

JUAN ESTEBAN MIÑO VALDÉS

FUNDAMENTOS PARA ELABORAR
VINO BLANCO COMÚN
EN UN DESARROLLO TECNOLÓGICO



Editorial Universitaria

Juan Esteban Miño Valdés

**FUNDAMENTOS PARA ELABORAR
VINO BLANCO COMÚN EN UN
DESARROLLO TECNOLÓGICO**

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Juan Esteban Miño Valdés

**FUNDAMENTOS PARA ELABORAR
VINO BLANCO COMÚN EN UN
DESARROLLO TECNOLÓGICO**

EDICIONES ESPECIALES

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Coronel Félix Bogado 2160
Posadas - Misiones - Telfax (0376) 4a28601
correos electrónicos:
edunam-admini@arnet.com.ar
edunam-direccion@arnet.com.ar
edunam-produccion@arnet.com.ar
edunam-ventas@arnet.com.ar

Colección: Ediciones Especiales
Coordinación de la Edición: Claudio O. Zalazar
Armado de Interiores: Javier B. Giménez

Miño Valdés, Juan Esteban
Fundamentos para elaborar vino blanco común en un desarrollo
tecnológico / - 1a ed. - Posadas: EdUNaM - Editorial Universitaria
de la Universidad Nacional de Misiones, 2012.
94 p.; 22x15 cm.
ISBN 978-950-579-260-3
1. Viticultura. 2. Tecnología. Enseñanza Universitaria.I. Título
CDD 663.2

Fecha de catalogación: 23/11/2012

Hecho el depósito de la Ley N° 11.723
Impreso en Argentina
ISBN: 978-950-579-260-3
©Editorial Universitaria
Universidad Nacional de Misiones, Posadas, 2012.
Todos los derechos reservados para la primera edición.

*A mis padres
Emilia Dolores y
Máximo*

*A mis hijas
María Gabriela y
María Agustina*

*A mis hermanas
María Rosa y
Laura Andrea*

A María Graciela

AGRADECIMIENTOS

Por fortuna, a lo largo del trabajo fueron muchas las personas que de alguna manera, colaboraron directa o indirectamente en la realización del mismo. Por lo tanto, hago extensivo mi agradecimiento a todas ellas. No obstante, debo expresar un reconocimiento especial a las instituciones y personas que en ellas trabajan:

- De la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Central de las Villas (UCLV) Cuba, al Dr. Sc. Ing. Químico Erenio González Suárez;
- De la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM) Misiones, Argentina, al Dr. Ing. Químico José Luis Herrera y al Dr. Ing. Químico Luis Alberto Brumovsky.
- De la Facultad de Agronomía de la Universidad Pontificia Católica de Chile (UCA) Santiago de Chile, al Dr. Bioquímico Edmundo Bordeau;
- De la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo (UNCu), Mendoza, Argentina, al MSc. Ing. Agrónomo Marcos Maza.

ÍNDICE

SÍNTESIS.....	13
PRÓLOGO.....	15
INTRODUCCIÓN	17
CAPÍTULO I: MATERIA PRIMA, LEVADURA, PRODUCTOS	21
Composición de la uva, el mosto y el vino	21
Relaciones levadura-medio.....	24
Productos Formados por el metabolismo.....	25
Adaptación de la célula al medio.....	28
Control de la fermentación alcohólica	34
Descripción de una fermentación tipo	34
Variabilidad de la cinética fermentativa.....	38
CAPÍTULO II: ELABORACIÓN DE VINO BLANCO	41
La fase prefermentativa	42
La fase fermentativa	47
La fase postfermentativa.....	50
Los efluentes vinícolas.....	51
Escalado de reactores químicos y biológicos... ..	52

CAPÍTULO III: BASES PARA DESARROLLAR LA TECNOLOGÍA.....	59
Operaciones unitarias para elaborar vino blanco común seco en el laboratorio.....	59
Estrategia para desarrollar la investigación	60
Conclusiones para iniciar los estudios del desarrollo tecnológico	62
ANEXOS	65
BIBLIOGRAFÍA	75

SÍNTESIS

El objetivo de este libro fue sintetizar la fundamentación científica de la elaboración de vino blanco común con mostos de uvas de mesa Isabella tinto o Niágara rosada cultivadas en Misiones, en el marco de un desarrollo tecnológico.

En la primera parte del libro se establece el objetivo general y se enumeran los objetivos específicos para el desarrollo planteado en 8 etapas.

En el primer capítulo se presenta la información científica sobre la materia prima, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y los productos de la vinificación; en el segundo se aborda la fermentación alcohólica en condiciones enológicas, la disposición de los efluentes y el escalado de los reactores biológicos.

En el último capítulo se esquematizan en un diagrama de flujo las operaciones a utilizar para la elaboración de vino, mientras que las tareas a ejecutar en cada etapa se exponen en un diagrama heurístico; finalmente, se enumeran las conclusiones de la fundamentación para iniciar los estudios de investigación del desarrollo tecnológico a escala laboratorio.

PRÓLOGO

En este libro se fundamenta en forma científica la elaboración de vino blanco común en el marco de un desarrollo tecnológico aplicado a las uvas no viníferas producidas en la provincia de Misiones Argentina.

El autor realiza una importante revisión actualizada de la literatura referente a las fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas, donde se enumeran las características de las uvas como materia prima, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* conduciendo el proceso y los productos obtenidos.

Por otra parte, se presentan las bases para aplicar un modelado matemático a la fermentación enológica, disponer adecuadamente de los efluentes generados por esta actividad y realizar un escalado de equipos biológicos para el desarrollo tecnológico de la elaboración de vino blanco.

Esta obra representa un aporte a la diversificación productiva del agro regional en general y de la elaboración de vino blanco en particular.

Luis Alberto Brumovsky

Ingeniero Químico

Magíster en Tecnología de los Alimentos

Doctor en Ciencias Técnicas

INTRODUCCIÓN

La fermentación, es definida técnicamente en su sentido más amplio, como la transformación química de compuestos orgánicos con la ayuda de enzimas producidas por microorganismos (Díaz Peralta, 2007). Hacia los años 3.000- 4.000 a.C., se inició el verdadero cultivo de la vid, en Asia (Martínez de Toda, 2005). Más tarde el vino tuvo gran auge en Grecia, Cartago y Roma donde se expandió con los Imperios (Juscáfresa, 2005).

Hacia el siglo XIV d.C., la destilación de bebidas alcohólicas a partir de grano fermentado, era común en muchas zonas del mundo (Francia-Brandy; Escocia-Wisky). En 1817 Gay-Lussac establece la ecuación química básica de transformación del azúcar en alcohol. En 1866 Pasteur descubre que las levaduras transforman el azúcar en alcohol en ausencia de aire. A este proceso anaeróbico se le conoce como la fermentación alcohólica.

En 1883 Christian Hansen obtuvo el primer cultivo puro de levadura cervecera que denominó *Saccharomyces carlsbergensis*. En 1887 Buchner evidencia el carácter enzimático de la transformación del azúcar en alcohol (Ercoli, 2007). A finales del siglo XIX y gracias al desarrollo de las técnicas de cultivos puros, se aísla y distribuye la primera cepa de levadura vínica, *Steinberg 92*, para su uso comercial en la producción del vino. Con estos trabajos y los de Pasteur, la fermentación pasa de

ser un arte (resultados imprevisibles) a ser una ciencia (resultados pre-visibles) (Díaz Peralta, 2009).

Desde gran parte del siglo XX hasta la actualidad, la expansión de los conocimientos ha revolucionado la manera de comprender y experimentar sobre este tema a tal punto que es difícil seguir el paso de los nuevos descubrimientos (Fuentes Berazategui, 2008).

Los únicos vinos permitidos para el comercio internacional son aquellos elaborados a partir de uvas *Vitis vinífera* (Blouin y Peynaud, 2006), por ello se encuentra información tecnológica de la fermentación alcohólica en condiciones enológicas para estas variedades y ninguna para las *Vitis labrusca* (Miño Valdés y col. 2007).

Durante la última década los cultivos tradicionales de la provincia de Misiones (yerba mate, té, tung, y tabaco), atravesaron una crisis económica signada por el valor del producto muy por debajo de los costos de producción. A ello se suma una estructura socio productiva minifundista, con una caída en la rentabilidad del rubro que lleva a las familias agrícolas a buscar alternativas de diversificación productiva, como lo es, la elaboración de vinos artesanales (Piekun y Rybak, 2006). Las *Vitis no viníferas* que se adaptaron muy bien al clima subtropical de Misiones y se cultivan son entre otras: *Niágara*, *Isabella* y *Venus* (Piekun, 2007). La producción de uvas de mesa de Misiones logró abastecer la demanda del mercado misionero en el año 2009 con 0,61 kg hab⁻¹ año⁻¹. Se dedican al cultivo de las vides actualmente unos 300 productores rurales en Misiones con una superficie total plantada de alrededor de 80 ha (Bakos, 2009). La cosecha de uvas desde noviembre 2010 hasta febrero 2011, alcanzará aproximadamente 800 Tn (Piekun, 2011a); de este total el 85 % se está comercializando como fruta fresca, y con el remanente unos 50 productores rurales están elaborando “vino de colonia” para autoconsumo familiar. (Piekun, 2011b). Los precios en la chacra estuvieron entre 8 y 10 \$ kg⁻¹ uva al iniciar la cosecha en noviembre 2010 y luego bajaron al rango de 6 a 8 \$ kg⁻¹ entre diciembre 2010 y enero 2011 (Bakos, 2011).

La elaboración de vinos se registró como otra actividad productiva a ser evaluada debido al aumento de la producción de uvas no viníferas en Misiones y la falta de vino blanco común de bajo precio, en el mercado regional desde el año 2004 (Miño Valdés, 2010).

El problema científico que se plantea es la falta de una tecnología conceptualizada para la elaboración de vino blanco común apto para el consumo, con las variedades de uvas de mesa no viníferas *Isabella tinto*

y *Niágara rosada* cultivadas en Misiones, fermentadas con levaduras autóctonas o *Saccharomyces cerevisiae bayanus* (*S. bayanus*).

Se ha establecido la hipótesis de que es viable desde el punto de vista científico, económico y ambiental desarrollar una tecnología apropiada al medio rural, para elaborar vino blanco común apto para el consumo, a partir de mostos de uvas de mesa no viníferas, determinando además las características de las uvas, los valores de las variables de elaboración, el desempeño de las levaduras nativas o las especializadas y la viabilidad técnica, económica y ecológica del desarrollo tecnológico.

Por lo expuesto, los objetivos planteados para este trabajo fueron:

Objetivo General del desarrollo tecnológico

Desarrollar un procedimiento tecnológico apropiado y sustentable desde el punto de vista económico y ambiental, para la elaboración de vino blanco común, apto para consumo humano, utilizando mostos de uvas no viníferas cultivadas en Misiones, y levaduras nativas o *S. bayanus*.

Los Objetivos específicos del desarrollo tecnológico son:

1. Fundamentar desde el punto de vista científico y tecnológico, con apoyo de la literatura científica, la estrategia investigativa para lograr el objetivo previsto.
2. Realizar las vinificaciones en blanco común seco con uvas *Isabella tinto* y *Niágara rosada*.
3. Evaluar el poder, actividad, rendimiento fermentativo y población de levaduras.
4. Determinar la aptitud fisicoquímica de los vinos obtenidos.
5. Obtener un modelado matemático de la fermentación con mostos de uvas no vinífera.
6. Establecer un procedimiento tecnológico para elaborar vino blanco a escala industrial.
7. Demostrar la viabilidad económica de la tecnología desarrollada.
8. Atenuar el impacto ambiental de los efluentes sobre el medio.
9. Para alcanzar estos objetivos específicos se necesitan desarrollar tareas.

Las Tareas son:

1. Analizar el estado del arte de la elaboración de vino blanco.
2. Elaborar vino blanco común seco a escala laboratorio y planta piloto.
3. Evaluar los parámetros de seguimiento del proceso.
4. Obtener un modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas.
5. Valorar la aptitud de los vinos para el consumo humano.
6. Establecer un procedimiento tecnológico para la vinificación en blanco.
7. Evaluar en planta piloto el procedimiento tecnológico establecido.
8. Proyectar a escala industrial el equipamiento tecnológico.
9. Estimar los costos y la rentabilidad del proceso tecnológico a escala industrial.
10. Establecer una disposición final de residuos para atenuar el impacto ambiental.

CAPÍTULO I

MATERIA PRIMA, LEVADURA Y PRODUCTOS

COMPOSICIÓN DE LA UVA, EL MOSTO Y EL VINO

Las uvas del género *Vitis*, son uno de los 11 géneros de la familia Vitácea. Las familias Vitáceas, Leáceas y Ramnáceas forman el orden Ramnales. La *Vitis* se subdivide en dos subgéneros: *Euvitis* (verdaderas uvas) y *Muscadinea*. *Vitis* comprende cerca de 60 especies silvestres descritas, confinadas principalmente en las zonas templadas boreales. Actualmente se conocen más de 5.000 variedades de *Vitis viniferas* y otras tantas de híbridos con otras especies de *Vitis*. Con la continua selección clonal y las hibridaciones, la lista continúa aumentando sin límites. En la actualidad, el 90% de la superficie mundial de viñedos está ocupada por *Vitis vinifera* dedicadas a la producción de vinos, zumos, uvas de mesa y pasas de uva. (Boulton y col., 2002)

En la Tabla 1 se presenta la composición de l racimo de uvas: agua, glúcidos, prótidos, lípidos, elementos minerales y compuestos fenólicos.

Tabla 1. Composición del racimo de uva en % peso fresco¹

Raspones 3 a 6 %		Agua	78-80
		Osas	0,5-1,5
		Ácidos orgánicos	0,5-1,6
		pH	4-4,5
		Taninos	2-7
		Minerales	2-2,5
		Compuestos nitrogenados	1-1,5
Baya 94 a 97 %	Piel 7% a 12% media 9,6 %	Agua	78-80
		Ácidos orgánicos	0,8-1,6
		Taninos	0,4-3
		Antocianos	0-0,5
		Compuestos nitrogenados	1,5-2
		Minerales	1,5-2
		Ceras	1-2
		Sustancias aromáticas	-
	Pepitas 0 % a 6 % media 4,4 %	Agua	25-45
		Compuestos glucídicos	34-36
		Taninos	4-10
		Compuestos nitrogenados	4-6,5
		Minerales	2-4
		Lípidos	13-20
	Pulpa 83 % a 91 %	Ver composición del mosto de uva	

El vino se obtiene por fermentación alcohólica del mosto de *Vitis vinifera* (Jackson, 2003; OIV, 2009). Este proceso modifica la composición original de los mostos provocando la desaparición de los azúcares (glucosa y fructosa) y la formación de alcoholes junto con productos secundarios tales como los polioles, el glicerol, diversos ácidos orgánicos y numerosos compuestos volátiles que constituyen el aroma. La composición del vino es todavía más compleja que la del mosto, siendo difícil

1- Cabanis y Cabanis citado por Flanzy, 2003.

de precisar el número de constituyentes, que se eleva a varias centenas. Las técnicas analíticas de precisión actuales habrán permitido poner en evidencia sustancias muy a menudo en estado de concentraciones ínfimas, volátiles generalmente, que participan en el aroma del vino, que es de extremada complejidad. En la Tabla 2 se dan los principales compuestos de los mostos y los vinos, así como sus concentraciones.

Tabla 2. Composición del mosto y del vino²

COMPONENTES PRINCIPALES	MOSTOS g L ⁻¹	VINOS g L ⁻¹
Agua	700 a 850	750 a 900
Osas	140 a 250	0,1 a 2
Polisacáridos	3 a 5	2 a 4
Alcoholes	-	69 a 121
Poliolios	-	5 a 20
Ácidos orgánicos	9 a 27	3 a 20
Polifenoles	0,5	2 a 6
Comp. Nitrogenados	4 a 7	3 a 6
Minerales	0,8 a 2,8	0,6 a 2,5
Vitaminas	0,25 a 0,8	0,2 a 0,7

En lo que respecta a sustancias aromáticas, resulta interesante dar las concentraciones mínimas, máximas y medias, calculadas a partir de los datos de la bibliografía. Sin embargo, como las concentraciones de los compuestos volátiles, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas y ésteres, están ligadas a numerosos factores tecnológicos tales como la temperatura, se han indicado las concentraciones medias. En los Anexos se presentan las composiciones químicas de los mostos y los vinos. Los compuestos volátiles: alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres (Anexo 1); los ácidos orgánicos (anexo 2); los compuestos nitrogenados (Anexo 3); los minerales (Anexo 4); las osas y poliolios (Anexo 5); los polifenoles (Anexo 6) y las vitaminas (Anexo 7).

La información científica que se presenta a continuación se refiere a las uvas de las variedades *Vitis viníferas* y la levadura *S. cerevisia*. Esta información se consideró como punto de partida para el desarrollo tecnológico de la elaboración de vino blanco con uvas no viníferas y

2- Cabanis y Cabanis citado por Flanzy, 2003.

levaduras autóctonas o *S. bayanus* (levadura vinífera comercial especializada en blanco a 18°C).

RELACIONES LEVADURA-MEDIO

La fermentación alcohólica constituye una de las etapas más importantes de la elaboración de los vinos y es conducida por las levaduras. Aunque en mayor o menor medida, puede intervenir un cierto número de especies e incluso de géneros, es claro que el papel principal lo realiza *Saccharomyces cerevisiae*. La fermentación alcohólica en condiciones enológicas se efectúa en condiciones muy específicas, lo que explica el poco número de trabajos llevados a cabo en este ámbito. Además cuando la cantidad de oxígeno (O_2) disponible en el mosto es menor a 10 mg de O_2 por litro el metabolismo de *S. cerevisiae* en tales condiciones es estrictamente fermentativo. El mosto de uva se caracteriza por tener una alta concentración de azúcares fermentables (entre 140 y 260 g L⁻¹) según el grado de madurez de la uva (con cantidades equivalentes de glucosa y fructosa). Este mosto se caracteriza también por una fuerte acidez (pH entre 3,0 y 3,5). La fermentación completa del mosto por *S. cerevisiae* conduce a la producción de 8 a 15 por ciento volumen en volumen (% v/v) de etanol, y otros co-productos fermentativos tales como el glicerol (con promedio entre 6 y 8 g L⁻¹), ácidos orgánicos tales como: el acético, el succínico y el pirúvico en cantidades < 1 g L⁻¹, y también alcoholes superiores y ésteres. Se observa sistemáticamente en condiciones enológicas un desacoplamiento entre fase de crecimiento y consumo de azúcares, ya que una proporción importante de los azúcares es consumida durante la fase estacionaria (**Figura 1**) (Flanzy, 2003).

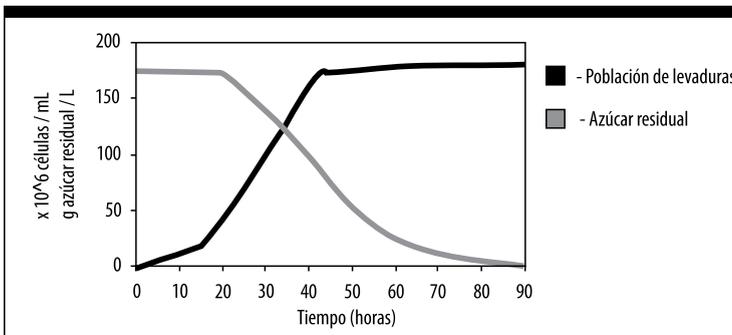


Figura 1- Evolución típica de la población celular y de la concentración en azúcares residuales durante la fermentación alcohólica en condiciones enológicas

Productos formados por el metabolismo

Cuando el mosto de uva es inoculado con *S. cerevisiae*, la producción de etanol no es inmediata (Pena y col., 1972). En efecto, ciertas enzimas esenciales de la fermentación alcohólica (piruvato de carboxilasa y alcohol deshidrogenasa I) son inducidas por la glucosa (Sharma y Tauro, 1986; Rieger y Kapelli, 2003) y son pues expresadas en sus niveles máximos al principio de la fermentación alcohólica. En consecuencia, numerosos compuestos además del etanol, son formados al comienzo de la fermentación: glicerol, piruvato, succinato y otros ácidos orgánicos (Ribéreau-Gayon y col., 1977a, 1977b). Además, la biosíntesis de elementos carbonados -aminoácidos y azúcares- especialmente necesarios en la elaboración de la biomasa se efectúa a partir del metabolismo de las hexosas y no conduce pues a la formación de etanol. En estas condiciones, se forman numerosos subproductos fermentativos con el fin de restablecer los balances de equilibrio químico en la célula.

Crecimiento y Biomasa

La fase de crecimiento y la fase estacionaria son muy distintas en condiciones enológicas (**Figura 1**). La primera fase no posee un crecimiento exponencial real, solo durante un corto intervalo de tiempo, al comienzo del crecimiento. Las levaduras durante esta fase de crecimiento solo se multiplican durante 6 o 7 generaciones, generando así una población máxima de alrededor de $(120 - 130) 10^6$ células mL^{-1} para una inoculación inicial de alrededor de 10^6 células mL^{-1} . Esta biomasa final solo representa aproximadamente 3 g L^{-1} (de peso seco). El crecimiento de las levaduras es naturalmente dependiente de ciertas carencias nutricionales de los mostos, especialmente en nitrógeno asimilable (Bely y col., 1990) y más particularmente en tiamina (Bataillon y col., 1996). El oxígeno en pequeñas cantidades (algunos mg L^{-1}) es necesario para un buen crecimiento celular (Sablayrolles y Barre, 1986). Interviene en la síntesis de los esteroides y de los ácidos grasos insaturados, constituyentes esenciales de la membrana plasmática (Andreasen y Stier, 2003).

La fase estacionaria es una fase importante pues representa la adaptación de la levadura al medio (**Figura 1**) además de ser una fase no comprendida totalmente. En condiciones enológicas, sus características se alejan notablemente de las descritas en medios de laboratorio, me-

dios en los cuales se ejerce a menudo limitaciones en cuanto a sustratos o nutrientes que condicionan la entrada en fase estacionaria. En este sentido, un estudio reciente (Riou y col., 1996) ha podido demostrar que los genes clásicamente descritos como específicos de la fase estacionaria de *S. cerevisiae* no obedecen a los mismos criterios en condiciones enológicas. Esta fase estacionaria, durante la cual se efectúa una gran parte de la fermentación alcohólica, reviste pues una importancia particular en cuanto a los fenómenos de adaptación de *S. cerevisiae* al medio que lo rodea.

Etanol

El etanol representa el producto principal de la fermentación alcohólica y puede alcanzar concentraciones extracelulares de hasta 12 a 14% (v/v) en fermentación normal. Es corriente admitir que la síntesis de grado de etanol (1% v/v) en fermentación alcohólica representa un consumo comprendido entre 16,5 y 17 gramos de azúcares reductores (glucosa o fructosa) por litro de mosto. Después de largos años de controversia, debido especialmente a la torpeza de los protocolos experimentales utilizados, ahora se admite que *S. cerevisiae* no acumula etanol en el seno de su citoplasma durante la fermentación alcohólica (Dasari y col., 1983; Guijarro y Lagunas, 1984; Dombek e Ingram, 1986), en la membrana celular que presenta una gran permeabilidad frente a pequeñas moléculas hidrófilas como el etanol, este se equilibra simplemente entre una parte y otra de la membrana plasmática por simple difusión (Jones, 2002).

Dióxido de Carbono

En importancia, el gas carbónico representa el segundo producto de la fermentación alcohólica. Según las cepas de *S. cerevisiae* utilizadas y en condiciones enológicas, se puede considerar un rendimiento medio en dióxido de carbono (CO₂) de 0,4 a 0,5 gramos de CO₂ por gramo de azúcares degradados. Aunque los efectos del gas carbónico sobre los organismos son conocidos desde hace mucho tiempo, los diferentes efectos de las dos especies presentes en fermentación, CO₂ molecular y bicarbonato HCO₃⁻ permanecen aún desconocidos (Jones y col., 2001). En efecto, por debajo de valores de presión parcial de CO₂ de 0,15 a

0,20 atm, no se afecta el crecimiento y la actividad de la levadura es más bien estimulada. Por encima de estos valores, el crecimiento y la actividad metabólica son reducidas (Jones y Greenfield, 2002). A valores de pH externos como los encontrados en condiciones enológicas (pH muy ácido), se admite que solo la fracción de CO_2 disuelta se difunde a través de la membrana de la levadura, y no la especie bicarbonato HCO_3^- . En cambio, en el interior de la célula siendo el pH intracelular próximo a la neutralidad, la forma preponderante es el ión bicarbonato. Esta molécula puede ejercer efectos inhibidores frente al metabolismo cuando su concentración intracelular sobrepasa 10 milimoles (mM) (Flanzy, 2000).

Glicerol

Es el tercer compuesto más importante en volumen en el vino después del agua y el alcohol etílico; en condiciones de fermentación enológicas varían normalmente entre 5 y 11 g L⁻¹ según las cepas de levadura. En *S. cerevisiae*, el glicerol así formado deja la célula por difusión pasiva (Gancedo y col., 1998). La producción de glicerol le sirve también a la levadura para hacer frente a las fuertes presiones osmóticas, acumulando mayor concentración de glicerol en su citoplasma, el exceso de glicerol deja la célula por difusión simple (sin intervención de la proteína específica). Contribuye a la percepción del “cuerpo” del vino por su densidad 1,26 g cm⁻³. (Flanzy, 2003).

Ácidos Orgánicos

En la uva después del azúcar son los compuestos más abundantes, entre ellos se encuentran, los ácidos tartárico, málico y cítrico. Durante la fermentación alcohólica se forman más de una centena de ácidos orgánicos, su origen depende principalmente de tres vías del metabolismo de la levadura (Díaz Peralta, 2006).

Un cierto número (entre ellos acetato, succinato, α -cetoglutarato, malato y citrato) derivan directamente del piruvato por un funcionamiento limitado del ciclo de los ácidos tricarbónicos. Estos ácidos orgánicos pueden tener un efecto directo sobre la característica organoléptica del producto acabado, e intervienen en el valor del pH del vino. Entre estos ácidos orgánicos, el succinato representa, como el glicerol,

uno de los subproductos mayoritarios de la fermentación. Las concentraciones alcanzadas al final de la fermentación son inferiores al gramo por litro y pueden representar de 0,3 a 0,5 % de los azúcares fermentados (Oura, 1977).

Alcoholes superiores

La mayor parte de los alcoholes superiores producidos por la levadura derivan directamente de los esqueletos carbonados de los aminoácidos asimilados por aquella durante la fermentación alcohólica, conduciendo a la formación de un alcohol superior que posee un carbono de menos que el aminoácido de origen. Otra vía de síntesis de los alcoholes superiores ramificados a través de actividades enzimáticas específicas aún no explicadas (Derrick y Large, 1993)

Los principales alcoholes superiores sintetizados durante la fermentación alcohólica son el n-propanol, isobutanol, los alcoholes amílico e isoamílico y el feniletanol (Rapp y Versini, 1999); en los vinos se encuentran estos compuestos de 140 a 420 mg L⁻¹ el más importante es el 3-metil 1-butanol que generalmente representa el 50 % de los alcoholes superiores (Diaz Peralta, 2010).

Ésteres

Los ésteres representan numéricamente el mayor grupo de compuestos con impacto organoléptico producidos en fermentación alcohólica y son producidos por una reacción enzimática poniendo en juego los derivados acil grasos del coenzima A y los alcoholes libres (Nordstrom, 1974).

Adaptación de la célula al medio

La levadura *S. cerevisiae*, en las condiciones de fermentación de tipo enológico, se encuentra confrontada, especialmente durante la fase estacionaria, a un conjunto de condiciones fisicoquímicas particularmente desfavorables. El estudio de estas condiciones particulares se ha tratado a menudo estudiando el impacto de cada factor independientemente de los otros. En cualquier caso, es necesario tener en cuenta que en condi-

ciones reales de fermentación, estos factores en su conjunto intervienen normalmente de manera sinérgica, reforzando así sus efectos tóxicos.

Efectos del etanol y del oxígeno

La fase tardía de la caída de la actividad fermentativa está caracterizada por un aumento sensible del etanol en el medio. El etanol influye sobre todo en esta parte de la fermentación perturbando la permeabilidad de la membrana citoplásmica y disminuyendo su selectividad (Alexandre y col., 1994; Leao y Van Uden, 1980, 1984). A nivel de membrana, el etanol parece sobre todo acelerar el influjo pasivo de protones del mosto (medio ácido, pH # 3,0) hacia el interior de la célula (Juroszek y col., 1987); (**Figura 2**).

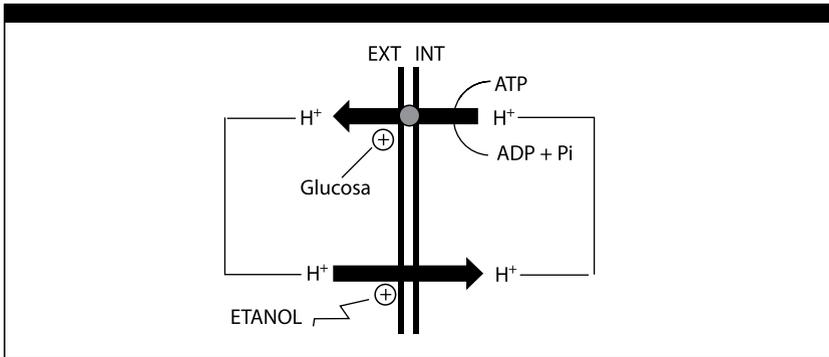


Figura 2: Efecto esquemático del etanol sobre la fluidez de la membrana plasmática y su permeabilidad a los protones.

Para mantener un pH intracitoplasmático próximo a la neutralidad, *S. cerevisiae* debe activar su ATPasa membranar -bomba de protones-, actividad consumidora de energía y en sí misma sensible al etanol (Rosa y Sa-Correia, 1991).

Efecto de la temperatura

La influencia de la temperatura sobre el desarrollo de la fermentación alcohólica es relativamente compleja (ver **Figura 3**). La disminución o el aumento de la temperatura en un intervalo comprendido entre 4 y 40 °C afecta el funcionamiento de numerosas actividades enzimáticas,

pero en ausencia de productos tóxicos no induce mortalidad celular. En este intervalo, una variación de temperatura afecta negativamente la tasa de crecimiento alrededor de un óptimo situado entorno a 30 °C.

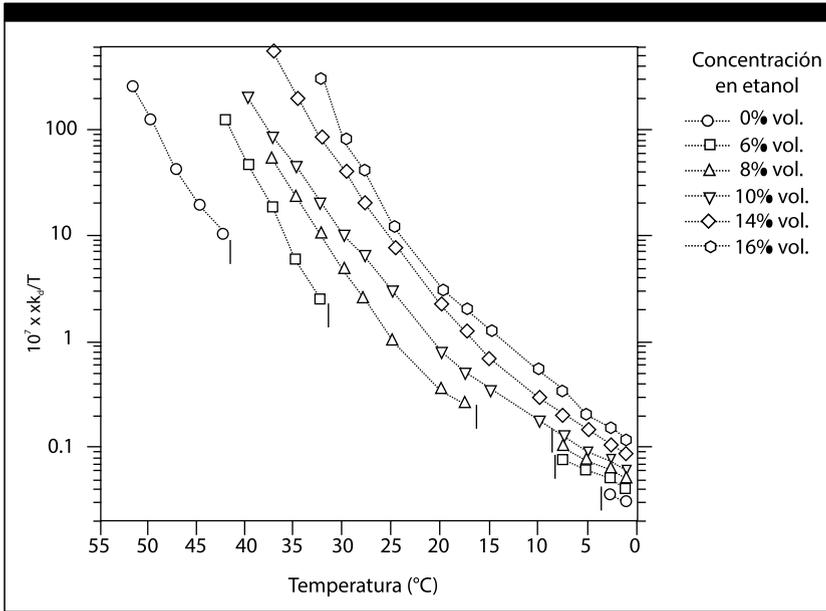


Figura 3: Influencia de la temperatura en las tasas específicas de mortalidad celular en *S. cerevisiae* en presencia de concentraciones crecientes de etanol.

En la **Figura 3** (Sa-Correia y Van Uden, 1986) se puede observar las partes vacías no materializadas sobre las curvas correspondientes a 0, 6 y 8 % v/v de etanol, cuyos extremos acaban en una doble flecha, se corresponden con zonas de temperatura donde no se observa ninguna muerte celular. K_d y T representan respectivamente las tasas específicas de mortalidad (en segundos⁻¹) y la temperatura en °K, representación modificada de Arrhenius. El etanol indujo la muerte de *S. cerevisiae* a bajos y moderados aumentos de temperaturas. Más allá de estos límites se observa una mortalidad inducida por el calor.

Se ha observado en situaciones de temperaturas relativamente elevadas de 25 a 40 °C, en presencia de etanol incluso en baja concentración (Sa-Correia y Van-Uden, 1986) (**Figura 3**), pero también en presencia de ácidos grasos de cadena corta (Sa-Correia, 1986), ciertos ácidos monocarboxílicos de cadena corta ácidos propiónico, butírico y pentanoico; (Cardoso y Leao, 1992), o de ácido acético (Pinto y col., 1989), una inducción exponencial de mortalidad celular. Esta inducción

se manifiesta igualmente, aunque en menor medida, con valores de temperatura moderados y bajos de 4 a 25 °C.

Respecto del uso de temperaturas en la elaboración de vinos con *Vitis viníferas* y *S. cerevisiae* hay cuatro corrientes de tratamiento tecnológico que se tomarán como referencia para diseñar la estrategia investigativa:

La corriente francesa, según Blouin y Peynaud (2006) sugiere: a) elaborar vino blanco iniciando la fermentación alcohólica (fa) entre 18-20°C hasta la mitad del contenido de azúcar y luego terminarla entre 20 y 22°C; b) para elaborar vino tinto sugieren temperaturas entre 28 y 32°C.

La corriente chilena según Bordeau (2006) sugiere rangos de temperaturas de elaboración: a) desde el punto de vista de las levaduras entre 9 y 35 °C con un óptimo entre 22 y 27°C y un rango razonable entre 15 y 30°C; b) desde el punto de vista de la calidad: elaborar vino blanco entre 16 y 18°C y tintos entre 28 y 30°C.

La corriente inglesa según Boulton y col. (2002) sugieren temperaturas de elaboración: a) para vino blanco entre 18 y 24°C; b) para vino tinto entre 26 y 30°C.

La corriente argentina según Díaz Peralta (2005) sugiere: a) para elaborar vino blanco temperaturas entre 18 y 25°C; b) para vino blanco fino $18 \pm 2^\circ\text{C}$; c) para vino rosado 24 a 26°C; d) para vino tinto 26 a 32 °C e) para vino tinto fino $29 \pm 2^\circ\text{C}$.

Efecto del pH

En condiciones de fermentación, aunque el medio exterior sea relativamente ácido, el pH intracelular se mantiene en un valor próximo a la neutralidad de manera activa por la levadura (Pampulha y Loureiro-Dias, 1989; Rowe y col., 1994).

Además de la difusión pasiva de los protones a través de la membrana plásmica que contribuye a acidificar el citoplasma, intervienen en el mismo sentido otros mecanismos fisicoquímicos. El ácido acético y otros ácidos orgánicos débiles de $pK_a \geq$ al pH del medio exterior, normalmente producidos durante la fermentación alcohólica como subproductos fermentativos, pueden acumularse en el interior de la célula debido a diferencias de pH transmembranares. Su forma no disociada difunde libremente a través de la membrana plasmática.

En el interior de la célula, estos ácidos débiles se disocian pudiendo contribuir en gran medida a una bajada sensible del pH intracelular (40 mM de ácido acético generan por ejemplo a un pH extracelular de 3,5 una bajada del pH intracelular de 2 unidades de pH). Tal acidificación intracelular deberá entonces ser contrarrestada por un funcionamiento aumentado de la ATPasa bomba de protones de la membrana plasmática con el fin de preservar la viabilidad celular. Este efecto sobre el pH intracelular es especialmente reforzado por fuertes concentraciones en etanol y un valor débil de pH extracelular (Pampulha y Loureiro-Dias, 1989).

Inhibidores exógenos

Pesticidas: diversos pesticidas utilizados en el tratamiento de la viña pueden ser detectados en unas dosis no despreciables posteriormente en los mostos (Cabras y col., 1987). Las vías de degradación de algunos de ellos por las levaduras han sido elucidadas y pueden claramente conducir a malos olores azufrados (Cantarelli y col., 1984). Varios estudios de toxicidad de ciertos fungicidas sistémicos han mostrado una clara interferencia con la cinética de fermentación de *S. cerevisiae*, especialmente para los fungicidas pertenecientes a las familias de los triazoles e imidazoles (agentes que bloquean la vía de biosíntesis del ergosterol en los hongos parásitos de la viña tales como el *iodium* (Tromp y Marais, 1981; Gnaegi y col., 1983; Doignon y Couty, 2002). Estos compuestos alteran la fluidez de la membrana plasmática de *Saccharomyces cerevisiae* por modificación de su contenido en esteroides y ácidos grasos insaturados, volviéndola así más sensible a la acción del etanol (Doignon y Rozes, 2002).

Inhibidores endógenos

Alcoholes superiores: de la misma manera que el etanol, los alcoholes superiores producidos durante la fermentación alcohólica ejercen un efecto tóxico sobre la *S. cerevisiae*.

El efecto tóxico de los alcoholes superiores es especialmente revelado por una disipación total del gradiente de protones transmembranar (ΔpH) y del potencial eléctrico de membrana (E_m).

La amplitud de este efecto está directamente ligada a la longitud de la cadena carbonada del alcohol superior correspondiente en el orden siguiente $C_2 < C_3 < C_4 < C_5 \leq C_6 \geq C_7 > C_8 > C_9 > C_{10} > C_{11}$. El objeto inicial de estos efectos tóxicos parece ser principalmente el aumento inducido de la permeabilidad de la membrana plásmica a los protones y a los aniones, y particularmente al ión M^{+2} (Petrov y Okorokov, 1990)

Acetaldehído: datos recientes han probado que el acetaldehído se acumula en el interior de la célula durante la fermentación alcohólica en una concentración del orden de 10 veces la concentración observada en el medio exterior.

El efecto tóxico correspondiente no se ha podido demostrar todavía pero podría ser variable de una cepa a otra de *Saccharomyces cerevisiae* (Stanley y Pamment, 1993).

Ácidos grasos de cadena corta: los ácidos grasos de cadena corta (ácidos octanoico y decanoico) especialmente producidos por la levadura durante la fermentación alcohólica, ejercen un efecto tóxico sobre las mismas levaduras (Lafon-Lafoucade y col., 1984).

El ácido octanoico, por su estructura fuertemente lipófila, aumenta la permeabilidad de la membrana plasmática por un mecanismo post-transcripcional, haciendo decrecer fuertemente la tasa de esta enzima en la membrana (Viegas y col., 1994).

Bicarbonato: en el interior de la célula, la especie química bicarbonato HCO_3^- , desde que alcanza una concentración de 10 mM, puede ejercer efectos inhibidores sobre numerosas reacciones de decarboxilación que pueden conducir a diversas alteraciones del metabolismo: decarboxilación de isocitrato en α -cetoglutarato conduciendo a una reducción de síntesis de los aminoácidos que derivan del ácido glutámico, decarboxilación de 6-fosfogluconato en ribulosa 5-fosfato que conducen a una reducción de la biosíntesis de los nucleótidos y de la histidina, y por último la decarboxilación de piruvato en acetil coenzima A que conduce a una reducción de la síntesis de los lípidos, de los ácidos grasos y de los aminoácidos que derivan del ácido glutámico (Jones y Greenfield, 2002). Estos efectos inhibidores son más marcados en la medida en que el contenido de etanol del medio se eleva.

Gas carbónico: hay que resaltar que uno de los enzimas decarboxilantes mayores de la fermentación alcohólica, la piruvato decarboxilasa que cataliza la decarboxilación del piruvato en acetaldehído, es una enzima muy poco sensible al CO_2 (Norton y Krauss, 1972).

Por otro lado, el gas carbónico puede tener un efecto sobre las estructuras de las membranas afectando su composición en ácidos grasos (Castelli y col., 1989).

Esta alteración inducida de la permeabilidad de la membrana conduce, en fermentaciones conducidas entre 12 y 20 °C bajo 2 atmósferas de CO₂, a una liberación pronunciada de α -acetohidroxi-ácidos y a la formación de fuertes niveles de dicetonas vecinales (Arcay-Ledezma y Slaughter, 1984). En las mismas condiciones, se observa un aumento importante del volumen celular, reflejando una desorganización profunda de las estructuras intracelulares de la célula (especialmente de la vacuola). Se observa una proteólisis intracelular y se produce una fuerte pérdida de viabilidad celular (Slaughter y col., 1987).

CONTROL DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Un buen desarrollo de la fermentación alcohólica con *Vitis vinifera* debe conducir a dos resultados principales por una parte, el agotamiento completo del medio en azúcares fermentables, dentro de unos márgenes razonables; y por otra parte, a la obtención de un aroma fermentativo de calidad óptima, elemento importante de la calidad general de los vinos blancos.

Descripción de una fermentación tipo

Se conocen 5 tipos de fermentaciones alcohólicas en condiciones enológicas.

Fermentación espontánea: es la que se produce espontáneamente, en un medio con azúcares fermentables, con los microorganismos que trae la uva o que contaminan en la bodega (más de un género, más de una especie).

Fermentación pura absoluta: interviene una sola cepa de levadura pura. Es el caso de la cerveza en el que el mosto se esteriliza y luego se siembra con una cepa de levaduras específica.

Fermentación pura relativa: es la que ocurre la mayoría de las veces en enología. Se limita el medio con dióxido de azufre (SO₂) (esterilización parcial) y luego se siembra un pie de cuba que posee alta concentración de un microorganismo dado.

Fermentación asociada: es una fermentación pura, absoluta o relativa, pero interviene un cultivo mixto de levaduras, o sea dos o más levaduras puras compatibles.

Asociación escalar: no muy común en la práctica. Se siembran sucesivamente y en distintos tiempos para que cada una intervenga de acuerdo a su capacidad, dos cepas puras. Por ejemplo: iniciar la fermentación con *S. cerevisiae cerevisiae* y terminarla sembrando *S. cerevisiae bayanus*; o iniciar con *S. cerevisiae cerevisiae* y terminar con *Schizosaccharomyces pombe*; o iniciar con *Schizosaccharomyces pombe* y terminar con *S. cerevisiae cerevisiae*.

Las llamadas fermentaciones naturales o espontáneas, son siempre conducidas finalmente por cepas vínicas de *Saccharomyces*. Actualmente se cree que las levaduras que participan en las fermentaciones espontáneas tienen dos posibles orígenes: la uva o el material de bodega (Fleet y Heard , 1993; Mortimer y Polsinelli 2002). Rosini (2003) demostró que en los meses siguientes a la vinificación, las levaduras *Saccharomyces* responsables de las fermentaciones, permanecen en la bodega y colonizan las superficies e instalaciones de la misma. Según Pretorius (2003), *S. cerevisiae* es la principal especie colonizadora de las superficies de la bodega.

La **Figura 4** (Bely y col., 1990a) sintetiza el desarrollo de una fermentación alcohólica conducida a temperatura constante, con un seguimiento en línea de la liberación de gas carbónico y de la velocidad instantánea de esa liberación (proporcional a la velocidad de fermentación). Para que las curvas sean independientes de la variabilidad ligada al mosto y la cepa de levadura, se normalizan los diferentes parámetros con respecto a su valor máximo. La curva puede ser dividida en tres fases.

La fase de latencia: que se corresponde con el período de saturación del medio en CO_2 . Al final de esta fase, la población es aproximadamente de 10^7 células mL^{-1} . Su duración es ante todo función de la temperatura. No excede generalmente de 24 hs.

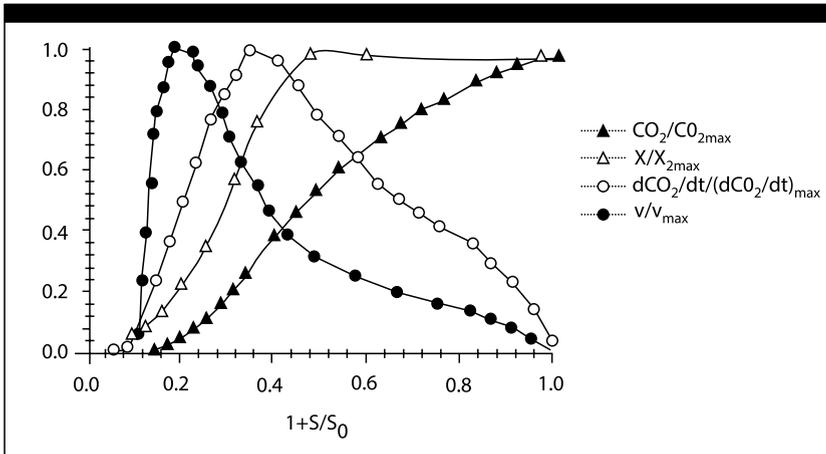


Figura 4: Descripción de un ciclo fermentativo.

- evolución de CO_2/CO_2 máx., $d\text{CO}_2/dt/(d\text{CO}_2/dt)_{\text{máx.}}$, $v/v_{\text{máx.}}$.
- CO_2 : CO_2 producido
- X : población celular
- $d\text{CO}_2/dt$: velocidad de producción de CO_2
- $V = 1/X$
- $d\text{CO}_2/dt$: velocidad específica de producción de CO_2
- S : concentración instantánea de azúcar.
- S_0 : concentración inicial de azúcar

La segunda fase dura hasta el final del crecimiento celular. Durante esta fase, pasan sucesivamente por un máximo:

- la velocidad específica de liberación de CO_2 con $[V_{\text{máx. esp}} = 1/X (d\text{CO}_2/dt)_{\text{máx.}}]$
- la velocidad máxima de liberación de CO_2 $[(d\text{CO}_2/dt)_{\text{máx.}}]$

La $V_{\text{máx.}}$ se corresponde con la actividad máxima de las células que se alcanza muy pronto, aunque se haya producido menos de 5 g L^{-1} de CO_2 lo que se corresponde con un consumo de azúcar inferior a 10 g L^{-1} . En este momento, el número de células es inferior al tercio de la población final. La actividad de cada célula disminuye pues durante la casi totalidad de la fermentación.

La $[(d\text{CO}_2/dt)_{\text{máx.}}]$ que es proporcional a la actividad fermentativa del conjunto del cultivo es alcanzada un poco más tarde, en momentos diferentes según las fermentaciones, pero siempre antes del final del crecimiento celular y siempre durante el primer tercio de la fermentación. Su valor es interesante en tres aspectos:

- a) Permite detectar los mostos con carencia de nitrógeno existe una relación entre el contenido de nitrógeno asimilable: $(dCO_2/dt)_{\text{máx.}}$ y N amoniacal + N α -aminado (**Figura 5**) (Bely y col.,1990b)
- b) Está ligada a la liberación de calor máxima y, por lo tanto, a la necesidad máxima de frigorías, necesarias para regular la temperatura.
- c) Permite estimar la duración de la fermentación (Bely y col., 1990b).

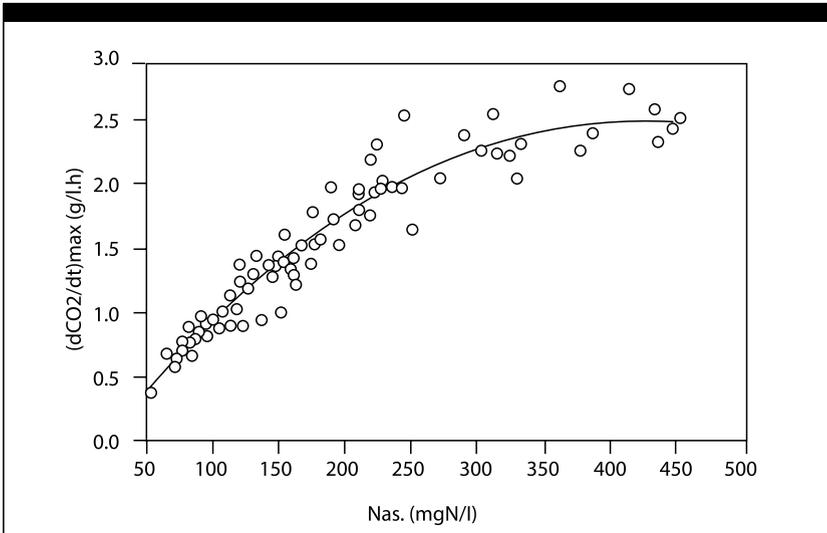


Figura 5: Relación entre la velocidad máxima de producción de CO₂ y la concentración en nitrógeno asimilable.

La tercera fase (estacionaria): en ella las levaduras ya no son proliferantes. Su número es constante, aunque en las cubas de gran tamaño su concentración en el medio puede llegar a ser heterogénea al final del cultivo, a causa de fenómenos de decantación. Durante toda esta fase, la actividad de las levaduras continúa disminuyendo progresivamente, a pesar de que en la mayoría de los casos, se conserva una fuerte tasa de viabilidad. Varios fenómenos están implicados en esta caída de actividad de la levadura, siendo lo principal el agotamiento del medio en nutrientes nitrogenados asimilables. El nitrógeno (N) interviene no solo sobre el nivel de crecimiento de la levadura, sino también sobre la cinética de transporte de los azúcares por las levaduras a lo largo de la fermentación. Esta velocidad de transporte es a menudo la etapa limitante de la cinética fermentativa (Busturia y Lagunas, 1986). Para

mantener el nivel de actividad de las levaduras constante durante la fase estacionaria, es necesaria una adición continua de nitrógeno, como lo han mostrado (Manginot y col., 1996). Al final de la fermentación, cuando los azúcares residuales están ya en pequeñas concentraciones, la velocidad cae y después se anula. Esta caída puede ser brutal, o muy progresiva -en caso de las fermentaciones largas-. La cinética final es sobre todo función del número de levaduras viables.

Variabilidad de la cinética fermentativa

Variabilidad según los mostos: Las velocidades de fermentación son muy variables según los mostos. La **Figura 6** recapitula las velocidades máximas de producción de CO₂ observada sobre una centena de mostos procedentes de diferentes regiones vitícolas francesas.

Estas velocidades máximas, que están como ya se ha visto ligadas con la duración de las fermentaciones, se escalonan, 24 °C entre 0,4 y 2,8 g L⁻¹ h⁻¹ ; lo que se corresponde con las velocidades de consumo de azúcar comprendidas entre 0,9 y 6 g L⁻¹ h⁻¹.

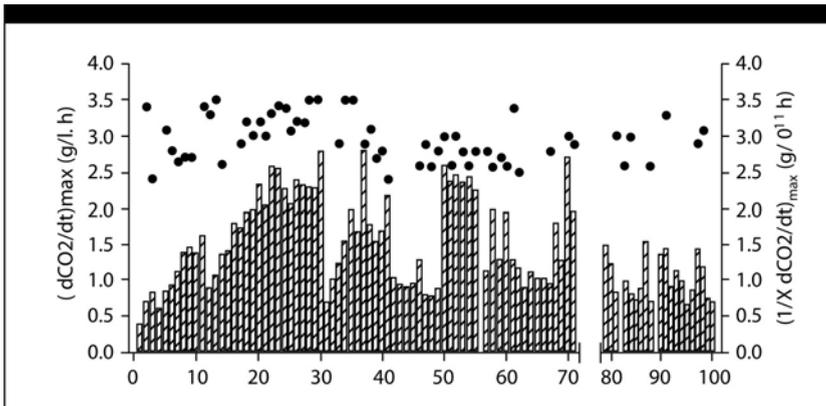


Figura 6: Variabilidad, según los mostos, de la velocidad máxima de producción de CO₂ (■) y de la velocidad específica de CO₂ (●). Temperatura 24 °C.

Esta gran variabilidad se debe sobre todo a las diferencias de contenidos en N asimilable de los mostos (**Figura 6**): sobre este mismo muestreo, estos contenidos están comprendidos entre 53 y 444 mg L⁻¹.

Se constató, en cambio, que la velocidad específica máxima (proporcional a la actividad fermentativa máxima de las levaduras) varía poco

(**Figura 6**). Así pues, sobre todo cambia el número de levaduras y no la actividad específica máxima de cada célula (Bely y col., 1990b)

Efecto de la cepa de levadura, del año y del grado de madurez:

La gran variabilidad observada según los mostos se debe sobre todo a la viña y al terreno, aunque el año es también un factor importante. Así, medidas hechas durante 6 años sucesivos muestran que la media de los valores de $(dCO_2/dt)_{\text{máx.}}$ de los mostos procedentes de 6 parcelas diferentes varía entre $0,73 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en 1995 y $1,35 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en 1992. El grado de maduración influye también, pero estas variaciones son menos importantes (Dubois y col., 1996).

La cepa de levadura, por sí misma, induce una variabilidad claramente inferior a la ligada con el mosto. Así, en un mismo medio, y para 10 cepas industriales sembradas de manera idéntica, $(dCO_2/dt)_{\text{máx.}}$ varía solo entre $1,8$ y $2,22 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y la duración de la fermentación queda comprendida entre 102 y 132 horas (Bely y col., 1990b).

Efecto de la temperatura:

La temperatura influye de manera muy importante sobre la cinética fermentativa. Así, entre 15 y 25°C , en régimen isotérmico, la velocidad de fermentación es el doble cuando la temperatura es superior en aproximadamente 8°C (Bely y col., 1990b).

No solo el nivel de temperatura es importante sino también el régimen térmico. Así, una evolución de la temperatura de algunos grados durante la fermentación, caso muy corriente en enología, cambia profundamente la cinética fermentativa. En la **Figura 7** (Sablayrolles y Barre, 1993) se compara la evolución de la velocidad de producción de CO_2 entre una fermentación conducida a 24°C y una fermentación comenzada a 18°C y cuya temperatura evoluciona libremente hasta 24°C . Se aprecian diferencias importantes entre el régimen isotérmico y el no isotérmico. De una parte, la marcha de la curva de velocidad está profundamente modificada durante la fase de evolución libre de la temperatura, la velocidad de fermentación es mantenida casi constante gracias al calentamiento del medio causado por la transformación azúcar-alcohol (producción de aprox. $23,5 \text{ kcal/mol}$ azúcar fermentada) (Williams, 1982).

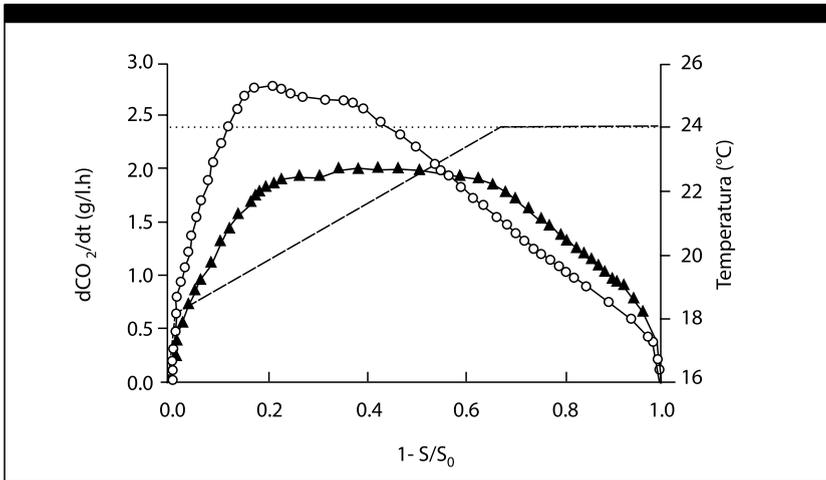


Figura 7: Efecto de la temperatura sobre la cinética fermentativa.

- comparación entre el régimen isoterma (...y O) y un régimen no isoterma (- - - y Δ)
- S : concentración instantánea de azúcar
- S_0 : concentración inicial de azúcar

Por otra parte según Coleman et al., (2007) al final de la fermentación, aunque la temperatura y el grado de avance de la reacción (proporcional a la cantidad de CO_2 liberada y a la concentración en alcohol) son idénticos, la tasa de fermentación es superior en el caso de la fermentación no isoterma. Lo anterior se explica porque:

para un estado de fermentación o de avance dado, la velocidad de fermentación es función de la temperatura actual pero también del régimen de temperatura precedente.

las elevaciones de temperatura durante la fermentación (frecuentes en enología) permiten finales de fermentación más rápidos.

CAPÍTULO II

ELABORACIÓN DE VINO BLANCO

Las operaciones unitarias que se utilizan para elaborar vino blanco seco con *Vitis vinifera* y *S. cerevisiae* fueron consideradas como referencia para el desarrollo tecnológico con uvas no viníferas, y será necesario determinar experimentalmente el rendimiento de cada operación.

Existe una gran diversidad de tipos de vinos blancos, tipos que responden normalmente, a los gustos de los consumidores. Así pueden clasificarse:

- a. según su aroma: aromáticos o neutros
- b. según su contenido de azúcar: secos, abocados o dulces
- c. según su contenido en anhídrido carbónico: tranquilos o espumosos
- d. según su estado oxidativo: frescos y frutados o maderizados.

Cada uno de estos tipos responde a la aplicación de tecnologías diferentes y sus calidades dependen de los cuidados que se hayan observado en la elaboración.

Debido al avance de los conocimientos, y al control de cierto número de operaciones tecnológicas (prefermentativas, fermentativas y postfermentativas), tradicionales o no, se ha podido asegurar en la elaboración un control y una eficacia real. A cada tipo de vino le corresponde una adaptación de la técnica de vinificación. En la elaboración de este tipo de vino blanco, el objetivo general del vinificador consiste, en el trans-

curso del trabajo de la uva, en limitar al máximo los intercambios entre el mosto y las partes sólidas de la vendimia.

LA FASE PREFERMENTATIVA

En vinificación en blanco, la optimización de la fase prefermentativa, que está consagrada a través del trabajo de la uva a la obtención de un mosto de calidad, pasa por una gestión razonada de los intercambios entre este mosto y las partes sólidas de la uva. (Delteil y Lozano, 1995a)

La extracción del mosto

Como el vino blanco procede únicamente del zumo de uva, las operaciones de extracción de este zumo tienen una importancia muy especial. En efecto, del buen manejo de las operaciones de extracción (que se deben manejar, además, rápidamente desde el momento del aporte de la uva a la bodega) depende en gran medida la calidad final del vino. Todo en la uva no es bueno, como para que sea extraído. Es indispensable, a través de una elección rigurosa, conseguir una extracción de los componentes útiles para la calidad del mosto, y al mismo tiempo de limitar los considerados como negativos para esta calidad.

El estrujado

La uva sufre en primer lugar el estrujado, que consiste en reventar la uva para liberar el jugo de las células de la pulpa. Este estrujado, que se realiza haciendo pasar la uva entre dos cilindros muy próximos y que giran en sentido contrario, se debe de aplicar con intensidad moderada con el fin de limitar toda trituración inútil de la uva, lo que puede entrañar cierto número de efectos negativos que se desarrollan posteriormente (degradación de los aromas, aumento de las tasas de fangos). En algunos casos se suprime el estrujado, concretamente en la elaboración de la mayor parte de los vinos espumosos de calidad. En vinificación en blanco, frecuentemente no se practica el despalillado, ya que los raspones juegan un papel de soporte de drenaje durante la realización del prensado, facilitándose así el escurrido del mosto. Sin embargo, en algunos casos de vinificación, incluso para cepas consideradas como

neutras (Ugni blanc, o Trebbiano toscano, por ejemplo), se realiza un estrujado sin trituración y un despalillado bien cuidadoso. El objetivo es evitar la extracción de compuestos de los raspones, pero igualmente se trata de liberar ciertos compuestos de la pulpa y de los hollejos, que favorecen el desarrollo de sensaciones en boca de redondez y de tipo carnoso.

El escurrido

El escurrido consiste en la separación del mosto liberado por el estrujado. Si es estático (escurrido en tolva, escurrido espontáneo durante el llenado de la prensa) o dinámico (de tipo tornillo sin fin inclinado), debe ser rápido con el fin de limitar la intensidad de los fenómenos de maceración y de oxidación. En el caso del escurrido dinámico, se debe realizar con precaución con el fin de limitar al máximo una trituración inútil de la vendimia que pueda dar lugar al aumento de los fangos. Se aconseja en este caso el empleo de tornillos sin fin de gran diámetro que giren lentamente.

El prensado

Realiza la extracción del mosto contenido en la vendimia estrujada y escurrida. De acuerdo con lo indicado anteriormente, esta operación, de importancia capital para la calidad de los mostos y los vinos (Blouin, 1989), se debe realizar con el mayor de los cuidados. Presión de débil intensidad, movimientos de la vendimia (removidos) limitados, selección rigurosa del mosto obtenido, constituyen los elementos clave de un prensado de calidad (Terrier y Blouin, 1975), siendo uno de los mejores ejemplos que se puedan citar el prensado «champenois» (Hardy, 1990, 1991; Pemod y Valade, 1995). Hoy en día la evolución de los equipos, a través de la difusión cada día mayor de las prensas discontinuas neumáticas, conduce de manera clara a la extracción de mostos de calidad, marginándose las prensas de tipo continuo. La degustación de los mostos ayuda a elegir el nivel de fraccionamiento de los mismos. En el momento en que aparece la dureza en boca, el mosto debe ser separado y a veces tratado en la clarificación. Desde este punto de vista, la polivinilpirrolidona (PVPP) es el producto que respeta mejor

los equilibrios de estas fracciones de mosto de prensa tratados específicamente.

El sulfitado

Desde su obtención, el mosto recibe tradicionalmente una adición de dióxido de azufre (SO_2). Es la operación de sulfitado, que se realiza con un triple fin: proteger el mosto de la oxidación por el oxígeno del aire; seleccionar el medio fermentativo eliminando los microorganismos indígenas presentes de forma natural en el mosto y preparar la clarificación estática del mosto cuando se someta al mosto a esta operación.

El sulfitado como protección del mosto frente a las oxidaciones

Desde la ruptura de la compartimentación celular durante el estrujado y el prensado, la disolución del oxígeno del aire en el mosto es el origen de la oxidación de diversos compuestos. Esta oxidación, de compuestos fenólicos y de ácidos grasos, es tradicionalmente considerada como perjudicial para la calidad. El SO_2 por sus propiedades particulares, ejerce una acción de protección frente a esta oxidación: por un lado, inactiva, con distinto grado pero que puede llegar a su destrucción, las enzimas de oxidación que están presentes de manera natural en el mosto (Kovac, 1979; Macheix y col., 1991); y por otro lado, como es fácilmente oxidable, asegura una protección frente a otros compuestos (Usseglio-Tomasset, 1989).

La eficacia anti-oxígeno del sulfitado es función de varias condiciones. La primera es la rapidez de la operación. En efecto, la adición de SO_2 , a un mosto que consume oxígeno, no implica inmediatamente la parada de este consumo. Como ha demostrado Dubernet (1984), esta parada tiene lugar después de un cierto tiempo de latencia. Este es función en particular de la dosis de SO_2 añadido, de la velocidad inicial de consumo de oxígeno por parte del mosto, del estado sanitario de la uva, y del pH del mosto. La segunda condición es la de una adición con dosis suficiente. En este sentido, con el objeto de conservar una concentración eficaz de SO_2 libre, forma que posee el poder anti oxígeno (Schopfer y Aerny, 1985), se efectúa generalmente una adición del orden de 3-4 g de SO_2 total por hl en el caso de mostos de uvas sanas, dosis que se aconseja doblar en el caso de presencia importante de uvas

podridas en la vendimia. Por último, la tercera condición se refiere a la exigencia de una buena homogeneización del SO_2 añadido al mosto. Se tienen otros procedimientos para proteger el mosto contra la oxidación: trabajo de la uva bajo atmósfera de gas inerte (Poitout, 1973; Weber y col., 1975; Ribéreau-Gayon, 1981; Martiniere y Sapis, 1997), adición de ácido ascórbico y de ácido tartárico en asociación con el SO_2 (Blouin, 1993), refrigeración del mosto, y tratamientos térmicos.

El sulfitado como medio de selección del medio fermentativo

De una forma general, el anhídrido sulfuroso ejerce, frente a los microorganismos presentes en el mosto de forma natural, una acción antimicrobiana. Es una fracción particular del SO_2 la que posee este poder, la fracción no ionizada, o SO_2 molecular como se denomina todavía por lo anterior como SO_2 activo, siendo la acción antiséptica proporcional a la concentración de esta forma de SO_2 . Según las especies y las cepas, las levaduras pueden reaccionar de forma diferente frente al anhídrido sulfuroso molecular. Las más sensibles son en general las especies aerobias, *Pichia*, *Candida*, *Hanseniaspora* (Usseglio-Tomasset, 1989), que son especies de interés enológico limitado. Las bacterias son más sensibles al SO_2 que las levaduras, en particular las bacterias acéticas.

El sulfitado permite, pues, a través de la eliminación de cierto número de microorganismos no deseables, una selección eficaz del medio fermentativo, que se completa especialmente con la adición al mosto de levaduras seleccionadas, logrando una mejor eficacia de esta adición y, por lo tanto, un mejor desarrollo de la fermentación alcohólica posterior.

El sulfitado y la clarificación de los mostos

A las dosis que se utilizan normalmente, el dióxido de azufre inhibe temporalmente la actividad de las levaduras, lo que implica un retardo más o menos importante del comienzo de la fermentación. Durante este período el mosto puede decantar sus materiales en suspensión, lo que conduce a una clarificación natural. La reglamentación relativa a la adición de este producto es estricta en particular, la limitación es cada vez más estricta en lo que se refiere a las dosis máximas autorizadas que actualmente es de 210 mg.L^{-1} para los vinos secos ($< 5 \text{ g. azúcares.L}^{-1}$) y 150 mg.L^{-1} para los vinos secos comunes. En estas condiciones, el

sulfitado del mosto se debe limitar a lo estrictamente necesario para alcanzar los tres objetivos anteriormente citados. Además, ciertos compradores, en el marco formalizado de su certificación ISO 9002, imponen a sus suministradores de vino a granel un límite de 80 a 100 mg.L⁻¹.

La clarificación

La clarificación en enología es la eliminación controlada de las materias sólidas (llamadas fangos) compuestas principalmente por restos de vegetales, que se encuentran en suspensión.

Se conoce la importancia de la clarificación de los mostos sobre las características de los vinos; se traduce normalmente en la mejora de la calidad organoléptica a través de la modificación del aroma fermentativo. Los vinos de mostos clarificados tienen un aroma secundario más fino, mejor calidad que los procedentes de mostos no clarificados. Esto se explica por el hecho de que induce a las levaduras, por una parte, a la formación de concentraciones menores de alcoholes superiores y ácidos grasos volátiles, compuestos que intervienen negativamente en la calidad (Bertrand, 1981; Bertrand y col., 1987), y por otra parte, las levaduras producen concentraciones más importantes de acetatos de alcoholes superiores y ésteres de ácidos grasos que juegan un papel positivo en la calidad del aroma, ver **Tabla 3**. (A partir de Bertrand, 1981).

Tabla 3: Incidencia de la clarificación de mostos en el contenido de volátiles.

Sustancias volátiles en vinos	Mostos no clarificados* mg.L ⁻¹	Mostos clarificados** mg.L ⁻¹
Alcoholes superiores	360	209
Hexanol-1	1,42	0,73
Acetatos de alcoholes superiores	1,69	4,39
Ésteres etílicos de ácidos grasos	1,56	2,80

*Media de 3 muestras **Medias de 15 muestras.

En este sentido, el empleo de pectinasas constituye, con unas dosis que varían entre 0,5 y 4 g/ hL, un medio eficaz para conseguir mostos bien clarificados. Se pueden utilizar igualmente medios dinámicos, como las técnicas que hacen uso de la centrifugación o la filtración. En este último caso, la filtración con filtro rotatorio a vacío permite la

clarificación más avanzada, aplicándose incluso a mostos con muchos fangos, o para filtración de los mismos fangos. Por último, una nueva técnica de desarrollo reciente, la flotación, que asegura la eliminación de los fangos hacia la parte superior de la cuba a clarificar gracias a un flujo ascendente de finas burbujas de aire o de nitrógeno, permite un clarificado eficaz, como la centrifugación, un trabajo en continuo (Trousseau y Chapron, 1991; Ferrarini y col., 1992; Davin y Sahraoui, 1993).

Actualmente, se considera que el clarificado ha de conseguir una turbidez comprendida entre 50 y 200 NTU (unidades de turbiedad nefelométricas) (Dubourdieu y Ollivier, 1989), valores a modular en función de la riqueza del mosto en nutrientes solubles para las levaduras (nitrógeno asimilable, por ejemplo), de la temperatura de fermentación y, desde luego, del tipo de vino a elaborar.

Adición de bentonita

La adición de bentonita, arcilla de tipo montmorillonita, tiene por objetivo la eliminación del exceso de proteínas que se encuentran en el mosto de forma natural. Estas juegan un papel importante de cara al parámetro de calidad que es la limpidez del vino; son susceptibles, en efecto, de provocar una turbidez, la quiebra proteica. El tratamiento del mosto, durante el trasiego del mosto clarificado (Ribéreau-Gayon y col., 1977b; Peynaud, 1984) o durante la primera mitad de la fermentación permite así una adsorción de las proteínas en la bentonita, y su eliminación del medio después de la fermentación. Las dosis de utilización, variable según los mostos y las calidades de bentonita, pueden variar de 60 al 100 g hL⁻¹. Trabajos recientes de Blouin y Peynaud (2002), han demostrado la incidencia negativa de las dosis elevadas de este producto sobre la componente aromática varietal de los vinos. En los mostos de regiones mediterráneas, la adición de bentonita durante la fermentación permite limitar las dosis necesarias a unos 20 g hL⁻¹ para la mayor parte de las cepas.

LA FASE FERMENTATIVA

Como en toda vinificación, tres criterios permiten la optimización de esta fase de gran importancia en la transformación del mosto en vino:

un buen arranque de fermentación, un buen desarrollo de la fermentación y un buen seguimiento de la fermentación.

Un buen arranque de la fermentación se caracteriza por la rápida puesta en marcha de la actividad de las levaduras. Esto implica dos exigencias: por una parte, una fuerte población de levaduras viables, bien adaptadas a las características de los mostos y a las condiciones de fermentación y por la otra suficientes nutrientes en el mosto para las levaduras. Pero, el clarificado provoca un empobrecimiento del medio en estos dos elementos. Incluso aunque se realice la fermentación de forma espontánea, por medio de levaduras indígenas de un mosto correctamente clarificado y se pueda perfectamente obtener un vino blanco de calidad, un buen control de la fermentación pasa necesariamente, por una adecuada adición de levaduras y nutrientes.

La adición de levaduras en forma de levaduras secas activas (LSA) es una práctica que se ha convertido actualmente en corriente. Estas levaduras seleccionadas, ofrecen numerosas ventajas al vinificar: población viable muy elevada desde el comienzo de la fermentación, mejor control de la calidad organoléptica de la flora microbiana, puesta en práctica fácil y rápida y ausencia de alteración de la calidad organoléptica del vino. Estas ventajas, sin embargo, están evidentemente condicionadas a una buena implantación de la cepa seleccionada, en relación con un aporte en cantidad suficiente (de 10 a 20 g hL⁻¹; 2 a 5.10⁶ células mL⁻¹) como con la eliminación máxima de las levaduras indígenas susceptibles de entrar en competición con las cepas aportadas (Delteil y Lozano, 1995b). En lo que respecta al aspecto nutricional, la levadura tiene necesidad de una nutrición equilibrada para realizar el trabajo que el vinificador espera de ella. Es el mosto el que abastece a la levadura de todos sus nutrientes. Entre ellos, el nitrógeno es un elemento importante, indispensable en la síntesis proteica, y por lo tanto para la multiplicación y actividad óptima de las levaduras. Los contenidos del mosto en nitrógeno asimilable para las levaduras (nitrógeno amoniacal, aminoácidos libres, pequeños péptidos) podrán variar según la cepa, el estado de madurez (cuanto más avanzada está menor es la tasa de nitrógeno) y el año.

Un buen desarrollo de la fermentación alcohólica debe conducir a dos resultados principales: por una parte, al agotamiento completo del medio en azúcares fermentables, dentro de unos márgenes razonables; y por otra parte, a la obtención de un aroma fermentativo de calidad óptima, elemento importante de la calidad general de los vinos blancos. Estas dos condiciones podrán ser cumplidas por una elección adecuada

de la cepa de levadura y de las condiciones de desarrollo de esta misma levadura.

En lo que respecta a la calidad del aroma fermentativo, factor de calidad particularmente importante en los vinos blancos secos de tipo tecnológico, se conoce desde hace tiempo la incidencia de la cepa de levadura, tanto de la cepa misma, como de sus condiciones de desarrollo. Las cepas más alcohógenas, especialmente *S. cerevisiae* y *S. bayanus*, son las que sintetizan mayores cantidades de ésteres superiores (Bertrand, 1980), que juegan un papel positivo en la calidad del aroma secundario. Por otro lado, recientemente, ciertos ensayos han puesto en evidencia la acción de las levaduras sobre el aroma primario procedente de la uva, algunos de cuyos precursores se revelan olfativamente durante el transcurso de la fermentación (Delteil y Jarry, 1992, 1993; Dubourdiou y Darriet, 1993; Tominaga y col., 1995). Con el objetivo de optimizar la calidad del aroma fermentativo, se sabe desde hace tiempo que es necesario manejar la fermentación a baja temperatura. En efecto, dentro del intervalo comprendido entre 15 y 20 °C (Bisson y col., 1980; Bertrand y Miele, 1984), según unos perfiles que pueden ser variables (Gerbaux y Naudin, 1991; Poupault y Cuinier, 1992; Naudin y Gerbaux, 1994; Meistermann y col., 1995) las levaduras forman, por una parte, menos alcoholes superiores (cuyo impacto organoléptico es negativo) y por otra, más acetatos de alcoholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos cuyos aromas florales y afrutados intervienen agradablemente en el aroma secundario de los vinos blancos (ver **Tabla 4**). Siendo la fermentación alcohólica, como se sabe, un fenómeno exotérmico, la regulación de la temperatura de fermentación será, en la mayoría de los casos, indispensable para mantener el mosto en fermentación en el intervalo térmico deseado.

Tabla 4: Incidencia de la temperatura de fermentación en la formación de volátiles en vinos (Según Bertrand, 1981).

Sustancias volátiles en vino	7 °C	13 °C	30 °C
Alcoholes superiores	385	394	208
Acetatos de alcoholes superiores	17,35	18,07	2,60
Esteres etílicos de ácidos grasos	4,02	5,22	1,69

En ciertos mercados, la tendencia es a elegir cepas de levadura que producen menos alcoholes superiores así como menos acetatos de al-

coholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos. El objetivo es aportar así aromas más dulces y más apreciados que a mostos naturales bastante neutros. Con estos aromas, los vinos adquieren aromas del tipo fruta confitada, como los vinos blancos procedentes de uvas maduras y bien concentradas. En algunos tipos de vinos, estos aromas se prefieren ahora mejor que los olores florales como los que comunican los acetatos de alcoholes superiores, percibidos como más «químicos».

Un buen seguimiento analítico de la fermentación es indispensable para asegurar el desarrollo en unas condiciones óptimas: seguimiento de la evolución de la densidad y de la temperatura del mosto, determinación de la acidez volátil en caso de bajar la rapidez o parada de fermentación, y determinación de los azúcares fermentables residuales al final de la fermentación.

Cuando la fermentación alcohólica se ha terminado, el vino se separa de sus lías. Es la operación de trasiego. En esta etapa, en algunos casos, puede intervenir la fermentación maloláctica. En este caso, el sulfitado del vino no se realiza inmediatamente para permitir que este proceso intervenga en los vinos muy ácidos, que se desean así suavizar biológicamente. Si esta fermentación maloláctica no es deseada, con el fin de conservar en el vino su acidez y su frescura organoléptica, se procede entonces a un sulfitado.

LA FASE POSTFERMENTATIVA

Tras el fin de la fase de fermentación, es indispensable asegurar al vino una buena conservación. Especialmente se han de evitar dos riesgos: el contacto con el oxígeno del aire, por un lado, y el mantenimiento del vino de forma prolongada a temperaturas elevadas, por otro.

El oxígeno puede ser fuente de alteraciones diversas. En primer lugar, de orden microbiológico debido al desarrollo de las levaduras de contaminación del tipo levaduras de «flor». Se desarrollan formando un velo, en la superficie del vino, mediante la oxidación del etanol en etanal, generando aroma y gusto, desde el punto de vista organoléptico negativos. Las contaminaciones bacterianas pueden ser también la causa de alteraciones. El caso más conocido es el «picado acético» que implica un aumento de la acidez volátil, alteración especialmente grave de la calidad del vino. Este puede ser también un foco de alteraciones de origen bioquímico. En los vinos blancos secos de mostos de uvas atacadas de podredumbre gris, ya que la lacasa (polifenoloxidasas de *Botrytis*

cinerea) es susceptible de provocar una «quiebra parda» que altera la presentación del vino a través de un pardeamiento del color, asociado muy a menudo a una alteración del aroma.

En todos estos casos, el sulfitado constituye un medio eficaz de protección del vino, a condición de que la concentración de SO₂ libre sea suficiente (del orden de 20 a 30 mg L⁻¹). Es pues necesaria una verificación periódica de esta concentración, acompañada o no de un ajuste.

La buena conservación de la calidad del vino exige, por otra parte, un mantenimiento de temperaturas moderadas. Un exceso de temperatura degrada la calidad del vino y en particular de su aroma (Bertrand, 1980, 1981; Usseglio-Tomasset, 1983). Una conservación óptima de los vinos implica un almacenado entre 10 y 12°C y sin contacto del aire.

LOS EFLUENTES VINÍCOLAS BLUOIN J., PEYNAUD E. (2004)

La producción de vino genera diversos efluentes que pueden participar en la degradación del medio ambiente. Los orígenes de los efluentes vinícolas son:

- Desechos vitícolas: hojas, raspones, semillas, pulpas vertidos junto con los orujos hacia las destilerías, ricos en azúcares y alcohol, taninos y potasio.
- Desechos de fermentaciones: levaduras y bacterias que constituyen las lías recuperadas para la destilación o evacuadas con las aguas de lavado, ricas en proteínas y tártaro.
- Productos enológicos: colas, clarificantes, productos filtrantes ricos en proteínas y materias inertes (tierras de filtración).
- Productos de limpieza, ricos en sodio y cloro.

Características generales de los desechos vinícolas

- Están totalmente desprovistos de toxicidad microbiológica directa o indirecta.
- Están totalmente desprovistos de toxicidad química.
- Son igualmente muy pobres en nitrógeno y en fosfatos.
- Los riesgos de toxicidad química accidental (ej.: productos de limpieza) son casi nulos puesto que los productos utilizados son poco peligrosos y muy diluidos al utilizarse.

- La cantidad y la naturaleza de los residuos son prácticamente constantes desde hace décadas.
- Los desechos vinícolas perturban el medio ambiente únicamente creando una fuerte «demanda química de oxígeno» (DQO). Esta DQO consume el oxígeno con producción de gas carbónico que corresponde a la oxidación de la materia orgánica casi únicamente carbonada procedente de las vinificaciones. Este consumo de oxígeno en los cursos de agua estancados puede dejarlos no aptos para la vida acuática. Los desechos anuales son muy variables pero oscilan alrededor de 1 litro de residuo por cada litro de vino elaborado, con intervalos que van de 0,5 a 5 (L/L). Estos residuos, expresados en volúmenes y/o en DQO están muy irregularmente repartidos a lo largo del año, con un máximo muy fuerte durante las vendimias, después los primeros trasiegos, seguidos de periodos con muy escasas salidas. Diversos estudios han mostrado la importancia de los residuos de las principales operaciones que demandan incluso un cuidado particular.

ESCALADO DE REACTORES QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS (GARCÍA RODRIGUEZ Y RODRIGUEZ RICO, 2006)

Aunque los avances en modelación matemática y medios de computación permiten cada vez más una interrelación mayor entre el diseño y el escalado, algunos investigadores los delimitan, considerando que en el diseño se usan correlaciones bien establecidas y propiedades físicas estimadas o medidas, mientras que en el escalado se hace modificando un resultado medido por un factor que involucra, entre otras cosas, la relación de las dimensiones lineales del modelo y el prototipo. El problema del escalado es encontrar ese factor. La verdad sobre el escalado es casi imposible de encontrar pues la verdadera similitud no existe según Jordan (1982).

Por ello, para el intento de un escalado se combinan diferentes técnicas que van desde el análisis matemático hasta la comparación de las correlaciones existentes de los resultados obtenidos del modelo experimental, incluyendo los experimentos a escala pequeña. Los sistemas biológicos, por las características especiales que tienen, son tratados en forma especial.

Bisio (1995) y Trambouze (1989) plantean como principales métodos de escalado el principio de similitud, los modelos y “mockups” (escala demostrativa o modelo de tamaño real) y el modelado matemático.

Principios de similitud: este principio involucra las relaciones entre sistemas de diferentes tamaños. En el caso de un reactor químico esta similitud se representa generalmente por grupos adimensionales, que caracterizan los fenómenos del proceso y que permanecen constantes durante el escalado. El significado físico de estos grupos es una relación de constantes de tiempo para los diferentes mecanismos involucrados. Por eso, mantener grupos adimensionales constantes significa que la importancia relativa de los mecanismos involucrados no cambia durante el escalado.

En ingeniería química se utilizan generalmente tres tipos de similitudes:

- Similitud mecánica: Se requiere de las similitudes geométricas, cinemática y dinámica. Así, la geométrica exige que el sistema tenga la misma geometría en ambas escalas, la cinemática que las velocidades de los fluidos tengan una relación constante en puntos correspondientes de los dos sistemas, mientras que la similitud dinámica exige que las fuerzas creadas por o hechas sobre los fluidos mantengan una relación constante en puntos correspondientes de uno y otro sistema
- Similitud térmica: Se tiene en cuenta principalmente en sistemas en los cuales hay un flujo de calor de características importantes para el sistema.
- Similitud química: Para todas las reacciones químicas las temperaturas o perfiles de temperatura-tiempo deben ser las mismas en las industrias grandes y en las pequeñas. En sistemas homogéneos, los tiempos de reacción y las concentraciones iniciales deberán ser los mismos.

En sistemas heterogéneos, el producto del tiempo de reacción por el área de interfase de la unidad de volumen del reactor ha de ser el mismo para ambos.

Modelos y Mockups: han alcanzado gran desarrollo, sobre todo en sistemas muy complejos tales como los que incluyen reactores heterogéneos y catalíticos. Muy usados en la industria del petróleo.

Modelación matemática: implica la representación de un sistema físico por una serie de ecuaciones, las cuales (en una forma limitada) pueden representar el sistema bajo estudio en dependencia del nivel de

descripción que se decida tomar. El modelo matemático es la implementación ideal para el escalado de un proceso.

Reactores químicos: durante la investigación y desarrollo de nuevos procesos químicos uno de los problemas que marca especial atención es el escalado de los reactores químicos.

Los principales métodos para el escalado coinciden con los descritos anteriormente y por supuesto como en todo escalado, ir directamente del laboratorio a la escala industrial es poco factible. En la práctica, el punto de partida se apoya en los resultados del laboratorio; el problema radica en lograr la misma efectividad en una escala superior e incluso mejorar los resultados. Debe apuntarse que en los últimos años la situación acerca del problema del escalado de los reactores químicos se ha ampliado, pues las investigaciones se han encaminado a determinar las distribuciones de tiempos de residencia y los modelos de flujo, así como los perfiles de velocidades y concentraciones en el equipo y su influencia sobre la velocidad global del proceso.

La experiencia acumulada ha permitido establecer que para el escalado es imprescindible realizar pruebas a una escala pequeña con el fin de obtener los datos necesarios.

El desarrollo y escalado de reactores químicos, sobre todo en las industrias farmacéutica y biotecnológica, requiere de especial atención debido a la amplia variedad de complejidades cinéticas que la misma involucra, y es por esto que las reglas generales para el escalado a veces son difíciles de aplicar a estos equipos de la industria química, no obstante se reportan algunos de los principios o criterios más usados para el escalado según Galindo (1996) son:

- Potencia del agitador/volumen constante: este criterio es apropiado cuando la tarea fundamental es mezclar el líquido. Se considera como uno de los criterios más usados, sobre todo en procesos controlados por carga. El número de Reynolds se incrementa con el volumen acorde a P/V constante.
- Coeficiente de transferencia de calor constante: es apropiado cuando el problema fundamental en el reactor es la eliminación del calor generado por la reacción. Este criterio se fundamenta en igualar las ecuaciones del coeficiente de transferencia de calor para ambos sistemas. Para arribar al mismo coeficiente de transferencia de calor las facilidades de eliminación de calor deben incrementarse debido a que la generación de calor es proporcional a V_L/V_s , mientras que el incremento del área superficial de transferencia de calor solo se incrementa en $(V_L/V_s)^{2/3}$. En algunos casos el uso

de un serpentín u otro dispositivo, adicional al reactor, contribuye a esto.

- Velocidad de cizallamiento constante: este criterio mantiene constante la velocidad en los extremos de los agitadores. Muy usado en sistemas gas-líquido.
- Número de Reynolds constante: el mismo trae como consecuencia una disminución drástica de casi todos los elementos que componen el sistema de agitación, por tanto deberán calcularse las consecuencias en el escalado, por haberse adoptado ese criterio.

Cuando se lleva a cabo una estrategia de escalado manteniendo constante una serie de parámetros, otros no pueden ser controlados y pueden cambiar sustancialmente de forma no esperada. Lo anterior puede provocar efectos indeseables sobre el rendimiento, el funcionamiento del biorreactor, los consumos de energía y requerimientos de aire, entre otros, según Bidan (1986).

Modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas

Según Marín (2000) la modelización del proceso fermentativo, y por lo tanto la posibilidad de predicción del desarrollo de la fermentación, tiene un verdadero interés tecnológico, en particular para gestionar mejor la sala de fermentación y las instalaciones frigoríficas, o incluso para prevenir eventuales riesgos de parada de fermentación.

La posibilidad de seguimiento en línea abre nuevas perspectivas también en este campo. Se han publicado numerosos modelos, basados en consideraciones bioquímicas y fisiológicas, para describir el desarrollo de la fermentación alcohólica.

La mayor parte de estos trabajos se han realizado en medios sintéticos. Su aplicación a las condiciones enológicas caracterizadas por una gran variabilidad y un mal conocimiento de la materia prima, es bastante delicada (Boulton, 2002).

Conscientes de estas dificultades, otros autores han preferido buscar modelos menos descriptivos o de tipo caja negra. Es concretamente el caso de:

- Bovée y col., 1984; que considera solamente las concentraciones de azúcar y etanol.

- El Haloui y col., 1989; que han tratado de predecir la cinética fermentativa a partir de medidas cinéticas en línea hechas al comienzo de la fermentación.
- López y Secanell, 1992; que han propuesto un modelo matemático simple para estimar la velocidad de generación de calor durante la fermentación en vinificación en blanco. Estos modelos son válidos únicamente en condiciones isotérmicas. Sablayrolles y Barre 1993; han propuesto un método para estimar la cinética en condiciones no isoterma, con evoluciones de temperatura que cubren el intervalo de interés enológico, pero esta estimación necesita el conocimiento previo o estimación de la cinética a temperatura constante.

Todos estos modelos que se pueden clasificar de semi deterministas tienen campos de aplicación variables, pero ninguno de ellos permite tener en cuenta todas las situaciones enológicas. Por otro lado por lo general describen mal las cinéticas de final de fermentación. Recientemente se han llevado a cabo varios estudios para estimar el interés de la utilización de las redes neuronales en la predicción de la cinética fermentativa en enología (Insa y col., 2000).

En efecto estos modelos de tipo caja negra tienen en general una buena capacidad de generalización y una gran estabilidad. Ciertos resultados ya obtenidos son verdaderamente alentadores, pero estos modelos no tendrán gran interés práctico hasta que no se haya demostrado su validez sobre una muestra suficientemente grande. Esto necesita la utilización de un banco de datos cinéticos suficientemente importante. Por otra parte la adición de datos de tipo experto -observaciones que tienen en cuenta la experiencia de los enólogos prácticos- a los datos numéricos -cinéticas fermentativas y datos analíticos de los mostos- debería permitir perfeccionar su fiabilidad (Colombié et al., 2007).

En términos sencillos se plantea una reacción de fermentación microbiana del tipo:



Dadas, la existencia de sustrato que en el caso del mosto se constituye principalmente de azúcares fermentables, la concentración adecuada de nutrientes del medio y la temperatura apropiada, entonces se produce la multiplicación de los microorganismos, en este caso particular la levadura *S. bayanus*, con el consumo de sustrato para formar biomasa como también para la formación del producto, en este caso mayoritariamente etanol. En algunos casos la actividad fermentativa esta limitada

por el sustrato, cuando en bajas concentraciones de azúcares, esta cesa espontáneamente al agotarse el medio (Ostergaard et al., 2002). Sin embargo, en otros casos, la actividad fermentativa puede estar inhibida por el mismo producto de fermentación. El etanol en concentraciones superiores al 12 % puede resultar tóxica para la *S. bayanus* y en consecuencia la actividad fermentativa también puede detenerse (Pretorius I.S., 2001).

Se presentan así los modelos matemáticos para aplicar a la descripción del fenómeno:

- a. Modelos de crecimiento.
- b. Modelos de proceso fermentativo limitado por el sustrato.
- c. Modelos de proceso fermentativo inhibido por el producto.

Según Colombié et al., (2005) estos modelos contemplan también los efectos de factores como ser restricciones de nitrógeno y oxígeno disponibles, valores extremos de temperatura, entre otros. El contacto de la levadura con el mosto implica un período de adaptación seguido de un período de crecimiento exponencial.

CAPITULO III

BASES PARA DESARROLLAR LA TECNOLOGÍA

OPERACIONES UNITARIAS PARA ELABORAR VINO BLANCO COMÚN SECO EN EL LABORATORIO

En la Figura 8 se presenta el diagrama de flujo propuesto en base al análisis de la literatura científica consultada para elaborar a escala laboratorio vino blanco común seco.

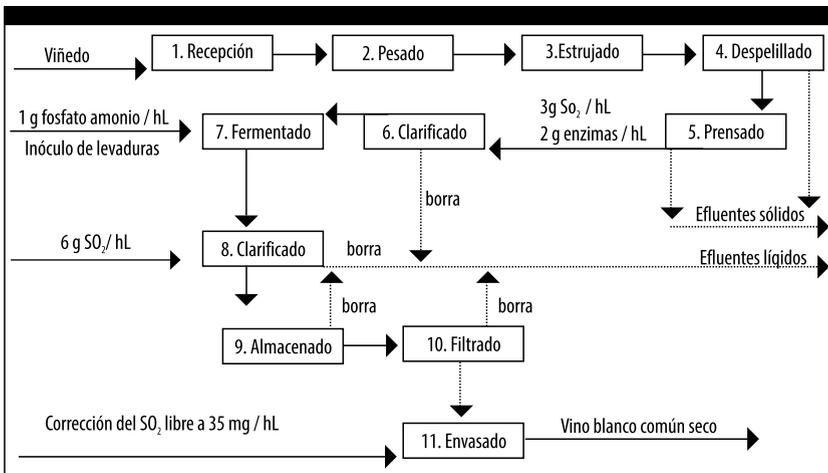


Figura 8: Diagrama de flujo para elaborar vino blanco común a escala laboratorio

Fuente: elaboración propia

En la Figura 8 se establecen 11 operaciones unitarias para el estudio de la vinificación de las variedades de uvas de mesa, donde la fermentación a escala laboratorio se puede iniciar con 5 kg de uvas frescas y maduras.

Los microorganismos seleccionados para inocular en las fermentaciones serán las levaduras autóctonas que contiene la piel de las bayas y como levadura de referencia *Saccharomyces cerevisiae* variedad *bayanus*, especializadas en vino blanco.

Para la investigación a escala laboratorio fueron seleccionadas las siguientes temperaturas de fermentación: 18, 22, 24, 26 y 30 °C y los aditivos a utilizar serán soluciones preparadas de metabisulfito de potasio al 10 % p/p; fosfato de amonio al 5 % p/p y las enzimas pectolíticas a utilizar serán las comerciales.

Las variedades de *Vitis labrusca* seleccionadas para vinificar fueron *Isabella tinto* y *Niágara rosada* cultivadas en Misiones.

ESTRATEGIA PARA DESARROLLAR LA INVESTIGACIÓN

En la Figura 9 se presentan los pasos a seguir en 8 etapas, desde la búsqueda bibliográfica hasta la evaluación económica a escala industrial, para desarrollar la investigación.

FUNDAMENTOS PARA ELABORAR VINO BLANCO COMÚN

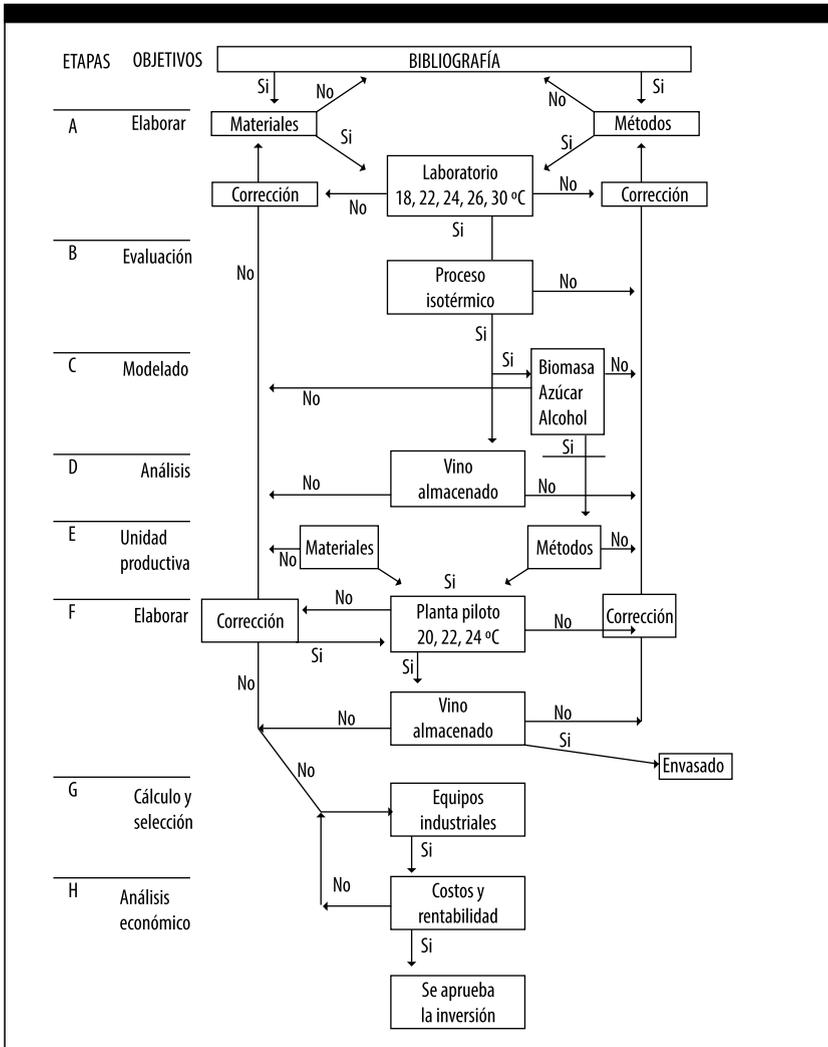


Figura 09: Diagrama heurístico para desarrollar la investigación.

Fuente: elaboración propia.

CONCLUSIONES PARA INICIAR LOS ESTUDIOS DEL DESARROLLO TECNOLÓGICO

1. Para elaborar vinos con uvas *Vitis viniferas* existe abundante información tecnológica pero es muy escasa para la vinificación con variedades no viníferas por lo que es necesario generar información científica y tecnológica.
2. No se ha encontrado en la literatura científica suficiente información sobre las características fisicoquímicas de las uvas de mesa *Niágara rosada* e *Isabella tinto* (variedades de *Vitis labrusca*) cultivadas en Misiones para ser utilizadas como materia prima en la elaboración de vino blanco común seco, por lo que es necesario caracterizarlas.
3. Es abundante la información tecnológica sobre *S. cerevisiae* conduciendo fermentaciones en condiciones enológicas pero escasa la información procesada con metodología científica sobre el desempeño de las levaduras autóctonas o *S. bayanus*, fermentando mostos de uvas no viníferas de Misiones cuando se elabora vino blanco común seco, por lo que es necesario realizar las vinificaciones para registrar y evaluar la información tecnológica.
4. Se desconocen las características del vino blanco común seco elaborado a partir de uvas de mesa de Misiones con sus levaduras nativas o *S. bayanus*, y no se conoce si son aptos para el consumo humano, por lo que deben ser elaborados y analizados para constatar su aptitud para el consumo respecto de las variables de control, de la legislación del Instituto Nacional de Viticultura de Argentina.
5. Para la evaluación de los mostos, las levaduras y los vinos a escala laboratorio, es necesario incluir etapas tales como elaborar vino blanco seco para conocer las variables del proceso y evaluarlas; determinar el desempeño de las levaduras nativas o de *S. bayanus* para conocer su potencial enológico; valorar la aptitud fisicoquímica de los vinos para el consumo humano y obtener un modelado matemático de la fermentación en condiciones enológicas para pronosticar el comportamiento tecnológico de la biomasa, el sustrato y del 50 % del etanol producido.
6. Para establecer un procedimiento tecnológico, evaluar el mismo en planta piloto y seleccionar el equipamiento estimar costos y rentabilidad a escala industrial, se requieren incluir etapas tales

como: establecer un procedimiento tecnológico de vinificación en blanco para determinar un tamaño; evaluar una tecnología de elaboración en planta piloto para obtener los rendimientos globales y la duración de los procesos; proyectar un tamaño industrial para seleccionar un equipamiento tecnológico y realizar un análisis económico dinámico del proceso tecnológico proyectado para conocer su rentabilidad.

ANEXOS

ANEXO 1
Compuestos volátiles:
alcoholes – aldehídos - cetonas – esteres³

COMPUESTOS VOLÁTILES	VINOS TINTOS		VINOS BLANCOS	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
	g L ⁻¹		g L ⁻¹	
Alcoholes				
Etanol	1.061	1.109,5	1.061	1.109,5
Metanol	43.10 ⁻³	32.10 ⁻²	5.10 ⁻³	14,8.10 ⁻³
Propanol-1	11.10 ⁻³	68.10 ⁻³	9.10 ⁻³	48.10 ⁻³
Metil -2- Propanol-1	9.10 ⁻³	14,8.10 ⁻²	28.10 ⁻³	17.10 ⁻²
Metil -2-butanol -1	18.10 ⁻³	150.10 ⁻³	15.10 ⁻³	82.10 ⁻³
Metil -3 butanol -1	49.10 ⁻³	49.10 ⁻²	45.10 ⁻³	31,6.10 ⁻²
Butanol -1	0,5.10 ⁻³	2,3.10 ⁻³	0,6.10 ⁻³	8,5.10 ⁻³
Hexanol -1	0,3.10 ⁻³	10.10 ⁻³	1,3.10 ⁻³	12.10 ⁻³
Fenil 2- etanol	10.10 ⁻³	18,3.10 ⁻²	-	-
Aldehídos				
Etanal	23.10 ⁻³	66.10 ⁻³	24.10 ⁻³	218.10 ⁻³
Propanal	-	-	-	-
Hexanal	ND	ND	ND	ND
Sexenal	ND	ND	ND	ND
Benzaldehído	0,3.10 ⁻⁵	ND	0,3.10 ⁻⁵	4.10 ⁻³
Cinnamaldehído	ND	10 ⁻⁶	ND	10 ⁻⁶
Vanillina	-	-	-	-
Hidroxi-2- metil-5 furfural	-	-	ND	4,2.10 ⁻³
Cetonas				
2-3 butanodiona (diacetilo)	0,2.10 ⁻³	3,8.10 ⁻³	0,1.10 ⁻³	2,4.10 ⁻³
3-oxi-2 butanona (acetoina)	2.10 ⁻³	43.10 ⁻³	2,9.10 ⁻³	54.10 ⁻³
2-3 pentanodiona	-	-	2.10 ⁻⁵	2,8.10 ⁻⁴
3-oxi-2 pentanona	-	-	4.10 ⁻⁴	2,8.10 ⁻³
Esteres no volátiles				
Tartrato de dietilo	ND	150.10 ⁻³	-	-
Malato de dietilo	-	-	0,2.10 ⁻³	0,8.10 ⁻³
Succionato de dietilo	5.10 ⁻⁴	8.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴	1.10 ⁻³
Cafeoil tartrato	-	-	55.10 ⁻³	175.10 ⁻³
Esteres volátiles				
Formiato de etilo	1,8.10 ⁻⁴	2,8.10 ⁻³	1.10 ⁻⁵	2,2.10 ⁻³
Acetato de metilo	0,5.10 ⁻⁴	1,3.10 ⁻⁴	ND	1.10 ⁻⁴
Acetato de etilo	41.10 ⁻³	180.10 ⁻³	26.10 ⁻³	160.10 ⁻³
Lactato de etilo	10.10 ⁻³	25.10 ⁻³	3.10 ⁻³	15.10 ⁻³
Propionato de etilo	0,5.10 ⁻⁴	2,5.10 ⁻⁴	ND	4.10 ⁻³
Metil 2 propionato de etilo	3.10 ⁻⁵	1.10 ⁻³	2.10 ⁻⁵	0,8.10 ⁻³
Acetato de metil 2 propilo	1.10 ⁻⁵	0,9.10 ⁻³	1.10 ⁻⁵	0,8.10 ⁻³
Acetato de isoamilo	0,2.10 ⁻³	1.10 ⁻³	1,1.10 ⁻³	6.10 ⁻³
Butirato de etilo	1.10 ⁻⁵	3.10 ⁻³	2.10 ⁻⁵	3.10 ⁻³
Metil 2 butirato de etilo	ND	0,9.10 ⁻³	ND	3,2.10 ⁻⁴
Metil 3 butirato de etilo	ND	0,7.10 ⁻³	ND	0,7.10 ⁻³
Acetato de metil 3 butilo	3.10 ⁻⁵	8.10 ⁻³	3.10 ⁻⁵	8.10 ⁻³

³- Flanzky, 2000; ND: no determinado; - sin datos.

Hexanoato de etilo	7.10^{-5}	1.10^{-3}	9.10^{-5}	$1,5.10^{-3}$
Octanoato de etilo	5.10^{-4}	$3,4.10^{-3}$	$5,5.10^{-4}$	4.10^{-3}
Decanoato de etilo	$0,3.10^{-3}$	$1,8.10^{-3}$	$3,6.10^{-4}$	$2,5.10^{-3}$
Dodecanoato de etilo	1.10^{-4}	5.10^{-3}	5.10^{-5}	$0,7.10^{-3}$
Acetato de hexilo	1.10^{-4}	6.10^{-4}	7.10^{-5}	5.10^{-4}
Acetato de fenil 2 etilo	1.10^{-5}	$2,10.10^{-3}$	$0,1.10^{-3}$	$4,5.10^{-3}$

ANEXO 2

Ácidos orgánicos⁴

ÁCIDOS ORGANICOS	MOSTOS			VINOS		
	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media
	g L ⁻¹			g L ⁻¹		
Ácido tartárico	3,56	7,42	ND	1,2	4,80	2,50
Ácido málico	0,70	8,60	ND	0,16	5,20	ND
Ácido D- málico	46.10^{-3}	76.10^{-3}	60.10^{-3}	11.10^{-3}	79.10^{-3}	44.10^{-3}
Ácido cítrico	0,13	0,90	0,18	0,12	0,88	0,20
Ácido ascórbico	10.10^{-3}	75.10^{-3}	45.10^{-3}	5.10^{-3}	12.10^{-3}	3.10^{-3}
Ácido L(+) láctico	-	-	-	40.10^{-3}	4,20	3,10
Ácido D(-)láctico	-	-	-	40.10^{-3}	0,39	0,15
Ácido succínico	-	-	-	35.10^{-3}	0,90	0,55
Ácido acético	-	-	-	0,15	0,90	0,35
Ácido pirúvico	-	-	-	11.10^{-3}	0,46	75.10^{-3}
Ácido oxo- glutámico	-	-	-	2.10^{-3}	0,34	80.10^{-3}
Ácido citramálico	-	-	-	10.10^{-3}	0,14	70.10^{-3}
Ácido glicérico	-	-	-	5.10^{-3}	5.10^{-3}	8.10^{-3}
Ácido dimetil glicérico	-	-	-	ND	6.10^{-3}	ND
Ácido oxálico	ND	50.10^{-3}	ND	ND	30.10^{-3}	ND
Ácido fumárico	ND	10.10^{-3}	ND	4.10^{-3}	50.10^{-3}	25.10^{-3}
Ácido glicurónico*	-	-	-	0,12	2,50	<0,10
Ácido galacturónico*	-	-	-	ND	1,50	0,15
Ácido glucónico	-	-	-	$<10.10^{-3}$	2,80	30.10^{-3}
Ácido músico	ND	2	ND	$<80.10^{-3}$	0,45	ND
Ácido oxo 2 glucónico	-	-	-	ND	0,70	<0,10
Ácido oxo 5 glucónico*	-	-	-	ND	0,50	<0,10

* Las concentraciones de los ácidos que llevan el asterisco pueden ser muy elevadas para los vinos licorosos y los vinos procedentes de bayas dañadas desde el punto de vista físico-químico o microbiológico.

4- Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003.

ANEXO 3

Nitrógeno: compuestos nitrogenados⁵

Compuestos Nitrogenados	MOSTOS			VINOS TINTOS			VINOS BLANCOS		
	mín.	máx	media	mín.	máx.	media	mín.	máx.	media
	g L ⁻¹			g L ⁻¹			g L ⁻¹		
N total	0,20	0,16	ND	0,15	0,60	0,30	0,10	0,40	0,28
N amoniacal	30.10 ⁻³	0,10	40.10 ⁻³	ND	10.10 ⁻³	ND	ND	10.10 ⁻³	ND
N nítrico	4.10 ⁻³	25.10 ⁻³	6.10 ⁻³	2.10 ⁻³	25.10 ⁻³	5.10 ⁻³	ND	ND	ND
N aminado	80.10 ⁻³	0,30	ND	60.10 ⁻³	0,20	ND	10.10 ⁻³	0,15	ND
N peptídico	0,1	0,20	ND	80.10 ⁻³	0,20	ND	80.10 ⁻³	0,35	ND
N proteico	10.10 ⁻³	0,10	ND	10.10 ⁻³	80.10 ⁻³	30.10 ⁻³	5.10 ⁻³	8.10 ⁻³	ND
Aminoácidos									
Ac. aspártico	15.10 ⁻³	0,10	35.10 ⁻³	1.10 ⁻³	28.10 ⁻³	8.10 ⁻³	4.10 ⁻³	32.10 ⁻³	9.10 ⁻³
Ac glutámico	53.10 ⁻³	0,27	0,14	12.10 ⁻³	0,22	36.10 ⁻³	8.10 ⁻³	0,21	35.10 ⁻³
Alanina	7.10 ⁻³	0,26	30.10 ⁻³	2,6.10 ⁻³	64.10 ⁻³	22.10 ⁻³	6.10 ⁻³	49.10 ⁻³	25.10 ⁻³
Arginina	55.10 ⁻³	1,20	0,35	18.10 ⁻³	0,42	45.10 ⁻³	15.10 ⁻³	0,18	32.10 ⁻³
Cistina	ND	2.10 ⁻³	ND	1.10 ⁻³	30.10 ⁻³	6.10 ⁻³	2.10 ⁻³	25.10 ⁻³	4.10 ⁻³
Glicina	2.10 ⁻³	42.10 ⁻³	22.10 ⁻³	5.10 ⁻³	50.10 ⁻³	14.10 ⁻³	4.10 ⁻³	22.10 ⁻³	8.10 ⁻³
Histidina	8.10 ⁻³	26.10 ⁻³	12.10 ⁻³	3.10 ⁻³	14.10 ⁻³	5.10 ⁻³	2.10 ⁻³	12.10 ⁻³	5.10 ⁻³
Isoleucina	2.10 ⁻³	10.10 ⁻³	3.10 ⁻³	2.10 ⁻³	36.10 ⁻³	6.10 ⁻³	4.10 ⁻³	30.10 ⁻³	22.10 ⁻³
Leucina	3.10 ⁻³	58.10 ⁻³	18.10 ⁻³	6.10 ⁻³	13.10 ⁻³	8.10 ⁻³	7.10 ⁻³	15.10 ⁻³	5.10 ⁻³
Lisina	5.10 ⁻³	63.10 ⁻³	28.10 ⁻³	5.10 ⁻³	72.10 ⁻³	25.10 ⁻³	ND	62.10 ⁻³	20.10 ⁻³
Metionina	ND	15.10 ⁻³	ND	1.10 ⁻³	10.10 ⁻³	3.10 ⁻³	ND	8.10 ⁻³	4.10 ⁻³
Ornitina	ND	5.10 ⁻³	ND	1.10 ⁻³	80.10 ⁻³	6.10 ⁻³	55.10 ⁻³	9.10 ⁻³	1.10 ⁻³
Prolina	40.10 ⁻³	3,80	0,75	40.10 ⁻³	2,60	0,60	ND	0,59	0,44
Hidroxiprolina	ND	14.10 ⁻³	ND	ND	8,9.10 ⁻³	2.10 ⁻³	ND	10.10 ⁻³	1.10 ⁻³
Fenilalanina	4.10 ⁻³	62.10 ⁻³	15.10 ⁻³	5.10 ⁻³	34.10 ⁻³	10.10 ⁻³	4.10 ⁻³	22.10 ⁻³	6.10 ⁻³
Serina	5.10 ⁻³	81.10 ⁻³	36.10 ⁻³	2.10 ⁻³	20.10 ⁻³	8.10 ⁻³	5.10 ⁻³	18.10 ⁻³	86.10 ⁻⁴
Treolina	9.10 ⁻³	0,13	85.10 ⁻³	2.10 ⁻³	90.10 ⁻³	6.10 ⁻³	2.10 ⁻³	54.10 ⁻³	8.10 ⁻³
Tirosina	2.10 ⁻³	75.10 ⁻³	15.10 ⁻³	2.10 ⁻³	58.10 ⁻³	6.10 ⁻³	2.10 ⁻³	17.10 ⁻³	9.10 ⁻³
Triptófano	5.10 ⁻³	0,31	0,31	ND	25.10 ⁻³	5.10 ⁻³	ND	12.10 ⁻³	3.10 ⁻³
Valina	ND	0,11	0,11	1.10 ⁻³	45.10 ⁻³	5.10 ⁻³	ND	36.10 ⁻³	7.10 ⁻³
Amina Biógena									
UVA									
Cadaverina	ND	ND	ND	ND	22.10 ⁻³	1,4.10 ⁻³	ND	29.10 ⁻³	14.10 ⁻⁴
Putrescina	ND	2.10 ⁻³	ND	0,4.10 ⁻³	82.10 ⁻³	8,8.10 ⁻³	1.10 ⁻⁴	9,1.10 ⁻³	2.10 ⁻³
Espermita	1.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	ND	1.10 ⁻⁵	0,4.10 ⁻³	0,1.10 ⁻³	-	-	-
Espermidina	3.10 ⁻⁴	22.10 ⁻⁴	ND	0,5.10 ⁻³	5,2.10 ⁻³	2,4.10 ⁻³	-	-	-
VINO									
Etilamina	ND	ND	ND	0,1.10 ⁻³	17.10 ⁻³	2,6.10 ⁻³	1.10 ⁻⁴	20.10 ⁻³	23.10 ⁻⁴
Histamina	ND	ND	ND	0,2.10 ⁻³	30.10 ⁻³	4,5.10 ⁻³	ND	4,9.10 ⁻³	12.10 ⁻⁴
Isoamilamina	ND	ND	ND	ND	16.10 ⁻³	0,9.10 ⁻³	ND	20.10 ⁻³	9.10 ⁻⁴
Isopropilamina	ND	ND	ND	ND	0,3.10 ⁻³	0,1.10 ⁻³	ND	1.10 ⁻³	1.10 ⁻⁴
Metilamina	ND	ND	ND	ND	1,9.10 ⁻³	0,7.10 ⁻³	ND	2,2.10 ⁻³	6.10 ⁻⁴
Feniletilamina	ND	ND	ND	0,1.10 ⁻³	6.10 ⁻³	0,9.10 ⁻³	ND	13.10 ⁻³	5.10 ⁻⁴
Tiramina	ND	ND	ND	ND	16,7.10 ⁻³	1,5.10 ⁻³	ND	6,5.10 ⁻³	9.10 ⁻⁴

N = Nitrógeno

5- Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2003

ANEXO 4

Minerales y elementos minerales⁶

MINERALES	MOSTOS O VINOS		
	Mínimo	Máximo	Media
Elementos	g L ⁻¹		
Potasio*	0.40	1.84	0.97
Calcio*	30.10 ⁻³	0.20	70.10 ⁻³
Magnesio	40.10 ⁻³	0.16	90.10 ⁻³
Sodio*	(3-30)10 ⁻³	0,05-0,35	0,025 -0,1
Silicio	20.10 ⁻³	90.10 ⁻³	35.10 ⁻³
Fosfato (PO ₄ ⁻³)	0.10	0.80	0.40
Sulfato (SO ₄ ⁻²)	40.10 ⁻³	0.60	0,10
Cloruros* (Cl)	10.10 ⁻³ - 60.10 ⁻³	0.2-0,8	0,058
Oligo-elementos			
Hierro	25.10 ⁻³	13.10 ⁻³	4.10 ⁻³
Manganeso	24.10 ⁻³	7.5.10 ⁻³	1,5.10 ⁻³
Zinc	40.10 ⁻⁶	7.8.10 ⁻³	0,90.10 ⁻³
Aluminio	0.1.10 ⁻³	2.75.10 ⁻³	0,76.10 ⁻³
Cobre *	10.10 ⁻⁶	1.8.10 ⁻³	0,12.10 ⁻³
Níquel	5.10 ⁻⁶	90.10 ⁻⁶	25.10 ⁻⁶
Litio	5.10 ⁻⁶	0.12.10 ⁻³	30.10 ⁻⁶
Cromo	4.10 ⁻⁶	90.10 ⁻⁶	20.10 ⁻⁶
Molibdeno	1.10 ⁻⁶	15.10 ⁻⁶	4.10 ⁻⁶
Cobalto	1.10 ⁻⁶	15.10 ⁻⁶	8.10 ⁻⁶
Vanadio	4.10 ⁻⁶	0.45.10 ⁻³	59.10 ⁻⁶
Bromuro	10.10 ⁻⁶	2.6.10 ⁻³	40.10 ⁻⁶
Yoduro	2.10 ⁻⁶	30.10 ⁻⁶	10.10 ⁻⁶
Elementos traza			
Fluoruros	40.10 ⁻⁶	1.7.10 ⁻³	0,2.10 ⁻³
Plomo	10.10 ⁻⁶	0.35.10 ⁻³	60.10 ⁻⁶
Arsénico	1.10 ⁻⁶	12.10 ⁻⁵	5.10 ⁻⁶
Cadmio	10.10 ⁻⁹	5.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁶
Selenio	0.2.10 ⁻⁶	0.8.10 ⁻⁶	0,4.10 ⁻⁶
Mercurio	10.10 ⁻⁹	60.10 ⁻⁹	6.10 ⁻⁹
Platino	ND	24.10 ⁻⁶	1.10 ⁻⁶
Cianuro	4.10 ⁻⁶	66.10 ⁻⁶	10.10 ⁻⁶

* La concentración del elemento en los mostos depende del contenido en los suelos.

6- Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2003

ANEXO 5 Osas y Polioles⁷

OSASY POLIOLES	MOSTOS			VINOS					
				TINTOS			BLANCOS		
	mín	máx	media	mín	máx	media	mín	máx	media
	g L ⁻¹			g L ⁻¹			g L ⁻¹		
Glucosa	70	125	95	0,01	0,95	0,15	0,09	0,50	0,17
Fructosa	70	125	95	0,01	0,83	0,25	0,04	0,78	0,34
Arabinosa	0,01	0,30	0,08	0,01	0,30	0,08	0,01	0,25	0,06
Xilosa	ND	0,15	0,04	ND	0,15	0,04	ND	0,12	0,03
Trealosa	ND	ND	0,02	0,03	0,65	0,30	0,02	0,50	0,25
Sacarosa	0,50	15	1,5	-	-	-	-	-	-
Galactosa	-	-	-	ND	0,13	ND	-	-	-
Glicerol	-	-	-	3	14	5,90	0,50	15	6,20
Butanodiol 2,3	-	-	-	0,35	1,50	0,72	0,42	1,25	0,65
Mesoinositol	0,32	0,75	0,40	0,11	0,69	0,37	0,18	0,68	0,40
Manitol	0,03	0,10	0,06	0,09	0,53	0,21	0,08	0,39	0,18
Eritritol	-	-	-	0,06	0,14	0,069	0,03	0,11	0,07
Arabitol	-	-	-	0,02	0,20	0,08	0,04	0,14	0,05
Xilitol	-	-	-	0,01	0,12	0,04	0,01	0,06	0,02
Ribitol	-	-	-	ND	0,08	0,02	ND	0,05	0,01
Sorbitol	ND	ND	0,01	0,07	0,19	0,12	0,03	0,11	0,07

ANEXO 6 Polifenoles⁸

POLIFENOLES	VINO BLANCO		VINO TINTO	
	(g L ⁻¹) 10 ⁻³			
	media	mín - máx	media	mín-máx
No-Flavonoides				
Ácidos benzoicos				
Ácido gálico	7	1 - 18	95	2 - 130
Ácido protocatéquico*	-	-	12	0,2 - 20
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico*	-	-	5	0,2 - 15
Acido vinílico*	-	-	4	0,3 - 10
Acido siríntrico*	-	-	8	1,3 - 15
Acido sinápico*	-	-	1	0,3 - 2
Ácidos hidroxicinámicos				
Ácido caféico	4	0,4 - 8	10	0,3 - 26
Acido <i>p</i> -cumárico	-	-	6	0,4 - 15
Acido ferúlico	-	-	ND	0,1
Acido cafeoiltartárico (caftárico)	50	1 - 225	60	7 - 200
Acido <i>p</i> -cumaroiltartárico (cutárico)	15	0,2 - 70	15	2 - 20

7- Cabanis y Cabanis citado en Flanzky, 2003.

8- Cheynier y Teissedre citado en Flanzky, 2003.

JUAN ESTEBAN MIÑO VALDÉS

Acido 2-S-glutationilcafeoil tartárico	20	5 - 50	-	-
Fenoles volátiles				
4-vinilfenol	0,3	0,07 - 1	0,03	0 - 0.1
4-vinilguayacol	0,2	0,015 - 0,05	0,01	0 - 0,06
Otros				
Tirosol	-	-	25	1,7 - 80
Triptofol	-	-	8	0,9 - 18
Trans-resveratrol	0,04	ND - 1,1	1,5	0,6 - 10
Cis-resveratrol	5,6	0,011 - 0,221	0,7	0,2 - 3
Trans-piceido	0,16	0,02 - 0,45	1,5	1 - 4
Cis-piceido	0,12	0,025 - 0,45	0,3	0,3 - 2
Flavonoides				
Antocianos				
3-glucósido de delfinidol	-	-	ND	2 - 70
3-glucósido de cianidol	-	-	ND	0,4 - 30
3-glucósido de petunidol	-	-	ND	4 - 60
3-glucósido de malvidol	-	-	ND	24 - 240
Ester acético del 3 glucósido de malvidol	-	-	ND	1 - 12
Ester <i>p</i> -cumárico del 3 glucósido de petunidol	-	-	ND	1 - 8
Ester <i>p</i> -cumárico del 3 glucósido de malvidol	-	-	ND	2 - 35
Flavonoles				
3- glucósido de miricetol	ND	Trazas	ND	10 - 80
3- glucósido de quercetol	-	-	3	2 - 6
Miricetol	-	-	9	3 - 30
Miricetol	-	-	10	2 - 20
Quercetol	-	-	10	3 - 20
Rutino *	-	-	15	2 - 35
Flavonoles				
Catequiza	35	1 - 46	190	8 - 400
Epicatequina	20	0,1 - 60	80	6 - 160
Procianidol B1	6	0,1 - 55	80	25 - 200
Procianidol B2	4	0,1 - 11	40	2 - 152
Procianidol B3	2	0,02 - 3	17	1 - 55
Procianidol B4	1,5	0,01 - 8	50	5 - 250
Procianidol A2 *	0,3	0,1 - 1	60	1 - 12
B1-3- <i>o</i> -galato	ND	0,02 - 0,1	ND	0,5 - 6
B2-3- <i>o</i> -galato	ND	0,04 - 1	ND	1 - 7
B2-3'- <i>o</i> -galato	ND	0,02 - 0,1	ND	0,5 - 3
Procianidol C1	1	0,1 - 7	20	7 - 50
Trimero ec-ec-cat	ND	0,1 - 2	ND	7 - 66
Flavanonoles				
Alstibina	ND	0,1 - 2,3	-	-
Engeletina	ND	0,06 - 2	-	-

*Valores obtenidos por co-inyección con un compuesto testigo

ANEXO 7 Vitaminas⁹

VITAMINAS	MOSTOS	VINO BLANCO	VINO TINTO
	g L ⁻¹	g L ⁻¹	g L ⁻¹
Tiamina	0,16.10 ⁻³ -0,45.10 ⁻³	2.10 ⁻⁶ - 58.10 ⁻⁶	103.10 ⁻⁶ -245.10 ⁻⁶
Riboflavina	3.10 ⁻⁶ - 60.10 ⁻⁶	8.10 ⁻⁶ - 130.10 ⁻⁶	0,47.10 ⁻⁶ -1,9.10 ⁻⁶
Nicotinamida	0,68.10 ⁻⁶ - 2,6.10 ⁻⁶	0,44.10 ⁻⁶ -1,33.10 ⁻⁶	0,79.10 ⁻⁶ -1,7.10 ⁻⁶
Ácido pantoténico	0,5.10 ⁻⁶ - 1,4.10 ⁻⁶	0,55.10 ⁻⁶ -1,20.10 ⁻⁶	0,13.10 ⁻⁶ -0,69.10 ⁻⁶
Piridoxina	0,16.10 ⁻⁶ - 0,5.10 ⁻⁶	0,12.10 ⁻⁶ -0,67.10 ⁻⁶	0,13.10 ⁻⁶ -0,68.10 ⁻⁶
Colina	19.10 ⁻⁶ - 45.10 ⁻⁶	19.10 ⁻⁶ - 27.10 ⁻⁶	20.10 ⁻⁶ - 43.10 ⁻⁶
Biotina	1,50.10 ⁻⁶ - 4,2.10 ⁻⁶	1.10 ⁻⁶ - 3,6.10 ⁻⁶	0,6.10 ⁻⁶ - 4,6.10 ⁻⁶
Ácido fólico	0 – 1,8.10 ⁻⁶	0,40.10 ⁻⁶ -4,50.10 ⁻⁶	0,4.10 ⁻⁶ - 4,5.10 ⁻⁶
Ac. <i>p</i> -aminobenzoico	15.10 ⁻⁶ - 92.10 ⁻⁶	15.10 ⁻⁶ - 133.10 ⁻⁶	15.10 ⁻⁶ - 133.10 ⁻⁶
Cianocobalamina	0 - 0,20.10 ⁻⁶	0 - 0,16.10 ⁻⁶	0,04.10 ⁻⁶ -0,10.10 ⁻⁶
Mesoinositol	0,38.10 ⁻³ -0,71.10 ⁻³	0,38.10 ⁻³ -0,17.10 ⁻³	0,29.10 ⁻³ -0,33.10 ⁻³
Ácido ascórbico	30.10 ⁻³ - 50.10 ⁻³	1,10 ⁻³ - 5.10 ⁻³	1.10 ⁻³ - 5.10 ⁻³

9- Cabanis y Cabanis citado en Flanzy, 2003.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexandre H.; Berlot J.P.; Charpentier C. (1994).
Effect of ethanol on membrane fluidity of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* grown with or without, measured by fluorescence anisotropy. *Biotechnol Tech*, 8: 295 - 300.
- Andreasen A.A.; Steir T.J.B. (2003).
Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. I: Ergosterol requirement form growth in a defined medium. *J Cell Comp Physiol*, 41: 23 - 36.
- Arcay-Ledezma G.J.; Slaughter J.C. (1984).
The response of *Saccharomyces cerevisiae* to fermentation under carbon dioxide pressure. *J Inst Brew*, 90: 81 - 84.
- Bakos P. (2009).
“Uvas para todo Misiones”, *Diario el Territorio*, Posadas (09/12/2009) Suplemento Económico pp.6. Misiones Argentina.
- Bakos P. (2011).
“Uvas de Misiones”, *Diario el Territorio*, Posadas (24/01/2011) Suplemento Económico pp.8. Misiones Argentina.

- Bataillon M.; Rico A.; Sabrayrolles I.M.; Salmon J.M.; Barre P. (1996).
Early thiamin assimilation by yeasts under enological conditions:
impact on alcoholic fermentation kinetics. *J Ferm Bioeng*, 82:
101-106.
- Bely M.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1990a).
Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during
alcoholic fermentation in enological conditions. *J Ferm Bioeng*,
70: 246 -252.
- Bertrand A.; Miele A. (1984).
Influence de la clarification du mout de raisin sur sa teneur en aci-
des gras. *Conn Vigne Vin*, 18(4): 293 – 297.
- Bertrand A. (1980).
L'arome des vins blancs. Évolution des substances volatiles au
cours de la conservation du vin 3 des températures et 3 des pH
différents. *CR Act Rech Inst OEnol Bordeaux* 1978-1979, 65-67.
- Bertrand A. (1981).
Influence de la nature des levures et des conditions de leur déve-
loppement sur la production des arômes et les conditions de leur
stabilité. *En: Ribéreau-Gayon P, Sudraud P (1981). Actualités ce-
nologiques et viticoles, Dunod, Paris, 266-273.*
- Bidan P. (1986).
Les vins mousseux. *Bull OIV*, 59: 663-664: 563-626.
- Bisio, A. (1995).
Scaleup of chemical processes. Ed. John Wiley and Sons. Inc.
pág.699.
- Bisson J.; Daulny B.; Bertrand A. (1980).
Influence de la température de fermentation sur la composition
d'un vin blanc seco *Conn Vigne Vin*, 14: 195-202.
- Blouin J. (1989).
La qualité par le pressurage. *Rev Fr OEnol*, 118: 31-36.

- Blouin J. (1993).
Le SO₂: qu'en savons nous en 1993. Rev OEnologues, 67: 13-17.
- Blouin J.; Peynaud E. (2006).
Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 4ta Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.354.
- Blouin J.; Peynaud E. (2004).
Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 3ra Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.345.
- Blouin J.; Peynaud E. (2002).
Enología Práctica: conocimiento y elaboración del vino. 2da Edición Ediciones Mundi-Prensa Barcelona España. pp.332.
- Boulton R. (2002).
The prediction of fermentation behavior by a kinetic model. Am J Enol Vitic, 31: 40 – 44. Ed Acribia S.A. Zaragoza España.
- Bovée J.P.; Strehaiano P.; Goma G.; Sevely Y. (1984).
Alcoholic fermentation: modelling based on sole substrate and product measurement. Biotechnol Bioeng, 26: 328 – 334.
- Busturia A.; Lagunas B. (1986).
Catabolic inactivation of the glucose transport system in *Saccharomyces cerevisiae*. J Gen Microbiol, 132: 379
- Cabras P.; Meloni M.; Pirisi F.M. (1987).
Pesticide fate from vine to wine. Rev Env Contamin Toxicol, 99: 83 – 117.
- Cantarelli D.; Tarufy F.; Martín A. (1984).
Chemical and microbiological surveys on the effects of dithiocarbamate fungicides on wine-making. J Sci Food Agric, 15: 186 – 196.
- Cardoso H.; Leao C. (1992).
Mechanisms underlying the low and high enthalpy death induced by short-chain monocarboxylic acids and ethanol in *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Microbiol Biotechnol, 38: 388 - 392.

- Castelli A.; Littaru G.P.; Barbaresi G. (1989).
Effect of pH and CO₂ concentration changes on lipids and fatty acids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch Microbiol*, 66: 34 – 39.
- Coleman M.; Fish R.; Block D. (2007).
Temperature-Dependent Kinetic Model form Nitrogen-Limited Wne Fermentations. In *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (18): 5875-5884.
- Colombié S.; Malherbe S.; Sabrayrolles J. (2005).
Modeling alcoholic fermentation in enological conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56 (3): 238-245.
- Colombié S.; Malherbe S.; Sabrayrolles J. (2007).
Modeling of heat transfer in tanks during wine making fermentation. *Journal Food Control* 18:953-960 .
- Dasari G.; Roddick F.; Connor M.A.; Pamment N.B. (1983).
Factors affecting the estimation of intracellular ethanol concentrations. *Biotechnol Lett*, 5: 715 – 720.
- Davin A., Sahraoui A. (1993).
Débourbage rapide des moûts de raisin par flottation à l'aide de bulles générées au sein du liquide par dépressurisation. *Rev Fr OEnol*, 140: 53-63.
- Delteil D.; Jarry J.M. (1992).
Characteristic effects of two commercial yeast strains on Chardonnay wine volatiles and polysaccharide composition. *N Z & Aust Wine Ind J*, 7: 29-33.
- Delteil D.; Jarry J.M.
Étude des profils aromatiques de vins doux naturels de Muscat. Composés volatils variétaux et fermentaires. *En: Bayonove C, Crouzet J, Flanzly C, Martin JC, Sapis JC (1993). Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins. Actes du Symposium International de Montpellier, Rev Fr OEnol, Lattes, 192-194.*

Delteil D.; Lozano L. (1995a).

Travail des raisins blancs. Contraintes et maîtrise de la gestion des échanges entre le jus et les parties solides. *Rev Fr OEnol*, 153: 57-59.

Delteil D.; Lozano L. (1995 b).

Les criteres de choix d'une souche de levures sélectionnées pour la vinification en blanc. *Rev Fr OEnol*, 153: 79-82.

Derrick S.; Large P.J. (1993).

Activities of the Ehrlich pathway and foormation of branched-chain alcohols in *S. Cerevisiae* and *Candida utilis* grown in continuous culture on valine or ammonium as cole nitrogen source. *J Gen Microbiol*, 139: 2783-2792.

Díaz Peralta E. (2006).

Composición química del mosto. Cátedra de Enología I. Facultad de Ciencias Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. Ed. Univ. 1ra Ed. pp.44. Mendoza, Argentina.

Díaz Peralta E. (2007).

Los mostos. Biotecnología. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 1ra edición pp.4. Mendoza Argentina.

Díaz Peralta E. (2009).

Historia del vino. Enología. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 2ra edición pp.9. Mendoza Argentina.

Díaz Peralta E. (2010).

El mosto concentrado. Cátedra de Enología II. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Ed. Univ. 2ra edición pp.64. Mendoza Argentina.

Dubernet M. (1984).

Recherches sur la tyrosinase de Vitis vinifera et la laccase de Botrytis cinerea. Applications technologiques. Thèse de Doctorat, université de Bordeaux II.

Dubourdieu D.; Ollivier C. (1989).

Évolutions récentes des techniques d'élaboration des vins blancs en Bordelais. *CR Act Rech Inst OEnol Bordeaux* 1986-1988, 98-99.

Dubourdieu D.; Darriet P.

Recherches sur l'arôme variétal du cépage Sauvignon. Mise en évidence dans les vins de composés soufrés à fort pouvoir odorant formés au cours de la fermentation alcoolique à partir de précurseurs non volatils du moût. *En: Bayonove C, Crouzet J Flanzzy C., Martin J.C., Sapis J.C. (1993). Cónnaissance aromatique des cépages et qualité des vins. Actes du Symposium International de Montpellier, Revue Française d'OEnologie, Lattes, 58-64.*

Doignon F.; Couty, C. (2002).

Action des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol sur la fermentation alcoolique du moût de raisin blanc. *J Int Scei Vigne Vin*, 26 :8797.

Doignon F.; Rozes N. (2002).

Effect of triazole fungicides on lipid metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *Lett Appl Microbiol*, 15: 172 – 174.

Dombek K.M.; Ingram L.O. (1986).

Determination of the intracellular concentration of ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Appl Environ Microbiol*, 51: 197 – 200.

Dubois C.; Manginot C.; Roustan J.L.; Sablayrolles J.M.; Barre P. (1996).

Effect of variety, year and grape maturity on the kinetics of alcoholic fermentation. *Am J Enol Vitic*, 47: 363 - 368.

El Haloui N.; Cleran Y.; Corrieu G.; Gheruy A. (1989).

Method for online monitoring of kinetics of alcoholic fermentation in wine making. *J Ferm Technol*, 30:402-407

- Ercoli E. (2007).
Maceración pelicular. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza Argentina. 2ra.Ed. Edit.Univ. Pp.7.
- Ferrarini R.; Zironi R.; Celotti E.; Buiatti S. (1992).
Premiers résultats de l'application de la flottation dans la clarification des moûts de raisin. *Rev Fr OEnol*, 124: 58-64.
- Flanzy C. (2000).
Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV y Mundi-Prensa. 1ra. Edición. Madrid, España, pp. 274 – 293.
- Flanzy C. (2003).
Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. AMV y Mundi-Prensa. 2da.Edición. Madrid, España, pp. 443 – 461.
- Fleet G.H.; Heard G.M. (1993).
Yeast: growth during fermentation. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. Ed. Fleet G.H. pp. 27-54. Switzerland: Hardwood Academic Publishers.
- Formento J.C. (2009).
Enología II. Maestría en Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. 2da. Ed. Ed. Univ. pp.56. Mendoza Argentina.
- Fuentes Berazategui J. (2008).
Biotecnología. Maestría en Viticultura y Enología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 2da ed. Ed. Univ. Pp.67.
- Jackson R.S. (2003).
Wine Science: principles, practice, perception. Ed. Academic Press, 2nd edition, San Diego, USA. p. 648.
- Jordan, D.G.
Chemical pilot plant practice, 403 pp., Interscience, New York, 1982.

- Galindo, E. (1996).
“V Curso latinoamericano de biotecnología”, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Chile.
- Gamal B. (1990).
Maîtrise des gaz dans la conservation des vins. Rev Fr OEnol, 124: 85-89.
- Gancedo C.; Gancedo I.M.; Sols A. (1998).
Glycerol metabolism in yeast: pathways of utilization and production. Eur J Biochem 5: 165 – 172.
- García Rodríguez A.; Rodríguez Rico I. (2005).
“Vías para el diseño de nuevas instalaciones de la industria de procesos químicos, fermentativos y farmacéuticos”. Editorial Científico Técnica. Editor Erenio Gonzalez Suarez. La Habana Cap 4 pp. 74-103
- Gerbaux V.; Naudin R. (1991).
Application de trois profils thermiques pour la réalisation de la fermentation alcoolique du Chardonnay. Ed. Travaux Inst Techn Vigne Vin pp.46-50.
- Ghareib M.; Youssef K.A.; Khalil A.A. (1988).
Ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* and its relationship to lipid content and composition. Folia Microbiol, 3, 447 – 452.
- Gnaegi F.; Aerny J.; Bolay A.; Crettenand J. (1983).
Influence des traitements viticoles antifongiques sur la vinification et la qualité du vin. Rev Suisse Vitic Arboric Hortic 15:243-250.
- Guijarro J.M.; Lagunas R. (1984).
Saccharomyces cerevisiae does not accumulate ethanol against a concentration gradient. J Bacteriol, 160: 874 – 878.
- Guilloux-Benatier M.; Guerreau J.; Feuillat M. (1995).
Influence of initial colloid content on yeast macromolecules production and on the metabolism of wine microorganisms. Am J Enol Vitic, 46: 486-492.

Hardy G. (1990).

Le pressurage, élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Rev OEnologues*, 55: 17-25.

Hardy G. (1991).

Le pressurage, élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Rev OEnologues* 60: 25-30.

Insa G.; Sabrayrolles J.; Douzal V. (2000).

Alcoholic fermentation under enological conditions. Use of a combination of data analysis and neural networks to predict sluggish and stuck fermentations. *Bioproc Eng*, 13: 171-176.

Jones R.P.; Pamment N.; Greenfield P.F. (2001).

Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. *Process Biochem*, 39: 42 – 49.

Jones R.P.; Greenfield P.F. (2002).

Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation. *Enzyme Microbiol Technol*, 4: 210 - 223.

Jones R.P. (2002).

Intracellular ethanol accumulation and exit from yeast and other cells. *FEMS Microbiol Reviews*, 54: 239 – 258.

Juroszek J.R.; Feuillat M.; Charpentier C. (1987).

Effect of ethanol on the glucose induced movements of protons across the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431. *Can J Microbiol*, 66: 9397.

Juscáfresa B. (2005).

Cultivo de la Vid. In: Pardo Gonzalez J.E. (2005). *El Sistema de Análisis y Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Industria del Vino*. Ed. Mundi Prensa. 1: 15-18.

Kovac V. (1979).

Étude de l'inactivation des oxydases par des moyens chimiques. *Bull OIV*, 52, 584: 809-826.

- Lafon-Lafoucade S.; Geneix C.; Ribereau Gayon P. (1984).
Inhibition of alcoholic fermentation of grape musts by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. *Appl Environ Microb*, 47: 1246–1249.
- Leao C.; Van Uden N. (1980).
Effect of ethanol and other alcohols on the temperature relations of glucose transport and fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng*, 22: 359 – 363.
- Leao C.; Van Uden N. (1984).
Effect of ethanol and other alcohols on the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng*, 26: 403 – 405.
- Lopez A.; Secanell P.A. (1992).
A simple mathematical empirical model for estimating the rate of heat generation during fermentation in white winemaking. *Int J Refrig*, 15 (4):1-5.
- Macheix J.J.; Sapis J.C.; Fleuriet A. (1991).
Phenolic compounds and polyphenoloxidases in relation to browning in grapes and wines. *Crit Rev Food Sci Nut*, 30: 441 -486.
- Manginot C.; Sablayrolles J.M.; Roustan I.L.; Barre P. (1996).
Use of constant rate alcoholic fermentations to compare the effectiveness of different nitrogen sources during the stationary phase. *Enz Micro Technol*, 20: 373 – 380.
- Marín M.R. (2000).
Alcoholic fermentation modeling. *Am. Journal Enol.Vitic.* 51 (1): 155-167.
- Martínez de Toda F. (2005).
Mecanización integral del viñedo. En: Pardo Gonzalez J.E. (2005). *El Sistema de Análisis y Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Industria del Vino*. Ed. Mundi Prensa. 1: 15-18. Madrid España

Martiniere P.; Sapis J.C. (1997).

Essais de pressurage et de vinification sous atmosphere de gaz carbonique. *Conn Vigne Vin*, 1: 64-69.

Meistermann E.; Anocibar Beloqui A.; Bertrand A.

Recherche des meilleurs profils thermiques à appliquer durant la fermentation alcoolique des vins blancs. *En: Lonvaud-Funel A (1995), CEnologie 95, 5e Symposium International d'OEnologie, Lavoisier, Paris, 579-582.*

Miño Valdés J.E.; Herrera J.L.; Martinez Vazquez F.; Martos M.A. (2007).

Microvinificación tipo blush de uvas Misioneras. VI Congreso Científico Tecnológica de la FCEQyN. Ed. Univ. UNaM, pp. 369-370. Posadas Misiones Argentina.

Mortimer R.; Polsinelli M. (2002).

On The Origin of Wine Yeast. *Journal of Microbiol.* (150): 199-204. USA.

Naudin R.; Gerbaux V. (1994).

Étude de profils thermiques pour la fermentation alcoolique du Chardonnay en Bourgogne. *C R Travaux Inst Teehn Vigne Vin*, 37-42.

Nordstrom K. (1974).

Studies on the formation of volatile esters in fermentations with brewer`s yeast. *Svensk Kemisk lidster*, 76: 510-543.

Norton J.S.; Krauss R.W. (1972).

The inhibition of cell division in *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen) by carbon dioxide. *Plant Cell Physiol*, 13: 139 – 149.

OIV (2009).

Organización internacional de la viña y el vino. Organización intergubernamental. Resoluciones. [Http://www.oiv.int/oiv/cms/index?lang=es](http://www.oiv.int/oiv/cms/index?lang=es) (acceso 10/7/09)

- Ostergaard S.; Olsson L.; Nielsen J. (2002).
Metabolic engineering of *saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Microbiol. Mol. Biol.*, (20):34-50
- Oldshue J.Y. (1986).
Fermentation mixing scale up technique. *Biotechnol. Bioeng.* (8):3-24.
- Ollivier C.; Stonestreet T.; Larue F.; Dubourdieu D. (1987).
Incidence de la composition collodale des moûts blancs sur leur fermentescibilité. *Conn Vigne Vin*, 21: 59-70.
- Pampulha M.E.; Loureiro-Dias M.C. (1989).
Combined effects of acetic acid, pH and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast. *Appl Microbiol Biotechnol*, 31: 547 – 550.
- Pena A.; Cinco G.; Gomez-Puyol A.; Tuena M. (1972).
Effect of pH of the incubation medium on glycolysis and respiration in *S. Cervisiae*. *Arch Biochem Biophys*, 153: 413-425
- Petrov W.; Okorokov L.A. (1990).
Increase of the anion and proton permeability of *S. carlsbergensis* plasmalemma by n-alcohols as a possible cause of its deenergization. *Yeast*, 6: 313 – 318.
- Pemod N.; Valade M. (1995).
Le pressurage en Champagne: tradition et innovation. *Rev Fr OEnol*, 153: 61-67.
- Peynaud E.
Traitement du moût a la bentonite. *In: Peynaud E (1984). Connaissance et travail du Vin*, Dunod, Paris, 194-195.
- Piekun A.; Rybak R.M. (2006).
El Cultivo de la vid en Misiones, una alternativa para la diversificación. En [http: www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/alternativas/diversivid.htm](http://www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/alternativas/diversivid.htm) (acceso 20/02/2006).

Piekun A. (2007).

El renacer de las vides Misioneras. En [http: www.inta.gov.ar/ce-rrroazul/investiga/alternativas/uvas.htm](http://www.inta.gov.ar/ce-rrroazul/investiga/alternativas/uvas.htm) (acceso 12/03/2007)

Piekun A. (2011a).

“Estiman que la cosecha de uva alcanzará 800.000 kg”, Diario el Territorio, Posadas (28/01/2011). Suplemento Económico pp.9. Misiones Argentina.

Piekun A. (2011b).

“Uva en Misiones ”, Diario el Territorio, Posadas (20/02/2011). Suplemento Económico pp.10. Misiones Argentina.

Pinto I.; Cardoso H.; Leao C.; Van Uden N. (1989).

High enthalpy and low enthalpy death in *Saccharomyces cerevisiae* induced by acetic acid. *Biotechnol Bioeng*, 33: 1350 – 1352.

Poitout M. (1973).

L'utilisation des gaz inertes en oenologie. *Vins d'A/sace*, 12: 425-431.

Poupault P.; Cuinier C. (1992).

Qualité des vins blancs. Recherche des meilleurs profils thermiques a appliquer durant la fermentation alcoolique. *Travaux Inst Techn Vigne Vin* 48-51.

Pretorius I .S. (2002).

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

Pretorius I.S. (2001).

Gene technology in winemaking: new approaches to an ancient art. *Journal Agr. Consp.Sci.*, (66):1-20.

Rapp A.; Versini G.

Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wine. In: Rantz J. (1991). *Proceedings of the international Symposium on nitrogen in grapes and wines*. American Society for Enology and Viticulture, Davis, 156-164.

- Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Ribéreau-Gayon P.; Sudraud P.
Stabilisation des vins par la bentonite. *In: Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P. (1977 b).
Traité d’Oenologie. Sciences et techniques du vin, tome 4, Dunod, Paris, 320-345.*
- Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1977b).
Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 1. *Am J Enol Vitic*, 7: 53 – 61.
- Ribéreau-Gayon J.; Peynaud E.; Lafon M. (1977b).
Investigations on the origin of secondary products of alcoholic fermentation. Part 2. *Am J Enol Vitic*, 7: 112 – 118.
- Rieger M.; Kapelli O.A. (2003).
The role of limited respiration in the incomplete oxydation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. *J Gen Microbiol*, 129: 653 – 661.
- Riou C.; Nicaud J.M.; Barre P.; Gaillardin C. (1996).
Stationary –phase expression in *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *Yeast*, 13: 903 – 915.
- Rosa M.F.; Sa-Correia I. (1991).
In vivo activation by ethanol of plasma membrane ATPase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 57: 830 – 835.
- Rosini G. (2003).
Assessment of dominance of added yeast in wine fermentation and origin of *S. cerevisiae* in wine-making. *Journal Gen.Appl.Microbiol.* (30):249-256.
- Rowe S.M.; Simpson W.J.; Hammond J.R.M. (1994).
Intracellular pH of yeast during brewery fermentation. *Lett Appl Microbiol*, 18: 135 – 137.
- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1993).
Kinetics of alcoholic fermentation in anisothermal enological conditions. 1 Influence of temperature evolution on the instantaneous rate of fermentation. *Am J Enol Vit*, 44 (2): 127 – 133.

- Sablayrolles J.M.; Salmon J.M.; Barre P. (1996).
Carences nutritionnelles des moûts. Efficacité des ajouts combinés d'oxygene et d'azote ammoniacal. *Rev Fr OEnol*, 159: 25-32.
- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1993).
Kinetics of alcoholic fermentation in anisothermal enological conditions. 2 Prediction from the kinetics in isothermal conditions. *Am J Enol Vit*, 44 (2): 134 – 138.
- Sablayrolles J.M.; Barre P. (1986).
Evaluation du besoin en oxygene de fermentations alcooliques en conditions œnologiques simulées. *Sci Alim*, 6: 373 – 383.
- Sa Correia I. (1986).
Synergistic effects of ethanol, octonoic and decanoic acids on kinetics and the activation parameters of thermal death in *S. Bayanus*. *Biotechnol Bioeng*, 28: 761-763
- Sa Correia I.; Van Uden N. (1986).
Ethanol-induced death of *Saccharomyces cerevisiae* at low and intermediate growth temperatures. *Biotechnol Bioeng*, 28: 301 – 303.
- Sharma S.; Tauro P. (1986).
Control de ethanol production by yeasts: Role of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase. *Biotech Lett*, 8: 735 – 738.
- Slaughter J.C.; Flint P.W.N.; Kular K.S. (1987).
The effect of CO₂ on the absorption of amino acids from a malt extract medium by *Saccharomyces cerevisiae*. *GEMS Microbiol Letters*, 40: 239 – 243.
- Schopfer J.F.; Aerny I. (1985).
Le rôle de l'anhydride sulfureux en vinification. *Bu» OIV*, 58: 652-653, 515-542.
- Stanley G.A.; Pamment N. (1993).
Transport and intracellular accumulation of acetaldehyde in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng*, 42: 24 – 29.

- Terrier A.; Blouin J. (1975).
Observations sur l'extraction des jus de raisins blancs. *Conn Vigne Vin*, 9: 273-303.
- Tominaga T.; Masneuf I.; Dubourdiou D.
Role des levures de vinification sur la libération de 4-MMP. In: Lonvaud-Funel A (1995).
CEnologie 9S, Se Symposium International d'OEnologie, Lavoisier, Paris, 47.
- Trambouze P. (1989).
Reactor scale up philosophy. *Chemical Engineering*, (10):122-130.
- Tromp A.; Marais P. (1981).
Triamefon, a systemic fungicide against *Uncinula necator* (Oldium) on wine grapes : diseases control residues and effect on fermentation and wine quality. *S Afr J Enol Vitic*, 2 : 25-28
- Trousseau M.; Chapron P. (1991).
L'application de la flottation au débouillage des mouts. *Rev Oenologues*, 60: 37-40.
- Usseglio-Tomasset L. (1983).
Influence de la température sur les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques des vins. *Bull OIV*, 623: 19-34.
- Usseglio-Tomasset L.
L'anhydride sulfureux en œnologie. In: Usseglio-Tomasset L. (1989). *Chimie œnologique*, Lavoisier, Paris, 269-284.
- Viegas C.A.; Supply P.; Capieaux E.; Van Dyck L.; Goffeay A.; Sa Correia I. (1994).
Regulation of the expression of the H⁺ATPase genes PMA1 and PMA2 during growth and effects of octanoic acid in *S. Cervisiae*. *Biochim Biophys Acta*, 127:74-80
- Weber J.; Bensoussan D.; Schaeffer A. (1975).
Utilization des gazs inertes en œnologie. *Vignes et Vins*, 243 : 9-14.

Williams L.A. (1982).

Heat release in alcoholic fermentation : a critical reapraisal. Am J
Enol Vit, 33 (3): 149-153.

A efectos de contribuir con la diversificación productiva de Misiones, se presenta este libro que tuvo como objetivo resumir la fundamentación científica de la elaboración de vino blanco común a partir de mostos de uvas de meaa cultivadas en el clima subtropical de Misiones, en el marco de un desarrollo tecnológico.

