

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**USO DE LEVADURAS INACTIVAS Y SU EFECTO EN LA COMPOSICIÓN
FENÓLICA Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN VINOS CABERNET
SAUVIGNON.**

CARLOS ADOLFO INFANTE VENEGAS

SANTIAGO, CHILE

2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**USO DE LEVADURAS INACTIVAS Y SU EFECTO EN LA COMPOSICIÓN
FENÓLICA Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN VINOS CABERNET
SAUVIGNON.**

**USE OF INACTIVE YEAST AND ITS EFFECT ON THE PHENOLIC
COMPOSITION AND SENSORY CHARACTERISTICS CABERNET
SAUVIGNON.**

CARLOS ADOLFO INFANTE VENEGAS

SANTIAGO, CHILE

2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**USO DE LEVADURAS INACTIVAS Y SU EFECTO EN LA COMPOSICIÓN
FENÓLICA Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN VINOS CABERNET
SAUVIGNON.**

Memoria para optar al título
profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención Enología

CARLOS ADOLFO INFANTE VENEGAS

	Calificaciones
Profesor Guía	
Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,7
Profesores Evaluadores	
Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,3
Giorgio Castellaro G. Ingeniero Agrónomo, Mg.Sc.	6,0

SANTIAGO, CHILE

2013

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la fuerza y la entereza en el transcurso de toda la carrera y sobretodo en el desarrollo de mi memoria de título.

Expreso toda mi gratitud a mis padres Miguel Ángel y Rossy, los cuales con su cariño y apoyo fueron pilares fundamentales a lo largo de toda mi etapa universitaria. También quiero agradecer a mis hermanos Bárbara y Oscar por la ayuda y motivación que siempre me brindaron. A Natalia por estar a mi lado en todo momento, entregándome su amor y apoyo.

A mis abuelitos Luzmira, Elena y Enrique por todo el amor y por los sabios consejos y valores que desde niño me han entregado. A mis tíos y primos, en especial a mi tío Carlos por su orientación y ayuda incondicional en cada momento que lo he necesitado. A mis amigos de universidad y los de toda la vida que siempre estuvieron conmigo.

Agradezco al profesor Sr. Eduardo Loyola, el cual siempre tuvo el tiempo y la disposición para atender mis consultas, entregándome su ayuda y orientación a lo largo de todo este proceso,

Agradezco al profesor Sr. Elías Obreque por sus buenos consejos y apreciaciones. A la Sra. Laura Cabello por entregarme su amistad y ayuda en el Laboratorio de Enología.

A la Sra. Cecilia Torres por su gestión y preocupación en la entrega de los vinos Cabernet Sauvignon de la Viña Santa Rita.

*Desde este día os bendeciré.
Hageo 2:19*

ÍNDICE

RESUMEN	1
Palabras claves	1
ABSTRACT	2
Keywords	2
INTRODUCCIÓN	3
Objetivo	4
MATERIALES Y MÉTODO	5
Lugar de estudio	5
Materiales	5
Método	5
Tratamiento y diseño experimental	5
Procedimiento	6
Determinaciones analíticas	7
Análisis básicos	7
Análisis de compuestos fenólicos	7
Análisis sensorial de los vinos	7
Análisis estadístico	8
RESULTADO Y DISCUSIÓN	9
Análisis básicos	9
Acidez volátil	9
Acidez total	11
pH	13
Azúcares reductores	15
Análisis de compuestos fenólicos	17
Fenoles totales	17
Taninos totales	19
Antocianos totales	21
Intensidad colorante	23
Análisis sensorial	25
Calidad	25

Intensidad de color	25
Atributos olfativos	26
Atributos gustativos	27
Aceptabilidad	28
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	30
ANEXOS	33

RESUMEN

En los últimos años ha aumentado el interés por el uso de preparaciones comerciales de levaduras inactivas, ya que estas podrían otorgar variados beneficios a los procesos tecnológicos y sensoriales de los vinos. A pesar de ello, la información relativa a su composición química, modo de acción y su efecto en la calidad sensorial de los vinos es todavía muy escasa.

En la presente investigación se evaluó el efecto de una preparación comercial de levaduras inactivas marca Vin'Style® sobre la composición fenólica y las características sensoriales de vinos cultivar Cabernet Sauvignon estilo varietal y reserva.

Los vinos de ambos estilos se obtuvieron tras haber finalizado su fermentación alcohólica y sobre ellos se aplicaron 0; 30 y 40 g·hL⁻¹ de levaduras inactivas. Luego se dejaron evolucionar por tres meses, realizando mensualmente los análisis básicos de acidez volátil, acidez total, pH y azúcares reductores junto con los análisis de compuestos fenólicos, correspondientes a fenoles totales, taninos totales, antocianos totales e intensidad colorante. Por último, al final del periodo de evolución, se realizó la evaluación sensorial de calidad y aceptabilidad de los dos estilos de vino.

Los análisis básicos mostraron que la adición de las levaduras inactivas no provocó ninguna alteración en los vinos, ya que estos presentaron valores dentro de los rangos normales a lo largo de su evolución. Los resultados de los análisis de compuestos fenólicos indicaron que el vino estilo reserva obtuvo un aumento significativo en el contenido de taninos, antocianos e intensidad colorante con la dosis de 40 g·hL⁻¹ de levaduras inactivas, mientras que el vino varietal mejoró significativamente la intensidad colorante con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levaduras inactivas.

El análisis sensorial indica que el efecto de las levaduras inactivas no fue significativo sobre la calidad de los vinos estilo reserva y varietal. Por otro lado la aceptabilidad del vino estilo reserva obtuvo un puntaje significativamente mayor con la dosis de 30 g·hL⁻¹.

Palabras claves:

- Levaduras inactivas
- Compuestos fenólicos
- Análisis sensorial
- Cabernet Sauvignon

ABSTRACT

During the last years have increased the interests for using inactive yeast in commercial preparations, these could bring several benefits to the process and the sensory wines. In spite of that, the information on their chemical composition, mode of action and their effect on the sensory quality of the wines are still very scarce.

In this research we evaluated the effect of inactivated yeast in commercial preparations Vin'Style® brand on the phenolic composition and sensory characteristics of Cabernet Sauvignon varietal wine and reserve style.

The wines of both styles were obtained after having completed the alcoholic fermentation and inactive yeast were applied them at doses of 0; 30 and 40 g·hL⁻¹. Then allowed to evolve for three months, making monthly basic analysis of volatile acidity, total acidity, pH and reducing sugars together with the analysis of phenolic compounds, for total phenols, total tannins, total anthocyanins and color intensity. Finally, at the end of the period of evolution, we performed the sensory evaluation of quality and acceptability of the two styles of wine.

The basic analysis showed that the addition of inactive yeast caused no alteration in wines, as these had an evolution with values within the normal range. The results of the analysis indicated that the phenolic compounds reservation style wine obtained a significant increase in the content of tannins and anthocyanins and color intensity with a dose of 40 g·hL⁻¹ of inactive yeasts, while varietal wine significantly improved color intensity with doses of 30 and 40 g·hL⁻¹ of inactive yeast.

Sensory analysis indicates that the effect of inactive yeast was not significant in the quality of reserve wines and varietal style. Furthermore, the acceptability of the reserve style wine scored significantly higher dose of 30 g·hL⁻¹ of inactive yeast.

Keywords

- Inactive yeast
- Phenolic compounds
- Sensory Analysis
- Cabernet Sauvignon

INTRODUCCIÓN

Las levaduras como todos los seres vivos necesitan de un sustrato para desarrollar sus funciones vitales, a partir del cual son capaces de provocar una serie de reacciones de degradación (catabolismo). Es a través de estas reacciones que obtienen energía y determinadas sustancias que precisan para producir reacciones de construcción o síntesis (anabolismo), y por otra generar sustancias de desecho que vierten al medio que las rodea (Hidalgo, 2003).

Estas sustancias de desecho son las que juegan un rol esencial en los mostos, donde un reducido número de microorganismos serán capaces de sobrevivir. Los principales factores de esta selección son la acidez, la riqueza en azúcares del medio, la limitación de oxígeno y las altas concentraciones de alcohol hacia el final de la fermentación. En poco tiempo, sólo unas pocas levaduras y bacterias subsisten en el mosto o en la vendimia encubada (Du Toit y Pretorius, 2000).

Según Reed y Nagodawithana (1988), las levaduras que se desarrollan en una primera etapa en el mosto son *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora spp*, *Candida spp*, *Pichia anómala* y *Torulasporea drueckii*lb. Posteriormente, dichas levaduras dan paso a otras más resistentes al alcohol como *Saccharomyces*.

En los últimos años ha aumentado el interés por el uso de preparaciones comerciales que incluyan en su composición productos procedentes de las levaduras, tales como las levaduras inactivas. Estas últimas se obtienen a partir de la levadura enológica *Saccharomyces cerevisiae* tras su inactivación térmica y posterior secado, logrando suprimir su capacidad fermentativa (Pozo-Bayon *et al.*, 2009). Las manoproteínas son el principal constituyente de su pared celular, con un valor que varía entre 25 y 50% de su peso seco. Estas levaduras inactivas han sido recomendadas para mejorar los procesos tecnológicos y las características sensoriales de los vinos. Su uso como aditivo enológico durante la vinificación ha sido aprobado por la Unión Europea (EU Regulation) el año 2005 (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

La mejora de los procesos fermentativos mediante el empleo de levaduras inactivas se basa en una acción indirecta, gracias a su efecto protector durante la hidratación de las levaduras secas activas, o bien en un efecto directo de estimulación de la fermentación alcohólica y maloláctica (Pozo-Bayón *et al.*, 2009). Al contrario de la fermentación alcohólica, la fermentación maloláctica suele ser un proceso más lento y en algunos casos se requieren meses para completarla. Hasta que este proceso no se haya completado, no se puede comenzar el resto de las operaciones de vinificación (Chatonnet *et al.*, 1995). Por esta razón, es que estos preparados se emplean generalmente una vez que la fermentación alcohólica ha finalizado (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

Existen diversos sistemas de vinificación, los cuales pueden afectar la extracción de los compuestos fenólicos, palatabilidad y el estilo del vino (Zoecklein *et al.*, 2001). Debido a esto la composición fenólica del vino dependerá del tipo de uva utilizada y de los procesos realizados durante su elaboración (Shahidi y Naczki, 2004).

En el vino, los compuestos fenólicos son uno de los componentes primordiales, ya que son los responsables de importantes características sensoriales de este. El contenido de estos compuestos en el vino depende tanto de la variedad vinífera, de las condiciones edafoclimáticas y técnicas culturales aplicadas al viñedo (González-San José *et al.*, 1990). Los compuestos fenólicos que mayor influencia tendrán sobre el color, su evolución y otras características organolépticas de la calidad del vino tinto son los antocianos y los flavanoles (Zamora, 2003). Con el tiempo, estos compuestos experimentan importantes transformaciones que conducen a cambios notables en la composición de los vinos, por ello pueden considerarse el factor que determina su aptitud al envejecimiento (Cheynier *et al.*, 2000)

Los antocianos son los responsables del color rojo azulado de la piel de las uvas tintas y naturalmente del color del vino tinto. Los flavanoles polimerizados o taninos condensados, corresponden a cadenas de diferente número de unidades de los diversos flavanoles monómeros (Zoecklein *et al.*, 2001). Una de las funciones de los taninos condensados en el vino es entregar características de vital importancia organoléptica, como cuerpo, estructura, amargor, astringencia y capacidad para la crianza (Romero, 2008). También son de gran importancia en la estabilización del color de un vino (Peynaud, 2000), al estabilizar las antocianinas combinándose con ellas y formando pigmentos poliméricos más grandes (Singleton y Trousdale, 1992). Principalmente los polisacáridos de las levaduras inactivas tendrían la función de ser coloides protectores de estos compuestos fenólicos (antocianos y taninos) para así ayudar en la estabilización del color de los vinos y en la disminución de su astringencia (Escot *et al.*, 2003).

Según Feullat (citado por Lallemand, 2006), los compuestos liberados por la autólisis de las levaduras inactivas entre ellos péptidos y aminoácidos, pueden conferir sabores y aromas amargos o dulces, nucleósidos y nucleótidos que pueden ser agentes de aroma y sabor. Por otro lado, están las manoproteínas que junto a otros componentes de la pared podrían estimular el crecimiento de bacterias lácticas, tener interacciones con componentes aromáticos, aumentar el volumen y redondez en boca y cooperar en la estabilidad tartárica y proteica. Por lo anteriormente planteado, se debe la aparición de un elevado número de preparaciones bajo diferentes marcas comerciales. A pesar de ello, la información relativa a su composición química, modo de acción y su efecto en la calidad sensorial de los vinos es todavía muy escasa.

Objetivo

-Evaluar el efecto de una preparación comercial de levaduras inactivas sobre la composición fenólica y las características sensoriales de vinos cultivar Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Los análisis físicos, químicos y sensoriales se realizaron en los laboratorios del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Vinos Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal cosecha 2011 de la Viña Santa Rita, ubicada en el Valle de Colchagua, obtenidos luego de terminar su fermentación alcohólica. El vino estilo reserva es parte de la mezcla final para la elaboración de Medalla Real de Santa Rita, mientras que el varietal forma parte de la mezcla final para la elaboración de Tres Medallas de Santa Rita.

Las características de los vinos Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal se detallan en el Anexo 1.

Las levaduras inactivas utilizadas en el ensayo correspondieron a la marca Vin'Style® distribuida por la empresa Lallemand. También se utilizaron bacterias lácticas *Oenococcus oeni* distribuidas por la misma empresa.

Para el transporte de los vinos desde la Viña Santa Rita bodega Palmilla hasta las dependencias de la facultad se utilizaron bidones de plástico de uso alimentario de 25 L. Además, al término de la vinificación se utilizaron bidones de plástico de uso alimentario de 5 L junto con botellas de vidrio de 187 mL y 750 mL.

Método

Tratamientos y Diseño experimental

Para evaluar el efecto de la adición de levaduras inactivas sobre la composición fenólica de los vinos Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal, se realizaron dos ensayos, uno para cada estilo de vino. Ambos ensayos fueron desarrollados con un diseño completamente aleatorizado con estructura factorial de 3x3, efectuando tres repeticiones por tratamiento.

El primer factor fue la dosis de levadura inactiva utilizada, que se aplicó en tres niveles, 0; 30 y 40 g·hL⁻¹. El segundo factor correspondió al tiempo de evolución de los vinos que fue medido a los 30; 60 y 90 días posteriores a la aplicación de las levaduras inactivas.

La unidad experimental correspondió a un bidón de plástico de uso alimentario de 5 L, en el cual se realizaron los tratamientos con sus respectivas repeticiones. De este bidón se obtuvieron las unidades muestrales para cada fecha de medición, que correspondieron a botellas de vidrio de 187 mL.

En el Cuadro 1 se observan los tratamientos con sus respectivos factores, aplicados en el vino estilo reserva y varietal.

Cuadro 1. Tratamientos, factores y repeticiones constituyentes para cada ensayo.

Tratamientos	Factor 1 Dosis de levadura Inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)	Factor 2 Tiempo de evolución (días)	Repeticiones
T030	0	30	3
T060	0	60	3
T090	0	90	3
T130	30	30	3
T160	30	60	3
T190	30	90	3
T230	40	30	3
T260	40	60	3
T290	40	90	3

Para evaluar el efecto de las levaduras inactivas sobre las características sensoriales de calidad y aceptabilidad de los vinos Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal, se realizaron dos ensayos, uno para cada estilo de vino. Para cada ensayo se efectuó un diseño en bloque completamente aleatorizado constituido por tres tratamientos; estos fueron 0; 30 y 40 $\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$ de levaduras inactivas. Se contó con 12 evaluadores, correspondiendo cada uno a un bloque, los cuales evaluaron los tres tratamientos de cada ensayo.

La unidad experimental correspondió a un bidón de plástico de uso alimentario de 5 L, en el cual se realizaron los tratamientos. De cada unidad experimental se obtuvieron las unidades muestrales correspondientes a botellas de vidrio de 750 mL.

Procedimiento

Los vinos utilizados en los ensayos se obtuvieron al término de su fermentación alcohólica realizada en la Viña Santa Rita. Los vinos de los dos estilos fueron trasladados en bidones de plástico de uso alimentario de 25 L hasta las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas. Luego los bidones de 25 L que contenían los vinos fueron inoculados con bacterias lácticas *Oenococcus oeni* para lograr una fermentación maloláctica homogénea para todos los tratamientos. Paralelamente se aplicaron las levaduras inactivas con sus respectivas repeticiones sobre bidones de plástico de uso alimentario de 5 L, para luego ser distribuidos en botellas de vidrio de

187 mL para los análisis químicos y en botellas de 750 mL para los análisis sensoriales. Los vinos se dejaron evolucionar en una sala oscura a una temperatura aproximada de 20°C. Luego de 17 días y mediante cromatografía en papel, se verificó que la fermentación maloláctica se había realizado correctamente en todos los tratamientos. Posterior a esto los vinos fueron sulfitados con una solución al 5% de metabisulfito de potasio, para finalmente a los 30; 60 y 90 días posteriores a la aplicación de las levaduras inactivas tomar las muestras correspondientes para los análisis químicos. Las botellas de 750 mL se dejaron evolucionar por 3 meses luego de aplicados los tratamientos, para luego realizar el análisis sensorial.

Determinaciones analíticas

A continuación se detallan las determinaciones analíticas que se efectuaron sobre el vino terminado.

Análisis básicos. En los vinos se analizó el contenido de acidez volátil, grado alcohólico, acidez de titulación, pH y azúcares reductores según los métodos recopilados por Borgeau y Scarpa (1998).

Análisis de compuestos fenólicos. Las determinaciones sobre los vinos terminados fueron:

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

Taninos totales: Mediante la reacción en medio ácido ((Bate-Smith, 1981).

Antocianos totales: Por decoloración por bisulfito (García-Barceló, 1990).

Intensidad colorante: Mediante análisis espectrofotométrico a DO 420nm+520nm+620nm (Glories, 1978).

Análisis sensorial. La calidad sensorial de los vinos fue evaluada por un panel de 12 degustadores entrenados. Se evaluaron las características visuales, olfativas y gustativas del vino obtenido, mediante una pauta no estructurada con escalas de 0 a 15 cm, confeccionada especialmente para este caso (Anexo 2). En la fase visual se analizó el atributo de intensidad de color mientras que en la fase olfativa se analizaron los atributos correspondientes a intensidad aromática aroma frutos rojos, aroma vainilla, aroma café. Finalmente en la fase gustativa se evaluó acidez, cuerpo, dulzor, astringencia, amargor y persistencia.

Por otra parte, la aceptabilidad de los vinos se determinó a través de una prueba de Escala Hedónica usando una pauta no estructurada con escalas de 0 a 15 cm (Anexo 3). En esta degustación de vinos los constituyentes del panel fueron 12 consumidores.

Análisis estadístico

Los resultados de los análisis de laboratorio se analizaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) con la verificación previa de los supuestos sobre los términos del error. Se utilizó la prueba de Anderson-Darling para verificar el supuesto de normalidad, y la prueba de Bartlett para la homogeneidad de varianzas. En caso de que los supuestos no se cumplieran, se transformaron las variables originales, y en el caso de existir diferencias significativas se aplicó el test de rango múltiple de Tukey, al 5% de significación, utilizando el programa Minitab Release ®.

Los resultados de la evaluación sensorial de calidad y aceptabilidad se analizaron mediante (ANDEVA) con la verificación previa de los supuestos sobre los términos del error. Se utilizó la prueba de Anderson-Darling para verificar el supuesto de normalidad, y la prueba de Bartlett para la homogeneidad de varianzas. En caso de que los supuestos no se cumplieran, se transformaron las variables originales, y en el caso de existir diferencias significativas se aplicó el test de rango múltiple de Duncan, al 5% de significación, utilizando el programa Minitab Release ®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados de los análisis básicos y de compuestos fenólicos obtenidos a partir de las tres dosis de levaduras inactivas (factor 1) aplicadas a vinos Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal en las mediciones realizadas a los 30; 60 y 90 días posterior a la adición de las levaduras inactivas (factor 2).

Los vinos estilo reserva y varietal presentaron un grado alcohólico de $14,1^{\circ}\text{G.L\%vol.}^{-1}$ y $13,9^{\circ}\text{G.L\%vol.}^{-1}$ respectivamente.

Análisis básicos

Acidez volátil

En el Cuadro 2 se presentan los valores promedio del contenido de acidez volátil obtenidos en el vino estilo reserva luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 2. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de acidez volátil del vino estilo reserva.

Factores	Acidez volátil ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ácido acético)		
1) Dosis levadura inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)			
0	0,30 a		
30	0,32 a		
40	0,31 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	0,25 a		
60	0,26 a		
90	0,42 b		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura Inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)	30	60	90
0	0,25 a A	0,21 a A	0,43 a A
30	0,25 a A	0,28 a A	0,46 a A
40	0,25 a A	0,30 a A	0,40 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Del cuadro anterior se desprende que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo sobre el contenido acidez volátil del vino estilo reserva. Sin embargo se observa un aumento significativo en la concentración de ácido acético a los 90 días debido al efecto del factor tiempo de evolución. Con respecto a la interacción de los factores no se detectaron diferencias significativas.

A continuación se muestran los valores promedio del contenido de acidez volátil obtenidos en el vino estilo varietal luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 3. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de acidez volátil del vino estilo varietal.

Factores	Acidez volátil (g·L⁻¹ ácido acético)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	0,36 a		
30	0,35 a		
40	0,37 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	0,31 a		
60	0,35 a		
90	0,37 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	0,31 a A	0,35 a A	0,41 a A
30	0,31 a A	0,38 a A	0,35 a A
40	0,30 a A	0,40 a A	0,43 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El efecto del factor dosis de levadura inactiva y del factor tiempo de evolución no fueron significativos sobre el contenido de acidez volátil del vino estilo varietal. Con respecto a la interacción de los factores, tampoco se detectaron diferencias significativas en el contenido de acidez volátil.

Los valores promedios de acidez volátil obtenidos en ambos estilos de vinos se encuentran dentro de lo normal, ya que según Ribereau-Gayon (citado por Zoecklin *et al.*, 2001) un vino seco y sano debería tener valores entre 0,2 y 0,4 g·L⁻¹ de ácido acético.

Otro aspecto que se debe considerar en los valores de acidez volátil, fue la inoculación directa de bacterias lácticas *Oenococcus oeni* para el desarrollo de la fermentación maloláctica, ya que estas bacterias tienen un metabolismo de tipo heterofermentativo, donde además de producir ácido láctico, producen otros compuestos como el ácido acético y etanol a partir de la glucosa y también por la ruta metabólica de las pentosas (Hidalgo, 2003).

Acidez total

En el Cuadro 4 se presentan los valores promedio del contenido de acidez total obtenidos en el vino estilo reserva luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 4. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de acidez total del vino estilo reserva.

Factores	Acidez total ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ácido sulfúrico)		
1) Dosis levadura inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)			
0	3,33 a		
30	3,42 a		
40	3,44 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	3,26 a		
60	3,34 a		
90	3,59 b		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)	30	60	90
0	3,19 a A	3,29 a A	3,51 a A
30	3,26 a A	3,39 a A	3,61 a A
40	3,32 a A	3,35 a A	3,66 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

En el cuadro anterior se observa que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo sobre el contenido acidez total del vino estilo reserva. Sin embargo, se observa un aumento significativo en la concentración de ácido sulfúrico a los 90 días debido al factor tiempo de evolución. Es pertinente señalar que el aumento de acidez total a los 90 días, pudo deberse al aumento en el contenido de acidez volátil producido en la misma fecha de medición, ya que según Flanzky (2000), la acidez total representa la cantidad total de los ácidos libres, que es la suma de la acidez fija y la acidez volátil. Con respecto a la interacción de los factores no se detectaron diferencias significativas.

A continuación se presentan los valores promedio del contenido de acidez total obtenidos en el vino estilo varietal luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 5. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de acidez total del vino estilo varietal.

Factores	Acidez total (g·L⁻¹ ácido sulfúrico)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	3,17 a		
30	3,26 a		
40	3,30 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	3,22 a		
60	3,26 a		
90	3,26 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	3,14 a A	3,19 a A	3,19 a A
30	3,27 a A	3,26 a A	3,26 a A
40	3,26 a A	3,32 a A	3,32 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Del cuadro anterior se desprende el factor dosis de levadura inactiva y el factor tiempo de evolución no tuvieron un efecto significativo con respecto al contenido de acidez total del vino estilo varietal, así como tampoco la interacción de ellos.

pH

En el Cuadro 6 se presentan los valores promedio de pH alcanzados por el vino estilo reserva luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 6. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el pH del vino estilo reserva.

Factores	pH		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	3,48 a		
30	3,50 a		
40	3,50 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	3,49 a		
60	3,49 a		
90	3,51 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	3,46 a A	3,46 a A	3,51 a A
30	3,50 a A	3,50 a A	3,50 a A
40	3,51 a A	3,51 a A	3,50 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El efecto del factor dosis de levadura inactiva y del factor tiempo de evolución no arrojó diferencias significativas sobre los valores de pH del vino estilo reserva, así como tampoco la interacción de ellos.

En el próximo cuadro se muestran los valores promedio de pH alcanzados por el vino estilo varietal luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 7. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el pH del vino estilo varietal.

Factores	pH		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	3,51 a		
30	3,49 a		
40	3,50 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	3,52 a		
60	3,49 a		
90	3,49 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	3,56 aA	3,46 a A	3,50 a A
30	3,50 aA	3,50 a A	3,48 a A
40	3,51 aA	3,51 a A	3,48 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El factor dosis de levadura inactiva y el factor tiempo de evolución no mostraron un efecto significativo sobre los valores de pH del vino estilo varietal, así como tampoco la interacción de ellos.

Ambos estilos de vino presentaron valores de pH similares los cuales fluctuaron entre 3,46 y 3,56.

Según Zamora (2003), el pH influye en forma directa en el color del vino tinto, ya que los antocianos presentan un equilibrio entre formas químicas diferentes en función del pH, lo que condiciona, enormemente su color. A pH muy ácido, la forma mayoritaria es catión flavilio o forma A⁺, que presenta una coloración roja. Cuando el pH del medio aumenta, la forma A⁺ se transforma en la base quinona o forma AO de color violáceo y en la forma AOH o carbinol que es incolora.

Azúcares Reductores

A continuación se exponen los valores promedio del contenido de azúcares reductores obtenidos en el vino estilo reserva luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 8. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de azúcares reductores del vino estilo reserva.

Factores	Azúcares reductores (g·L⁻¹ glucosa)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	2,25 a		
30	2,26 a		
40	2,25 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	2,25 a		
60	2,26 a		
90	2,25 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	2,24 a A	2,25 a A	2,24 a A
30	2,27 a A	2,27 a A	2,26 a A
40	2,25 a A	2,27 a A	2,25 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (P< 0,05).

El efecto del factor dosis de levadura inactiva y del factor tiempo de evolución no mostraron diferencias significativas sobre el contenido de azúcares reductores del vino estilo reserva, así como tampoco su interacción.

En el Cuadro 9 se presentan los valores promedio del contenido de azúcares reductores obtenidos en el vino estilo varietal luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 9. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de azúcares reductores del vino estilo varietal.

Factores	Azúcares reductores (g·L⁻¹ glucosa)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	2,25 a		
30	2,24 a		
40	2,22 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	2,22 a		
60	2,26 a		
90	2,23 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	2,25 a A	2,28 a A	2,23 a A
30	2,24 a A	2,25 a A	2,23 a A
40	2,18 a A	2,25 a A	2,23 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El efecto del factor dosis de levadura inactiva y del factor tiempo de evolución no arrojaron diferencias significativas sobre la concentración de azúcares reductores del vino estilo varietal, así como tampoco la interacción de ellos.

Según Zoecklein *et al* (2001), un vino seco debe contener valores menores a 2 g·L⁻¹ de azúcar residual, sin embargo este valor variará dependiendo de la concentración de pentosas no fermentables presentes en el vino. Debido a esto, es que se podría explicar que los valores de azúcar residual encontrados en los dos estilos de vino superaran levemente los 2 g·L⁻¹ y/o también pudo deberse que los vinos no quedaran totalmente secos al término de su fermentación alcohólica.

Análisis de compuestos fenólicos

Fenoles totales

A continuación, en el Cuadro 10 se presentan los valores promedio del contenido de fenoles totales de acuerdo a los tratamientos aplicados al vino estilo reserva.

Cuadro 10. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo reserva.

Factores	Fenoles totales (mg·L⁻¹ ácido gálico)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	1301 a		
30	1312 a		
40	1311 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	1378 b		
60	1242 a		
90	1304 a		
Interacción de los factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	1416 a A	1214 a A	1272 a A
30	1363 a A	1252 a A	1321 a A
40	1355 a A	1259 a A	1317 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (P < 0,05).

Del cuadro anterior se desprende que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo reserva. Sin embargo, se observa una disminución significativa en el contenido de fenoles totales debido al factor tiempo de evolución del vino. Con respecto a la interacción de los factores no se detectaron diferencias significativas.

En el Cuadro 11 se presentan los valores promedio del contenido de fenoles totales obtenidos en el vino estilo varietal, de acuerdo al efecto de la dosis de levadura inactiva, tiempo de evolución del vino y de la interacción de ellos.

Cuadro 11. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo varietal.

Factores	Fenoles totales (mg·L⁻¹ ácido gálico)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	1183 a		
30	1139 a		
40	1155 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	1093 a		
60	1101 a		
90	1282 b		
Interacción factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	1144 a A	1073 a A	1331 a A
30	1080 a A	1069 a A	1267 a A
40	1054 a A	1161 a A	1249 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Se observa que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo en el contenido de fenoles totales del vino estilo varietal. Por otro lado el factor tiempo obtuvo diferencias significativas, ya que se aprecia un aumento en el contenido de fenoles totales a los 90 días respecto de las otras dos mediciones. La interacción de los factores, dosis y tiempo de evolución, no evidenció diferencias significativas.

Riberau-Gayon *et al.*, (1998), agrega que los compuestos fenólicos sufren transformaciones durante la vinificación, sobre todo en vinos tintos. Estas transformaciones estarían dadas por procesos de oxidación, condensación, polimerización o precipitación, por lo tanto el resultado final de un vino es impredecible a partir de la composición química de la materia prima. Según Doco (2003), se ha demostrado que los polisacáridos de la levadura inactiva son capaces de proteger el color del vino, debido a la interacción de manoproteínas de la levadura con taninos y antocianinas, por lo tanto, evitar o minimizar la agregación y precipitación de polifenoles. Sin embargo, en los resultados observados en ambos estilos de vinos no se observó un efecto significativo de la levadura inactiva en el contenido de fenoles totales, más bien puede atribuirse al efecto del tiempo de evolución que tuvo la carga polifenólica propia de cada estilo de vino.

Taninos totales

En el Cuadro 12 se muestran los promedios del contenido de taninos totales alcanzados por el vino estilo reserva luego de aplicados los tratamientos.

Cuadro 12. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de taninos totales del vino estilo reserva.

Factores	Taninos Totales (g·L⁻¹ catequina)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	2,49 a		
30	2,64 ab		
40	2,87 b		
Tiempo evolución (días)			
30	3,81 b		
60	2,01 a		
90	2,18 a		
Interacción factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	3,24 a C	1,85 a A	2,37 b B
30	3,92 b B	2,05 a A	1,97 a A
40	4,27 c B	2,12 a A	2,21 ab A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Según el cuadro anterior, el efecto del factor dosis de levadura inactiva fue significativo, ya que se observa un aumento en el contenido de taninos totales mientras mayor fue la dosis de levadura inactiva aplicada.

También el efecto del factor tiempo fue significativo, observándose una disminución en el contenido de taninos a los 60 y 90 días respecto de la primera fecha de medición.

Al observar la interacción de los factores, notamos que el efecto de la dosis de levadura inactiva se muestra claramente a los 30 días, donde el contenido de taninos totales obtenido con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva es superior al nivel control (0 g·hL⁻¹). Por otro parte las diferencias encontradas a los 90 días, indican que el mayor contenido de taninos totales se mostró en el nivel control, por lo cual no se observa una evolución regular de los taninos en el tiempo.

A continuación en el Cuadro 13 se presentan los valores promedio del contenido de taninos totales obtenidos en el vino estilo varietal, de acuerdo al efecto del factor dosis de levadura inactiva, del factor tiempo de evolución y de la interacción de ellos.

Cuadro 13. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo varietal.

Factores	Taninos Totales (g·L⁻¹ catequina)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0			2,24 a
30			2,30 a
40			2,25 a
2) Tiempo evolución (días)			
	30		2,20 a
	60		2,17 a
	90		2,42 a
Interacción factores			
		Tiempo evolución (días)	
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	2,13 a A	2,01 a A	2,59 a A
30	2,24 a A	2,19 a A	2,47 a A
40	2,22 a A	2,31 a A	2,21 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (P < 0,05).

El efecto del factor dosis de levadura inactiva y del factor tiempo no fueron significativos sobre el contenido de taninos totales del vino estilo varietal. La interacción de la dosis de levadura inactiva con el tiempo de evolución no evidenció diferencias significativas.

En el vino estilo reserva y varietal se observa un comportamiento irregular de los taninos a lo largo del tiempo con y sin la adición de levaduras inactivas. Sin embargo las diferencias encontradas en el vino estilo reserva podrían indicar un efecto protector de las levaduras inactivas sobre los taninos, no obstante este efecto no fue sostenido en el tiempo.

Antocianos

En el Cuadro 14 se presentan los valores promedio del contenido de antocianos totales obtenidos en el vino estilo reserva, de acuerdo al efecto del factor dosis de levadura inactiva, del factor tiempo de evolución y de la interacción de ellos.

Cuadro 14. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo reserva.

Factores	Antocianos totales (mg·L ⁻¹ malvidina)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0			416,8 a
30			423,7 a
40			427,8 a
2) Tiempo evolución (días)			
	30		506,5 c
	60		425,7 b
	90		336,1 a
Interacción factores			
		Tiempo evolución (días)	
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	513,4 a C	421,9 ab B	315,0 a A
30	504,2 a C	437,2 b B	329,7 a A
40	501,9 a C	417,9 a B	363,6 b A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (P < 0,05).

Según el cuadro anterior, el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo sobre el vino estilo reserva.

El efecto del factor tiempo fue significativo, observándose una disminución en el contenido de antocianos totales a los 60 y 90 días respecto de la primera fecha de medición.

La interacción de los factores arrojó diferencias significativas, ya que se observa un descenso en el contenido de antocianos mientras mayor fue el tiempo de evolución, sin embargo con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva a los 60 y 90 días respectivamente, se aprecia un descenso significativamente menor de antocianos totales con respecto al nivel control.

El siguiente cuadro se presentan los valores promedio del contenido de antocianos totales obtenidos en el vino estilo varietal luego de efectuados los tratamientos.

Cuadro 15. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de su interacción sobre el contenido de fenoles totales del vino estilo varietal.

Factores	Antocianos (mg·L⁻¹ malvidina)		
1) Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)			
0	412,5 a		
30	402,5 a		
40	404,2 a		
2) Tiempo evolución (días)			
30	471,1 b		
60	412,5 b		
90	335,6 a		
Interacción factores			
	Tiempo (días)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	30	60	90
0	466,7 a A	429,2 a A	341,7 a A
30	473,2 a A	417,9 a A	316,5 a A
40	473,6 a A	390,4 a A	348,7 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El cuadro anterior nos informa que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no fue significativo en el contenido de antocianos totales del vino estilo varietal, sin embargo el efecto del factor tiempo mostró una disminución significativa de la concentración de los antocianos a los 90 días de evolución. La interacción de los factores no fue significativa respecto a la concentración de los antocianos.

De los cuadros anteriores podemos apreciar que se produce una disminución en el tiempo del contenido de antocianos en los dos estilos de vino independiente de la dosis de levadura inactiva aplicada. Monagas *et al.*, (2006), esboza que los antocianos sufren un descenso constante y continuado a lo largo del tiempo.

Los antocianos libres son inestables y deben estar combinados con taninos u otros compuestos del vino para formar pigmentos estables, que realmente son los responsables del color de los vinos con el tiempo (Romero, 2008). Esta estabilidad en el color de los vinos podría verse favorecida por la interacción de la levadura inactiva con los antocianos, donde al igual que ocurría con los taninos, podrían formarse asociaciones entre los polisacáridos de la levadura inactiva y los antocianos libres presentes en el vino (Escot *et al.*, 2001)

Según Gomez-Mínguez *et al.*, (2001) los antocianos pueden unirse de forma no covalente con otros compuestos fenólicos presentes en el medio, los cuales pueden ser otra molécula de antociano (autoasociación o copigmentación intramolecular), u otra molécula diferente como los ácidos cinámicos, flavanoles y flavonoles y sus glicósidos (copigmentación intermolecular).

Zoecklein *et al.*, (2001) plantea que los vinos tintos jóvenes, por lo general, presentan

una concentración de antocianos cercanos a $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, valor que se ve ampliamente superado por los tratamientos aplicados en el vino estilo reserva y varietal.

La copigmentación suele tener un efecto marcado en vinos jóvenes (Hermosín-Gutiérrez *et al.*, 2005). Además, influye sobre las reacciones de oxidación, condensación y polimerización de sustancias fenólicas, ya que disminuye la cinética de las reacciones que se producen durante el envejecimiento de los vinos (Boulton, 2001).

Intensidad colorante

En el Cuadro 16 se muestran los valores promedio de intensidad colorante obtenidos en el vino estilo reserva, de acuerdo al efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución del vino y de la interacción de ellos.

Cuadro 16. Efecto de la dosis de levadura inactiva, el tiempo evolución y de la interacción de ellos sobre la intensidad colorante del vino estilo reserva, expresada en sumatoria de absorbancias a 620, 520 y 420.

Factores	Intensidad colorante (IC)		
Dosis levadura inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)			
0	17,27 a		
30	17,58 a		
40	17,37 a		
Tiempo evolución (días)			
30	18,93 c		
60	17,10 b		
90	16,20 a		
Interacción factores			
	Tiempo evolución (días)		
Dosis levadura inactiva ($\text{g}\cdot\text{hL}^{-1}$)	30	60	90
0	19,63 c C	16,78 a B	15,40 a A
30	18,74 b B	17,20 a A	16,80 b A
40	18,43 a C	17,31 a B	16,39 b A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente, indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

En el cuadro anterior se observa que el efecto del factor dosis de levadura inactiva no evidenció diferencias significativas para en la intensidad colorante del vino estilo reserva.

Por otra parte el factor tiempo demostró diferencias significativas, ya que mientras mayor fue el tiempo de evolución menor fue la intensidad colorante.

La interacción de los factores fue significativa, donde se aprecia que la intensidad colorante, independiente de la dosis de levadura inactiva aplicada al vino estilo reserva, tuvo una disminución a lo largo del tiempo de evolución.

También se observa que la intensidad colorante fue significativamente mayor a los 90 días en los niveles de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactivas comparados con el nivel control.

En el Cuadro 17 se muestran los valores promedio de intensidad colorante obtenidos en el vino estilo varietal, de acuerdo al efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución del vino y de la interacción de ellos.

Cuadro 17. Efecto de la dosis de levadura inactiva, del tiempo de evolución y de la interacción de ellos sobre la intensidad colorante del vino estilo varietal, expresada en sumatoria de absorbancias a 620, 520 y 420.

Factores		Intensidad colorante (IC)		
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)				
	0	14,21a		
	30	14,33a		
	40	14,97b		
<hr/>				
Tiempo evolución (días)				
	30	14,26a		
	60	14,65b		
	90	14,60b		
<hr/>				
Interacción factores				
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	Tiempo evolución (días)			
		30	60	90
	0	13,43 a A	14,87 a A	14,47 a A
	30	12,46 a A	14,31 a A	14,02 a A
	40	14,02 a A	14,43 a A	15,12 a A

Promedios unidos por letras minúsculas y mayúsculas distintas en cada columna y fila respectivamente, indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (P < 0,05).

En el cuadro anterior se observa que el efecto de la dosis de levadura obtuvo diferencias estadísticamente significativas, ya que la mayor intensidad colorante se logró con la mayor dosis de levadura inactiva (40 g·hL⁻¹).

El efecto del factor tiempo también fue significativo ya que se observa que la intensidad colorante fue incrementándose con respecto a la primera medición.

La interacción de los factores no fue significativa con respecto a la intensidad colorante del vino estilo varietal.

Dentro del rango habitual de pH en un vino tinto (3,5 y 4,1), tan solo el 20 a 30% de los antocianos contribuyen al color, por lo que ciertos procesos como la copigmentación pueden aumentar la componente roja del color de los vinos (Zamora, 2003).

Análisis sensorial

A continuación se presentan los análisis de calidad y aceptabilidad realizados sobre los vinos Cabernet Sauvignon luego de una guarda de 3 meses posterior a la aplicación de los tratamientos de levadura inactiva.

Calidad

Para analizar la calidad de los vinos se evaluó el atributo visual de intensidad de color, como también atributos olfativos y gustativos.

Intensidad de color

En el Cuadro 18 se muestran los puntajes promedios de intensidad de color del vino estilo reserva generados por el panel sensorial, donde se observa que no existieron diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva. No obstante el mayor puntaje promedio conferido por el panel fue para el tratamiento de 40 g·hL⁻¹.

Cuadro 18. Puntajes promedio de intensidad de color obtenidos en el vino estilo reserva.

Tratamientos	Atributo visual
Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Intensidad de color
0	10,03 a
30	9,66 a
40	10,09 a

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

En el Cuadro 19 se muestran los puntajes promedios de intensidad de color alcanzados por los tratamientos aplicados al vino estilo varietal

Cuadro 19. Puntajes promedio de intensidad de color obtenidos en el vino estilo varietal.

Tratamientos	Atributo visual
Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Intensidad de color
0	9,24 a
30	9,45 a
40	9,75 a

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

Se observa que el panel sensorial no detectó diferencias significativas entre los tratamientos de levadura inactiva al momento de evaluar la intensidad de color del vino estilo varietal. Sin embargo se observa que los puntajes promedio de este atributo visual fueron incrementándose a medida que la dosis de levadura inactiva fue mayor.

Atributos olfativos

En el Cuadro 20 se observan los puntajes promedios de los atributos olfativos otorgados por el panel sensorial luego de analizar los tratamientos efectuados en el vino estilo reserva.

Cuadro 20. Puntajes promedio de los atributos olfativos obtenidos en el vino estilo reserva.

Tratamientos Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Atributos olfativos			
	Intensidad aromática	Aroma frutos rojos	Aroma Vainilla	Aroma Café
0	9,42 a	8,10 a	6,56 a	7,59 a
30	8,37 a	7,53 a	6,37 a	7,17 a
40	9,26 a	6,97 a	7,45 a	7,01 a

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

Según el cuadro anterior, los tratamientos no presentaron diferencias significativas en ninguno de los atributos olfativos analizados, pero se observa que el tratamiento control fue el que presentó los mayores puntajes promedio, excepto en el atributo de aroma a vainilla, donde la mejor puntuación se alcanzó con la dosis de 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva.

A continuación se muestran los puntajes promedios de los atributos olfativos otorgados por el panel sensorial luego de analizar los tratamientos de levadura inactiva en el vino estilo varietal.

Cuadro 21. Puntajes promedio de los atributos olfativos obtenidos en el vino estilo varietal.

Tratamientos Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Atributos olfativos			
	Intensidad aromática	Aroma frutos rojos	Aroma Vainilla	Aroma Café
0	8,06 a	6,64 a	5,54 a	2,79 a
30	6,65 a	8,05 a	5,65 a	2,48 a
40	7,94 a	7,67 a	5,18 a	2,82 a

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

Aunque en el vino estilo varietal los tratamientos no presentaron diferencias significativas en ningún atributo olfativo, observamos que la dosis de 30 g·hL⁻¹ de levadura inactiva obtuvo los mayores puntajes promedio en los atributos de aroma a frutos rojos y aroma a vainilla mientras que la de 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva en el atributo aroma a café. El tratamiento control solo fue superior en el atributo de intensidad aromática. Comuzzo *et al.*, (2006), plantea que en vinos de poca intensidad aromática, la adición de preparados en base a levadura inactivas parecen mejorar sus características sensoriales, sin embargo los dos estilos de vinos tuvieron puntajes mayores de intensidad aromática en el tratamiento control y no en los tratamientos con adición de levadura inactiva.

Atributos Gustativos

Los evaluadores no detectaron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguno de los atributos gustativos analizados en el vino estilo reserva, como se observa en el cuadro 22.

Cuadro 22. Puntajes promedio de los atributos gustativos obtenidos en el vino estilo reserva.

Tratamientos	Atributos gustativos					
	Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Acidez	Amargor	Cuerpo	dulzor	Astringencia
0	6,27 a	8,51 a	6,01 a	3,83 a	7,20 a	8,65 a
30	6,57 a	7,34 a	6,58 a	3,84 a	7,14 a	7,73 a
40	6,62 a	8,50 a	6,29 a	4,39 a	7,17 a	9,10 a

Promedios unidos por letras distintas en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

En el Cuadro 23 se muestran los puntajes promedios de los atributos gustativos del vino estilo varietal, luego de efectuados los tratamientos.

Cuadro 23. Puntajes promedio de los atributos gustativos obtenidos en el vino estilo varietal.

Tratamientos	Atributos gustativos					
	Dosis levadura inactiva (g·hL ⁻¹)	Acidez	Amargor	Cuerpo	dulzor	Astringencia
0	7,66 a	6,33 a	6,21 a	3,25 a	6,27 a	7,18 a
30	5,20 a	6,55 a	5,21 a	4,39 a	6,25 a	7,66 a
40	6,84 a	6,49 a	6,72 a	3,60 a	6,01 a	8,09 a

Promedios unidos por letras distintas en las columnas, indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan (P<0,05).

El cuadro anterior muestra que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguno de los atributos gustativos, al igual como ocurrió en el vino estilo reserva. Sin embargo en los dos estilos de vino, los mayores puntajes promedio para los atributos de cuerpo y persistencia se alcanzaron con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva. Esto se relaciona con lo descrito por Pozo-Bayón *et al.*, (2009), que plantea que una de las aplicaciones a las que frecuentemente se hace referencia por parte de las compañías que comercializan estos productos, es su empleo para mejorar el cuerpo y la untuosidad del vino en boca. Si bien los puntajes promedio de astringencia no fueron significativos en el vino estilo reserva como tampoco en el estilo varietal, se observa que los evaluadores encontraron menos astringentes los vinos tratados con dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ de levadura inactiva comparados con el tratamiento control. Estos resultados podrían ser explicados por estudios realizados por Smith and Noble (1998), que plantean que los polisacáridos de la levadura inactiva (manoproteínas) tendrían la capacidad de interaccionar con las procianidinas del vino reduciendo su astringencia

debido a la disminución de la cantidad de procianidinas libres capaces de interaccionar con las proteínas de la saliva.

Aceptabilidad

A continuación en el Cuadro 24 se muestran los puntajes promedios de aceptabilidad generados por el panel sensorial al momento de evaluar el vino estilo reserva.

Cuadro 24. Puntajes promedio de aceptabilidad obtenidos en el vino estilo reserva.

Tratamientos	
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	Aceptabilidad
0	6,88 a
30	9,71 b
40	8,37 ab

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan ($P < 0,05$).

En el cuadro anterior se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos aplicados al vino estilo reserva, donde con la dosis de 30 g·hL⁻¹ de levadura inactiva se alcanzó la mayor aceptabilidad por parte del panel sensorial, mientras que el tratamiento control obtuvo el puntaje promedio de aceptabilidad mas bajo.

En el Cuadro 25 se observan los puntajes promedios de aceptabilidad generados por el panel sensorial al momento de evaluar el vino estilo varietal.

Cuadro 25. Puntajes promedio de aceptabilidad obtenidos en el vino estilo varietal.

Tratamientos	
Dosis levadura inactiva (g·hL⁻¹)	Aceptabilidad
0	8,47 a
30	6,95 a
40	7,12 a

Promedios unidos por letras distintas en la columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Duncan ($p < 0,05$).

No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados al vino estilo varietal, sin embargo los evaluadores otorgaron el mayor puntaje al tratamiento control.

Por lo tanto en el vino estilo varietal no se observa un efecto significativo de la levadura inactiva con respecto a la aceptabilidad, como si se pudo apreciar claramente en el vino estilo reserva, donde la aceptabilidad fue mayor con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales seleccionadas para esta investigación, permiten concluir que:

En el vino estilo reserva, el efecto de la levadura inactiva no es significativo sobre el contenido de fenoles totales. Por otro parte, el contenido de taninos totales aumenta de forma significativa con la dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹. En el caso de los antocianos y la intensidad colorante se produce un efecto significativo de las levaduras inactivas al final del proceso evolutivo del vino, donde con la dosis de 40 g·hL⁻¹ se obtienen las mayores concentraciones.

En el vino estilo varietal, no se observa un efecto significativo de la levadura inactiva en el contenido de fenoles totales. Tampoco hubo efecto de la levadura inactiva sobre el contenido de taninos y antocianos totales. La intensidad colorante fue mayor con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹.

El análisis sensorial de calidad nos indica que en ambos estilos de vino las levaduras inactivas no tienen un efecto significativo sobre la intensidad de color, como tampoco sobre los atributos olfativos y gustativos.

En el vino estilo reserva se observa un efecto significativo de la levadura inactiva con respecto a la aceptabilidad, donde con las dosis de 30 y 40 g·hL⁻¹ se obtienen los mayores puntajes. En cuanto a la aceptabilidad del vino estilo varietal, no se detectaron diferencias significativas entre el tratamiento control y los con adición de levadura inactiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Bate-Smith, 1981. Astringent tannins of the leaves of Germaine species. *Phytochemistry* 20: 211-216.
- Bordeau, E. y J. Scarpa. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones Universidad Católica de Chile. 253p.
- Boulton, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal Enology and Viticulture* 52: 67-87.
- Chatonnet, P., D. Dubourdieu and J. Boidron. 1995. The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp yeasts and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 463-468.
- Cheyrier, V., M. Moutounet y P. Sarni-Manchado. 2000. Los compuestos fenólicos. En *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ed. C. Flanzy AMV Ediciones, Madrid. pp. 114-136.
- Comuzzo, P., L. Tat., A. Tonizzo and F. Battistutta. (2006). Yeast derivatives (extracts and autolysates) in winemaking: Release of volatile compounds and effects on wine aroma volatility. *Food Chemistry* 99: 217-230.
- Doco, T., V. Patrick., V. Cheyrier and M. Moutonnet. 2003. Structural modification of wine arabinogalactans during aging on lees. *American Journal of Enology and Viticulture* 54:150-157.
- Du Toit, W.J. and I.S. Pretorius. 2000. Microbial spoilage and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal. *South African Journal for Enology and Viticulture* 21: 74 – 96.
- Escot, S., M. Feuillat., L. Dulau., and C. Charpentier. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7: 153-159.
- Flanzy, C. 2000. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 783 p.
- García-Barceló. J. 1990. *Técnicas analíticas para vinos*. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713p.
- Glories, Y. 1978. *Recherches sur la matière colorantes des vins rouges*. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II. 364p.
- González – San José, M.L., L. Baron and C. Diez. 1990. Evolution on anthocyanins during maturation of Tempranillo grape variety (*Vitis vinifera*) using polynomial regression models. *Journal of the Science Food and Agriculture* 51: 337-343.

- Gómez-Mínguez, M., S. González-Manzano., M. Escribano-Bailon., F. Heredia and C. Santos-Buelga. 2006. Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin 3-glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5422-5429.
- Hermosín-Gutiérrez, I., L. Sánchez-Palomo and A. Vicario-Espinosa. 2005. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged wines made from the cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel y Syrah. *Food Chemistry* 92: 269-283.
- Hidalgo, J. 2003. *Tratado de enología*. Ediciones Mundi- Prensa Madrid, España. 1423p.
- Lallemand, 2006. Levadura inactiva específica: La levadura más allá de la fermentación. [En línea] http://www.lallemandwine.com/IMG/pdf_Wine_Update_1_ja06_esp.pdf [Consulta: 18 Noviembre del 2011]
- Monagas, M., C. Gomez-Cordobés and B. Bartolomé. 2006. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. During ageing in bottle. *Food Chemistry* 95: 405-412.
- Peynaud, E. 2000. *Enología Práctica*. Ediciones Mundi-Prensa, España. 414p.
- Pozo-Bayón, M., I. Andujar-Ortiz and M. Moreno-Arribas. 2009. Scientific evidences beyond the application of specific inactive dry yeast preparations in winemaking. *Food Research International* 42: 754-757.
- Reed, G and Y. Nagodawithana. 1998. Technology of yeast usage in winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 83-90.
- Riberau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujeau and D. Dubordieu. 1998. *Traité d'Oenologie. Chimie du Vin, Stabilisation et Traitements*. Editorial Dunod. Paris, Francia. 214-224p.
- Romero, I. 2008. Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de las enzimas de maceración. Memoria presentada para aspirar al grado de doctor, Mención tecnología de alimentos, nutrición y bromatología. Universidad de Murcia. Murcia, España. 213p.
- Shahidi, F. and M. Naczki. 2004. Phenolic compounds of beverage. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, CRC Press. 558p.
- Singleton, V. and E. Trousdale. 1992. Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and reds wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 43. 63-70.

Smith, A. and A. Noble. 1998. Effects of increased viscosity on the sourness and astringency of aluminium sulphate and citric acid. *Food Quality and Preference* 9: 139-144.

Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. AMV. Ediciones, Madrid, España. 224p.

Zoecklein, B., K. Fugelsang., B. Gump and F. Nury. 2001. *Análisis y producción de vino*. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 611p.

ANEXO I

Características de los estilos de vino

Cuando se habla de “estilo de vino” para diferenciar a los vinos Cabernet Sauvignon utilizados en esta investigación, se refiere al proceso de vinificación efectuado por la Viña Santa Rita, desde la cosecha hasta el término de la fermentación alcohólica, donde encontramos procedimientos y características que hacen la diferencia entre el vino Cabernet Sauvignon estilo reserva y varietal.

A continuación se detallan los aspectos técnicos que diferencian a los estilos de vino reserva y varietal.

Vino estilo reserva:

- Cosecha: 6.000 kg/Ha.
- Duración de la fermentación: 7 días.
- Temperatura fermentación: 25-26 grados Celsius.
- 20 g/hL de levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- 7-10 días de maceración post fermentativa.
- Componente de la mezcla final para la elaboración de vino Medalla Real de Santa Rita.

Vino estilo varietal:

- Cosecha: 14.000 kg/Ha.
- Duración de la fermentación: 5 días.
- Temperatura fermentación: 27-28 grados Celsius.
- 20 g/hL de levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Sin maceración post fermentativa.
- Componente de la mezcla final para la elaboración de vino Tres Medallas de Santa Rita.

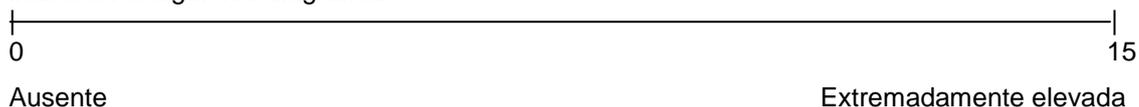
ANEXO II

PAUTA DE ANÁLISIS DE CALIDAD PANEL ENTRENADO

Nombre:

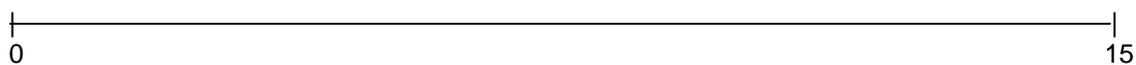
Muestra N° _____

Por favor indique con una **línea vertical** sobre la escala horizontal que va de 0 a 15 cm, el punto que mejor describa la intensidad de cada uno de los atributos de la muestra, como se indica en el siguiente diagrama:



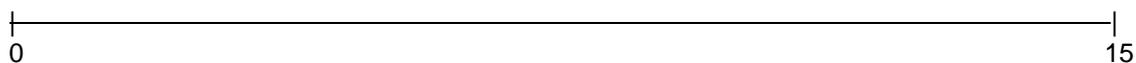
VISTA

INTENSIDAD DE COLOR



OLFATO

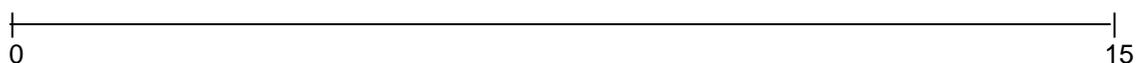
INTENSIDAD AROMÁTICA



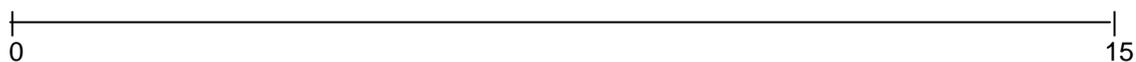
AROMA FRUTOS ROJOS



AROMA VAINILLA

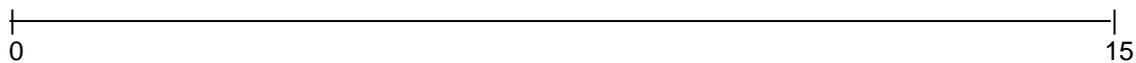


AROMA CAFÉ

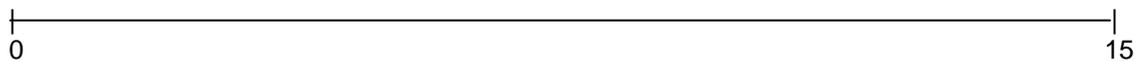


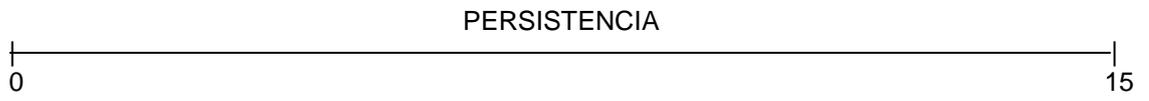
PALADAR

ACIDEZ



CUERPO



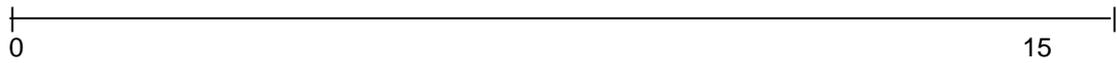


INDIQUE SUS OBSERVACIONES:.....

ANEXO III
ACEPTABILIDAD

Nombre: _____

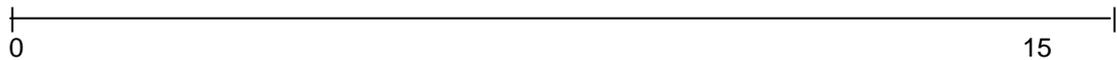
Por favor indique con una **línea vertical**, la intensidad de su aceptabilidad en cada una de las muestras, basándose en el siguiente diagrama:



Me disgusta mucho

Me gusta extremadamente

Nº Muestra: ____



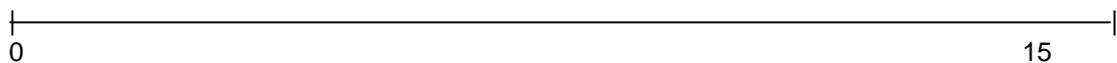
Comentarios:

Nº Muestra: ____



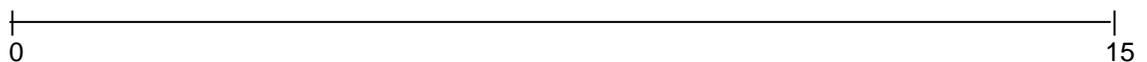
Comentarios:

Nº Muestra: ____



Comentarios:

Nº Muestra: ____



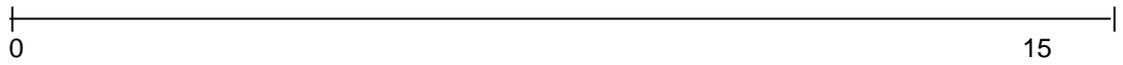
Comentarios:

Nº Muestra: _____



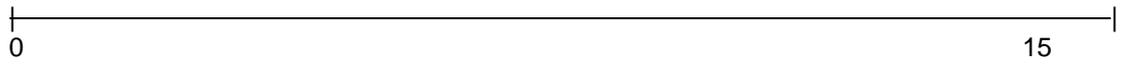
Comentarios:

Nº Muestra: _____



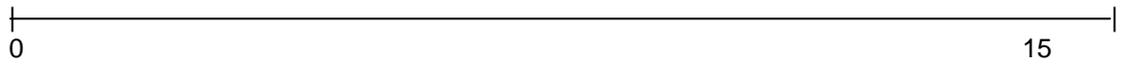
Comentarios:

Nº Muestra: _____



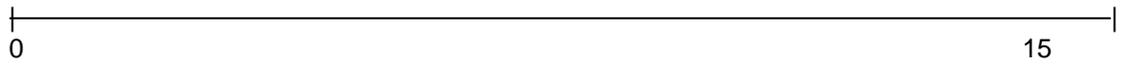
Comentarios:

Nº Muestra: _____



Comentarios:

Nº Muestra: _____



Comentarios:
