

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ETSIAMN

MÁSTER UNIVERSITARIO EN ENOLOGÍA



**UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**

***Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de
vinos sin sulfitos añadidos***

Curso 2018/19

Autor: Josep Martínez i Tomàs

Tutor: José Luís Aleixandre Benavent

Cotutor externo: Camilo Chirivella Romero

Valencia, julio de 2019

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Resumen

En el presente trabajo se pretende reducir al mínimo la cantidad de sulfitos producidos por las levaduras en fermentaciones alcohólicas de vinos, con el fin de no necesitar especificar en la etiqueta del vino su presencia. Para ello, se analizan los efectos de diferentes variables sobre vinos blancos, rosados y tintos. Las variables en cuestión son, en primer lugar, el efecto de la dosis inicial de sulfitos sobre su concentración final; en segundo lugar, el efecto del grado alcohólico sobre los niveles finales de sulfitos; y, finalmente, el efecto de diferentes levaduras comerciales sobre la concentración final de sulfitos. Así pues, por una parte, se ha observado que para grados alcohólicos altos se inhibe la producción de sulfitos por el metabolismo de las levaduras, y, por otra parte, se han determinado diferentes levaduras comerciales cuya producción de sulfitos ha resultado en valores medios menores a 1 mg/L.

Palabras clave: *sulfitos, grado alcohólico, levaduras comerciales, vinos blancos, rosados y tintos*

Resum

En aquest treball es pretén reduir al mínim la quantitat de sulfits produïts pels llevats en fermentacions alcohòliques de vins, amb la finalitat de no necessitar especificar en l'etiqueta la seua presència. Així doncs, s'analitzen els efectes de diferents variables sobre vins blancs, rosats i negres. Les variables en qüestió són, en primer lloc, l'efecte de la dosi inicial de sulfits sobre la seua concentració final; en segon lloc, l'efecte del grau alcohòlic sobre els nivells finals de sulfits; i, finalment, l'efecte de diferents llevats comercials sobre la concentració final de sulfits. Per tant, per una banda, s'ha observat que per a graus alcohòlics elevats s'inhibeix la producció de sulfits pel metabolisme dels llevats, i, d'altra banda, s'ha determinat que la producció de sulfits per part d'alguns llevats comercials ha donat valors mitjans inferiors a 1 mg/L.

Paraules clau: *sulfits, grau alcohòlic, llevats comercials, vins blancs, rosats i negres*

Abstract

In the present work it is tried to reduce to the minimum the quantity of sulphites produced by the yeasts in alcoholic wine fermentations, with the purpose of not needing to specify its presence in the label. For this, the effects of different variables on white, rosé and red wines are analyzed. The variables in question are, first, the effect of the initial dose of sulphites on their final concentration; second, the effect of the alcoholic degree on the final sulphite levels; and, finally, the effect of different commercial yeasts on the final concentration of sulphites. Thus, on the one hand, it has been observed that for high alcoholic levels the production of sulphites is inhibited by the metabolism of yeasts, and on the other hand, different commercial yeasts have been identified whose sulphite production has reached average values lower than 1 mg/L.

Keywords: *sulphites, alcoholic degree, comercial yeasts, white, rosé and red wines*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero mostrar mi agradecimiento a la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, por brindarme la oportunidad de trabajar en un centro de investigación vitivinícola de primer nivel y de realizar este Trabajo Final de Máster.

En segundo lugar, al Servicio de Producción Ecológica, Innovación y Tecnología de la Generalitat Valenciana, por permitirme realizar estas experiencias en sus instalaciones de la Bodega Experimental del Instituto Tecnológico de Viticultura y Enología de Requena. Agradecer también al Servicio de Seguridad y Control de la Producción Agraria de la Generalitat Valenciana, especialmente a Alfonso Herrero, por la realización de los análisis de Infrarrojos y Sulfuroso Total en los vinos. Y, muy especialmente, mi más sincero agradecimiento a María de los Ángeles Novella Herrero, del citado Servicio de Seguridad y Control de la Producción Agraria, por el cariño y dedicación puestos en la realización de los análisis de sulfuroso total, fundamentales en este trabajo.

Finalmente, quiero dar las gracias a mis tutores, José Luís y Camilo, por su apoyo y consejo en la realización y redacción de este trabajo, así como a mi compañero de prácticas, Sergio, por su inestimable ayuda en la realización de los trabajos de campo, bodega y laboratorio.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	ANHÍDRIDO SULFUROSO	1
1.2.	MÉTODOS ALTERNATIVOS AL SO ₂	2
1.3.	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE MOSTOS Y VINOS.....	4
2.	OBJETIVOS.....	6
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
3.1.	VARIEDADES DE UVA UTILIZADAS	6
3.2.	ADITIVOS	7
3.3.	LEVADURAS	7
3.4.	BACTERIAS LÁCTICAS.....	8
3.5.	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	8
3.5.1.	ANÁLISIS DE MOSTOS.....	8
3.5.2.	ANÁLISIS MIXTOS (MOSTOS Y VINOS).....	9
3.5.3.	ANÁLISIS DE VINOS.....	10
4.	PROCESADO Y ELABORACIÓN	10
4.1.	VINO BLANCO O ROSADO	12
4.2.	VINO TINTO	15
5.	DISEÑO DE EXPERIENCIAS	16
5.1.	EXPERIENCIA 1.....	16
	Determinación de la influencia del grado alcohólico en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Sémillon	16
5.2.	EXPERIENCIA 2.....	17
	Determinación de la influencia de la concentración inicial de sulfitos en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Macabeo....	17
5.3.	EXPERIENCIA 3.....	18
	Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino tinto de la variedad Tempranillo.....	18
5.4.	EXPERIENCIA 4.....	20
	Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de vino rosado de la variedad Tempranillo	20
5.5.	EXPERIENCIA 5.....	20
	Determinación de la influencia del tipo de levadura y del tiempo de reinoculación en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Tardana	20
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
6.1.	EXPERIENCIA 1.....	22

6.2.	EXPERIENCIA 2.....	26
6.3.	EXPERIENCIA 3.....	27
6.4.	EXPERIENCIA 4.....	29
6.5.	EXPERIENCIA 5.....	30
7.	CONCLUSIONES	34
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	35
9.	ANEXOS	37

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANHÍDRIDO SULFUROSO

El anhídrido sulfuroso (SO_2) empezó a utilizarse como conservante hace aproximadamente unos 250 años, a finales del siglo XVIII. Hoy en día se usa ampliamente en el sector alimentario, especialmente en aquellos alimentos con bajos valores de pH, tales como zumos de frutas y bebidas fermentadas. Tradicionalmente, en el sector vinícola el sulfuroso se ha utilizado para controlar el desarrollo de microorganismos no deseados así como para inhibir la oxidación enzimática mediante la acción de la polifenol oxidasa (PPO). De este modo se controla el proceso oxidativo del vino así como la aparición de fermentaciones alternativas (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

No todo el anhídrido sulfuroso (o cualquiera de sus formas) presente en el vino procede por vía externa, pues durante la fermentación alcohólica se forma como subproducto en la vía de reducción del sulfato. Las distintas cepas de levaduras se pueden clasificar en función de la cantidad de anhídrido sulfuroso que producen durante su metabolismo. El origen de la disparidad de producción de anhídrido sulfuroso de cada cepa de levadura es incierto, afirmando algunos autores que podría deberse a alteraciones o mutaciones de la enzima sulfito reductasa (Werner et al., 2009). La producción de sulfuroso de las levaduras es una propiedad importante para los productores de levaduras secas activas, y la gran mayoría de las levaduras del mercado son bajas productoras de SO_2 , con cantidades inferiores a 20 mg/L.

Por otro lado, el anhídrido sulfuroso está presente en el vino en varias formas, debido al complejo equilibrio químico que mantiene con el medio. Puede existir en estado libre (forma activa) o bien unido o combinado a otras moléculas (forma combinada), siendo la suma de las dos formas el sulfuroso total. Además, pese a que el rango de pH en el vino es relativamente pequeño (suele oscilar entre valores de 3 y 4), la concentración de las diferentes formas derivadas del sulfuroso depende directamente del pH, lo que afecta al grado de actividad de éste, con lo que no es fácil calcular la cantidad precisa de sulfuroso para cada vino. Así pues, en la práctica se tiende a utilizar concentraciones estándar de sulfuroso para cada tipo de vino, aunque se debe evitar a toda costa emplear una cantidad excesiva de SO_2 , ya que pueden aparecer alteraciones organolépticas no deseadas, o, más importante, porque puede suponer un riesgo para la salud, que se puede manifestar en forma de reacciones alérgicas diversas (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Guerrero y Cantos-Villar, 2015). En este aspecto, la normativa, tanto española como europea, estipula que en el etiquetado de un vino debe constar la presencia de sulfitos si su concentración es superior a 10 mg/L (MAGRAMA, 2012).

Debido al riesgo que puede suponer para la salud, existe un interés creciente en la investigación y desarrollo de alternativas al sulfuroso. Dichas alternativas deben satisfacer la protección del medio tanto frente a ataques microbianos como frente a la acción oxidativa, manteniendo intactas o alterando mínimamente las características organolépticas.

1.2. MÉTODOS ALTERNATIVOS AL SO₂

A raíz de los problemas expuestos anteriormente, se han ido desarrollando multitud de métodos alternativos al anhídrido sulfuroso para la protección de mostos y vinos, según sus capacidades antioxidantes, antimicrobianas, de protección del color, de protección de compuestos volátiles, etc, con mayor o menor tasa de éxito. Las características y el origen de estos métodos alternativos al sulfuroso son muy diversas, y se recogen en la Tabla 1 a modo de resumen (Guerrero Hidalgo et al., 2015).

Tabla 1: Principales métodos alternativos al anhídrido sulfuroso para la protección de mostos y vinos

ALTERNATIVAS	EFFECTOS	DESVENTAJAS	
Aditivos QUÍMICOS	Dicarbonato de metilo (DMDC)	Inhibición del crecimiento de microorganismos	Menor efecto en bacterias que en levaduras Compuesto exógeno al vino
	Bacteriocinas	Inhibición de bacterias Control de la fermentación maloláctica	No tiene efecto sobre las levaduras Compuesto exógeno al vino
	Compuestos fenólicos	Inhibición del crecimiento de microorganismos Capacidad antioxidante Posibles mejoras en características organolépticas Presentes naturalmente en el vino	Pueden afectar al color y al aroma
	Lisozimas	Inhibición de bacterias Control de la fermentación maloláctica	No afecta a levaduras y solamente a bacterias concretas (gram-positivas) Puede afectar a los compuestos fenólicos de vinos tintos (unión química) Formación de turbidez Compuesto exógeno al vino

Tabla 1 (continuación): Principales métodos alternativos al anhídrido sulfuroso para la protección de mostos y vinos

ALTERNATIVAS	EFFECTOS	DESVENTAJAS
Métodos FÍSICOS	Pulsos eléctricos Eliminación de microorganismos patógenos Mejora de la extracción de compuestos fenólicos Aceleración del envejecimiento	Instrumental caro y complejo El vino tratado evoluciona más rápidamente
	Ultrasonidos Aceleración de la maduración de los vinos Mejora de la extracción de compuestos polifenólicos	Instrumental caro y complejo Las esporas de hongos son resistentes Equipo de laboratorio, falta escalado industrial
	Luz ultravioleta (UV) Eliminación de microorganismos patógenos	Modificación de los parámetros organolépticos
	Alta presión hidrostática Eliminación de microorganismos patógenos	Puede conllevar la activación de ciertas enzimas, que pueden afectar a la capacidad antioxidante y al color Instrumental caro y complejo Disminución de la concentración de polifenoles Modificación de los parámetros organolépticos

Así pues, desde los puntos de vista del impacto sobre el vino, la naturaleza de los compuestos, su precio en el mercado y la complejidad de su utilización, la opción más lógica es la utilización de compuestos fenólicos y extractos vegetales como alternativas al anhídrido sulfuroso, que son las opciones utilizadas en estas experiencias.

No obstante, las alternativas al anhídrido sulfuroso carecen, por el momento, de la capacidad protectora total que éste ofrece, además de que únicamente son viables para la elaboración de vinos sin crianza y/o envejecimiento, puesto que su efecto protector, en la mayoría de casos, se reduce drásticamente o desaparece después de la fermentación alcohólica. Así pues, la utilización de compuestos alternativos conjuntamente con el anhídrido sulfuroso parece ser la opción más sensata, para así poder reducir la carga de éste último en el vino, puesto que la sustitución completa del sulfuroso por las otras vías descritas es todavía inviable (Guerrero Hidalgo et al., 2015).

Finalmente, una vez demostrada la viabilidad de éstos compuestos alternativos al sulfuroso en la elaboración de vinos todavía queda la aceptación de dichas alternativas por parte de los organismos oficiales (OIV), por lo que el proceso de asimilación generalmente se extiende durante años hasta admitirse y regularse en los manuales y guías de prácticas enológicas (OIV, 2019).

1.3. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE MOSTOS Y VINOS

Los principales parámetros físico-químicos en un mosto de uva y, posteriormente, en un vino vienen expuestos en la Tabla 2.

Tabla 2: Principales parámetros físico-químicos de mostos y vinos

MOSTO	VINO
<p>AZÚCARES</p> <p>La uva contiene entre un 15 y un 25% de azúcares. Los principales son glucosa y fructosa, que son los que dan lugar a la fermentación alcohólica y se encuentran aproximadamente en la misma proporción en el medio. La cantidad restante de azúcares la componen aquellos no fermentables, principalmente pentosas (Aleixandre Benavent y Álvarez Cano, 2003).</p>	<p>ALCOHOL</p> <p>El etanol es el segundo compuesto mayoritario del vino y es el principal producto de la fermentación de los azúcares. Por ley, el vino debe tener una graduación alcohólica superior a nueve grados, excepto para los vinos dulces naturales en los que debe ser superior a ocho grados (BOE, 1970). Además, el etanol, pese a ser producido naturalmente por las levaduras, es un compuesto biocida y tóxico para éstas, por lo que su tolerancia a altas cantidades de etanol en el medio es una de las principales características a tener en cuenta a la hora de aislar y desarrollar una cepa de levadura comercial.</p>

Tabla 2 (continuación): Principales parámetros físico-químicos de mostos y vinos

MOSTO	VINO
	<p style="text-align: center;">GLICERINA</p> <p>El glicerol es el tercer compuesto mayoritario del vino tras el agua y el alcohol. Se forma a partir de la fermentación de los azúcares a través de una ruta metabólica secundaria. De forma similar al etanol, al tratarse de un alcohol le confiere al vino un sabor dulce y suave.</p>
ÁCIDOS ORGÁNICOS	
<p>Los principales ácidos presentes en el mosto son el ácido málico, el ácido tartárico y el ácido cítrico. La valoración y determinación de todos los ácidos en forma libre constituye la acidez total, que se suele expresar como ácido tartárico.</p> <ul style="list-style-type: none">- El ácido málico está presente en uvas verdes y poco maduras, además de en otras partes de la planta como hojas y tallos, y su proporción va disminuyendo a medida que madura el fruto.- El ácido tartárico es el mayoritario en mostos de uva. A diferencia del málico, su proporción no varía durante la maduración de la uva, y únicamente disminuye su concentración por disolución cuando ésta aumenta en grosor y tamaño, al aumentar la cantidad total de agua.- Por último, el ácido cítrico está presente en muy baja proporción en la uva.	<ul style="list-style-type: none">- Ácido láctico: Mediante la acción de las bacterias lácticas, el ácido málico puede ser convertido en ácido láctico durante la fermentación maloláctica, cambiando el sabor áspero y duro del ácido málico por los matices más sedosos y suaves del ácido láctico, así como disminuyendo la acidez del vino. También es un subproducto natural de la fermentación alcohólica.- Ácido acético: Durante las fermentaciones alcohólica y maloláctica se forma naturalmente ácido acético como subproducto de la ruta metabólica. Sin embargo, por acción de las bacterias acéticas (picado acético) se puede degradar el etanol del vino a ácido acético, aumentando la acidez volátil y pudiendo llegar a desprejarse por completo.
POLIFENOLES	
<p>Los polifenoles son compuestos importantes en mostos y vinos puesto que confieren propiedades como el color o la astringencia. Se dividen en dos grupos principales:</p> <ul style="list-style-type: none">- No flavonoides: Constituyen el grupo minoritario y engloban a los ácidos fenólicos y los estilbenos, siendo su función principal su capacidad antioxidante.- Flavonoides: Son el grupo mayoritario y engloban a los antocianos, a los flavonoles y a los flavanoles. Los antocianos confieren la característica pigmentación roja a las uvas tintas, estando ausentes en uvas blancas; los flavonoles otorgan pigmentación amarilla tanto a uvas blancas como tintas, y los flavanoles o taninos confieren astringencia y amargor. Los taninos pueden condensar y polimerizar en largas cadenas con el paso del tiempo, disminuyendo su astringencia.	

2. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo es determinar la influencia de tres variables sobre la concentración final de sulfitos en un vino. Se pretende así optimizar los parámetros en la elaboración de un vino para poder minimizar la cantidad de sulfitos generados durante la fermentación alcohólica. Las variables a estudiar son las siguientes:

- El efecto del grado alcohólico sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, para un vino blanco.
- El efecto de la concentración de sulfitos iniciales sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, para un vino blanco.
- El efecto de la levadura comercial utilizada sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, para vino blanco, rosado y tinto.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. VARIEDADES DE UVA UTILIZADAS

Las variedades de uva utilizadas en este trabajo han sido las variedades blancas Sémillon, Macabeo y Tardana, y la variedad tinta Tempranillo.

La variedad de uva blanca Sémillon, originaria de Burdeos (Francia), es una variedad cultivada principalmente en Francia y Australia, de maduración temprana, vigorosa y productiva, aunque con rendimientos muy variables en función de la fertilidad del terreno. Es resistente a la mayoría de enfermedades pero susceptible a la podredumbre (*Botrytis cinerea*) debido a la fina piel de sus bayas. Esta característica, junto con su elevado potencial enológico, hace que sea una variedad muy apta para el envejecimiento y la elaboración de vinos de crianza, dulces y fortificados, así como para la destilación. Su potencial para la elaboración de vinos secos también es excelente, pues presenta gran complejidad e intensidad aromática, aunque una baja acidez (MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN, 2019; PLANT GRAPE, 2019).

La variedad blanca Macabeo, originaria de Cataluña (España), es una variedad ampliamente cultivada y conocida en España, de ciclo de maduración medio, muy productiva y sensible a la acción del viento. Es poco resistente al ataque de hongos, especialmente oídio y podredumbre, y de ácaros. Se utiliza para elaborar un amplio abanico de tipos de vinos, caracterizados por su elevada acidez, ya sean espumosos, vinos secos o ensamblajes con otras variedades para potenciar su acidez y frescura (MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN, 2019).

La variedad blanca Tardana, también llamada Planta Nova, es autóctona de Utiel-Requena (Valencia). Es de maduración tardía, y la dureza de su piel hace que se prolongue su vida. Da vinos de suave color pajizo con tonalidades doradas, intensos en nariz, con aromas afrutados. En boca son frescos y equilibrados, muy estructurados y persistentes (D.O. UTIEL-REQUENA, 2019).

La variedad tinta Tempranillo, cuyo origen es incierto ya que se debate entre Borgoña y el norte de España, es una variedad muy conocida y cultivada en España, con múltiples sinonimias en función de la región, de ciclo corto y maduración temprana (de ahí su nombre). Es sensible al

ataque de hongos (oídio), y es muy sensible a la sequía y, por tanto, al cambio climático, pues es una variedad que presenta una baja acidez. No obstante, posee un potencial enológico muy alto, pues permite la elaboración de vinos rosados y tintos de excelente calidad de muy diversas tipologías: jóvenes, de maceración carbónica, de corta, media o larga crianza, etc (MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN, 2019).

3.2. ADITIVOS

- **Pirosulfito de potasio** ($K_2S_2O_5$, E-224): Con un rendimiento en anhídrido sulfuroso de aproximadamente el 50%, se debe aportar el doble de la dosis deseada de SO_2 como piro sulfito de potasio (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Novoclar SPEED** (Poligalacturonasa): Enzima indicada para mejorar la clarificación de mostos con pH bajo y alto contenido en pectinas (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Green Fine Must** (Proteína de guisante): Indicada para la clarificación de mosto blanco y rosado, generalmente, por su reducción de la turbidez, del color y de compuestos fenólicos (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Tanin Gallique à l'alcool** (Tanino de agalla de roble extraído con alcohol): Indicado para vinos blancos y rosados, su carácter antioxidante aumenta el potencial redox de los mostos mejorando la vinificación de uvas botritizadas o de mostos de pH alto (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Pro Tanin R** (Taninos proantocianídicos): Indicado para vinos tintos, limita los riesgos de depósito de materia colorante por su reacción con las proteínas (LAMOTHE-ABIET, 2019).

3.3. LEVADURAS

Todas las levaduras utilizadas en las experiencias son levaduras secas activas comerciales.

- **Concerto** (*Kluyveromyces thermotolerans*): Indicada para elaborar vinos de climas cálidos, pues contribuye a aumentar la acidez total del vino mediante una mayor producción de ácido láctico. Se debe reinocular otra levadura a los pocos días del arranque de la fermentación, puesto que su tolerancia al alcohol es relativamente baja (CHR HANSEN, 2019).
- **Prelude** (*Torulaspota delbrueckii*): Seleccionada por su baja producción de acidez volátil, especialmente en mostos muy azucarados, además de su elevada producción de manoproteínas. Al igual que la *Concerto*, es una levadura indicada para el arranque de la fermentación, puesto que se debe reinocular a los pocos días con otra que sea capaz de finalizarla (CHR HANSEN, 2019).
- **Excellence Bio-Nature** (*Metschnikowia pulcherrima*): Levadura poco fermentadora, utilizada en el arranque fermentativo como protección biológica para ocupar el medio y evitar el crecimiento de microorganismos indeseables, para posteriormente inocular la levadura deseada (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Excellence DS** (*Saccharomyces cerevisiae*): Indicada para elaborar vinos tintos, posee capacidades fermentativas de alto grado alcohólico (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Excellence FR** (*Saccharomyces cerevisiae*): Indicada para elaborar vinos tintos de consumo rápido, es decir, no destinados a crianza y/o envejecimiento, pues su producción de ésteres volátiles es elevada (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Excellence FTH** (*Saccharomyces cerevisiae*): Posee una excepcional capacidad de revelación de los tioles volátiles, por lo que está especialmente indicada para la elaboración de vinos blancos y rosados (LAMOTHE-ABIET, 2019).

- **Excellence STR** (*Saccharomyces cerevisiae*): Destinada a la elaboración de vinos blancos y rosados afrutados, gracias a su fuerte producción de ésteres y de ciertos componentes tiólicos (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **Excellence XR** (*Saccharomyces cerevisiae*): Específica para vinos tintos de calidad, seleccionada por su alta producción de polisacáridos y de glicerol (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **L.A. Bayanus** (*Saccharomyces cerevisiae bayanus* cepa C12): Seleccionada por su capacidad de favorecer el re arranque de las fermentaciones alcohólicas en condiciones críticas de hasta un 15% alc/vol (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **L.A. Cerevisiae** (*Saccharomyces cerevisiae* cepa Montrachet 522 Davis): Seleccionada para los arranques de fermentación rápidos, en vinificación de vinos tintos y blancos (LAMOTHE-ABIET, 2019).
- **L.A. PM** (*Saccharomyces cerevisiae*): Ideal para la fermentación de mostos en condiciones críticas (LAMOTHE-ABIET, 2019).

3.4. BACTERIAS LÁCTICAS

- **Viniflora CINE** (*Oenococcus oeni*): Negativa en citrato, es decir, no degrada el ácido cítrico para producir diacetilo. Indicada para la elaboración de vinos blancos y rosados (CHR HANSEN, 2019).
- **Viniflora OENOS** (*Oenococcus oeni*): Cepa estándar apta tanto para coinoculación como para inoculación secuencial. Indicada para la elaboración de vinos tintos (CHR HANSEN, 2019).

3.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

3.5.1. ANÁLISIS DE MOSTOS

Los métodos siguientes se han utilizado exclusivamente para la determinación de parámetros de mostos.

- **Determinación de los azúcares** (refractometría): Se realiza mediante la utilización de un refractómetro, obteniendo una lectura en forma de porcentaje másico (grados Brix), que expresan los gramos de sacarosa por 100 gramos de disolución. La determinación de los azúcares mediante esta técnica es, en este caso, una indicación meramente cualitativa, pues sirve como referencia del grado de madurez de la uva para poder establecer el momento óptimo de vendimia. Asimismo, mediante la utilización de tablas de conversión, se puede establecer el grado alcohólico probable del mosto a partir de la lectura de los grados Brix (OIV, 2019).
- **Determinación de la acidez total** (expresada como ácido tartárico): Con la ayuda de un potenciómetro se determina la neutralización a pH 7 de una muestra de mosto o vino mediante adición de NaOH 0,1 M. La muestra se debe preparar tomando 10 mL del mosto o vino y añadiendo agua destilada. La cantidad de agua destilada añadida es aproximada, puesto que el agua es neutra y no afecta a la valoración de la acidez, al contrario que sucedería con la determinación del pH, por ejemplo. Así pues, debe añadirse la cantidad justa de agua para que la sonda del potenciómetro quede sumergida sin verse obstruida por la agitación magnética o cualquier otro elemento. Por tanto, la acidez total expresada en g/L de ácido tartárico será $AT = 0,75 \cdot n$, siendo n el volumen en mililitros de NaOH 0,1 M consumidos en la valoración (OIV, 2019).

- **Determinación del pH:** Se realiza con un potenciómetro o pH-metro, correctamente calibrado con la ayuda de *buffers* o tampones químicos, por inmersión directa de la sonda en una muestra de mosto o vino (OIV, 2019).

3.5.2. ANÁLISIS MIXTOS (MOSTOS Y VINOS)

Las metodologías siguientes se han utilizado para la determinación de parámetros de color, concentración de antocianos y polifenoles totales, y concentración de anhídrido sulfuroso tanto para mostos como para vinos.

- **Determinación de las características cromáticas** (intensidad de color y tonalidad): Mediante un espectrofotómetro que opere en el rango del espectro visible (400-700 nm) se determinan las absorbancias a 420, 520 y 620 nm. El paso óptico de la cubeta a utilizar se determina de modo que el rango de valores de las absorbancias resultantes esté entre 0,3 y 0,7, aplicando posteriormente las correcciones adecuadas según la fórmula $A_{correctada} = A \cdot \frac{1}{d}$, siendo d el paso óptico en cm. En este caso, al utilizar una cubeta de 1 mm de paso óptico simplemente se corrige la absorbancia multiplicando por 10. Así pues, la intensidad de color es la suma de las tres absorbancias (420, 520 y 620 nm) y la tonalidad es el cociente entre la absorbancia a 420 y a 520 nm (OIV, 2019).
- **Determinación de antocianos** (método de Puissant-Léon): Se realiza midiendo la absorbancia a 520 nm de una muestra acidificada con ácido clorhídrico al 1%. El método aconseja utilizar una dilución 1/100 y una cubeta de 1 cm de paso óptico. En este caso, al utilizar una cubeta de 1 mm de paso óptico, la dilución empleada será 1/11, es decir, 10 mL de ácido clorhídrico al 1% (se utilizan 10 mL y no 9 mL para mayor facilidad a la hora de dispensar los volúmenes) y 1 mL de muestra. La concentración de antocianos en mg/L vendrá determinada según la fórmula $[Antocianos] = 22,76 \cdot f \cdot \frac{1}{d} \cdot A_{520}$, siendo f el factor de dilución (11) y d el paso óptico en cm (0,1). Por tanto, la fórmula resultante será $[Antocianos] = 22,76 \cdot 11 \cdot 10 \cdot A_{520} = 2503,6 \cdot A_{520}$ (Blouin, 1992).
- **Determinación del Índice de Polifenoles Totales:** Para esta determinación se precisa de un espectrofotómetro que permita medir la absorbancia en el rango del ultravioleta, a 280 nm. Así pues, dado que la dilución es análoga al caso anterior, se aprovecha la disolución preparada para la determinación de antocianos explicada anteriormente y se realiza el barrido del espectrofotómetro desde 280 hasta 520 nm. El IPT vendrá dado por la fórmula $IPT = f \cdot \frac{1}{d} \cdot A_{280}$, siendo f la misma dilución y d el mismo paso óptico que en el caso anterior, con lo que se tiene que $IPT = 110 \cdot A_{280}$ (Ribéreau-Gayon et al., 1972).
- **Determinación del anhídrido sulfuroso** (método de Paul): Se realiza mediante titulación o valoración de la muestra. El principio químico se basa en el arrastre, en medio ácido, del anhídrido sulfuroso por una corriente de aire o nitrógeno, que es fijado y oxidado mediante burbujeo a una solución neutra y diluida de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). El ácido sulfúrico formado en consecuencia se valora con una solución estándar de hidróxido sódico (NaOH 0,01 M). Dependiendo de la temperatura a la que se purgue o arrastre el anhídrido sulfuroso del vino se puede determinar el sulfuroso libre o el total. Si se realiza la purga en frío (10 °C) se determinará el libre, mientras que si el arrastre es en caliente (100 °C) se determinará el total. En este caso, al determinar únicamente el anhídrido sulfuroso total, se emplea un mechero para calentar la muestra, y el resultado

del sulfuroso total (en mg/L) vendrá determinado por $[SO_2]_{total} = 6,4 \cdot n$, siendo n el volumen de NaOH 0,01 M utilizado en la valoración (OIV, 2019).

3.5.3. ANÁLISIS DE VINOS

Una vez finalizadas las elaboraciones de los distintos vinos, se analizan las muestras por espectrofotometría de infrarrojos para determinar multitud de parámetros de interés mediante la realización de un único ensayo.

- **Determinación por analizador de infrarrojos por transformada de Fourier (IRTF) del grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, pH, azúcares residuales, ácidos cítrico, málico y láctico y glicerol.** Mediante la utilización de un interferómetro de espectrofotometría infrarroja se puede escanear la totalidad del espectro infrarrojo en una amplia banda de 2.000 a 10.000 nm. Calibrando el equipo para diferentes compuestos orgánicos, el análisis del espectro resultante permite cuantificarlos en una muestra dada. La OIV establece unas directrices respecto a las técnicas de espectrofotometría infrarroja, pero no existe una legislación específica o un método oficial de análisis por infrarrojos al tratarse de una técnica compleja y diversa que permite analizar multitud de compuestos (OIV, 2019). Así pues, las muestras fueron analizadas por el laboratorio del Servicio de Seguridad y Control de la Producción Agraria de Requena.

4. PROCESADO Y ELABORACIÓN

El tratamiento y procesado de la uva sigue vías diferentes según se destine a la elaboración de vino blanco, rosado o tinto, sobre todo en las etapas iniciales de maceración y prensado. No obstante, el primer paso, el seguimiento de la maduración de la uva, es idéntico.

Durante la maduración de la uva en la vid se realizan controles periódicos para determinar el momento óptimo de vendimia: se determinan los grados Brix (Imagen 1), la acidez total y el pH del mosto. Para el caso de uvas tintas, se determinan además las propiedades cromáticas (intensidad de color y tonalidad), antocianos e IPT.

Para determinar estos parámetros es necesario procesar la uva para obtener una muestra líquida. Por tanto, se trituran las bayas con una batidora de vaso (Imagen 2). El proceso debe ser homogéneo: el peso de las bayas, la intensidad y el tiempo de triturado deben ser los mismos para todas las muestras. En este caso, cada muestra contiene 200 ± 5 gramos de bayas que se trituran a intensidad máxima durante 45 segundos. Una vez trituradas las muestras, se depositan en botes de plástico y se les añade una pizca de enzimas pectolíticas para facilitar la sedimentación de los sólidos. A continuación, se introducen los botes de muestras en tandas de cuatro en un microondas de 800 vatios y se calientan durante dos minutos para facilitar la extracción de los compuestos fenólicos, y se centrifugan también de forma homogénea a 5000 rpm durante 10 minutos con rampa suave de aceleración (Imagen 3). Finalmente, se pipetea el sobrenadante a otro bote, tubo de ensayo u otro recipiente pertinente y se determinan los parámetros analíticos (Imagen 4 y 5).



Imagen 1: Refractómetro



Imagen 2: Batidora de vaso y temporizador



Imagen 3: Detalles de la centrífuga



Imagen 4: Espectrofotómetro con tomamuestras



Imagen 5: Potenciómetro, agitador magnético y bureta

Es interesante, desde el punto de vista práctico, que la madurez de la uva no sea muy elevada, es decir, que la concentración de azúcares no sea excesivamente alta, para así posteriormente no dar cabida a posibles problemas de fermentaciones inacabadas debidas a elevados grados alcohólicos probables. En última instancia, pese a que los controles de maduración son cruciales

en la selección del momento de vendimia, se deben tener en cuenta también criterios climatológicos y de disponibilidad de mano de obra.

Así pues, una vez vendimiada, la uva se recoge en cajas de unos 15 kg y se lleva a la bodega. En función de la disponibilidad del instrumental y de la mano de obra se procesa el mismo día o se guarda en una cámara frigorífica a -3 °C para ser procesada al día siguiente. El primer paso en la elaboración, después de tomar una última muestra de la uva, es el despalillado y estrujado (Imagen 6). La uva se descarga en la tolva de la despalilladora-estrujadora, donde mediante un tornillo sinfín pasa al cilindro o tambor y se separa del raspón por la acción de unas palas rotativas en su interior, recogiendo la uva estrujada y el mosto resultante por la parte inferior con un cuévano. Generalmente el proceso se repite un par de veces, para asegurarse que la uva ha quedado completamente estrujada, para así facilitar el prensado posterior, en el caso de vino blanco o rosado, o la maceración, en el caso de vino tinto.



Imagen 6: Detalles de la despalilladora-estrujadora

Los pasos siguientes difieren en función del tipo de vino a elaborar: en el caso de vino blanco o rosado se procede al prensado de la uva, y en el caso de vino tinto se realizan la maceración y la fermentación de forma simultánea.

4.1. VINO BLANCO O ROSADO

Para el caso de vino blanco o rosado, la uva estrujada y el mosto se vierten del cuévano a la prensa. Ésta se trata de una pequeña prensa vertical de membrana o balón hinchable, de unos 25 kg de capacidad, consistente en un soporte metálico, un cilindro metálico exterior con aberturas para permitir la salida de líquido, y en el centro una membrana hinchable elástica de goma conectada al agua de red, que al abrir la válvula de paso se llena, aumenta su volumen, y la presión que ejerce sobre la uva y las paredes del cilindro provoca que se separe el líquido de la parte sólida, recogiendo en otro cuévano o recipiente, con ayuda de un colador o tamiz para separar los pequeños restos sólidos que se hayan podido filtrar (Imagen 7).



Imagen 7: Detalle de la prensa

Así pues, una vez separado el líquido de los hollejos y pepitas, éste se dispone en sendos recipientes de acero inoxidable (lecheras) de diferentes volúmenes (10, 30 y 50 L), para realizar el desfangado del mosto (Imagen 8). Se adicionan las enzimas pectolíticas, el tanino gálico al alcohol y la proteína de guisante, según las dosis que especifique el fabricante para cada caso, siguiendo este orden, primero el tanino y después la proteína, para evitar que éste haga precipitar a la proteína añadida y no a la ya presente en el mosto, pues ésta es una de sus finalidades. Se cierra el recipiente y se deja reposar el mosto en la cámara frigorífica a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura durante 24-48 horas. Transcurrido este tiempo, se trasiega el líquido con una bomba manual, con especial cuidado de no arrastrar los posos del fondo, a los recipientes de vidrio donde se llevará a cabo la fermentación, ya sean matraces de 2 litros o garrafas de 10 o 20 litros, dependiendo de la experiencia a realizar. Se deja templar el mosto durante unas horas hasta que alcance una temperatura apta para inocular las levaduras.

Una vez templado el mosto a temperatura ambiente, si la experiencia lo requiere, se adiciona también piro-sulfito de potasio en las dosis correspondientes. Así pues, como último paso, se siembra la levadura pertinente siguiendo las instrucciones del fabricante, y se tapa de forma que se permita la salida del gas carbónico que se irá generando durante la fermentación. Esto se consigue, en parte, fijando una bolsa de plástico transparente a la boca del recipiente con una goma. Con este mecanismo se permite el escape de parte del gas al no tratarse de un cierre hermético, y se evitan contaminaciones externas ya que la boca del recipiente queda cerrada. Se debe evitar apretar en exceso la goma para que la bolsa no explote por la presión.



Imagen 8: Detalle de las lecheras, garrafas y matraces empleados, así como del cierre con bolsa y goma

A partir de este momento, se almacenan los recipientes con el mosto-vino en fermentación en diferentes estancias según la temperatura a la que se desee que transcurra la fermentación. En el caso de los vinos blancos y rosados, se disponen en una cámara frigorífica adicional a temperatura regulada entre 16 y 18 °C, pues interesa una temperatura de fermentación relativamente baja.

El seguimiento de la fermentación se realiza diariamente mediante medición del peso en una báscula. Aunque es importante para determinar las dosis y cantidades de aditivos y levaduras, el peso del mosto en cada recipiente puede no ser el mismo, pues al final de la fermentación se determinará la curva de seguimiento de fermentación a lo largo del tiempo en función del porcentaje de peso perdido, y no en función de su valor absoluto, con lo que si hay una diferencia entre los valores de partida de diferentes muestras resulta irrelevante.

Transcurrido un tiempo, entre una y dos semanas, cuando se empieza a observar que la disminución de peso de los recipientes es menos acusada, se inoculan las bacterias lácticas. Se dispone de dos tipos de bacterias, ambas de la misma especie (*Oenococcus oeni*), que difieren entre sí según sean citrato negativas o no, es decir, según si degradan el ácido cítrico durante la fermentación maloláctica. Las bacterias citrato negativas se utilizan para vinos blancos y rosados, pues es especialmente interesante mantener el ácido cítrico intacto para conservar la frescura de los vinos. Para la realización de la fermentación maloláctica se trasladan los recipientes a otra sala acondicionada con calefactores a mayor temperatura, a unos 22 °C, pues en caso contrario ésta transcurriría de forma muy lenta.

Por último, transcurridos unos veinte días desde la inoculación de las bacterias, y cuando se observa que la variación de peso es mínima, se dan por terminadas las fermentaciones. Se trasiega el vino a otro recipiente, se saca una muestra para determinar todos los parámetros analíticos de interés, se tapa con un tapón hermético y se almacena en la cámara de frío para su óptima conservación.

4.2. VINO TINTO

Para la elaboración de vinos tintos, tras procesar la uva en la despalilladora-estrujadora de forma análoga a la uva blanca, se procede de forma diferente:

- Además de determinar el pH, acidez total y grados Brix del mosto, para uvas tintas se realiza también un análisis de propiedades cromáticas, así como de antocianos e IPT, para comparar los datos con las muestras que se extraerán del vino.
- Tras procesarla, la uva se recoge en recipientes o lecheras de acero inoxidable, de 10, 30 o 50 litros de capacidad, para realizar allí la maceración y fermentación en contacto con los hollejos y las pepitas. El recipiente se tapa suavemente dejando reposar la tapa sin apretarla.
- Los aditivos añadidos previos a la fermentación son diferentes. En este caso, no se añaden ni enzimas pectolíticas ni proteínas, únicamente taninos proantocianidínicos para evitar, entre otras cosas, la precipitación de la materia colorante y la oxidación del mosto-vino. Al igual que con los vinos blancos y rosados, si la experiencia lo requiere se adiciona también piro sulfito de potasio.
- La temperatura de fermentación es mayor por norma general. Ésta se realiza en la sala principal de la bodega, con la temperatura oscilando entre 20 y 22 °C.
- Asimismo, durante la fermentación se realizan bazuqueos diarios del sombrero de hollejos que se forma en la parte superior del vino por empuje del gas carbónico desprendido, para mejorar el contacto y extracción del líquido con las partes sólidas, oxigenar el medio y evitar su acetificación.
- El prensado tiene lugar una semana después del arranque de la fermentación, por norma general. Así pues, por protocolo, para todas las muestras se deja macerar y fermentar el vino en contacto con las pieles el mismo intervalo de tiempo. El instrumental y la metodología de prensado es la misma que para los vinos blancos y rosados. El vino prensado se recoge en garrafas y se tapa con bolsas y gomas de plástico, análogamente al vino blanco y rosado.
- Al no realizar seguimiento de fermentación por pesaje, el momento de inoculación de las bacterias lácticas se realiza dejando un intervalo suficiente de tiempo para permitir que la fermentación alcohólica esté práctica o totalmente finalizada. Por norma general, se dejan transcurrir unos veinte días desde el arranque de la fermentación para inocular las bacterias lácticas. Si fuera necesario, se realiza un control por pesaje durante dos o tres días cuando la fermentación alcohólica se cree que ha terminado.
- Las bacterias lácticas son de la misma especie (*Oenococcus oeni*), pero, a diferencia de las utilizadas para los vinos blancos y rosados, no son citrato negativas, es decir, degradan el ácido cítrico para producir diacetilo, un compuesto que da untuosidad y volumen en boca al vino, al contrario que la frescura y acidez que aporta el ácido cítrico. La fermentación maloláctica tiene lugar en la misma sala y a la misma temperatura que para los vinos blancos y rosados.

Por último, para determinar la evolución de las propiedades cromáticas, antocianos e IPT de los vinos tintos, se realizan tres muestreos: el primero, del mosto extraído después del despalillado y estrujado. El segundo, que corresponderá con el máximo de concentración de antocianos e IPT, en el momento del descube, después de prensar los hollejos. Y el tercero, transcurrido un mes aproximadamente desde el prensado. Es importante resaltar que para el segundo muestreo no se pueden determinar las propiedades cromáticas de intensidad de color y tonalidad, pues el

mosto-vino se encuentra todavía en fermentación y el gas carbónico impide la determinación de estos parámetros por espectrofotometría.

5. DISEÑO DE EXPERIENCIAS

Todas las hipótesis planteadas en las experiencias se realizan por triplicado, para reforzar la validez de los resultados y permitir la reproducibilidad del experimento. Así pues, si se observan datos anómalos en una misma serie se pueden descartar sin restar validez a los otros resultados.

5.1. EXPERIENCIA 1

Determinación de la influencia del grado alcohólico en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Sémillon

En esta experiencia se pretende determinar si existe una relación entre el grado alcohólico probable de partida de un mosto y la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación. Se parte de un mosto al que se añaden cantidades variables de azúcar para obtener vinos con diferentes grados alcohólicos. Para ello, se utiliza mosto procedente de uva blanca de la variedad Sémillon, homogeneizado previamente en un tanque, al que se le añaden los aditivos de base según la metodología seguida para la elaboración de vinos blancos y rosados. Se dispone el mosto de cada muestra en matraces de vidrio de 2 litros de capacidad, que se identifican debidamente y a los que se les añade el azúcar pertinente de forma individual, para obtener la distribución de muestras que aparecen en la Tabla 3.

Tabla 3: Resumen inicial de la experiencia 1

Muestra	Grado alcohólico probable deseado	Azúcar (sacarosa) añadido (g/L)
0 A	Muestra de referencia	0
0 B		
0 C		
1 A	+1°	16,15
1 B		
1 C		
2 A	+2°	32,3
2 B		
2 C		
3 A	+3°	48,45
3 B		
3 C		

El azúcar se determina teniendo en cuenta que para aumentar el grado alcohólico de un mosto en una unidad se requieren aproximadamente 17 gramos de azúcar por litro de mosto (OIV, 2019).

Los aditivos utilizados para esta experiencia han sido enzimas pectolíticas (poligalacturonasa) para favorecer el desfangado, así como taninos de agalla de roble extraídos con alcohol (tanino

gálico al alcohol) y proteína de guisante. La levadura seleccionada ha sido la Excellence-FTH (*Saccharomyces cerevisiae*). Las dosis empleadas para todos los productos han sido las recomendadas por el fabricante.

5.2. EXPERIENCIA 2

Determinación de la influencia de la concentración inicial de sulfitos en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Macabeo

En esta experiencia se pretende determinar si existe una relación entre la concentración inicial de sulfitos en un mosto y la producción de anhídrido sulfuroso durante su fermentación. Se parte de un mosto inicial al que se adiciona piro-sulfito de potasio en diferentes dosis según el ensayo a realizar. Para ello, se utiliza mosto procedente de uva blanca de la variedad Macabeo, homogeneizado previamente en un tanque, al que se le añaden los aditivos de base según la metodología seguida para la elaboración de vinos blancos y rosados.

Se dispone el mosto inicial por tandas en una lechera de 50 L con grifo en la parte inferior, donde se sulfita según la dosis correspondiente para cada ensayo, se homogeneiza y se reparte posteriormente en tres garrafas de vidrio de 10 L. Esta operación se repite para cada dosis de sulfitos iniciales estudiadas, que se recogen en la Tabla 4.

Tabla 4: Resumen inicial de la experiencia 2

Muestra	Concentración inicial de anhídrido sulfuroso deseada (mg/L)	Concentración inicial de piro-sulfito de potasio adicionada (mg/L)
0 A	0	0
0 B		
0 C		
5 A	5	10
5 B		
5 C		
10 A	10	20
10 B		
10 C		
15 A	15	30
15 B		
15 C		
20 A	20	40
20 B		
20 C		
30 A	30	60
30 B		
30 C		
40 A	40	80
40 B		
40 C		
50 A	50	100
50 B		
50 C		

Conviene recordar que el rendimiento del piro sulfito de potasio para dar dióxido de azufre es de aproximadamente el 50 %, con lo que la dosis inicial de piro sulfito debe ser el doble de la concentración de SO₂ deseada.

Asimismo, para determinar exactamente las cantidades de sulfitos a añadir a cada ensayo, se utiliza un aerómetro para determinar la densidad del mosto del tanque inicial. Así pues, se coloca la lechera de 50 L vacía sobre la báscula, y se llena progresivamente con unos 30 L de mosto aproximadamente, hasta alcanzar el peso determinado. Entonces, se calcula la cantidad de piro sulfito de potasio correspondiente a la dosis deseada en función del volumen de mosto de la lechera, se homogeneiza y se divide en tres garrafas de vidrio de 10 L, donde se adicionan el resto de aditivos y las levaduras individualmente.

Los aditivos utilizados para esta experiencia han sido enzimas pectolíticas (poligalacturonasa) para favorecer el desfangado, así como taninos de agalla de roble extraídos con alcohol (tanino gálico al alcohol) y proteína de guisante. La levadura seleccionada ha sido la Excellence-STR (*Saccharomyces cerevisiae*). Las dosis empleadas para todos los productos han sido las recomendadas por el fabricante.

EXPERIENCIAS 3, 4 y 5

Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación

En estas experiencias se pretende determinar si existe una relación entre el tipo y combinación de levaduras utilizadas y la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de mostos blancos, rosados y tintos. Para las experiencias 3 y 4 se parte de uva de la variedad Tempranillo, procesada para el primer caso según la metodología de elaboración de vinos tintos, y para el segundo caso según la metodología de elaboración de vinos blancos y rosados. Para la experiencia 5 se utiliza uva de la variedad Tardana procesada según la metodología de elaboración de vinos blancos y rosados.

5.3. EXPERIENCIA 3

Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino tinto de la variedad Tempranillo

En esta experiencia, inicialmente se procesa la uva en la despalilladora-estrujadora, y se distribuyen la pasta (hollejos y pepitas) y el mosto resultantes en cantidades homogéneas de aproximadamente 20 kg en lecheras de acero inoxidable de 30 L. Se adicionan a cada lechera los aditivos en las dosis pertinentes según el protocolo de elaboración de vinos tintos, esto es, taninos proantocianidínicos, las levaduras pertinentes, y, en el caso de la muestra testigo, una dosis estándar de anhídrido sulfuroso de 50 mg/L, correspondiente a 100 mg/L de piro sulfito de potasio. La distribución de experiencias viene en la Tabla 5.

Tabla 5: Resumen inicial de la experiencia 3

Muestra	Levadura comercial utilizada	Tipo de levadura
Prelude 1	Prelude	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
Prelude 2	+	+
Prelude 3	Excellence FR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Concerto 1	Concerto	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>
Concerto 2	+	+
Concerto 3	Excellence FR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Bio 1	Excellence Bio-Nature	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>
Bio 2	+	+
Bio 3	Excellence FR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
FR 1		
FR 2	Excellence FR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
FR 3		
XR 1		
XR 2	Excellence XR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
XR 3		
DS 1		
DS 2	Excellence DS	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
DS 3		
PM 1		
PM 2	L.A. PM	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
PM 3		
Bayanus 1		
Bayanus 2	L.A. Bayanus	<i>Saccharomyces cerevisiae bayanus</i> , cepa C12
Bayanus 3		
Testigo 1	Excellence FR	
Testigo 2	+	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Testigo 3	50 mg/L SO ₂	

En los casos en los que las levaduras iniciales son no *Saccharomyces*, esto es, Prelude, Concerto y Excellence Bio-Nature, es necesario realizar una reinoculación de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* para poder finalizar la fermentación, puesto que el poder fermentativo y la tolerancia al alcohol de estas levaduras es relativamente bajo. En el caso de la Excellence Bio-Nature, la reinoculación se debe hacer a los 2-3 días del inicio de la fermentación, puesto que su tolerancia al alcohol en el medio es muy baja, apenas 2° de etanol. En el caso de las otras dos, Prelude y Concerto, se reinocula aproximadamente a los 7 días del arranque de la fermentación.

Siguiendo la metodología descrita de elaboración de vinos tintos, las lecheras se bazuquean diariamente para romper el sombrero de hollejos y homogeneizar el medio. Asimismo, transcurridos unos 7 días desde el inicio de la fermentación se prensan las pastas y se dispone el mosto-vino en garrafas de vidrio de 20 L, para que la fermentación transcurra su curso sin contacto con los sólidos. Transcurridos unos 20 días desde el prensado se inoculan las bacterias lácticas, y el trasiego final se realiza un mes después de la inoculación de bacterias lácticas, dejando un intervalo de tiempo suficiente para la finalización de las fermentaciones.

5.4. EXPERIENCIA 4

Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de vino rosado de la variedad Tempranillo

Para esta experiencia se dispone de mosto de uva de la variedad Tempranillo, procedente de la misma partida de uvas empleada en la experiencia 3, procesado según se describe en la metodología de elaboración de vinos blancos y rosados. Se dispone el mosto en distintos matraces de vidrio de 2 L, de forma que la distribución de experiencias queda según aparece en la Tabla 6.

Tabla 6: Resumen inicial de la experiencia 4

Muestra	Levadura comercial utilizada	Tipo de levadura
Prelude 1	Prelude	<i>Torulaspota delbrueckii</i>
Prelude 2		
Prelude 3		
Concerto 1	Concerto	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>
Concerto 2		
Concerto 3		
STR 1	Excellence STR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
STR 2		
STR 3		
FTH 1	Excellence FTH	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
FTH 2		
FTH 3		
FR 1	Excellence FR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
FR 2		
FR 3		
Davis 1	L.A. Cerevisiae	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , cepa Montrachet 522 Davis
Davis 2		
Davis 3		

5.5. EXPERIENCIA 5

Determinación de la influencia del tipo de levadura y del tiempo de reinoculación en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Tardana

Para la realización de esta experiencia se dispone de mosto de uva de la variedad Tardana. Al tratarse de una variedad de maduración muy tardía (de ahí su nombre) y tiempo de vida prolongado (gracias al grosor de su piel), para el diseño de esta experiencia se han tenido en cuenta los resultados de las otras dos experiencias con levaduras (4 y 5), que se realizan con una variedad de uva de maduración temprana como la Tempranillo, lo que permite que a la finalización de las experiencias 3 y 4 la uva de la experiencia 5 aún se encuentre en perfecto estado de conservación.

Por norma general, las levaduras del tipo *Saccharomyces cerevisiae* son las que mayor resistencia al etanol presentan, siendo las mayoritarias en las etapas finales de fermentaciones espontáneas (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Así pues, al inocular una levadura no *Saccharomyces*

para fermentar un mosto, se debe tener en cuenta que muy probablemente no tendrá suficiente tolerancia al etanol y no será capaz de finalizar la fermentación alcohólica, por lo que resulta imprescindible reinocular el medio con una levadura *Saccharomyces cerevisiae* para garantizar la finalización de la fermentación y que no queden restos de azúcares residuales en exceso, para que no puedan surgir problemas en el futuro.

Así pues, el diseño de esta experiencia sigue un patrón más complejo, puesto que, aunque el rango de levaduras utilizadas es menor, se introduce la variable del tiempo de reinoculación de la segunda levadura. Por un lado, se utilizan levaduras puras de los tipos Concerto, Prelude y Excellence DS, y cultivos mixtos de Prelude y Concerto a los que se reinocula Excellence DS a los tres días (Pre-DS3 y Con-DS3), a los cinco días (Pre-DS5 y Con-DS5), y a los siete días (Pre-DS7 y Con-DS7). Por último, se ha estudiado la combinación de levaduras Excellence Bio-Nature con Excellence DS, reinoculando la segunda levadura únicamente a los tres días del arranque de la fermentación, debido al bajo umbral de tolerancia al alcohol de la primera. La distribución de los ensayos aparece en la Tabla 7.

Tabla 7: Resumen inicial de la experiencia 5

Muestra	Tiempo de reinoculación	Levadura comercial utilizada	Tipo de levadura		
DS-A	No procede	Excellence DS	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
DS-B					
DS-C					
Bio-DS-A	3 días	Excellence Bio-Nature + Excellence DS	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Bio-DS-B					
Bio-DS-C					
Concerto-A	No procede	Concerto	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>		
Concerto-B					
Concerto-C					
Con-DS3-A	3 días	Concerto + Excellence DS	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Con-DS3-B					
Con-DS3-C					
Con-DS5-A	5 días				
Con-DS5-B					
Con-DS5-C					
Con-DS7-A	7 días				
Con-DS7-B					
Con-DS7-C					
Prelude-A	No procede			Prelude	<i>Torulaspota delbrueckii</i>
Prelude-B					
Prelude-C					
Pre-DS3-A	3 días	Prelude + Excellence DS	<i>Torulaspota delbrueckii</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Pre-DS3-B					
Pre-DS3-C					
Pre-DS5-A	5 días				
Pre-DS5-B					
Pre-DS5-C					
Pre-DS7-A	7 días				
Pre-DS7-B					
Pre-DS7-C					

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los datos de los resultados experimentales han sido sometidos a tratamiento estadístico para determinar su representatividad. Así pues, se ha realizado un análisis de la varianza (ANOVA simple) para cada experiencia y cada rango de datos, tomando diferentes intervalos de confianza, de más amplio a más estricto, desde un 95 % hasta un 99,9 %, esto es, tomando un nivel de significación α desde 0,05 hasta 0,001. Para todos los casos se ha obtenido un *p-valor* menor al nivel de significación fijado en cada caso, con lo que se ha determinado que todos los valores experimentales son estadísticamente significativos, esto es, que no existen diferencias debidas al azar.

6.1. EXPERIENCIA 1

Determinación de la influencia del grado alcohólico en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Sémillon

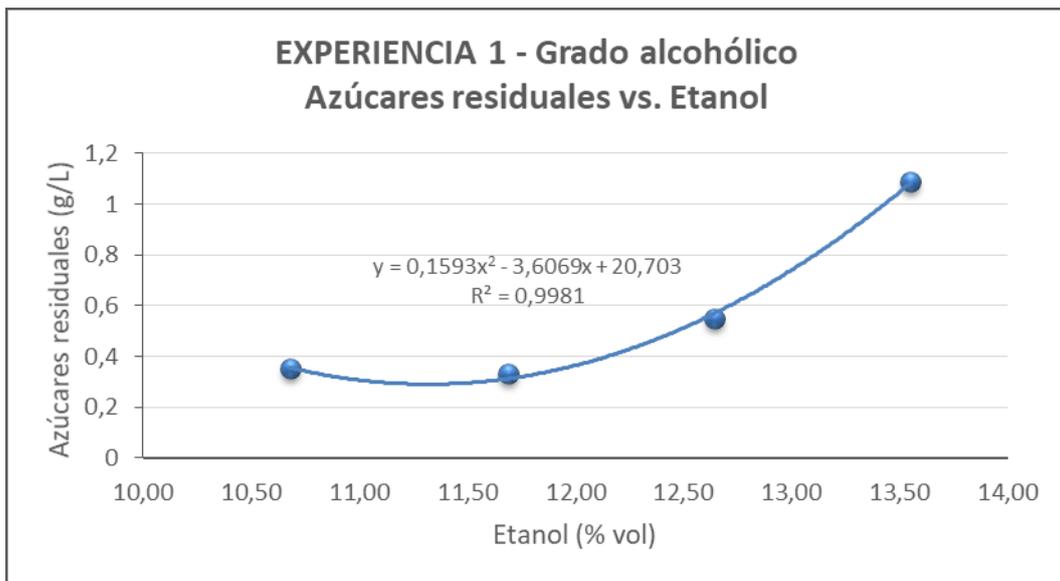
Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso totales de la experiencia 1 se recogen en la Gráfica 1.



Gráfica 1: Concentraciones de sulfuroso total de la experiencia 1

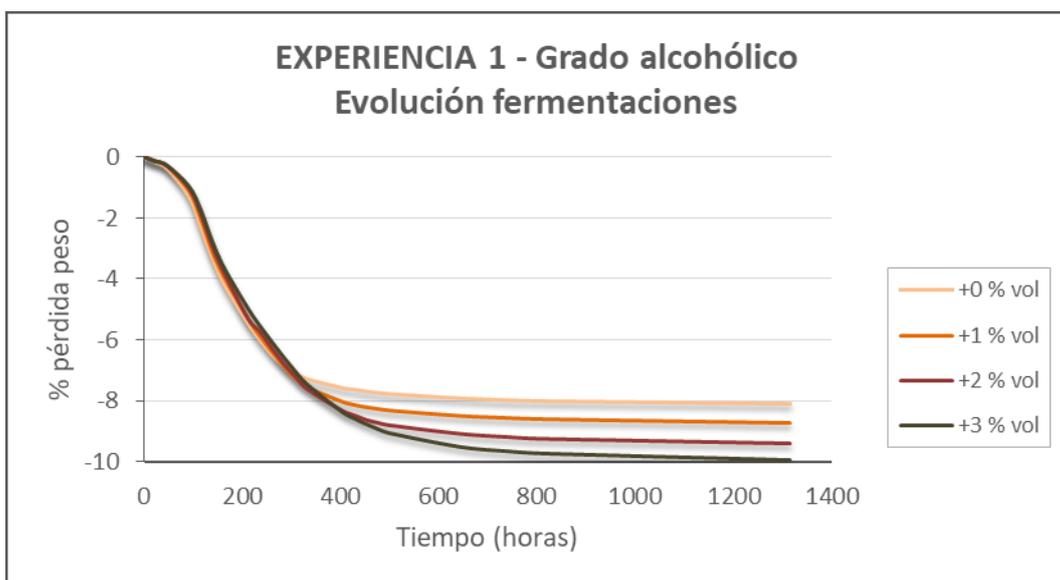
Así pues, se observa que no existen diferencias notables entre las tres primeras muestras (grados alcohólicos de +0, +1 y +2), con contenidos en etanol de 10,68, 11,69 y 12,64 %(v/v) respectivamente, y valores de sulfuroso total oscilando alrededor de 5,5 mg/L. No obstante, para el caso de la muestra de grado alcohólico +3, con una concentración de alcohol del 13,55 %, la concentración de sulfuroso total detectada es nula. Si se atiende a los datos experimentales detallados en los anexos, se observa que en la muestra +3 se tiene aproximadamente 1 g/L de azúcares residuales, mientras que en las demás muestras los valores de azúcares residuales son menores que 0,5 g/L. Además, los datos experimentales de los grados alcohólicos reflejan que la diferencia entre las tres primeras muestras es, efectivamente, de 1 grado alcohólico entre

muestras sucesivas, corroborando que el diseño experimental es correcto. Por el contrario, la diferencia entre grados alcohólicos experimentales de las muestras +2 y +3 es ligeramente inferior a la unidad (0,9 % vol), con lo que se puede deducir que, junto con los datos de azúcares residuales, la fermentación alcohólica de la muestra +3 ha sido tenido mayores dificultades para su finalización que las otras tres. Esto se puede observar en la Gráfica 2, donde se relaciona el contenido de materias reductoras con el etanol producido, evidenciando que a mayor contenido de etanol las dificultades para la finalización de la fermentación son mayores.

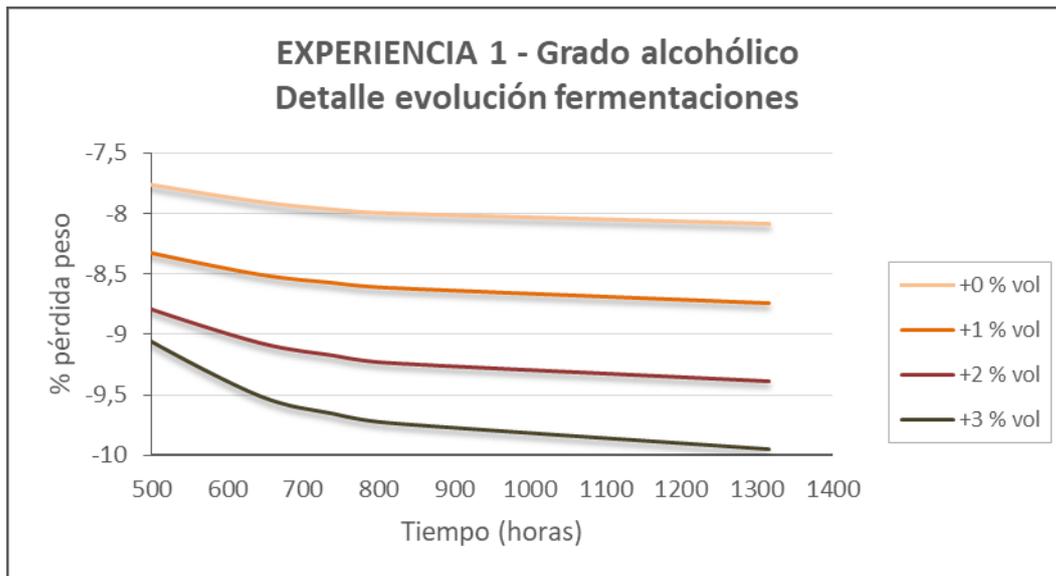


Gráfica 2: Correlación entre la concentración de materias reductoras y de etanol al final de la fermentación de la experiencia 1

Este hecho también se puede corroborar si se observan los datos experimentales de las evoluciones de las fermentaciones de la experiencia 1, que se detallan en las Gráficas 3 y 4.



Gráfica 3: Evolución de las fermentaciones de la experiencia 1



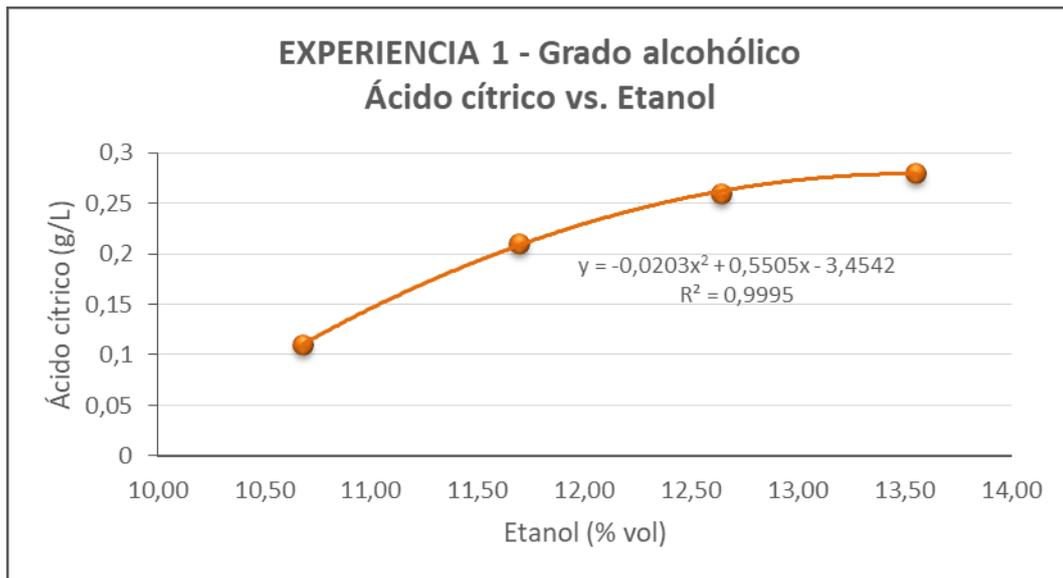
Gráfica 4: Detalle de la evolución de las fermentaciones de la experiencia 1

Se observa que, hacia el final de las fermentaciones, para las tres primeras muestras (+0, +1 y +2 % vol) se tienen curvas de fermentación prácticamente paralelas y con diferencias de pérdida de peso proporcionales, mientras que la curva de la muestra de +3 % vol sigue un comportamiento distinto: a diferencia de las demás, hacia el final de la fermentación la curva sigue una pendiente mayor y el final es menos suavizado.

Si se tiene en cuenta que la producción de sulfitos por parte de las levaduras ha sido independiente del grado alcohólico en las fermentaciones con menor contenido de azúcar inicial (ensayos +0, +1 y +2 % vol), y que cuando se ha alcanzado un cierto nivel de etanol (ensayo +3 % vol) las levaduras han presentado dificultades para la finalización de la fermentación y han dejado de producir sulfitos, se puede concluir que el contenido de etanol puede llegar a inhibir la actividad sulfato-reductora de las levaduras. Esto puede ser debido a que las levaduras han sufrido una fuerte inhibición por parte del alto nivel de etanol en el medio y han entrado en fase de muerte, siendo innecesario e imposible para estas recurrir a la actividad sulfato-reductora para obtener energía, como sí pueden hacer cuando se agotan los azúcares y no están aún en fase de muerte.

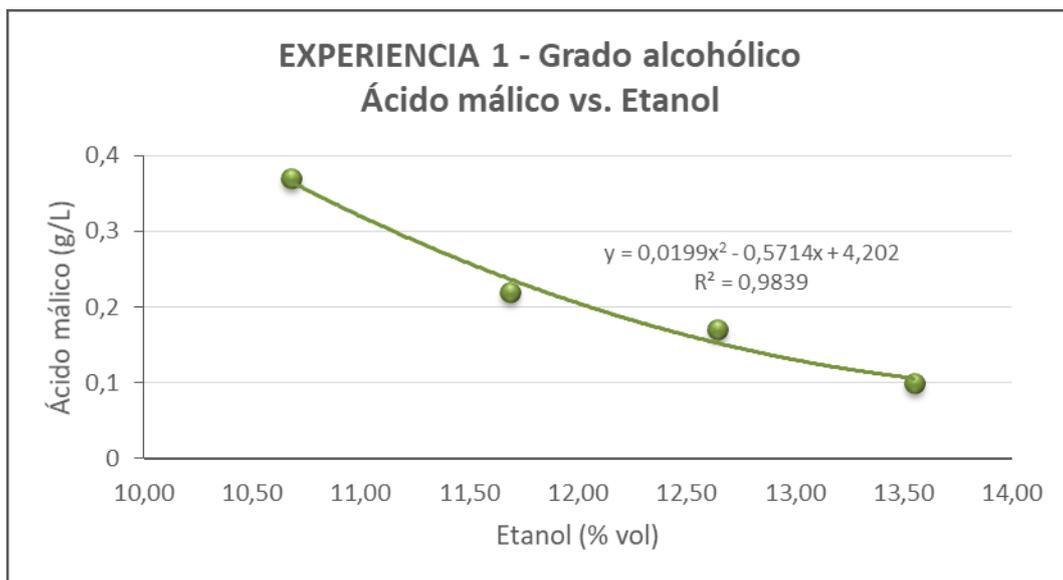
Por otro lado, según los datos de la Tabla 8 (Anexos), se puede comprobar que el contenido final de etanol ha influido en varios parámetros, como la acidez volátil y los contenidos de los ácidos cítrico y málico.

Por su importancia en lo que a la calidad del vino se refiere, hay que destacar que la acidez volátil de todas las fermentaciones está comprendida entre 0,39 y 0,43 g/L expresada como ácido acético, salvo en las fermentaciones 0B con 1,12 y 0C con 0,66 g/L como ácido acético respectivamente. Asimismo, se observa que las concentraciones de ácido cítrico en estas fermentaciones son las más bajas de todas, aumentado la concentración de cítrico con el etanol final del vino (como se muestra en la Gráfica 5), por lo que es lógico pensar que niveles bajos de etanol favorecen la acción de algún microorganismo indeseable, que en el caso de las fermentaciones 0B y 0C ha atacado al citado ácido cítrico resultando en una fuerte producción de ácido acético, degradando dichos vinos y haciéndolos ineptos para el consumo.



Gráfica 5: Correlación entre la concentración de ácido cítrico y de etanol al final de la fermentación de la experiencia 1

A su vez, en la Tabla 8 (Anexos) se puede observar una disminución del contenido residual de ácido málico con el aumento del etanol, que se recoge en la Gráfica 6.



Gráfica 6: Correlación entre la concentración de ácido málico y de etanol al final de la fermentación de la experiencia 1

Así pues, todo parece indicar que el etanol es capaz de favorecer la acción de las bacterias lácticas inoculadas previamente, aumentando la degradación del ácido málico y por lo tanto disminuyendo su concentración en el vino.

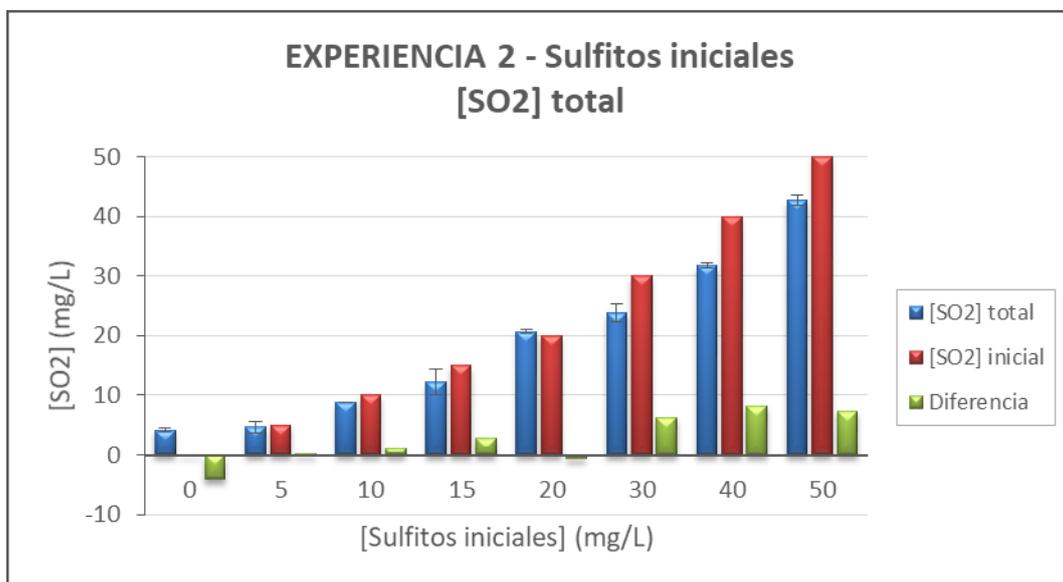
Por último, de esta experiencia se concluye que la generación y/o liberación de sulfitos al medio por parte de las levaduras se ve dificultada con un elevado grado alcohólico, mientras que para grados alcohólicos bajos y en ausencia de sulfitos añadidos se puede facilitar la acción de microorganismos indeseables que pueden perjudicar seriamente la calidad organoléptica del

vino. Así pues, cabe destacar la necesidad de poner a punto técnicas que permitan la elaboración de vinos de baja graduación alcohólica sin la adición de sulfitos por vía externa.

6.2. EXPERIENCIA 2

Determinación de la influencia de la concentración inicial de sulfitos en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Macabeo

Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso totales de la experiencia 2 se recogen en la Gráfica 7.



Gráfica 7: Concentraciones de sulfuroso total de la experiencia 2

Se observa que, para la muestra de 0 mg/L de sulfitos iniciales, se tienen unos 5 mg/L de sulfuroso totales al final de la fermentación alcohólica, generados por las levaduras. Para las muestras desde 5 hasta 20 mg/L de sulfitos iniciales, la cantidad de sulfuroso total es prácticamente la misma que la concentración inicial de partida, mientras que para las muestras desde 30 hasta 50 mg/L hay una disminución entre la concentración inicial y la final de entre 6 y 8 mg/L de sulfuroso total.

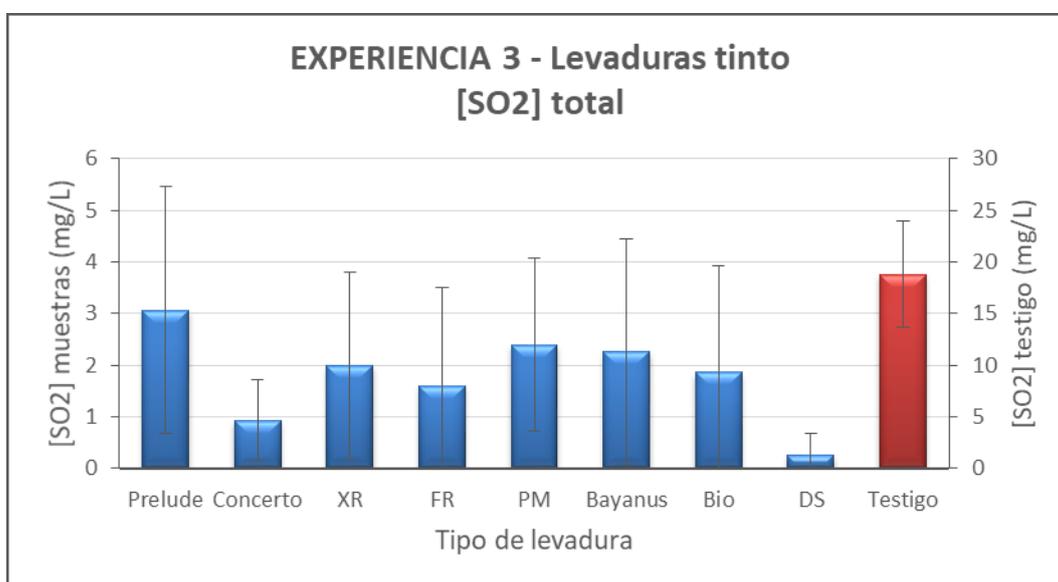
Asumiendo, por tanto, que una parte del anhídrido sulfuroso inicial va a desaparecer del medio por evaporación y por recombinación con otras moléculas (Ribéreau-Gayon, et al., 2006), es destacable que, para concentraciones iniciales de hasta 20 mg/L, las levaduras sean capaces de reponer esta merma hasta prácticamente alcanzar la concentración inicial de partida. Suponiendo que para todos los casos la cantidad de anhídrido sulfuroso que se disipa del medio es constante, puesto que las características del mosto son las mismas, y que la cantidad de sulfitos generada por las levaduras sea similar a la muestra de 0 mg/L de partida (es decir, unos 5 mg/L), resulta significativo que, para concentraciones iniciales de sulfitos superiores a 30 mg/L, las levaduras no sean capaces de generar y/o liberar sulfitos al medio, lo que explicaría que la

diferencia entre las concentraciones iniciales y finales de sulfuroso total en estos casos sean prácticamente constantes. Así pues, se puede determinar que la levadura ensayada es capaz de producir y/o liberar sulfitos al medio mientras que la concentración inicial de éstos sea inferior a 30 mg/L.

6.3. EXPERIENCIA 3

Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino tinto de la variedad Tempranillo

Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso totales de la experiencia 3 se recogen en la Gráfica 8.



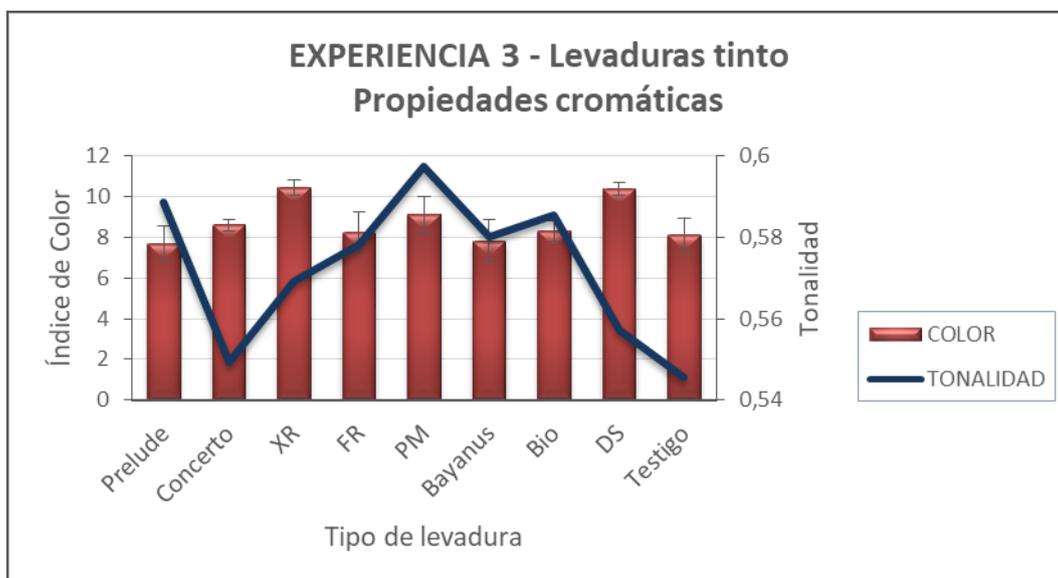
Gráfica 8: Concentraciones de sulfuroso total de la experiencia 3

Se observa una gran disparidad en los datos de las mismas series, reflejado en valores elevados de las desviaciones típicas. Esto se debe al método de determinación del anhídrido sulfuroso (método oficial o método de Paul), ya que se trata de una metodología discreta, puesto que la determinación del sulfuroso total se realiza por valoración “gota a gota” con una base débil. Así pues, dado que una gota de valorante corresponde aproximadamente a unos 0,8 mg/L de SO₂, si las concentraciones totales de SO₂ en el medio son muy bajas (inferiores a 3 mg/L), una diferencia de una o dos gotas de valorante entre muestras de la misma serie dará resultados muy dispares, con lo que la desviación típica que se obtendrá estará dentro del orden de la media aritmética.

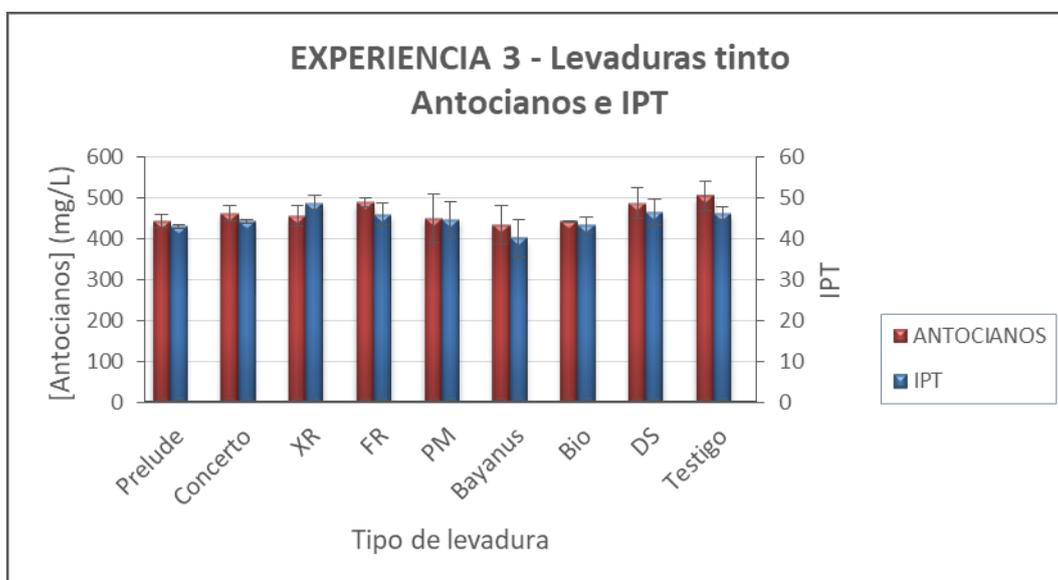
Analizando los datos, las diferencias entre la producción de sulfuroso de las diferentes levaduras, tanto *Saccharomyces* como no *Saccharomyces*, son mínimas, puesto que las concentraciones de sulfuroso total son menores de 3 mg/L en todos los casos, excepto, lógicamente, en el testigo. No obstante, es destacable que para el caso de la levadura comercial “Excellence DS” (*Saccharomyces cerevisiae*) la concentración de sulfuroso total es prácticamente nula. Además, contrastando con los datos recogidos en la Tabla 11 (Anexos), presenta el valor más bajo de

acidez volátil de entre todas las muestras; los valores de las concentraciones de ácido láctico y glicerol son aceptables, pero, por el contrario, presenta una baja acidez total y un pH alto, el mayor de entre todas las muestras.

Finalmente, para poder respaldar la elección de esta levadura en esta experiencia, se analizan también las propiedades cromáticas, concentraciones de antocianos e IPT de las diferentes muestras, cuyos valores se recogen en las Gráficas 9 y 10.



Gráfica 9: Datos de las propiedades cromáticas de la experiencia 3



Gráfica 10: Datos de concentraciones de antocianos e IPT de la experiencia 3

Se observa que, a excepción de la muestra testigo, la levadura “Excellence DS” presenta valores óptimos tanto de índice de color (segunda más alta tras la “Excellence XR”) como de tonalidad

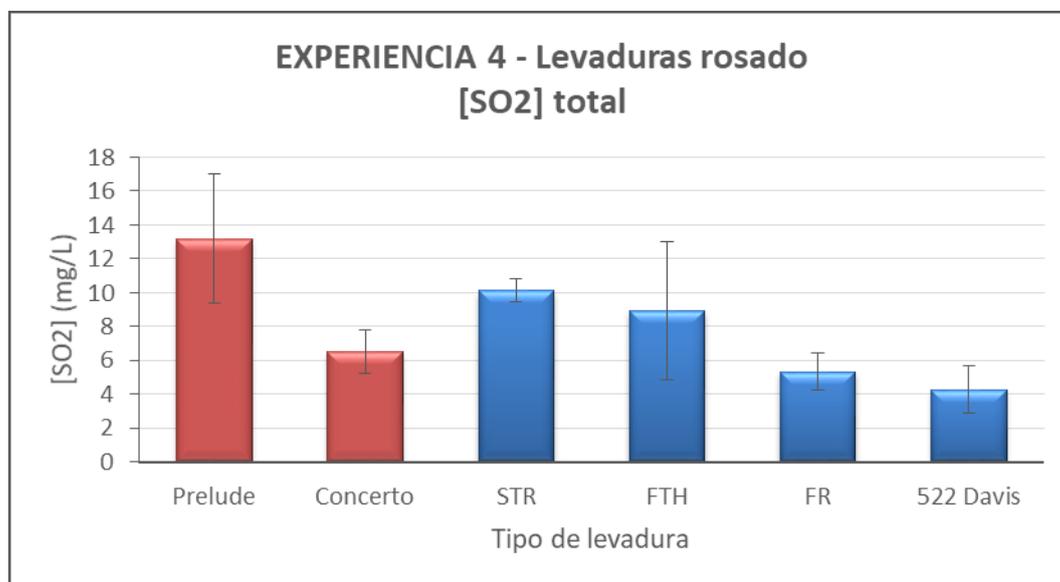
(segunda más baja tras la “Concerto”), así como de concentración de antocianos (segunda más alta tras la “Excellence FR”) e IPT (segunda más alta tras la “Excellence XR”).

Por tanto, se concluye que la levadura óptima para este ensayo es la “Excellence DS” (*Saccharomyces cerevisiae*), puesto que la cantidad de anhídrido sulfuroso generada durante la fermentación alcohólica es prácticamente nula, además de presentar valores excelentes en las principales propiedades físico-químicas.

6.4. EXPERIENCIA 4

Determinación de la influencia del tipo de levadura en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de vino rosado de la variedad Tempranillo

Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso totales de la experiencia 4 se recogen en la Gráfica 11.



Gráfica 11: Concentraciones de sulfuroso total de la experiencia 4

Se observa que, para las levaduras no *Saccharomyces*, la *Torulaspota delbrueckii* (Prelude) produce mayor cantidad de sulfitos que la *Kluyveromyces thermotolerans* (Concerto), de forma análoga a la experiencia anterior. Respecto a las *Saccharomyces cerevisiae*, el rango de producción de sulfitos varía desde unos 4 mg/L de la cepa Montrachet 522 Davis hasta unos 10 mg/L de la Excellence STR.

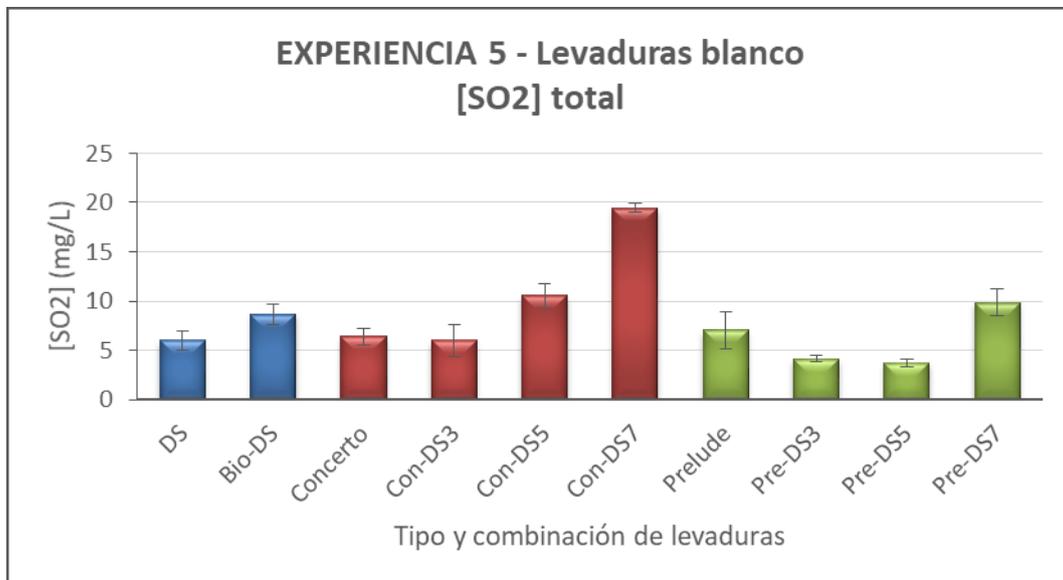
Atendiendo a los datos experimentales de la Tabla 12 (Anexos), se observa que en todos los casos (excepto en la Excellence STR) las fermentaciones han resultado incompletas, puesto que quedan azúcares residuales en cantidades mayores a 2 g/L en la mayoría de casos. Por otra parte, pese a que la cepa Montrachet 522 Davis ha sido la que menos sulfitos ha producido, en el resto de parámetros físico-químicos no destaca precisamente, puesto que presenta la segunda acidez total más baja, la segunda acidez volátil más alta, la mayor cantidad de azúcares residuales (más de 3 g/L) y la producción de glicerol más baja de todas.

Así pues, en este caso, a diferencia de la experiencia anterior, la levadura que menor cantidad de sulfitos produce no es la más competitiva para el resto de parámetros físico-químicos, por lo que habría que cuestionarse su interés desde el punto de vista práctico y si sería conveniente su aplicación en el futuro.

6.5. EXPERIENCIA 5

Determinación de la influencia del tipo de levadura y del tiempo de reinoculación en la producción de anhídrido sulfuroso durante la fermentación de un vino blanco de la variedad Tardana

Los datos experimentales de las concentraciones de sulfuroso totales de la experiencia 5 se recogen en la Gráfica 12.

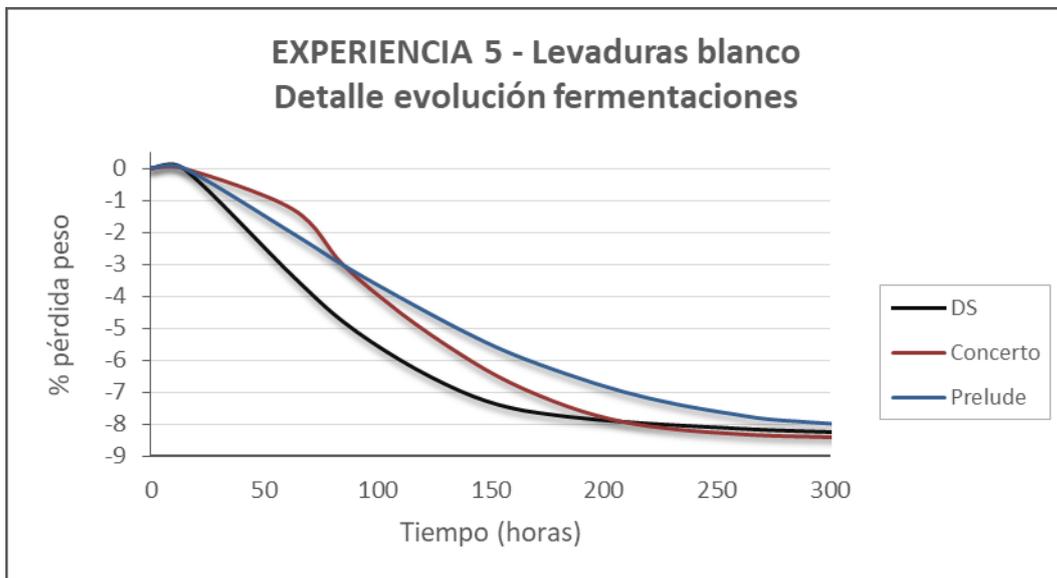


Gráfica 12: Concentraciones de sulfuroso total de la experiencia 5

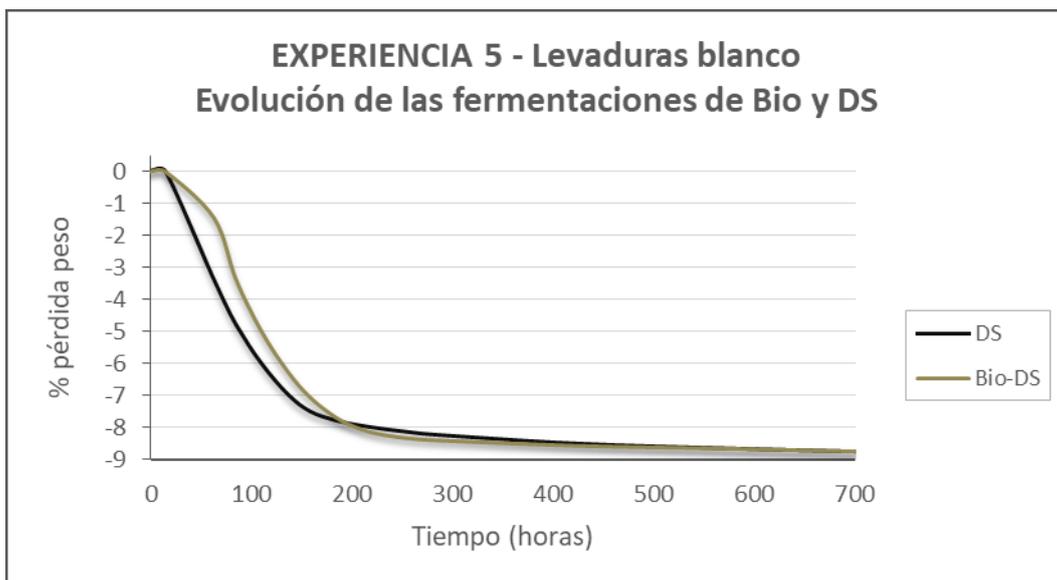
Se observa que, para las fermentaciones con levaduras puras (Excellence DS, Concerto y Prelude), es decir, sin reinoculación de una segunda levadura, las cantidades de sulfuroso producidas por éstas al final de la fermentación son prácticamente constantes en los tres casos. Para el caso de la Concerto, se observa una tendencia al alza en la generación de sulfitos por parte de las levaduras cuanto más tiempo pasa hasta la reinoculación de la segunda levadura, mientras que para el caso de la Prelude, con cinéticas de fermentación más lentas, la generación de sulfitos disminuye conforme avanza el tiempo de reinoculación, y vuelve a subir para el tiempo de reinoculación máximo.

Por norma general, al reinocular el medio con una levadura *Saccharomyces cerevisiae*, más competitiva y con mayor poder fermentativo, las levaduras iniciales deberán competir con éstas por los nutrientes. Para ratificar esta hipótesis y determinar si en esta experiencia la competencia de las levaduras afecta a la cinética de fermentación, y, en consecuencia, a la

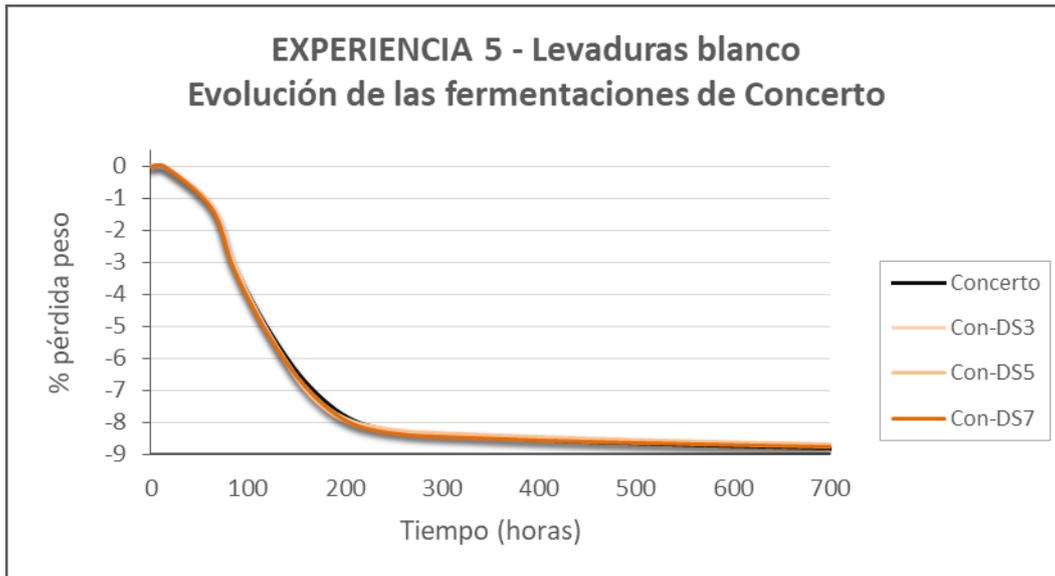
generación de sulfitos, se representan los datos en las Gráficas 13, 14, 15 y 16, para cada tipo y combinación de levaduras, así como para las fermentaciones con una única levadura.



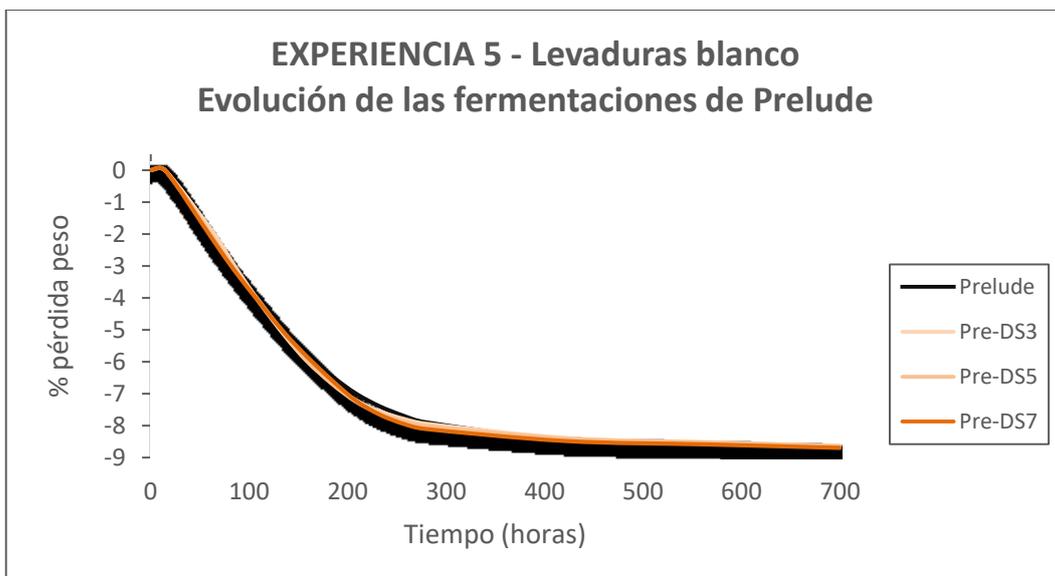
Gráfica 13: Evolución de las fermentaciones realizadas con una sola levadura de la experiencia 5



Gráfica 14: Evolución de las fermentaciones de Bio y Bio+DS de la experiencia 5



Gráfica 15: Evolución de las fermentaciones de Concerto y Concerto+DS de la experiencia 5



Gráfica 16: Evolución de las fermentaciones de Prelude y Prelude+DS de la experiencia 5

De las gráficas se puede observar que las velocidades de fermentación vienen fuertemente influidas por la levadura inoculada inicialmente. Esto puede ser debido a que estas primeras levaduras tienen a su disponibilidad todos los nutrientes del medio, que no estarán disponibles para las segundas levaduras hasta que las primeras entren en fase de muerte y sufran la autólisis. Aun así, la concentración de nutrientes en este momento será muy inferior a las cantidades disponibles inicialmente.

Así pues, en la gráfica de las fermentaciones con una sola levadura se observa que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Excellence DS) presenta un metabolismo mucho más rápido que las demás, con una rampa de fermentación mucho más acusada. Por el contrario, la levadura *Torulasporea delbrueckii* (Prelude) presenta un metabolismo mucho más lento y suavizado a lo largo de toda la fermentación, mientras que la levadura *Kluyveromyces thermotolerans*

(Concerto) presenta una fase de latencia más acusada, por lo que arranca la fermentación de forma lenta y progresiva hasta llegar al umbral de las 75 horas (3 días), tras lo cual su metabolismo se acelera y supera a la Prelude.

En la segunda gráfica se observa que el comportamiento de la *Metschnikowia pulcherrima* (Excellence Bio-Nature) presenta un caso análogo a la *Kluyveromyces thermotolerans* (Concerto) del caso anterior, es decir, un inicio de fermentación lento y progresivo que se ve acelerado bruscamente tras la inoculación, transcurridas unas 72 horas, y posterior adaptación al medio de la *Saccharomyces cerevisiae*, momento en el que la cinética de fermentación presenta una rampa prácticamente idéntica al caso de la fermentación solamente con *Saccharomyces cerevisiae*.

Por último, en las gráficas de las fermentaciones de Prelude y Concerto no se observan comportamientos drásticamente diferentes en función del tiempo de reinoculación de la segunda levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Si acaso, se observa que la cinética de fermentación es ligeramente más lenta en la fermentación con una única levadura que en las fermentaciones con reinoculaciones con *Saccharomyces cerevisiae*, aunque la diferencia es muy pequeña.

En conclusión, una vez hechas las puntualizaciones cinéticas de las fermentaciones, y si se considera que las levaduras pueden recurrir a procesos sulfato-reductores como fuente de obtención de energía cuando se agotan los azúcares, se puede considerar que cuando la reinoculación con *Saccharomyces cerevisiae* se produce de forma tardía, estas levaduras proceden a agotar los azúcares del mosto sin haber estado expuestas durante mucho tiempo a la acción biocida del etanol, con lo que serán levaduras mucho más activas que podrán recurrir a otras fuentes, en este caso a la vía sulfato-reductora, para producir energía. De ahí se explica que cuanto más se tarde en reinocular el medio con la segunda levadura se tengan mayores niveles de sulfitos en los vinos terminados.

7. CONCLUSIONES

Atendiendo a los objetivos planteados para este trabajo, las conclusiones que se pueden extraer son las siguientes:

- Respecto al efecto del etanol sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, se puede deducir que cuando las levaduras agotan los azúcares sin haber estado expuestas durante largo tiempo a la acción biocida del etanol, estas pueden recurrir a la vía sulfato-reductora para producir energía con el consiguiente aumento del nivel de sulfitos en el medio.
- Respecto al efecto de la concentración de sulfitos iniciales sobre la producción de sulfitos durante la fermentación, se ha concluido que, en las condiciones ensayadas, las levaduras son capaces de producir y/o liberar sulfitos al medio mientras que la concentración inicial de éstos sea inferior a 30 mg/L.
- Se han podido determinar las levaduras comerciales óptimas durante la fermentación para tres tipos de vinos diferentes, atendiendo a parámetros de producción de sulfitos y características físico-químicas. Por ejemplo, para vinos tintos, la "Excellence DS" (*Saccharomyces cerevisiae*) no genera anhídrido sulfuroso durante la fermentación alcohólica, además de presentar valores excelentes en las principales propiedades físico-químicas.
- Se ha puesto en evidencia que en caso de realizar una fermentación con dos tipos de levaduras diferentes (arrancando la fermentación con una no *Saccharomyces* y reinoculando posteriormente con una *Saccharomyces cerevisiae*), el momento óptimo de reinoculación para una producción mínima de sulfitos es a los 3 días desde el arranque de la fermentación, pudiendo demorarse hasta los 5 días en el mejor de los casos.

8. BIBLIOGRAFÍA

ALEIXANDRE BENAVENT, J. L., ÁLVAREZ CANO, I. (2003). *Tecnología enológica (Manuales científico-técnicos)*. Madrid. Ed. Síntesis.

BLOUIN, J. (1992). *Techniques d'analyses des moûtes et des vins*. Paris. Ed. Dujardin Salleron.

BOE (1970). *Ley 25/1970, de 2 de diciembre, de Estatuto de la Viña, del Vino y de los Alcoholes*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1970-1316>

CHR HANSEN (2019). *Bacterias enológicas*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.chr-hansen.com/es/food-cultures-and-enzymes/fermented-beverages/cards/collection-cards/oenological-bacteria>

CHR HANSEN (2019). *Levaduras especiales para elaboración avanzada de vino*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.chr-hansen.com/es/food-cultures-and-enzymes/fermented-beverages/cards/collection-cards/speciality-yeast>

D.O. UTIEL-REQUENA (2019). *Variedad Uva*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://utiellrequena.org/variedad-uva/>

GUERRERO HIDALGO, R. F., CANTOS VILLAR, E., PUERTAS GARCÍA, B. & ORTIZ SOMOVILLA, H. (2015). Sulfuroso en la Elaboración de Vinos. Alternativas.

GUERRERO, R. F. & CANTOS-VILLAR, E. (2015). Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in Food Science & Technology*, 42(1), pp. 27-43.

LAMOTHE-ABIET (2019). *Clarificantes*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-clarificantes/>

LAMOTHE-ABIET (2019). *Enzimas*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-enzimas/>

LAMOTHE-ABIET (2019). *Estabilizadores*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-estabilizadores/>

LAMOTHE-ABIET (2019). *Levaduras*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-levaduras/>

LAMOTHE-ABIET (2019). *Taninos*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.lamothe-abiet.com/es/gamma-de-productos/lamothe-abiet-taninos/>

MAGRAMA (2012). *Etiquetado y presentación de productos vitícolas*, visto el 27 de junio de 2019,

https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/publicaciones/Etiquetado_Productos_Vitcolas_tc_m30-89511.pdf

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (2019). *Buscador de variedades vegetales*, visto el 27 de junio de 2019,

<https://www.mapa.gob.es/app/materialVegetal/buscadorMaterialVegetal.aspx?lng=es>

OIV (2019). *Métodos de análisis*, visto el 27 de junio de 2019,
<http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis/>

PLANT GRAPE (2019). *Catalogue of vines grown in France*, visto el 27 de junio de 2019,
<http://plantgrape.plantnet-project.org/en/cepages>

RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., SUDRAUD, P. & RIBÉREAU-GAYON, P. (1972). *Tratado de enología. Ciencias y técnicas del vino. Análisis y control de los vinos*. Buenos Aires. Ed. Hemisferio Sur.

RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B. & LONVAUD, A. (2006). *Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications*. 2nd edition. Chichester. Ed. John Wiley & Sons, Ltd.

WERNER, M., RAUHUT, D. & COTTEREAU, P. (2009). *Levaduras y producción natural de anhídrido sulfuroso*, visto el 27 de junio de 2019,
<https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto7368-01-1.pdf>

9. ANEXOS

EXPERIENCIA 1

Tabla 8: Parámetros físico-químicos de la experiencia 1

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Semillon SO2 0-A	10,76	5,38	0,39	3,43	5,6	0,08	0,16	0,23	2,15	5,84
Semillon SO2 0-A	10,76	5,39	0,39	3,43	4,8	0,16	0,16	0,20	2,17	5,97
Semillon SO2 0-B	10,59	6,83	1,13	3,47	6,4	0,47	0,05	0,53	1,94	6,21
Semillon SO2 0-B	10,58	6,82	1,12	3,47	4,8	0,64	0,04	0,53	1,94	6,00
Semillon SO2 0-C	10,69	5,95	0,66	3,46	5,6	0,27	0,13	0,34	2,10	6,06
Semillon SO2 0-C	10,68	5,98	0,65	3,46	5,6	0,45	0,14	0,38	2,08	6,04
Media	10,68	6,06	0,72	3,45	5,47	0,35	0,11	0,37	2,06	6,02
Desv. Típica	0,08	0,65	0,33	0,02	0,60	0,21	0,05	0,14	0,10	0,12
Semillon SO2 1-A	11,69	5,39	0,39	3,46	7,2	0,28	0,21	0,24	2,13	5,91
Semillon SO2 1-A	11,72	5,36	0,39	3,45	8,0	0,29	0,20	0,21	2,14	5,79
Semillon SO2 1-B	11,66	5,41	0,40	3,46	5,6	0,29	0,24	0,21	2,16	5,79
Semillon SO2 1-B	11,69	5,40	0,41	3,46	4,0	0,54	0,19	0,20	2,18	5,65
Semillon SO2 1-C	11,68	5,38	0,40	3,46	4,8	0,35	0,20	0,22	2,14	5,59
Semillon SO2 1-C	11,71	5,43	0,40	3,45	4,8	0,22	0,19	0,24	2,15	5,86
Media	11,69	5,40	0,40	3,46	5,73	0,33	0,21	0,22	2,15	5,77
Desv. Típica	0,02	0,02	0,01	0,01	1,55	0,11	0,02	0,02	0,02	0,12
Semillon SO2 2-A	12,67	5,39	0,42	3,46	5,6	0,52	0,27	0,13	2,16	5,95
Semillon SO2 2-A	12,64	5,39	0,42	3,47	7,2	0,55	0,25	0,14	2,18	5,70
Semillon SO2 2-B	12,64	5,40	0,43	3,47	8,0	0,61	0,25	0,15	2,17	5,98
Semillon SO2 2-B	12,65	5,39	0,42	3,45	6,4	0,62	0,26	0,18	2,16	5,88
Semillon SO2 2-C	12,62	5,41	0,43	3,47	3,2	0,68	0,26	0,20	2,14	5,87
Semillon SO2 2-C	12,62	5,41	0,43	3,45	4,0	0,31	0,24	0,19	2,14	5,93
Media	12,64	5,40	0,42	3,46	5,73	0,55	0,26	0,17	2,16	5,89
Desv. Típica	0,02	0,01	0,00	0,01	1,85	0,13	0,01	0,03	0,02	0,10

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 8 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 1

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Semillon SO2 3-A	13,55	5,29	0,43	3,44	0,0	1,06	0,28	0,02	2,09	5,75
Semillon SO2 3-A	13,60	5,40	0,43	3,46	0,0	0,99	0,28	0,11	2,12	6,00
Semillon SO2 3-B	13,56	5,36	0,43	3,47	0,0	1,08	0,28	0,12	2,14	5,75
Semillon SO2 3-B	13,55	5,39	0,43	3,46	0,0	1,01	0,27	0,14	2,12	5,89
Semillon SO2 3-C	13,53	5,30	0,43	3,48	0,0	1,32	0,26	0,10	2,11	5,57
Semillon SO2 3-C	13,50	5,29	0,41	3,47	0,0	1,07	0,28	0,09	2,12	5,71
Media	13,55	5,34	0,42	3,46	0,00	1,09	0,28	0,10	2,12	5,78
Desv. Típica	0,03	0,05	0,01	0,01	0,00	0,12	0,01	0,04	0,02	0,15

Tabla 9: Seguimiento de las fermentaciones de la experiencia 1

Tiempo (horas)	% pérdida peso +0 % vol	% pérdida peso +1 % vol	% pérdida peso +2 % vol	% pérdida peso +3 % vol	Diferencia 0-1	Diferencia 1-2	Diferencia 2-3
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20,25	-0,15	-0,14	-0,13	-0,14	0,02	0,01	-0,01
46,75	-0,39	-0,32	-0,29	-0,29	0,07	0,03	0,00
91,75	-1,31	-1,12	-1,03	-0,98	0,20	0,09	0,06
115,75	-2,31	-2,04	-1,87	-1,76	0,27	0,17	0,11
139,75	-3,34	-3,14	-2,96	-2,81	0,20	0,18	0,15
164,00	-4,20	-3,98	-3,83	-3,67	0,22	0,15	0,15
212,17	-5,46	-5,32	-5,31	-4,98	0,14	0,01	0,32
236,00	-6,00	-5,88	-5,73	-5,55	0,11	0,16	0,18
260,25	-6,47	-6,39	-6,27	-6,07	0,07	0,12	0,20
284,00	-6,82	-6,86	-6,77	-6,57	-0,04	0,10	0,20
308,00	-7,08	-7,27	-7,20	-7,04	-0,18	0,07	0,16
334,50	-7,28	-7,58	-7,63	-7,50	-0,30	-0,05	0,13
403,75	-7,56	-8,04	-8,31	-8,37	-0,48	-0,27	-0,05
430,50	-7,63	-8,15	-8,47	-8,60	-0,53	-0,32	-0,12
451,75	-7,68	-8,22	-8,61	-8,76	-0,54	-0,39	-0,15
476,00	-7,72	-8,28	-8,71	-8,92	-0,55	-0,43	-0,22
499,75	-7,76	-8,33	-8,79	-9,06	-0,57	-0,46	-0,27

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 9 (continuación): Seguimiento de las fermentaciones de la experiencia 1

Tiempo (horas)	% pérdida peso +0 % vol	% pérdida peso +1 % vol	% pérdida peso +2 % vol	% pérdida peso +3 % vol	Diferencia 0-1	Diferencia 1-2	Diferencia 2-3
643,75	-7,90	-8,51	-9,07	-9,51	-0,60	-0,57	-0,44
739,75	-7,97	-8,57	-9,17	-9,65	-0,61	-0,60	-0,48
812,00	-8,00	-8,61	-9,24	-9,73	-0,62	-0,62	-0,49
1315,75	-8,08	-8,74	-9,39	-9,95	-0,66	-0,65	-0,56

EXPERIENCIA 2

Tabla 10: Parámetros físico-químicos de la experiencia 2

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Macabeo 0-A	12,50	5,07	0,41	3,55	4,0	1,35	0,35	0,34	1,74	6,37
Macabeo 0-A	12,50	5,09	0,42	3,54	4,0	1,33	0,35	0,32	1,73	6,37
Macabeo 0-B	12,46	5,14	0,44	3,55	4,8	0,90	0,33	0,37	1,73	6,31
Macabeo 0-B	12,51	5,14	0,44	3,54	4,0	1,18	0,32	0,34	1,71	6,31
Macabeo 0-C	12,57	5,02	0,40	3,54	4,0	0,44	0,31	0,30	1,71	6,37
Macabeo 0-C	12,49	5,03	0,39	3,53	4,0	0,73	0,35	0,35	1,69	6,44
Media	12,51	5,08	0,42	3,54	4,13	0,99	0,34	0,34	1,72	6,36
Desv. Típica	0,04	0,05	0,02	0,01	0,33	0,36	0,02	0,02	0,02	0,05
Macabeo 5-A	12,54	5,08	0,42	3,52	4,0	1,26	0,34	0,33	1,68	6,53
Macabeo 5-A	12,50	5,10	0,43	3,52	4,0	1,16	0,34	0,33	1,70	6,81
Macabeo 5-B	12,50	5,03	0,41	3,52	4,0	0,71	0,30	0,30	1,69	6,57
Macabeo 5-B	12,53	5,02	0,40	3,54	4,8	0,69	0,32	0,33	1,70	6,57
Macabeo 5-C	12,50	4,97	0,35	3,52	4,8	0,62	0,35	0,32	1,69	6,65
Macabeo 5-C	12,51	4,97	0,35	3,52	6,4	0,76	0,34	0,36	1,70	6,76
Media	12,51	5,03	0,39	3,52	4,67	0,87	0,33	0,33	1,69	6,65
Desv. Típica	0,02	0,05	0,03	0,01	0,94	0,27	0,02	0,02	0,01	0,11
Macabeo 10-A	12,47	5,06	0,40	3,53	8,8	0,71	0,32	0,40	1,68	6,76
Macabeo 10-A	12,50	5,07	0,40	3,53	8,8	0,97	0,35	0,37	1,70	6,57
Macabeo 10-B	12,45	5,11	0,42	3,52	8,8	0,55	0,35	0,40	1,72	6,74
Macabeo 10-B	12,49	5,09	0,42	3,53	8,8	0,45	0,31	0,39	1,71	6,76
Macabeo 10-C	12,51	5,01	0,42	3,54	8,8	0,95	0,33	0,37	1,74	6,71
Macabeo 10-C	12,49	5,01	0,42	3,53	8,8	1,10	0,32	0,35	1,71	6,75

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 10 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 2

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Media	12,49	5,06	0,41	3,53	8,80	0,79	0,33	0,38	1,71	6,72
Desv. Típica	0,02	0,04	0,01	0,01	0,00	0,26	0,02	0,02	0,02	0,07
Macabeo 15-A	12,47	5,06	0,38	3,54	10,4	0,79	0,31	0,44	1,68	7,03
Macabeo 15-A	12,48	5,02	0,38	3,54	10,4	0,81	0,36	0,42	1,69	6,88
Macabeo 15-B	12,49	5,01	0,40	3,52	12,0	0,81	0,33	0,35	1,73	6,86
Macabeo 15-B	12,45	5,01	0,40	3,53	11,2	0,83	0,36	0,37	1,71	6,85
Macabeo 15-C	12,44	4,96	0,38	3,50	15,2	1,61	0,33	0,35	1,69	6,61
Macabeo 15-C	12,33	4,99	0,38	3,49	14,4	1,89	0,35	0,36	1,69	6,71
Media	12,44	5,01	0,39	3,52	12,27	1,12	0,34	0,38	1,70	6,82
Desv. Típica	0,06	0,03	0,01	0,02	2,07	0,49	0,02	0,04	0,02	0,15
Macabeo 20-A	12,44	5,05	0,42	3,50	20,8	2,37	0,33	0,38	1,71	6,63
Macabeo 20-A	12,43	5,06	0,41	3,50	20,8	2,32	0,36	0,37	1,72	6,63
Macabeo 20-B	12,43	5,02	0,40	3,52	20,8	0,99	0,35	0,40	1,73	6,81
Macabeo 20-B	12,44	5,04	0,40	3,52	20,0	1,21	0,35	0,41	1,69	6,69
Macabeo 20-C	12,50	5,05	0,41	3,53	20,8	0,86	0,34	0,41	1,72	6,85
Macabeo 20-C	12,43	5,04	0,40	3,52	20,8	0,74	0,34	0,42	1,69	6,77
Media	12,45	5,04	0,41	3,52	20,67	1,42	0,35	0,40	1,71	6,73
Desv. Típica	0,03	0,01	0,01	0,01	0,33	0,74	0,01	0,02	0,02	0,09
Macabeo 30-A	12,49	4,91	0,34	3,51	23,2	1,37	0,36	0,39	1,70	6,46
Macabeo 30-A	12,49	4,93	0,34	3,51	23,2	0,98	0,36	0,41	1,71	6,68
Macabeo 30-B	12,48	4,80	0,32	3,50	22,4	0,64	0,37	0,39	1,69	6,62
Macabeo 30-B	12,47	4,80	0,33	3,49	22,4	0,39	0,33	0,37	1,69	6,77
Macabeo 30-C	12,39	4,85	0,33	3,50	25,6	0,79	0,38	0,42	1,68	6,74
Macabeo 30-C	12,51	4,82	0,33	3,50	25,6	0,72	0,35	0,37	1,71	6,74
Media	12,47	4,85	0,33	3,50	23,73	0,82	0,36	0,39	1,70	6,67
Desv. Típica	0,04	0,06	0,01	0,01	1,49	0,33	0,02	0,02	0,01	0,12
Macabeo 40-A	12,49	4,85	0,34	3,49	32,0	0,82	0,35	0,38	1,65	6,45
Macabeo 40-A	12,44	4,86	0,33	3,49	32,0	0,96	0,37	0,41	1,67	6,30
Macabeo 40-B	12,50	4,77	0,33	3,50	31,2	1,04	0,34	0,38	1,63	6,22
Macabeo 40-B	12,51	4,81	0,32	3,49	31,2	0,73	0,38	0,41	1,66	6,37
Macabeo 40-C	12,52	4,87	0,34	3,51	32,0	0,82	0,36	0,42	1,67	6,18
Macabeo 40-C	12,55	4,88	0,33	3,51	32,0	0,72	0,37	0,47	1,68	6,30
Media	12,50	4,84	0,33	3,50	31,73	0,85	0,36	0,41	1,66	6,30
Desv. Típica	0,04	0,04	0,00	0,01	0,41	0,13	0,01	0,03	0,02	0,10

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 10 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 2

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Macabeo 50-A	12,49	5,34	0,30	3,43	43,2	0,78	0,41	1,27	0,98	5,86
Macabeo 50-A	12,51	5,34	0,30	3,43	43,2	0,72	0,41	1,27	1,02	6,03
Macabeo 50-B	12,54	5,30	0,30	3,44	41,6	0,99	0,40	1,18	1,09	5,75
Macabeo 50-B	12,54	5,29	0,30	3,45	41,6	0,67	0,40	1,18	1,06	6,04
Macabeo 50-C	12,55	5,38	0,29	3,44	43,2	0,69	0,41	1,34	0,93	5,65
Macabeo 50-C	12,46	5,40	0,30	3,43	43,2	0,72	0,38	1,34	0,95	5,83
Media	12,52	5,34	0,30	3,44	42,67	0,76	0,40	1,26	1,01	5,86
Desv. Típica	0,04	0,04	0,00	0,01	0,83	0,12	0,01	0,07	0,06	0,15

EXPERIENCIA 3

Tabla 11: Parámetros físico-químicos de la experiencia 3

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)	ÍNDICE DE COLOR	TONALIDAD	ANTOCIANOS (mg/L)	IPT
Prelude 1	12,64	5,84	0,59	3,71	4,8	0,81	0,11	0,24	2,23	8,72	8,79	0,55	424,6	42,46
Prelude 1	12,69	5,80	0,58	3,70	4,8	0,85	0,11	0,22	2,20	8,68	8,82	0,54	424,4	42,27
Prelude 2	12,46	5,69	0,65	3,74	0,0	0,73	0,11	0,30	2,05	9,53	7,05	0,58	454,4	43,68
Prelude 2	12,51	5,68	0,65	3,74	0,0	0,76	0,10	0,28	2,06	9,38	7,09	0,58	454,7	43,56
Prelude 3	12,94	5,87	0,81	3,78	4,8	2,79	0,07	0,18	2,19	10,66	7,21	0,64	454,9	43,10
Prelude 3	13,01	5,85	0,81	3,78	4,0	2,73	0,07	0,16	2,17	10,77	7,21	0,64	458,9	43,29
Media	12,71	5,79	0,68	3,74	3,1	1,45	0,10	0,23	2,15	9,62	7,70	0,59	445,3	43,06
Desv. Típica	0,22	0,08	0,10	0,03	2,4	1,02	0,02	0,05	0,08	0,91	0,86	0,04	16,2	0,58
Concerto 1	12,85	6,38	0,62	3,70	0,0	0,94	0,17	0,24	2,59	10,30	8,60	0,54	470,4	44,31
Concerto 1	12,85	6,38	0,62	3,71	0,0	1,11	0,15	0,23	2,61	10,25	8,61	0,54	469,4	44,22
Concerto 2	12,95	6,92	0,76	3,66	1,6	8,48	0,15	0,24	2,62	11,54	8,92	0,53	483,2	45,05
Concerto 2	12,97	6,94	0,75	3,66	0,8	8,30	0,14	0,27	2,60	11,61	8,94	0,53	479,7	44,72
Concerto 3	12,88	5,44	0,50	3,76	1,6	0,64	0,17	0,14	2,23	9,36	8,24	0,57	441,6	43,92
Concerto 3	12,89	5,48	0,51	3,77	1,6	0,56	0,18	0,17	2,25	9,44	8,24	0,57	440,4	43,76
Media	12,90	6,26	0,63	3,71	0,9	3,34	0,16	0,22	2,48	10,42	8,59	0,55	464,1	44,33
Desv. Típica	0,05	0,66	0,11	0,05	0,8	3,92	0,02	0,05	0,19	0,98	0,31	0,02	18,7	0,48

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 11 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 3

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido citrónico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)	ÍNDICE DE COLOR	TONALIDAD	ANTOCIANOS (mg/L)	IPT
Excellence XR 1	12,99	5,22	0,29	3,91	0,0	0,48	0,22	0,66	1,87	7,92	10,76	0,58	467,9	50,55
Excellence XR 1	13,01	5,23	0,29	3,89	0,0	0,49	0,23	0,65	1,86	8,07	10,72	0,58	468,4	50,52
Excellence XR 2	12,81	5,32	0,33	3,84	4,0	0,45	0,18	0,59	1,84	7,53	10,58	0,55	475,4	49,30
Excellence XR 2	12,76	5,36	0,34	3,84	4,0	0,62	0,23	0,65	1,87	7,51	10,61	0,55	478,4	49,46
Excellence XR 3	12,25	4,91	0,31	3,82	1,6	0,29	0,19	0,55	1,81	7,62	9,94	0,58	422,6	46,70
Excellence XR 3	12,27	4,92	0,30	3,83	2,4	0,38	0,20	0,57	1,82	7,62	9,98	0,58	424,9	46,95
Media	12,68	5,16	0,31	3,86	2,0	0,45	0,21	0,61	1,85	7,71	10,43	0,57	456,3	48,91
Desv. Típica	0,34	0,20	0,02	0,04	1,8	0,11	0,02	0,05	0,03	0,23	0,37	0,01	25,5	1,70
Excellence FR 1	12,77	5,44	0,65	3,70	0,8	0,55	0,08	0,14	2,11	10,05	7,05	0,57	484,4	42,94
Excellence FR 1	12,75	5,45	0,66	3,70	0,8	0,58	0,05	0,09	2,10	9,91	7,10	0,57	484,9	42,98
Excellence FR 2	13,35	5,56	0,52	3,77	0,0	0,97	0,11	0,24	2,20	9,40	9,30	0,58	504,7	49,03
Excellence FR 2	13,33	5,57	0,53	3,77	0,0	0,67	0,11	0,19	2,23	9,17	9,35	0,58	506,5	49,08
Excellence FR 3	13,17	5,49	0,62	3,68	4,0	1,65	0,10	0,11	2,05	9,22	8,31	0,58	482,9	46,31
Excellence FR 3	13,18	5,50	0,62	3,68	4,0	1,69	0,11	0,12	2,03	9,15	8,30	0,58	481,7	46,17
Media	13,09	5,50	0,60	3,72	1,6	1,02	0,09	0,15	2,12	9,48	8,23	0,58	490,9	46,08
Desv. Típica	0,27	0,05	0,06	0,04	1,9	0,53	0,02	0,06	0,08	0,40	1,01	0,00	11,5	2,73
(LA) PM 1	13,21	4,61	0,43	3,83	4,8	0,88	0,17	0,19	1,76	8,82	10,22	0,60	522,8	50,13
(LA) PM 1	13,17	4,66	0,41	3,84	4,0	1,07	0,22	0,26	1,76	8,87	10,31	0,60	528,3	50,63
(LA) PM 2	12,13	4,83	0,48	3,75	2,4	0,88	0,19	0,29	1,74	8,45	8,55	0,60	400,6	42,48
(LA) PM 2	12,12	4,87	0,50	3,77	1,6	0,68	0,19	0,28	1,77	8,55	8,53	0,59	401,8	42,49
(LA) PM 3	12,62	4,75	0,46	3,78	0,8	1,02	0,21	0,28	1,73	8,72	8,53	0,60	428,1	41,95
(LA) PM 3	12,69	4,69	0,46	3,76	0,8	0,86	0,21	0,25	1,74	8,70	8,52	0,60	425,9	41,70
Media	12,66	4,74	0,46	3,79	2,4	0,90	0,20	0,26	1,75	8,69	9,11	0,60	451,2	44,90
Desv. Típica	0,48	0,10	0,03	0,04	1,7	0,14	0,02	0,04	0,02	0,16	0,90	0,00	58,7	4,26
(LA) Bayanus 1	12,36	4,71	0,42	3,74	2,4	0,84	0,17	0,25	1,77	9,56	6,84	0,57	388,3	35,67
(LA) Bayanus 1	12,37	4,73	0,43	3,74	1,6	0,84	0,18	0,26	1,74	9,36	6,89	0,57	396,8	36,43
(LA) Bayanus 2	12,47	4,66	0,41	3,74	0,0	0,98	0,17	0,32	1,62	9,62	7,47	0,58	416,3	38,86
(LA) Bayanus 2	12,49	4,71	0,42	3,75	0,0	1,06	0,21	0,33	1,61	9,93	7,44	0,57	418,4	39,05
(LA) Bayanus 3	12,66	4,43	0,37	3,82	4,8	1,09	0,20	0,30	1,60	9,70	9,10	0,60	494,0	45,85
(LA) Bayanus 3	12,67	4,42	0,37	3,81	4,8	0,95	0,22	0,28	1,58	9,87	9,09	0,59	491,7	45,68
Media	12,50	4,61	0,40	3,77	2,3	0,96	0,19	0,29	1,65	9,67	7,80	0,58	434,2	40,26
Desv. Típica	0,14	0,15	0,03	0,04	2,2	0,11	0,02	0,03	0,08	0,21	1,04	0,01	46,8	4,47

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 11 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 3

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido citríco (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)	ÍNDICE DE COLOR	TONALIDAD	ANTOCIANOS (mg/L)	IPT
Bio Nature 1	12,15	5,35	0,60	3,72	4,8	0,28	0,08	0,17	2,11	9,11	7,92	0,58	443,4	41,82
Bio Nature 1	12,14	5,36	0,60	3,72	4,0	0,68	0,10	0,17	2,12	9,11	7,94	0,57	440,9	41,59
Bio Nature 2	12,46	5,21	0,51	3,73	1,6	0,60	0,10	0,14	2,14	9,07	8,04	0,58	441,6	42,82
Bio Nature 2	12,46	5,17	0,51	3,72	0,8	0,36	0,11	0,10	2,12	9,11	8,10	0,57	443,4	42,92
Bio Nature 3	12,61	5,30	0,58	3,78	0,0	0,67	0,10	0,21	2,12	8,27	8,97	0,61	444,4	45,84
Bio Nature 3	12,62	5,34	0,57	3,78	0,0	0,61	0,13	0,22	2,12	8,29	8,96	0,60	446,4	46,16
Media	12,41	5,29	0,56	3,74	1,9	0,53	0,10	0,17	2,12	8,83	8,32	0,59	443,3	43,53
Desv. Típica	0,21	0,08	0,04	0,03	2,1	0,17	0,02	0,04	0,01	0,42	0,50	0,02	2,0	1,99
Excellence DS 1	12,04	5,46	0,33	3,80	0,0	0,79	0,17	0,61	2,06	8,07	10,04	0,55	440,9	43,75
Excellence DS 1	12,05	5,49	0,32	3,78	0,0	0,53	0,18	0,62	2,04	8,24	10,04	0,55	444,9	43,97
Excellence DS 2	12,65	5,20	0,31	3,86	0,8	0,73	0,16	0,50	2,15	8,55	10,28	0,54	491,0	45,14
Excellence DS 2	12,61	5,24	0,33	3,86	0,0	0,54	0,18	0,50	2,17	8,70	10,30	0,54	493,2	45,35
Excellence DS 3	13,09	5,10	0,34	3,94	0,0	0,68	0,13	0,52	2,08	9,08	10,69	0,58	529,5	50,74
Excellence DS 3	13,08	5,09	0,36	3,93	0,8	0,74	0,15	0,50	2,06	9,10	10,78	0,58	529,5	50,69
Media	12,59	5,26	0,33	3,86	0,3	0,67	0,16	0,54	2,09	8,62	10,36	0,56	488,2	46,61
Desv. Típica	0,47	0,17	0,02	0,07	0,4	0,11	0,02	0,06	0,05	0,42	0,32	0,02	38,9	3,24
Testigo FR con SO ₂ 1	12,64	5,73	0,42	3,66	20,0	0,83	0,18	1,09	1,41	8,68	8,35	0,52	476,9	45,69
Testigo FR con SO ₂ 1	12,63	5,72	0,43	3,65	21,6	0,45	0,19	1,06	1,41	8,72	8,39	0,52	473,9	45,44
Testigo FR con SO ₂ 2	12,91	5,97	0,42	3,70	23,2	0,63	0,21	1,35	1,31	9,05	8,84	0,52	488,5	45,20
Testigo FR con SO ₂ 2	12,91	5,97	0,41	3,71	23,2	0,70	0,20	1,37	1,30	9,09	8,87	0,52	490,2	45,30
Testigo FR con SO ₂ 3	13,29	5,11	0,40	3,84	12,4	0,53	0,18	0,36	1,93	10,19	7,11	0,60	552,8	48,27
Testigo FR con SO ₂ 3	13,29	5,12	0,40	3,86	12,4	0,77	0,20	0,41	1,96	10,07	7,13	0,60	552,0	48,24
Media	12,95	5,60	0,41	3,74	18,8	0,65	0,19	0,94	1,55	9,30	8,11	0,55	505,7	46,36
Desv. Típica	0,29	0,39	0,01	0,09	5,1	0,14	0,01	0,45	0,31	0,67	0,80	0,04	36,7	1,48

EXPERIENCIA 4

Tabla 12: Parámetros físico-químicos de la experiencia 4

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Prelude-A	13,08	5,11	0,74	3,48	16,8	3,22	0,36	0,00	2,21	5,98
Prelude-A	13,06	5,24	0,76	3,51	16,0	3,11	0,33	0,00	2,22	6,45
Prelude-B	13,03	5,33	0,78	3,50	8,8	2,67	0,34	0,00	2,28	6,39
Prelude-B	13,00	5,38	0,78	3,53	8,0	2,82	0,35	0,00	2,30	6,39
Prelude-C	12,99	5,45	0,80	3,51	15,2	3,11	0,36	0,00	2,29	6,23
Prelude-C	13,01	5,46	0,80	3,53	14,4	3,38	0,34	0,00	2,27	6,16
Media	13,03	5,33	0,78	3,51	13,20	3,05	0,35	0,00	2,26	6,27
Desv. Típica	0,04	0,13	0,02	0,02	3,81	0,26	0,01	0,00	0,04	0,18
Concerto-A	13,19	4,69	0,65	3,50	8,0	2,34	0,31	0,00	1,96	6,58
Concerto-A	13,15	4,72	0,66	3,51	8,0	2,32	0,33	0,00	1,96	6,64
Concerto-B	13,12	4,89	0,69	3,50	6,4	3,61	0,31	0,00	2,02	6,80
Concerto-B	13,09	4,85	0,69	3,50	6,4	3,56	0,30	0,00	2,04	6,65
Concerto-C	13,29	4,50	0,56	3,50	5,6	0,55	0,32	0,00	1,91	6,76
Concerto-C	13,32	4,51	0,56	3,52	4,8	0,49	0,31	0,00	1,90	6,66
Media	13,19	4,69	0,63	3,51	6,53	2,15	0,31	0,00	1,97	6,68
Desv. Típica	0,09	0,16	0,06	0,01	1,28	1,38	0,01	0,00	0,06	0,08
Exc STR-A	13,28	4,37	0,41	3,53	10,4	0,73	0,33	0,08	1,69	6,82
Exc STR-A	13,32	4,29	0,40	3,52	9,6	0,47	0,37	0,01	1,67	6,39
Exc STR-B	13,18	4,43	0,42	3,54	9,6	0,51	0,34	0,08	1,71	6,75
Exc STR-B	13,25	4,41	0,40	3,53	9,6	0,67	0,35	0,11	1,71	6,63
Exc STR-C	13,26	4,33	0,38	3,55	11,2	0,50	0,35	0,10	1,69	6,76
Exc STR-C	13,22	4,33	0,40	3,57	10,4	0,63	0,33	0,08	1,72	6,73
Media	13,25	4,36	0,40	3,54	10,13	0,59	0,35	0,08	1,70	6,68
Desv. Típica	0,05	0,05	0,01	0,02	0,65	0,11	0,02	0,04	0,02	0,15
Exc FTH-A	13,16	4,64	0,61	3,46	14,4	2,21	0,34	0,00	1,98	5,89
Exc FTH-A	13,25	4,62	0,60	3,46	13,6	2,25	0,32	0,00	1,94	5,75
Exc FTH-B	13,17	4,63	0,60	3,48	5,6	3,20	0,33	0,00	1,97	5,84
Exc FTH-B	13,17	4,69	0,62	3,50	4,8	2,93	0,32	0,00	1,97	6,09
Exc FTH-C	13,14	4,75	0,63	3,50	8,0	3,01	0,32	0,00	1,99	6,18
Exc FTH-C	13,16	4,76	0,63	3,50	7,2	2,72	0,32	0,00	2,01	6,51
Media	13,18	4,68	0,61	3,48	8,93	2,72	0,33	0,00	1,98	6,04
Desv. Típica	0,04	0,06	0,01	0,02	4,09	0,41	0,01	0,00	0,02	0,28

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 12 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 4

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Exc FR-A	13,09	4,90	0,49	3,49	6,4	1,63	0,34	0,00	2,30	7,16
Exc FR-A	13,14	4,95	0,49	3,50	5,6	1,50	0,32	0,00	2,27	7,18
Exc FR-B	13,08	5,02	0,53	3,49	4,0	2,00	0,33	0,00	2,26	6,97
Exc FR-B	13,08	4,99	0,53	3,50	4,0	2,29	0,31	0,00	2,26	6,94
Exc FR-C	13,08	4,91	0,50	3,49	6,4	1,69	0,32	0,00	2,23	6,96
Exc FR-C	13,12	4,91	0,50	3,49	5,6	1,39	0,31	0,00	2,25	7,06
Media	13,10	4,95	0,51	3,49	5,33	1,75	0,32	0,00	2,26	7,05
Desv. Típica	0,03	0,05	0,02	0,01	1,09	0,34	0,01	0,00	0,02	0,11
522 Davis-A	13,22	4,48	0,58	3,49	6,4	3,07	0,33	0,00	1,99	5,25
522 Davis-A	13,21	4,55	0,59	3,48	5,6	3,04	0,32	0,00	1,96	5,28
522 Davis-B	13,24	4,22	0,52	3,43	4,0	2,53	0,35	0,00	1,81	4,62
522 Davis-B	13,19	4,43	0,55	3,49	3,2	2,67	0,34	0,00	1,94	5,33
522 Davis-C	13,15	4,43	0,57	3,47	3,2	3,69	0,32	0,00	1,86	5,07
522 Davis-C	13,15	4,49	0,59	3,49	3,2	3,41	0,31	0,00	1,92	5,42
Media	13,19	4,43	0,56	3,48	4,27	3,07	0,33	0,00	1,91	5,16
Desv. Típica	0,04	0,11	0,03	0,02	1,40	0,44	0,01	0,00	0,07	0,29

EXPERIENCIA 5

Tabla 13: Parámetros físico-químicos de la experiencia 5

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
DS-A	11,76	4,53	0,46	3,60	5,6	0,38	0,30	0,15	2,10	4,80
DS-A	11,72	4,54	0,46	3,61	5,6	0,40	0,29	0,15	2,10	4,71
DS-B	11,92	3,76	0,33	3,40	5,6	0,62	0,34	0,00	1,78	2,33
DS-B	11,81	4,53	0,45	3,62	4,8	0,25	0,28	0,11	2,19	5,34
DS-C	11,71	4,64	0,45	3,62	7,2	0,31	0,27	0,21	2,14	5,31
DS-C	11,72	4,64	0,46	3,60	7,2	0,61	0,30	0,20	2,13	5,05
Media	11,77	4,44	0,44	3,58	6,0	0,43	0,30	0,14	2,07	4,59
Desv. Típica	0,08	0,34	0,05	0,09	1,0	0,15	0,02	0,08	0,15	1,14

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 13 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 5

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Bio-DS-A	11,80	4,25	0,46	3,55	10,4	0,60	0,28	0,05	1,89	4,12
Bio-DS-A	11,77	4,49	0,50	3,63	9,6	0,76	0,29	0,17	2,02	5,02
Bio-DS-B	11,57	4,58	0,52	3,62	8,0	0,58	0,26	0,25	2,00	4,90
Bio-DS-B	11,61	4,59	0,53	3,64	8,0	0,53	0,24	0,25	1,98	5,02
Bio-DS-C	11,68	4,55	0,52	3,62	8,0	0,24	0,28	0,18	1,98	5,41
Bio-DS-C	11,74	4,57	0,52	3,63	8,0	0,46	0,27	0,18	2,02	5,37
Media	11,70	4,51	0,51	3,62	8,7	0,53	0,27	0,18	1,98	4,97
Desv. Típica	0,09	0,13	0,03	0,03	1,1	0,17	0,02	0,07	0,05	0,47
Concerto-A	11,86	4,42	0,48	3,61	6,4	0,39	0,29	0,11	2,06	4,19
Concerto-A	11,87	4,29	0,44	3,58	6,4	0,51	0,29	0,08	2,00	3,73
Concerto-B	11,89	4,28	0,46	3,59	5,6	0,60	0,27	0,06	2,01	3,86
Concerto-B	11,84	4,25	0,46	3,57	5,6	0,37	0,30	0,04	1,99	3,68
Concerto-C	11,89	4,19	0,42	3,58	6,4	0,32	0,28	0,05	1,96	3,35
Concerto-C	11,88	4,27	0,43	3,62	8,0	0,71	0,26	0,14	1,98	3,51
Media	11,87	4,28	0,45	3,59	6,4	0,48	0,28	0,08	2,00	3,72
Desv. Típica	0,02	0,08	0,02	0,02	0,9	0,15	0,01	0,04	0,03	0,29
Con-DS3-A	11,77	4,40	0,48	3,59	4,8	0,30	0,30	0,14	2,00	4,27
Con-DS3-A	11,78	4,43	0,48	3,62	5,6	0,50	0,29	0,14	2,02	4,34
Con-DS3-B	11,70	4,50	0,50	3,62	4,8	0,63	0,30	0,19	2,04	4,49
Con-DS3-B	11,72	4,54	0,50	3,61	4,8	0,80	0,25	0,19	2,01	4,47
Con-DS3-C	11,60	4,42	0,51	3,61	8,0	0,55	0,23	0,17	1,96	4,26
Con-DS3-C	11,60	4,42	0,50	3,62	8,0	0,73	0,26	0,20	1,95	4,20
Media	11,70	4,45	0,49	3,61	6,0	0,59	0,27	0,17	2,00	4,34
Desv. Típica	0,08	0,06	0,01	0,01	1,6	0,18	0,03	0,03	0,04	0,12
Con-DS5-A	11,80	4,30	0,48	3,62	9,6	0,76	0,27	0,10	1,99	4,17
Con-DS5-A	11,76	4,33	0,47	3,62	9,6	0,73	0,28	0,16	2,01	4,38
Con-DS5-B	11,73	4,33	0,48	3,61	10,4	0,38	0,27	0,18	1,94	4,08
Con-DS5-B	11,69	4,37	0,49	3,64	9,6	0,27	0,25	0,20	1,97	4,16
Con-DS5-C	11,75	4,23	0,46	3,58	12,0	0,58	0,30	0,11	1,88	3,69
Con-DS5-C	11,73	4,35	0,49	3,62	12,0	0,64	0,28	0,16	1,97	4,03
Media	11,74	4,32	0,48	3,62	10,5	0,56	0,28	0,15	1,96	4,09
Desv. Típica	0,04	0,05	0,01	0,02	1,2	0,20	0,02	0,04	0,05	0,23

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 13 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 5

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Con-DS7-A	11,71	4,29	0,46	3,63	19,2	0,66	0,26	0,19	1,95	3,86
Con-DS7-A	11,67	4,29	0,48	3,60	19,2	0,57	0,25	0,16	1,96	3,92
Con-DS7-B	11,71	4,27	0,46	3,60	19,2	0,65	0,26	0,13	1,93	3,83
Con-DS7-B	11,74	4,14	0,43	3,57	19,2	0,53	0,30	0,08	1,87	3,41
Con-DS7-C	11,66	4,32	0,47	3,60	20,0	0,64	0,26	0,19	1,93	3,66
Con-DS7-C	11,67	4,30	0,47	3,62	20,0	0,45	0,28	0,19	1,94	3,72
Media	11,69	4,27	0,46	3,60	19,5	0,58	0,27	0,16	1,93	3,73
Desv. Típica	0,03	0,06	0,02	0,02	0,4	0,08	0,02	0,04	0,03	0,18
Prelude-A	11,77	4,55	0,48	3,60	8,8	0,74	0,33	0,17	2,12	4,37
Prelude-A	11,85	4,56	0,50	3,60	8,8	0,81	0,30	0,13	2,08	4,32
Prelude-B	11,88	4,58	0,50	3,59	7,2	0,60	0,31	0,12	2,11	4,50
Prelude-B	11,85	4,57	0,50	3,60	8,0	0,71	0,33	0,09	2,10	4,57
Prelude-C	11,90	4,60	0,51	3,58	4,8	0,59	0,31	0,08	2,12	4,68
Prelude-C	11,82	4,52	0,49	3,56	4,8	0,69	0,31	0,05	2,07	4,35
Media	11,85	4,56	0,50	3,59	7,1	0,69	0,32	0,11	2,10	4,47
Desv. Típica	0,05	0,03	0,01	0,02	1,9	0,08	0,01	0,04	0,02	0,14
Pre-DS3-A	11,81	4,88	0,55	3,61	4,8	0,69	0,30	0,18	2,19	5,42
Pre-DS3-A	11,73	4,83	0,54	3,60	4,0	0,67	0,30	0,18	2,17	5,29
Pre-DS3-B	11,79	4,85	0,56	3,60	4,0	0,34	0,28	0,15	2,17	5,51
Pre-DS3-B	11,76	4,89	0,55	3,62	4,0	0,48	0,30	0,20	2,20	5,39
Pre-DS3-C	11,80	4,77	0,53	3,61	4,0	0,73	0,32	0,19	2,16	5,34
Pre-DS3-C	11,78	4,78	0,53	3,62	4,0	0,55	0,29	0,17	2,15	5,34
Media	11,78	4,83	0,54	3,61	4,1	0,58	0,30	0,18	2,17	5,38
Desv. Típica	0,03	0,05	0,01	0,01	0,3	0,15	0,01	0,02	0,02	0,08
Pre-DS5-A	11,73	4,77	0,54	3,59	4,0	0,84	0,30	0,16	2,10	4,71
Pre-DS5-A	11,68	4,86	0,55	3,62	4,0	0,98	0,31	0,26	2,13	4,99
Pre-DS5-B	11,73	4,66	0,52	3,62	3,2	0,51	0,30	0,19	2,10	4,74
Pre-DS5-B	11,75	4,66	0,52	3,62	3,2	0,69	0,31	0,21	2,11	4,71
Pre-DS5-C	11,83	4,76	0,54	3,60	4,0	0,59	0,30	0,17	2,14	5,05
Pre-DS5-C	11,82	4,72	0,55	3,59	4,0	0,53	0,29	0,13	2,10	4,89
Media	11,76	4,74	0,54	3,61	3,7	0,69	0,30	0,19	2,11	4,85
Desv. Típica	0,06	0,08	0,01	0,02	0,4	0,19	0,01	0,05	0,02	0,15

Reducción del sulfuroso producido en fermentaciones alcohólicas de vinos sin sulfitos añadidos

Tabla 13 (continuación): Parámetros físico-químicos de la experiencia 5

Muestra	Alcohol (% vol)	Acidez Total (g/L tartárico)	Acidez Volátil (g/L acético)	pH	[SO ₂] total (mg/L)	Azúcares Residuales (g/L)	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Glicerol (g/L)
Pre-DS7-A	11,75	4,63	0,51	3,62	9,6	0,82	0,28	0,21	2,06	4,76
Pre-DS7-A	11,72	4,62	0,51	3,63	8,8	0,95	0,29	0,27	2,05	4,85
Pre-DS7-B	11,77	4,78	0,57	3,61	8,8	0,80	0,31	0,19	2,11	4,98
Pre-DS7-B	11,76	4,79	0,57	3,62	8,8	0,89	0,31	0,22	2,10	4,85
Pre-DS7-C	11,76	4,65	0,53	3,63	11,2	0,68	0,30	0,21	2,08	4,66
Pre-DS7-C	11,77	4,66	0,53	3,64	12,0	0,80	0,29	0,23	2,05	4,56
Media	11,76	4,69	0,53	3,63	9,9	0,82	0,30	0,22	2,08	4,78
Desv. Típica	0,02	0,08	0,03	0,01	1,4	0,09	0,01	0,03	0,03	0,15

Tabla 14: Seguimiento de las fermentaciones de la experiencia 5

Tiempo (horas)	% pérdida peso									
	DS	Bio-DS	Concerto	Con-DS3	Con-DS5	Con-DS7	Prelude	Pre-DS3	Pre-DS5	Pre-DS7
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14,75	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,01	0,00	-0,01
63,00	-3,39	-1,45	-1,28	-1,21	-1,21	-1,31	-2,05	-1,93	-2,11	-2,17
85,00	-4,80	-3,38	-3,01	-2,98	-3,04	-3,14	-3,03	-2,98	-3,09	-3,14
110,33	-6,01	-5,01	-4,51	-4,58	-4,60	-4,69	-4,06	-4,13	-4,10	-4,14
136,50	-6,97	-6,27	-5,79	-5,95	-5,98	-5,99	-5,05	-5,19	-5,16	-5,12
158,58	-7,50	-7,07	-6,68	-6,87	-6,96	-6,86	-5,79	-5,97	-5,96	-5,83
184,50	-7,78	-7,70	-7,45	-7,61	-7,69	-7,62	-6,46	-6,68	-6,70	-6,59
208,67	-7,94	-8,05	-7,92	-7,99	-8,04	-8,06	-7,00	-7,20	-7,25	-7,22
232,50	-8,05	-8,24	-8,15	-8,17	-8,21	-8,28	-7,39	-7,56	-7,62	-7,65
257,50	-8,14	-8,34	-8,29	-8,27	-8,29	-8,38	-7,70	-7,79	-7,87	-7,95
278,75	-8,21	-8,40	-8,36	-8,32	-8,35	-8,44	-7,89	-7,94	-8,02	-8,11
422,00	-8,50	-8,57	-8,56	-8,49	-8,51	-8,60	-8,47	-8,39	-8,42	-8,49
566,75	-8,65	-8,66	-8,70	-8,62	-8,63	-8,70	-8,62	-8,52	-8,53	-8,59
700,00	-8,75	-8,75	-8,80	-8,71	-8,71	-8,79	-8,75	-8,63	-8,65	-8,70