de los mas valorados pues da cuenta del tipo de producto que el consumidor prefiere y potencialmente elegiría. Respecto de este atributo, los vinos obtenidos de la cepa Zymaflore X16 con los dos tipos de nutrición nitrogenada, no presentaron diferencias y se calificaron con mayor aceptabilidad y diferentes respecto de los vinos de la cepa EC1118 con sal de amonio. El 83,3% del panel, los evaluó con una aceptabilidad media a alta, mientras que el vino de la cepa EC1118, presentó mayor dispersión de respuestas, pero todas agrupadas en las categorías muy baja, baja y media (Figura 14).

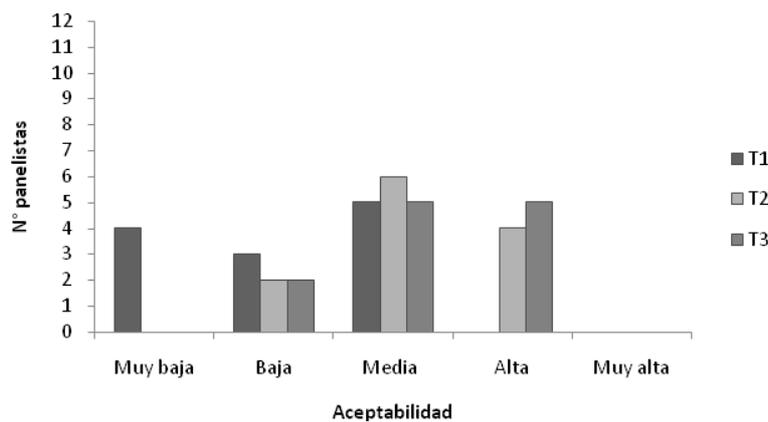


Figura 14. Distribución de la calificación de aceptabilidad de los tratamientos.

Perfil aromático específico

Los descriptores aromáticos específicos evaluados por los panelistas, se presentaron con una desviación estándar alta, lo que da cuenta que el panel no fue capaz de identificarlos con precisión. Los resultados se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Calificaciones de los descriptores aromáticos de los tratamientos

Descriptor Aromático	T1	DS	T2	DS	T3	DS
Manzana	6,90 a	± 2,99	2,55 b	± 1,54	2,86 b	± 1,28
Pera	4,49 a	± 3,72	4,70 a	± 2,33	4,04 a	± 3,19
Durazno	4,28 a	± 3,24	5,21 a	± 3,99	5,74 a	± 4,15
Damasco	4,10 a	± 3,20	3,60 a	± 3,57	4,39 a	± 4,16
Piña	8,10 a	± 3,67	6,86 a	± 3,73	6,17 a	± 3,59
Plátano	5,50 a	± 4,32	4,80 a	± 3,93	4,76 a	± 3,35
Mango	3,30 a	± 3,40	5,21 a	± 3,48	3,76 a	± 3,60
Limón	1,63 b	± 1,21	8,07 a	± 1,60	8,03 a	± 1,64
Melón	4,60 a	± 3,22	4,33 a	± 3,27	3,62 a	± 2,60
Frutos Secos	4,61 a	± 3,28	6,37 a	± 4,24	4,70 a	± 3,75
Aroma Medicinal	2,06 a	± 1,57	2,59 a	± 2,04	2,40 a	± 1,73
Miel	6,33 a	± 4,12	6,24 a	± 3,53	5,28 a	± 3,62
Pan	2,94 a	± 2,88	4,66 a	± 3,91	2,70 a	± 2,05
Bizcocho	2,87 a	± 2,09	3,26 a	± 2,32	2,93 a	± 1,88

Letras iguales no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0,05$)

El aroma a manzana del vino obtenido de la cepa EC1118 con sal de amonio fue considerado de intensidad mayor y diferente. Sin embargo, el 66,6% del panel, lo agrupó en las categorías baja a media, respecto a los vinos fermentados con la cepa Zymaflore X16 con ambas formas de nutrición nitrogenada, que fueron considerados por el 100% del panel en las categorías muy bajas y baja (Figura 15).

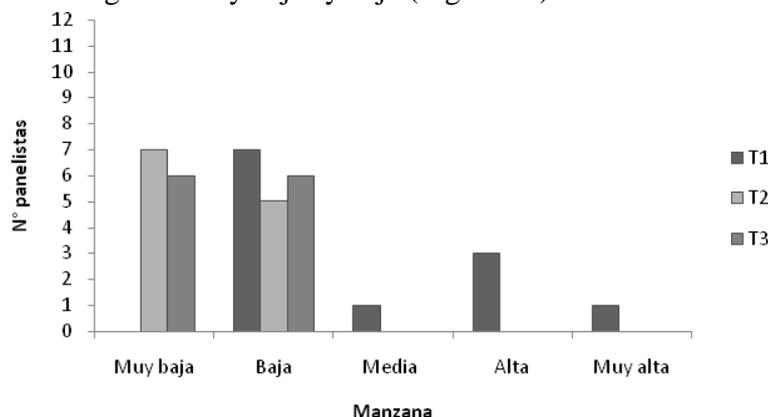


Figura 15. Distribución del aroma a manzana de los tratamientos.

Respecto al aroma a limón, el panel evaluó a los vinos obtenidos con la cepa Zymaflore X16 mas intensos y diferentes al de la cepa EC1118 con sal de amonio, considerado por el 100,0% del panel, con una respuesta muy baja y baja. Además, hay evidencia que es un aroma producido por el metabolismo de la levadura independiente del tipo de nutrición, pues el vino obtenido de la fermentación con Zymaflore X16 y un suplemento nutritivo complejo, no presentó diferencias, respecto del vino fermentado con la misma cepa y nitrógeno mineral, ambos evaluados mayoritariamente por el panel, en las categorías media a alta, como muestra la Figura 16.

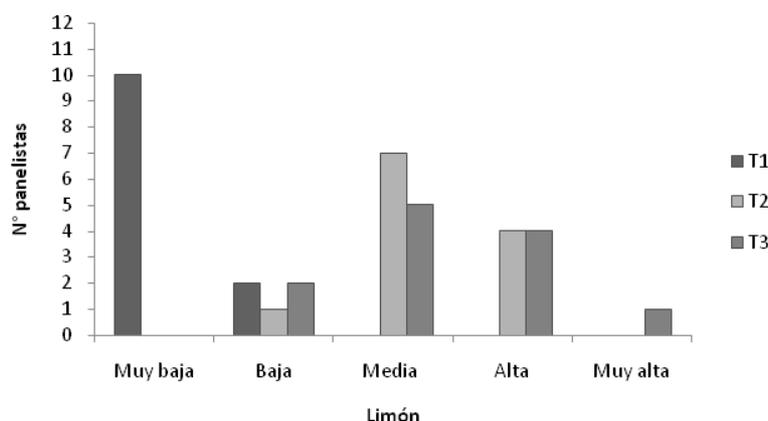


Figura 16. Distribución del aroma a limón de los tratamientos.

Los tratamientos en estudio no presentaron diferencias significativas para el descriptor aromático piña, sin embargo, como se muestra en la Figura 17, la mayoría del panel (75,0%) consideró que el vino de la cepa EC1118 suplementado con sales de amonio, presentó una respuesta media a alta para este aroma, respecto de los vinos de la cepa Zymaflore X16, que independiente de su nutrición nitrogenada, presentaron mayor dispersión de opiniones, y por tanto, el panel no fue capaz de reconocerlo de manera consistente.

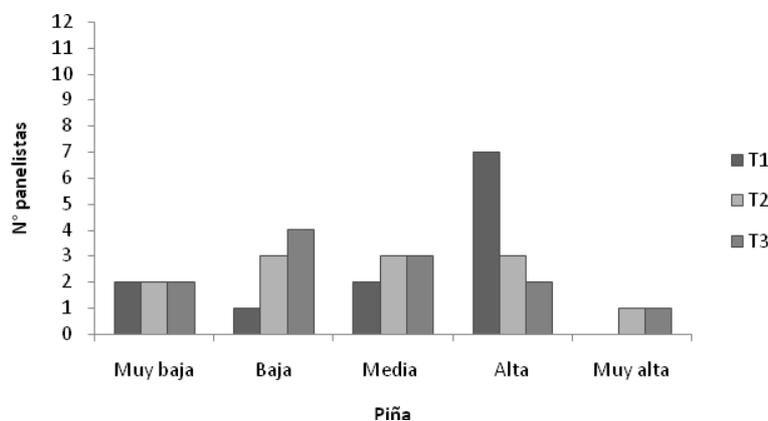


Figura 17. Distribución del aroma a piña de los tratamientos.

Asimismo, la opinión del panel no se mostró concluyente para los descriptores aromáticos de pera, durazno, damasco, mango, plátano, melón, miel y frutos secos, ya que las respuestas presentaron, en general una alta dispersión, por lo que no fue posible agruparlas ni detectar diferencias estadísticamente significativas.

Los aromas medicinales, no deseables para esta variedad, junto a los descriptores aromático de pan y bizcocho, no presentaron diferencias en promedio para ningún tratamiento. Sin embargo, las respuestas del panel mayoritariamente los identificaron en las categorías de muy baja y baja, como muestran las figuras 18, 19 y 20.

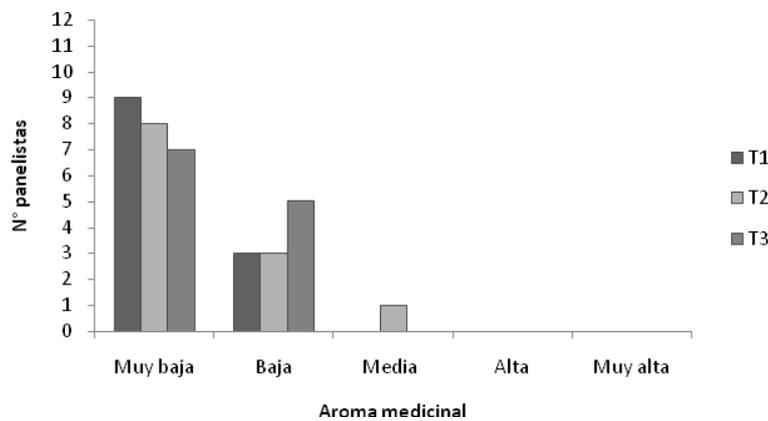


Figura 18. Distribución del aroma medicinal de los tratamientos.

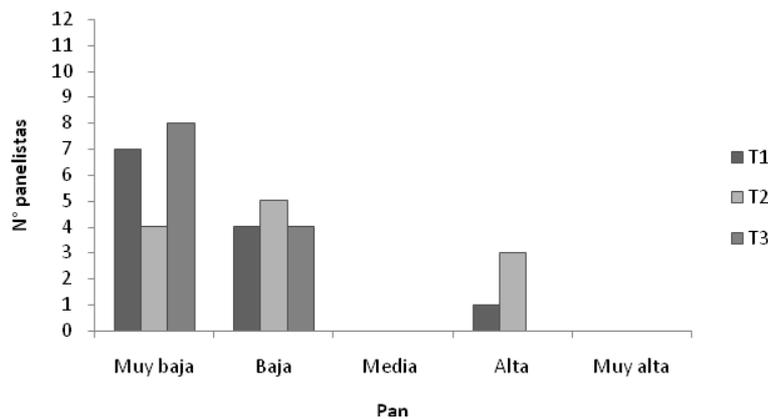


Figura 19. Distribución del aroma a pan de los tratamientos.

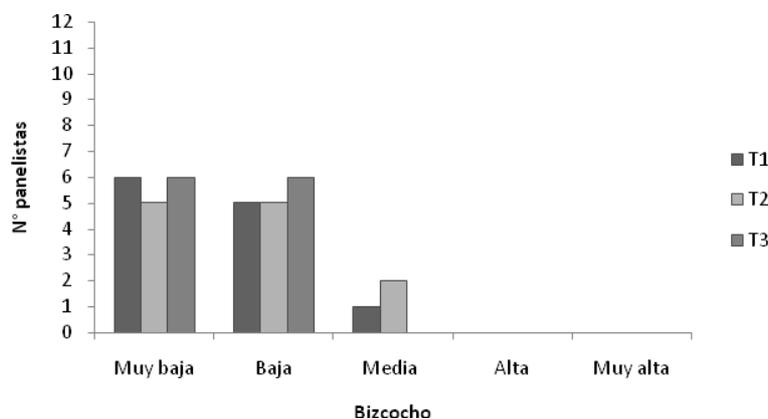


Figura 20. Distribución del aroma a bizcocho de los tratamientos.

En base a los resultados sensoriales obtenidos se demuestra que los parámetros de calidad y el perfil aromático específico de los vinos evaluados presenta diferencias en algunas de las variables atribuibles a la cepa de levadura utilizada, de acuerdo a lo corroborado por múltiples investigaciones precedentes, que demuestran que la producción de aromas fermentativos, se sustenta en la variabilidad de respuestas metabólicas, condicionadas genéticamente (Wondra y Berovic, 2001; Swiegers *et al.*, 2006; Vilanova y Sieiro, 2006 y Molina *et al.*; 2009).

Además, una nutrición compleja, respecto a una exclusiva con nitrógeno mineral, contribuye a mejorar algunos atributos de calidad general, pero su efecto no se demuestra cuantitativa y/o cualitativamente cuando se evalúan sensorial e individualmente los descriptores aromáticos específicos.

Diversos estudios han demostrado el efecto de una nutrición nitrogenada orgánica sobre la formación de compuestos aromáticos donde se describen diferencias significativas en el tipo y cantidad de ellos, sin embargo, éstas formas no necesariamente son reconocibles con facilidad y las relaciones entre ellas pueden generar interferencia en su apreciación (Torrea *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2007; Carrau *et al.*, 2008 y Torrea *et al.*, 2011). Se sugiere entonces, para futuras investigaciones avanzar en estudiar la correlación entre los compuestos aromáticos cuantificables y la apreciación sensorial de ellos.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones descritas para este ensayo y considerando los parámetros evaluados se puede concluir que:

El comportamiento fermentativo de las cepas de levaduras es diferente e impacta principalmente sobre la duración del proceso. No se comprobó que el uso de una suplementación nitrogenada compleja, genere diferencias respecto a la sal de amonio, en este aspecto.

Las cepas en estudio y las distintas formas de suplementación nitrogenada, generan diferencias en algunos de los parámetros físicos y químicos, pero éstas no comprometen analíticamente al producto final.

Sensorialmente, los vinos obtenidos presentan diferencias respecto a los atributos de calidad general y perfil aromático específico, relacionados principalmente con la levadura utilizada, destacando la intensidad aromática, aromas a frutos tropicales y aceptabilidad. El uso de un suplemento nitrogenado complejo, generó diferencias en la percepción de estos y otros atributos, como la persistencia, acidez y amargor.

BIBLIOGRAFÍA

- Aragón P., J. Atienza y M. Climent. 1998. Influence of clarification, yeast type, and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of Malvasia and Muscatel wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 49(2): 211-219.
- Araya E. 2006. Guía de laboratorio. Curso de Evaluación Sensorial de los Alimentos. Departamento de agroindustria y enología. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. 81.
- Bell S. and P. Henschke. 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11(3): 242-295.
- Bely M., J. Sablayrolles y P. Barre. 1990. Automatic detection of assimilable nitrogen fertilization of *Vitis vinifera* var *Thompson seedless* grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 47: 313-322.
- Bisson L. 1996. Nitrogen metabolism during fermentation. *In: Principles and practices of winemaking*. pp. 153-167. Boulton, R., V. Sigleton, L. Bisson, R. Kunkee. The Chapman and Hall Enology Library, Nueva York, Estados Unidos. 604p.
- Bisson L. 1999. Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 50: 107-119.
- Bisson L. y C. Butzke. 2000. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 51(2): 168-177.
- Blateyron L. y J. Sablayrolles. 2001. Stuck and slow fermentation in enology: statistical study of cause and effectiveness of combined additions of oxygen and diammonium phosphate. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91(2): 184-189.
- Bordeu, E. 1998. Niveles de amonio y nitrógeno fácilmente aprovechable para las levaduras. Algunas experiencias en Chile. pp. 173-184 *In: Tópicos de actualización en viticultura y enología*. Santiago, Chile, 21 - 23 Julio, 1998. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Bordeu, E. y J. Scarpa. 1998. Análisis Químico del Vino. Ediciones Universidad Católica de Chile. 253.
- Cacho, J. 2003. El vino, su composición y nuestros sentidos. pp 1-48 *In: Discurso de ingreso leído por el académico electo en acto de recepción solemne en La Real Academia*

de Ciencias Exactas Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza, 2 Diciembre, 2003. Zaragoza, España.

Campo E., V. Ferreira, A. Escudero y J. Cacho. 2005. Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic-headspace gas chromatography-olfactometry data. *Food Chemistry* 53(14): 5682-5690.

Carrau F., K. Medina, L. Farina, E. Boido, P. Henschke y E. Dellacassa. 2008. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strain. *Federation of European Microbiological Societies Yeast Research* 8(7): 1196-1207.

Cooper T. 2002. Transmitting the signal of excess nitrogen in *Saccharomyces cerevisiae* from the Tor proteins to GATA factors: connecting the dots. *Federation of European Microbiological Societies Microbiologicals Reviews* 26: 223-228.

Cramer A., S. Vlassides y D. Block. 2002. Kinetic model for nitrogen-limited wine fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* 77(1): 49-60.

De la Presa-Owenace, C. 2004. Las ciencias sensoriales, un puente de unión entre el enólogo y el consumidor. Revista electrónica Acenología 50 (Octubre). Disponible en http://www.acenologia.com/ciencia68_02.htm. Leído el 09 de Agosto de 2014.

Domizio P., L. Lencioni, M. Ciani, S. Di Blasi, C. Pontremolesi y M. Sabatelli. 2007. Spontaneous and inoculated yeast populations dynamics and their effect on organoleptic characters of Visanto wine under different process conditions. *International Journal of Microbiology* 115: 281-289.

Egli C., W. Edinger, C. Mittrakul y T. Henick-Kling. 1998. Dynamics of indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines. *Journal of Applied Microbiology* 85: 779-789.

Ferreira, V. 2007. La base química del aroma del vino. Un viaje analítico desde las moléculas hasta las sensaciones olfato – gustativas. *Revista Real Academia de Ciencias de Zaragoza* 62: 7-36.

Flanzy C., 2000. Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV Ediciones, Madrid, España. 797p.

Fleet G. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology* 86: 11-22.

Ribereau-Gayon P, D. Dubourdieu, B. Doneche, A. Lonvaud, Y. Glories y A. Maugean. 2008. Tratado de Enología. Volumen I: Microbiología del vino. Vinificaciones. Ediciones Hemisferio Sur Mundi Prensa. Buenos Aires. 1210 pp.

- Gomez-Miguez M., J. Cacho, V. Ferreira, I. Vicario y F. Heredia. 2007. Volatile components of Zalema white wines. *Food Chemistry* 100: 1464-1473.
- Guth H. 1997. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Food Chemistry* 45: 3027-3032.
- Guitart A., P. Hernandez Orte, V. Ferreeira, C. Peña y J. Cacho. 1999. Some observations about the correlation between the amino acid content of must and wines of the Chardonnay variety and their fermentation aromas. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(3): 253-258.
- Henschke P. y V. Jiranek. 1993. Metabolism of nitrogen compound. pp. 74-164. In: G. Fleet G. (Ed). *Wine Microbiology and Biotechnology*. Harwood Academic Publishers, Londres, Reino Unido. 510p.
- Lambrechts M. y I. Pretorius. 2000. Yeast and its importance to wine aroma - a review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21(Special Issue): 97-129.
- Loscos N., P. Hernandez-Orte, J. Cacho y V. Ferrerira. 2007. Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursor fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 3027-3032.
- Ministerio de Agricultura de Chile. Ley 18.455. Normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres. Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile, noviembre de 1985. 16p.
- Loyola E. y C. Prieto. 2006. Guía de Laboratorio Microbiología. Departamento de Agroindustria y Enología. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. 30.
- Mas A., G. Beltrán, M. Sancho, A. Gutiérrez, R. Chiva y J. Guillamón. 2013. Metabolismo nitrogenado de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación vínica. Revista electrónica Acenología 139 (Octubre). Disponible en http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/metabolismo_nitrogenado_scerevisiae_cien1013.htm. Leído el 15 de Septiembre de 2014.
- Miller A., S. Wolff, L. Bisson y S. Ebeler. 2007. Yeast strain and nitrogen supplementation: dynamics of volatile ester production in Chardonnay juice fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 58(4): 470-483.
- Molina A., V. Guadalupe, C. Varela, J. Swiegers, I. Pretorius y E. Agosin. 2009. Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strain. *Food Chemistry* 117: 189-195.

Noble A., R. Arnold, J. Buechsestein, E. Leach, J. Schmidt y P. Stern. 1987. Modification of a standardized system of wine aroma terminology. *American Journal of Enology and Viticulture* 38: 143-151.

Organización Internacional de la Viña y el Vino. 2014. Código Internacional de Prácticas Enológicas. París, Francia. 334p.

Peña A., J. Pardo, y J. Ramírez. 1987. Early metabolic effects and mechanism of ammonium transport in yeast. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 253(2): 431-438.

Pretorius I. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16: 675-729.

Salmon J. 1989. Effect of sugar transport inactivation in *Saccharomyces cerevisiae* on sluggish and stuck enological fermentation. *Applied Environmental Microbiology* 55(4): 953-958.

Stone H. y J. Sidel. 2004. Sensory Evaluation Practices. 3^a ed. Academic Press Inc, San Diego, California, Estados Unidos. 377p.

Suárez, J. 2001. Impacto de levaduras y bacterias en los aromas vínicos fermentativos. Pp 2- 4 In: Libro de Ponencias. Análisis sensorial [vino] Sant Sadurní d'Anoia y Barcelona, España, 20 – 22 Junio, 2002. Sant Sadurní d'Anoia y Barcelona, España.

Swiegers J.,I. Francis, M. Herderich y I. Pretorius.2006. Meeting consumer expectations through management in vineyard and winery: the choice of yeast for fermentation offers great potential to adjust the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Australian Viticulture with the Australian and New Zealand Wine Industry Journal* 21: 34-42.

Thaillandier P., F. Ramon - Portugal, A. Fuster y P. Strehaiano. 2007. Effect of ammonium concentration on alcoholic fermentation kinetics by wine yeast for high sugar content. *Food Microbiology* 24: 95-100.

Torija M., G. Beltran, M. Novo, M. Poblete, J. Guillamón, A. Mas, N. Rozes. 2003. Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species in the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *International Journal of Food Microbiology* 85: 127-136.

Torrea D., P. Fraile, T. Garde y C. Ancín. 2003. Production of volatile compounds in the fermentation of chardonnay must inoculated with two strains of *Saccaromyces cerevisiae* with different nitrogen demands. *Food Control* 14: 565-571.

Torrea D., C. Varela, M. Ugliano, C. Ancin-Azpilicueta, I. Leigh Francis y P. Hanschke. 2011. Comparison of inorganic and organic nitrogen supplementation of grape juice - effect

on volatile composition and aroma profile of a Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Food Chemistry* 127: 1072-1083.

Varela C., F. Pizarro y E. Agosin. 2004. Biomass content governs fermentation rate in nitrogen-deficient wine must. *Applied and Environmental Microbiology* 70(6): 3392-3400.

Vilanova M. y C. Sieiro. 2006. Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeast to fermentative flavour compound in wines from cv. Albariño. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 33: 929-933.

Vilanova M., M. Ugliano, C. Varela, T. Siebert, I. Pretorius y P. Henschke. 2007. Assimilable nitrogen utilisation and production of volatile and non-volatile compounds in chemically defined medium by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology* 77: 145-157.

Wondra, M. and M. Berovic. 2001. Analyses of aroma components of chardonnay wine fermented by different yeast strains. *Food Technology and Biotechnology* 39: 141-148.

ANEXOS

Anexo 1. Evaluación de calidad general.

Nombre:

.....Fecha:.....

Instrucciones: La siguiente lista describe características de calidad olfato gustatorias de un vino blanco. Mediante una línea vertical indique la intensidad de su respuesta para cada término.

Muestra N°

Intensidad Aromática

0		15
Baja		Alta

Aroma a frutos tropicales

0		15
Sin aroma		Muy aromático

Aroma a frutos cítricos

0		15
Sin aroma		Muy aromático

Aromas Herbáceos (Vegetales)

0		15
Sin aroma		Muy aromático

Aromas lácticos

0		15
Sin aroma		Muy aromático

Cuerpo

0		15
Bajo		Alto

Dulzor

0		15
	Sin dulzor	Muy dulce

Astringencia

0		15
	Sin astringencia	Muy astringente

Acidez

0		15
	Baja	Alta

Amargor

0		15
	Sin amargor	Muy amargo

Persistencia

0		15
	Baja	Alta

Aceptabilidad

0		15
	Me disgusta extremadamente	Me gusta extremadamente

Comentarios:.....

Anexo 2. Evaluación perfil aromático

Nombre:

Fecha:

Instrucciones: La siguiente es una lista de descriptores aromáticos típico de un vino Chardonnay varietal. Mediante una línea vertical indique la intensidad de su respuesta para cada término.

Muestra N°

Manzana

0	15
Baja	Alta

Pera

0	15
Baja	Alta

Durazno

0	15
Baja	Alta

Damasco

0	15
Baja	Alta

Piña

0	15
Baja	Alta

Plátano

0	15
Baja	Alta

Mango

0	15
Baja	Alta

Limón

0	15
Baja	Alta

Melón

0	15
Baja	Alta

Frutos secos

0	15
Baja	Alta

Aroma Medicinal

0	15
Baja	Alta

Miel

0	15
Baja	Alta

Pan

0	15
Baja	Alta

Bizcocho

0	15
Baja	Alta

Comentarios:.....

