



**Universidad Nacional de La Plata,
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales**

TRABAJO FINAL DE CARRERA

**“Evaluación enológica de levadura indígena de la
provincia de Río Negro: Estudios preliminares”**

Alumno: Farid Sebastián Zacarías Tello Najul

Directora: Dra. Caballero, Adriana

Codirector: Dr. Vicente, Ariel Roberto

Tutora: Dra. González Forte, Lucía

Dedicatoria

- El presente trabajo de investigación está dedicado a:
- DIOS por haberme dado la vida y por concederme la gracia de alcanzar una de mis metas.
- A San Charbel por darme la fuerza, las palabras y la perseverancia para cumplir mis metas académicas.
- A mis padres Ricardo y Susana por brindarme la posibilidad de estudiar y mostrarme un gran mundo de conocimiento. Por acompañarme siempre en la vida y confiar en mí en cada momento. Por el amor y cariño que de ellos siempre he recibido.
- A mi hermano Ricardo por ser siempre una guía y una mano presente para sujetarme en la vida. Porque después de tantas alegrías y dificultades me enseñó que lo importante se encuentra en uno mismo.
- A mis hermanas Belén, Daniela y Nuri porque siempre me acompañaron y confiaron en mí, me dieron fuerza para continuar cada día y me brindaron mucho cariño en los momentos difíciles.
- A mi compañera Marina por estar en los buenos y malos momentos, por brindarme apoyo, paciencia y cariño. Por acompañarme a cada rincón del mundo.
- A mis sobrinos/as Nadine, Kaia, Fiona, Rania, Yordi y Jeray por dar siempre felicidad y cariño en la familia, por ser la luz y el futuro de nuestras vidas.
- A mi cuñado Omar por tener un corazón muy generoso y porque sus consejos siempre fueron sabias palabras en mi caminar.

Agradecimientos

- Un profundo agradecimiento a Dios por darme ánimo y sabiduría para alcanzar una de mis metas.
- A la Dr. Adriana Caballero por brindarme las levaduras, la atención y demostrarme con mucha pasión que en la bodega podemos trabajar con cepas autóctonas de la región.
- A la Profesora Laura Sánchez por dejar a mi disposición los laboratorios de Enología y por toda la ayuda técnica de su parte.
- A la Dra Lucia Forte y Ariel Vicente por todo el tiempo y dedicación que me brindaron para poder lograr este objetivo.
- A mi hermano Ricardo que me ayudo cuidadosamente en la bodega cuando yo no pude estar.
- A mi querida Facultad por abrirme las puertas, enseñarme, contenerme y lograr conducirme hacia el camino profesional. Por todas las alegrías y dificultades que hoy en día me hacen ser la persona que soy. Agradezco de todo corazón a todos sus docentes, no docentes y compañeros por acompañarme en esta etapa de mi vida.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	
1.1 La uva	6
1.2 El mosto	8
1.2.1 Ácidos	9
1.2.2 Azúcares	9
1.2.3 Alcoholes	11
1.2.4 Componentes nitrogenados	11
1.2.5 Minerales	12
1.3 Producción del vino	12
1.3.1 Proceso de vinificación en tinto	13
1.3.2 Dióxido de azufre	14
1.3.3 Alcoholes presentes en el vino	15
1.3.4 Compuestos aromáticos	16
1.3.5 Compuestos fenólicos	16
1.4 El mundo vitivinícola	17
1.4.1 Vitivinicultura en Argentina	18
1.4.1.1 La industria en Río Negro	20
1.4.2. Calidad de vinos y su relación con el terroir	21
1.4.2.1 Importancia de las levaduras vínicas	23
1.4.2.2 Levaduras nativas	26
2. OBJETIVOS	27
2.1 Objetivo general	27
2.2 Objetivos específicos	27
3. HIPÓTESIS	28
4. MATERIALES Y MÉTODOS	28
4.1 Materias primas	28
4.2 Ensayos de vinificación	28
4.3 Determinaciones analíticas	30
4.3.1 Control de fermentación	30
4.3.1.1 Temperatura y densidad	30
4.3.1.2 Recuento en placa	31
4.3.2 pH	31
4.3.3 Acidez total	31
4.3.4 Acidez volátil	31
4.3.5 Azúcares reductores	32
4.3.6 Alcohol etílico	33
4.3.7 Glicerol	33
4.3.8 Evaluación sensorial	33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
5.1 Seguimiento del proceso fermentativo	35
5.2 Determinaciones analíticas	36
5.3 Análisis sensorial	38
6. CONCLUSIONES	38
7. BIBLIOGRAFÍA	41
8. ANEXOS (cuadros y tablas)	44

Resumen

El vino está compuesto por un 85% de agua, un 12-14% de alcohol y un 1-3% de otros componentes que, si bien en cantidad relativamente pequeña aportan complejidad en nariz, estructura en boca y contribuyen al equilibrio de los sabores en el vino y por tanto resultan claves en la calidad del producto. La transformación del jugo de uva en vino es esencialmente un proceso microbiológico. La fermentación alcohólica, es el proceso en el que se convierten los azúcares de la uva en etanol y CO₂. Son las levaduras del género *Saccharomyces*, y generalmente la especie *S. cerevisiae* las responsables de realizar una fermentación completa para la obtención de vinos. Por lo tanto, es muy importante para el viticultor tener un conocimiento de las levaduras y de la bioquímica de la fermentación como base fundamental de la profesión de la vinificación, ya que esta etapa tendrá gran influencia en la calidad del vino. La levadura es un componente importante del terruño ya que representa la microflora que se encuentran pre-adaptadas al contexto agroclimático de la región. Si bien es posible emplear levaduras comerciales el empleo de levaduras nativas para comprender sus características y potencialidad podría ser de utilidad para sistemas que busquen diferenciar a los vinos o bien hacer uso de insumos que no dependan de grandes empresas proveedoras de cultivos iniciadores. En ese contexto en el presente trabajo de tesis se comparó la calidad de un vino merlot obtenido mediante la fermentación de una levadura comercial de origen francés (F15 marca comercial) con una autóctona de la región del alto valle de Río Negro (F8). La levadura F8 fue seleccionada por su buen desempeño en ensayos previos laboratorio de caracterización microbiológica y enológica de la cepa. Durante el proceso de fermentación propiamente dicho se siguió la temperatura, densidad del mosto y recuento de unidades formadoras de colonias de levaduras. En el producto final se evaluó azúcar residual, acidez total, acidez volátil, alcohol etílico, pH y glicerol. A su vez se realizó un ensayo sensorial descriptivo y puntuación global del vino. Los resultados mostraron que el vino fermentado por F8 generó un contenido menor de alcohol que F15 y una mayor concentración de glicerol. Además esta obtuvo una mayor puntuación global en el análisis sensorial. En síntesis, los resultados de este trabajo sugieren que la cepa F8 posee muy buen potencial para producir vinos merlot con cualidades similares o superiores a cepas comerciales como F15. Resulta necesario realizar mayores estudios para profundizar la evaluación estadística y establecer otros aspectos de importancia a la hora de recomendar una cepa para su uso a mayor escala.

1-INTRODUCCIÓN

1.1 La uva

La uva, el fruto de la vid, es la materia prima con que se elabora el vino a través de la fermentación alcohólica, es una baya carnosa, agrupada en racimos. El racimo está compuesto por dos partes bien diferenciadas: el grano, representando el 95%, y el escobajo, que representa el 5% restante (**Figura 1**). Este último, también llamado raspa o raspón, constituye la estructura del racimo y cumple funciones de soporte de los granos y de comunicación de éstos con el resto de la planta; normalmente se encuentran dos racimos por brote.

El escobajo es rico en sustancias tánicas, sobre todo en las variedades tintas, y en general tienen un pH mayor a 4, bajo tenor de azúcares, presencia de sales ácidas y ácidos libres (**Oreglia, 1978**). Por tal motivo en nuestro país es separado del mosto durante la molienda o despalillado de las uvas. En otras regiones del mundo (como en Francia, España, Italia, etc), el escobajo madura y se lignifica, lo que permite la incorporación al mosto. Desde el punto de vista botánico, la uva es una baya carnosa y jugosa, constituida por el epicarpio, llamado hollejo; el sarcocarpio (meso y endocarpio), llamado pulpa y las semillas o pepitas. La proporción de los componentes del grano (**Tabla 1**) varía notablemente con la variedad, el grado de madurez, la producción por planta y la marcha climática del año (**Ribéreau Gayón, 2003**).

El hollejo encierra los demás componentes del grano conformando su límite externo. Está constituido por 6 a 12 capas o estratos de células. Las células de las primeras capas son pequeñas y de paredes gruesas, aumentando gradualmente el tamaño hacia el interior. El espesor de las paredes celulares, y con el la consistencia del grano varía con el cepaje (**Oreglia, 1978**). Tanto los pigmentos antociánicos como las flavonas, están localizados en el hollejo. Intracelularmente se ubican en las vacuolas de las células de la hipodermis formando cristales o bien solubilizados. La excepción la constituyen las variedades tintoreras, de discutido valor enológico, que

tienen también la pulpa coloreada (**Vila, 2010**). De ahí que, con las uvas tintas, excepto las tintoreas, se pueden elaborar vinos blancos, a condición de separar el mosto de las partes sólidas inmediatamente después de la molienda o de obtenerlo por prensado de la uva entera. El hollejo también posee sustancias tánicas en sus células que se encuentran en vacuolas en forma granular. Parte puede asociarse a la pectocelulosa de la pared celular. Sólo los que están en las vacuolas pueden considerarse taninos libres y son fácilmente extraíbles durante la maceración. La pulpa, por su parte, tiene cantidades mínimas de sustancias tánicas. Por eso, los vinos elaborados sin las partes sólidas del grano (vinificación en blanco) tienen menos contenidos de tanino. Otras sustancias de gran interés enológico son los precursores aromáticos, que están localizados en las células de las capas más internas del hollejo o en las más externas de la pulpa.

El hollejo está cubierto exteriormente por una capa de consistencia cerosa, llamada pruina, que lo protege contra la incidencia de los agentes atmosféricos (**Vila, 2010**). Las levaduras no están retenidas en el polvillo ceroso de la pruina como se creía; por el contrario, la multiplicación de levaduras se detiene por contacto con ella. Se ha observado, con microscopio electrónico, que la superficie de la baya ofrece pequeños agrupamientos de levaduras que se desarrollan sobre secreciones, a veces abundantes a nivel de viejos estomas, cerca de las roturas. Las levaduras son poco abundantes en el escobajo y se encuentran principalmente en el pedicelo y en el rodete (**Blouin, 2004**).

La pulpa representa del 83 al 92% del peso del grano y es la parte principal, ya que sus células contienen en sus vacuolas prácticamente la totalidad del mosto. La composición química de la pulpa es casi igual a la del mosto, siendo los componentes de mayor interés los azúcares y los ácidos.

Las bayas de un mismo racimo no tienen idéntico contenido de azúcares (**Oreglia, 1978**). Los granos más azucarados son los que están más próximos al sarmiento: los primeros en recibir los fotoasimilados. Dentro del grano, los azúcares

tampoco se reparten uniformemente: si dividimos longitudinalmente una baya madura, la pulpa presenta tres zonas diferenciadas con relación a su concentración: una, inmediata a la película, con un contenido de azúcar intermedio; una zona media que es la más rica y la zona que rodea las semillas que es la que tiene menor concentración. Por otro lado, la parte opuesta al pedicelo es más rica en azúcares que la cercana al rodete. Con respecto a la acidez, la zona periférica es la más pobre, la zona intermedia es más ácida que la anterior y la zona interna es la más rica en ácidos **(Peynaud, 2003)**.

La semilla es importante en la vinificación de tintos. Cada baya debería tener 4 semillas, pero como consecuencia de problemas de fecundación su número varía de 1 a 4. Ocupan casi el 4% del peso del grano y contiene entre un 10 y un 12% de aceite. La cantidad de tanino presente en la semilla puede variar hasta un 40%, lo cual, sumado a la diferente cantidad de semillas por grano, produce que la cantidad de taninos por baya varía hasta un 200% **(Harberston, 2002)**. Las semillas contienen además una importante proporción de glúcidos, minerales, sustancias nitrogenadas y una pequeña proporción de ácidos orgánicos. Además, contienen fosfatos orgánicos (lecitina y ésteres de inositol), sustancias aromáticas (vainillina) y una sustancia resinosa muy amarga, que si pasara al vino le transmitiría un gusto desagradable **(Oreglia, 1978)**. Por eso, debe cuidarse de no romper las semillas con la molienda, pues entonces pasarían estas sustancias al mosto.

1.2 El mosto

El término mosto incluye a todas las partes del grano, también llamado vendimia molida y desrasponada (sin escobajo) **(Hidalgo, 2013)**. Los mostos y vinos tienen reacción ácida. La densidad relativa del mosto es levemente superior a 1 (1,099 para un mosto de 13 °Bé; 1,108 para un mosto de 14 °Bé), debido a la influencia de los azúcares; la densidad del vino es levemente inferior a la densidad del agua, debido a la influencia del alcohol (0,985 – 0,998).

El pH de los mostos y vinos se encuentra entre 2,8 y 3,8 de acuerdo a la bibliografía, pero en la zona estudiada es muy raro encontrar mostos o vinos de pH 2,8, excepto en uvas verdes. Si bien los valores más frecuentes son de alrededor de 3,4–3,6, es frecuente encontrar mostos con pH 4,0 o superior. En líneas generales, puede decirse que el rango de pH en mostos y vinos va de 3 a 4. El pH de un vino siempre es mayor que el pH del mosto que le dio origen. Esto se debe a que el mosto es una solución saturada de bitartrato de potasio, el cual se insolubiliza y precipita a medida que aumenta el grado alcohólico y disminuye la temperatura.

1.2.1 Ácidos

Los ácidos orgánicos presentes en las uvas son los siguientes: ácido tartárico, ácido málico y ácido cítrico. Los ácidos son sintetizados en las hojas y en los granos de la planta, y se originan a partir de la oxidación de los azúcares. En el envero, la acidez de las bayas es máxima, alrededor de 30 g/L, expresada como ácido tartárico. En el período que transcurre entre el envero y la madurez, la acidez disminuye, llegando a concentraciones de 3 a 8 g/L. Esta disminución en la acidez total se debe tres fenómenos diferentes: la dilución de los ácidos (debido a que el grano crece en volumen); la neutralización de los ácidos por salificación y la degradación de los ácidos por respiración. En las uvas maduras, el ácido que predomina es el tartárico (2-8 g/L), luego el málico (desde trazas hasta 5 g/L) y en menor cantidad, se encuentra presente el ácido cítrico (aproximadamente 1 g/L). En vinos también encontramos, en cantidades aún menores, ácidos generados en las fermentaciones alcohólica y maloláctica (ácidos succínico, láctico, acético, propiónico y butírico).

1.2.2 Azúcares

En la uva se encuentran glucósidos simples, como hexosas y pentosas; glucósidos compuestos, que pueden ser holósidos: por hidrólisis dan sólo azúcares (ej. sacarosa) y heterósidos: por hidrólisis dan monosacáridos y compuestos no glucósidos

(ej. malvidin-3-glucósido, materia colorante que hidroliza originando un aglicón, la malvidina y un azúcar, la glucosa) (Hidalgo, 2013). Los azúcares mayoritarios son:

- **Glucosa:** es una hexosa con función aldehídica, es reductora, fermentable y es ópticamente activa (desvía la luz polarizada), por lo que también se denomina dextrosa (**Figura 2.1**). Concentraciones normales entre 50-150g/L
- **Fructosa:** también denominada levulosa o azúcar de fruta. Es una hexosa con función cetónica en el carbono 2, es reductora y fermentable (**Figura 2.2**). Junto con la glucosa forma la sacarosa. Tiene alto poder edulcorante, comparado con la sacarosa. Concentraciones normales entre 50-150g/L
- **Sacarosa:** se encuentra en los mostos en concentraciones de 2 a 10 g/L. Su poder edulcorante se considera el valor patrón de comparación. Cuando se produce la rotura de los granos en la molienda, la sacarosa se desdobla por medio de la acción enzimática de las invertasas, y la presencia del medio ácido. La sacarosa como disacárido, no es reductora ni fermentable, pero cuando es hidrolizada origina glucosa y fructosa, que son reductoras y fermentables. Las uvas provenientes de *Vitis vinifera* presentan contenidos mucho menores de sacarosa que las uvas que provienen de vides americanas (**Hidalgo, 2013**).
- **Pentosas:** Se encuentran en contenidos de 0,3 a 2 g/L. Son reductoras, pero no fermentables. Las pentosas aumentan en la época del envero y decrecen antes de la madurez. Los hollejos y los escobajos son más ricos en pentosas y pentosanos que la pulpa del grano de modo que los mostos tintos son más ricos en pentosas que los blancos. Las pentosas, si bien no son fermentables por las levaduras, pueden servir como fuente de energía para las bacterias lácticas durante la fermentación maloláctica.

El contenido de azúcares en mostos de uva madura en la zona de Cuyo oscila entre 190 y 250 g/L, excepcionalmente puede superar estos valores. En los vinos secos, los azúcares reductores no superan 1,5 g/L; estos valores, en general,

aseguran la estabilidad microbiológica del vino. Las hexosas han sido fermentadas; si el vino no ha llegado a sequedad, puede haber algunos gramos de fructosa. La sacarosa ha sido hidrolizada, y seguido el mismo camino de las hexosas. Las pentosas han pasado sin modificaciones al vino, pero si se ha producido la fermentación maloláctica, algunas pentosas pueden haber sido consumidas por las bacterias. En un vino seco, las pentosas son los azúcares más importantes. En los vinos dulces, el sabor está influenciado por la naturaleza del azúcar presente, de acuerdo a su poder edulcorante (**Hidalgo, 2013**). Otros glúcidos menores que podemos encontrar presentes en los vinos son polisacáridos, pectinas, glucanos y manoproteínas.

1.2.3 Azúcares-alcoholes

En las uvas hay pequeñas cantidades de alcoholes; entre ellos se encuentran sorbitol, inositol, xilitol y hexanol. Generalmente se encuentran contenidos altos de sorbitol en mostos que provienen de uvas atacadas por hongos (**Galiotti, 2014**).

1.2.4 Compuestos nitrogenados

Los compuestos nitrogenados son muy importantes para obtener una población saludable de levaduras y así lograr una fermentación vigorosa y completa. Se necesitan alrededor de 120 a 140 mg/L de N fácilmente asimilable para poder completar una fermentación alcohólica. Una deficiencia de nitrógeno puede causar fermentaciones lentas o incompletas. Estos compuestos nitrogenados influyen además en las propiedades de los vinos: pueden producir enturbiamiento en vinos blancos, afectar el aroma, alterar la calidad de la espuma en los vinos espumantes y en ciertos casos pueden favorecer la pérdida de estabilidad microbiológica.

1.2.5 Minerales

En las uvas se pueden encontrar trazas de todos los componentes lixiviables del suelo. El potasio es el catión que se encuentra en mayores concentraciones, seguido por el sodio, el magnesio y el calcio. Los aniones más importantes son sulfato, fosfato y cloruro. Además, el azufre, hierro y otros elementos traza son necesarios en contenidos variables como nutrientes de la vida. El contenido de cenizas de un mosto es de 2 a 6 g/L. En un vino el contenido de cenizas es de 1,5 a 3 g/L.

1.3 Producción de vino

El vino es la bebida obtenida mediante la fermentación alcohólica del mosto de uvas provenientes de la especie *Vitis vinífera L.* (Resolución N°C.71 Instituto Nacional de Vitivinicultura INV 24/01/1992), elaborado en la zona de producción de la uva (Ley Nacional N° 14.878, artículo N°17 (a) año 1959). A través de la fermentación alcohólica las levaduras convierten los azúcares de la uva en alcohol etílico, CO₂, y otros productos.

Químicamente, el vino es una solución hidroalcohólica ácida, que contiene diversos fenoles y compuestos aromáticos. El vino puede contener más de 1000 constituyentes químicos diferentes, integrando un producto sumamente complejo. El componente más importante del vino es el agua (80-90%), siguiéndole en abundancia el alcohol (**Figuras 3 y 4**).

Existen dos tipos de técnicas ampliamente utilizadas para la producción de vinos conocidas como “vinificación en blanco” y “vinificación en tinto” (**Flanzy, 2000**). En el caso particular de la vinificación en tinto, la fermentación alcohólica se lleva a cabo en presencia de las partes sólidas de la uva las cuales resultan una fuente de pigmentos, taninos, sales, enzimas (oxidativas, pectolíticas y proteolíticas), sustancias aromáticas y pectinas. Este período de permanencia del jugo en contacto con los hollejos se denomina *maceración* y es responsable en gran parte de la coloración final del producto.

1.3.1 Proceso de vinificación en tinto

Este proceso comienza con la cosecha de la uva (vendimia) que tradicionalmente se realiza en Argentina entre los meses de febrero y abril (**Galiotti, 2014**). El momento exacto de su recogida será aquel en el que la uva muestre un estado óptimo de maduración, ya que sólo así se podrá obtener un vino de calidad. Es particularmente importante el nivel de azúcar que presenten las uvas, ya que de ello depende la posterior fermentación y nivel de alcohol que presentará el vino. Una vez seleccionados los mejores racimos, comienza su procesamiento.

La elaboración del vino tinto se inicia con el despalillado/estrujado (desgranando los racimos), mediante el cual se separan las uvas (mosto) del resto del racimo, lo que se conoce como raspón o escobajo. Para ello se utiliza una máquina despalilladora. Luego el mosto es llevado a tanques o piletas de fermentación donde se realiza un control de temperatura el macerado. Este proceso de maceración es de gran importancia, ya que además de permitir la fermentación, propicia que el mosto adquiera su color, así como otras características, a través del contacto con los pigmentos propios de los hollejos (**Hidalgo, 2013**). Posteriormente, en estos mismos depósitos y a través de las propias levaduras presentes de forma natural en la piel de las uvas o de levaduras comerciales, comienza el proceso de fermentación alcohólica (el azúcar de las uvas termina transformándose en alcohol etílico). Este proceso de fermentación y maceración dura, según el tipo de vino que se pretende elaborar, entre 10 y 14 días, y debe transcurrir a temperaturas no superiores a 29 °C. Al pasar este tiempo, se produce el descube, mediante el cual se transfiere el líquido a otro depósito.

Una vez realizado el descube, el producto sólido de la fermentación aún contiene grandes cantidades de vino, por lo que es sometido a un prensado para extraer todo el líquido, obteniéndose el vino de prensa, rico en aromas y taninos, que según su calidad se mezcla o no con el obtenido en el descube. Después de la

fermentación alcohólica se lleva a cabo el trasiego, proceso mediante el cual el vino se cambia varias veces de recipiente, con el fin de ir eliminando los sedimentos sólidos y de airear el vino. Una vez que el vino se encuentra limpio puede realizarse un proceso de crianza en barricas de roble o puede ser embotellado como vino joven listo para el consumo.

Se debe tener en cuenta que el vino es un líquido fácilmente oxidable por el oxígeno del aire y medio propicio para el ataque de bacterias indeseables como las bacterias acéticas, lácticas, propiónicas que lo deterioran.

1.3.2 Dióxido de azufre

El SO_2 es el único antiséptico permitido en la mayoría de los países vitivinícolas (**Ribéreau Gayon, 2003**). Se utiliza prácticamente desde las primeras épocas en que se comenzó a elaborar vino en el mundo. Disuelto en agua, da reacción ácida moderadamente fuerte, con valores de pKa (valor de pH en el cual el 50% de las moléculas se encuentran disociadas) de 1,77 y 7,18 para la primera y segunda función, respectivamente, como se puede observar en la **Figura 5**. El SO_2 hidratado y la forma molecular, son los que están en mayor proporción a valores de pH por debajo de 1,86. La primera forma ionizada, HSO_3^- se denomina “ion-bisulfito”, y es la forma que está en mayor cantidad a valores de pH entre 1,86 y 7,18 (por lo tanto, en mostos y vinos). La segunda forma ionizada, el “ion-sulfito” SO_3^{2-} , es la especie dominante a valores de pH por arriba de 7,18 (**Nazralla, 2009**).

Una de las características del dióxido de azufre es su facilidad, a través de la forma ion-bisulfito, de formar compuestos de adición con los grupos carbonilos de muchas sustancias. En consecuencia, cuando se agrega SO_2 al mosto o vino, una fracción del mismo se combina con algunos componentes del vino (llamada “dióxido de azufre combinado”), y la otra fracción permanece en forma libre, tomando el nombre de “dióxido de azufre libre”. La suma de ambas constituye el dióxido de azufre total. El SO_2 libre o “molecular”, es la especie más importante en la elaboración de

vinos y mostos, ya que es la forma que ejerce la acción antimicrobiana, interviniendo en la captura del peróxido de hidrógeno y provocando, por su volatilidad, la detección sensorial del SO₂. Esta volatilidad es responsable, asimismo, de la disminución por evaporación del dióxido de azufre de los vinos, bajo las condiciones naturales de la conservación y movimientos del mismo. En las condiciones de pH del vino, existe sólo una fracción muy pequeña de dióxido de azufre bajo la forma libre, y su proporción varía según el pH (desde un 6% a pH 3,0 a un 0,6% a pH 4,0). Por su parte, el ion-bisulfito es tal vez la forma menos deseable desde el punto de vista enológico, ya que interviene en las combinaciones con los átomos de oxígeno de las funciones carbonilo de las diferentes sustancias. Por último, el ion-sulfito SO₃⁻² posee un fuerte poder antioxidante, pero a pH del vino es inexistente.

1.3.3 Alcoholes presentes en el vino

En el vino, además de los alcoholes originarios del mosto, encontramos los que se han originado de los azúcares fermentables: alcohol etílico, glicerina, acetyl metil carbinol, butanodiol, diacetilo y alcoholes superiores, entre otros productos. Durante la maceración, se origina alcohol metílico o metanol.

- **Etanol:** en la mayoría de los vinos se encuentra en concentraciones de 12 a 14%, si bien pueden existir vinos de mayor contenido alcohólico. Desde un punto de vista legal, el producto se denomina vino a partir de una concentración mínima de 5% de alcohol.
- **Glicerina:** es el tercer compuesto más importante en el vino, después del agua y el etanol. Se encuentra en concentraciones de 8 a 10 g/L. Contribuye con la percepción del cuerpo del vino por su densidad relativa, que es de 1,26. Las uvas atacadas por *Botrytis spp.* pueden tener contenidos mucho mayores de glicerol.
- **Alcoholes superiores:** son aquellos de más de dos átomos de carbono y son producidos por las levaduras durante la fermentación. Tienen aromas

particulares, y por lo tanto influyen en el aroma del vino. Durante la conservación de los vinos pueden esterificarse con los ácidos del vino, dando otros compuestos con aromas característicos. En los vinos se encuentran contenidos de 140 a 420 mg/L, con mayores contenidos en los vinos blancos que en los vinos tintos.

- **Manitol:** resulta de la reducción de la fructosa o fructosa-6-fosfato por acción de mohos, levaduras o bacterias heterolácticas. En vinos producidos a partir de uvas sanas se encuentra en menores tenores que en vinos de uvas enfermas.
- **Metanol:** se encuentra en el vino como resultado de la hidrólisis de las pectinas metiladas presentes en las uvas, atacadas por la enzima pectin-metil-esterasa (PME). Las pectinasas existen en forma natural, pero además se agregan durante la vinificación para mejorar el rendimiento del mosto, la extracción de color y la clarificación. Esto puede incrementar el tenor de metanol significativamente, y debe ser considerado ya que el metanol es tóxico y puede ser letal. En Argentina, el límite legal para vinos liberados al consumo es de 0,35 ml de metanol por litro de vino (**Galiotti, 2014**).

1.3.4 Compuestos aromáticos

Según su origen, los aromas del vino se pueden clasificar en aromas varietales o primarios (proviene de las uvas), secundarios o de fermentación y terciarios o de *bouquet*. Los compuestos que participan del aroma de los vinos son muchos, siendo los grupos principales: pirazinas, terpenos, derivados del ácido shikímico, lactonas, ésteres, entre otros.

1.3.5 Compuestos fenólicos

Cuantitativamente, los compuestos fenólicos representan sólo el 0,3% de los componentes del vino, pero son fundamentales en las características organolépticas del producto. Las sustancias fenólicas son constituyentes muy importantes de las

uvas, fundamentales para las características organolépticas y la calidad del vino. La mezcla cualitativa de fenoles particulares es característica de cada variedad y está controlada genéticamente; las variedades pueden diferir cualitativa y cuantitativamente en un rango considerable, en cuanto a su composición fenólica. El manejo del canopeo influye en la composición fenólica de las uvas. El grado de madurez produce cambios cualitativos en los fenoles de las uvas. Durante la elaboración de los vinos, la aplicación de diferentes tecnologías permite obtener distintos estilos de productos, dependiendo de la concentración y composición de los fenoles extraídos de las uvas **(Tabla 2)**.

1.4 El mundo vitivinícola

Según las cifras de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) la superficie de viñedos es en el mundo es de 7,53 millones de hectáreas (**OIV, 2016**). Los países europeos representan hoy día el 52% de los viñedos a nivel mundial. Francia, Italia y España son los tres principales países productores, abarcando un 49% de la producción mundial. Luego les siguen los Estados Unidos, Argentina, Chile, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica, China y Alemania (**Figura 6**). Estos 11 países representan el 82% del vino elaborado en el mundo (**Hidalgo, 2013**). Actualmente la superficie vitivinícola tiende a estabilizarse en los países de la Unión Europea, sin embargo, fuera de Europa la superficie continúa creciendo, particularmente en América del Sur y en China.

La producción mundial de vino llegó a 274,4 millones de hectolitros en 2015, según la OIV, con un ligero crecimiento respecto de 2014. Entre los 10 principales países productores sólo España, Argentina, Sudáfrica y Alemania vieron disminuir su producción en la última década (**Figura 7**). El 67% de la demanda de vino se encuentra en el continente europeo siendo el consumo promedio per cápita de 30 l/año (**Hidalgo, 2013**). Desde la última década se ha observado una disminución paulatina del consumo vínico en los países europeos y un fuerte incremento en los

países del nuevo mundo encabezados por Estados Unidos y China (**Vila, 2010**). Se evidencian cambios en los hábitos de consumo, con menor presencia de vino de mesa y mayor de vino fino.

1.4.1 Vitivinicultura en Argentina

Argentina es el primer productor vitivinícola de América del Sur, además de ser el segundo exportador después de Chile (**Galiotti, 2014**). Posee un área cultivada con vid de 224.707 hectáreas (2015), representando el 2,81% de la superficie mundial (7° productor mundial) y se ubica como la 5^{to} productor en el mercado internacional.

Nuestro país posee una región apta para el cultivo de la vid que se extiende a lo largo de la cordillera de Los Andes desde los 22 hasta los 42 grados de latitud Sur, (**Zuluaga 1968**) (**Figura 8**), razón por la cual las diferentes variedades se expresan con una amplia variación de matices organolépticos. Estas variedades se encuentran distribuidas en la medialuna semiárida Argentina comprendida principalmente por las provincias de Salta, Catamarca, La Rioja, San Juan, Mendoza, Neuquén y Río Negro (**Galiotti, 2014**). La gran amplitud latitudinal combinada con la topografía de los valles andinos, condicionan grandes variaciones ecológicas que permiten elaborar vinos con notables diferencias organolépticas (**Catania y Avagnina, 2007**). Las regiones vitivinícolas argentinas se encuentran en zonas con pocas lluvias y baja humedad atmosférica, con inviernos bien marcados, veranos calurosos y buena insolación, lo que permite una completa maduración de las uvas y por ende una buena tipicidad.

En el año 2016 se elaboraron 14,9 millones de hectolitros distribuidos principalmente en Mendoza (74 %), San Juan (19 %), Salta (1,2 %), Catamarca (0,47 %), Neuquén (0,4 %), Río Negro (0,3 %), entre otras provincias (**Tabla 3**).

Históricamente, las provincias de Cuyo (Mendoza y San Juan) y la provincia de Río Negro concentraron gran parte de la producción y elaboración. Sin embargo, estas últimas tres décadas la vitivinicultura ha mostrado un panorama reduccionista y desconcentrador. En Río Negro se perdió el 90% de la superficie vitícola y el 87% de

sus bodegas (**Gresia, 2016**). Mientras que, en las provincias de Cuyo, la reducción en superficies fue menor e incluso a principios del año 2000, mostró una leve recuperación por incorporación de nuevas zonas de plantación (por ejemplo, Valle de Uco) (**Galiotti, 2014**). Sin embargo, la vitivinicultura se expandió fuera de las tradicionales provincias vitivinícolas, desarrollando vinos de destacada calidad y desarrollando nuevos mercados (turismo regional).

Actualmente, según la fuente oficial (INV), el número de bodegas asciende a 931, lo que muestra un mercado altamente atomizado. Este panorama permite a nuestro país poder tener una gran diversidad de variedades de vid, debido a la diversidad de climas y suelos, y lograr con ellos una importante diferenciación de vinos. Se han descubierto que idénticas variedades de uvas vinificadas en diferentes provincias muestran diferentes perfiles aromáticos y tonalidades de color (**Catania y Avagnina, 2007**). Esto nos permite poder presentar al mercado nacional e internacional aproximadamente 10.000 etiquetas de diferentes vinos (**Galiotti, 2014**).

Las exportaciones de vino argentino se han incrementado en los últimos años, aunque aún no logran ocupar un papel relevante en el escenario mundial. En particular en el 2016, se exportaron 2 millones de hectolítros que significaron 14% y 2% del total producido a nivel doméstico y mundial, respectivamente. Por su parte las importaciones ocupan un rol poco significativo. En nuestro país al igual que en el mercado internacional, el consumo ha venido disminuyendo, tanto por cambios en los hábitos de consumo.

Favorecida por óptimas condiciones climáticas y de suelo, la vitivinicultura en Argentina ha manifestado un amplio y acelerado desarrollo, principalmente en las provincias andinas, siendo la producción de variedades destinadas a la vinificación predominante (92,23%) en el encepado Nacional (**Figura 9**). Dentro de las variedades de vinificación, como se puede observar en la **Figura 10**, las tintas son las preferidas, representando el 54% (dentro de éstas la variedad Merlot representa el 5,19%), le

siguen las variedades rosadas con el 26% de la superficie y por último las blancas, que totalizan el 20% (**Galiotti, 2014**).

Dentro de las variedades de vinificación tintas, podemos considerar que Argentina presenta una gran cantidad de variedades finas. La predominante dentro de estas cepas es el Malbec (**Figura 11**), la cual es considerada por la (OIV), Instituto Nacional de vitivinicultura, Wine of Argentina y la Corporación Vitivinícola Argentina (COVIAR) como emblemática de nuestro país. Sin embargo, muchos otros variedades presentan características únicas y exclusivas en diferentes regiones de Argentina (**Catania y Avagnina, 2007**).

1.4.1.1 La industria en Río Negro

La región vitivinícola sur de la Argentina se localiza entre los paralelos 37° y 42, 5° de latitud sur y constituyen uno de los viñedos más australes del mundo. Se encuentra ubicada al norte de la Patagonia, principalmente en las provincias de Río Negro y Neuquén y, en menor proporción, al sudoeste de La Pampa y el noroeste de Chubut. Esta área cuenta con agua, suelos y clima aptos que le permiten adquirir diferencias en cuanto a calidad de los productos (**Alsides, 1988**).

En la provincia de Río Negro, la producción vitivinícola se desarrolla principalmente en el Alto Valle de Río Negro, ubicado en la confluencia de los ríos Limay y Neuquén. Está comprendido entre las ciudades de Villa Regina y Cipolletti. Mientras corre hacia el Océano Atlántico, el Río Negro baña dos oasis más, llamados Valle Medio y Valle Inferior. Aunque en ambos se practica la vitivinicultura de manera tradicional, sólo los vinos del Alto Valle han logrado una amplia y merecida repercusión en la Argentina y el exterior.

La superficie cultivada actualmente lo largo de toda la provincia de Río Negro es de 1.900 ha aproximadamente, destacándose las siguientes variedades:

- Vino blancos: Sauvignon Blanc, Chardonay y Semillón.
- Vino tinto: Malbec, Merlot, Cabernet Sauvignon y Pinot Noir.

En la actualidad se pueden encontrar dos tipos de empresas vitivinícolas. Las tradicionales e históricas que pueden presentar hasta tres generaciones trabajando en el sector, generalmente son grandes y medianas bodegas, y las pequeñas bodegas artesanales o *boutique*, que surgieron en la última década a partir de productores vitícolas que comenzaron a elaborar sus propios vinos. En ambos tipos de empresas el grado de tecnificación es variable predominando el modernismo, la nueva tecnología y los vinos de calidad (**Gresia, 2016**).

La Patagonia Norte es una de las regiones vitivinícolas argentinas por excelencia para la producción de variedades Merlot, constituyendo junto con el Pinot Noir las variedades insignia de la región (**Alsides, 1988**). El Merlot, es un vino tinto emblemático de Bordeaux (Francia) y su cultivo es más que centenario. Se encuentra difundido en las diferentes regiones vitícolas del mundo conformando vinos con diferentes matices organolépticos (**Ribéreau Gayon, 2003**). Su constitución y potencial polifenólico lo hacen apto para vinos de guarda, posee una enorme expresión frutal y taninos suaves, es exigente en región y manejo de cultivo a la hora de expresar todo su potencial (**Catania y Avagnina, 1997**).

1.4.2 Calidad de vinos y su relación con el terruño

La calidad organoléptica de un vino se define por el conjunto de sensaciones visuales (limpidez, nitidez e intensidad colorante, lagrimas glicéricas), olfativas (aromas francos a frutas, flores, especias, matices de barrica), gustativas (dulce, salado, ácido y amargo) y táctiles (astringencia, estructura y cuerpo), que reúnen a las cualidades apreciables del vino. Estas cualidades son procedentes de tres orígenes: viticultura (primarios), vinicultura (secundarios) y evolución en botella (terciarios) que definirán la expresión de los componentes del vino.

El lugar donde se cultiva la vid es una de las primeras causas en la diferenciación de los vinos en sus características sensoriales. (**Catania y Avagnina, 1997**). El vino nace en el viñedo y esto indica que el *terroir* es quien define sus

características y el bodeguero quien acompaña con decisiones de su producción y elaboración. El *terroir* vitivinícola se refiere a un conjunto de factores que definen y describen la región geográfica donde está emplazado el viñedo, siendo un concepto que se refiere a un espacio sobre el cual se desarrolla un saber colectivo de las interacciones entre un medio físico y biológico identificable y las prácticas vitivinícolas aplicadas, que confieren unas características distintivas a los productos originarios de este espacio. El *terroir* incluye características específicas del suelo, de la topografía, del clima, del paisaje y de la biodiversidad (**Resolución OIV/VITI 333/2010**).

Algunas características que se destacan en el *terroir* son las temperaturas tanto del microclima como del mesoclima, el grado de humedad o sequedad, la intensidad de los vientos, cantidad y tipo de minerales de los suelos, bacterias y enfermedades presentes, tipos de levaduras silvestres, lluvias, composición del suelo, nivel y ángulo de insolación, antigüedad del viñedo, altitud, drenaje, latitud, y por supuesto la mano del hombre. Todos estos factores influyen directamente sobre el fruto, generando en él una gran cuota de identidad reflejada del ambiente que lo ayudó a crecer, así tendremos una demostración de su *terroir* en el color, aroma, sabores y sensaciones del futuro vino (**Hidalgo, 2003**).

Por encima de la calidad básica de la uva está la que le imprimen el viticultor y el elaborador, con el cultivo de la uva y la elaboración y cuidados del vino, para enfatizar o cambiar aromas, sabores y textura destinados a obtener un producto armónico, integrado y agradable. Los distintos tipos de vino difieren entre sí debido al gran número de variables en el cultivo de uva y en la elaboración.

La calidad potencial de un producto vitivinícola está determinada por los factores permanentes, fundamentalmente por el cepaje y el ambiente. El manejo que realiza el hombre es complementario de estos factores básicos y sólo podrá revelar esa calidad potencial en la medida que sea realizado adecuadamente. La calidad del producto que llega al consumidor depende entonces del conocimiento y manejo de los factores que determinan la calidad potencial.

Ningún tema vitícola ha generado opiniones tan diversas como la relación de la vid con su entorno y con la composición y la calidad de los mostos y vinos que produce. La interrelación de clima, geografía y variedad de uva determina el potencial cualitativo del fruto y del vino. Obviamente, el hombre puede ejercer su influencia al elegir métodos de poda, conducción, riego, fertilización y cultivo, época de la vendimia, control de la fermentación y crianza. Estos factores varían de año en año, de región en región y de una variedad a otra, pero la mayoría de los enólogos coinciden en que el clima es el factor determinante en la calidad del vino. Por encima de las variables climáticas, existen condiciones geográficas específicas que pueden afectar a la madurez de las uvas y a la calidad del vino (**Jackson, 2008**).

1.4.2.1 Importancia de las levaduras vínicas

El hombre ha fabricado pan y bebidas fermentadas desde tiempos inmemoriales, el rol de las levaduras en la fermentación alcohólica, y en particular en la transformación de la uva en vino, sólo fue claramente establecido a mediados del siglo XX. Los antiguos explicaban el hervor de la fermentación (del latín *fervere*, hervir) por acción del contacto de cuerpos que, al reaccionar durante el prensado de la uva, producían una efervescencia. Fue un mercader de telas holandés, Antonie van Leeuwenhoek, quien, en 1680, gracias a un microscopio de su fabricación, llevó a cabo las primeras observaciones de levaduras a partir de un mosto de cerveza, pero sin establecer relación alguna entre esos corpúsculos y la fermentación alcohólica (**Hidalgo, 2003**). Fue necesario esperar hasta fines del siglo XVIII, para que comience, gracias a los trabajos de Lavoisier, el estudio químico de la fermentación alcohólica, proseguido en el siglo siguiente por Gay-Lussac. Pero la primera demostración de que la levadura es un organismo vivo, capaz de multiplicarse, y en cuya actividad vital se encuentra el origen de la fermentación de los líquidos dulces, fue llevada a cabo por un químico francés, Charles Cagnard de La Tour, en 1837. Este conocimiento fue confirmado por el naturalista alemán Schwann quien demostró, además, que la

fermentación alcohólica es un proceso que puede ser detenido por el calor o por ciertos productos químicos; llamó a la levadura de cerveza “zuckerpilz” es decir “hongo del azúcar”, nombre que dio origen al término *Saccharomyces* utilizado por primera vez por Meyen en 1838. **(Ribéreau Gayon 2003).**

Esta concepción vitalista o biológica del rol de la levadura en la fermentación alcohólica que hoy nos parece evidente, tardó mucho tiempo en imponerse, en particular contra la opinión de algunos de los más encumbrados especialistas en química orgánica, entre ellos Liebig, convencidos de que las reacciones químicas, más que la actividad de las células, podían explicar la fermentación de los azúcares. Finalmente fue Louis Pasteur quien, en sus dos famosas obras, *Estudios sobre el vino* (1866) y *Estudios sobre la cerveza* (1876), acreditó definitivamente la tesis vitalista de la fermentación alcohólica. Pasteur demostró que las levaduras responsables de la fermentación espontánea de la vendimia prensada o del mosto, provienen de la superficie de la uva, y que de éstas existen muchas especies y variedades que pueden ser recuperadas. Determinó incluso que las características gustativas de los vinos pueden verse influenciadas por la naturaleza de las levaduras al efectuarse la fermentación alcohólica. Además, precisó el efecto del oxígeno en la asimilación de los azúcares por las levaduras y probó que éstas, además del alcohol y gas carbónico, forman otros productos en menor cantidad, entre los cuales encontramos la glicerina **(Ribéreau Gayon 2003).**

Hoy se acepta que las levaduras desarrollan un papel central en el proceso de fermentación. **Alsides (1988)** destaca que el aporte de las levaduras a la industria vitivinícola es vital para la elaboración de vinos y para comprender la evolución de la historia vinícola. Las primeras cepas se caracterizaban por su capacidad fermentativa de azúcares reductores y su tolerancia al alcohol (normalmente no superior a 16 % v/v de alcohol). Sin embargo, con posterioridad se descubrió que el proceso fermentativo se originaba por la acción de diferentes levaduras que actúan en fases distintas. Estas levaduras se encontraban presentes normalmente cerca de pedúnculos, estomas y

magulladuras en la piel de la uva. En las principales zonas vinícolas del mundo se pueden encontrar, en cantidades variables *Saccharomyces cerevisiae* y *Kloeckera apiculata*. También existen muchas otras del género *Hansenula*, *Candida* y *Brettanomyces* (**Amarine, 1965**). En un estudio clásico sobre el papel de las levaduras durante la fermentación, **Domercq (1957)** demostró que levaduras apiculadas como *Kloeckera apiculata*, iniciaban la fermentación de los mostos tintos de Bordeaux. A medida que aumentaba el contenido de etanol en el mosto, las levaduras apiculadas eran sustituidas por levaduras vínicas del género y especie *Saccharomyces cerevisiae*, sin embargo, en etapas finales a la fermentación se podían encontrar otras variedades de levaduras como *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces chevalieri* y *Hansenula anomala*. Estudios recientes en California (EEUU) y Australia han fortalecido la tendencia a inhibir la fermentación “natural”, mixta o espontánea por su carácter impredecible mediante el uso de anhídrido sulfuroso, y en su lugar inoculan los mostos con pie de cuba para asegurar la producción de vinos con un carácter y una calidad determinada. **Amarine (1970)** afirma que cuando se emplea este tipo de técnicas la fermentación comienza rápidamente, se desarrolla con regularidad y finaliza en un período relativamente corto. Sin embargo, **Formento (2011)** sostiene que la imprevisibilidad del proceso vínico generado por las levaduras “naturales” generan un carácter único e irrepetible de una condición o lugar, siendo la inoculación de levaduras foráneas un “atentado a la condición del terruño”.

En la actualidad es común que las bodegas en sus elaboraciones utilicen *Saccharomyces cerevisiae* comercializadas en forma de Levaduras Secas Activas (LSA). Sin embargo, como mencionamos anteriormente, la fermentación alcohólica puede desencadenarse naturalmente sin el agregado de LSA. En las uvas sanas, las levaduras nativas provienen de los propios viñedos y resulta un parámetro de variabilidad muy importante entre los *terroirs* (**Hidalgo, 2003**).

Las exigencias de un mercado nacional e internacional cada vez más competitivo y la demanda de consumidores con nuevos estilos imponen a los

viticultores y enólogos la constante búsqueda de oportunidades de mejora de los procesos de elaboración y de desarrollo de estrategias de diferenciación de la producción. Dentro de la cadena productiva, la cepa de levadura es fundamental por ser la responsable de la transformación de los azúcares presentes en el jugo de uva en alcohol como principal producto final de dicho proceso (**Ribéreau Gayon, 2003**). El manejo adecuado de la biota de levaduras resulta estratégico para diferenciar el carácter de vino. Las levaduras seleccionadas se han utilizado con excelentes resultados en muchos países, obteniéndose productos finales de calidad uniforme, en comparación con aquellos producidos con las fermentaciones espontáneas (**Zoecklein, 2001**). Cabe aclarar que, según **Formento (2011)**, la mayoría de las levaduras comerciales hoy presentes en Argentina fueron destacadas y seleccionadas en contextos agroclimáticos diferentes. De hecho, el uso de cultivos iniciadores o cepas comerciales en enología es una práctica ampliamente extendida que se aplica en la mayoría de las bodegas. La producción actual recurre al empleo de levaduras importadas que presentan un costo considerable (1,2-2,4 dólares por hectolitro de mosto) (**Bordeu, 2006**).

1.4.2.2 Levaduras nativas

En años recientes, ha aumentado el interés en el empleo de levaduras que procedan de la zona vitivinícola donde se van a utilizar. El uso de levaduras locales podría resultar una estrategia de valor a fin de producir vinos con mayor tipicidad (**Peynaud, 2003**). De todos modos, es necesario realizar una selección de la gran diversidad de levaduras que pueden encontrarse en la uva producida en una región, a fin de identificar aquellas con mejores propiedades enológicas, capaces de realizar fermentaciones predecibles y que se inicien rápidamente, evitando la acción de las bacterias y levaduras menos eficientes. Las levaduras seleccionadas deben, entre otras cosas, tolerar alta concentración de alcohol, fermentar con rapidez, llevar los vinos a sequedad y no favorecer el desarrollo de sabores y aromas desagradables. En

ese sentido, poder llegar a un producto comercial a partir de levaduras nativas es un largo proceso que requiere realizar *i)* el aislamiento e identificación de levaduras nativas, *ii)* la evaluación de sus características enológicas con el fin de establecer aquellas que puedan resultar promisorias con relación a levaduras empleadas en forma comercial *iii)* la optimización de las condiciones para producirlas a gran escala **(Martini y Martini, 1990).**

En Río Negro, estudios previos conducidos por la Dra. Adriana Caballero en el marco del proyecto “Levaduras indígenas para la diferenciación de vinos patagónicos” del Departamento de Química, Facultad de Ingeniería Universidad Nacional del Comahue, lograron identificar y reproducir mediante cultivo en laboratorio levaduras típicamente patagónicas, dándole el nombre de levaduras “F8”.

2- OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

-Realizar investigaciones que contribuyan a aportar una tipicidad genuina a los vinos elaborados en el alto valle de Río Negro.

2.2 Objetivos específicos

-Evaluar comparativamente la capacidad de fermentar mostos de uva Merlot de una cepa de levaduras silvestres aislada del Alto Valle de Río Negro (F8) y de una cepa comercial ampliamente empleada en la región (F15).

-Determinar la influencia del empleo de las levaduras mencionadas sobre la composición y calidad sensorial de los vinos obtenidos.

3- HIPOTESIS

-La levadura silvestre F8 posee una buena capacidad de fermentación de mostos de uva Merlot y permiten obtener vinos con calidad comparable o superior a los producidos con cepas comerciales ampliamente empleadas en la región (F15).

4- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materias primas

Uva: Se seleccionaron 400 kg de uvas variedad Merlot provenientes de la finca 006 de la localidad de Mainque, propiedad de Bodega Aniello SA (RENSPA 15.006.0.01438/00) (**Figuras 12 A y B**). La misma fue cosechada manualmente con tijeras en cajas de 10 kg, libre de hojas y con una madurez de 25 °Brix. Una vez realizada la recolección, la uva se trasladó en camión a la Bodega San Sebastián (Número de Elaborador Artesanal NEA 012) en la localidad de Cervantes (ubicada a 8km del lugar de cosecha) (**Figura 12 C**). La uva, una vez arribada en la bodega fue procesada de inmediato.

4.2. Ensayos de vinificación

Se realizaron dos micro-vinificaciones, una con la levadura nativa (F8) y otra con la levadura comercial (F15).

-F8: *Cepa nativa de Saccharomyces cerevisiae* ÑIF8-LVI. Esta cepa no se encuentra disponible comercialmente. La misma ha sido aislada en la región del Alto Valle de Río Negro actualmente se encuentra conservada en el cepario de levaduras de la Facultad de Alimentos de la Universidad del Comahue, Villa Regina (RN).

-F15: Cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae* F15 (Laffort®). Esta es una cepa utilizada para las vinificaciones en tinto por las bodegas en la zona. Se comercializa bajo la forma de levadura seca activa (LSA) (**Figura 13**).

Para ello, se utilizaron técnicas enológicas tradicionales según **Oreglia (1980)**: se realizó la molienda y despalillado de la uva (rotura del grano y separación del escobajo) mediante una máquina despalilladora de acero inoxidable. El mosto obtenido (hollejo, pulpa y semilla), se colocó en tanques de acero inoxidable de 200 L empleando una bomba de vendimia (bomba de cavidades progresivas).

Para la preparación de la levadura F8, se partió de la cepa cultivada en tubos con agar. Se extrajo el inóculo con la ayuda de un ansa estéril, se sembró en 100 mL de medio de cultivo YPG o extracto de levadura dextrosa peptona (composición: extracto de levadura, peptona, agua bidestilada, y glucosa o dextrosa) y se incubó a 26 °C por 2 días. Posteriormente se colocó el cultivo madre en un Erlenmeyer conteniendo 1 L de mosto esterilizado y se incubó en estufa a 26 °C. Esta operación fue repetida a las 24 h para generar el pie de cuba. La población de levaduras en el mismo se determinó por recuento en placa según se describe en la sección 4.3. Se calculó el volumen de pie de cuba necesario para lograr 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) por mL en el mosto.

Para la inoculación con la levadura F15, se siguieron las recomendaciones del fabricante utilizando una dosis de 20 g de producto comercial por hectolitro para obtener una concentración inicial de 10^6 UFC/mL y asegurar un buen comienzo de la fermentación. En un recipiente se hidrató con agua a 38 °C (10 partes de agua por parte de levadura). Luego de 20 minutos se le agregaron de forma consecutiva pequeñas dosis de mosto para reducir la temperatura del inóculo hasta que hubiera una diferencia de 5 °C con respecto al mosto a inocular (27 °C). Finalmente se adicionó la mezcla al recipiente de fermentación.

Durante la fermentación con cada una de las levaduras, se realizaron dos bazuqueos diarios (desarme del sombrero) con pisón manual. La fermentación se

controló realizando mediciones diarias de densidad en grados Baumé (°Bé) y temperatura. Asimismo, se tomaron muestras de mosto para realizar recuentos en placa según se describe en la sección 4.3.

Finalizada la fermentación alcohólica (0°Bé) se procedió al descube (separación del vino de las partes sólidas) obteniendo el vino flor (1° calidad). Con las partes sólidas (orujo) se realizó un prensado suave en prensa vertical de tornillo y se obtuvo el vino de prensa. Luego, el vino flor y el vino prensa fueron colocados en un único recipiente de acero inoxidable (homogeneización), el cual se mantuvo en ausencia de oxígeno. Se adicionó metabisulfito de potasio a fin de mantener los niveles de dióxido de azufre (SO₂) en una concentración de 0,5 mg/L SO₂ molecular.

Los vinos fueron trasvasados a recipientes de acero inoxidable a los 45 días de su molienda para eliminar las partículas gruesas y se controló que la concentración del SO₂ molecular fuera de 0,5 mg/L. Se dejaron reposar herméticamente cerrados durante seis meses (hasta octubre), cuando se procedió al fraccionamiento en botellas de 750 mL. Al momento del fraccionamiento, se ajustó el SO₂ molecular a 0,8 mg/L (estabilidad microbiológica).

4.3. Determinaciones analíticas

Se tomaron muestras de vino y se realizaron determinaciones analíticas en laboratorio de azúcares residuales, pH, acidez total, acidez volátil, etanol y glicerol. También se realizaron ensayos de aceptabilidad y de evaluación descriptiva de los vinos. Los análisis de las muestras obtenidas se realizaron en la Cátedra Enología e Industrias Afines de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCuyo) (**Figura 14**).

4.3.1 Control de la fermentación:

4.3.1.1) Temperatura y densidad:

Diariamente se tomó una muestra de mosto-vino en una probeta de 250 mL. Con un termómetro se determinó la temperatura y mediante un mostímetro

(densímetro con escala 0,980 a 1,150 g/mL y equivalencia grados Baumé) se determinaron los °Be de forma visual al sumergirlo en el líquido (**Figura 15**).

4.3.1.2) Recuentos en placa:

Se tomó 1 mL de mosto y se realizaron diluciones seriadas empelando agua estéril. Se sembró 1 mL de diluciones apropiadas en medio YGC (**Zorbac, 2012**). Las placas se incubaron en estufa a 26 °C. Se realizaron los recuentos de colonias en aquellas placas que posean entre 30 y 300 UFC. Los resultados se expresaron en UFC/mL.

4.3.2 pH:

Se realizó en forma potenciométrica utilizando un pHmetro previamente calibrado (**Figura 16**).

4.3.3 Acidez total:

Se colocaron 10 mL de muestra en un Erlenmeyer con pipeta doble aforo. Se agregaron 50 mL de agua destilada junto con gotas de indicador azul de bromotimol; y luego se procedió a titular con NaOH 0,1 N hasta obtener un color verde azulado. Por último, se realizaron los cálculos correspondientes expresados en g/L de ácido tartárico.

$$\text{Acidez Total (g/L en ácido tartárico)} = n \times 0,75 \quad \text{Ecuación 1}$$

donde n= volumen de NaOH gastado en mL

4.3.4 Acidez volátil por método de Jaulmes:

Se llevó a cabo una destilación por arrastre de vapor con un destilador de Jaulmes y un refrigerante (**Figura 17**).

Para esto, se tomaron 10 mL de vino con pipeta de doble aforo y se los colocó en el aparato. Luego se agregó 1 ml de ácido tartárico al 25%, con el objeto de

desplazar las sales derivadas de acetatos para permitir su destilación. Se recogieron 100 ml del destilado en un Erlenmeyer, y a continuación se tituló el destilado con NaOH 0,1 N, previo agregado de fenolftaleína, hasta color rosado leve, pero persistente. Se realizó una corrección por SO₂ que pudiera haber sido destilado. Esto se determinó de forma iodométrica, titulando una alícuota del destilado acidificada con H₂SO₄ concentrado, a la que se agregaron 3 mL de almidón como indicador para después titular con yodo 0,02 N. En este caso el punto final de la reacción estuvo dado por la aparición de un color azulado ante el agregado de una gota de solución de yodo en exceso. Los resultados se expresaron en g/L de ácido acético.

Se realizaron los cálculos con la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez volátil (g/L de ácido acético)} = 0,0685 (N-n/5) \quad \text{Ecuación 2}$$

donde N = ml de NaOH gastados en la titulación y n = ml de yodo gastados en la titulación.

4.3.5 Azúcares residuales por el Método del Licor de Fehling – Causse – Bonnans (FCB):

Se procedió a titular un volumen conocido de Licor F.C.B. con la solución de azúcares de concentración desconocida, usando azul de metileno como indicador. Esta determinación es exacta para concentraciones de azúcares de hasta 10 g/L; si la muestra tuviera un contenido mayor, debería ser diluida. Para llevar a cabo la técnica, se midieron 45 mL de muestra a los cuales se les agregó 5 mL de acetato de plomo y 5 g de carbón activado. La muestra fue homogeneizada y mantenida en reposo por 10 minutos. Luego se filtró con embudo y papel de filtro. Al filtrado se le adicionó indicador azul de metileno. Se colocaron 15 mL de Licor de Fehling – Causse – Bonnans en un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad. Se lo llevó a 50 mL con agua destilada y luego se homogeneizó y se colocó sobre el mechero con tela de amianto. Iniciada ebullición, se comenzó a titular. El punto final fue determinado por la decoloración del azul de metileno. Los resultados se expresaron en g/L.

Se realizaron los cálculos con la siguiente ecuación:

$$\text{Azúcares reductores g/L} = 45,1/n \quad \text{Ecuación 3}$$

donde n fueron los ml gastados en la titulación.

4.3.6 Alcohol etílico

Se colocaron 200 mL de vino en un balón y se adicionó una solución de NaOH (30–40% m/v) hasta que tomó color verdoso con el fin de fijar el SO₂ y los ácidos volátiles. Se agregaron 2 a 3 mL de antiespumante, se tapó y se conectó el balón a un destilador por arrastre de vapor. Se destilaron 2/3 del volumen inicial. El destilado se colocó en una probeta y se determinó el grado alcohólico con un alcoholímetro a 20 °C.

4.3.7 Glicerol

Este parámetro se obtuvo a partir de una muestra enviada al laboratorio del INV sede Mendoza, allí se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC (**Resolución OIV-OENO 552-2016**). Este método se fundamenta en que los azúcares y el glicerol se separan en una columna de gel de sílice con alquilamina y luego pueden detectarse por refractometría. Los resultados fueron expresados en g/L de glicerol.

4.3.8 Evaluación sensorial con panel de degustadores entrenados:

Se evaluaron las características organolépticas por medio de un ensayo de aceptabilidad global empleando una escala hedónica de 9 puntos. Se empleó un panel entrenado (Curso de Degustación, Cátedra de Enología e Industrias de la Facultad de Ciencias Agrarias de Cuyo) de 18 evaluadores (**Figura 18**). Asimismo, el panel realizó una descripción de las características salientes de los vinos evaluados.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Seguimiento del proceso fermentativo

El seguimiento del proceso de fermentación es sumamente importante y permite, además de controlar una correcta evolución de la fermentación, comparar diferentes características de las levaduras bajo estudio. Los principales parámetros que se evalúan normalmente los podemos englobar en dos grupos : parámetros variables en el proceso de fermentación como la temperatura, la densidad y el recuento de UFC en placa; y parámetros consecuentes al proceso de fermentación como pH, acidez total, acidez volátil, azúcares reductores, alcohol etílico, glicerol y características organolépticas del producto.

En las **Figuras 19, 20, 21 y 22** se muestran los resultados correspondientes a los parámetros (temperatura, grados Bé, UFC y Azúcar residual) observados durante la primera fermentación (fermentación alcohólica). Como se observa en la **Figura 19** la temperatura al inicio se ubicó en 22 °C. Posteriormente, en el transcurso de dos días se incrementó. Esto es esperable ya que la fermentación alcohólica es un proceso exotérmico (libera calor). Durante este incremento se observa que la pendiente de la curva en la levadura F15 fue algo mayor que la F8. Sin embargo, ambas levaduras llegaron, al tercer día, al valor máximo de temperatura (27 °C), permaneciendo la F15 en esta temperatura por un día más. Al cuarto día, el mosto fermentado comenzó a descender su temperatura para ambos tratamientos. La temperatura alcanzada hacia el final del proceso de fermentación fue de 22 °C, al octavo día para la F8 y al noveno día la F15. En ambas micro vinificaciones los siguientes días no mostraron cambios de temperatura. Mas allá de algunas pequeñas diferencias encontradas en los perfiles de temperatura los valores en los que la misma oscilo son apropiados para las vinificaciones en tinto (22- 28°C) (**Nazrala, 2009**).

En la **Figura 20** se puede observar claramente la progresiva disminución de los °Be conforme progresó el proceso de fermentación. En los primeros cuatro días, la

disminución en °Be resultó mayor en la levadura F15, mientras que los días siguientes su descenso se ralentizó y la levadura F8 logró, mediante una disminución constante, finalizar la fermentación dos días antes que F15.

En lo que respecta a la dinámica poblacional de las levaduras evaluada a través del recuento de UFC no se encontraron marcadas diferencias entre tratamientos (**Figura 21**). Los niveles iniciales fueron de 1×10^6 UFC/mL para ambos tipos de levaduras y se incrementaron 3 ciclos logarítmicos durante los tres primeros días de fermentación. Con posterioridad los niveles poblacionales descendieron a niveles de 1×10^5 UFC/mL al séptimo día. Luego de 10 d de fermentación se encontró un nivel de levaduras equivalente a un ciclo logarítmico mayor en el caso de la levadura F15.

En la **Figura 22** se puede visualizar una disminución progresiva del contenido de azúcares conforme avanzó la fermentación primaria. Podemos destacar que, si bien ambas levaduras consumen azúcar a un ritmo similar, la F8 concluye la fermentación dos días antes que F15. Al inicio de la fermentación, el contenido de azúcares fue de 256 g/L. El descenso exponencial generado en ambos tratamientos durante la fermentación alcohólica culminó al alcanzar los denominados “rastros de azúcar” (precisión del método Fehling – Cause – Bonnans considerando un vino sin azúcar aquellos que poseen menos de 4g Az/L vino).

Se debe tener en cuenta que la dinámica de fermentación se encuentra influenciada por la temperatura del mosto (**Nazrala, 2011**). La actividad biológica en la **Figura 19 y 21** correlaciona dicha dinámica poblacional con la temperatura del mosto. Este incremento de temperatura, como se comentó anteriormente, resulta propio de la fermentación alcohólica ya que la misma es de carácter exotérmico. A su vez, este proceso genera una disminución del contenido de azúcares del medio que es claramente observado.

Una de las principales diferencias en las dos vinificaciones encontró en el tiempo de fermentación. Observando en conjunto las **Figuras 21 y 22**, encontramos

que la levadura F15 comienza la fermentación de forma acelerada generando mayores descensos de contenido azucarino entre mediciones. Sin embargo, finalizando la misma esta levadura demoró más en alcanzar el estado de rastros de azúcar. Por otro lado, la dinámica de la levadura F8, generó un descenso del contenido azucarino suave y constante finalizando la fermentación 24 horas antes que F15.

Finalizada la fermentación alcohólica los vinos fueron conservados en vasijas de acero inoxidable herméticamente cerradas para evitar alteraciones. Durante este período, se produce un fenómeno de auto-clarificación por decantación natural que permite obtener un vino límpido y brillante (precipitación de lías). Posterior a este fenómeno físico con el vino límpido se extrajeron muestras para determinar los parámetros fisicoquímicos y sensoriales correspondientes.

5.2 Determinaciones analíticas

En la **Tabla 4** se observan los datos analíticos de los vinos correspondientes a las vinificaciones con la levadura F8 y levadura F15. Si bien ambas alcanzaron el denominado “rastro de azúcar”, analíticamente, tuvieron una diferencia de 0,95 g/L en los valores de azúcar residual del vino. Este parámetro nos indica que ambos vinos son “secos” (sin azúcares fermentables) y estables. Sin embargo, la diferencia en el contenido de azucarino entre un tratamiento y el otro nos permiten suponer que una levadura consumió mayor cantidad de glúcidos que la otra. Con respecto a la acidez volátil, los valores encontrados fueron 0,32 y 0,38 g/L Ac. acético para F8 y F15, respectivamente. Si bien ambos obtuvieron valores aceptables (<0,4 g/L), se observa una diferencia de 0,06 g/L de ácido acético. Este parámetro es acumulativo en la vida del vino y lo ideal es lograr el valor más bajo posible. En los mostos de uvas sanas, con moderado tenor de azúcar (220-260 g/L), *Saccharomyces cerevesiae* produce cantidades relativamente bajas (100 – 300 mg/L) pero es variable según la cepa. La vía bioquímica de la formación de ácido acético no ha sido claramente precisada, podría ser producida por hidrólisis de la acetilcoenzima A, proveniente de la

decarboxilación oxidativa del ácido pirúvico por el complejo de la enzima piruvato deshidrogenasa. Asimismo, la carencia de ácido pantoténico, componente de la coenzima A, favorece la formación de acético (**Ribéreau Gayon, 2003**).

Las diferencias más destacables se observaron en el glicerol y etanol. El etanol es el principal producto de la fermentación alcohólica y el compuesto mayoritario en el vino. Claramente se observa que la levadura F8 mostró una tendencia a generar menos alcohol que la F15 (0,9 % v/v menos de etanol). Desde el punto de vista de la eficiencia de conversión azúcar-alcohol podemos suponer que esta última levadura es más eficiente que la primera. Por otro lado, el glicerol muestra una tendencia opuesta a la observada en el etanol. Es decir, la levadura F15 generó menos contenido de glicerol que la F8 (1,45 g/L menos de glicerol). Los valores encontrados son 10,1 y 8,65 g/L de glicerol, respectivamente. El glicerol es un compuesto secundario generado previo a la fermentación alcohólica. Cuando las levaduras comienzan a actuar en el mosto de uva, la producción de etanol no es inmediata, ya que las enzimas esenciales de la fermentación alcohólica, piruvato decarboxilasa y alcohol deshidrogenasa, son inducibles por la glucosa y no se encuentran en sus niveles máximos al principio de la fermentación alcohólica. Como consecuencia, se forman numerosos compuestos secundarios tales como: glicerol, piruvato, succinato, y otros ácidos orgánicos. Así se explica la existencia de un período de inducción durante el cual la reoxidación del NADH_2 se realiza a expensas de la dihidroxiacetona fosfato que pasa a glicerina-3-fosfato y finalmente una fosfatasa la transforma en glicerol (**Ough, 1994**), como se observa en la **Figura 23**.

Se calcula que alrededor del 8% de las moléculas de azúcar siguen la vía de la fermentación gliceropirúvica y el 92% la de la fermentación alcohólica propiamente dicha. Por este motivo, es el segundo componente cuantitativamente más importante del vino después del etanol y le confiere caracteres de “suavidad” y “aterciopelado” (**Hidalgo, 2003**). En Argentina la Ley de Vinos N°14868 prohíbe y pena la adición de

este compuesto al vino. El resto de los parámetros evaluados analíticamente no presentaron diferencias y se ubicaron en valores normales.

5.3 Análisis sensorial

En la **Tabla 5**, se muestran las descripciones sensoriales generadas por el panel de degustación conformado por un panel de 17 personas y sus respectivas puntuaciones globales.

- **F8:** Este vino posee a la vista un color rojo ladrillo intenso, limpio y brillante. En nariz es intenso de calidad media. Se destacaron los siguientes descriptores aromáticos: pimienta, frutos rojos, manteca, cuero, especias y vainilla. En boca resultó suave, redondo, con un final levemente amargo. Con buena acidez y con cuerpo. Es persistente y equilibrado. Puntuación global: 7,6.
- **F15:** Este vino posee a la vista un color rojo ladrillo intenso, limpio y brillante. En nariz resulta poco intenso y de calidad media. Se destacaron los siguientes descriptores aromáticos: pimienta verde, frutos rojos maduros levemente cocidos, especias y pimienta. En boca resultó suave, con una evolución levemente quemante y un final amargo. Con buena acidez y cuerpo. Es persistente y equilibrado. Puntuación global: 6,7.

En lo que respecta a la evaluación de preferencias de los degustares calificaron con una preferencia del 77,7% al vino fermentado con levadura F8 y un 22,3% al vino fermentado con levadura F15.

6. CONCLUSIONES

El presente trabajo permitió realizar un estudio de microvinificación con levaduras nativas aisladas del Alto Valle de Río Negro y comparar su *performance* en

la producción de vino merlot en comparación con la cepa comercial de amplia difusión y utilización en el mercado vitivinícola. Los resultados muestran que ambas levaduras desarrollan una fermentación completa y normal; sin embargo, a nivel bioquímico se encontraron diferencias.

El desarrollo de una fermentación gradual genera vinos prolijos sin alteraciones analíticas y sensoriales. Los vinos obtenidos desarrollaron fermentaciones a diferente tiempo, y su dinámica repercutió con el número de UFC y la temperatura. En los procesos industriales, las levaduras que presentan una dinámica suave generan vinos de mayor calidad ya que sus fermentaciones alcohólicas conservan estructuras polifenólicas y aromáticas más complejas. En lo que respecta al tiempo de fermentación no es claro si repercuten en la calidad del vino, sin embargo, en los procesos tecnológicos de la industria es un factor muy importante y considerado.

Es sabido que la fermentación alcohólica desarrolla diferentes resultados analíticos y sensoriales según el/los microorganismo/s que la desarrollen (en este caso ambas levaduras generaron una fermentación completa con diferentes perfiles analíticos). De los factores más importantes a destacar surge el contenido de etanol y de glicerol. Estos dos parámetros son correlacionados por su proceso de formación. Las levaduras durante el proceso de fermentación toman glucosa del medio azucarino y la transforman en glicerol. Esto sucede mediante la vía bioquímica glicerol-pirúvica antes de comenzar la fermentación alcohólica a través de la vía del etanol; una vez comenzada la producción de etanol se anula la producción de glicerol. Esta correlación varía según la levadura que desarrolla dicho proceso. En este trabajo se visualiza claramente que ambas levaduras modifican las relaciones entre el alcohol etílico y el glicerol.

El alcohol etílico es un parámetro muy estudiado en la enología actual ya que el avance del cambio climático (elevación de temperatura y escasez de precipitaciones) produce un incremento generalizado de sus valores. Esto genera dificultades económicas importantísimas en la comercialización de vinos. La búsqueda de

variedades de bajo contenido azucarino y de levaduras menos eficientes en la conversión de glucosa a etanol son factores claves en la enología actual. Considerando ambas levaduras en estudio vemos que F8 tiene importantes cualidades que se acoplan a las requeridas por la industria enológica actual. Además, si incorporamos los otros dos parámetros en estudio, azúcar residual que genera una mayor inestabilidad biológica generando posibles fermentaciones o picaduras acéticas en el vino terminado, como también la acidez volátil, parámetro directo de la indeseable producción de ácido acético como metabolismo secundario. Este último parámetro se asocia a la vida futura del vino.

Por último, la evolución sensorial resulta de suma importancia ya que muchos de los parámetros analíticos modifican sustancialmente las cualidades de los vinos. Sabiendo que el mundo sensorial de vino resulta subjetivo se recurrió a un panel entrenado en el tema y se generó la descripción representativa de cada vino. En ellas se pueden ver que no hay diferencias en parámetros visuales y aromáticos. Sin embargo, la evolución gustativa muestra las diferencias marcadas en la etapa analítica. Podemos concluir que en el vino fermentado con la levadura F15 se mostró más agresivo en boca. Las sensaciones quemantes y amargas son resaltadas por el incremento principalmente de alcohol etílico. En contraposición el vino de la F8 generó sensaciones gustativas amables y suaves debidas principalmente menor alcohol como también al incremento de la glicerina.

Estas diferencias gustativas posicionaron a la F8 con una puntuación global superior a la F15 y la preferencia de los degustadores se volcó al vino proveniente de la fermentación del primero. En lo que respecta a la evaluación comparativa de las levaduras en este trabajo se debe aclarar que resultaría importante profundizar la investigación y desarrollar las repeticiones correspondientes a cada tratamiento con la finalidad de poder realizar un análisis estadístico y confirmar los resultados.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alsides. Llorente. Vinos de la zona fría (1988). Ed. Salomon. p 55-67

- Amerine, MA. (1965). The Fermentation industries after Pasteur. Food Technology. p132-134

- Bordeu, E. (2006) Tecnología enológica (Curso de posgrado Enología y viticultura) FCA UNCuyo, Argentina. p 76

- Boulton, Singleton, Bisson, Kunkee. (1996) Principles and practices of winemaking. The Chapman & Hall Enology library. p 32, 37

- Blouin, J. et Guimberteau, G. (2004). Maduración y madurez de la uva. Ed. Mundi-Prensa p 69-71

- Catania, C, Avagnina S. (1997). Curso de degustación del vino. Ed INTA p 22 y 27

- Catania, C., Avagnina S. (2007). El análisis sensorial. Curso superior de degustación de vinos. Editorial INTA. p 12

- Claudia Kini. Aspectos de la Coyuntura Mundial. Boletín de noticia OIV. Abril 2016 p 2

- Galiotti Hugo. (2014). El Mundo Vitivinícola. Ed. Ed. Uncuyo. Argentina. p 104-107

- Gresia, Fautino. (2016). Panorama Histórico de la Vitivinicultura Rionegrina. Ed. Quillahue. p 62,65 y 71

- Formento, Juan. (2011). Aislamiento, Selección y Multiplicación Comercial de Levaduras Vínicas Autóctonas de las Regiones Vitivinícolas de la Provincia de Mendoza – en Revista Enología N° 2 Año IV p 7 y 9

- Hidalgo Togores, (2003). Tratado de Enología. Tomo II. Ed. Mundi-Prensa. p 114

- Harberston Kennedy J. A. (2002). Development of seed poly-phenols in berries from *Vitis vinifera* L., cv. Shiraz. Australian Journal of Grape and Wine Research. p 244-246,

- Jackson, S; Ronald (2008). Wine Science. Principles and applications (3ª edición). California: Elsevier Inc p 572

- Martini, A. and Martin. (1990). Grape must fermentation: past and present, J. F. T. Spencer and D. M. Spencer (ed.), Yeast technology. Springer-Verlag KG, Berlin. p89 y 91.

- Nazrala, J. (2009). Composición química de mosto y vino. Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos p 21, 25, 37 y 52.

- Ofifice internacional de la vigne et du vin (OIV). Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. (1990) p 42

- Oreglia, F. (1978). Enología teórico práctica. Tomos I. Editorial Instituto Salesiano de Artes Gráficas. p 36-41

- Oreglia, F. (1980) Enología Teórico Práctica. Tomo II Ed. Salesiana p 132 y 134

- Peynaud, E. (2003). Enología práctica (conocimiento y elaboración del vino). Ed. Cuesta. p 43-47

-Ribéreau Gayon, J., Peynaud, E. Sudraud, P. (2003). Tratado de Enología: Vol. 1 Ed. Hemisferio Sur: Mundi-Prensa. p 76-79, 98 y 112.

-Unwin Tim. (1996). El vino y la viña. Ed. Tusquets, España. p 61

-Vila, H.; Paladino, S.C.; Nazralla, J.J.B.; Lucero, C. (2010) Manual de calidad de uva: guía práctica para conocer y evaluar la calidad de uva para vino. Ed. INTA. p 96.

-Zoeklein, B., Fugelsang, K., Gump, B., Fred, S. (2001). Análisis y producción de vino. Ed. Acribia, Zaragoza, España. p 83-85

-Zorbac. A, (2012). Medios de cultivo y pruebas bioquímicas. Ed. Arduluc, Lyon, France. p 231-234

-Zuluaga. M. (1971). Ecología de la vid en la República Argentina. p 43

Sitios Web consultados:

- www.inv.gov.ar/estadísticas (visitado 15 de junio del 2016).
- www.bodegasyvinos.com (visitado 5 de Mayo del 2016).
- www.oiv.int/es/actualidad-de-la-oiv/la-produccion-mundial-de-vino-en-2015-se-estima-en-2757-mill-hl (visitada el 08/06/16).
- www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/mercosur/ReglamentoVitivinicoladel%20Mercosur.pdf Reglamento vitivinícola del Mercosur (visitado 07/07/16).
- <http://www.inv.gov.ar/index.php/men-estadisticas/men-estadisticas-vitivinicolas/16-cat-estadisticas/42-est-menu-vinedos#> (visitado el 21/03/17).
- www.oiv.int/public/medias/4967/oiv-oeno-552-2016-es.pdf (visitado el 29/05/17).

8. ANEXOS (GRAFICOS Y TABLAS)

Tabla 1. Componentes del racimo y grano de uva.

Racimo	Grano
Escobajo 5%	
Grano 95 %	
Hollejo 7%	Hollejo 8%
Pulpa 84%	Pulpa 87%
Semilla 4%	Semilla 5%

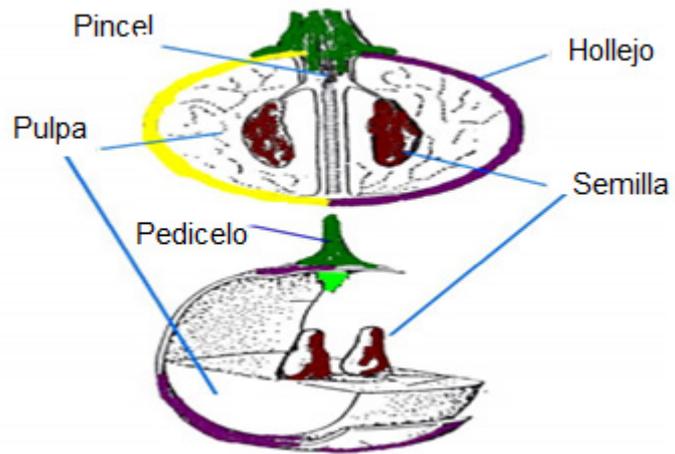


Figura 1: Baya de uva y sus componentes (Nazrala, 2009).

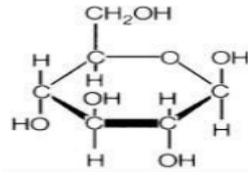


Figura 2.1: Estructura de la glucosa.

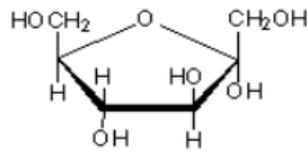


Figura 2.2: Estructura de la fructosa

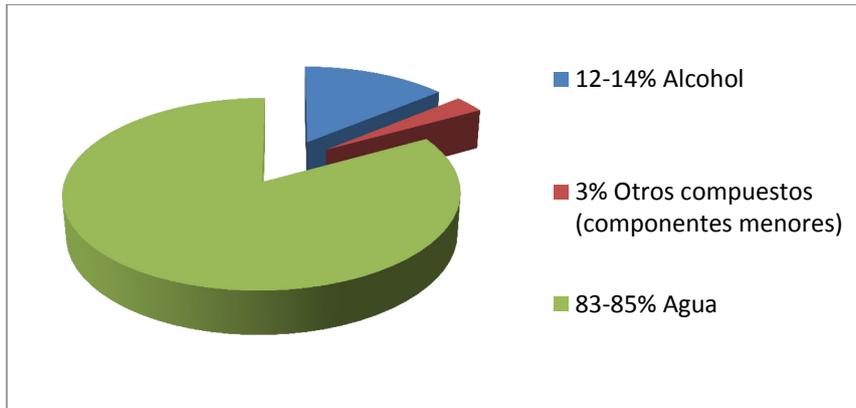


Figura 3: Componentes del vino.

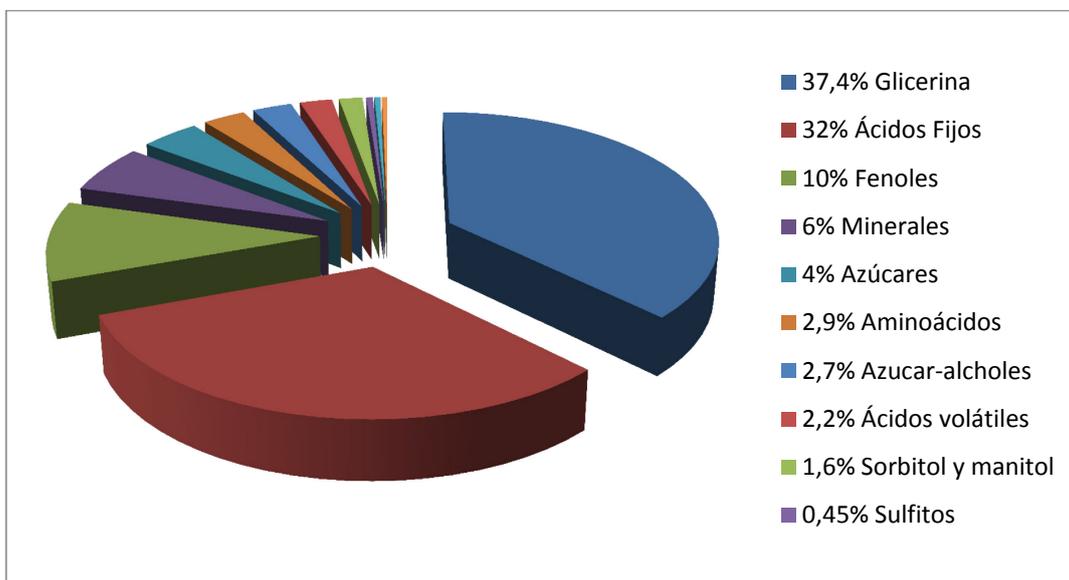


Figura 4: Abundancia tentativa de los componentes minoritarios del vino tinto (total 3%).

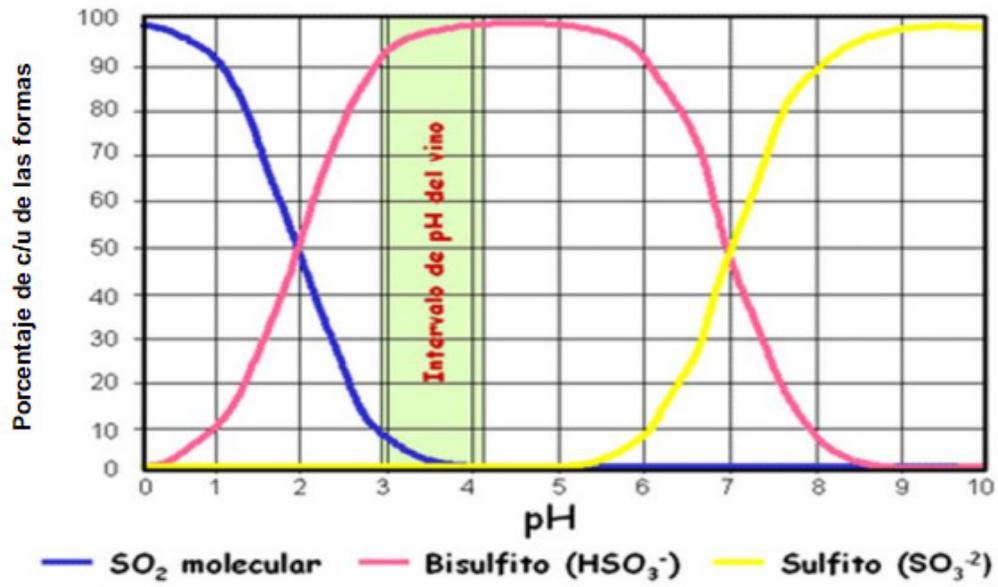


Figura 5: Equilibrio entre las diferentes formas de SO_2 en función del pH del vino (Nazrala, 2009)

Tabla 2. Distribución de los compuestos fenólicos en el grano de uva (ppm)

	Pulpa	Hollejos	Semillas
Resveratrol	0	7-8	0
Ac Fenólicos	20-170	50-200	0
Antocianas	0	500-3000	0
Flavonoles	0	10-100	0
Taninos	0	100-500	1000-6000

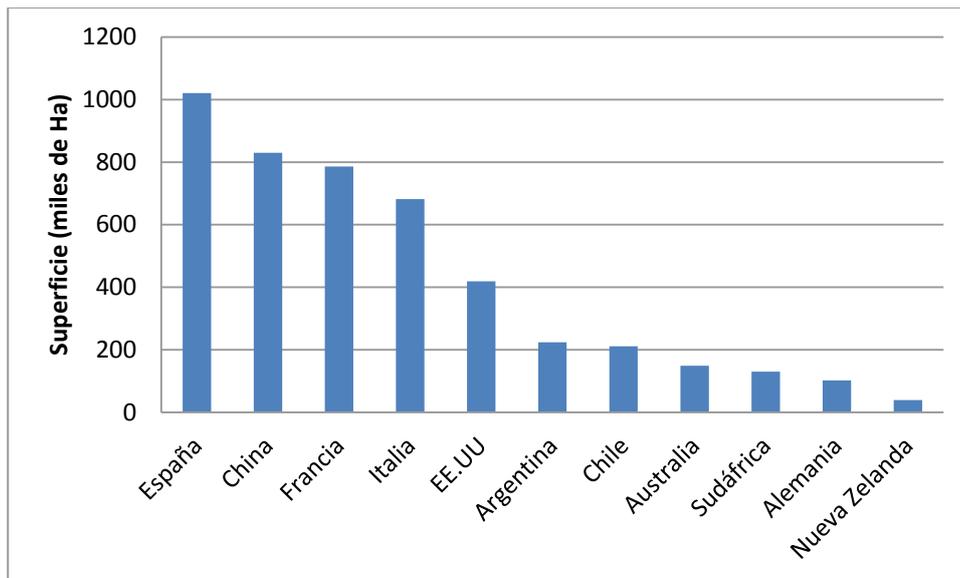


Figura 6: Superficie de vid cultivada en los principales países del mundo. (OIV, 2016)

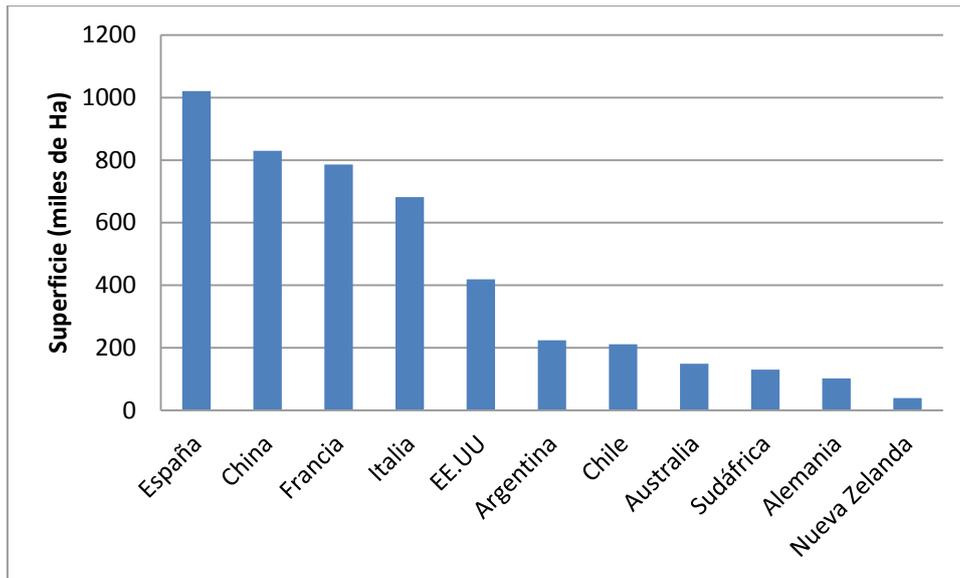


Figura 7: Producción mundial de vinos por países. (OIV, 2016)

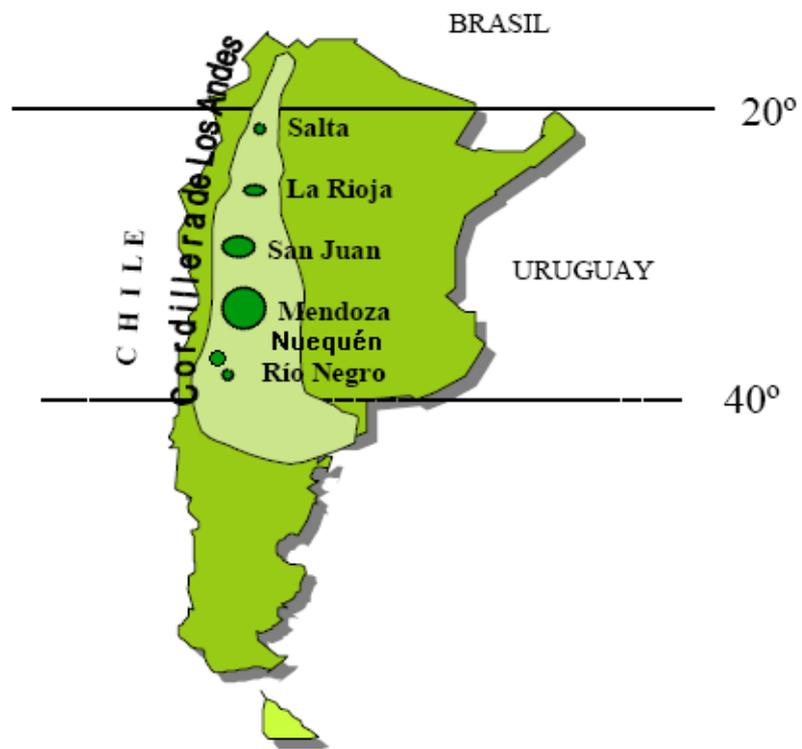


Figura 8: Regiones vitivinícolas de Argentina.

Tabla 3: Número, y superficie de viñedos según provincia (INV, 2015).

Provincia	Viñedos		Superficie	
	Cantidad	%s/total	Hectáreas	%s/total
Mendoza	16510	65,91	159648,96	71,05
San Juan	5119	20,44	47394,4	21,09
La Rioja	1237	4,94	7449,02	3,31
Salta	267	1,07	3143,8	1,40
Catamarca	1251	4,99	2678,44	1,19
Neuquén	90	0,36	1751,21	0,78
Rio Negro	269	1,07	1675,9	0,75
Córdoba	127	0,51	278,37	0,12
La Pampa	14	0,06	243,47	0,11
Buenos Aires	45	0,18	122,03	0,05
San Luis	7	0,03	102,43	0,05
Tucumán	62	0,25	98,52	0,04
Entre Ríos	20	0,08	40,13	0,02
Chubut	6	0,02	36,75	0,02
Misiones	9	0,04	17,77	0,01
Jujuy	15	0,06	17,43	0,01
S. Del Estero	1	0,00	8,8	0,00
Total	25049	100,00	224707,43	100,00

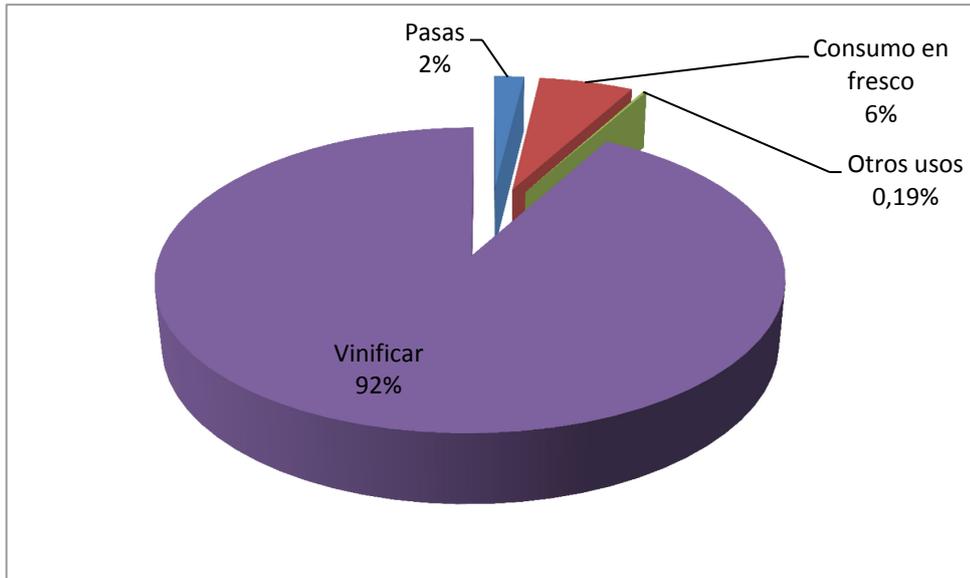


Figura 9: Destino porcentual de superficie implantada de vid en Argentina.

(INV, año 2015).

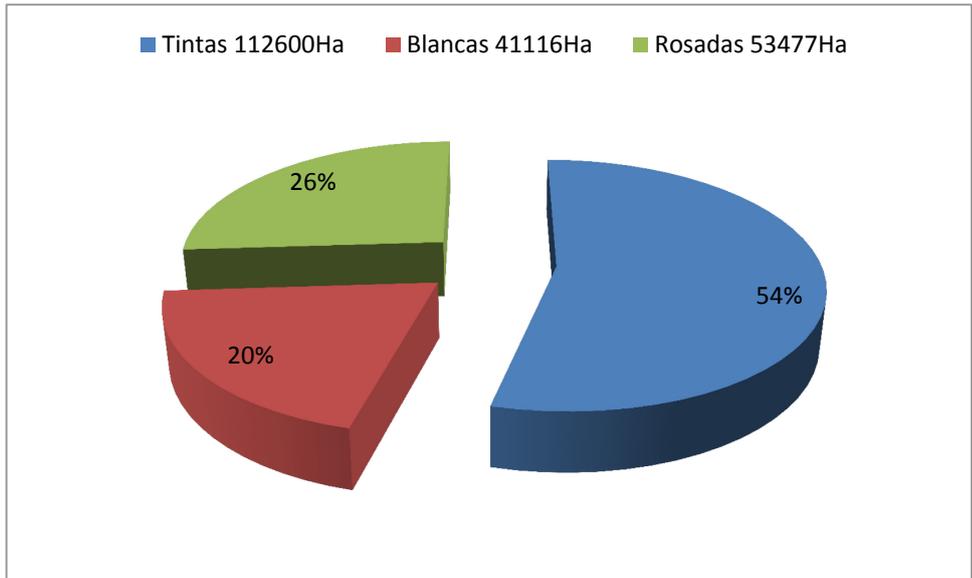


Figura 10: Distribución porcentual de uvas por color (INV, año 2015).

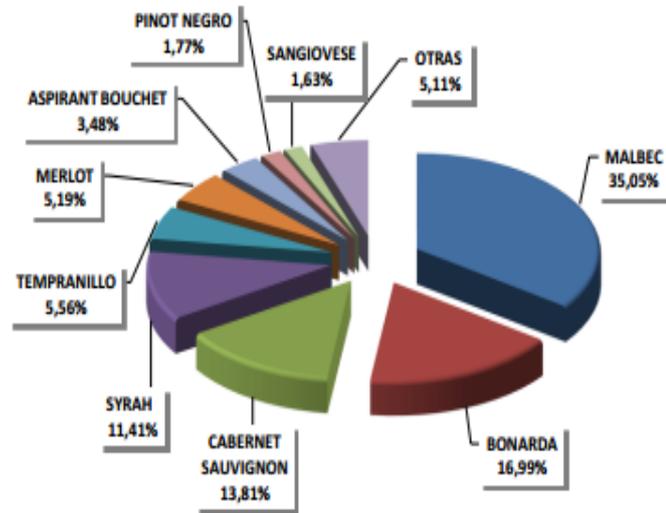


Figura 11: Distribución porcentual de cepas tintas en Argentina (*INV, año 2016*).



A



B



C

Figura 12: A) Viñedos en los que se realizó la cosecha, B) Uva Merlot empleada en este estudio, C) Uva cosechada previo a su procesamiento.



Figura 13: Levadura F 15 (*Laffort*[®]) empleada en la elaboración de vinos tintos.



Figura 14: *Determinaciones analíticas de las muestras en la Cátedra Enología e Industrias Afines de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCuyo).*

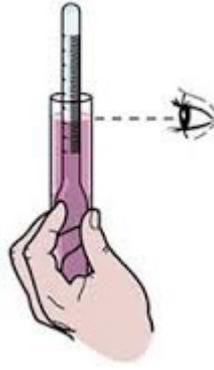


Figura 15: Determinación visual de °Be mediante la utilización del mostímetro.



Figura 16: *Determinación de pH se realiza en forma potenciométrica.*



Figura 17: Destilador empleado para la preparación de las muestras para la evaluación de acidez volátil en vinos.



Figura 18: Evaluación sensorial de los vinos realizada en la FCA UNCuyo.

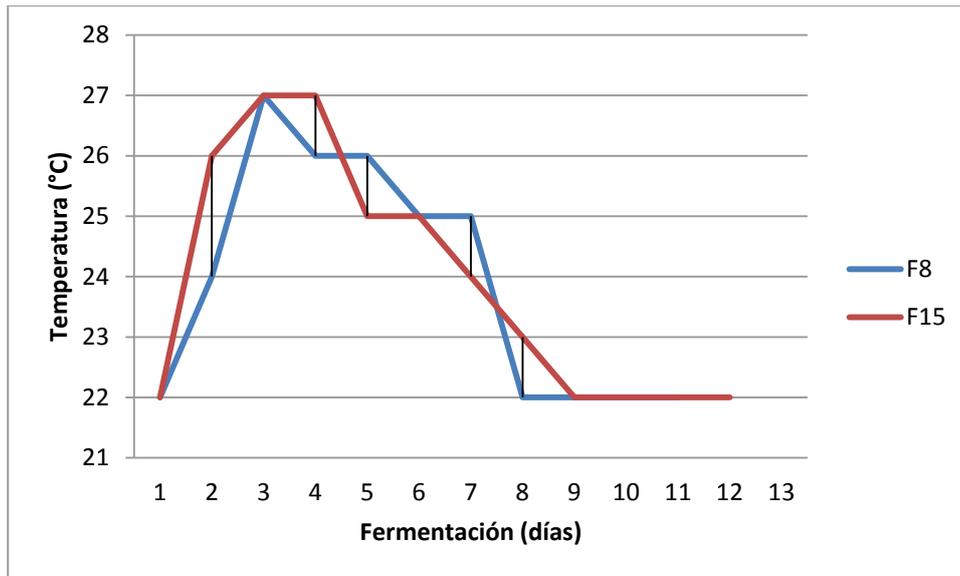


Figura 19: Dinámica de la temperatura de fermentación de las dos levaduras en estudio.

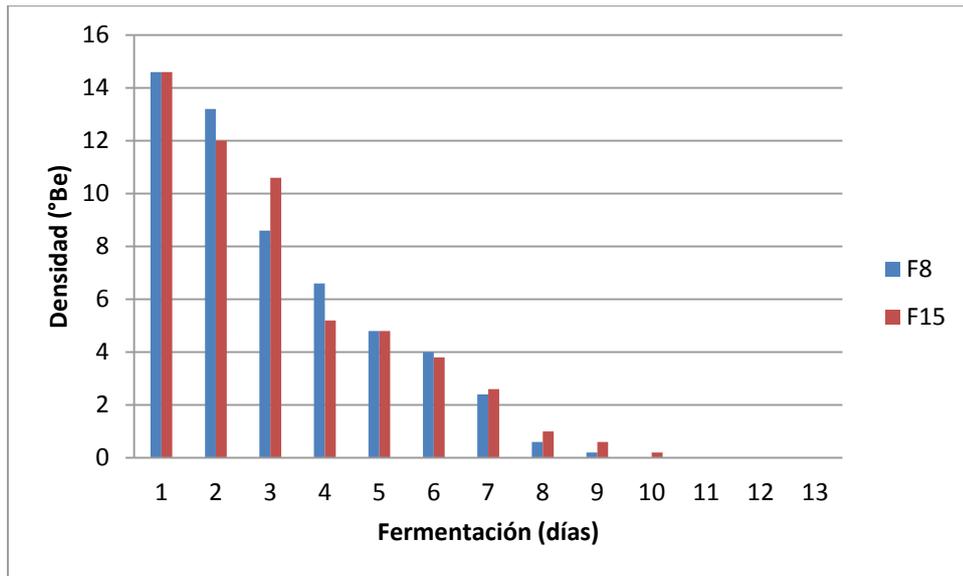


Figura 20: Densidad durante la fermentación de las dos levaduras en estudio.

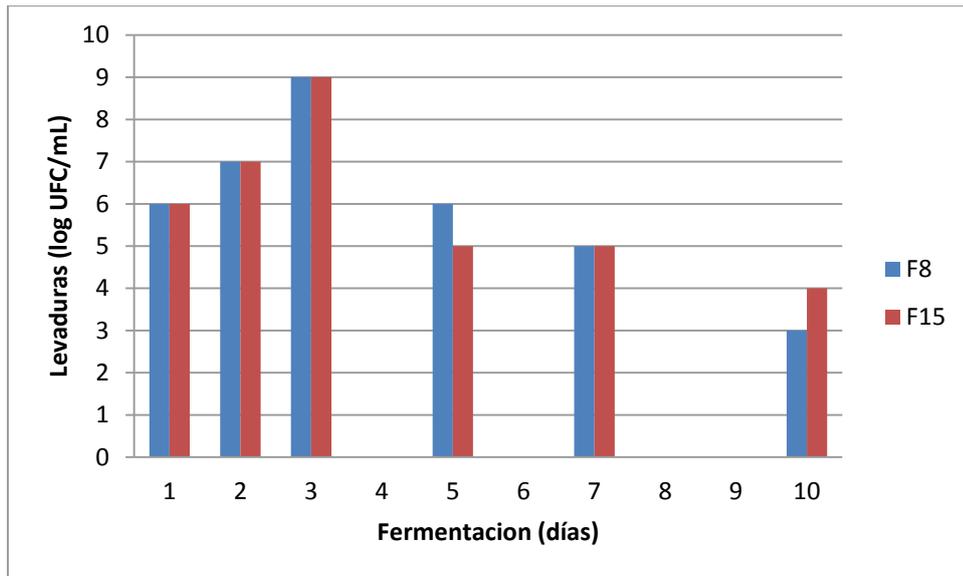


Figura 21: Recuentos de levaduras (log Unidades Formadoras de Colonias por mL) durante la fermentación de las dos levaduras en estudio.

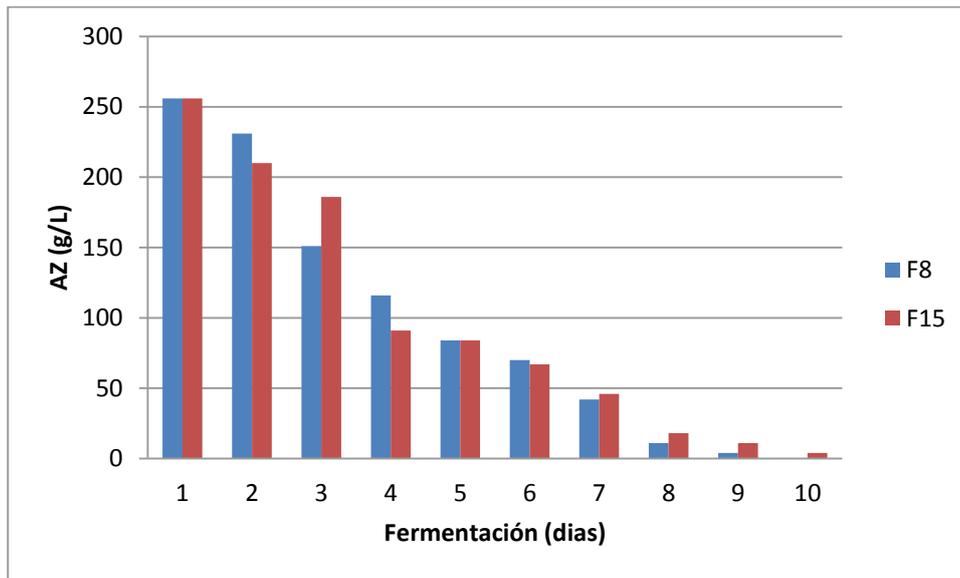


Figura 22: Cambio en el contenido de azúcares (AZ) de mostos fermentados con las dos levaduras en estudio.

Tabla 4: pH, azúcar residual, acidez titulable, acidez volátil, etanol y glicerol de los vinos fermentados las dos levaduras evaluadas en el presente estudio.

	Parámetros estudiados					
	pH	Azúcar residual (g/L)	Acidez titulable (g/L de ác. tartárico)	Acidez volátil (g/L de ác. acético)	Etanol (% v/v)	Glicerol (g/L)
Levadura F8	3,95	1,25	5,7	0,32	13,2	10,1
Levadura F15	3,95	2,3	5,7	0,38	14,1	8,65

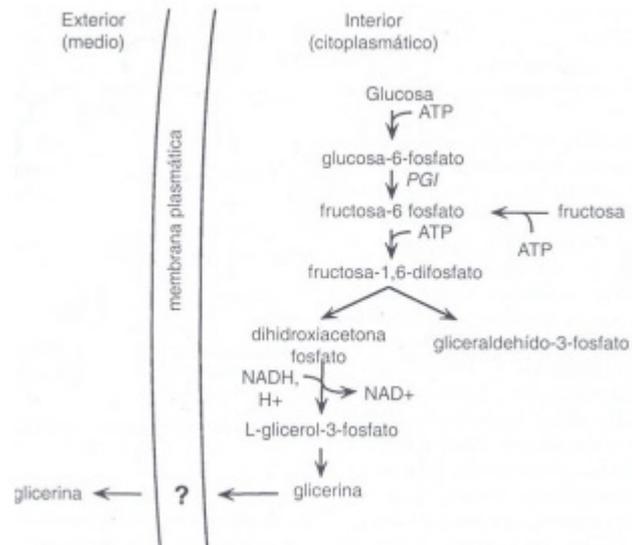


Figura 23: Esquema de la fermentación gliceropirúvica.

Tabla 5: Descripción sensorial de los evaluadores de los vinos Merlot obtenidos con levadura F8 y F15.

Atributo	Levadura	
	F8	F15
Color	rojo ladrillo	rojo ladrillo
Intensidad de color	intenso	Intenso
Apariencia de color	limpio y brillante	limpio y brillante
Intensidad de nariz	intenso	poco intenso
Calidad de nariz	media	Media
Descriptor aromáticos	pimiento, frutos rojos, manteca, cuero, especias y vainilla	pimiento verde, frutos rojos maduros levemente cocidos, especias y pimienta
Entrada en boca	suave	suave
Medio en boca	redondo	evolución levemente quemante
Final de boca	levemente amargo	amargo
Acidez	buena	buena
Cuerpo	buena	buena
Persistencia	Si	Si
Equilibrio	Si	Si
Puntuación global	7,6	6,7