

Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



Estudio de diferentes tratamientos enológicos en la elaboración de vinos tintos jóvenes de Nebbiolo y Barbera cultivadas en el municipio de Ensenada, B.C.

TESIS
PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIOINGENIERO

PRESENTA:

Anuar Manuel Heredia Lascano

Ensenada, Baja California

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

Estudio de diferentes tratamientos enológicos en la elaboración de vinos tintos jóvenes de Nebbiolo y Barbera cultivadas en el municipio de Ensenada, Baja California

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIOINGENIERO

PRESENTA:
ANUAR MANUEL HEREDIA LASCANO

Aprobada por:



Dr. Rodrigo Alonso Villegas
Director



Dra. Claudia Mariana Gómez Gutierrez
Co-director



Dr. Dante Alberto Magdaleno Moncayo
Sinodal



Dr. Priscy Alfredo Luque Morales
Sinodal

Índice general

1. Introducción.....	4
2. Antecedentes.....	5
2.1 Breve historia del vino y la vid en México.....	5
2.2 Levadura y microbiota del vino.....	6
2.3 El proceso de fermentación.....	7
2.4 Efecto de la covinificación en la elaboración de vinos tintos.....	9
2.5 Polifenoles en la vinificación de vino tinto.....	9
2.6 SO ₂ y lisozima.....	11
2.7 Variedad Nebbiolo y Barbera.....	12
2.8 Análisis sensorial.....	13
3. Objetivos.....	14
4. Materiales y métodos.....	15
4.1 Elaboración de los vinos.....	15
4.2 Análisis fisicoquímicos.....	17
4.2.1 Determinación de acidez total.....	17
4.2.2 Determinación de acidez volátil.....	17
4.2.3 Medición de dióxido de azufre libre.....	18
4.2.4 Medición de dióxido de azufre total o combinado.....	18
4.2.5 Determinación de azúcares reductores.....	19
4.2.6 Determinación de la actividad antioxidante por método de radical DPPH.....	19
4.2.7 Determinación de grado alcohólico.....	20
4.2.8 Determinación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....	21
4.2.9 Determinación del color del vino por espectrofotometría UV-Vis y espacio CIELAB.....	21
4.3 Análisis sensorial de vinos.....	22
4.4 Tratamiento estadístico.....	23
5. Resultados y discusión.....	23
5.1 Análisis fisicoquímicos de uvas.....	23
5.2 Análisis fisicoquímicos de vinos.....	24
5.2 Efecto de los tratamientos con SO ₂ y lisozima en los vinos.....	30
5.4 Análisis sensorial de vinos.....	31
5.4.1 Generación de atributos para la evaluación sensorial de los vinos.....	31
6. Conclusiones generales.....	34
7. Agradecimientos.....	35
8. Referencias.....	36

Índice de figuras

1. Factores que definen el concepto de <i>terroir</i> de una región de cultivo.....	7
2. Factores que influyen en las levaduras en el proceso de fermentación alcohólica del vino.....	8
3. Cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la maceración/fermentación.....	10
4. Equilibrio químico del sulfuroso en vinos.....	11
5. Curva de calibración promedio del ácido gálico, la concentración está expresada en mg de ácido gálico por litro. La curva promedio fue obtenida con un valor de R cuadrada 0.9994 (n = 3).....	21
6. Efecto del tratamiento de SO ₂ en el pH, acidez total, polifenoles totales, porcentaje de inhibición de los vinos mezcla y el efecto del tratamiento de la lisozima en el pH, acidez total, polifenoles totales y el porcentaje de inhibición de los vinos mezcla.....	30
7. Análisis de componentes principales (PCA) proveniente de un APG del perfil flash de los vinos Nebbiolo, Barbera, y covinificación para los atributos de aspecto, textura y olor.....	32
8. Análisis de componentes principales (PCA) proveniente de un APG del perfil flash de los vinos covinificados, levadura 1 y levadura 2 para los atributos de aspecto, textura y olor.....	33

Índice de tablas

1. Límites máximos de SO ₂ de acuerdo con el contenido de azúcar residual en vinos.....	12
2. Concentración añadida de lisozima durante la elaboración del vino.....	12
3. Tipo de tratamientos usados para vinos mezcla de las variedades Nebbiolo y Barbera.....	16
4. Análisis fisicoquímicos de mosto (n = 3) de las variedades Nebbiolo, Barbera y mezcla 50:50.....	24
5. Análisis fisicoquímicos de vinos (n = 3) monovarietales Nebbiolo, Barbera y mezcla 50:50.....	24
6. Análisis fisicoquímicos de vinos (n = 3) mezcla en comparación con tres diferentes tipos de levadura.....	26
7. Análisis de color y coordenadas cromáticas de vinos (n = 3) monovarietales de Nebbiolo, Barbera y mezcla 50:50.....	28
8. Análisis de color y coordenadas cromáticas de vinos (n = 3) en comparación con tres diferentes tipos de levaduras.....	29

RESUMEN

El objetivo de este proyecto de tesis es determinar el efecto que tienen distintos tratamientos enológicos en vinos tintos jóvenes elaborados a partir de las variedades Nebbiolo y Barbera, las cuales fueron cultivadas en el municipio de Ensenada, Baja California. Factores como la utilización de distintas cepas de levaduras para el proceso de fermentación, la utilización de distintos compuestos para la preservación del vino y métodos de vinificación como la co-fermentación son puntos claves que interfieren directamente en las propiedades organolépticas y composición química del producto terminado. En este trabajo se realizaron vinos monovarietales y de co-fermentación para comparar el efecto de este método de vinificación, así como el tratamiento con distintas concentraciones de sulfitos y lisozima y una comparación del efecto de fermentar con diferentes cepas de levaduras. Los resultados mostraron diferencias en distintos parámetros tanto sensoriales como fisicoquímicos en cada uno de estos tratamientos, proporcionando información para darnos una idea del efecto que tiene cada una de estas alternativas enológicas en el vino terminado.

Palabras clave: co-fermentación, levaduras, sulfitos, lisozima

1. INTRODUCCIÓN

El vino se define como la bebida natural obtenida exclusivamente por fermentación alcohólica, total o parcial, de uva estrujada o no, de mosto (Rebolo, 2008). La mayoría de los países productores de vinos tienen climas y suelos diferentes. Muchas de estas variedades de uva blanca o tinta, por ejemplo, Nebbiolo, Barbera, Pinot Noir, Cabernet Sauvignon son influenciadas por las condiciones edafoclimáticas para producir vinos de calidad (Contreras, 2017). Las variedades de uva tienen distinta composición de acuerdo con su origen, región de cultivo y adaptabilidad. Esto posibilita la elaboración de innumerables tipos de vinos con características distintas y personalidad propia (Lacoste, 2019).

El vino está compuesto principalmente por agua y etanol (11-15% en volumen) y en estos dos compuestos mayoritarios están disueltos todos los demás que le confieren sus cualidades y características organolépticas (Mijares, 2007). Los constituyentes fundamentales que posee un vino son:

- Ácidos orgánicos (tartárico, málico, láctico -formado a partir del anterior en la fermentación maloláctica-, cítrico, succínico y acético)
- Compuestos fenólicos (antocianos, taninos, resveratrol, etc.)

- Alcoholes (glicerol, eritritol, manitol, arabinol, etc.)
- Ésteres (acetato de etilo, butanoato, hexanoato, etc.)
- Azúcares residuales (pentosas como la arabinosa, ramnosa y xilosa, además de restos de glucosa y fructosa sin fermentar en concentraciones inferiores a 2 g/l).
- Aldehídos (acetaldehído, furfural, dional, aldehídos fenólicos provenientes de la crianza en la barrica como cinamaldehído, vainillina, etc.) y cetonas (diacetilo, acetoína, C₁₃-norisoprenoides, etc.)
- Sales inorgánicas, destacando como aniones el fosfato y el sulfato principalmente, y cationes como potasio (suele ser el mayoritario), sodio, magnesio, etc.
- Compuestos nitrogenados (aminas, amidas, aminoácidos, etc.)

Tradicionalmente, se utiliza la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para el proceso de fermentación en la elaboración del vino. La fermentación se realiza mediante la inoculación de estas cepas que se obtienen comercialmente por distintos proveedores, aunque existen métodos en los que el vino se fermenta con las levaduras que tiene la uva naturalmente (nativas), o bien, con la que se encuentra en el ambiente o lugar donde se lleva a cabo el proceso de vinificación, usualmente estos vinos son denominados “vinos naturales” (Flanzy, 2003).

Las cepas de levaduras se seleccionan en función de diversos criterios. Dichos criterios están basados en las diferentes características de fermentación que producen. Los criterios por tomar en cuenta son: desempeño de un adecuado rendimiento y tolerancia al etanol, producción de ésteres y glicerol, escasas exigencias nutricionales, una alta velocidad de fermentación y la posibilidad de su liofilización (Belda, 2014). Por otra parte, la producción de SO₂, la formación de acidez volátil, la producción de ácido sulfhídrico, espuma y la alta producción de alcoholes superiores son factores no deseables en el proceso de fermentación. Además, existen otros factores que se pueden presentar durante el proceso como son la tolerancia al SO₂, carácter “killer”, producción de compuestos que se combinan con el SO₂ y la capacidad de degradación del ácido málico (Querol y col., 1993).

La utilización de levaduras seleccionadas ha creado controversia en la industria del vino. Algunos autores (Reed & Nagodawithana, 1998; Beltran, 2002) consideran que la inoculación de levaduras seleccionadas no es muy conveniente, porque éstas inhiben el crecimiento de las levaduras naturales presentes en el mosto, algunas de las cuales son responsable de los aromas. Sin embargo, se ha demostrado lo contrario: la inoculación de levaduras seleccionadas no disminuye el desarrollo de las levaduras naturales presentes en los primeros

días de fermentación; los vinos elaborados con cepas seleccionadas presentan excelentes características, tanto organolépticas como de calidad, y deben mantenerse durante la guarda del vino (Ciani y col., 2016).

Por lo tanto, este trabajo pretende analizar el efecto que tienen distintas levaduras y su aporte en el proceso de vinificación para elaborar vinos tintos jóvenes de las variedades Nebbiolo y Barbera. El objetivo es determinar el perfil químico y sensorial de los vinos elaborados con tres levaduras comerciales y evaluar su efecto en los tratamientos de co-vinificación, SO₂ y liozima.

2. ANTECEDENTES

2.1 Breve historia del vino y la vid en México

La historia del vino en México se empieza a desarrollar durante la colonización española ya que las primeras vides europeas que se plantaron en el país fueron traídas por los conquistadores españoles, las vides fueron adaptadas a su nueva ubicación y fueron lo suficientemente productivas para elaborar al mismo tiempo vino y aguardiente (INAES, 2018).

Los vinos mexicanos empezaron a producirse seriamente hasta 1920, la implantación de variedades de uvas seleccionadas, la instalación de cavas de vinificación integrando los progresos enológicos, los esfuerzos comerciales y educativos de las grandes marcas, el mejoramiento del nivel de vida de la clase media, han suscitado un vivo interés hacia una costumbre de consumo del vino (López, 2020).

2.2 Levadura y microbiota del vino

El concepto de levadura como microorganismo responsable de llevar a cabo la fermentación no fue desarrollado hasta finales del siglo XIX con los trabajos de Pasteur y otros investigadores, que revelaron por primera vez la actividad microbiana que subyace detrás del proceso de fermentación (Belda y col., 2014).

Las levaduras son los microorganismos más importantes en el proceso de vinificación, ya que realizan la fermentación alcohólica, pueden deteriorar el vino durante la conservación y afectan a la calidad de los vinos a través de su autólisis (lías). Actualmente la taxonomía reconoce la existencia de unas 500 especies de levaduras, de las cuales solamente 15 a 20 especies,

englobadas en unos 8 géneros, tienen interés en Enología. Algunos de estos géneros son: *Cándida*, *Pichia*, *Hansenula*, *Brettanomyces*, *Kloeckera*, *Zygosaccharomyces*, *Torulaspota* y *Saccharomyces*.

La práctica de usar cultivos puros de levaduras seleccionadas comenzó con Pasteur y Hansen, aplicándose inicialmente sólo a la fabricación de cerveza. A principios del siglo XX se comienza en Europa a usar cultivos puros de levaduras en vinificación, al igual que en Sudáfrica, donde este proceso comienza en 1910. La elaboración de vinos de calidad involucra el uso de levaduras seleccionadas que confieren ciertas características a los vinos. Esta calidad se debe mantener para un tipo de mosto y elaboración con el propósito de evitar problemas asociados al crecimiento de otros microorganismos silvestres no deseados (Regodón, 1997).

Hay levaduras nativas, indígenas o salvajes que se encuentran en la uva cuando esta llega a la bodega, su diversidad depende de las condiciones climáticas, tipo del cultivo, plaguicidas, etc. Estos microorganismos pasan la mayor parte del tiempo en el suelo del cultivo, pero durante la vendimia y con ayuda del viento o insectos llegan hasta la pruina (capa cerosa que recubre las bayas).

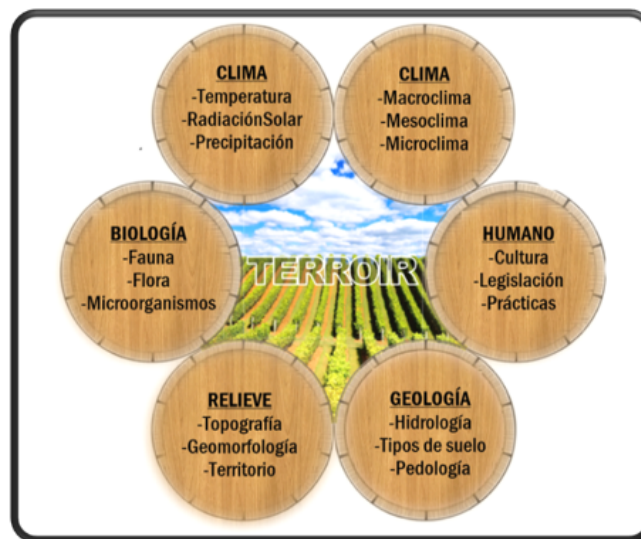


Figura 1. Factores que definen el concepto de *terroir* de una región de cultivo (Pretorius, 2020).

La microbiota final encontrada en el mosto de uva se ve afectada, de modo indirecto, tanto por los factores determinantes para los microorganismos “nativos” del viñedo, como los que se encuentran en la bodega (Álvarez, 2011). Además, hay otros factores que influyen como el método de vendimia (manual o mecánico), tiempo y traslado de las uvas hacia la bodega,

temperatura de uvas, pretratamiento del mosto, higiene del material empleado, aireación, tratamiento enzimático, sulfitado, clarificación, temperatura, inóculo con iniciadores de fermentación, etc. (Rojas, 2005). En la Figura 1 se muestra el grupo de factores que involucran el concepto de *terroir* en la producción de vinos (biológicos, químicos, climáticos, culturales, topográficos, geológicos).

2.3 El proceso de fermentación

La fermentación es un proceso bioquímico y natural, en el que interactúan de manera secuencial varios microorganismos como hongos, levaduras, bacterias lácticas, acéticas, así como microvirus y bacteriófagos, que interfieren en la relación uva-microorganismo. Entre todos estos las levaduras son el pilar fundamental sobre el que se asienta el proceso de fermentación durante la vinificación (Álvarez, 2011).

En el caso del vino hay dos tipos de fermentación que intervienen en el proceso de vinificación: fermentación alcohólica y fermentación maloláctica. La fermentación alcohólica se puede definir como el proceso mediante el cual los carbohidratos (azúcares) contenidos en el mosto son metabolizados por levaduras del género y especie *Saccharomyces cerevisiae* y transformados principalmente a alcohol (etanol), con otros compuestos químicos secundarios que pueden llegar a marcar las diferencias entre un vino u otro.

Por ejemplo, el glicerol y el ácido pirúvico, que se forman en los primeros pasos de la fermentación alcohólica, son precursores de productos secundarios de gran importancia sensorial. El glicerol aporta al vino un sabor dulce que le atribuye una textura aterciopelada. Sin embargo, no todos los compuestos secundarios aportan características organolépticas de calidad al vino, hay productos que se deben evitar como por ejemplo el ácido acético, el cual, si no se controla su producción, altas concentraciones puede afectar seriamente la calidad de un vino otorgándole un olor y sabor avinagrado.

El proceso de fermentación alcohólica puede durar desde aproximadamente 10 días hasta dos semanas para vinos tintos y entre 10 y 15 días para vinos blancos, según el tipo de vino que se desee obtener por el enólogo. Usualmente este tipo de fermentación se da en tanques o fermentadores de acero inoxidable, pero también pueden llevarse a cabo en barricas. En la Figura 2 se presentan los factores que influyen en las levaduras inoculadas durante la fermentación del vino.

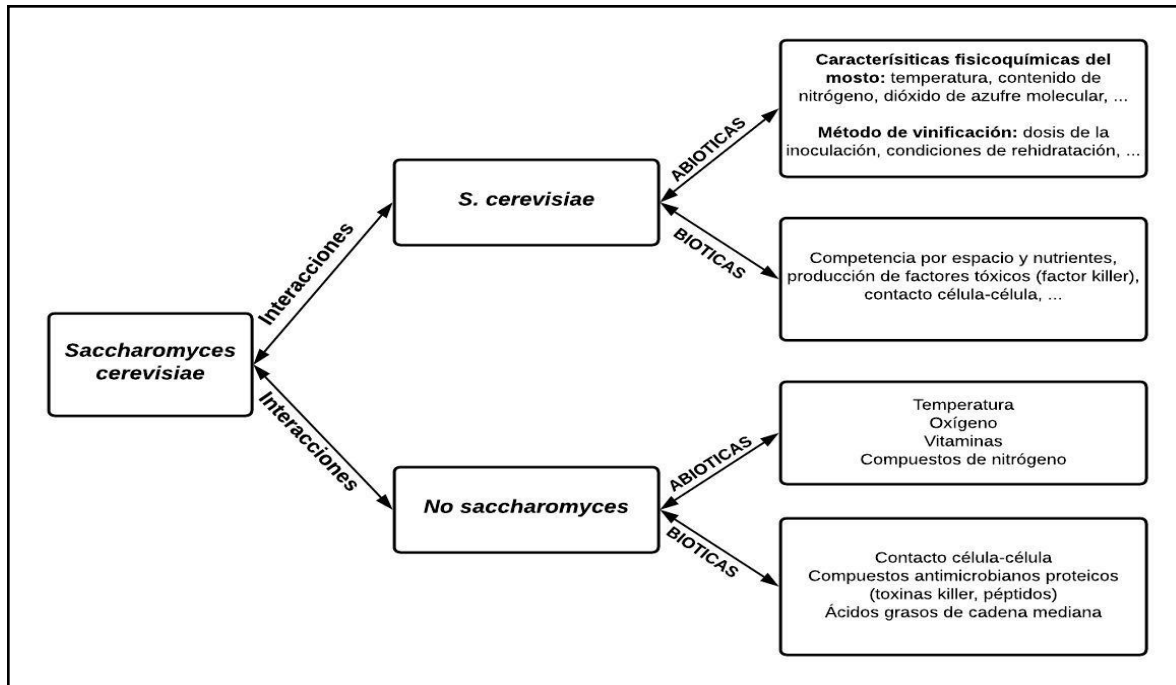


Figura 2. Factores que influyen en las levaduras durante la fermentación alcohólica del vino (Ciani y col. 2016).

Una vez concluida la fermentación alcohólica, inicia la fermentación maloláctica o también llamada transformación maloláctica. En este proceso no están involucradas levaduras, las bacterias lácticas se encargan de transformar el ácido málico en ácido láctico con el propósito de disminuir la acidez del vino. Cabe destacar que ambos tipos de fermentación pueden ocurrir de forma espontánea gracias a la microbiota natural que posee la vid y la uva, así como también pueden ser inducidas mediante la inoculación de levaduras o bacterias comerciales para cada caso.

2.4 Efecto de la covinificación en la elaboración de vinos tintos

Respecto al proceso de elaboración de vino, la covinificación es una técnica muy común ampliamente usada en la industria del vino (Unterkofler et al., 2020). La covinificación es una practica que se basa en combinar dos o mas variedades de uvas diferentes durante el proceso de maceración y fermentación, lo cual mejora la estabilidad del color, los compuestos aromáticos, estabilidad fenólica y su potencial para guarda en comparación a vinos tintos y blancos monovarietales. (Casassa et al., 2020; Diago-SantaMaría, 2003; Lorenzo et al., 2005), por ejemplo: Cencibel, Bobal, Moravia dulce y agria (Gómez Gallego et al., 2012; Gómez

García-Carpintero et al., 2011; Sánchez-Palomo et al., 2018); Syrah, Viogner, Marsanne, Rousanne, Picpoul y Grenache blanc (Cassana et al., 2020).

2.5 Polifenoles en la vinificación de vino tinto

La vinificación en tinto es un proceso verdaderamente complejo en el que tienen lugar de forma simultánea dos fenómenos: la fermentación alcohólica y la maceración. Es precisamente la superposición de estos dos fenómenos la que condiciona el desarrollo de la cinética de solubilización de las moléculas responsables del color y astringencia en el vino. En la Figura 3 se muestra la cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la fermentación/maceración (Ribéreau-Gayon y col., 2006).

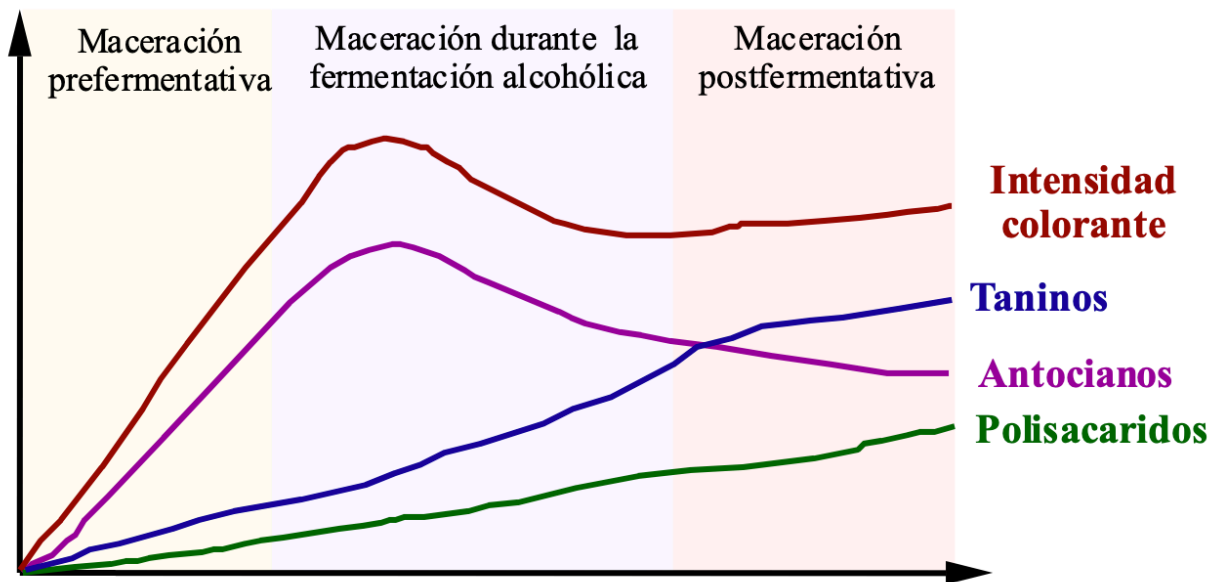


Figura 3. Cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la maceración/fermentación.

Los antocianos se extraen relativamente rápido, si bien la velocidad de solubilización dependerá del nivel de madurez fenólica de la uva, así como de diversos factores tecnológicos. De hecho la máxima extracción de los antocianos tiene lugar en pocos días, para después observarse una tendencia a la disminución, debido principalmente a fenómenos de oxidación, precipitación y adsorción. Un comportamiento similar se observa en la intensidad colorante, si bien su disminución es en ocasiones más marcada, debido a que la aparición del etanol disminuye los fenómenos de copigmentación y a que se forman combinaciones antociano-flavanol, algunas de las cuales son inicialmente incoloras (Zamora, 2003).

Los taninos se solubilizan más lentamente. De hecho durante la maceración prefermentativa, al no haber etanol en el medio y al ser las temperaturas moderadas, su extracción es muy limitada. Posteriormente al aparecer alcohol en el medio durante la fermentación alcohólica y al aumentar la temperatura del medio, se favorecerá su solubilización.

Es necesario también distinguir entre los taninos de la piel y los de las semillas, ya que su cinética de extracción es diferente. Los taninos de la piel comienzan a solubilizarse conjuntamente a los antocianos, si bien su extracción se prolonga más tiempo. Por el contrario, los taninos de las semillas no se solubilizarán hasta la mitad de la fermentación, cuando el alcohol haya disuelto la cutícula. Por todo ello, la tanicidad del vino se incrementa a medida que se alarga la maceración (Ribéreau-Gayon y col., 2006).

Los polisacáridos procedentes de la piel de la uva siguen una cinética de extracción compleja, ya que su solubilización se inicia rápidamente, pero una parte de ellos puede precipitar en presencia de etanol (Ribéreau-Gayon y col., 2006). Por otra parte, los polisacáridos y manoproteínas procedentes de la autólisis de las levaduras pueden ser liberados parcialmente durante la maceración postfermentativa. En su conjunto, la concentración en polisacáridos tiende a incrementarse a lo largo del proceso de maceración, contribuyendo a incrementar las sensaciones de volumen en boca y de untuosidad (Saucier y col., 1999; Fuster, 2001).

2.6 SO₂ y Lisozima

El sulfuroso existe en diferentes formas en el vino (Figura 4). Se encuentra en formas libres y combinadas, siendo una de las formas libres, la forma molecular "SO₂" (dióxido de azufre), la que posee las propiedades antioxidantes y antisépticas. La forma combinada está compuesta por el sulfuroso unido a otros compuestos que se encuentran en el vino como los polifenoles, aldehídos y cetonas. El "sulfuroso libre" sumado al "sulfuroso combinado" es lo que se conoce como "sulfuroso total".

250-300	Protección del vino durante la fermentación alcohólica (FA) y estabilización del vino después de la FML
500	Inhibición completa de la FML

2.7 Variedad Nebbiolo y Barbera

La variedad de uva Nebbiolo para la producción de vino es originaria del norte de Italia. Esta variedad es cultivada en los principales valles de Baja California y es apreciada por los viticultores por la alta calidad del vino que produce (Cabello y col., 2017). Se adapta bien a suelos calcáreos y, por el contrario, en suelos arenosos su vino pierde rápidamente estructura. No obstante, lo anterior, las variaciones de este varietal son consecuencia de la adaptación al clima y ambientes diversos. Su madurez es muy tardía, siendo este varietal uno de los últimos en madurar y alcanzar este punto hasta los meses de octubre y noviembre (Gil y col., 2015).

Sus vinos tienen baja intensidad colorante y generalmente necesitan de un considerable periodo de guarda para suavizar la sequedad y astringencia de sus taninos. Transcurrido este periodo los vinos presentan un característico matiz naranja.

La variedad Barbera es de origen italiano, extensamente plantada en la región del Piamonte en Italia. Presenta muchas mutaciones y variaciones clonales en cuanto a tamaño y forma de sus racimos. Está emparentada con la Mourvedre (Gil y col., 2015). Es una variedad de buen vigor, pero no excesivo y de producción constante. Su brotación es precoz a media lo cual la hace sensible a heladas tardías de primavera. Se adapta a una amplia gama de suelos, pero prospera mejor en los de baja fertilidad, calcáreos y algo arcillosos (Peters, 2007).

Sus vinos son de color intenso, bajo contenido de taninos y altos niveles de acidez, particularmente málica. Cuando son jóvenes, los vinos presentan un intenso aroma de frutos frescos y flores. Apta para producir vinos de cuerpo con gran aptitud para el envejecimiento, siendo favorable el uso de barricas muy tostadas para aumentar su complejidad con notas de vainilla.

2.8 Análisis Sensorial

El Análisis Sensorial o Evaluación Sensorial se define como el análisis de los alimentos u otros materiales a través de los sentidos (Anzaldúa-Morales, 1994), siendo la disciplina científica utilizada para cuantificar, analizar e interpretar las reacciones de cada persona ante los estímulos percibidos por los sentidos. La aplicación rigurosa de las técnicas de Análisis Sensorial en Enología constituye hoy en día una herramienta insustituible en la valoración de las características organolépticas de los vinos.

En el Análisis Sensorial se distinguen básicamente tres tipos de pruebas: pruebas de preferencia y aceptación, pruebas de discriminación o diferencia y pruebas descriptivas (Fortin & Desplancke, 2001; Noble & Lesschaeve, 2006):

- Las pruebas de preferencia y/o aceptación proporcionan una guía a la hora de identificar los factores que influyen en las preferencias de los consumidores, ya que no se realizan con paneles de personal experto, sino con grupos de consumidores. Se apoyan en el grado de preferencia o en una medida que permita determinar la preferencia relativa.
- Las pruebas de discriminación o diferencia permiten distinguir adecuadamente las muestras entre sí. Estas pruebas se emplean cuando las diferencias entre productos son tan pequeñas que no pueden ser detectadas (es el caso de las pruebas triangulares, donde hay que señalar cuál de las tres muestras proporcionadas es distinta a las otras dos).
- En cuanto a las pruebas descriptivas, se utilizan para determinar la naturaleza y la intensidad de las diferencias y consisten en examinar los atributos de los alimentos (olor, textura, sabor, etc.) para obtener una descripción detallada de los mismos. Los catadores entrenados utilizan un vocabulario específico y común generado previamente.

La elección de una prueba se realiza en función del objetivo que se persiga con la aplicación del Análisis Sensorial a un producto determinado. De todas las pruebas sensoriales, el Análisis Sensorial Descriptivo (ASD) es el método que proporciona más información y más atractivo para investigación, sobre todo en el desarrollo y caracterización de nuevos productos.

La finalidad del ASD es describir con la máxima eficacia, el producto a analizar, de manera que tenga una carta de identidad precisa, reproducible y comprensible para todos. El análisis puede incluir todos los atributos del producto o puede limitarse a los que se perciben solo por algunas vías, por ejemplo: el color, aroma, sabor y sensación táctil.

En el campo de la Enología, el Análisis Sensorial Descriptivo ha tenido y tiene múltiples aplicaciones. Así se ha utilizado para caracterizar cuantitativamente vinos de distintas variedades de uva como Zinfandel (Noble & Shannon, 1987), Chardonnay (Ohkubo y col., 1987; Francis y col., 1992), Cabernet Sauvignon (Heymann & Noble, 1987; Heymann & Noble, 1989) o Shiraz (Abbott y col., 1991).

3. OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el efecto de las levaduras comerciales en el proceso de vinificación de vinos tintos de las variedades Nebbiolo y Barbera cultivadas en el municipio de Ensenada, Baja California.

Objetivos específicos

- Analizar el efecto de la adición SO_2 y lisozima de los vinos tintos elaborados de las variedades Nebbiolo y Barbera de acuerdo con la técnica de vinificación tradicional.
- Determinar las características fisicoquímicas y sensoriales de los vinos tintos elaborados con los diferentes tratamientos (levaduras comerciales, SO_2 y lisozima).
- Comparar el perfil químico y sensorial de los vinos monovarietales y de co-vinificación en función de los diferentes tratamientos enológicos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Elaboración de los vinos

Las muestras que se analizaron en este estudio fueron vinos tintos elaborados de manera tradicional en tres lotes de uvas tintas, Nebbiolo y Barbera como monovarietales, y la mezcla (50:50) de ambas variedades para evaluar el efecto de la co-vinificación en parámetros como el color y el contenido polifenólico de los vinos en comparación con los monovarietales.

Las uvas utilizadas para elaborar el vino provienen del Rancho Cortes localizado en el Valle de Guadalupe del municipio de Ensenada, Baja California (32°00'46" N 116°41'49" W); estas

fueron cosechadas cuando alcanzaron su madurez óptima. El proceso de vinificación se llevó a cabo en la vinícola Concierto Enológico (32°02'11" N 116°41'04" W).

Para la elaboración de los vinos se utilizó una cantidad de 20 kg de uva Nebbiolo y 20kg de Barbera para los vinos monovarietales, y 10 kg de cada varietal para elaborar el vino de covinificación. Los diferentes tipos de vino fueron elaborados con las siguientes proporciones de uva (% w/w): dos vinos monovarietales, 100% Nebbiolo (Neb), y 100% Barbera (Bar); un vino de covinificación con 50% Nebbiolo y 50% Barbera (Nb-Ba), El vino de covinificación se utilizó con diferentes tratamientos de sulfitos (50, 100, 125 y 150 ppm), lisozima (50, 100, 150 y 200 ppm); adicionalmente, este vino fue fermentado con dos levaduras distintas (FX10; Zymaflore y RX60; Zymaflore).

El proceso de maceración-fermentación se realizó siguiendo el método tradicional de vinificación en tinto. Las uvas fueron despalladas y prensadas; la mezcla homogenizada (mosto y partes sólidas de la uva) fue distribuido en cubas de cristal de 20 litros para la fermentación.

La levadura seleccionada de los vinos monovarietales y uno de co-vinificación fue *Saccharomyces cerevisiae* (BRL97TM; Lavin). Se utilizó como inóculo esta levadura y la fermentación se mantuvo a 24° C. Los sombreros de la fermentación fueron remontados manualmente dos veces al día hasta que la fermentación alcohólica terminó y la densidad relativa alcanzó un valor constante.

Una vez que la fermentación alcohólica terminó, el vino fue trasegado para separar los hollejos y semillas de la cuba de cristal. Después, la fermentación maloláctica fue inducida mediante la inoculación del cultivo de bacterias lácticas *Oenococcus oeni* (LACTOENOS® 450 PreAc; Laffort). Esta segunda fermentación terminó en dos semanas, según lo confirmado por el ensayo de cromatografía en capa fina. Una vez terminada la fermentación, los vinos fueron trasegados obteniendo aproximadamente 15 litros de volumen final para cada vinificación.

Finalmente, la filtración de los vinos se realizó con filtros de membrana de celulosa con un diámetro de porosidad de 1.2 µm (Millipore, Bedford, MA, USA) y almacenados en un cuarto acondicionado a una temperatura controlada entre 16-18° C para su posterior análisis. Debido a que todos los experimentos fueron llevados a cabo por duplicado, se obtuvieron un total de 12 muestras producidas. Se aplicaron 4 dosis distintas de sulfitos y 4 dosis distintas de lisozima a los tres vinos, los cuales se presentan en la tabla 3.

Compuesto	Tratamiento	Vino mezcla
SO ₂	1	50 ppm
	2	100 ppm
	3	125 ppm
	4	150 ppm
Lisozima	5	50 ppm
	6	100 ppm
	7	150 ppm
	8	200 ppm

Tabla 3. Tipo de tratamientos usados para los vinos mezcla (50:50) de las variedades Nebbiolo y Barbera.

4.2 Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos se realizaron mediante la determinación de °Brix, pH, acidez volátil, acidez total, grado alcohólico, azúcares residuales, sulfitos libres y totales basados en los métodos oficiales de acuerdo con la Organización Internacional de la Viña y el Vino (O.I.V., 2021).

4.2.1 Determinación de acidez total

El mosto de uva y los vinos son disoluciones diluidas de ácidos tales como el tartárico, málico, cítrico, láctico, acético, succínico, etc. La acidez total de un vino se define como la suma de ácidos que se pueden neutralizar a pH = 7.0 (hasta pH = 8.2, que es el valor de pH al cual se han neutralizados todos los ácidos de la muestra), por adición de una solución alcalina. La determinación se ve afectada en los vinos jóvenes o espumosos por el dióxido de carbono disuelto, el cual se puede eliminar agitando la muestra al vacío.

Se tomaron 5 mL de muestra, y se transfieren a un vaso de 50 mL, enjuagando las paredes con 10-25 mL de agua destilada. Se valora la disolución con NaOH 0.1 N hasta llegar a un pH de 8.2 indicador de la neutralización de la muestra.

La acidez se expresó en gramos de ácido tartárico por litro de vino utilizando la siguiente fórmula:

$$g \text{ ácido tartárico/L vino} = \frac{\text{mL NaOH gastados} * \text{Normalidad NaOH} * \text{meq de ácido tartárico/L}}{\text{Volumen de la muestra (mL)}}$$

4.2.2 Determinación de acidez volátil

La acidez volátil está constituida por el conjunto de ácidos grasos pertenecientes a la serie del acética (acético, fórmico, propiónico y butírico) que se encuentran en los vinos, ya sean en estado libre o en forma de sal. La acidez volátil se determina mediante la separación de los ácidos volátiles por arrastre de vapor de agua. Se debe evitar con precaución la presencia de gas carbónico en el destilado.

La determinación se basa en la destilación fraccionada del vino utilizando el vapor de agua para el arrastre de los ácidos. Se requiere de un equipo de destilación y reactivos como NaOH 0.01 N y un indicador (fenolftaleína al 1%). La muestra de vino se añadió en la cámara interna del destilador y en la externa se agrega el agua, esta hirvió por 3 minutos.

Después, los ácidos presentes en la muestra son arrastrados con el vapor del agua hervido al matraz receptor. Se recogieron aproximadamente 150 mL, y al destilado se le agregaron dos gotas de fenolftaleína al 1% y se valoró con NaOH a 0.01 N hasta que se obtuvo una coloración rosa claro persistente. El cálculo necesario para expresar los gramos de ácido acético por litro de vino es la siguiente:

$$g \text{ de ácido acético/L vino} = \text{mL de NaOH 1.0 N gastados} * 0.006 * 40$$

4.2.3 Medición de dióxido de azufre libre

Se tomaron 50 mL de vino con pipeta volumétrica y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Después, se agregaron 5 mL de H₂SO₄ 1:3 y 3 mL de almidón al 2%. Finalmente, se tituló con yodo N/50. El punto final de la titulación se alcanzó cuando la disolución adquirió un color azul persistente y se registraron los mL gastados de solución N/50 de yodo (V1).

4.2.4 Medición de dióxido de azufre total o combinado

Se tomaron 50 mL de vino con pipeta volumétrica y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL; a continuación, se agregaron 25 mL de solución de KOH y se puso a reaccionar con el vino durante 15 minutos. Después, se agregaron 10 mL de H₂SO₄ 1:3 y 3 mL de almidón al 2%. Titular con yodo N/50. El punto final de la titulación se verifica cuando el líquido tiene color azul persistente. Registrar los mL utilizados de solución N/50 de yodo (V₂).

Cálculo de resultados:

Se considera que 1 mL de solución de yodo N/50 reacciona con 0,64 mg de SO₂

a) Anhídrido sulfuroso libre:

$$\text{SO}_2 \text{ libre (mg/L)} = V_1 \text{ (mL)} \times 0.64 \times (1000/50)$$

$$\text{SO}_2 \text{ libre (mg/L)} = V_1 \text{ (mL)} \times 12.8$$

V₁: mL de yodo N/50, gastados en titulación

b) Anhídrido sulfuroso total:

$$\text{SO}_2 \text{ Total (mg/L)} = V_2 \text{ (mL)} \times 12.8$$

V₂: mL de yodo N/50, gastados en titulación previa adición de KOH

4.2.5 Determinación de azúcares reductores

Se colocaron 45 mL de vino en una probeta, y se agregaron 5 mL de acetato de plomo al 25 % medidos con pipeta y 5 g de carbón activado. Después, se homogenizó y se dejó en reposo 10 minutos. Enseguida, se filtró la muestra con embudo kitasato para coleccionar el filtrado.

Se llenó la bureta con el filtrado obtenido en el paso anterior. Se colocó 15 mL del reactivo de Fehling en el matraz erlenmeyer medidos con pipeta. Después, se agregó agua destilada hasta alcanzar un volumen de 50 mL, se homogenizó y se llevó a ebullición.

La titulación comenzó cuando la muestra empezó a ebullición, se detiene la titulación cuando el líquido pasó de un color azul oscuro a un azul claro, después se agregaron 2 a 3 gotas de azul de metileno. Finalmente, la titulación terminó cuando apareció una coloración amarilla en el líquido y se registraron los mL gastados. Si el valor de azúcares reductores en el vino es mayor a 10 g/L se diluye el filtrado y realizar nuevamente la titulación.

Cálculo de resultados:

$$\text{Azúcares reductores (g azúcar/L vino)} = 45/n$$

Azúcares reductores (g azúcar/L vino) = $45/n \times D$

n: mL gastados de reactivo de Fehling en titulación

D: dilución efectuada en el vino, si el mismo contiene más de 10 g azúcar L-1

4.2.6 Determinación de la actividad antioxidante (método del radical DPPH)

El procedimiento analítico consiste en la adición de un volumen de 100 μ L de una dilución del producto o extracto fenólico cuya actividad antioxidante se pretende determinar a 2.9 mL de disolución metanólica del radical DPPH 6×10^{-5} M a intervalos de un minuto, mediante el uso de un Espectrofotómetro UV-Vis para medir la disminución de absorbancia a 515 nm hasta alcanzar el estado estacionario. Para que la medida sea válida se aconseja que la absorbancia en el punto final esté comprendida entre el 20 y el 80% de la absorbancia inicial del radical DPPH.

Finalmente, los resultados se expresaron como actividad antioxidante total equivalente (TAAE) medidas como milimoles equivalentes de Trolox por litro de vino (mmoles Trolox/L) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{TAAE} = (\text{Abs}_d - a)/b$$

Donde Abs_d es el % de la absorbancia del DPPH que permanece tras 25 minutos de reacción con la muestra problema (siempre deberá estar entre el 20 y el 80%), a es la ordenada en el origen de la curva de calibrado del Trolox y b es la pendiente de la curva del calibrado del Trolox. El resultado debe corregirse en función del factor de dilución aplicado al vino.

4.2.7 Determinación de grado alcohólico

Se agregó vino en un matraz aforado de 200 mL y se pasó a un matraz bola de destilación. Después, se enjuagó el matraz de dos o tres veces con pequeñas cantidades de agua destilada, depositando el enjuague en el mismo matraz bola. Se neutralizó el SO_2 y los ácidos volátiles en el mismo matraz bola, utilizando una solución concentrada de NaOH (30 - 40%). El punto final de neutralización en vinos tintos fue un color verde oscuro.

A continuación, se agregaron de 2 a 3 mL de antiespumante, cuidando de no mojar el cuello del matraz bola. Se tapó el matraz con el tapón de goma unido al refrigerante y asegurarse que

el agua circule por el refrigerante. En la salida del refrigerante, se colocó el mismo matraz aforado que se usó para medir la muestra.

Se realizó la destilación hasta alcanzar las dos terceras partes del volumen inicial. Enseguida, se llevó al aforo con agua destilada hasta completar nuevamente los 200 mL. Se homogenizó la mezcla y se enfrió en un recipiente con hielo, hasta que el destilado alcance una temperatura de 20° C. Finalmente, se pasó el líquido a una probeta limpia y seca para introducir el alcoholómetro provocando un pequeño movimiento de rotación y tomar la lectura en la parte inferior del menisco de la escala.

4.2.8 Determinación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu

Se elaboró una curva de calibración, expresada en mg de ácido gálico/L con el fin de cuantificar la concentración de polifenoles totales que se encuentren presentes en la muestra. Para esto se prepararon diferentes disoluciones con concentraciones de 50, 100, 200, 400, 800, 1000 y 1400 mg del estándar de ácido gálico. Después, se procedió a medir las absorbancias en el Espectrofotómetro de UV-Vis.

La concentración de polifenoles se determinó por el método de Folin-Ciocalteu. Se colocó 1 mL de agua destilada y 5 µL de muestra después de agitar brevemente, se agregaron 100 µl de reactivo Folin-Ciocalteu, se agitó de nuevo y se dejó reaccionar por un minuto. Enseguida, se adicionaron 300 µL de Na₂CO₃ al 80% y se incubó a 40°C por 30 minutos. Finalmente, se medieron las absorbancias de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. Finalmente, se calcularon los resultados a partir de la curva de calibración (ácido gálico), mediante las gráficas con mayor correlación para realizar el cálculo de concentración de polifenoles totales de las muestras (Figura 5).

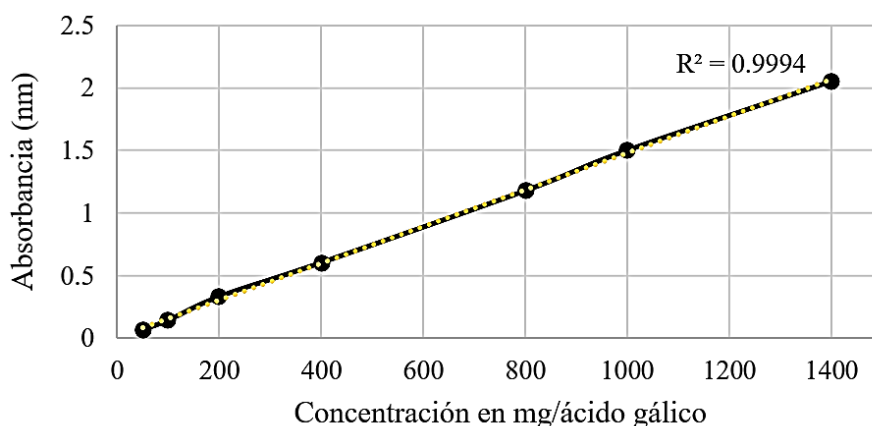


Figura 5. Curva de calibración promedio de ácido gálico, la concentración está expresada en mg de ácido gálico/L. La curva promedio fue obtenida con un valor de R cuadrada 0.9994 (n = 3).

4.2.9 Determinación del color del vino por espectrofotometría UV-Vis y espacio CIELAB

Se determinaron las características cromáticas a partir de los parámetros de la intensidad colorante y la tonalidad, por medio de las siguientes ecuaciones:

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

$$TN = (A_{420}/A_{520}) * 100$$

Para ello, se usó una celda de 1 mm de paso óptico que midió las absorbancias a 420, 520 y 620 nm de vino tinto. Después de esto, el resultado obtenido se multiplicará por 10 para poder referirlo a la celda de 10 mm.

Las coordenadas cromáticas permiten definir un color dentro del espacio CIELAB, cada una de ellas representa un gradiente colorimétrico diferente los cuales van desde el blanco al negro (*L), del verde al rojo (*a) y desde el amarillo al azul (*b). Previo a este cálculo de las coordenadas se determinaron los valores de los tres colores con base a la aplicación de las siguientes fórmulas:

$$L^* = 116 (Y/100)^{1/3} - 16$$

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$h = \arctg (b^*/a^*)$$

$$a^* = 500 [(X/94.825)^{1/3} - (Y/100)^{1/3}]$$

$$b^* = 200 [(Y/100)^{1/3} - (Z/107.383)^{1/3}]$$

4.3 Análisis sensorial de vinos

Se utilizó el perfil de libre elección con un panel de cata no entrenado, para correlacionar las características organolépticas con los resultados de la composición química de los vinos. Con

el objetivo de obtener los atributos que mejor definían a las muestras, la prueba sensorial seleccionada fue el Análisis Procrustes Generalizado (PGA), que consiste en un análisis multivariado para generar una matriz de cada juez, siendo éstas lo más parecidas entre ellas, haciendo uso de transformaciones matemáticas: translación, escalado y rotación/reflexión (Pastor y col., 1996).

Esta técnica estadística consiste en derivar una configuración consenso a partir de dos o más datos o matrices, es decir el análisis Procrustes fuerza a cada una de las matrices formadas por cada uno de los individuos a formar un sólo consenso espacial (Lawless & Heymann, 1998). Una vez que se tiene una matriz consenso, los promedios grupales espaciales de todos los jueces por muestras, se les realiza un Análisis de Componentes Principales (PCA), obteniendo un porcentaje que explica la varianza de estas dimensiones (Dijksterhuis, 1996).

En este caso, cada integrante del panel generó la mayor cantidad de atributos por muestra para agruparlos en aspecto, color, olor, sabor y textura. Después de esto, se revisó de forma grupal la lista de atributos calificables para que los panelistas evaluarán las características organolépticas que determinaron el perfil sensorial de los vinos.

4.4 Tratamiento estadístico

Para evaluar la existencia o no de diferencias significativas entre las distintas muestras se aplicó un Análisis de la Varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Newman-Keuls ($p < 0.05$) para determinar entre qué muestras se encuentran dichas diferencias utilizando el paquete estadístico Sigma Plot versión 12 para Windows.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis fisicoquímicos de uvas

La Tabla 5 muestra la composición general de los mostos objeto de este estudio. Durante la maduración de las uvas la proporción de azúcares varía disminuyendo la relación entre las concentraciones de glucosa y fructosa hasta aproximadamente la unidad, punto considerado como momento óptimo de vendimia.

El nitrógeno total no se distribuye de forma uniforme entre las diferentes partes de la uva siendo superior la concentración en las partes sólidas (raspón, hollejo y pepitas) que en la pulpa y el mosto. La concentración de nitrógeno en las uvas depende de la cantidad y la frecuencia de fertilización de las vides (Cáceres y col., 1987; Spayd y col., 1994) así como de las características del suelo y del régimen hídrico de la región.

En todos los casos la concentración de nitrógeno de los mostos se encuentra debajo del intervalo considerado como óptimo alrededor de 300-400 mg/L pudiendo concluir que la concentración de este depende de las prácticas vitícolas, tipo de fertilización del cultivo y maduración de la uva (Ribéreau-Gayón y col., 2006). En consecuencia, uno de los efectos de las concentraciones bajas de nitrógeno puede influir negativamente en el desarrollo de la cinética de fermentación alcohólica.

Los valores de acidez total de los mostos se encuentran dentro del rango de valores normales de acidez de uvas cultivadas en regiones de climas cálidos como es el caso de la región del Valle de Guadalupe donde es una práctica habitual corregir la acidez de estos con la adición de alguno de los ácidos propios de la uva, principalmente ácido tartárico hasta un pH de aproximadamente 3.60. A la vista de los resultados no fue necesario corregir la acidez de los mostos ya que éstos presentaron valores de pH similares a 3.60.

Cabe destacar el pH bajo (3.48), elevada acidez total (6.20) y grados Brix del mosto de la variedad Barbera es característico de esta variedad en la región. Esta característica puede ser aprovechada para la covinificación con otras variedades de uva que presentan valores de pH del mosto superiores evitándose así la necesidad de corregir la acidez de estos.

Tabla 4. Análisis fisicoquímicos de mosto (n =3) de las variedades Nebbiolo (NEB), Barbera (BAR) y mezcla 50:50 (MEZ).

	NEB	BAR	MEZ
°Brix	22.3 ^b ± 0.18	24.9 ^a ± 0.18	22.3 ^b ± 0.18
pH	3.69 ^a ± 0.001	3.48 ^c ± 0.001	3.56 ^b ± 0.001
Acidez total*	5.63 ^b ± 0.18	6.20 ^a ± 0.18	5.56 ^b ± 0.18
Nitrógeno total ⁺	200 ^c ± 0.90	227 ^a ± 0.90	222 ^b ± 1.04

*g (H₂T)/L; ⁺Nitrógeno asimilable por la levadura (mg/L). *g (H₂A)/L; *g (H₂T)/L. Superíndices diferentes en la misma columna indican de acuerdo con los resultados del test de Tukey diferencias significativas entre los valores (p≤0.05).

5.2 Análisis fisicoquímicos de vinos

En la Tabla 6 se muestran los valores medios y desviaciones estándar relativas de las análisis fisicoquímicos de los vinos monovarietales y mezcla.

Tabla 5. Análisis fisicoquímicos de vinos (n=3) monovarietales de Nebbiolo (NEB), Barbera (BAR) y mezcla 50:50 (MEZ).

	NEB	BAR	MEZ
pH	3.56 ^c ± 0.01	3.72 ^a ± 0.01	3.61 ^b ± 0.01
Acidez volátil*	0.41 ^b ± 0.01	0.34 ^c ± 0.01	0.49 ^a ± 0.01
Acidez total [†]	4.22 ^c ± 0.03	5.53 ^b ± 0.03	6.16 ^a ± 0.03
SO ₂ libres (mg/L)	37.6 ^a ± 2.64	14.1 ^b ± 2.64	20.0 ^b ± 2.64
SO ₂ totales (mg/L)	55.5 ^a ± 3.60	20.6 ^b ± 3.60	34.3 ^b ± 3.60
Azúcares reductores (g/L)	2.30 ± 0.05	2.30 ± 0.05	2.35 ± 0.05
Grado alcohólico (% v/v)	11.2 ^c ± 0.10	13.5 ^a ± 0.10	12.2 ^b ± 0.10
Polifenoles totales (mg/L)	1649 ^a ± 28.1	982 ^c ± 28.1	1190 ^b ± 28.1
% Inhibición	44.6 ^a ± 2.11	15.0 ^c ± 2.11	34.5 ^b ± 2.11

*g (H₂A)/L; [†]g (H₂T)/L. Superíndices diferentes en la misma columna indican de acuerdo con los resultados del test de Tukey diferencias significativas entre los valores (p≤0.05).

La acidez es una característica de los productos derivados de la uva lo que les confiere una serie de propiedades sensoriales, químicas y microbiológicas (Flowes, 1992; Jackson y col., 1994; Boulton y col., 1998). Los ácidos pueden tener un efecto positivo o negativo sobre el aroma y el flavor de los vinos en función de su concentración.

Los vinos contienen importantes cantidades de ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos málico y tartárico son los principales ácidos del mosto, también es posible encontrar ácido cítrico y láctico; sin embargo, el ácido succínico y los alpha-cetoácidos se forman principalmente durante la fermentación alcohólica (Whiting, 1976; Radler, 1993). El ácido tartárico es bastante estable a la actividad microbiana, por lo que durante la fermentación alcohólica se afecta poco la concentración de ácido tartárico. Aunque puede existir una pequeña cantidad de ácido málico metabolizada por las levaduras, en el caso de los vinos tintos la mayor parte de ácido málico del vino es metabolizado por las bacterias lácticas

(Radler, 1993). El ácido succínico es el principal ácido carboxílico producido durante la fermentación alcohólica llegando a acumular hasta 2.0 g/L y puede producir en el vino atípicos sabores salados y amargos (Whiting, 1976).

A la vista de los resultados, se observa que los vinos mezcla presentaron una acidez total significativamente superior a la del resto de vinos lo que sugiere que la elaboración del mezcla de 50:50 con la variedad Barbera contribuyó al aumento de la acidez total.

La acidez volátil hace referencia a un grupo de ácidos volátiles orgánicos de cadena corta. El contenido en ácidos volátiles en el vino se encuentra generalmente entre 0.50-1.0 g/L, lo que significa entre el 10 y el 15% de la acidez total y es el ácido acético el que generalmente constituye el 90% de los ácidos volátiles. Los tres vinos estudiados presentaron valores por debajo del intervalo de acidez volátil (0.34-0.49 g/L).

Al realizar la fermentación tradicional en tinto, el mosto está en contacto con los hollejos, de modo que se van extrayendo los pigmentos, responsables del color de los vinos tintos jóvenes, y que son principalmente los antocianos libres (Flanzy, 2003; Ribéreau-Gayón y col., 2006).

La Tabla 6 y 7 muestra las concentraciones medias de los principales compuestos fenólicos de los vinos. El contenido en compuestos fenólicos de los vinos depende del grado de maduración de la uva (Bakker y col., 1996), de las características varietales y del proceso de vinificación, conservación y añejamiento del vino (Margheri y col., 1980; Ribéreau-Gayon, 1982). En el caso de los vinos tintos uno de los factores que más influye es el tiempo de contacto del mosto con los hollejos durante la fermentación alcohólica (Ramey, y col., 1986; Sims & Bates, 1994).

Los vinos de Nebbiolo y la mezcla presentaron un mayor contenido en compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante (% inhibición) mientras que la variedad Barbera fue la que presentó menor concentración de estos compuestos y porcentaje de inhibición. Estas diferencias pueden ser atribuidas a características varietales o de madurez, debido a que el tiempo de contacto del mosto con los hollejos durante la fermentación alcohólica fue el mismo en todos los casos.

Las interacciones de los antocianos en forma de catión flavilio con otros compuestos fenólicos presentes en el vino, contribuyen a la estabilización del color mediante el proceso denominado de copigmentación. De todos los compuestos fenólicos son las catequinas y los flavonoles los copigmentos más efectivos (Boulton y col., 1998).

En la Tabla 7 se muestran los valores medios y desviaciones estándar relativas de las análisis fisicoquímicos del vino mezcla elaborado con la levadura BRL97TM (MEZ), vino con la levadura Zymaflore FX10 (LEV 1) y vino con la levadura Zymaflore RX60 (LEV 2).

Tabla 6. Análisis fisicoquímicos de vinos (n=3) mezcla en comparación con tres diferentes tipos de levadura.

	MEZ	LEV1	LEV2
pH	3.61 ^b ± 0.02	3.86 ^a ± 0.02	3.84 ^a ± 0.02
Acidez volátil*	0.49 ^a ± 0.01	0.42 ^b ± 0.01	0.49 ^a ± 0.01
Acidez total ⁺	6.16 ^a ± 0.09	4.80 ^b ± 0.09	5.80 ^a ± 0.09
SO ₂ libres (mg/L)	20.0 ± 3.19	26.4 ± 3.19	26.6 ± 3.19
SO ₂ totales (mg/L)	34.3 ± 2.32	33.5 ± 2.32	39.2 ± 2.32
Azúcares reductores (g/L)	2.35 ^a ± 0.07	0.70 ^c ± 0.07	1.40 ^b ± 0.07
Grado alcohólico (% v/v)	12.2 ^c ± 0.10	13.7 ^a ± 0.10	13.1 ^b ± 0.10
Polifenoles totales (mg/L)	1189 ^a ± 33.4	879 ^b ± 33.4	1082 ^a ± 33.4
% Inhibición	34.6 ^a ± 1.32	14.5 ^b ± 1.32	14.7 ^b ± 1.32

*g (H₂A)/L; ⁺g (H₂T)/L. Superíndices diferentes en la misma columna indican de acuerdo con los resultados del test de Tukey diferencias significativas entre los valores (p≤0.05).

De acuerdo con los resultados obtenidos de los vinos mezcla fermentados con tres diferentes levaduras es importante mencionar que el etanol es el producto mayoritario de la fermentación de los azúcares del mosto. La concentración de este compuesto es función de la cantidad de azúcar del mosto por lo que las diferencias en este valor no pueden ser atribuidas a la variedad sino al diferente grado de maduración de las uvas empleadas y posiblemente al poder fermentativo de las levaduras (Blouin & Peynaud, 2004).

Los valores de pH, acidez total, acidez volátil y azúcares reductores están asociados al comportamiento de las levaduras durante el proceso de fermentación (Flanzy, 2003). Las diferencias encontradas en los tres tipos de levaduras se pueden atribuir a las características fermentativas de las cepas y las condiciones de fermentación como tiempo y T°C del proceso, cantidad de inóculo y nutrientes de la levadura. Cada cepa posee propiedades enológicas diferentes para modificar el producto final de la fermentación.

El vino tinto elaborado con la levadura 1 (Zymaflore FX10) presentó valores de acidez volátil y acidez total menor en comparación con el vino elaborado con la levadura 2 (Zymaflore RX60) y el vino mezcla (BRL97TM). Por lo tanto, la levadura 2 presenta una baja producción de acidez volátil y anhídrido sulfuroso lo cual explica las diferencias de estos parámetros en los vinos.

En el caso de la concentración de azúcares reductores se encontró una diferencia considerable, siendo el vino mezcla con una mayor concentración de azúcares reductores en comparación al vino con levadura 1 y 2. De acuerdo con las fichas técnicas de las levaduras, una de las características fermentativas de la levadura 1, es que posee una excelente capacidad de asimilación de fructosa, lo cual se expresa en el grado alcohólico de debido a que existe una relación inversamente proporcional entre la concentración de azúcares reductores y el volumen de alcohol.

En la Tabla 8 se muestran los valores medios y desviaciones estándar relativas del color y coordenadas cromáticas del espacio CIELAB de vinos monovarietales de Nebbiolo (NEB), Barbera (BAR) y mezcla 50:50 (MEZ).

Tabla 7. Análisis de color y coordenadas cromáticas de vinos (n=3) monovarietales de Nebbiolo (NEB), Barbera (BAR) y mezcla 50:50 (MEZ).

	NEB	BAR	MEZ
L	61.9 ± 0.31	61.5 ± 0.31	62.4 ± 0.31
C	29.5 ± 0.70	29.8 ± 0.70	28.7 ± 0.70
a*	51.8 ^b ± 0.51	53.9 ^a ± 0.51	51.7 ^b ± 0.51
b*	1.70 ^a ± 0.06	0.98 ^c ± 0.06	1.40 ^b ± 0.06
IC	6.82 ^a ± 0.27	5.12 ^b ± 0.27	4.93 ^b ± 0.27
T _n	0.81 ^a ± 0.01	0.64 ^b ± 0.01	0.61 ^b ± 0.01

Superíndices diferentes en la misma columna indican de acuerdo con los resultados del test de Tukey diferencias significativas entre los valores ($p \leq 0.05$).

Éstas coordenadas cromáticas permiten explicar el color de los vinos de forma similar a la percepción que tiene el hombre. El grado de luminosidad viene determinado por el parámetro L* (L* = 100 para una muestra totalmente transparente, L* = 0 para una muestra totalmente

opaca). En general, los vinos presentan una menor cantidad de materia en suspensión apareciendo como vinos más transparentes.

Con respecto a la cromaticidad, los vinos estudiados presentaron valores bajos de C^* lo que indica que son vinos con colores más claros y perfectamente definidos. El parámetro a^* del sistema CIELAB representa la magnitud de la componente roja del vino tinto (siendo $a^* > 0$ para el rojo, y $a^* < 0$ para el verde). Los tres vinos mostraron valores mayores de 50, lo que explica que estos tiene concentraciones altas de antocianos y compuestos fenólicos relacionados con el color rojo de los vinos.

La componente b^* del color del vino tinto, representa la componente azul ($b^* > 0$ para el amarillo y $b^* < 0$ para el azul). La contribución de la componente b^* al color de los vinos fue menor en todos excepto en la variedad Barbera donde la componente azul es mayor (valores cercanos al cero), por lo que esta variedad aportará al vino tonalidades violáceas o azuladas. Otro aspecto importante es que en todos los vinos predomina la componente roja (a^*) sobre la amarilla (b^*).

La intensidad colorante (IC) y la tonalidad (Tn) son parámetros que se determinan de acuerdo con la metodología descrita en 1984 por Glories. La intensidad colorante nos da una idea de cuanto color posee el vino y será la suma de cada uno de los componentes ($A_{420} + A_{520} + A_{620}$). Por otro lado, la tonalidad, que nos indica la importancia relativa del amarillo sobre el rojo, será el cociente entre A_{420} y A_{520} , expresado en tanto por ciento. Los vinos procedentes de la variedad Nebbiolo mostraron la mayor intensidad colorante y tonalidad con respecto a la variedad Barbera y el vino co-vinificado.

En la Tabla 9 se muestran los valores medios y desviaciones estándar relativas del color y coordenadas cromáticas del espacio CIELAB del vino mezcla elaborado con la levadura BRL97TM (MEZ), vinos con la levadura Zymaflore FX10 (LEV 1) y Zymaflore RX60 (LEV 2).

Tabla 8. Análisis de color y coordenadas cromáticas de vinos (n=3) mezcla en comparación con tres diferentes tipos de levadura.

	MEZ	LEV1	LEV2
L	62.4 ^a ± 0.35	61.6 ^a ± 0.35	53.2 ^b ± 0.35
C	28.7 ^a ± 0.24	28.6 ^a ± 0.24	17.7 ^b ± 0.24
a^*	51.7 ^a ± 0.55	51.3 ^a ± 0.55	46.6 ^b ± 0.55
b^*	1.40 ^a ± 0.05	1.42 ^a ± 0.05	0.84 ^b ± 0.05

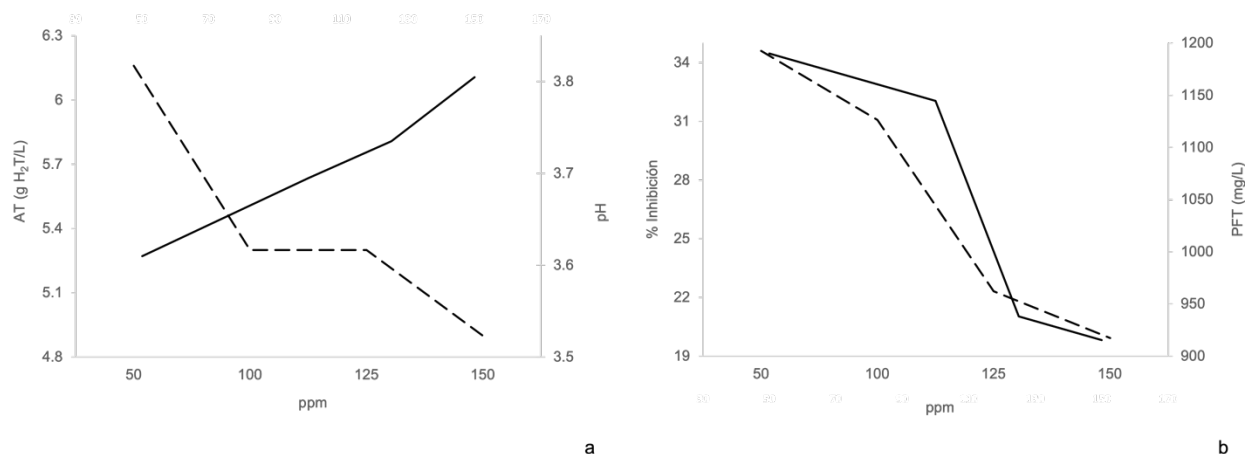
IC	4.93 ^b ± 0.07	4.68 ^b ± 0.07	5.71 ^a ± 0.07
T n	0.61 ^b ± 0.01	0.63 ^{a,b} ± 0.01	0.66 ^a ± 0.01

Superíndices diferentes en la misma columna indican de acuerdo con los resultados del test de Tukey diferencias significativas entre los valores ($p \leq 0.05$).

Con relación a las diferencias encontradas en los vinos mezcla elaborados con diferentes levaduras, se observa que el vino mezcla y levadura 1 presentan valores más altos de la componente L, C, a y b en comparación con el vino de levadura 2. El vino de la levadura 2 mostró una mayor intensidad colorante y ligeramente en la tonalidad. Estas diferencias pueden deberse principalmente a las condiciones de tiempo y temperatura de maceración fermentativa del vino para extraer compuestos fenólicos responsables del color y cantidad de alcohol producido. Además de esto, las propiedades de las levaduras 1 (FX10) y la del vino mezcla (BRL97) especifican que tienen potencial para una óptima extracción fenólica.

5.3 Efecto de los tratamientos con SO₂ y lisozima en los vinos

La figura 6 muestra el efecto del tratamiento de SO₂ a diferentes concentraciones (50, 100, 125 y 150 ppm) y lisozima (50, 100, 150 y 200 ppm) del vino mezcla 50:50 con las variedades de Nebbiolo y Barbera.



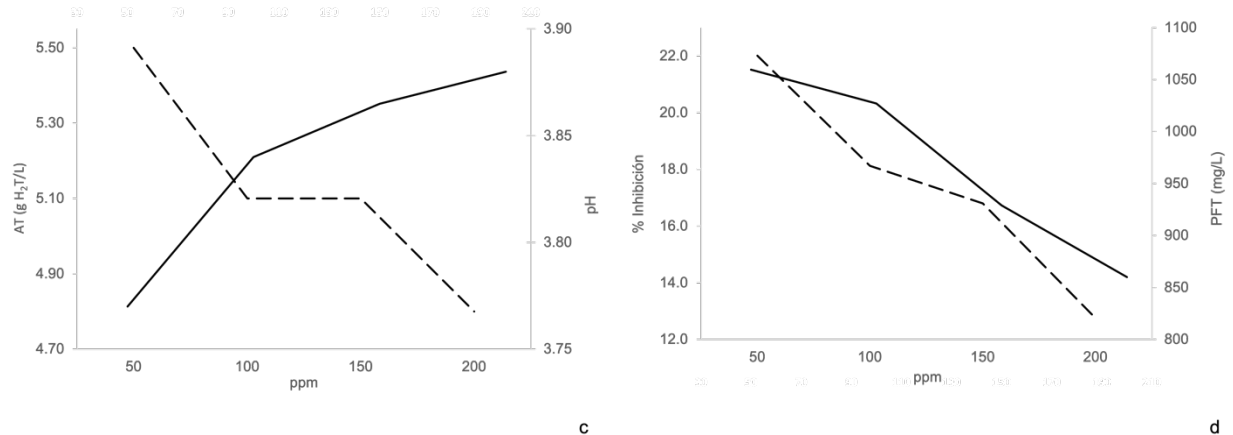


Figura 6. Efecto del tratamiento del SO₂ en el pH y acidez total (a) y polifenoles totales/% inhibición de los vinos mezcla (b) y efecto del tratamiento de la lisozima en el pH y acidez total (c) y polifenoles totales/% inhibición de los vinos mezcla (d).

A la vista de los resultados, se observa un aumento del pH y disminución de la acidez total en el vino de co-vinificación o mezcla en función del aumento en la dosis de SO₂ y lisozima. Varios autores mencionan que a niveles más bajos de pH se observa una mayor eficacia de la actividad antiséptica del dióxido de azufre, esto puede deberse a que el pH del vino, el dióxido de azufre cambia las concentraciones de su estado en el mismo (ya sea libre, total o molecular). Para el caso de la lisozima los diferentes estudios aseguran que, al igual que el dióxido de azufre, esta enzima presenta una mayor eficacia a cierto rango de pH (>5.5) en conjunto con la temperatura (Galvez y col., 2020).

No se encontraron estudios en los que se demuestre la relación directa en como la concentración directa de sulfitos o lisozima afecta los niveles de pH en el vino, sin embargo, toda la bibliografía consultada al respecto mencionan cómo el pH interfiere directamente en la eficacia y actividad antiséptica tanto de los sulfitos como de la lisozima (Galvez y col., 2020, Guerra y col., 2009).

Por lo que respecta a la concentración de polifenoles totales (PFT) y la capacidad antioxidante (% de inhibición), el vino mezcla mostró una disminución en ambos parámetros al aumentar la concentración de SO₂ y lisozima (Figura 6). Hay un estudio (Sommer y col., 2018) que muestran el efecto de la adición de lisozima porque provoca un retraso en el proceso de fermentación maloláctica lo cual conduce a un nivel elevado de fenoles volátiles. También, se sugiere que la lisozima se puede unir o enlazar a los polifenoles, lo cual inactiva a la enzima y

del mismo modo se podría decir que se reduce la concentración de estos compuestos en su forma libre y la capacidad antioxidante de estos.

5.4 Análisis Sensorial de vinos

5.4.1. Generación de atributos para la evaluación sensorial de los vinos.

Para el análisis del perfil de libre elección se utilizó el Análisis Procrustes Generalizado (PGA). Los atributos seleccionados para la evaluación del perfil sensorial de las muestras fueron:

- **Apariencia.** color, halo rojo, brillo, lágrimas.
- **Olor.** jugo de uva, dulce, granada, cereza, canela, mora, frambuesa, ciruela, frutos rojos, alcohol, fermentado, amargo, maderoso, corcho y vinagre.
- **Sabor.** dulce, agrídulce, frutos rojos, jugo de uva, granada, cereza, frambuesa, moras, ciruela, ácido, amargo, canela, pimienta, alcohol, fermentado, maderoso, astringente.
- **Textura.** cuerpo, gas CO₂.
- **Resabio.** amargo y metálico.

En la Figura 7a, se muestra el gráfico de componentes principales obtenido a través de un Análisis Procrustes Generalizado (PGA) para el perfil de vino tinto de Nebbiolo, Barbera y la mezcla, en él se puede observar que el componente 1 explica el 66.6 % de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 33.4 %. Correlacionados positivamente al componente 1 y 2, se encuentran las muestras comerciales Nebbiolo (NB) y mezcla (CoV), caracterizada por el brillo, cuerpo, lágrimas y el gas CO₂; por otro lado, el vino Barbera (Ba) se correlacionó positivamente al componente 1, pero negativamente al componente 2 caracterizadas por el color granate.

Mientras que en la figura 7b se muestra el gráfico de componentes principales para el perfil de las mismas muestras, en él se puede observar que el componente 1 explica el 73.1 % de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 26.9 %. Correlacionados positivamente al componente 1 y 2, se encuentra la muestra de vino Barbera caracterizado por un olor a frambuesa, frutos rojos, cereza, dulce, jugo de uva, fermentado, madera, amargo, corcho y vinagre; un flavour agrídulce, ácido, frutos rojos, maderoso, fermentado, cereza y canela; por otro lado, los vinos Nebbiolo (NB) y mezcla (CoV) se correlacionaron positivamente al componente 1, pero negativamente al componente 2; estas muestras se caracterizaron por el olor a granada y un flavour a pimienta, moras y granada.

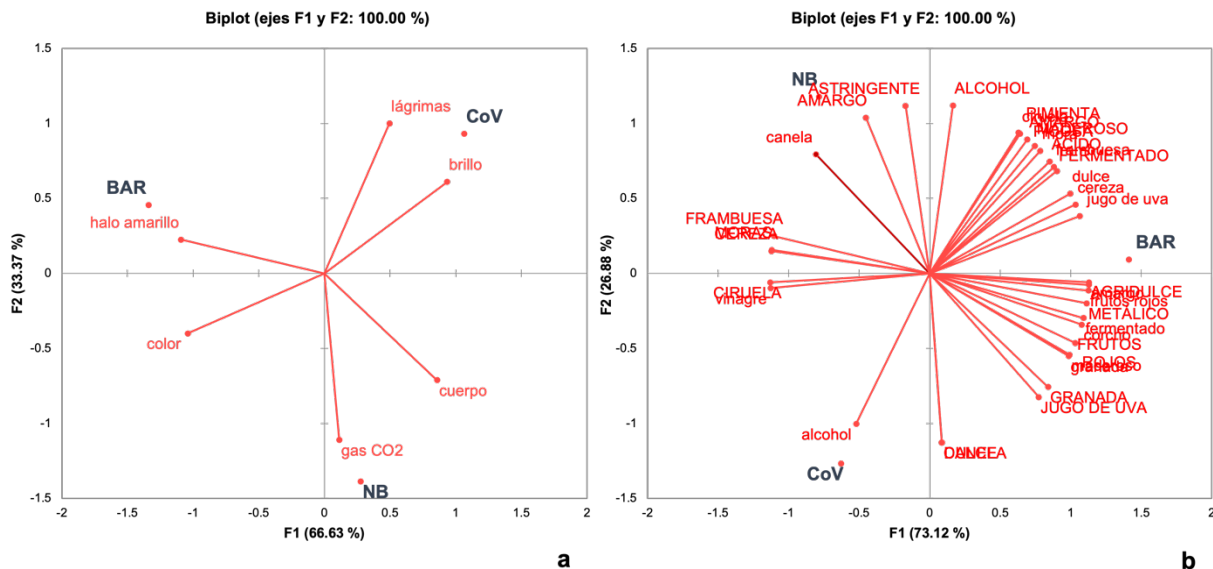


Figura 7. Análisis de componentes principales (PCA) proveniente de un APG del perfil flash de los vinos Nebbiolo (NB), Barbera (Barbera) y Covinificación (CoV) para los atributos de aspecto y textura (a) y olor (b).

En la Figura 8a, se muestra el gráfico de componentes principales obtenido a través de un Análisis Procrustes Generalizado (PGA) para el perfil de vino tinto mezcla (CoV), mezcla con levadura 1 (Lev 1) y Levadura 2 (Lev 2), en él se puede observar que el componente 1 explica el 58.4 % de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 41.6 %. Correlacionados positivamente al componente 1 y 2, se encuentran las muestras comerciales mezcla (CoV) y Levadura 2 (Lev 2), caracterizada por el cuerpo, color granate y el gas CO₂; por otro lado, el vino con Levadura 1 (Lev 1) se correlacionó negativamente al componente 1 y 2, caracterizadas por el brillo, halo amarillo y lágrimas.

Ahora bien, en la figura 8b se muestra el gráfico de componentes principales para el perfil de de las mismas muestras, en él se puede observar que el componente 1 explica el 61.9 % de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 38.1 %. Correlacionados negativamente al componente 1 se encuentran las muestras del vino mezcla (CoV) y Levadura 1 (Lev 1) caracterizado por un olor a moras, granada, fermentado y vinagre; por otro lado, el vino con Levadura 2 (Lev 2) se correlacionaron positivamente al componente 1 y 2; estas muestras se caracterizaron por el olor a frambuesa, frutos rojos, cereza, dulce, jugo de uva, fermentado, madera, amargo, corcho y vinagre; un sabor agridulce, ácido, frutos rojos, maderoso, fermentado, cereza y canela.

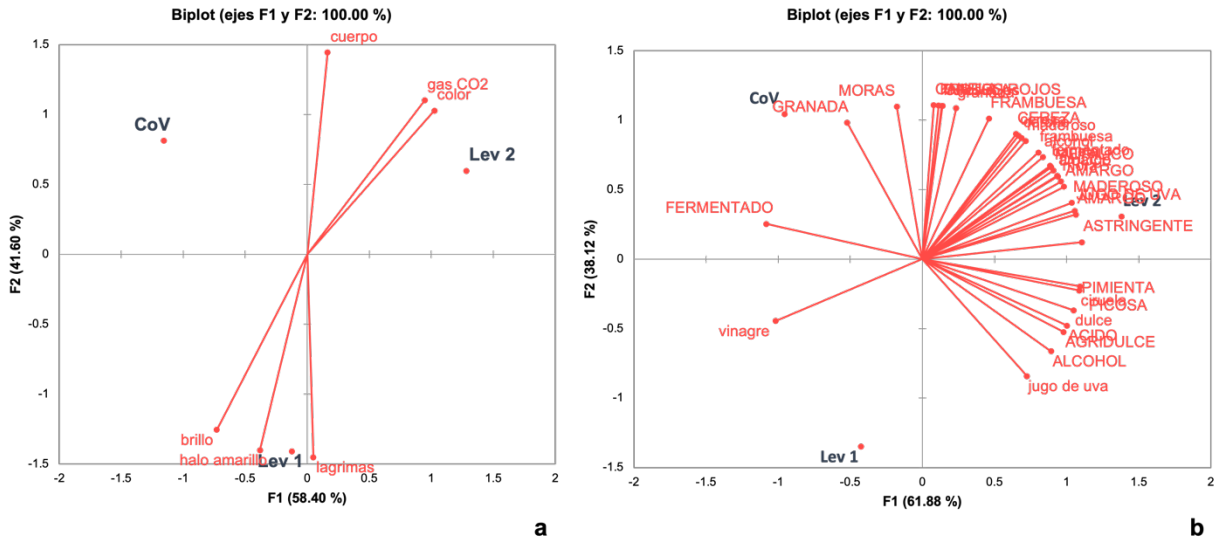


Figura 8. Análisis de componentes principales (PCA) proveniente de un APG del perfil flash de los vinos covinificado (CoV), Levadura 1 (Lev 1) y Levadura 2 (Lev 2) para los atributos de aspecto y textura (a) y olor (b).

6. CONCLUSIONES

El tratamiento de los vinos con SO₂ y lisozima tuvo el mismo comportamiento para ambos casos, siendo este un aumento en los valores de acidez total y una disminución en los valores de pH conforme se aumentaba la concentración de ambos tratamientos, esto nos podría indicar una posible interacción de los mismos con los compuestos ácidos del vino (ácido tartárico, málico, etc.), lo cual abre paso para realizar futuros estudios en el tema haciendo énfasis en este tipo de interacciones.

Con respecto a la concentración de polifenoles totales en relación a los tratamientos dados, podemos concluir que la adición de SO₂ y lisozima afectan directamente dicha concentración de PFT así también a la capacidad antioxidante (% de inhibición) provocando una disminución en ambos parámetros, esto siendo consecuencia de posibles interacciones y reacciones de polimerización de los polifenoles al unirse con estos compuestos.

La influencia del tipo de levadura utilizada para el proceso de vinificación es sumamente significativa, debido a que cada cepa posee cualidades fermentativas que le confieren distinta composición fisicoquímica al vino, viéndose esto reflejado directamente en el perfil organoléptico y en la expresión sensorial de los mismos.

El perfil sensorial mostró que los vinos monovarietales y los vinos co-vinificados se distinguen por su aroma varietal y de fermentación con notas a frambuesa, frutos rojos, cereza, granada, ciruela y dulce; con relación al sabor, los vinos se caracterizaron por su astringencia, notas ácidas, frutos rojos, madera, cereza, canela, pimienta picosa, moras, ciruela y granada.

En conclusión se puede afirmar que las variedades Nebbiolo y Barbera estudiadas permiten obtener vinos con una composición fenólica y unas características cromáticas adecuadas para ser considerados vinos de calidad debido a que el perfil químico de los vinos está fuertemente influenciado por la variedad de uva usada en la elaboración.

La caracterización de estas variedades de uva permitiría aumentar la oferta al consumidor de vinos monovarietales y covinificados (comacerados y cofermentados), lo que favorecería la diferenciación de nuestros vinos en el mercado nacional e internacional.

AGRADECIMENTOS

A mis padres **Kennia** y **Efren**, por su apoyo incondicional, su cariño, sus consejos y su interés en mi formación académica y profesional. Sin ustedes no hubiese podido alcanzar esta meta, gracias por su paciencia.

A mi hermana **Breidy**, que tal vez no tiene ni idea de la manera en la que influyó en mi formación académica y en la culminación de la misma. Fuiste de gran apoyo y espero poder serlo para ti también. Te quiero mucho.

Al resto de mi familia (tíos, primos, abuela), que de diferentes maneras me proporcionaron su apoyo para poder seguir adelante y complementaron de cierta manera esta etapa de mi vida.

A mi mejor amiga **Genesis**, que durante todos estos años de amistad he recibido su apoyo de la forma que sabe que solo nosotros entendemos, y que en esta etapa no fue la excepción. Espero poder regresarte de la manera que te mereces todo el apoyo que me has brindado.

A **Mayrem**, gracias por todas esas palmaditas en la espalda que sabías que me hacían falta en esos momentos en específico, por todas esas llamadas de atención y las risas que venían después de burlarnos de nuestros propios problemas. Te mando un abrazo.

A **Cindy** y a **Karin**, por el lazo que creamos lxs tres y los momentos que vivimos ese verano, el cual forma parte importante de mi vida y de mi crecimiento como ser humano. Espero seguir viéndonos crecer.

A **Karen**, por todas esas pláticas, debates interminables, experiencias y enseñanzas que hemos vivido y espero que sigamos viviendo juntas.

A **Juan** y **Alexa**, que siempre han estado ahí para mí en todo momento, por ser grandes escuchadores y grandes platicadores también. Un abrazo para ustedes, mis tauro favoritos.

Al resto de mis amigos, una lista interminable de personas que forman parte importante de mi vida. Tal vez no lo saben pero son un pilar importante para mí. Un abrazo a todos.

A mis compañeros de universidad, todos formaron parte de diferentes maneras en esta etapa universitaria y les agradezco todo el apoyo, las experiencias y momentos que vivimos juntas estos años. Les deseo mucho éxito en sus futuros.

A todos mis profesores, que gracias a sus distintas formas de enseñanza me ayudaron a crecer tanto como profesional y como persona.

A **Rodrigo**, mi director de tesis, que si bien este proceso no fue el más fácil (con una pandemia atravesando) lo llevamos a cabo de la mejor manera posible. Muchas gracias por su apoyo, su paciencia y perseverancia. Un abrazo.

A **Diego**, simplemente por estar ahí, por los consejos y las críticas constructivas que solo tú sabes hacer. Por los chistes y bromas que haces para hacerme sentir mejor. Por darme la mano sin pensarlos dos veces cuando lo necesito. Gracias por todo eso y por todo lo demás que ya sabes.

Y el agradecimiento más grande va para **Anuar**, por la perseverancia que solo tú sabes que mantuviste, por la paciencia que estuvo a punto de acabarse. Por las madrugadas en silencio enfrente del escritorio dándolo todo. Por las veces que te costaba pedir ayuda y lo hiciste, y por las veces que no lo hiciste también. Por los breaks innecesarios que realmente fueron necesarios. Por dar siempre el 100% aunque a veces sintiera que no era lo suficiente, sí lo fue. Por todos los momentos de alegría, tristeza, estrés, triunfos, fracasos y las locuras que apenas a ti se te ocurren. Por esa curiosidad y sed de conocimiento. Por ese espíritu de artista que tiendes a esconder mucho. Y sobre todo, gracias por la persistencia que de una u otra forma se sigue manteniendo, seguimos creciendo y mejorando.

Los autores de este trabajo agradecen el apoyo recibido a través de la Convocatoria de PRODEP NPTC-708 de la SEP para la realización de los experimentos y los resultados alcanzados.

Otro sincero agradecimiento al Lic. Luis Sarabia (Director de Concierto Enológico), M. en C. Armando Orozco (Enólogo Residente) e Ing. Mario Soto por el apoyo recibido para conseguir las muestras de uva y la elaboración de los vinos.

Al laboratorio de Análisis Sensorial de la Facultad de Química de la UNAM cuyo responsable es la Dra. Patricia Severiano Pérez por su apoyo para realizar la evaluación de las muestras de vino.

Al Dr. Alejandro Cabello y M. en C. Victor Macias por su apoyo para el uso y realización de experimentos en el laboratorio de Análisis Químico del IIO en UABC.

Al Q. Carlos Muñiz Cervantes por el apoyo recibido para la capacitación y uso del equipo Biosystems en el análisis de las muestras de vino.

REFERENCIAS

Abbott, N.A., Coombe, B.G., Williams, P.J. (1991). Contribution of hydrolyzated flavour precursors to quality differences in Shiraz juices and wines: An investigation by sensory descriptive analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 42, 167-174.

Aleixandre, J., Álvarez, I., García, M. & Lizama, V. (2014). Application of Multivariate Regression Methods to Predict Sensory Quality of Red Wines. *Food Analysis, Food Quality and Nutrition*, 33(3), 217-227. doi: 10.17221/370/2014-CJFS

Álvarez, J. (2011). Aislamiento y caracterización genética y enológica de levaduras vínicas autóctonas de uva Prieto Picudo y caracterización aromática de sus vinos (DO «Tierra de León») (Tesis doctoral). Universidad de León, León.

Anzaldúa-Morales, A. (2005). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza, 220p.

Bakker, J; Bridle, P; Timberlake, C.F; Arnold, G.M (1986) The colour pigments and phenol contents of young port wines. Effects of cultivar, season and site.

Belda, I., Navascues, E., Alonso, A., Marquina, D. & Santos, A. (2014). Microbiología del proceso de vinificación: selección de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas con óptimas propiedades enológicas. *Reduca*, 7(1), 1-14.

Bartowsky, E.J., Costello, P.J., Villa, A., Henschke, P.A. (2004). The chemical and sensorial effects of lysozyme addition to red and white wines over six months' cellar storage. *Aust. J. Grape Wine Res.* 10:143-50.

Beltran, G., Torija, M., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J., Rozès, N. & Mas, A. (2002). Analysis of yeast populations during alcohol fermentation: a six year follow-up study. *System. Appl. Microbiol.* 25, 287-293.

Boulton, R.B.; Singleton, V.L.; Bisson, L.F. y Kunkel, R.E (1998). Principles and Practices of Winemaking. Aspen Publishers, Inc: USA.

Blouin, J., & Peynaud, E. (2004). *Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino: conocimiento y elaboración del vino.* Mundi-Prensa Libros.

Cabello, A., Macias, V. & Mejía, A. (2017). Efecto del mesoclima en la maduración de uva Nebbiolo (*Vitis vinifera*) en el Valle de Guadalupe, Baja California, México. *Agrociencia*, 51(6), 617-633.

Cáceres, I.; Polo, M.C. & Cabezudo, M.D. (1987). El análisis íntegro de los vinos. V. La fracción nitrogenada. *Alimentación Equipos y tecnología*, 2.

Ciani, M., Capece, A., Comitini, F., Canonico, L., Siesto, G. & Romano, P. (2016). Yeast interactions in inoculated wine fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 7(555), <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00555>.

Cola, G., Mariani, L., Salinari, F., Civardi, S., Bernizzoni, F., Gatti, M. & Poni, S. (2013). *Description and testing of a weather-based model for predicting phenology, canopy development and source-sink balance in Vitis vinifera L. cv. Barbera*. *Agricultural and Forest Meteorology*, 184(2014), 117-136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.09.008>

Contreras, M. (2017). Estudio de la evolución de parámetros de color en vinos de Ribera del Duero, utilización de herramientas estadísticas y aplicaciones de interés para la industria vinícola (Tesis doctoral). Universidad de Burgos, Burgos.

Dijksterhuis, G. (1996). Procrustes analysis in sensory research. *Data Handling in Science and Technology*, 16, 185-219.

Flanzy, C. (2003). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Editorial Mundi prensa, 804pp.

Flowers, G.W.A. (1992) Acids in grapes and wines: A review. *Journal of Wine Research*, 3.

Fortin, J. & Desplancke, C. (2001). Guía de selección y entrenamiento de un panel de catadores. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 124p.

Francis, I.L., Sefton, M.A., Williams, P.J. (1992). Sensory descriptive analysis of the aroma of hydrolyzed precursors fractions from Semillon, Chardonnay and Sauvignon blanc grape juices. *J. Sci. Food Agric.* 59, 511-520.

Fuster, A. (2001). Les polysaccharides, leur contribution à la qualité du vin. *Revue française d'oenologie*, (187), 14-17.

Galvez, A., Plascencia, M. & Bautista, S. (2020). Lisozimas: características, mecanismos de acción y aplicaciones tecnológicas en el control de microorganismos patógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38 (3).

Gao, Y.C., Zhang, G., Krentz, S., Darius, S.U.E., Power, J., & Lagarde, G. (2002). Inhibition of spoilage lactic acid bacteria by lysozyme during wine alcoholic fermentation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8(1), 76-83.

Gil, G. F., & Pszczólkowski, P. (2015). *Viticultura: Fundamentos para optimizar producción y calidad*. Segunda edición ampliada y actualizada. Ediciones UC.

Glories, Y. (1984) La couleur des vins rouges. 1ère partie Les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin*, 18, 195-217.

Glories, Y. (1984) La couleur des vins rouges. 2ème partie Mesure, origine et interpretation *Conn. Vigne Vin*, 18, 253-271.

Gómez, G (2009). Estudio del color y la composición fenólica de vinos elaborados con variedades tintas minoritarias cultivadas en Castilla-La Mancha y el efecto de su covinificación con Cencibel (Tesis de maestría). Universidad de Castilla, Ciudad Real.

Guerrero, R.F., Cantos-Villar, E., Puertas, B. & Ortiz Somovilla, V. (2015). Sulfuroso en la Elaboración de Vinos. Alternativas. Jerez de la Frontera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 1-23 p. Formato digital (e-book).

Heymann, H. & Noble, A.C. (1987). Descriptive analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines from California. *Am. J. Enol. Vitic.*, 38, 41-44.

Heymann, H. & Noble, A.C. (1989). Comparison of canonical variate and principal component analysis of wine descriptive analysis data. *J. Food Sci.*, 54, 1355-1358.

NAES, Instituto Nacional de Economía Social. (2018). Historia de la viticultura. México: Gobierno de México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/inaes/es/articulos/historia-de-la-viticultura?idiom=es>

Jackson, R.S. (1994) *Wine Science: Principles and Applications*. Academic Press, New York.

Jilbert, R., Kennedy, J.A., Daeschel, M.A. (2005). Lysozyme interaction with anthocyanin and pigmented polymer fractions from Pinot Noir wine. *Am J. Enol. Viticult.* 56: 303a.

Lacoste, P., Yuri, J., Aranda, M., Castro, A., Quinteros, K., Solar, M., Soto, N., Gaete, J., & Rivas, J. (2009). Variedades de uva en Chile y Argentina (1550-1850). *Genealogía del ttorrontés. Mundo Agrario*, 10 (20).

Lawless, H.T. & Heymann, H. (1998). *Sensory Evaluation of Food, Principles and Practices*. Ed. Springer, United States, 1-12, pp. 341-371.

Ley 25. Estatuto de la Viña, del Vino y de los Alcoholes. España, 1970.

Liburdi, K., Benucci, I., & Esti, M. (2014). Lysozyme in wine: an overview of current and future applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 1062-1073.

Guerra, J. & Laurie, V. (2009). Evaluación del efecto combinado del pH y SO₂ sobre la oxidación fenólica en soluciones modelo de vino. Universidad de Talca: Escuela de Agronomía, p. 53.

López, I., Santamaria, P., Tenorio, C., Garijo, P., Gutierrez, A.R., Lopez, R. (2009). Evaluation of lysozyme to control vinification process and histamine production in Rioja wines. *J. Microbiol. Biotechnol.* 19(9):1005–12.

López, M. (2020). Historia del vino en México. México: Puerto Vallarta Vacations. Recuperado de: <https://www.puertovallarta.net/espanol/informacion-general/historia-del-vino-mexicano>.

Margheri, G.; Tonon, D. y Trepin, P. (1980) Modificazione della composizione dei composti polifenolici dei vini nel corso dell'invecchiamento. *Vini d'Italia*.

Mijares, I. & Sáez, J. (2007). El vino de la cepa a la copa. Madrid: Ediciones Mundo-Prensa, pp. 75-77.

Navarro, J., García, E., Gómez, S. & Izquierdo, P. (2018). Comparison between the phenolic composition of Petit Verdot wines elaborated at different maceration/fermentation

temperatures. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 996-1007. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1479856>

Noble, A.C. & Shannon, M. (1987). Profiling Zinfandel Wines by Sensory and Chemical Analyses. *Am. J. Enol. Vitic.*, 38, 1-5.

Noble, A.C. & Lesschaeve, I. (2006). Sensory analysis of food flavor. En: Voilley, A., Etiévant, P., editors. *Flavour in food*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 62-80 p.

Ohkubo, T., Noble, A.C., Ough, C.S. (1987). Evaluation of California Chardonnay wines by sensory and chemical analyses. *Sci. Aliments*, 7.

Organización Internacional de la Viña y el Vino, OIV (2021). Vol. I y II. Disponible en: <https://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis/compendio-de-los-metodos-internacionales-de-analisis-de-los-vinos-y-de-los-mostos-2-vol>.

Pastor, M. V., Costell, E., Izquierdo, L., & Durán, L. (1996). Perfil descriptivo de néctares de melocotón. Evaluación de jueces y de atributos con el análisis de Procrustes generalizado/ Sensory profile of peach nectars. Evaluation of assessors and attributes by generalized Procrustes analysis. *Food science and technology international*, 2(4), 219-230.

Peters, G. & Gossette, F. (2007). Geographic variations in cultivar distributions: Pinot noir, Barbera and Zinfandel in California. *Journal of Wine Research*. 1(2), 121-138. <https://doi.org/10.1080/09571269008717866>

Pretorius, I. S. (2020). Tasting the terroir of wine yeast innovation. *FEMS yeast research*, 20(1), foz084.

Proctor, V.A. & Cunningham, F.E. (1988). The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical. *Crit Rev Food Sci* 26:359–95.

Ramey, D.; Bertrand, A.; Ough, C.S.; Singleton, V.L. y Sanders E. (1986). Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 99-106.

Radler, F. (1993) Yeasts-metabolism of organic acids. In *Wine microbiology and biotechnology* (Ed Fleet, G. H.) pp. 165-182. Chur, Harwood Academic.

Rebolo, S. (2008). Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra (Tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela.

Reed, G. & Nagodawithana, W. (1998). New development in wine microbiology. *Am J. Enol. Vitic.* 36, 1-10.

Regodón, J. (1997). Obtención y caracterización de cepas autóctonas de levaduras para la elaboración estandarizada de vinos de calidad (Tesis doctoral). Universidad de Extremadura, Cáceres.

Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., Ribéreau-Gayon, P. (1982) *Sciences et techniques du vin*. Tome 1. Analyse et contrôle des vins; Ed. Dunod. Paris.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). Handbook of Enology, volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments. John Wiley & Sons.

Rojas, R. & Reyes, E. (2005). Aseguramiento de la calidad y biotecnología en la industria del vino. *Ciencia y Trabajo*, 7(11), 97-103.

Saucier, C., Glories, Y., & Roux, D. (1999). Tannin-colloid interactions: new advances concerning the concept of 'good' and 'bad' tannins. *Rev. Oenolog. Tech. Vitivinicol. Oenolog*, 94, 9-10.

Sims, C.A. & Bates, R.P. (1994). Effect of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment, and sensory characteristic of red *Vitis rotundifolia* wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41, 56-62.

Sommer, S., Wegmann-Herr, P., Wacker, M., & Fischer, U. (2018). Influence of Lysozyme Addition on Hydroxycinnamic Acids and Volatile Phenols during Wine Fermentation. *Fermentation*, 4(1), 5.

Spayd, S.E.; Wamphe, R.L.; Evans, R.G.; Stevens, R.G.; Seymour, B.J. and Nágel, C.W., (1994). Nitrogen Fertilization of white Riesling grapes in Washintong. Mus and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 45, 34-42.

Querol, A., Barrio, E., Huerta, T. & Ramón, D. (1993). Utilización de técnicas moleculares para la caracterización de levaduras vínicas y el estudio del proceso de vinificación. *Microbiología SEM*, 9(1993), 76-82.

Whiting, G.C. (1976). Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages—A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 82(2), 84-92.

Yıldırım, H. K., & Darıcı, B. (2020). Alternative methods of sulfur dioxide used in wine production. *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 9(4).

Zamora, F. M. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Mundi-Prensa Libros.