

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

**Memoria de Título**

**USO DE FUENTES NITROGENADAS EN FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y SU  
EFECTO EN EL AROMA DE UN VINO SAUVIGNON BLANC**

**MARCELO ALEJANDRO SÁNCHEZ FUENZALIDA**

**SANTIAGO, CHILE**

**2014**

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

**Memoria de Título**

**USO DE FUENTES NITROGENADAS EN FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y SU  
EFECTO EN EL AROMA DE UN VINO SAUVIGNON BLANC**

**USE OF NITROGEN SOURCES IN ALCOHOLIC FERMENTATION AND ITS EFFECT  
ON THE AROMA OF A WINE SAUVIGNON BLANC**

**MARCELO ALEJANDRO SÁNCHEZ FUENZALIDA**

**SANTIAGO, CHILE**

**2014**

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

**Memoria de Título**

**USO DE FUENTES NITROGENADAS EN FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y SU  
EFECTO EN EL AROMA DE UN VINO SAUVIGNON BLANC**

Memoria para optar al  
Título Profesional de  
Ingeniero Agrónomo

**MARCELO ALEJANDRO SÁNCHEZ FUENZALIDA**

	Calificaciones
Profesor Guía	
Sr. Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo Enólogo Dr.	6,5
Profesores Evaluadores	
Srta. Marcela Medel M. Ingeniera Agrónoma Enóloga Dra.	6,0
Sr. Víctor García de Cortázar G de C. Ingeniero Agrónomo Dr.	6,3

SANTIAGO, CHILE

2014

*A mis padres, al amor de mi vida y a mi hermosa hija...*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mis padres por apoyarme siempre de forma incondicional en mi desarrollo personal y en este largo proceso de formación académica.

Agradezco a mi novia por su compañía, paciencia, palabras de aliento en momentos complicados y regalarme la motivación más potente que tengo, nuestra hija Agustina.

Agradezco a Hernán Amenábar de viña Undurraga por aportar con el mosto requerido en esta investigación, a Fernando Córdoba de Partner S.A por aportar con las levaduras y nutriente y a Marcelo Sánchez de Industria Corchera S.A por aportar con los corchos y facilitar el enfriador industrial.

Finalmente quiero agradecer a mi profesor guía, Eduardo Loyola por sus consejos y recomendaciones a la profesora Marcela Medel por sus consejos y buena disposición a la profesora Carla Jara por su buena voluntad y gran colaboración que resulto fundamental y a todas las personas que me apoyaron durante la realización de esta memoria.

## INDICE

RESUMEN	1
Palabras claves	1
ABSTRACT	2
Keywords	2
INTRODUCCIÓN	3
Objetivo	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de trabajo	6
Materiales	6
Metodología	7
Tratamientos y Diseño Experimental	7
Procedimiento	8
Variables medidas	9
Análisis Estadístico	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
Antecedentes Generales del Mosto	11
Adición Nitrogenada	12
Evolución de Fermentación Alcohólica	13
Análisis Químico del vino	15
pH	15
Acidez Total	16
Acidez Volátil	16
Sulfuroso Total	16
Sulfuroso Libre	17
Grado Alcohólico	17
Azúcar residual	17
Análisis Sensorial	18
Intensidad Aromática	19
Aroma Cítrico	20
Aroma Tropical	21
Aroma a Pera	22
Aroma a Durazno	23
Aroma a Pimentón verde	24
Aroma a Miel	25

CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27
ANEXO I	33
Pauta de evaluación sensorial de vinos Sauvignon Blanc	33

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio consistió en evaluar el uso de cuatro fuentes nitrogenadas diferentes en un mismo mosto del cultivar Sauvignon Blanc proveniente del valle de Leyda de la temporada 2012.

El mosto fue sometido a análisis de FAN, pH, acidez total, acidez volátil, densidad, sulfuroso libre, sulfuroso total para verificar que correspondiera a las condiciones buscadas y los vinos obtenidos en cada tratamiento fueron caracterizados a través de la medición de pH, acidez total, acidez volátil, densidad, sulfuroso libre, sulfuroso total, grado alcohólico y azúcar residual. Además se determinó la evolución de fermentación alcohólica midiendo diariamente la densidad y temperatura de todos los tratamientos.

Cada una de las muestras obtenidas fue evaluada por un panel entrenado con previa experiencia en el análisis de la variedad Sauvignon Blanc, quienes tuvieron que analizar solo el aroma de las muestras midiendo los descriptores de intensidad aromática, aroma a cítrico, aroma a durazno, aroma a pimentón verde, aroma a frutos tropicales, aroma a pera y aroma a miel.

En el comportamiento de la fermentación alcohólica se pudo observar que el tratamiento 3 es significativamente diferente respecto de los otros tratamientos.

En la evaluación sensorial se encontró diferencias significativas solo en el aroma a pera y se evidenció una gran heterogeneidad en las respuestas de los evaluadores para cada una de las muestras.

**Palabras claves:** Fuentes nitrogenadas, Sauvignon blanc, FAN, Evaluación sensorial, aroma.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of four different nitrogen sources in Sauvignon Blanc of Valley Leyda of the 2012 season.

The must was subjected to analysis of FAN, pH, total acidity, volatile acidity, density, free sulfur, total sulfur to verify that correspond to the conditions sought and wines produced in each treatment were characterized by the measurement of pH, acidity total volatile acidity, density, free sulfur, total sulfur, high alcohol and residual sugar. Further evolution was determined by measuring daily fermentation the density and temperature of all treatments.

Each of the samples obtained was evaluated by a trained panel with prior experience in the analysis of Sauvignon Blanc, they had to analyze only the aroma of the samples by measuring the descriptors of aromatic intensity, citrus aroma, aroma of peach, aroma of green pepper, tropical fruit aroma, aroma of pear and honey aroma.

The behavior of the alcoholic fermentation, it was observed that treatment 3 is significantly different from other treatments.

The sensory evaluation found significant differences only in the aroma of pear and showed a high heterogeneity in the responses of the evaluators for each of the samples.

**Keywords:** Nitrogen sources, Sauvignon blanc, FAN, Sensory evaluation, Aroma.

## INTRODUCCIÓN

Desde diferentes lugares del mundo, se han obtenido registros que demuestran que una proporción significativa de mostos de uva son insuficientes en la cantidad de nutrientes necesarios para el crecimiento de las levaduras (Vilanova *et al.*, 2007). La industria del vino aborda estas deficiencias a través de dos alternativas, la primera consiste en aumentar el contenido de nutrientes en la baya con nuevas variedades, manejos del viñedo y programas de fertilización y la segunda en la corrección en bodega con adición de nutrientes a los mostos (Jiranek *et al.*, 1995).

Uno de los nutrientes indispensables para la fermentación alcohólica es el nitrógeno y su concentración total en mostos oscila entre 60 mg/L y 2400 mg/L, éste se encuentra presente en forma de: amonio, aminoácidos libres, péptidos o proteínas y su disponibilidad es fundamental para la síntesis de componentes estructurales de las múltiples generaciones de levaduras (Lizama, 2004).

Las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* tienen un nivel de requerimiento en nitrógeno relativamente alto para completar sus procesos metabólicos y permitir la fermentación alcohólica en mostos de uva (Bell y Henschke, 2005). Para llevar a cabo este proceso, solo pueden utilizar el nitrógeno almacenado en el mosto en forma de aminoácidos y ión amonio (Vilanova *et al.*, 2007). A la suma de estas fuentes nitrogenadas, se le conoce por el nombre de FAN (free assimilable nitrogen) (Paladino *et al.*, 2004), el cual ha sido identificado como un elemento clave en el proceso de fermentación alcohólica (Gockowiak and Henschke, 1992).

La concentración de FAN en el mosto es importante puesto que determina la presencia de las enzimas que regulan los sistemas de transporte de hexosas, aminoácidos y amonio en las membranas de levaduras (Butzke, 1998), donde es rápidamente acumulado por éstas al inicio de la fermentación alcohólica, debido a que en esta etapa se llevan a cabo los procesos de biosíntesis necesarios para el crecimiento (Salmon, 1996). Además de regular el crecimiento puede afectar muchos aspectos del metabolismo, contribuyendo a la formación de compuestos volátiles y no volátiles que son determinantes para la calidad organoléptica del vino (Bell y Henschke, 2005).

No obstante, las deficiencias de FAN son frecuentes en muchos mostos siendo uno de los principales factores que limitan el crecimiento de las levaduras (Gockowiak and Henschke, 1992). Estas deficiencias se han relacionado con la disminución de la velocidad de fermentación, detenciones anticipadas (Bell y Henschke, 2005) o con la formación de ácido sulfhídrico, lo que incide negativamente en la composición aromática del producto final (Gagner *et al.*, 2002).

Debido a lo anterior, la adición de nitrógeno suplementario en mostos de uva se ha convertido en una práctica común y necesaria (Vilanova *et al.*, 2007). El apoyo a esta práctica en la industria se puede observar a través de la adición de suplementos

nitrogenados para reducir la incidencia de fermentaciones incompletas (Jiranek *et al.*, 1995). Con el fin de predecir estos problemas es necesario determinar el estado nutricional de la uva midiendo la concentración inicial FAN en mostos. De acuerdo a estudios realizados existe consenso en que un valor inferior a 150 mg/L, se asocia a una mayor probabilidad de que se origine un problema en la fermentación (Graham, 1993). Por otro lado algunos autores, como Kunkee (1991) plantean que el nivel mínimo de nitrógeno sería algo superior, proponiendo un rango que oscila entre 140 y 200 mg/L. Por su parte Bisson y Butzke (2000), recomiendan que el ajuste de nitrógeno asimilable debe ser de acuerdo a la cantidad de azúcares o grados Brix iniciales del mosto. Por lo tanto, cuando los niveles de nitrógeno asimilable son bajos, se recomienda suplementar con sales de fosfato diamónico (FDA) para asegurar una población de levaduras adecuada (Bely *et al.*, 1990). En contraparte, una alta concentración de FAN no siempre es apropiado, debido a que un alto contenido de nitrógeno residual puede fomentar la inestabilidad microbiológica y la formación de aromas o sabores indeseados (Jiranek *et al.*, 1995). Como regla general la Organización Internacional de la Viña y el Vino (2011) recomienda controlar la cantidad de FAN, autorizando una adición máxima de 300 mg/L de fosfato diamónico.

No obstante, el criterio enológico utilizado para la aplicación de nitrógeno suplementario debe ir orientado a equilibrar dos aspectos: consumir la cantidad necesaria de los azúcares fermentables y obtener ciertos perfiles sensoriales. Teniendo en cuenta que el aroma del vino es una mezcla de alta complejidad química (Vilanova *et al.*, 2007), resultante de la presencia de muchos componentes químicos volátiles pero también de sus interacciones. Debido a esta complejidad sólo en algunos casos particulares es posible identificar componentes que sean capaces de generar un impacto por si solos en la fracción aromática del vino (Ferreira, 2007).

Muchos de estos compuestos volátiles sintetizados por las levaduras, se ven afectados por el tipo y/o concentración de nitrógeno (Bell y Henschke, 2005). El metabolismo de los compuestos que contienen nitrógeno, genera productos finales de importancia sensorial en la calidad del vino y en el caso de los aminoácidos, éstos son desaminados enzimáticamente para liberar su radical amino y formar diversos compuestos (Salmon y Barre, 1998).

Hernandez-Orte *et al.*, (2005) señalan que el tipo de suplementación nitrogenada en cuanto a si es con amonio o con aminoácidos es muy importante ya que las muestras de mosto que son suplementadas con amonio tienen altos niveles de etilacetato y c-3-hexenol que se traduce en perfiles sensoriales más cítricos y menos sulfúricos mientras que los suplementos nitrogenados en base a aminoácidos tienen perfiles aromáticos que son más dependientes de la cepa de levadura que se utilice.

Los aminoácidos deben ser considerados como los componentes más importantes en cuanto a la aportación de nitrógeno para la síntesis de proteínas estructurales y funcionales que hacen aumentar la biomasa de las levaduras, para la producción de enzimas y transportadores de metabolitos que intervienen en la fermentación alcohólica (Gutierrez *et al.*, 2012)

La mayor parte de los aminoácidos son igualmente efectivos en su función nutricional durante la fermentación alcohólica (Jiranek *et al.*, 1995) pero el agotamiento de estos no ocurre de manera aleatoria, sino que tiene un orden de preferencia por aquellos que le permiten crecer mejor. Este consumo ocurre de acuerdo a una cadena de señales que activa los genes implicados en el transporte y metabolismo de fuentes nitrogenadas abundantes y en la represión de aquellos genes implicados en el transporte y utilización de fuentes más pobres (Beltran y Guillamón, 2009). Es preciso mencionar que los componentes más importantes sintetizados por las levaduras en la fermentación alcohólica incluyen ácidos grasos de cadena media y corta y sus ésteres etílicos, alcoholes superiores y ésteres de acetato. Los ésteres etílicos son importantes para la calidad de un vino porque ellos aportan aromas agradables. Los alcoholes superiores pueden impartir aromas a alcohol, disolventes o de flores para el caso especial de 2-feniletanol, mientras que los ácidos grasos de cadena media y corta tienen aromas jabonosos, desagradables o rancios (Lambrechts y Pretorius, 2000).

En consecuencia la problemática planteada en esta investigación radica en que si bien se puede establecer que el uso de nitrógeno por la levadura ha sido ampliamente estudiada en el pasado, existe escasa información correspondiente a los efectos de las diferentes fuentes nitrogenadas aminoacídicas en el perfil aromático de vinos blancos (Vilanova *et al.*, 2007), debido principalmente a que la liberación de aromas y la transformación de los precursores ocurre a través de reacciones que aún son mal conocidas (Bayonove *et al.*, 2000).

## **Objetivo**

Evaluar sensorialmente el efecto generado en la componente aromática de un vino blanco, como consecuencia de la utilización de distintas fuentes nitrogenadas en la fermentación alcohólica.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Lugar de trabajo**

El trabajo experimental del presente ensayo se realizó en los laboratorios de Enología del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### **Materiales**

Se utilizó mosto de uva Sauvignon Blanc, proveniente del Valle Leyda, cosechado el año 2012, aportado por viña Undurraga. El mosto escogido tiene 190,6 ppm de FAN, por lo tanto, deficiente en el contenido de nitrógeno asimilable.

Las fuentes de nitrógeno utilizadas en el ensayo fueron:

Aminoácidos L-Isoleucina y L-Valína. importados desde la empresa Advanced Chemtech, Lousville, USA.

Nutriente Nutristart Organic, aportado por la empresa de insumos enológicos, Partner S.A., Santiago, Chile.

FDA, obtenido del laboratorio de microbiología enológica de la Universidad de Chile.

Se utilizó un enfriador industrial marca Victory, modelo SC010 W, aportado por Industria Corchera S.A., Santiago, Chile.

Los bidones de 25 L y depósitos plásticos pertenecen al Laboratorio de Enología de la Universidad de Chile.

Tapones de silicona y airlocks (válvula utilizada para permitir la salida de CO<sub>2</sub> e impedir el ingreso de O<sub>2</sub> durante la fermentación alcohólica) fueron adquiridos en empresa Minicervecería, Santiago, Chile.

Levadura, Zygmaflore X5, aportada por la empresa de insumos enológicos, Partner S.A., Santiago, Chile.

Botellas Burdeos verde de 750 ml, fueron adquiridas de viña Santa Carolina, Santiago, Chile.

Corchos 45 x 24 Superior fueron aportados por Industria Corchera S.A., Santiago, Chile.

## Metodología

### Tratamientos y Diseño Experimental

El diseño experimental empleado para el análisis descriptivo, fue un diseño en bloques completamente al azar donde cada evaluador constituye un bloque. Los tratamientos se elaboraron a partir de mosto de uva Sauvignon Blanc. La unidad experimental fue un bidón con 25 L de mosto.

El presente ensayo está compuesto por cuatro tratamientos (Cuadro 1) y cada tratamiento tiene tres repeticiones. A cada tratamiento se le aplicó una fuente nitrogenada diferente.

El diseño empleado para los análisis químicos fue completamente al azar y el diseño usado para la evolución de fermentación alcohólica fue en bloques completos al azar donde cada día constituye un bloque.

Las dosis aplicadas a cada tratamiento, fueron calculadas según la cantidad de nutriente faltante para llegar a 300 ppm de FAN en cada uno de los tratamientos. La eficiencia de aporte nitrogenado del FDA es de un 46%, un 5,3% para el Nutristar Organic (N. Org), un 4,12% para L-Isoleucina (L-Iso) y un 4% para L-Valína (L-Val).

Cuadro 1. Tratamientos

Contenido de FAN	FDA T1	(FDA + Nutristar Organic) T2	(FDA + L-Isoleucina) T3	(FDA + L-Valína) T4
190,6 ppm	(239,1 ppm)	(198,8 ppm + 350 ppm)	(207,8 ppm + 350 ppm)	(209 ppm + 350 ppm)

Detalle del Cálculo de Dosificación de tratamientos:

$$T1 = 190,6 \text{ ppm} + (239,1_{\text{FDA}} * 0,46_{\text{efi FDA}}) \text{ ppm} = 300,6 \text{ ppm}$$

$$T2 = 190,6 \text{ ppm} + (198,8_{\text{FDA}} * 0,46_{\text{efi FDA}}) \text{ ppm} + (350_{\text{N.Org}} * 0,053_{\text{ef N.Org}}) \text{ ppm} = 300,6 \text{ ppm}$$

$$T3 = 190,6 \text{ ppm} + (207,8_{\text{FDA}} * 0,46_{\text{efi FDA}}) \text{ ppm} + (350_{\text{L-Iso}} * 0,0412_{\text{ef. L-Iso}}) \text{ ppm} = 300,6 \text{ ppm}$$

$$T4 = 190,6 \text{ ppm} + (209_{\text{FDA}} * 0,46_{\text{efi FDA}}) \text{ ppm} + (350_{\text{L-Val}} * 0,04_{\text{ef L-Val}}) \text{ ppm} = 300,7 \text{ ppm}$$

Cuadro 2. Momento de Aplicación de Fuentes Nitrogenadas

Tiempo después de inicio de FA.	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
12 Hrs	120 ppm, FDA	100 ppm, FDA	104 ppm, FDA	104 ppm, FDA
36 Hrs	120 ppm, FDA	100 ppm, FDA	104 ppm, FDA	104 ppm, FDA
60 Hrs	Nada	350 ppm, N. Org	350 ppm, L-Iso	350 ppm, L-Val

## **Procedimiento**

La viña Undurraga proporcionó 240 L de mosto de Sauvignon Blanc necesarios para este ensayo que fue trasladado a los laboratorios de Enología de la Universidad de Chile, donde fue realizada la investigación.

Se realizó una caracterización química del mosto antes de inocular con las levaduras mediante los análisis indicados en el cuadro 3. La preparación de los tratamientos, se realizó separando el mosto en doce bidones de 25 L. Los doce bidones se dividieron en cuatro tratamientos, quedando conformado cada tratamiento por tres bidones, cada bidón equivale a una repetición.

Para la realización de este ensayo, se utilizó un protocolo de micro-vinificación. Luego de terminada la fermentación y clarificación se procedió al embotellado y taponado del vino y posteriormente se realizó una caracterización química de los vinos.

El efecto de las diferentes fuentes nitrogenadas en el perfil aromático de cada tratamiento, fue analizado por un panel sensorial entrenado en la evaluación de Sauvignon blanc y a través de un análisis descriptivo de atributos aromáticos (presentada en el Anexo I) generada específicamente con los descriptores que mejor representan los tratamientos.

## VARIABLES MEDIDAS

Cuadro 3. Análisis químicos y Evaluación de tratamientos

Medición	Método
<b>MOSTO Y VINO</b>	
FAN	Tecnológico a través de Minititrador
pH	Potenciometría (García-Barceló, 1990)
Acidez total	Titulación con fenolftaleína (García-Barceló, 1990)
Acidez volátil	García-Tena (García-Barceló, 1990)
Densidad	Hidrometría (García-Barceló, 1990)
SO <sub>2</sub> total	Ripper (García-Barceló, 1990)
SO <sub>2</sub> libre	Ripper (García-Barceló, 1990)
<b>FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA</b>	
Temperatura	Termómetro
Densidad	Hidrometría (García-Barceló, 1990)
<b>SÓLO VINO</b>	
Grado alcohólico	Método densimétrico (García-Barceló, 1990)
Azúcar residual	Licor de Fehling Causse-Bonnans (García-Barceló, 1990)
<b>EVALUACIÓN SENSORIAL DE TRATAMIENTOS</b>	
Análisis descriptivo	Escala de intensidades

El análisis descriptivo se efectuó por un panel de diez evaluadores entrenados, para evaluar y comparar los diferentes atributos del vino en cada tratamiento, describiendo descriptores individuales. La pauta utilizada en esta prueba (Anexo I) fue confeccionada de acuerdo a una degustación previa y se utilizaron los descriptores aromáticos que mejor describen los tratamientos. Los atributos gustativos no fueron evaluados ya que no eran de interés para esta investigación. La unidad de evaluación estuvo constituida por una bandeja con cuatro copas servidas a cada evaluador del panel. Cada bandeja representó una repetición. Para evitar agotamiento sensorial de los evaluadores, las 12 muestras fueron analizadas en tres sesiones, es decir, cuatro muestras en cada sesión. Cada muestra a evaluar consistió en 40 mL del vino de cada tratamiento, presentadas en copas de degustación aceptadas por la OIV (ISO 3591-1977)



### **Análisis Estadístico**

La evaluación de los datos obtenidos en la degustación de los tratamientos, se realizó mediante el programa MINITAB 16 en el cual se introdujo las variables presentadas en la pauta del anexo I en un rango de 0 cm a 15 cm.

Los resultados del análisis descriptivo y evolución de fermentación alcohólica de cada tratamiento se analizaron estadísticamente mediante un ANOVA a un nivel de significancia del 5% y se aplicó la prueba de comparación múltiple de Mínimas diferencias significativas (LSD).

Los resultados de los análisis químicos se compararon mediante ANDEVA y se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previamente a la adición nitrogenada en los distintos tratamientos se realizó un análisis químico del mosto variedad Sauvignon Blanc utilizado y a continuación se presentan los resultados obtenidos.

### Antecedentes Generales del Mosto

Cuadro 4. Descripción del Mosto

<b>Descriptor</b>	<b>Resultado</b>
Variedad	Sauvignon Blanc
Valle	Leyda
Fecha de cosecha	23-03-2012
FAN	190,6
Brix	22°
pH	3,31
NTU	26,3
Densidad	1093
Acidez Total (ác. Tartárico)	4,02
Acidez Volátil (ác. Acético)	0,05
Sulfuroso Libre (mg/L)	23
Sulfuroso Total (mg/L)	75

En el cuadro 4 se pueden observar los antecedentes generales del mosto, donde los análisis presentan parámetros de rangos normales con la excepción del FAN (190,6) y el NTU (26,3) que exhiben valores más bajos que los considerados normales.

Hay antecedentes bibliográficos que indican que los vinos blancos procedentes de mostos defangados (operación para bajar el NTU) tal como el utilizado en este ensayo, presentan una mayor frescura, son más afrutados y poseen aroma más limpio (Casp y Lopez, 1985), debido a una mayor producción de acetatos de alcoholes superiores y esterés de ácido grasos, además hay registros de que se reduce de forma importante la producción de de ácidos grasos volátiles y de alcoholes superiores que se pueden formar a partir de aminoácidos (vía de Ehrlich) o a partir del catabolismo de los azúcares (vía anabólica) y la producción de estos compuestos interviene negativamente en la calidad del aroma (Bertrand *et al.*, 1987).

Sin embargo las implicancias que puede tener esta condición de mosto para la fermentación alcohólica son diversas, por ejemplo, el desarrollo de la fermentación alcohólica es más intensa en mostos con mayor contenido de sólidos en suspensión (Casp y Lopez, 1985), algunos de estos sólidos actúan como activadores de crecimiento de las levaduras como los esteroides y ácidos grasos que inducen a fermentaciones más cortas y completas (Laffon-Lafourcade, 1980). Estos componentes disminuyen su concentración en vinos con menor NTU y en consecuencia es posible tener problemas fermentativos (Suarez Lepe, 1997).

En la investigación realizada no se observaron problemas fermentativos asociados a los bajos niveles de NTU medidos inicialmente en el mosto, debido a que por la condición de FAN fue indispensable utilizar fuentes de nutrientes nitrogenados como suplemento para la fermentación alcohólica.

### **Adición Nitrogenada**

Las fases en que se realizó la adición nitrogenada juegan un rol muy importante. Hay antecedentes bibliográficos que indican que el nitrógeno es más efectivo cuando es adicionado al inicio (densidad 1100 – 1080) y a mediados (densidad 1060 – 1040) del proceso fermentativo, es decir, durante la fase exponencial y estacionaria. Es por esta razón que las adiciones nitrogenadas para los cuatro tratamientos se realizaron en estas fases.

Según Beltran y Guillamón (2009) las adiciones en estas etapas tienen un efecto inmediato en la evolución de la fermentación alcohólica aumentando la biomasa y reactivando la síntesis de proteínas. En esta investigación los tratamientos no reflejaron un comportamiento fermentativo distinto en estas fases. Por otro lado, una adición tardía de FAN impide que éste sea transportado y asimilado por las levaduras (Gobbi *et al.*, 2013).

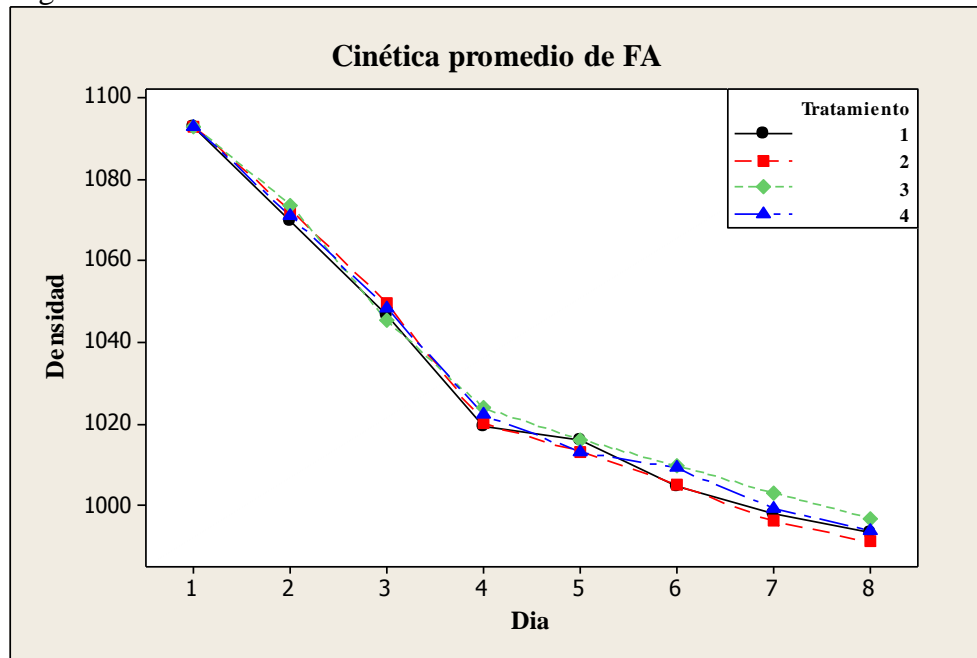
En diversas investigaciones se ha determinado que es más eficiente hacer aplicaciones en mitad de la fermentación, ya que adiciones hechas al principio llevan a poblaciones máximas acelerando la primera parte de la fermentación pero que no tiene efectos claros sobre la disminución de los riesgos de paralización de la fermentación (Sablayrolles *et al.*, 1996). Según Bisson (1999), suplementar en la fase estacionaria de la fermentación con algunos aminoácidos prolonga la alta actividad fermentativa, mientras que el amonio no tiene este efecto.

En esta investigación la aplicación de las fuentes nitrogenadas a los tratamientos se realizó basado en los antecedentes antes señalados, de esta manera podemos afirmar que el momento de aplicación nitrogenada genera un efecto en la evolución de la fermentación alcohólica pero en la presente investigación se mantuvo como una constante ya que todos los tratamientos recibieron su fuente nitrogenada en el mismo momento.

La fracción orgánica de cada tratamiento fue aplicada al último cuando el contenido de amonio se consumió parcialmente debido a que se ha demostrado que un alto contenido de amonio en el mosto puede inhibir la utilización eficiente y la formación de biomasa de las levaduras bajo condiciones enológicas. Entonces, para que exista una utilización del nitrógeno y crecimiento óptimos debe haber un equilibrio entre nitrógeno inorgánico y orgánico (Bisson y Butzke, 2000).

## Evolución de Fermentación Alcohólica

Figura 1. Velocidad de Fermentación Alcohólica



Fuente: Elaboración Propia

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos sobre la velocidad de fermentación alcohólica

Fuente Nitrogenada	Días de FA	Media
<b>Tratamiento 1</b>	8	1030,21 a
<b>Tratamiento 2</b>	8	1030,21 a
<b>Tratamiento 3</b>	8	1032,83 b
<b>Tratamiento 4</b>	8	1031,38 a

FA: Fermentación Alcohólica. Letras distintas en sentido vertical, señalan que existen diferencias significativas entre los tratamientos a un nivel de 5% según la prueba de mínimas diferencias significativas (LSD).

Tal como se puede observar en el cuadro 5 en la presente investigación se observaron diferencias significativas en la velocidad de fermentación del tratamiento 3 (FDA + L-Isoleucina) respecto del resto de los tratamientos. Esta situación es coherente con los antecedentes bibliográficos encontrados que indican que la composición nitrogenada además afectar la producción de compuestos aromáticos es capaz de afectar el comportamiento de la fermentación alcohólica (Albers *et al.*, 1996).

En concordancia a los antecedentes encontrados en la literatura se observó que la adición de amonio a mostos deficientes en nitrógeno produjo un incremento en la velocidad de la fermentación alcohólica durante la fase exponencial sin prolongar el tiempo durante el cual las levaduras se pueden multiplicar (Monteiro and Bisson, 1992; Ough, 1964).

Por otro lado, en investigaciones más recientes y de forma contrastante a los datos obtenidos en esta investigación Hernandez-Orte *et al.*, (2005) señalan que la adición nitrogenada a través de amonio o aminoácidos no tiene un efecto significativo sobre la velocidad de fermentación y que las diferencias observadas en la velocidad de fermentación están asociadas a las distintas cepas de levaduras utilizadas.

Dado que en la presente investigación se observaron diferencias significativas en la velocidad de fermentación, ésta no debiera ser juzgada como un antecedente de relevancia aplicable a la industria enológica, porque si bien es significativa desde el punto vista estadístico no tendría una aplicación práctica real porque no contribuye a modificar la cantidad de días en que ocurre la fermentación alcohólica y por lo tanto no se podría recomendar.

Cuadro 6. Comportamiento de Fermentación Alcohólica

Día	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4	
	D°	T°	D°	T°	D°	T°	D°	T°
1	1093	17	1093	17	1093	17	1093	17
2	1069,6	20	1072,3	20	1073,6	20	1071	20
3	1046,7	23	1049,7	23	1045,3	23	1048,3	23
4	1019,5	18	1020,3	18	1024	18	1022,3	18
5	1016	18,6	1013,3	18,6	1016,3	18,4	1013,3	18,3
6	1005	18,4	1005,3	18,4	1010	18,3	1009,3	18,3
7	998,3	18,2	996,3	18,2	1003,3	18,1	999,7	18,1
8	993,7	18	991,3	18	997	18,1	994	18,1

En el cuadro 5 se puede observar que la fermentación alcohólica en todos los tratamientos estuvo sometida a una misma condición de temperatura durante los 8 días transcurridos hasta finalizar la fermentación alcohólica periodo de tiempo en donde no se observó problemas asociados al comportamiento fermentativo asociado a la temperatura u otros factores.

Es importante considerar que la temperatura de fermentación además de otros factores como composición del mosto y cepa de levadura inoculada afecta fuertemente la velocidad de la fermentación alcohólica y el perfil aromático de vinos blancos (Antonelli *et al.*, 1999). En esta investigación si bien la temperatura tuvo fluctuaciones, todos los tratamientos fueron expuestos por igual a las mismas temperaturas por lo tanto fue una constante.

La temperatura de fermentación utilizada en esta investigación fue definida según antecedentes bibliográficos que indican que en el rango de temperaturas comprendido entre los 15°C y 20°C genera perfiles aromáticos variables pero las levaduras producen menos alcoholes superiores (compuestos que tienen impacto negativo en el aroma) y mayor

cantidad de acetatos de alcoholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos cuyos aromas florales y afrutados intervienen positivamente en el aroma fermentativo de vinos blancos (Meistermann *et al.*, 1994).

Existen antecedentes donde se menciona que las fermentaciones a temperaturas entre 10°C y 15°C permiten un aumento en la producción y retención de compuestos volátiles que pueden mejorar el perfil aromático del vino, pero se descartó utilizar estas temperaturas debido a que existe un mayor riesgo de fermentaciones alcohólicas más lentas o que se detengan de forma espontánea (Killian y Ough, 1979; Kunkee, 1984).

### Análisis Químico del vino

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los análisis químicos realizados a las 12 muestras de vino obtenidas de los 4 tratamientos después de la fermentación alcohólica.

Cuadro 7. Análisis Químico Promedio por Tratamiento

Análisis	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
<b>pH</b>	3,23 a	3,22 a	3,23 a	3,21 a
<b>Acidez Total (g/L/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b>	4,05 a	4,12 a	4,21 a	4,15 a
<b>Acidez Volátil (g/L ac. Acético)</b>	0,2 a	0,2 a	0,23 a	0,23 a
<b>Sulfuroso Total (mg/L)</b>	79,12 a	78,27 a	79,97 a	79,12 a
<b>Sulfuroso Libre (mg/L)</b>	20,24 a	19,39 a	19,81 a	18,96 a
<b>Grado Alcohólico</b>	14,3 a	14,4 a	14,4 a	14,3 a
<b>Azúcar Residual (g/L)</b>	1,34 a	1,34 a	1,32 a	1,38 a

Letras iguales en sentido horizontal, señalan que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a un nivel de 5% según la prueba de Tuckey.

La relevancia de haber realizado las mediciones señaladas en el cuadro 6 radica en determinar las condiciones de los vinos que serán presentados al panel sensorial para ser sometidos a evaluación y descartar que debido al error experimental se produzcan alteraciones sensoriales que puedan interferir con la evaluación aromática de los tratamientos. De esta forma es posible determinar que los vinos obtenidos a partir de los tratamientos realizados están dentro de los rangos considerados normales y por lo tanto son vinos correctos que no exhiben defectos en sus análisis de caracterización.

### pH

El pH del medio desempeña un papel importante en la elaboración del vino y en esta investigación es necesario medirlo debido a que según Bordeu y Scarpa (1998) el pH ejerce una influencia selectiva sobre la presencia de microorganismos y además según Fleet (1993) puede variar de forma diferencial la actividad de las permeasas de las levaduras

pudiendo afectar el consumo de las diferentes mezclas nitrogenadas. Es sabido que a pH 3,25 el crecimiento de biomasa disminuye en un 50 % con respecto a pH 4,0 si se usa solo amonio para alimentar a las levaduras (Fleet, 2003).

En las muestras analizadas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y por lo tanto no se espera un efecto sobre la actividad de las levaduras respecto al consumo de fuentes nitrogenadas.

### **Acidez Total**

Es sabido que si las levaduras sufren grandes variaciones de acidez los mecanismos fermentativos se modifican de acuerdo a la acidez del medio afectando la producción de compuestos secundarios (Bordeau y Scarpa, 1998). De esta manera, es necesario conocer la acidez total de los tratamientos para descartar que alguna variación experimental haya afectado la producción de compuestos volátiles durante la fermentación alcohólica.

En las muestras analizadas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos por lo tanto se descarta el desarrollo de compuestos volátiles producto de una variación en la acidez total que posteriormente pueda afectar la evaluación del panel.

### **Acidez Volátil**

Se sabe que está formada en un 90% por el ácido acético, acompañado del ácido fórmico, propiónico, butírico en cantidades trazas el isovalérico, caproico y caprílico y sobre su umbral olfativo recuerda aromas a ciertos tipos de quesos y participa casi siempre de forma negativa sobre los atributos sensoriales. Cantidades de 0,3 a 0,8 g/L de ácido acético pueden considerarse normales y la legislación vigente no permite valores sobre 1 g/L (Zoecklein et al., 2001).

En las muestras analizadas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, exhibiendo una concentración promedio menor al umbral de identificación 0,7 g/L y en consecuencia se descarta el desarrollo de alguna alteración microbiológica perjudicial que posteriormente pueda afectar la evaluación del panel.

### **Sulfuroso Total**

No se encontraron antecedentes que relacionen de forma directa la concentración de SO<sub>2</sub> total con el consumo de nitrógeno o la formación de aromas, pero es una medición obligada ya que posee propiedades antisépticas y antioxidantes necesarias de controlar durante la elaboración del vino (He *et al.*, 2013) y en consecuencia hay que conocer si está bien dosificado para garantizar una protección adecuada (Bartroli *et al.*, 1991).

En los análisis realizados no se observaron diferencias significativas.

### **Sulfuroso Libre**

No se encontraron antecedentes que relacionen de forma directa la concentración de SO<sub>2</sub> libre con el consumo de nitrógeno o la formación de aromas, pero es una medición obligada ya que sirve como un antioxidante protector de las reacciones de oxidación (He *et al.*, 2013) y en consecuencia las dosis añadidas deben garantizar una protección adecuada dentro de la legislación vigente (Bartroli *et al.*, 1991).

En los análisis realizados no se observaron diferencias significativas.

### **Grado Alcohólico**

El transporte activo y translocación de los aminoácidos y otras fuentes de nitrógeno al interior de las levaduras es inhibido por altas concentraciones de etanol (Bisson, 1999) debido a que reduce la actividad de las permeasas responsables (Fleet, 2003).

Según los antecedentes antes mencionados resulta importante realizar esta medición para descartar que algún tratamiento de graduación alcohólica distinta pueda afectar su consumo y aprovechamiento de las fuentes nitrogenadas.

En las muestras analizadas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y por lo tanto no se espera un efecto sobre el transporte activo de las levaduras respecto al consumo de fuentes nitrogenadas.

### **Azúcar residual**

El azúcar residual es la cantidad de azúcar que queda después de haber finalizado la fermentación alcohólica y no se encontraron antecedentes bibliográficos que relacionen directamente la concentración de azúcar residual con el consumo de fuentes nitrogenadas o producción de aromas pero resulta importante conocer su concentración para comprobar la conclusión de la fermentación y la estabilidad microbiológica del vino (Cook *et al.*, 1998).

En las muestras analizadas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y se puede determinar que todos los tratamientos completaron su fermentación alcohólica ya que todas las muestras presentan una concentración de azúcar reductor inferior a 2 g/L (Cook *et al.*, 1998).



### Análisis Sensorial

Cuadro 8. Efecto de los tratamientos sobre cada descriptor

<b>Descriptor</b>	<b>Tratamiento 1</b>	<b>Tratamiento 2</b>	<b>Tratamiento 3</b>	<b>Tratamiento 4</b>
<b>Intensidad Aromática</b>	8,9 a	8,3 a	8,7 a	8 a
<b>Aroma Cítrico</b>	5,6 a	5,2 a	5,1 a	5,2 a
<b>Aroma Tropical</b>	5,6 a	5,3 a	5,1 a	5,7 a
<b>Aroma Pera</b>	3,2 b	3,5 ab	4 ab	4,1 a
<b>Aroma Durazno</b>	4,1 a	3,9 a	4,2 a	4 a
<b>Aroma Pimentón verde</b>	4,5 a	4,4 a	5,1 a	4,1 a
<b>Aroma Miel</b>	3,3 a	2,5 a	2,7 a	3,3 a

Letras iguales en sentido horizontal, señalan que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a un nivel de 5% según la prueba de mínimas diferencias significativas (LSD).

Como se puede apreciar en el cuadro anterior, las fuentes nitrogenadas adicionadas durante la fermentación alcohólica generan un efecto sobre el aroma a pera siendo el único descriptor en que se observan diferencias significativas.

Cuadro 9. Medidas de distribución de los datos muestrales

<b>Descriptor</b>	<b>C.V.</b>	<b>Error puro</b>	<b>E.E.</b>	<b>R<sup>2</sup> (ajustado)</b>
<b>Intensidad Aromática</b>	30,22	6,6	0,47	0,17
<b>Aroma Cítrico</b>	47,20	6,2	0,46	0,47
<b>Aroma Tropical</b>	51,29	7,8	0,51	0,43
<b>Aroma Pera</b>	49,08	3,3	0,33	0,75
<b>Aroma Durazno</b>	59,29	5,8	0,44	0,53
<b>Aroma Pimentón verde</b>	67,09	9,4	0,56	0,38
<b>Aroma Miel</b>	75,98	5,1	0,41	0,46

C.V: Coeficiente de variación, indica que tan precisa es la estimación estadística. E.E: Error estándar, es una medida de la variabilidad muestral. R<sup>2</sup> (ajustado): explica en qué porcentaje el descriptor aromático es explicado por los tratamientos.

En función de las medidas señaladas en el cuadro 9 se puede destacar que el panel sensorial entrenado utilizado en esta evaluación no fue efectivo como herramienta principal de medición de los descriptores aromáticos de los tratamientos debido a que en todos los casos medidos se observó un coeficiente de variación que refleja gran heterogeneidad en los datos y un gran error estadístico. En consecuencia queda en evidencia la necesidad de desarrollar o mejorar una herramienta de evaluación sensorial para vinos Sauvignon blanc que exhiba

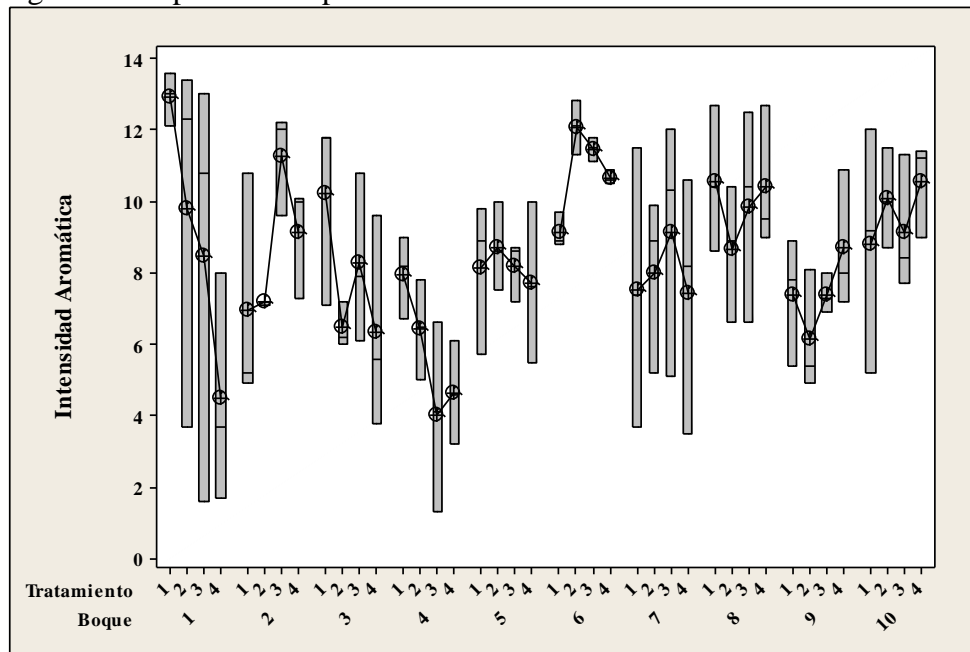
un menor error experimental en la pauta de evaluación y que arroje datos con una menor desviación estándar.

### Intensidad Aromática

La intensidad del aroma típico del Sauvignon blanc y por lo tanto la concentración de los componentes responsables de su aroma son afectados por el origen y el clima (Allen and Lacey, 1993). La intensidad aromática es baja en zonas cálidas mientras que en zonas frías como Nueva Zelanda es más elevada (Marais, 1994).

Según las investigaciones de Chone y otros (2006) una mayor cantidad de nitrógeno en la baya aumenta el potencial aromático y también aumenta la cantidad de precursores por lo tanto resulta de interés analizar el efecto de la adición de nitrógeno al mosto sobre este descriptor.

Figura 2. Respuestas del panel sobre Intensidad Aromática

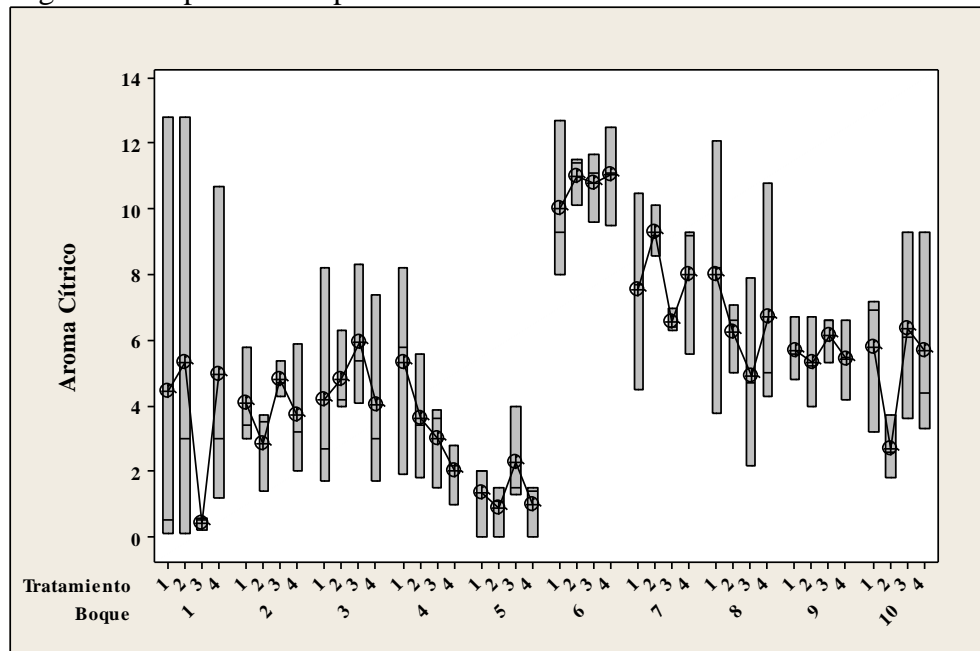


A partir de la información de la figura 2 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado, evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de las distribuciones de las desviaciones estándar es demasiado variable y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre intensidad aromática vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada de la forma señalada en esta investigación para modificar la intensidad aromática del vino.

## Aroma Cítrico

El compuesto 3-mercaptohexan-1-ol (3MH), perteneciente a la familia de los tioles volátiles, se encuentra presente en el vino de dos formas enantiomeras, la forma R y la forma S, normalmente en una proporción 1:1 en vinos blancos. Estas dos formas difieren en el umbral de percepción y ligeramente en el aroma que expresan, el origen de este descriptor provendría de la forma R recordando aromas a uva y más fuertemente cáscara de cítricos mientras que la forma S recuerda a notas de fruta de la pasión (Tominaga *et al.*, 2006). Al igual que con el descriptor de aromas tropicales la disponibilidad y composición nitrogenada del mosto puede afectar las permeasas de la levadura *S. cerevisiae* durante la fermentación alcohólica y en consecuencia la expresión de genes enzimáticos que regulan la ruptura de los precursores tiólicos y liberación de estos compuestos volátiles (Thibon *et al.*, 2008).

Figura 3. Respuestas del panel sobre Aroma a Cítrico

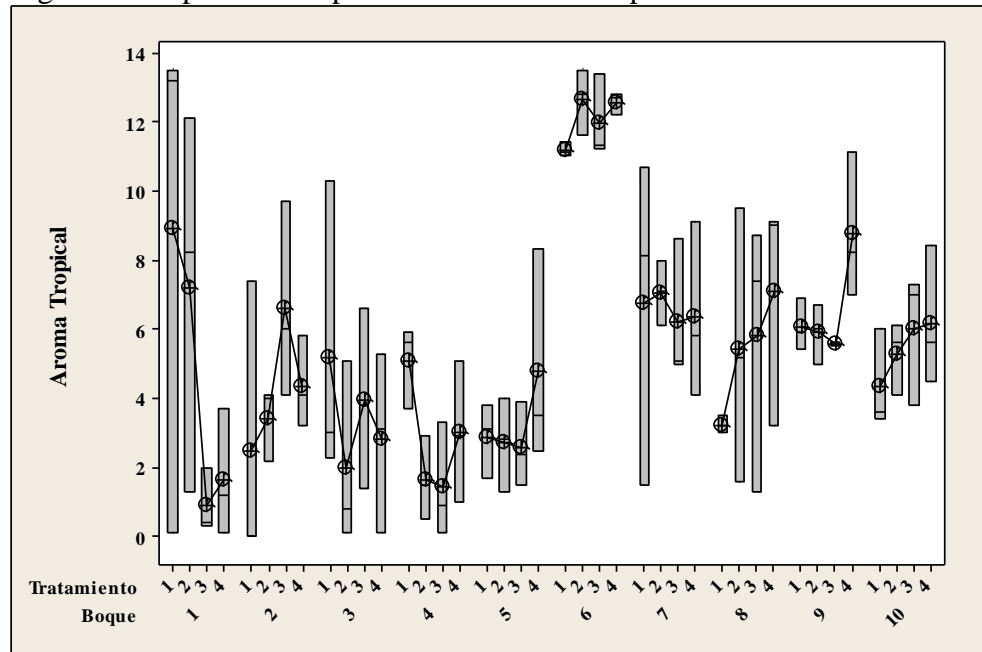


A partir de la información de la figura 3 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre aroma a cítrico vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada de la forma señalada en esta investigación para modificar el aroma a cítrico del vino.

## Aroma Tropical

Según Dubourdieu, Darriet and Lavigne (1993) algunos compuestos azufrado pertenecientes a la familia de los tioles volátiles como 4-metil-4-mercapto-penta-2-ona (4MMP), 3MH y 3-mercaptohexil acetato (3MHA) pueden contribuir de forma importante siendo responsable del aroma a frutos tropicales, fruta de la pasión y guayaba (Mateo-Vivaracho, 2010). Dependiendo de su concentración en el vino esta familia de compuestos también pueden originar aromas negativos como a vegetales cocidos, cebolla, repollo y orina de gato (Marais, 1994). La liberación de los tioles volátiles durante la fermentación alcohólica puede estar afectada por la disponibilidad y composición nitrogenada del mosto ya que las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* pueden bloquear las permeasas de aminoácidos que permiten la entrada de estos precursores tiólicos a la célula reprimiendo la expresión del gen de la enzima involucrada en ruptura de estos compuestos (Thibon *et al.*, 2008).

Figura 4. Respuestas del panel sobre Aroma Tropical

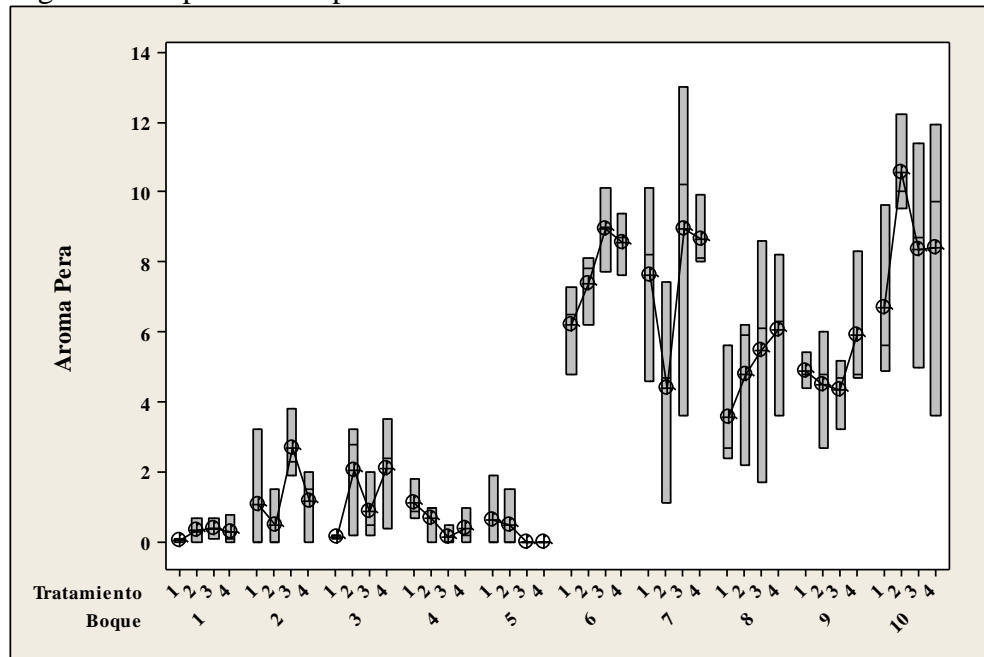


A partir de la información de la figura 4 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un alto coeficiente de variación indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre aroma tropical vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada de la forma señalada en esta investigación para modificar el aroma a tropical del vino.

## Aroma a Pera

Este descriptor en vinos blancos es a menudo asociado a los compuestos isobutirato de etilo y acetato de hexilo (Lozano et al., 2005). Estos compuestos pertenecen a la familia de los ésteres derivados de ácidos grasos ramificados o cíclicos y el aroma de estos compuestos podría actuar de forma aditiva con los de otros ésteres etílicos de ácidos grasos ramificados del vino (Ferreira, 2007), pero también se ha asociado este descriptor a un compuesto de la familia de los tioles volátiles el 3-metil 3-mercapto-butanol (Catania y Avagnina, 2007b). La producción de algunos ésteres derivados de ácidos grasos ramificados o cíclicos se asocia a fuentes nitrogenadas orgánicas disponibles en la fermentación alcohólica, ya que se podría sintetizar a partir de las rutas metabólicas de la Leucina y la Isoleucina en la forma de acetato de 2-metilbutilo y de acetato 2-metilpropilo (Torrea *et al.*, 2011).

Figura 5. Respuestas del panel sobre Aroma Pera



A partir de la información de la figura 5 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el mosto utilizado el aroma a pera recibió su valoración más alta en el tratamiento 4 (FDA + Valína) mostrando diferencias significativas respecto del tratamiento 1 (FDA), por lo tanto según los datos presentados en este estudio se recomienda utilizar una mezcla de FDA + Valína como fuente nitrogenada para incrementar la percepción del aroma a pera en el vino.

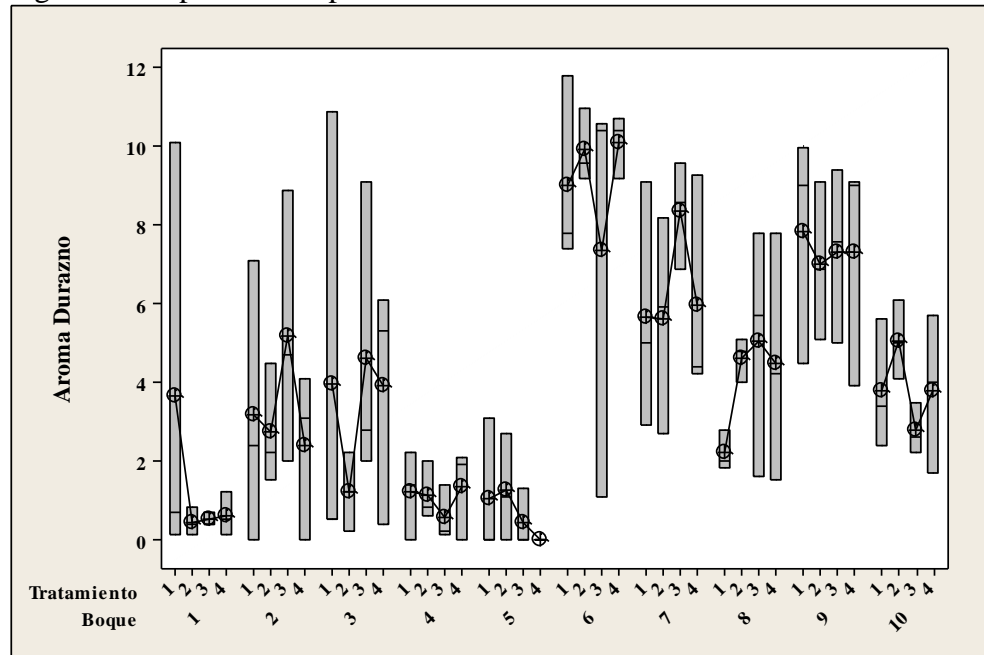
Esta diferencia podría deberse a una intervención aún no conocida de la L-valína en alguna ruta metabólica involucrada en la síntesis de ésteres o bien podría estar asociada a la gran dispersión de datos obtenidos del análisis descriptivo.

## Aroma a Durazno

Este descriptor aromático se asocia a  $\gamma$ -nonalactona este compuesto pertenece a la familia de las lactonas (Escudero *et al.*, 2004) y participa en el aroma de varias frutas como el albaricoque (Nitz y Kollmannsberger, 1993) o la ciruela (Ismail *et al.*, 1981). Esta molécula fue analizada por primera vez en los vinos por Nakamura en 1988 con contenidos diversos que pueden llegar a más de 40  $\mu\text{g/L}$  y se puede encontrar también en vinos dulces naturales (Cutzach *et al.*, 1998).

A pesar de que estos componentes están presentes en los vinos por debajo de los umbrales olfativos. Deben considerarse en el rol que desempeñan en la interacción de la matriz que confiere el aroma final del vino. (Mazaira *et al.*, 2004)

Figura 6. Respuestas del panel sobre Aroma Durazno



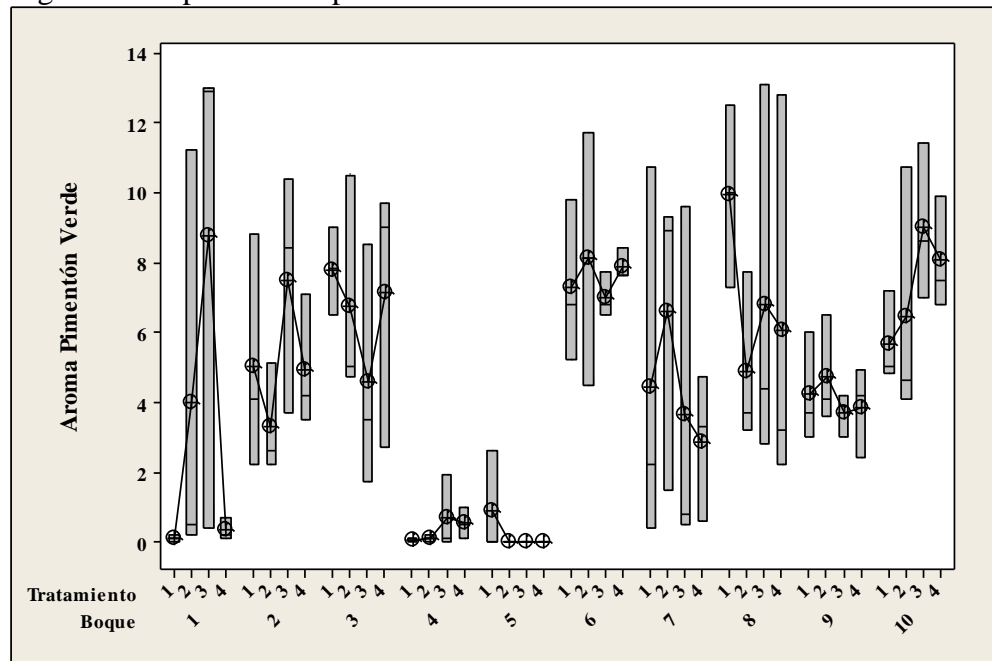
A partir de la información de la figura 6 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre aroma durazno vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada de la forma señalada en esta investigación para modificar el aroma a durazno del vino.

## Aroma a Pimentón verde

Este descriptor típico de la variedad Sauvignon blanc proveniente de zona fría es causado por la presencia de los compuestos llamados metoxipirazinas (Marais, 1994), de la familia de las pirazinas la que más contribuye al aroma típico de esta variedad con matices de pimentón verde es la 2-metoxi-3-isobutilpirazina (ibMP) (Lavin y Acree, 1992), otras pirazinas presentes en bajas concentraciones en mostos y vinos de Sauvignon blanc son 2-metoxi-3-isopropilpirazina (ipMP) y en menor cantidad 2-metoxi-3-sec-butilpirazina (sbMP) (Lacey *et al.*, 1991). Estos últimos 2 compuestos recuerdan al aroma a espárrago y terroso (Marais, 1994).

Si bien la aplicación de fuentes nitrogenadas al mosto no afecta directamente la concentración de pirazinas en vinos, es importante observar su interacción con otros compuestos aromáticos de impacto sintetizados a partir del uso de fuentes nitrogenadas, ya que existen antecedentes de otras investigaciones en donde se encuentra una correlación positiva entre el descriptor sensorial de las pirazinas con algunos compuestos químicos como mercaptanos y tioles volátiles (Cacho, 2006).

Figura 7. Respuestas del panel sobre Aroma Pimentón Verde



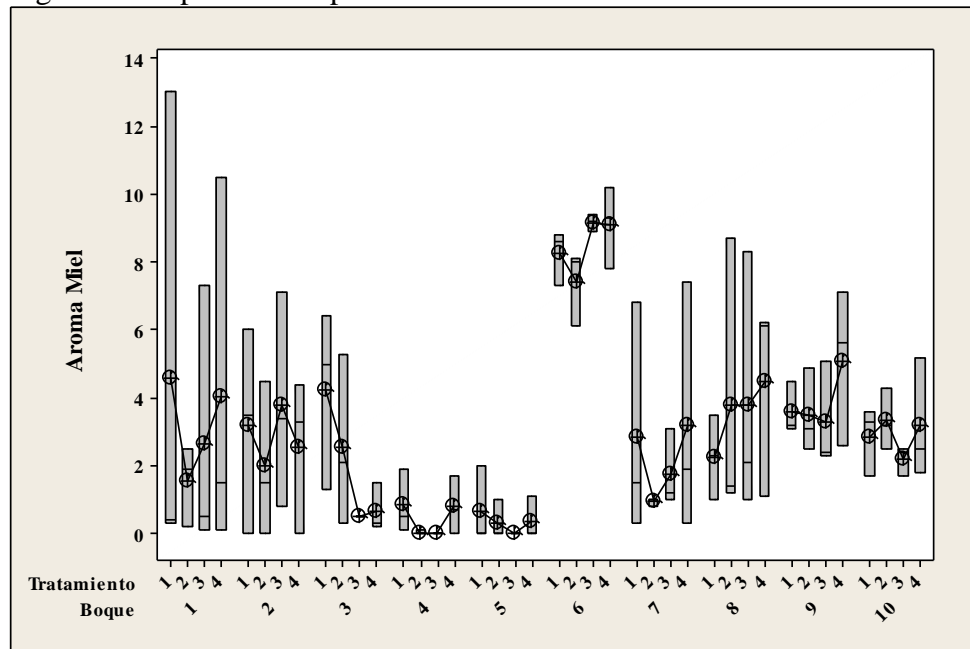
A partir de la información de la figura 7 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre aroma a pimentón verde vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada en particular para modificar el aroma a pimentón verde del vino.

## Aroma a Miel

El aroma a miel puede ser causado por la presencia de norisoprenoides y su concentración en la variedad Sauvignon blanc se encuentra normalmente en valores de un 27% de los compuestos que explican el aroma de esta variedad (Marais, 1994). Algunos esteres etílicos de ácidos grasos como el fenilacetato de etilo en bajas concentraciones también puede contribuir a la complejidad de esta variedad aportando aromas a cera y miel (Catania y Avagnina, 2007a) pero no se desean en altas concentraciones ya que puede ser excesivo y transformarse en defecto (Coetzee y Du Toit., 2012).

Hay antecedentes en otras investigaciones donde se ha determinado que levaduras con gran demanda de nitrógeno produce alta concentración de esteres durante la fermentación (Hernandez-Orte *et al.*, 2005) y por lo tanto se evidencia que la composición nitrogenada del mosto puede afectar el perfil aromático a través de la formación de esteres etílicos.

Figura 8. Respuestas del panel sobre Aroma Miel



A partir de la información de la figura 8 se puede observar gran dispersión en las respuestas del panel entrenado evidenciado por un coeficiente de variación sobre 20%, indicando que la magnitud de la distribución de las desviaciones estándar son demasiado variables y por lo tanto la estimación es poco precisa. En el ANOVA realizado no se observaron diferencias significativas entre aroma a miel vs tratamiento y por lo tanto según los datos presentados en este estudio no se recomienda utilizar una fuente nitrogenada de la forma señalada en esta investigación para modificar el aroma a miel del vino.



## **CONCLUSIONES**

Para las condiciones de evaluación y análisis utilizados en el presente estudio y de acuerdo al objetivo planteado es posible concluir que:

Las mediciones de las variables químicas realizadas a los 4 tratamientos de vino no evidencian diferencias significativas.

Las diferentes mezclas nitrogenadas utilizadas como nutrientes para las levaduras, afectó el comportamiento de la fermentación alcohólica del tratamiento 3 pero sin afectar el número de días en que esta concluye.

Los resultados de la evaluación sensorial realizada a los tratamientos de diferentes fuentes nitrogenadas usadas en la fermentación alcohólica generan diferencias significativas solo en el aroma a pera.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albers, E., C. Larsson, G. Liden, C. Nicklasson and L. Gustafsson. 1996. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae* anaerobic growth and product formation. *Applied and Environmental Microbiology*. 62(2): 3187 - 3195.
- Allen, M. S. and M.J., Lacey. 1993. Methoxypirazine grape flavour: influence of climate, cultivar and viticulture. *Viticultural and enological sciences*. 48: 212 - 213.
- Antonielli, A., L. Castellari, C. Zambonelli and A. Carnacini. 1999. Yeast influence on volatile composition of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(3): 1139 – 1144.
- Bayonove, C., R. Baumes, J. Cruzet, and Z. Gunata. 2000. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. AMV Ediciones, Madrid, España. 797 p.
- Beltran, G. and J. M. Guillamón. 2009. Relación entre el contenido nitrogenado en mosto/uva y la síntesis de aromas: efecto sobre la producción de sulfhídrico. Seminario Técnico de Compuestos Azufrados Volátiles. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Universidad Rovira i Virgili. 112 p.
- Bely, M., J.M. Sablayrolles and P. Barre. 1990. Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in enological conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 70: 246 - 252.
- Bell, SJ. and P. Henschke. 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11: 242 - 295.
- Bertrand, A., J. Atrajona-Serrano and C. Ollivier. 1987. Incidence du débourage et role des lipids sur la formation par les levures des produits secondaries lors de la vinification en blanc. *Institut d'œnologie de Bordeaux*. 1986: 69 - 71.
- Bisson, L. F. 1999. Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50: 107 - 119.
- Bisson, L. F. and C. Butzke. 2000. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*. 51, 2, 168 - 177.
- Bordeau, E. and J. Scarpa. 1998. *Análisis químico del vino*. Ediciones Universidad Católica de Chile. 253p.
- Butzke, C. 1998. Survey of yeast assimilable nitrogen status in must from California, Oregon and Washington. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49: 220 - 224.

Cacho, J. 2006. La percepción de notas aromáticas del vino y el efecto de ciertas moléculas volátiles. ACE Revista de Enología. Disponible en: [http://www.acenologia.com/ciencia74\\_2.htm](http://www.acenologia.com/ciencia74_2.htm). Leído el 04 de noviembre de 2013.

Casp, A. y A. Lopez. 1985. Efecto del contenido en sólidos en suspensión sobre la composición y calidad del mosto. La Semana Vitivinícola. 2042: 3631 - 3637.

Catania, C. y S. Avignina. 2007a. Los aromas responsables de la tipicidad y la vinosidad. Curso Superior de Degustación de Vinos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. 19 p

Catania, C. y S. Avignina. 2007b. Sauvignon blanc. Curso Superior de Degustación de Vinos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. 19 p

Chone, X., V. Lavigne-Cruege, T. Tominaga, C. Van Leeuwen, C. Castagnede, C. Saucier, D. Dubordieu. 2006. Effect of nitrogen status on grape aromatic potential: Flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. 40: 1 - 6.

Coetzee, C. and W. J. Du Toit. 2012. A Comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. Food Research International. 45: 287 - 298.

Cook, R.M., B.R. Devlin, S.E. Ebeler and C.E. Butzke. 1998. Evaluation of a digital blood gas monitor for measuring residual sugar in wines. American Journal of Enology and Viticulture. 49: 225 - 228.

Cutzach, I., P. Chatonnet and D. Dubourdieu. 1998. Etude de l'arôme des vins doux naturels non muscatés. 1ère Partie : Analyse qualitative de l'arôme des vins doux naturels de Banyuls et Rivesaltes rencontré au cours de leur vieillissement. International Journal of Vine and Wine Sciences. 32: 99-110.

Dubourdieu, D., P. Darriet and V. Lavigne. 1993. Resershe sur l'arome varietal du cepage Sauvignon. Edicion Lemperle, E. Montreux, Switerland. 416 p.

Escudero, A., B. Gogorza, M. A. Meluas, N. Ortian, J. Cacho and V. Ferreira. 2004. Characterization of the Aroma of a Wine from Maccabeo. Key Role Played by Compounds with Low Odor Activity Values. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 3516 - 3524.

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 Zaragoza. 62: 7 - 36.

Fleet, G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavor. International Journal of Food Microbiology. 86: 11 - 22.

Gangner, J., K. Poole and V. Jiranek. 2002. Practical significance of relative asimilable nitrogen requeriments of yeast: a preliminary study of fermentation performance and liberation of H<sub>2</sub>S. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 8: 175 - 179.

García-Barceló, J. 1990. *Técnicas analíticas para vinos*. 1ra ed. GAV. Barcelona, España. 612 p.

Gobbi, M., F. Comitini, G. D'Ignazi and M. Ciani. 2013. Effects of nutrient supplementation on fermentation kinetics, HS evolution, and aroma profile in Verdicchio DOC wine production. *European Food Research and Technology*. 236: 145 - 154.

Gockwiak, H and P. Henschke. 1992. Nitrogen composition of grape juice and implication for fermentation: results of a survey made in N-E Victoria. *Australian Grapegrower and Winemaker* 340: 133 - 138.

Graham H. 1993. *Wine Microbiology and Biotechnology*. Taylor and Francis, Chur, Switzerland. 510 p.

Gutierrez, A., M. Sancho, X. Ganiko, E. Navascues, G. Beltrán and J. M. Guillamón. 2012. Necesidades nitrogenadas de cuatro levaduras comerciales durante la fermentación alcohólica. Tesis de Magíster en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. 22 p.

He, J., Q. Zhou, J. Peck, R. Soles and C. Quian. 2013. The effect of wine closures on volatile sulfur and other compounds during post-bottle ageing. *Flavour and Fragrance Journal* 28: 118 - 128.

Hernandez-Orte, P., M.J. Ibartz, J. Cacho and V. Ferreira. 2005. Effect of addition of ammonium and amino acids to must of airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry*. 89: 163 - 174.

International Organisation of Vine and wine (OIV). 2011. *International Code of Oenological Practices*, Paris, France. 280 p.

Ismail, H. M., A. Williams, and O. Tucknott. 1981. The flavour of plums (*Prunus domestica* L.). An examination of the aroma components of plum juice from the cultivar Victoria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 32:613 - 619.

Jiranek, V., P. Langridge and A. Henschke. 1995. Amino acid and ammonium utilization by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast from a chemically defined médium. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46: 75 - 83.

Killian, R. E. and C. S. Ough. 1979. Fermentation ester-formation and retention as affected by fermentation temperature. *American Journal of Enology and Viticulture*. 30: 301 - 322

- Kunkee, R.E. 1984. Selection and modification of yeast and lactic acid bacteria for wine fermentation. *Food Microbiology*. 1: 315 - 322
- Kunkee, R.E. 1991. Relationship between nitrogen content of must and sluggish fermentation. In Rantz, J.M. (ed). *Symposium on nitrogen in grapes and wines*. American Society Enologic Viticulture. Davis, California. 148 - 155.
- Lacey, M. J., M. Allen, R. Harris and W. Brown. 1991. Methoxypyrazines in Sauvignon blanc grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42: 103 - 108
- Lafon-Lafourcade, S. 1980. Connaissances récentes sur les accidents de la fermentation. *Révue Française d'Oenologie*. 80:63 - 75.
- Lambrechts, MG and IS. Pretorius. 2000. Yeast and its importance to wine aroma. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21: 97 - 129.
- Lavin, E.H. and T.E. Acree. 1992. Gas chromatography-olphtometry of alkyl methoxipirazine in wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 43: 392 - 393.
- Lizama, C. 2004. Efectos de distintos niveles de un complejo nutritivo y fosfato diamónico sobre la cinética de fermentación. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. 33 p.
- Lozano, J., J.P. Santos and M.C. Horrillo. 2005. Classification of white wine aromas with an electronic nose. *Talanta*. 67: 610 - 616.
- Marais, J. 1994. Sauvignon blanc cultivar aroma – a Review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 15: 41- 45.
- Mazaira, J. L., J. Cacho and I. Orriols. 2004. Incidencia de diferentes tiempos de desfangado estático sobre el perfil aromático de vinos blancos de la variedad Godello. Pp 1-17. 19 Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
- Meistermann, E., E. Vinnsonneau, R. Naudin, J. L. Favarel and P. Poupault. 1994. Qualite des vin blanc. Recherche des meilleurs profils thermiques a appliquer durant la fermentation alcoolique. *Institut Technologique de la Vigne et du Vin*. 43 - 51.
- Monteiro, F. and L, Bisson. 1992. Nitrogen supplementations of grape juice. Effect on amino acid utilization during fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture* 43(1): 1 - 10.

Nakamura, S., E.A. Crowe, C.S. Ough and A. Totsuka. 1988. Quantitative analysis of  $\gamma$ -nonalactona in wine and its threshold determination. *Journal Food Science*. 53: 1243 - 1244.

Nitz, S. and H. Kollmannsberger. 1993. Changes in flavour composition during thermal concentration of apricot purée. *European Food Research and Technology*. 6: 541 - 545.

Ough, C. 1964. Fermentation rates of grape juice. Effect of temperature and composition on white juice fermentation rates. *American Journal of Enology and Viticulture*. 15: 167 -177.

Paladino, S., ML. Sánchez, and M. Marcos. 2004. Nitrógeno prontamente asimilable, Efecto sobre la velocidad de fermentación del jugo de uva (*Vitis Vinífera* L). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 36: 79 - 86.

Sablayrolles, J., C. Dubois, C. Manginot, J. Roustan and P. Barre. 1996. Effect of variety, year, and grape maturity on the kinetic of alcoholic fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*. 47: 363 - 368.

Salmon, JM. 1996. Sugglish and stuck fermentations: some actual trends on their physiological basis. *Viticulture Enology Science* 51: 137 - 140.

Salmon, JM. and P. Barre. 1998. Improvement of nitrogen assimilation and fermentation kinetics under enological conditions by derepression of alternative nitrogen-assimilatory pathways in an industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Applied and Enviromental Microbiology* 64: 3831 - 3837.

Suarez Lepe, J. A. 1997. *Levaduras vinicas: Aplicación y uso en bodega*. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 269p.

Thibon C, P. Marullo, O. Classie, D. Dubordieu and T. Tominaga. 2008. Nitrogen catabolic repression controls the release of volatile thiols by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *FEMS Yeast Research*. 8: 1076 - 1086.

Tominaga, T., Y. Niclass, E. Frérrot and D. Dubourdiou. 2006. Stereoisomeric distribution of 3-Mercaptohexanol-1-ol and 3-Mercaptohexil acetate in dry and sweet white wines made from *Vitis Vinifera* (Var. Sauvignon blanc and Semillon). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 7251 - 7255.

Torrea, D., C. Varela, M. Ugliano, C. Ancin-Azpilicueta, I. Francis and P. A. Henschke. 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.

Vilanova, M., M. Ugliano, C. Varela, T. Siebert, I.S Pretorius and P.A. Henschke. 2007. Assimilable nitrogen utilisation and production volatile and non volatile compounds in chemically defined médium by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *Applied Microbial and Cell Phisiology* 77: 145 - 157.

Zoecklein, B., K. Fugelsang, B. Gump y F. Nury, 2001. Análisis y producción de vino. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España. 613p.

## ANEXO I

### Pauta de evaluación sensorial de vinos Sauvignon Blanc

Muestra n°: \_\_\_\_\_

Nombre Evaluador: \_\_\_\_\_

A continuación usted degustará seis muestras de vinos. Le solicitamos deguste las primeras tres muestras, realice una pausa y continúe con las tres muestras restantes.

#### ASPECTO OLFATIVO

##### Intensidad Aromática

---

Baja

Alta

##### Aromas Cítricos (Mandarina, Limón)

---

Baja

Alta

##### Aromas Tropicales (Maracuyá, Mango)

---

Baja

Alta

##### Aroma a Pera

---

Baja

Alta

##### Aroma a Durazno

---

Baja

Alta

##### Aroma a Pimentón verde

---

Baja

Alta

##### Aroma a Miel

---

Baja

Alta