

Biodiversidad de levaduras no-*Saccharomyces*:

**Efecto del metabolismo secundario en el color
y el aroma de vinos de calidad**

por

Karina Medina Rolando

2014

Uruguay

Tesis entregada como parte de los requerimientos para la obtención del
título de

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias. Universidad de la República

Biodiversidad de levaduras no-*Saccharomyces*:

**Efecto del metabolismo secundario en el color
y el aroma de vinos de calidad**

por

Karina Medina Rolando

Tesis entregada como parte de los requerimientos

para la obtención del título de

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

Universidad de la República

2014

Uruguay

Director: Dr. Francisco Carrau

Codirector: Dr. Eduardo Boido

Tribunal: Dr. Pablo Zunino, Jefe del Departamento de Microbiología, Instituto de
Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Dr. Horacio Heinzen, Profesor Catedrático, Cátedra de Farmacognosia y
Productos Naturales, Facultad de Química

Dra. Silvana Vero, Profesor Agregado, Cátedra de Microbiología,
Facultad de Química

RESUMEN

En el proceso de vinificación, la optimización en la obtención de color y en la producción de buenos aromas constituye un área clave en la elaboración de vinos tintos de calidad.

En dicho proceso intervienen una serie de variables, que van desde el viñedo hasta la bodega, donde la fermentación alcohólica llevada a cabo por las levaduras juega un rol importante. Durante la fermentación alcohólica, las levaduras transforman los azúcares del mosto en etanol y anhídrido carbónico como principales compuestos, pero además sintetizan o modifican una gran diversidad de compuestos aromáticos y polifenólicos de la uva, que a pesar de estar en muy baja concentración, son los compuestos claves que determinan en buena medida la calidad de un vino.

Algunas de las consecuencias de la interacción de las levaduras con el mosto son la producción de pigmentos derivados de antocianos, los cuales son muy estables e intensamente coloreados al pH del vino, la modificación de compuestos aromáticos varietales y la producción de aromas fermentativos.

Basados en la existencia de una gran biodiversidad dentro del grupo de levaduras no-*Saccharomyces*, en el presente trabajo de tesis, se realizó la selección y caracterización de cepas nativas no-*Saccharomyces*, provenientes de uvas de diferentes viñedos del Uruguay.

Como producto del trabajo de caracterización y selecciones continuadas de las mejores cepas, fue posible seleccionar en primera instancia en base a parámetros de color, polifenoles y capacidad fermentativa, a 6 cepas no-*Saccharomyces*. Se estudiaron las modificaciones producidas por las mismas en el color y en los aromas, a nivel de laboratorio en un medio similar mosto Tannat.

A partir de los resultados obtenidos con las microvinificaciones, se seleccionó una cepa *Hanseniaspora vineae* para realizar ensayos a mayor escala, con la propia uva Tannat, en las instalaciones de dos bodegas nacionales elaboradoras de vinos de calidad.

Entre los resultados obtenidos, se destacan los siguientes:

- 1) Caracterización a nivel de color y polifenoles de 49 cepas no-*Saccharomyces* autóctonas del Uruguay, pertenecientes a diversos géneros y especies.
- 2) Se determinó para seis cepas no-*Saccharomyces* seleccionadas, la formación de compuestos derivados de antocianos, lo que puso de manifiesto la importancia de este grupo de levaduras en la mediación del fenómeno de estabilización y/o mejora del color en los vinos tintos.
- 3) Se demostró que la formación de estos derivados de antocianos es dependiente de la cepa, siendo mayor para la cepa *Saccharomyces cerevisiae* que para el resto de las cepas no-*Saccharomyces*.
- 4) Se demostró el impacto de las diferentes levaduras sobre los compuestos aromáticos, produciendo la levadura *Hanseniaspora vineae* T02/05F, las concentraciones más elevadas de acetatos y ésteres etílicos, y la cepa *Saccharomyces cerevisiae* 882 (utilizada como control de la vinificación convencional), produjo en la mayoría de las vinificaciones un incremento de los alcoholes, ácidos, isoácidos y fenoles varietales.
- 5) Se constató la utilidad de la cepa *Hanseniaspora vineae* T02/05F, en las condiciones reales de vinificación, para la elaboración de vinos de alta calidad, los cuáles además de aumentar la diversidad de compuestos coloreados y aromáticos, se diferenciaron de los vinos elaborados con los tratamientos convencionales.

En resumen, los resultados obtenidos pusieron de relevancia la contribución de las levaduras no-*Saccharomyces* como precursores de diversidad en la vinificación, ya sea en la preservación y/o aumento del color, así como en el aporte a la complejidad aromática y sensorial de los vinos Tannat elaborados.

La formación de los derivados de antocianos identificados en este trabajo, y la contribución aromática y sensorial puesta de manifiesto en algunos compuestos cuyas concentraciones fueron mayores al umbral de percepción, constituyen importantes caracteres de selectividad para cepas de vinos tintos no convencionales.

CAPÍTULO IV

Materiales y Métodos

1- Cepas Nativas no-*Saccharomyces*

Origen y antecedentes de las cepas utilizadas

Las cepas estudiadas en este trabajo de tesis, forman parte de la colección de cepas de la Sección Enología de Facultad de Química y las mismas provienen de aislamientos a partir de uva o de mostos en fermentación de vendimias comprendidas entre los años 2000-2010. La nomenclatura de las cepas utilizadas posee el siguiente formato:

La primera letra corresponde a la variedad de la uva de procedencia (Tabla 4.1), luego le siguen los dos últimos números del año de cosecha, seguido del número secuencial del aislamiento de cada año y finalmente la letra G, si corresponde a una aislamiento a partir de uva (grape), o F si es a partir de mosto en fermentación.

Variedad	Letra asignada
Merlot	M
Tannat	T
Cabernet Sauvignon	C
Tempranillo	TE
Cabernet Franc	CF
Pinot Noir	PN
Petit Verdot	PV
Arirarnoa	A
Sauvignon blanc	SB
Chardonnay	CH
Chavanasco	CHV
Moscatel Miel	MM

Tabla 4.1- Abreviatura de las diferentes variedades de uvas, a partir de las cuáles se realizaron los diferentes aislamientos. Estas conforman el primer carácter de la nomenclatura de las cepas nativas utilizadas.

En este trabajo de tesis se utilizaron un total de 49 cepas no-*Saccharomyces* distribuidas de la siguiente manera: 17 cepas pertenecientes a la especie *Metschnikowia pulcherrima*, 12 cepas *Hanseniaporea uvarum*, 3 cepas *Hanseniaspora vineae*, 1 cepa *Hanseniaspora guillermundii*, 4 cepas *Hanseniaporea opuntiae*, 2 *Hanseniaporea clermontiae*, 5 cepas *Candida zemplinina*, 1 cepa *Candida railinensis*, 1 cepa *Candida shetae*, 1 cepa *Torulaspora delbrueckii* y 2 cepas *Issatchenkia terricola*.

En las tablas siguientes (Tabla 4.2, 4.3 y 4.4), se presentan los datos de las diferentes cepas respecto a año de aislamiento, variedad de uva, zona geográfica del viñedo, y actividad enzimática β -glicosidasa a pH 6 y pH 4.

Cepas	Año Aislamiento	Variedad de Uva	Zona geográfica	β -gluc. pH 6	β -gluc. pH 4
<i>M. pulcherrima</i>					
M00/09G	2000	Merlot	Santa Lucia	(+)	(+)
MM00/19G	2000	Mosc Miel	Las violetas	(++)	(+ -)
T00/23G	2000	Tannat	Las violetas	(+++)	(+-)
SB00/03G	2000	Sauv. Blanc	Las violetas	(++)	(+)
M00/08G	2000	Merlot	Santa Lucia	(+)	(+)
T00/21G	2000	Tannat	Las violetas	(+++)	(+)
M03/25G	2003	Merlot	Las Violetas	(+++)	(+++)
T03/10G	2003	Tannat	Las Violetas	(+)	(-)
CH03/29G	2003	Chardonnay	Las Violetas	(+)	(+)
T03/28G	2003	Tannat	Las Violetas	(+)	(-)
A03/19G	2003	Arinarnoa	Las Violetas	(+)	(-)
M03/02G	2003	Merlot	Las Violetas	(+)	(+)
CH03/08G	2003	Chardonnay	Las Violetas	(+)	(+)
M03/26G	2003	Merlot	Las Violetas	(+ +)	(-)
PV03/16G	2003	Petit Verdot	Las Violetas	(+)	(+)
PV03/18G	2003	Petit Verdot	Las Violetas	(+)	(+)
<i>M. fructicola</i>					
T00/25G	2000	Tannat	Las violetas	(+++)	(+)

Tabla 4.2- Cepas pertenecientes al género *Metschnikowia*. (+) actividad β -glucosidasa baja, (++) actividad β -glucosidasa media, (+++) actividad β -glucosidasa alta y (-) no se detectó actividad β -glucosidasa.

Cepas	Año Aislamiento	Variedad de Uva	Zona geográfica	β -gluc. pH 6	β -gluc. pH 4
<i>H. uvarum</i>					
T06/05G	2006	Tannat	Melilla	(+)	(-)
C06/30G	2006	Cab Sauv	Las Violetas		
T06/13G	2006	Tannat	Melilla	(+)	(-)
T06/04G	2006	Tannat	Melilla	(+)	(-)
C06/27G	2006	Cab Sauv	Las Violetas	(+)	(-)
C06/35G	2006	Cab Sauv	Las Violetas	(+)	(-)
CF10/33G	2010	Cab Franc	Las Violetas	(++)	(-)
PV10/67F	2010	Petit Verdot	Las Violetas	(++)	(-)
C10/49F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(++)	(-)
C10/47F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(++)	(-)
PV10/71F	2010	Petit Verdot	Las Violetas	(++)	(-)
C10/57F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(-)	(-)
<i>H. vineae</i>					
T02/5F	2002	Tannat	Las Violetas	(+++)	(-)
T02/19F	2002	Tannat	La Paz/La Piedad	(+++)	(-)
T02/25F	2002	Tannat	Progreso	(+++)	(-)
<i>H. guilliermondii</i>					
T06/09G	2006	Tannat	La Paz	(+)	(-)
<i>H. opuntiae</i>					
T06/19G	2006	Tannat	Melilla	(+)	(-)
T06/01G	2006	Tannat	La Paz	(+)	(-)
T06/12G	2006	Tannat	Melilla	(+)	(-)
CF10/38F	2010	Cab Franc	Las Violetas	(+++)	(-)
<i>H. clermontiae</i>					
C10/54F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(++)	(-)
A10/82F	2010	Arrinarnoa	Las Violetas	(++)	(-)

Tabla 4.3- Cepas del género *Hanseniaspora*. (+) actividad β -glucosidasa baja, (++) actividad β -glucosidasa media, (+++) actividad β -glucosidasa alta y (-) no se detectó actividad β -glucosidasa.

Cepas	Año Aislamiento	Variedad de Uva	Zona geográfica	β -gluc. pH 6	β -gluc. pH 4
<i>C. zemplinina</i>					
T06/11G	2006	Tannat	Melilla	(-)	(-)
T06/20G	2006	Tannat	Melilla	(-)	(-)
T06/14G	2006	Tannat	Las Brujas	(-)	(-)
T06/08G	2006	Tannat	La Paz	(-)	(-)
C10/46F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(-)	(-)
<i>C. railenensis</i>					
T00/22G	2000	Tannat	Las violetas	(+)	(-)
<i>I. terricola</i>					
C10/58F	2010	Cab Sauv	Las Violetas	(-)	(-)

Tabla 4.4- Cepas del género *Candida* e *Issatchenkia* (nd: no determinada). (+) actividad β -glucosidasa baja, (++) actividad β -glucosidasa media, (+++) actividad β -glucosidasa alta y (-) no se detectó actividad β -glucosidasa.

Las cepas *Candida shetae* y *Torulaspora delbrueckii* no se presentan en las tablas anteriores, ya que en ambos casos se trata de cepas que no son nativas de nuestro país. Ambas pertenecen a la colección del Instituto Stab Vida de Portugal.

Como control se utilizó la cepa *Saccharomyces cerevisiae* 882, perteneciente a la colección de la Sección Enología, que fuera previamente seleccionada por mejorar el color de los vinos Tannat (Medina, 2006).

2- Levaduras comerciales de uso enológico

Las cepas comerciales utilizadas para las fermentaciones a escala piloto en este trabajo fueron:

- *Saccharomyces cerevisiae* ALG 804 y ALG 111, de la empresa Oenobrand
- *Torulaspora delbrueckii*, de la empresa Lallemmand (Ficha Técnica Lallemmand, 2014)

3- Medios de cultivo

Medio diferencial

Las muestras extraídas durante la fermentación alcohólica, se sembraron en medio de cultivo diferencial WLN (Wallerstein Laboratory Nutrient Agar) (Pallmann et al. 2001, Cavazza et al. 1992, Green y Gray 1950). Este medio de cultivo ha sido desarrollado como diferencial para la industria, ya que permite encontrar rápidamente diferencias entre especies por la morfología de las colonias de acuerdo a color, forma, tamaño, textura, brillo y consistencia. Este medio de cultivo ha sido aplicado para estudios en cervecería, así como en vinificaciones, para diferenciar cepas nativas del género *Saccharomyces* (Carol, et al., 1987, Carrau, et al., 1988). También se ha utilizado para la rápida identificación de levaduras killer en mostos de uva a nivel industrial (Pascual, et al., 1990), para el seguimiento de las proporciones de cultivos mixtos con *Saccharomyces* (Carrau, et al., 1993, Medina, et al., 1997) y para el relevamiento de cepas *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* (Cavazza, et al., 1992, Carrau, et al., 1995, Neirotti, et al., 1995, Pallmann, et al., 2001, Medina, et al., 2012). El principio diferencial de este medio de cultivo, se basa en el reactivo verde de bromocresol, que actúa como colorante diferencial (Figura 4.1 y 4.2).

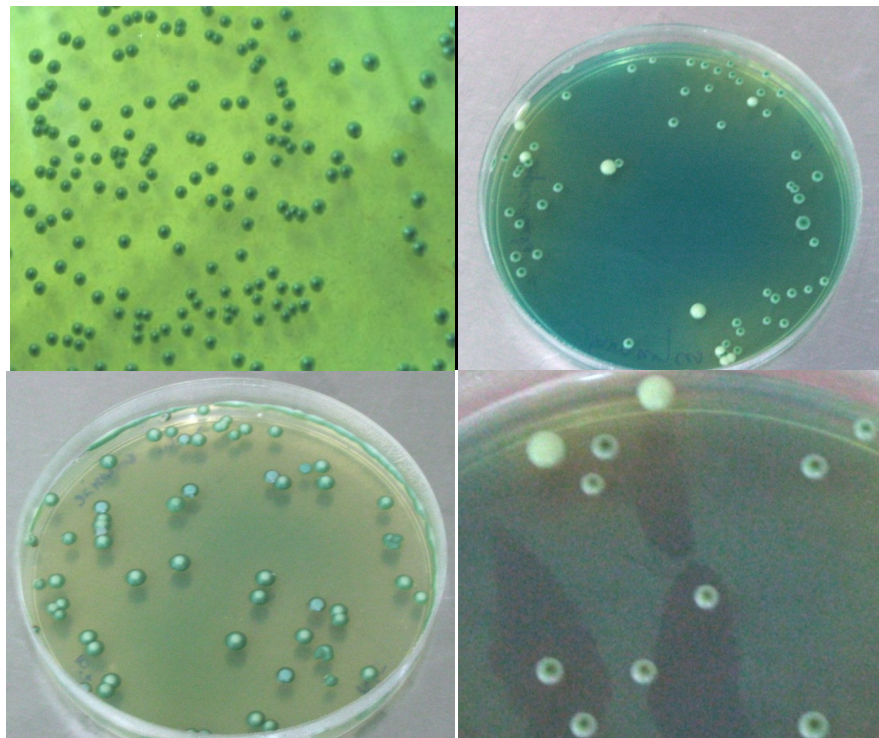


Figura 4.1- Placas de WLN conteniendo cultivos simples de levaduras no-*Saccharomyces* (fotos de la izquierda) y cultivos mixtos con levaduras *Saccharomyces* (fotos de la derecha). La levadura *Saccharomyces* de esta fotografía, se diferencia de la no-Sac, por su mayor tamaño, color blanco mate (sin brillo) y textura espesa.

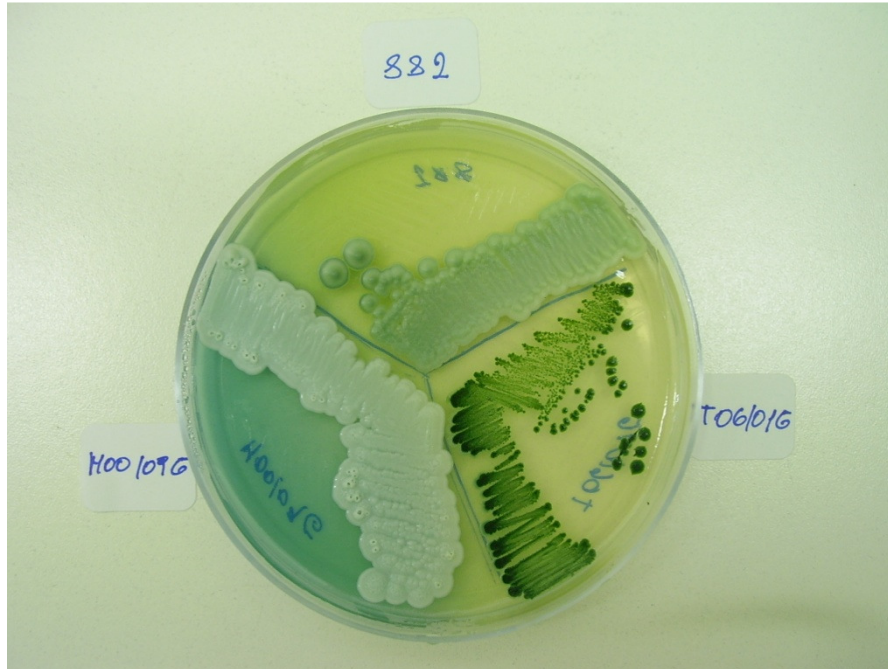


Figura 4.2- Placas de WLN con siembra con estría para una cepa *Saccharomyces cerevisiae* (882), una cepa *Metschnikowia pulcherrima* (M00/09G) y una cepa *Hanseniaspora opuntiae* (T06/01G). Para cada una de las 3 cepas se observa una morfología diferente y típica de cada género de levaduras.

Como se observa en la Figura 4.2, la tinción diferencial que se produce en este medio de cultivo, posibilita diferenciar algunos géneros de levadura (por ej: *Metschnikowia*, presenta colonias blancas, opacas; *Saccharomyces cerevisiae* (882), colonias verde claro, opacas y espesas en consistencia; y *Hanseniaspora*, colonias verde intenso, brillantes y con escasa consistencia).

Medio de conservación y selectivo

Para la conservación de las cepas no- *Saccharomyces* se utilizó el medio de cultivo Agar Lisina. Constituye un medio sintético para el aislamiento y recuento de levaduras salvajes de las industrias cervecera y enológica. Para el mantenimiento a largo plazo, las cepas fueron congeladas a -80°C en este mismo medio de cultivo con el agregado de glicerol al 20%.

Medio de conservación

Para la conservación de las cepas *Saccharomyces* se utilizó el medio de cultivo YEPD agar (extracto de levadura 1%; peptona 1%, dextrosa 2% y agar 2%), conteniendo solución buffer fosfato-citrato 0.1M para ajustar el pH a 4.5.

4- Mosto tinto para fermentaciones a escala de laboratorio

La posibilidad de trabajar a escala de laboratorio con un mosto proveniente de uvas tintas, y más específicamente de la variedad Tannat, resultaba la opción más sencilla desde el punto de vista práctico y la que más se acercaba a las condiciones reales de la operativa de bodega. Sin embargo, esta opción presenta desde el punto de vista microbiológico una serie de inconvenientes prácticos que se describen a continuación:

- La metodología de maceración para la obtención de vinos tintos requiere tiempos prolongados de 3 o 4 días de contacto entre el mosto y las cáscaras. Desde el punto de vista microbiológico estos tiempos son demasiado prolongados y facilitan la proliferación exponencial de los microorganismos presentes en el mosto. En las cáscaras de la uva se ubica principalmente la microflora nativa de levaduras y bacterias, por lo que habría que realizar una esterilización posterior a la maceración. Las técnicas de esterilización a aplicar para mostos están bastante acotadas debido a que emplean temperaturas demasiado elevadas que alteran la composición química del mosto actuando fundamentalmente a nivel de las proteínas y de los polifenoles. Aún con mecanismos de esterilización alternativos como la pasteurización se hacía muy difícil poder predecir el impacto que el proceso tendría sobre la composición del mosto, la estabilidad de sus componentes y el efecto sobre las antocianidinas y los aromas varietales.
- Por otro lado someter al mosto a un proceso de pasteurización se aleja bastante de lo que ocurre en la industria vitivinícola de vinos de calidad. Se plantea la interrogante acerca de qué tan extrapolables serían los resultados obtenidos por esta metodología para la industria. Por ejemplo, la temperatura de pasteurización podría favorecer la solubilidad de algunos de los antocianos y las levaduras

podrían modificar su comportamiento en función de las variables obtenidas con dicho tratamiento.

Otro proceso de esterilización propuesto es el de filtración por membrana de 0.22 μm . Esta metodología tampoco pudo ser considerada debido a que muchas de las sustancias que están presentes en el mosto se encuentran en forma de suspensión coloidal con lo cual el proceso de filtración en laboratorio se torna una práctica muy lenta y tediosa, prácticamente imposible de realizar y costosa.

Medio MUST

Por las razones antes mencionadas se utilizó un mosto de uva simil tinto (MUST), que fue previamente utilizado para fines similares (Medina, 2006). El mismo consistió en una extracción directa de antocianos de las cáscaras de uvas Tannat, en igual proporción peso de orujo y volumen de agua con 5 g/L de metabisulfito de potasio. La mezcla se dejó macerar durante 72 horas, con agitación periódica. El residuo acuoso se filtró y se realizó una evaporación a presión reducida a una temperatura de 40°C hasta un tercio del volumen inicial. Se agregaron 2 g/L de ácido tartárico para acidificar el medio y facilitar el desprendimiento del anhídrido sulfuroso. El concentrado se liofilizó y se depositó bajo atmósfera inerte, a -20°C hasta su uso.

Para la obtención final del MUST, se partió del extracto natural de antocianos de cáscaras de uva Tannat y se realizó la mezcla con el medio simil mosto previamente definido (Carrau 2003).

Para facilitar dicha mezcla se procedió a diluir previamente el extracto en 50 mL de solución hidroalcohólica al 10 % a una temperatura 45°C. Una vez disuelto el sustrato, se realizó la mezcla con el simil mosto mediante agitación. Por cada litro de medio se agregó la cantidad necesaria de extracto de antocianos, que permitiera obtener un contenido final de antocianos totales en el medio MUST de 750 mg/L. Finalmente la mezcla se esterilizó por filtración con membrana de 0.45 μm .

Los datos analíticos del medio MUST de partida se realizaron de acuerdo a las técnicas de Zoecklein, *et al.*, 1995, y fueron los siguientes: Azúcares totales, 200 g/L; acidez total 3,25 g/L H₂SO₄; pH, 3,5 y FAN, 150 mg/L.

5- Microvinificaciones

Condiciones de fermentación

Las microvinificaciones se realizaron en Erlenmeyers de 125 mL, previamente autoclavados.

El volumen de MUST utilizado fue de 50 mL, y se emplearon duplicados para cada tratamiento con cada cepa.

Como se aprecia en la Figura 4.3, los Erlenmeyers se taparon con válvulas de Müller, conteniendo en su interior H_2SO_4 , que actúa como agente desecante permitiendo la salida de CO_2 y reteniendo el vapor de agua liberado durante la fermentación (Ciani y Rosini 1987). La incubación de los diferentes tratamientos se realizó a $20^{\circ}C$, con una agitación cada 24 horas, a fin de desprender toda la biomasa precipitada en el fondo del recipiente.

El seguimiento de la fermentación se realizó por pérdida de peso (causada por la producción y liberación de gas carbónico, como producto de la fermentación alcohólica). La cantidad de gramos de CO_2 producidos se utilizó para determinar la capacidad fermentativa de cada cepa. La fermentación alcohólica se consideró finalizada cuando se verificó, por constancia de peso, el cese de la liberación de gas carbónico.



Figura 4.3- Erlenmeyers con medio MUST para la caracterización en función del color de las cepas seleccionadas.

Inoculación

Ocho horas antes de comenzar las microvinificaciones se realizó la preparación de un preinóculo para cada una de las cepas. Con este objetivo, a partir de repiques

conservados en criotubos a -80°C , se realizó la toma de inóculo y posterior siembra de las diferentes cepas en tubos de vidrio de 15 mL de capacidad conteniendo 5 mL de medio MUST. La incubación se realizó en shaker con agitación de 100 RPM, a 20°C , durante 8 horas. Esto permitió partir de un cultivo microbiológico fresco, con una población microbiológica suficiente y en etapa exponencial de crecimiento para iniciar la siembra de las microvinificaciones.

El inóculo de partida que se utilizó para todos los ensayos fue de 1×10^5 células/mL (Medina, 2006, Carrau, *et al.*, 2010).

5.1- Determinaciones analíticas realizadas luego de la fermentación alcohólica

- Determinación de color

Para todos los ensayos realizados se determinó intensidad colorante y matiz, mediante la medida de absorbancia a 420, 520 y 620 nm,

El espectro de los vinos tintos presenta un máximo a 520 nm debido a las antocianinas y a sus combinaciones bajo forma flavilio y un mínimo hacia 420 nm debido a otros polifenoles (Ribereau-Gayon *et al.* 2002). A su vez las determinaciones anteriores son complementadas por la medida a 620 nm para tomar en cuenta los tonos azules.

La técnica utilizada consistió en la realización de diluciones 1:10 de los vinos en solución buffer Mc. Llaine, pH 3.2 (49.6 mL de Na_2HPO_4 0.2M y 150.6 mL ácido cítrico 0.1M). Luego se midió absorbancia a 420 nm, 520 nm y 620 nm en celdas de 1cm de paso, utilizando un espectrofotómetro Spectronic Genesys 2 spectrophotometer (Spectronic Instruments Inc., New York, USA).

Los vinos fueron medidos todos al mismo pH (3.2) y con diluciones 1:10, para evitar diferencias de color entre las muestras debido a diferencias de pH, y descartar el efecto de copigmentación (Boulton, 2001).

A partir de las medidas obtenidas a las longitudes de onda mencionadas, se determinaron los siguientes índices:

Intensidad Colorante (IC) = $(A_{420} + A_{520} + A_{620}) \times 10$

Matiz (Índice de Edad) = A_{420} / A_{520}

La IC representa la suma y la importancia del color en los diferentes vinos, mientras que el Matiz, también llamado índice de edad o tinte, corresponde al nivel de evolución del color hacia el naranja.

- *Análisis cuantitativo de antocianos totales*

Se realizaron barridos espectrofotométricos (380-700nm) para la cuantificación de antocianos totales, diluyendo 1/50 en Etanol: Agua: HCl (70:30:1). Se registró el valor de absorbancia en el máximo a 536-540 nm (Di Stefano, *et al.*, 1989).

Antocianos totales (mg/L, expresado en malvidina)= $E_{\max \text{ vis}} \times 26,6 \times 50$

- *Índice de polifenoles totales.*

A partir de diluciones 1:100 de los vinos en agua destilada, se realizaron mediciones de absorbancia a 280nm (Iland, *et al.*, 1993).

- *Análisis de antocianos por HPLC-DAD*

El análisis de los antocianos presentes en los vinos se realizó utilizando un equipo Hewlett Packard Series 1050 HPLC (Palo Alto, CA) equipado con HP Chem Station y detector de arreglo de diodos. Se utilizó un gradiente de solventes de la siguiente forma: solvente A (agua- ácido fórmico, 95:5, v/v), y solvente B (acetonitrilo), gradiente lineal 10-30% B (1.0 mL/min) desde 0 a 40 minutos, luego 30-35 % B (1.0 mL/min) de 40 a 48 minutos y 35-10% B (1.0 mL/min) de 48 a 49 min, seguido de un reequilibrio de la columna y retorno a las condiciones iniciales desde los 49 a los 55 minutos (Rivas-Gonzalo, *et al.*, 1995). La columna utilizada fue Phenomenex C₁₈ fase reversa 150 mm x 4.6 mm (Phenomenex®, Torrance, CA). La detección se realizó por scanning entre 280 y 600 nm. Para la cuantificación se utilizó un standard externo de cloruro de malvidina-3-glucósido (Sigma Aldrich), realizándose una curva de calibración a 530 nm. Las muestras de vino fueron previamente filtradas en un volumen de 200 µL, y el volumen de inyección en el HPLC para cada muestra fue de 20 µL. Las determinaciones se realizaron en duplicado.

- *Identificación de pigmentos derivados de antocianos por HPLC-DAD-MS.*

La identificación de los diferentes compuestos se realizó mediante comparación de espectros UV-Vis en HPLC-DAD, siendo necesaria la confirmación de alguno de ellos mediante HPLC-MS.

Se utilizó un HPLC-DAD 1200 (Agilent Technologies) con bomba binaria y detector triple Quad LC/MS 6410 LC, con fuente de ionización ESI (ionización por electrospray). El flujo del gas de propulsión en el detector MS fue de 10 L min⁻¹. El voltaje de capilaridad fue 4000V y la temperatura 300°C. Los espectros se registraron en modalidad de iones positivos entre 100 y 1600 u.m.a. Los pigmentos derivados de antocianos fueron identificados por sus iones moleculares (M⁺) y sus patrones de fragmentación (Boido, *et al.*, 2006).

- *Extracción de compuestos aromáticos glicosidados para adicionar al medio MUST*

Con la finalidad de lograr un mosto similar uva Tannat desde el punto de vista de los compuestos aromáticos, se realizó una extracción de los mismos a partir de un vino Tannat joven, como forma de asegurar un contenido elevado de compuestos aromáticos glicosidados. La extracción se realizó con resina Amberlite XAD-2 como se describe a continuación.

- *Extracción con resina Amberlite XAD-2*

La extracción se realizó mediante resina XAD-2 en columna, utilizando el método puesto a punto por Günata et al. (1985) y modificado por Versini et al. (1994a).

Para el fraccionamiento se utilizó una columna de vidrio de 3 cm de diámetro y aproximadamente 60 cm de alto, rellena con 30 g de resina Amberlite XAD-2 (Rohm and Haas, Filadelfia, USA). La resina se activó mediante percolación sucesiva de 150 mL de metanol, 40 mL de éter etílico y 100 mL de agua destilada.

Se extrajeron los aromas libres y ligados de 750 mL de vino Tannat, y diluidos a 1000 mL con agua destilada. Se eluyeron posteriormente 250 mL de agua destilada para eliminar posibles residuos, y la fracción de compuestos en forma libre se eluyó con 250 mL de la mezcla azeotrópica de pentano-diclorometano 2:1 v/v. Esta fracción se descartó.

Los compuestos en forma ligada se eluyeron con 400 mL de acetato de etilo-metanol, 9:1 v/v. Se anhidrificó con Na₂SO₄ y se llevó a sequedad en rotavapor.

- *Medio MUST + Glicósidos*

Los glicósidos extraídos del vino Tannat se retomaron con 20 mL de medio MUST, y fueron llevados a un volumen final de 1000 mL. El pH de la mezcla se ajustó a pH 3.5.

- *Estudio de los compuestos aromáticos presentes en las vinificaciones*

La evaluación de los compuestos aromáticos se realizó en duplicado.

A modo de resumen, las vinificaciones estudiadas fueron las siguientes:

1- *Microvinificaciones con cultivos puros, realizadas con las 6 cepas no-Sac seleccionadas y una cepa S. cerevisiae seleccionada.* (Estas microvinificaciones se realizaron en duplicado, en medio MUST + glicósidos).

- *Metschnikowia pulcherrima* M00/09G (Mp M00/09G)
- *Hanseniaspora guilliermondii* T06/09G (Hg T06/09G)
- *Hanseniaspora opuntiae* T06/01G (Ho T06/01G)
- *Hanseniaspora vineae* T02/5F (Hv T02/05F)
- *Hanseniaspora clermontiae* A10/82F (Hc A10/82F)
- *Hanseniaspora clermontiae* C10/54F (Hc C10/54F)
- *Saccharomyces cerevisiae* 882 (Sc 882)

2- *Vinificaciones a escala semipiloto, con uva Tannat, durante la vendimia 2013 (tratamiento M, en Facultad de Química)*

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + Sc 882 (Hv + Sc M)
- cultivo mixto con las cepas Hc A10/82F + Sc 882 (Hc + Sc M)
- cultivo puro con la cepa Sc 882 (Sc M)

3- *Vinificaciones a escala piloto en bins de 500 litros con uva Tannat, durante la vendimia 2013 (tratamiento C, en Bodegas Carrau)*

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + *S. cerevisiae* ALG 804 (Hv + Sc C)
- cultivo puro con *S. cerevisiae* ALG 804 (Sc C)

4- Vinificaciones a escala industrial en tinas de roble de 5.000 litros (tratamiento B, en Bodega Bouza)

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + *S. cerevisiae* ALG 111 (Hv + Sc B)
- cultivo puro con *S. cerevisiae* ALG 111 (Sc B)
- cultivo mixto con una cepa *Torulaspora delbrueckii* (comercial) + *S. cerevisiae* (Torul + Sc B)

Para cada una de las vinificaciones realizadas se realizó la extracción de compuestos aromáticos en duplicado, cuantificación e identificación de los mismos. Los protocolos utilizados para las diferentes etapas se describen a continuación.

- *Extracción de los compuestos volátiles mediante técnica con cartucho ISOLUTE® ENV+*

La extracción se realizó mediante cartucho ISOLUTE® ENV+ según el método puesto a punto por Carlin (1998) y adaptado para vinos Tannat por Boido y colaboradores (2001a; 2001b).

En este caso, la resina polimérica del tipo estireno divinilbenzeno, se presenta en la forma de cartuchos. En comparación con la resina XAD-2, (utilizada más arriba para la extracción de glicósidos a partir del vino Tannat), esta presenta modificaciones en su estructura de forma que ha sido transformada en un soporte adsorbente muy hidrofóbico especialmente derivatizado con la presencia de grupos fenoles. Esto determina que se disponga de una superficie fácilmente hidrofílica, eliminando la necesidad del acondicionamiento previo en el uso con soluciones acuosas, y presentando una gran capacidad de adsorción (IST, 2001). El mecanismo de retención se encuentra mediado por la acción de fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y formación de dipolos mediante interacciones hidrofóbicas entre la molécula retenida y la superficie de la resina. Durante el proceso de elución, el solvente - por ejemplo metanol - interrumpe estas interacciones hidrofóbicas con la superficie y permite la elución del analito (Figura 4.4).

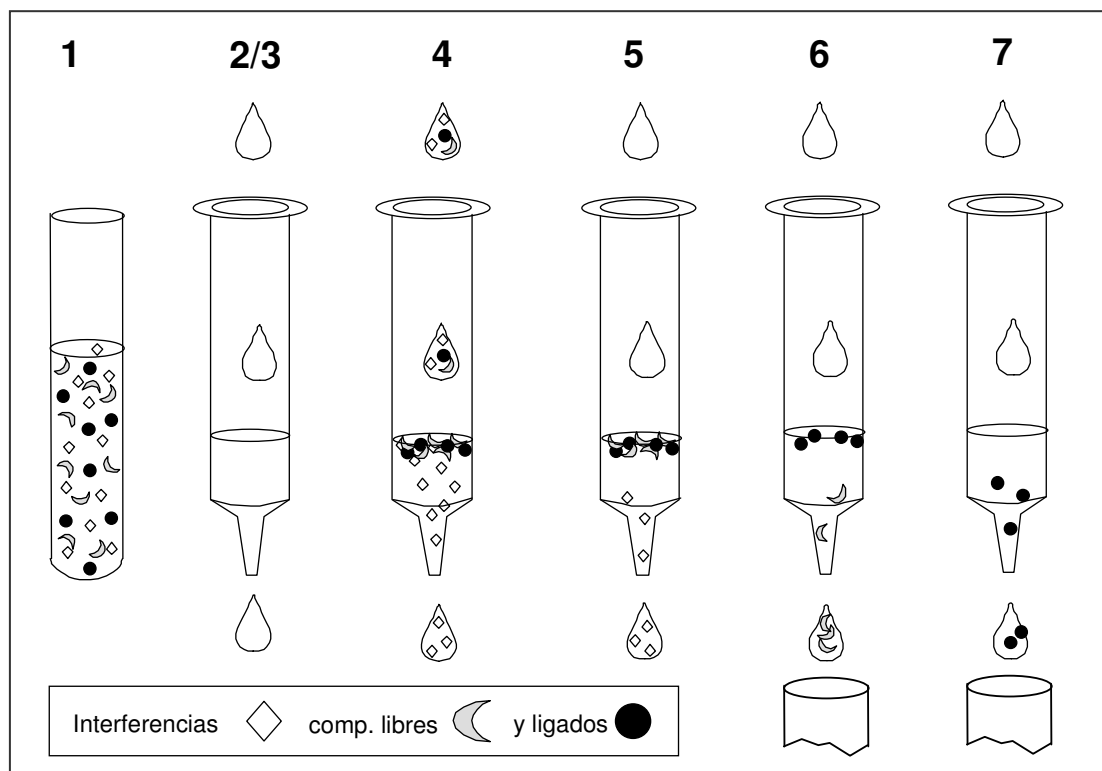


Figura 4.4- Esquema del procedimiento de retención y elución de los distintos compuestos aromáticos del vino para el caso del cartucho ISOLUTE® ENV+.

1- Pretratamiento de la muestra. En el caso del vino no es necesario, se utiliza la muestra diluida al medio. 2/3- La fase ENV+ puede ser usada para el vino sin realizar la etapa de solvatación y equilibrio, sin embargo es recomendable realizar un lavado de la fase con solventes miscibles en agua como el metanol, con lo cual se logra la eliminación de interferencias, debiendo realizar un posterior lavado con agua. 4- Pasaje de la muestra, 4-5 mL/min. 5- Elución de interferencias con agua. 6- Elución de los compuestos volátiles libres con diclorometano, recuperándose para su análisis. 7- Elución de los compuestos glicosidados con metanol, recuperándose para su análisis.

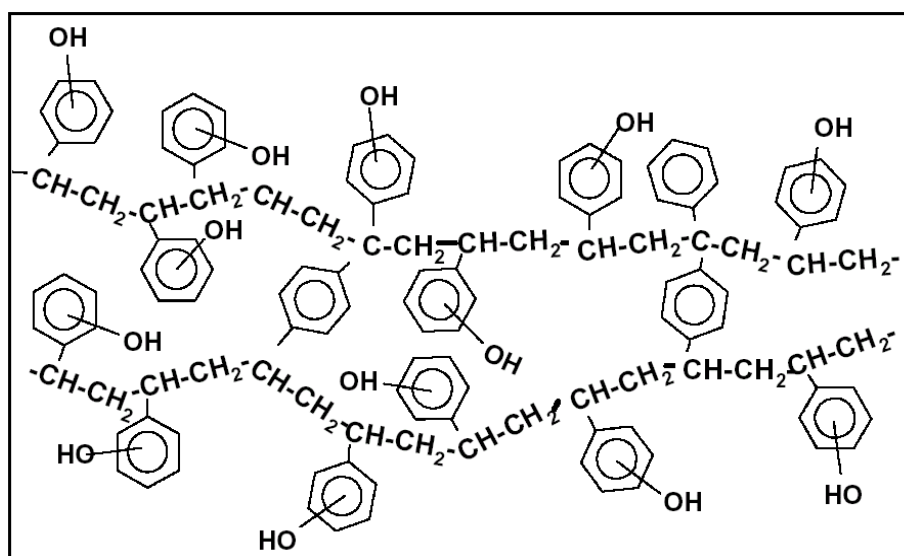


Figura 4.5.- Estructura de la fase utilizada en el cartucho ISOLUTE® ENV+ formado por una estructura básica de poliestireno derivatizado. (Adaptación Boido, 2002).

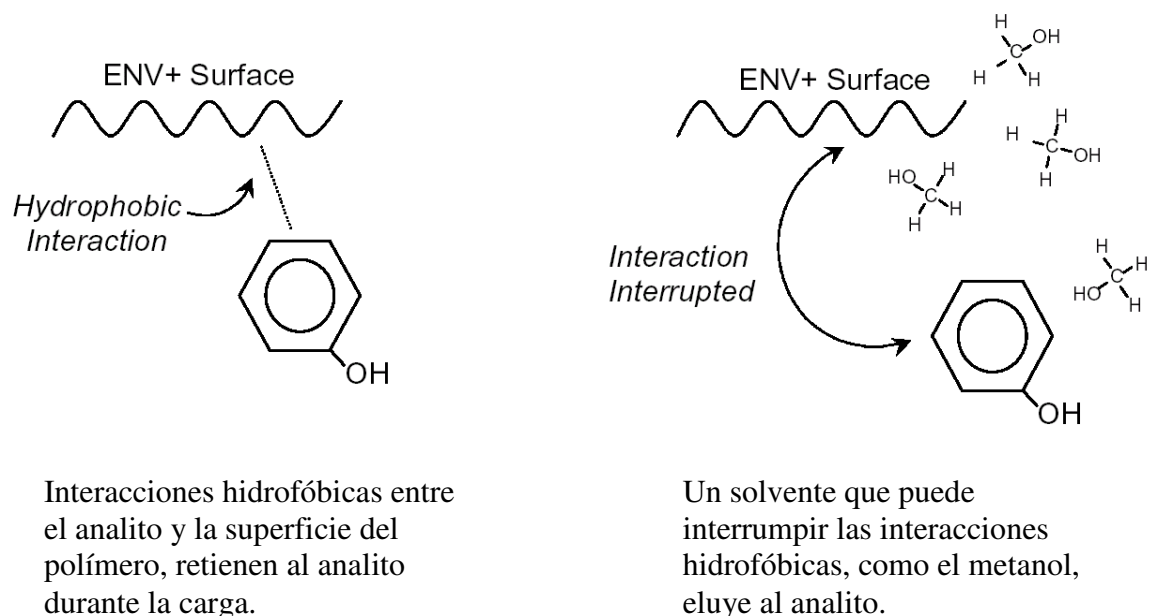


Figura 4.6.- Esquema de los mecanismos de retención y elución en el cartucho ISOLUTE® ENV+. (Adaptación Boido, 2002).

Se fraccionaron los aromas libres y ligados de 50 mL de vino, diluidos a 100 mL (Figura 4.5 y 4.6), y adicionado de 0.1 mL de n-heptanol como estándar interno (solución hidroalcohólica al 50% con concentración 0.229 g/L), con cartuchos Isolute® ENV+ (IST Ltd, Mid Glamorgan, UK), con 1 g de SDVB (estireno divinil benzeno) polímero (40-140 mm, cod. n° 915-0100-C). Previo al pasaje de la muestra el cartucho se acondicionó eluyendo 15 mL de metanol, seguido de 20 mL de agua. La fracción libre se eluyó con 30 mL de diclorometano, adaptando un sistema de presión controlada para tener un flujo de 4-5 mL/min. Se recolectó el solvente orgánico con la fracción libre, se anhidrificó con Na₂SO₄, se concentró hasta aproximadamente 3-4 mL en baño termostatzado a 40°C y previo al análisis cromatográfico se concentró hasta aproximadamente 0.5 mL mediante corriente de N₂. Los compuestos en forma ligada se eluyeron con 30 mL de metanol. Se recogió el solvente, se anhidrificó con Na₂SO₄ y se llevó a sequedad en rotavapor, el residuo se retomó con 3 mL de buffer citrato (pH 5) y se adicionó una gota de enzima Cytolase PLC 5 (Gist-Brocades, Lille Cédex, France). Se dejó reaccionar por 14 horas a 40°C, se agregó 0.1 mL de estándar interno (n-heptanol) y se extrajo con 3 x 2 mL de pentanodiclorometano 2:1 v/v, centrifugando

cada vez para facilitar la separación de las fases. El extracto se anhidrificó y concentró hasta 0.5 mL mediante corriente de N₂, previo al análisis cromatográfico.

Los cartuchos, de acuerdo a los ensayos de recuperación realizados con mezclas modelo, se utilizaron para la extracción de 10 muestras y luego se descartaron.

- *Extracción de los compuestos volátiles mediante técnica para determinación de alcoholes superiores*

Se tomaron 50 mL de la muestra en un matraz aforado y se transfieren cuantitativamente a un balón de 100 mL, donde se agregaron 100 µL de estándar interno. Luego se procedió a realizar una destilación, utilizando como fuente de calor una manta eléctrica. En el matraz aforado utilizado para la toma de la muestra se colecta el destilado, agregando previamente agua destilada hasta cubrir el fondo del mismo.

La manta se dejó encendida hasta la recolección de las 2/3 partes del volumen total del matraz aforado utilizado.

Una vez recogido el volumen necesario, se enrasó el matraz a 50 mL y se procedió a inyectar directamente en el cromatografo de gases con detector FID.

Las condiciones de trabajo fueron: programa de temperatura 35°C (6,5 min.), 15°C/min hasta 60°C y 20°C/min hasta 200°C (10 min); temperatura del inyector, 200°C; temperatura del detector, 200°C; y volumen de inyección: 1 µL.

- *Identificación de los compuestos aromáticos*

La identificación se realizó mediante GC-MS con un gas cromatógrafo Shimadzu GC-17 acoplado con un detector de espectrometría de masa Shimadzu QP 5050. Las condiciones de trabajo fueron: columna capilar de sílica fundida (25 m x 0.25 mm d.i.), fase estacionaria BP 20 (film de 0,25 µm de espesor) (SGE, Australia); programa de temperatura 40°C (6 min), 40-180°C a 3°C/min, 180-220°C a 10°C/min, 220°C (20 min); temperatura del inyector, 250°C; modo de inyección split, relación de split 1:40, volumen de inyección, 1.0 µL. Gas portador He, 92.6 kPa (55.9 cm/seg); temperatura de interface 250°C; rango de masas 40-400 uma.

La identificación se realizó mediante bibliotecas de espectros de referencia (Adams, 1995; McLafferty y Stauffer, 1991) y librería propia realizada con estándares y datos reportados en la literatura. La identificación de los compuestos se confirmó por medio de la determinación de índices de retención de Kovats, obtenidos mediante la inyección de un estándar del compuesto y la mezcla de n-alcanos.

- *Cuantificación de compuestos aromáticos*

Se realizó por medio de HRGC, en un cromatógrafo GC-14B, equipado con detector de ionización de llama (FID) y software de procesamiento de datos Shimadzu EZ Chrom, versión 3.2.

Se utilizaron las mismas condiciones descritas en la identificación por GC-MS.

Temperatura del inyector 250°C, temperatura del detector 280°C; modo de inyección split, relación de split 1:30, volumen inyectado 0.5 µL.

- *Caracterización aromática sensorial por Mapeo Proyectivo*

Tradicionalmente la caracterización sensorial del aroma de vino se ha realizado mediante la metodología de Análisis Descriptivo con paneles de jueces entrenados. Esta metodología provee resultados consistentes y confiables pero requiere elevada inversión de tiempo y recursos que limitan su aplicación, particularmente a nivel de pequeñas bodegas o en el marco de proyectos de investigación de corta o mediana duración. En los últimos años se han desarrollado metodologías alternativas con evaluadores no entrenados, dentro de las que se destaca el mapeo proyectivo o Napping®. El mismo, constituye una técnica que se ha utilizado para cuantificar las percepciones de similitud y diferencia globales entre productos (Risvik, *et al.*, 1994).

El mapeo proyectivo consiste en obtener una representación bidimensional de las muestras, basada en las similitudes y diferencias en sus características sensoriales. Es una metodología rápida y sencilla, adecuada para situaciones en las que se requiere tener una aproximación al perfil sensorial y no es necesario contar con una descripción muy detallada de las características sensoriales (Varela & Ares, 2012). El mapeo proyectivo ha sido aplicado a una amplia gama de productos, incluyendo vinos (Pagès, 2005, Perrin, *et al.*, 2008), bebidas calientes a base de café (Moussaoui & Varela,

2010), chocolate (Risvik, *et al.*, 1994), sopas deshidratadas (Risvik, *et al.*, 1997), manzanas y quesos (Nestrud & Lawless, 2011).

La caracterización sensorial aromática realizada en este trabajo de tesis correspondió a los vinos elaborados a escala semipiloto, piloto e industrial (total de 8 muestras), denominados tratamientos M, C y B respectivamente, que fueron detallados anteriormente en este Capítulo.

En cada uno de los estudios se presentó un set conteniendo las 8 muestras de forma simultánea en orden aleatorio (Figura 4.7). Se solicitó a los 48 consumidores que realizaron la evaluación, que olieran las muestras y que las ubicaran en una hoja de papel de 40 x 30 cm, de acuerdo al grado de diferencia o similitud entre ellas. Se les explicó a los participantes que debían ubicar las muestras alejadas entre sí si eran percibidas como diferentes y muy cerca si eran percibidas como similares. Además se indicó a los consumidores que deben realizar la tarea de acuerdo a su propio criterio, y que no existían respuestas correctas o incorrectas. Luego, se les solicitó a los participantes que indicaran las palabras que consideraban adecuadas para describir cada una de las muestras. Esto permitió luego comprender mejor las similitudes y diferencias entre las muestras en términos de sus características sensoriales. Para cada mapa proyectivo, se determinaron las coordenadas X e Y de cada muestra, considerando como origen del sistema de coordenadas el extremo inferior izquierdo de la hoja.

Las evaluaciones se realizaron en una sala de evaluación normalizada según norma ISO 8589 (ISO, 1988), como se muestra en la Figura 4.7.

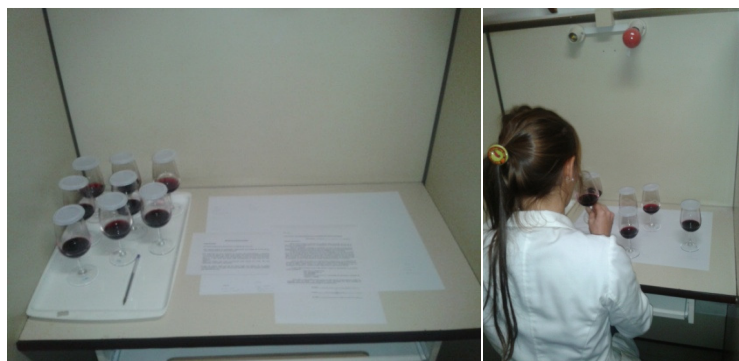


Figura 4.7- Evaluación sensorial de los 8 tratamientos, mediante la técnica de mapeo proyectivo.

- *Análisis estadístico*

Se realizó análisis de varianza de los datos de concentración de antocianos, pigmentos derivados de antocianos y aromas, considerando cepa como factor de variación y nivel de significación 5%. Cuando las diferencias fueron significativas se aplicó el test de Tukey para determinación de diferencias entre tratamientos. En el caso de las vinificaciones semipiloto, piloto e industrial se realizó además un análisis de componentes principales (PCA). Estos análisis se realizaron utilizando el software Statistica 7.0 (Stat Soft, Inc., Tulsa, USA).

Los datos de análisis sensorial obtenidos por Napping, fueron analizados utilizando Análisis Factorial Múltiple (MFA), como describe Pagès (2005). Las coordenadas de cada evaluador fueron consideradas como un grupo de dos variables no estandarizadas, lo que permite balancear las diferencias debidas a la forma en que cada uno de los participantes utiliza los ejes de coordenadas (Pagès, 2005). Por otro lado, los términos utilizados para describir las muestras se analizaron de forma cualitativa, y se agruparon en diferentes categorías. Se determinó la frecuencia de mención de cada categoría para cada muestra mediante el recuento del número de consumidores que utilizaron esas palabras para describirlas. Se consideraron para el análisis de datos únicamente aquellas categorías mencionadas por al menos 10% de los consumidores. La tabla de frecuencias de mención de dichas categorías se consideró como un conjunto de variables suplementarias (Pagès, 2005). Este análisis permitió obtener una representación consenso de las muestras, una representación de las descripciones indicadas por los consumidores y además una representación de los evaluadores, que indica la similitud entre sus representaciones. El MFA se realizó en el software R (R Core Team, 2013) utilizando el paquete FactoMineR (Lê , *et al.*, 2008).

6- Vinificaciones a escala semipiloto, piloto e industrial

Estos ensayos permitieron avanzar en el estudio del comportamiento “industrial” de las levaduras no- Sac, dado que en general las mismas han sido estudiadas a escala de

laboratorio utilizando pequeños volúmenes de jugo de uva, por lo que los resultados efectivamente no son los mismos de lo que se puede esperar de vinificaciones industriales (Jolly, *et al.*, 2013). Factores tales como pequeñas cantidades de oxígeno que llegan a los escasos volúmenes de microvinificaciones, rapidez de sedimentación de las células que puede reducir la tasa de fermentación, temperatura, humedad relativa, etc, pueden afectar los resultados finales de cualquier tipo de vinificación (Henschke, 1997).

Una vez finalizados los estudios de compatibilidad entre las cepas no-*Saccharomyces* seleccionadas y las cepas *Saccharomyces*, se realizaron las siguientes vinificaciones con uva Tannat durante la vendimia 2013:

I) Escala semipiloto (tratamiento M, en Facultad de Química)

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + Sc 882 (Hv + Sc M)
- cultivo mixto con las cepas Hc A10/82F + Sc 882 (Hc + Sc M)
- cultivo puro con la cepa Sc 882 (Sc M)

II) Escala piloto en bins de 500 litros (tratamiento C, en Bodegas Carrau)

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + *S. cerevisiae* ALG 804 (Hv + Sc C)
- cultivo puro con *S. cerevisiae* ALG 804 (Sc C)

III) Escala industrial en tinas de roble de 5.000 litros (tratamiento B, en Bodega Bouza)

- cultivo mixto con las cepas Hv T02/05F + *S. cerevisiae* ALG 111 (Hv + Sc B)
- cultivo puro con *S. cerevisiae* ALG 111 (Sc B)
- cultivo mixto con una cepa *Torulaspora delbrueckii* (comercial) + *S. cerevisiae* (Torul + Sc B)

Para todos los ensayos, una vez que la uva ingresó a Facultad de Química (Ensayo I, escala Semipiloto), y a las bodegas respectivamente (Ensayo II y III, escala piloto), se realizó una determinación analítica previa a la molienda de la uva, que consistió en la

determinación del índice de madurez polifenólica (Glories, 2001). Con este dato fue posible determinar el tenor global en sustancias fenólicas que contenía la uva, así como su estructura y aptitud para la extracción (las uvas poseen, según las condiciones de maduración y los cepajes, un potencial de extractibilidad muy variable), (Ribereau-Gayon, *et al.*, 1998). El conocimiento del contenido antociánico y tánico del mosto permitió seguir la evolución posterior de estos componentes.

1) Escala semipiloto (tratamiento M, en Facultad de Química)

Los ensayos a escala semipiloto, se realizaron en una sala aislada, con control de temperatura, en Facultad de Química.

Se utilizaron 10 kilos de uva Tannat proveniente de la región de Las Violetas del departamento de Canelones, para cada uno de los 3 tratamientos realizados (Hv + Sc M; Hc + Sc M; y Sc M respectivamente).

El preínóculo se preparó 8 horas antes con agitación de 100 RPM, a 25 °C.

El tamaño de inóculo utilizado para estos ensayos fue de 1×10^6 cel/mL, y se realizó agregado de anhídrido sulfuroso (20 mg/L).

Para los cultivos mixtos (Hv + Sc M y Hc + Sc M), se realizó una inoculación secuencial a las 72 horas, con la cepa *Saccharomyces* 882, con un tamaño de inóculo de 1×10^6 cel/mL.

En el momento de realizar la inoculación con la cepa Sc 882, se suplementó el mosto en fermentación con fosfato de amonio (200 mg/L) y tiamina (0,5 mg/L), de manera de asegurar que la cepa inoculada secuencialmente a las 72 horas, pudiera disponer de estos nutrientes (Medina, *et al.*, 2012).

En las Figura 4.8 se muestran las tarrinas de 20 litros de capacidad, con los diferentes tratamientos, los cuales fueron mantenidos en ambiente refrigerado a 20°C hasta finalizada la fermentación alcohólica.



Figura 4.8- Tarrinas conteniendo 6 litros de mosto en fermentación obtenido a partir de 10 kilos de uva Tannat. Una vez iniciada la fermentación alcohólica es posible observar la presencia superficial de orujos (sombbrero), el cual se sumergía diariamente mediante agitación.

Luego de la fermentación alcohólica, las muestras fueron descubadas, prensadas y trasegadas a botellones plásticos donde se realizó la fermentación maloláctica (Figura 4.9).



Figura 4.9- Descubre, prensado y trasego de los vinos obtenidos a escala semipiloto.

Escala piloto en bins de 500 litros (tratamiento C, en Bodegas Carrau) y vinificación a escala industrial, en tinas de roble de 5.000 litros (tratamiento B, en Bodega Bouza)

Como se mencionó anteriormente, para estos ensayos, la cepa no-Sac utilizada fue la *H. vineae* T02/05F.

Por tratarse de volúmenes elevados de mosto, que requieren partir de una población elevada de levadura no-Sac, la misma fue elaborada en esta oportunidad por la empresa Lage y Cía S.A., en forma de pasta seca. Esto permitió disponer de una población celular de partida similar a la de los ensayos anteriores a escala semipiloto. Las cepas *Saccharomyces cerevisiae* comerciales utilizada como control para estos ensayos fueron ALG 804 para la vinificación piloto y ALG 111 para la vinificación industrial. Para ambas levaduras la preparación previa (hidratación) a la inoculación se realizó de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Para la vinificación industrial, y al igual que para la vinificación semipiloto, se realizó la adición de anhídrido sulfuroso (20 mg/L).

En la Figura 4.10 se observa la secuencia de las diferentes etapas de la molienda realizada en Bodega Bouza.





Figura 4.10- Proceso de molienda: Selección manual de la uva, cinta transportadora de racimos con moledora en la parte superior que deposita directamente el mosto obtenido dentro de la tina de fermentación.

Para estas vinificaciones, se procedió luego de las respectivas moliendas a encubar directamente a recipientes (tanque para el caso de Bodegas Carrau y tina de roble para Bodega Bouza), según la técnica tradicional.

Diariamente se realizaron bazuqueos y se controló la evolución de la fermentación alcohólica mediante medidas de densidad, temperatura, recuento de población celular, y apreciación sensorial (visual, y aroma) para confirmar la ausencia de defectos sensoriales.

Una vez finalizada la fermentación alcohólica, se realizó el descubado y prensado para cada uno de los diferentes tratamientos, y se realizó la determinación de azúcares reductores y seguimiento de fermentación maloláctica mediante cromatografía en capa fina (Boido, *et al.*, 1999).

Determinaciones analíticas realizadas durante las fermentaciones a escala semipiloto y piloto

- Recuento de células vivas y muertas

Para los ensayos de fermentación realizados a escala semipiloto, se realizaron recuentos de células totales y muertas (con la técnica de tinción vital con Azul de Metileno) en cámara de Neubaüer, al inicio y finalización de la fermentación alcohólica. También se realizó recuento de UFC (unidades formadoras de colonias) y control de pureza microbiológica de los cultivos mediante observaciones

macroscópicas y microscópicas de las colonias crecidas en placas de WL Nutrient Médium de Difco.

- *Seguimiento de fermentación*

Las fermentaciones fueron monitoreadas por mediciones periódicas cada 24 horas de densidad y temperatura. Asimismo se realizó una observación visual de cada uno de los recipientes donde se estaban llevando a cabo las fermentaciones para confirmar el desprendimiento de gas carbónico, y liberación de aromas de fermentación.

- *Análisis fisicoquímicos en mostos y vinos*

Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas de control en el momento de entrada de la uva a la bodega:

- *Densimetría*

Una vez obtenido el mosto, se realizó la determinación de la lectura del densímetro, se midió la temperatura y mediante una tabla de corrección de densidad, se determinó la densidad real del mosto, y se obtuvieron los valores de alcohol potencial y contenido de azúcar (g/L).

- ***Nitrógeno asimilable (FAN, Free Amino Nitrogen)***

En el inicio de todas las fermentaciones alcohólicas, se determinó el contenido de nitrógeno asimilable. El mismo fue realizado de acuerdo a la técnica de Formol adaptada por Zoecklein et al. (1995).

- *Acidez total, acidez volátil, pH, alcohol potencial, y alcohol en volúmen*

Estas determinaciones se realizaron de acuerdo a las técnicas de Zoecklein et al. (1995).

Una vez finalizada la fermentación alcohólica de los diferentes ensayos, se procedió a realizar las siguientes determinaciones analíticas:

- *Azúcares reductores*

Una vez finalizada la fermentación alcohólica se controlaron los contenidos de azúcares reductores en los vinos finalmente obtenidos de acuerdo a la norma UNIT 615-80.

- *Cromatografía en Capa Fina*

La evolución de la fermentación maloláctica se controló mediante las determinaciones de los contenidos de ácido málico y láctico por cromatografía en capa fina (Boido et al 1999). Dicha fermentación se consideró finalizada cuando se verificó la desaparición del ácido málico.

El resto de las determinaciones analíticas realizadas para estos ensayos, corresponden a las mismas que ya han sido anteriormente mencionadas para los ensayos de microvinificación (determinación de color, antocianos totales, IPT, análisis de antocianos por HPLC-DAD, identificación de pigmentos derivados de antocianos por HPLC-DAD-MS, extracción, identificación y cuantificación de compuestos aromáticos, y análisis estadísticos).

Estrategia de Investigación

El esquema presentado en la Figura 4.11 ilustra la secuencia de actividades desarrolladas en este trabajo de tesis.

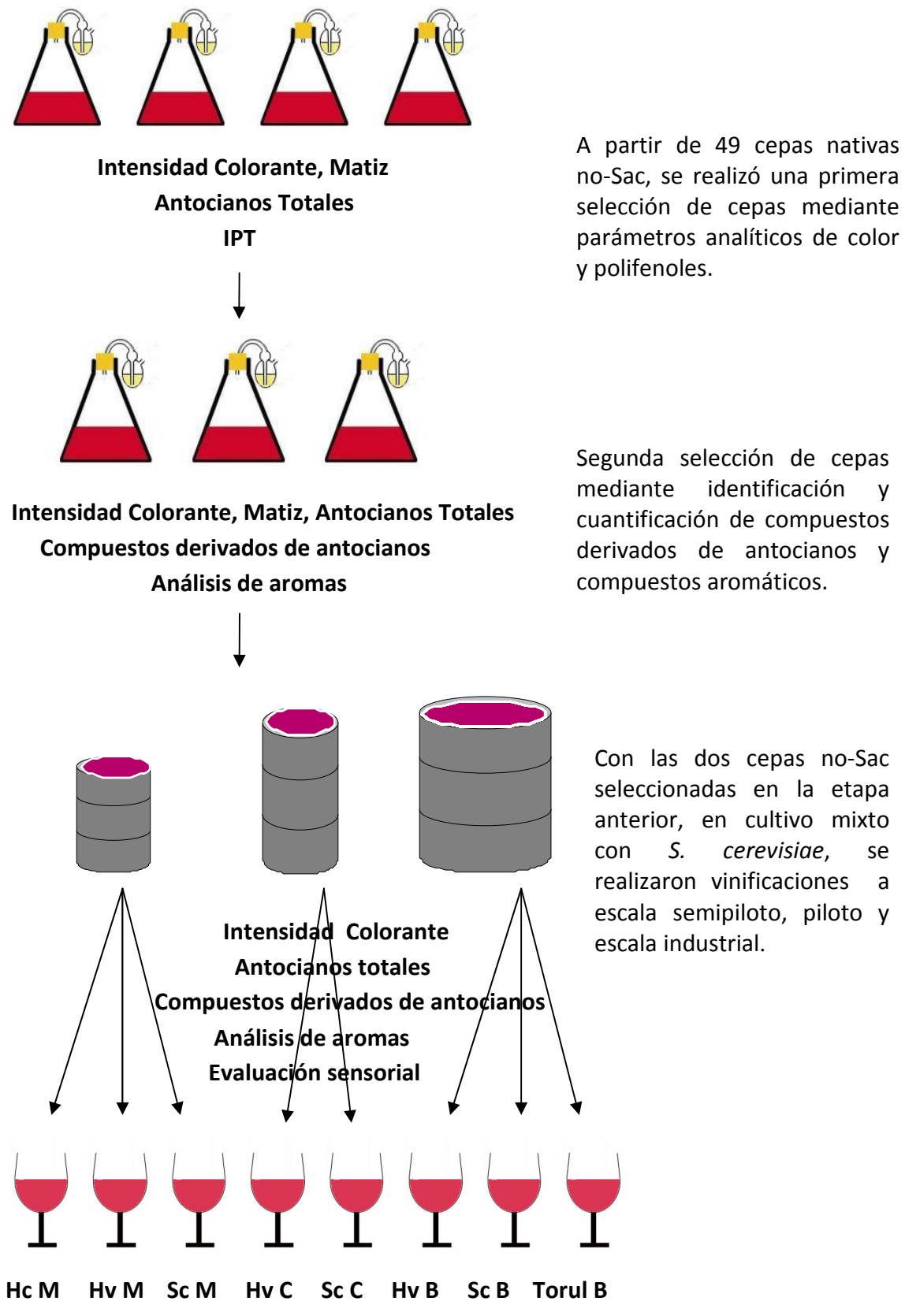


Figura 4. 11.- Cronograma de ejecución de las distintas etapas desarrolladas en este trabajo de tesis.

BIBLIOGRAFIA

- Agustin, M (1986) Etude de l'influence de certains facteurs sur les composés phénologiques du raisin et du vin. Thesis, University Bordeaux.
- Albach RF, Kepner RE & Webb AD (1965) Structures of acylated anthocyanins in *Vitis vinifera* variety Tinta Pinheira. Journal of Food Science 30: 69-76.
- Alcalde-Eon C, Boido E, Carrau F, Dellacassa E & Rivas-Gonzalo JC (2006) Pigment profiles in monovarietal wines produced in Uruguay. American Journal of Enology and Viticulture 57: 449-459.
- Alcalde-Eon C, Escribano-Baillón MT, Santos-Buelga C & Rivas-Gonzalo JC (2004) Separation of pyranoanthocyanins from red wine by column chromatography. Analytica Chimica Acta 513: 305-318.
- Alcalde-Eon C, Escribano-Baillón MT, Santos-Buelga C & Rivas-Gonzalo JC (2005) Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing: A comprehensive study. Analytica Chimica Acta 563: 238-254.
- Allen MS & Lacey MJ (1993) Methoxypyrazine grape flavour: influence of climate cultivar and viticulture. Wein Wissenschaft 46: 211-213.
- Allen MS & Lacey MJ (1999) Methoxypyrazines of grapes and wines. Chemistry of wine flavor, American Chemical Society, Symp. Ser. 714, (Waterhouse AL & Ebeler SE, eds.). Washington, USA.
- Allen MS, Lacey MJ & Boyd S (1994) Determination of methoxypyrazine in red wine by stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42: 1734-1738.
- Amati A, Marangoni B, Zironi R, Graziani N, Castellari M & Arfelli G (1995) Prove di vendimia differenziata. Effetti del diradamento dei grappoli sulla composizione dei mosti e dei vini. Rivista di Viticoltura e di Enologia 48: 29-37.
- Amerine MA, Berg A, Kunkee RE, Ough CS, Singleton VL & Webb AD (1980) The technology of winemaking Connecticut.
- Andorra I, Berradre M, Rozes N, Mas A, Guillamón JM & Esteve-Zarzoso B (2010) Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations. European Food Research and Technology 231: 215-224.

- Anfang N, Brajkovich M & Goddard M (2009) Co-fermentation with *Picchia kluyveromyces* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon Blanc. *Australian Journal of Wine Research* 15: 1-8.
- Angioni A, Caboni P, Garau A, Farris A, Orro D, Budroni M & Cabras P (2007) In vitro interaction between ochratoxin A and different strains of *Sacharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 2043-2048.
- Arévalo M, Ubeda JF & Briones A (2007) β -glucosidase activity in wine yeasts: application in enology. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 420-425.
- Arroyo-López FN, Pérez-Torrado R, Querol A & Barrio E (2010) Modulation of the glycerol and ethanol synthesis in the yeast *Saccharomyces kudriavzevii* differs from that exhibited by *Saccharomyces cerevisiae* and their hibrid. *Food Microbiology* 27: 628-637.
- Asen S, Norris KH & Stewart RN (1969) Absorption spectra and color of aluminum-cyanidin 3- acids and vinylphenols in the flavor alteration of blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2654-2657.
- Asenstorfer RE, Markides AJ, Iland PG & Jones GP (2003) Formation of vitisin A during red wine fermentation and maturation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 9: 40-46.
- Auw JM, Blanco V, O'Keefe SF & Sims CA (1996) Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and noble wines and juices. *American Journal of Enology and Viticulture* 47: 279-286.
- Ayran AP, Wilson B, Strauss CR & Williams PJ (1987) The properties of glycosidases of *Vitis vinífera* and a comparison of their β -glucosidase activity with that of exogenous enzymes. An assessment of possible applications in enology. *American Journal of Enology and Viticulture* 38: 182-188.
- Azzolini M, Fedrizzi B, Tosi E, Finato F, Vagnoli P, Scrinzi C & Zapparoli G (2012) Effects of *Torulospora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed cultures on fermentation and aroma of Amarone wine. *European Food Research and Technology* 235: 303-313.

- Backhus LE, DeRisi J, Brown P & Bisson LF (2001) Functional genomic analysis of a commercial wine strain of *Saccharomyces cerevisiae* under differing nitrogen conditions. *FEMS Yeast Research* 1: 111-125.
- Bakker J & Timberlake CF (1997) Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 35-43.
- Bakker J, Bridle P, Bellworthy SJ, Garcia-Viguera C, Reader HP & Watkins SJ (1998) Effect of sulphur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 78: 297-307.
- Bakker J, Bridle P, Honda T, Kuwano H, Saito N, Terahara N & Timberlake CF (1997) Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* 44: 1375-1382.
- Baranowski ES & Nagel CW (1983) Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model systems. *Journal of Food Chemistry* 38: 932-936.
- Barnett JA, Payne RW & Yarrow D (1990) *Yeasts: characterization and identification*. 2nd Cambridge University Press, Cambridge.
- Barquet M, Martín V, Medina K, Perez G, Carrau F & Gaggero C (2012) A new molecular typing method to discriminate non-*Sacharomyces* yeast strains within the same species. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93: 807-814.
- Bataillon M, Rico A, Sablayrolles JM, Salmon JM & Barre P (1996) Early thiamin assimilation by yeast under enological conditions: Impact on alcoholic fermentation kinetics. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 70: 246-252.
- Baumes R, Cordonnier R, Nitz S & Drawert F (1986) Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 37: 927-943.
- Baumes R, Wirth J, Bureau S, Günata Y & Razungles A (2002) Biogenesis of C13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta* 458: 3-14.
- Bautista-Ortín A, Jiménez-Pascual E, Busse-Valverde N, López-Roca J, Ros-García J & Gómez-Plaza E (2012) Effect of wine maceration enzymes on the extraction of

- grapeseed proanthocyanidins. Food Bioprocess Technology 10.1007/s11947-011-0768-3.
- Bautista-Ortín A, Martínez-Cutillas A, Ros-García J, López-Roca J & Gómez-Plaza E (2005) Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins. International Journal of Food Science and Technology 40: 867-878.
- Bayonove C & Cordonnier R (1971) Recherches sur l'arome du Muscat. Étude de la fraction terpénique. Ann. Technol. Agric. 20: 347-355.
- Bayonove C, Baumes R, Crouzet J & Günata Z (1998) Arômes. Oenologie, fondements scientifiques et technologiques, (Flanzy C, eds.), pp. 1311. Tec & Doc, Paris.
- Beltran G, Torija MJ, Novo M, Ferrer N, Poblet M, Guillamón JM, Rozès N & Mas A (2002) Analysis of yeast population during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. Systematic and Applied Microbiology 25: 287-293.
- Bely M, Stoeckle P, Masneuf-Pomared I & Dubourdieu D (2008) Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. International Journal of Food Microbiology 122: 312-320.
- Benito S, Morata A, Palomero F, González MC & Suárez-Lepe JA (2011) Formation of vinylphenolic pyranoanthocyanins by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia guilliermondii* in red wines produced following different fermentation strategies. Food Chemistry 124: 15-23.
- Benito S, Palomero F, Calderón F, Palmero D & Suárez-Lepe JA (2014) Selection of appropriate *Schizosaccharomyces* strains for winemaking. Food Microbiology 42: 218-224.
- Benito S, Palomero F, Morata A, Uthurry C & Suárez-Lepe JA (2009) Minimization of ethylphenol precursors in red wines via the formation of pyranoanthocyanins by selected yeasts. International Journal of Food Microbiology 132: 145-152.
- Berthels NJ, Cordero Otero RR, Bauer S, Thevelein JM & Pretorius IS (2004) Discrepancy in glucose y fructose utilisation during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast. FEMS Yeast Research 4: 683-689.
- Biron C, Cordonnier R, Glory O, Günata Z & Sapis JC (1988) Étude, dans le raisin, de l'activité b-glucosidase. Connaissance de la Vigne et du Vin 22: 125-134.

- Bisson LF & Kunkee RE (1991) Mixed cultures in biotechnology, (Zeikus JG & Johnson EA eds.). McGraw-Hill, Inc., New York.
- Bisson LF (1993) Yeast metabolism of sugars. Wine Microbiology and Biotechnology, (Fleet GH, ed.), pp. 55-75. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Bisson LF (1999) Stuck and sluggish fermentations. American Journal of Enology and Viticulture 50: 107-119.
- Bisson LF (2004) The biotechnology of wine yeast. Food Biotechnology 18: 63-96.
- Blanchard P (1999) "Tannat en Pirineos Atlánticos" , pp. 94-99. Cámara de Agricultura de Pirineos Atlánticos.
- Boffman N, Boulton R, Cameron W, Delwiche J, Krstic M & Wample B (2005) Using berry color as an indicator for wine quality. In Proceedings for the Unified Wine and grape symposium, pp. 13. Sacramento Convention center, California.
- Bohlscheid JC, Edwards CG, Fellman JK & Ansen D (2000) Interactions between biotin and nitrogen source on yeast growth and metabolism. In American Society for Enology and Viticulture Annual Meeting, Vol. 51, pp. 301. Seattle, USA.
- Boido E (2002) Modificaciones producidas por la fermentación maloláctica en la fracción aromática de los vinos Tannat. Ph D Thesis Thesis, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Boido E, Alcalde-Eon C, Carrau F, Dellacassa E & Rivas-Gonzalo JC (2006) Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinífera* L. Cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 6692-6704.
- Boido E, Carrau F, Dellacassa E, Medina K, Lloret A & Versini G (2000) Studies of aroma compounds developed during malolactic fermentation and ageing of Tannat wines. In Proceeding of 2nd International Viticulture and Enology Congress. Cape Town, South Africa.
- Boido E, Carrau F, Dellacassa E, Medina K, Lloret A & Versini G (2001) Modificación en la composición aromática producidas por la fermentación maloláctica en los vinos Tannat y su evolución durante la crianza. In Proceeding of VIII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología. Montevideo, Uruguay.

- Boido E, Dellacassa E, Carrau F & Moyna P (1999) An improved means of monitoring malolactic fermentation in wines by TLC- densitometry. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC* 12: 269-271.
- Boido E, García-Marino M, Dellacassa E, Carrau F, Rivas-Gonzalo J & Escribano-Bailón MT (2011) Characterization and evolution of grape polyphenol profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat during ripening and vinification. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17: 383-393.
- Boido E, Lloret A, Medina K, Carrau F & Dellacassa E (2002) Effect of β -glycosidase activity of *Oenococcus oeni* on the glycosylated flavor precursors of Tannat wine during malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2344-2349.
- Boido E, Lloret A, Medina K, Fariña L, Carrau F, Versini G & Dellacassa E (2003) Aroma composition of *Vitis vinifera* cv. Tannat: The typical red wine from Uruguay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 5408-5413.
- Boido E, Lloret A, Medina K, Fariña L, Carrau F, Versini G & Dellacassa E (2005) Composición aromática de *Vitis vinifera* cv. Tannat: típico vino tinto de Uruguay. *Enología* 9: 30-34.
- Boido E, Medina K, Fariña L, Carrau F, Versini G & Dellacassa E (2009) The effect of bacterial strain and aging on the secondary volatile metabolites produced during malolactic fermentation of Tannat red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 6271-6278.
- Boido E, García-Marino M, Dellacassa E, Carrau F, Rivas-Gonzalo J & Escribano-Bailón MT (2011) Characterization and evolution of grape polyphenol profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat during ripening and vinification. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17: 383-393.
- Boidron R, Boursiquot J-M, Doazan J-P, Leclair P, Leguay M & Walter B (1995) Catalogue des variétés et clones de vigne cultivés en France. ENTAV, Le Grau du Roi.
- Boivin S, Feuillat M, Alexyre H & Charpentier C (1998) Effect of must turbidity on cell wall porosity and macromolecule excretion of *Saccharomyces cerevisiae* cultivated on grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture* 49: 325-332.

- Bolca S, Van de Wiele T & Possemiers S (2013) Gut metabotypes govern health effects of dietary polyphenols. *Current Opinion in Biotechnology* 24: 220-225.
- Boss P, Davies C & Robinson SP (1996) Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L.cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology* 111: 1059-1066.
- Boulton R (2001) The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 67-87.
- Boulton R, V. Singleton, L. Bisson, y R. Kunkee. (1995) *Principles and Practices of Winemaking*. Chapman & Hall, New York.
- Boursiquot JM (1987) Contribution à l'étude des esters hydroxycinnamiques chez le genre *Vitis*. Recherche d'application taxonomique. PhD Thesis, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier.
- Boursiquot JM, Sapis JC & Macheix JJ (1986) Les esters hydroxycinnamiques chez le genre *Vitis*. Essai d'application taxonomique. Premiers resultats. *C. R. Acad. Sci., Serie III*, No.6 302: 117-180.
- Bourzeix M & Heredia N (1976) Etude des colorants anthocyaniques fixes par les levures de vinification. *C. R. Acad. Agric.* 750-753.
- Bracesco N, Salvo VA, Rocha S, Dell M, Carrau F & Nunes E (2007) Analysis of a putative protection against free radicals by grape derivatives (*Vitis vinifera* L. Cv. Tannat) in *Saccharomyces cerevisiae*. Exploración del efecto protector frente a radicales libres de derivados de la uva (*Vitis vinifera* L. Cv.Tannat) en *Saccharomyces cerevisiae* 39: 4-10.
- Bravdo B, Hepner Y, Loinger C, Cohen S & Tabacman H (1984) Effect of crop level on growth, yield and wine quality of a high yielding Carignane vineyard. *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 247- 252.
- Bridle P & Timberlake CF (1997) Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemistry* 58: 103-109.
- Brouillard R & Dangles O (1993) Flavonoids and flower colour. The Flavonoids. *Advances in Research since 1986*, (Harbome J.B. ed.), pp. 565-588. Chapman & Hall, London.

- Brouillard R & Dangles O (1994) Anthocyanin molecular interactions: The first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry* 51: 365-371.
- Brouillard R (1982) Chemical structure of anthocyanins. . Anthocyanins as food colors, (Markakis P. ed.), pp. 1-40. Academic Press, New York.
- Brouillard R, Wigy MC, Dangles O & Cheminat A (1991) pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivates. *Journal of Chemical Society Perkin Trans 2*: 1235-1241.
- Buerth C, Heilmann CJ, Klis GFM, de Koster CG, Ernst JF & Tielker D (2011) Growth-dependent secretome of *Candida utilis*. *Microbiology* 157: 2493-2503.
- Bureau G, Brun D, Vigues A, Maujean A, Vesselle G & Feuillat M (1982) Étude d'une microflore levurienne champenoise. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 16: 15-32.
- Cabanis JC, Cabanis MT, Cheynier V & Teissedre PL (2000) Tablas de composición. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*, (Flancy C. ed.), pp. 224. AMV and Mundiprensa ediciones, Madrid.
- Cabras P, Garau VL, Angioni A, Farris GA, Budroni M & Spanedda L (1995) Interactions during fermentation between pesticides and oenological yeasts producing H₂S and SO₂. *Applied Microbiology Biotechnology* 43: 370-373.
- Cameira-dos-Santos PJ, Brillouet JM, Cheynier V & Moutounet M (1996) Detection and partial characterisation of new anthocyanin-derived pigments in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 204-208.
- Carbonneau A & Deloire A (2001) Plant organization based on source-sink relationships: New findings on developmental, biochemical and molecular responses to environment. *Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine*, (Roubelakis-Angelakis K.A. eds.), pp. 263-280.
- Carbonneau A (1985) Trellising and canopy management for cool-climate viticulture. *Experimental Station Technical Publication*, Vol. 7628, pp. 158-174. Eugene Oregon State University.
- Caridi A & Ramondino D (1999) Biodiversita fenotipica in ceppi di *Hanseniaspora* di origine enologica *Enotecnico* 45: 71-74.

- Caridi A, Cufari A, Lovino R, Palumbo R & Tedesco I (2004) Influence of Yeast on Polyphenol Composition of Wine. *Food Technology and Biotechnology* 42: 37-40.
- Carol H, Carrau F, Carrau J, Pasqual M, Serafini L & Dillon A (1987) Dominio de levaduras "Killer" en la flora nativa durante la vinificación de uvas finas uruguayas. En II Simposio Latinoamericano de Viticultura y Enología, pp. 72. Garibaldi, Brasil.
- Carrau F (1997) The emergence of a new uruguayan wine industry. *Journal of Wine Research* 8: 179-185.
- Carrau F (2003) Caracterización de levaduras en relación a su habilidad para utilizar nitrógeno: Composición aromática de los vinos obtenidos. PhD Thesis Thesis, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Carrau F, Boido E, Gaggero C, Medina K, Fariña L, Disegna E & Dellacassa E (2011) Vitis vinifera Tannat, chemical characterization and functional properties. Ten years of research. Multidisciplinary approaches on food science and nutrition for the XXI century, (Filip R, ed.), pp. 53-71. Transworld Research Network, Kerala, India.
- Carrau F, Gioia O & Neirotti E (1988) Importancia del fenómeno "killer" en la población de levaduras dominantes en la vinificación a nivel industrial. En III Simposio Latinoamericano de Viticultura y Enología, pp. 1-10. Mendoza, Argentina.
- Carrau F, Medina K, Boido E, et al. (2005) De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. . *FEMS Microbiology Letters* 243: 107-115.
- Carrau F, Medina K, Fariña L, Boido E & Dellacassa E (2010) Effect of inoculums size of *Saccharomyces* on wine fermentation aroma compounds and its relation with nitrogen content. *International Journal of Food Microbiology* 143: 81-85.
- Carrau F, Medina K, Gioia O & Brasesco N (1995) Enlentecimiento de la vinificación. Efecto del crecimiento inicial de levaduras salvajes en la disponibilidad de nitrógeno para *Saccharomyces cerevisiae*. En XXI Cong. Mundial Viña Vino de OIV, Vol. 2B, pp. 74-75. Punta del Este, Uruguay.

- Carrau F, Neirotti E & Gioia O (1993) Stuck wine fermentations: Effect of Killer/Sensitive Yeast Interactions. *Journal of Biotechnology and Bioengineering* 76: 67-69.
- Carrau FM, K.; Fariña, L.; Boido, E.; Henschke, P.; Dellacassa, E. (2008) Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *FEMS Yeast Research* 8: 1196-1207.
- Carrau JL, De Avezedo JL, Subdery P & Campbell D (1982) Methods for recovering fusion products among enological strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Brazilian Journal of Genetics* 5: 221-226.
- Caruso M, Fiore C, Contursi M, Salzano G, Paparella A & Romano P (2002) Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeasts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18: 159-163.
- Castelli T (1955) Yeast of wine fermentation from various regions of Italy. *American Journal of Enology and Viticulture* 6: 18-20.
- Castino MRVE (1982) Lieviti e polifenoli. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 34: 333-348.
- Cavazza A, Grando M & Zini C (1992) Rilevazione della flora microbica di mosti e vini. *Vignevini* 9: 17-20.
- Charoenchai C, Fleet GH, Henschke P & Todd BEN (1997) Screening of non-*Saccharomyces* wine yeasts for the presence of extracellular hydrolytic enzymes. *Australian Journal of Wine Research* 3: 2-8.
- Chatonnet P, Barbe C, Boidron JN & Dubourdieu D (1993a) Origines et incidences organoléptiques de phénols volatils dans les vins. Application à la maîtrise de la vinification et de l'élevage. *Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins*, (Bayonove C, Crouzet J, Flanzy C, Martin JC & Sapis JC, eds.). France.
- Chatonnet P, Dubourdieu D, Boidron JN & Lavigne V (1993b) Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *Journal of Science Food Agriculture* 62: 191-202.
- Chatonnet P, Viala C & Dubourdieu D (1997) Influence of polyphenolic components of red wines on the microbial synthesis of volatile phenols. *American Journal of Enology and Viticulture* 48: 443-448.

- Chavan P, Mane P, Kulkarni G, et al. (2009) Natural yeast flora of different varieties of grapes used for wine making in India. *Food Microbiology* 26: 801-808.
- Chavarria G (1999) Efecto del deshoje y raleo de racimos en la calidad de la uva. Thesis, Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. , Santiago de Chile.
- Cheynier V, Duen?as-Paton M, Salas E, Maury C, Souquet JM, Sarni-Manchado P & Fulcrand H (2006) Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 298-305.
- Ciani M & Comitini F (2011) Non-*Saccharomyces* wine yeast have a promising role in biotechnological approaches to winemaking. *Annals of Microbiology* 61: 25-32.
- Ciani M & Ferraro L (1998) Combined use of immobilized *Candida stellata* cells and *Saccharomyces cerevisiae* to improve the quality of wines. *Journal Applied Microbiology* 85: 247-254.
- Ciani M & Maccarelli F (1998) Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14: 199-203.
- Ciani M & Piccioti G (1995) The growth kinetics and fermentation behavior of some non-*Saccharomyces* yeast associated with winemaking. *Biotechnology Letters* 17: 1247-1250.
- Ciani M, Comitini F, Mannazzu I & Domizio P (2010) Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Research* 10: 123-133.
- Clemente-Jimenez JF, Mingorance-Cazorla L, Martínez-Rodríguez S, Las Heras-Vázquez FJ & Rodríguez-Vico F (2004) Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must. *Food Microbiology* 21: 149-155.
- Clemente-Jimenez JF, Mingorance-Cazorla L, Martínez-Rodríguez S, Las Heras-Vázquez FJ & Rodríguez-Vico F (2005) Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 98: 301-308.
- Combina M, Elía A, Mercado L, Catania C, Ganga MA & Martinez C (2005) Dynamics of indigenous yeast populations during spontaneous fermentation of wine from Mendoza. *International Journal of Food Microbiology* 99: 237-243.

- Comitini F, Gobbi M, Domizio P, Romani C, Lencioni L, Mannazzu I & Ciani M (2011) Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology* 28: 873-882.
- Constantí M, Poblet M, Arola L, Mas A & Guillamón JM (1997). Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation in a newly established winery. *American Journal of Enology and Viticulture* 48: 339-344.
- Conterno L, C. Tortia, J. Minati, y G. Trioli. (1997) La selezione di un ceppo di lievito per il Barolo. *Vignevini* 24: 30-33.
- Cordente AG, Curtin C, Varela C & Pretorius IS (2012) Flavour-active wine yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96: 601-618.
- Cordonnier R & Bayonove C (1974) Mise en évidence dans la baie de raisin, variété Muscat d'Alexandrie, de monoterpènes liés révélables par une ou plusieurs enzymes du fruit. *C.R. Acad. Sc. Paris, série D* 278: 3387-3390.
- Cordonnier R (1989) Mécanismes et facteurs de formation de composés a saveurs herbacées. *Revue des Oenologues* 53: 25-27.
- Cuinier C (1988) Influence of yeasts on the phenolic compounds of wine. *Bulletin OIV* 596-601.
- Cuinier C (1997) Ceppi di lievito e composizione fenolica dei vini rossi. *Vignevini* 7.
- Da Silva C, Zamperin G, Ferrarini A, et al. (2013) The high polyphenol content of grapevine cultivar Tannat berries is conferred primarily by genes that are not shared with the reference genome. *The Plant Cell* 25: 4777-4788.
- Dangles O & Brouillard R (1992) A spectroscopic method based on the anthocyanin copigmentation interaction y applied to the quantitative study of molecules complexes. *Journal of Chemical Society Perkin Trans 2*: 247-257.
- Daravingas G & Cain RF (1968) Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems. *Journal of Food Science* 33: 138.
- Darriet P, Boidron JN & Dubourdieu D (1988) L'hydrolyse des hétérosides terpéniques du Muscat a Petits Grains par les enzymes périplasmiques de *Saccharomyces cerevisiae*. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 22: 189-195.
- De Deken RH (1966) The crabtree effect: A regulatory system in yeast. *Journal of General Microbiology* 44: 149-156.

- De Frutos E & Beretta A (1999) Un siglo de tradición. Primera historia de uvas y vinos del Uruguay. Ediciones Santillana, Montevideo.
- De Nobel J, Klis GFM, Priem J, Munnik T & Van Den Ende H (1990) The glucanase-soluble mannoproteins limit cell wall porosity in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast 6: 491-499.
- Deacon JW (1997) Modern Mycology. Blackwell Science Ltd.
- Delcroix A, Günata Z, Sapis JC, Salmon JM & Bayonove C (1994) Glycosidase activities of three enological yeast strains during winemaking: effect on the terpenol content of Muscat wine. American Journal of Enology and Viticulture 45: 291-296.
- Delgado-Vargas F, Jiménez AR & Paredes-López O (2000) Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. Critical reviews in food science and nutrition. 40: 173-289.
- Dell'Agli M, Buscialá A & Bosisio E (2004) Vascular effects of wine polyphenols. Cardiovascular Research 63: 593-602.
- Dell'Oro V & Di Stefano R (1990) Produzione di composti aromatici nella conservazione delle uve in atmosfera di anidride carbonica. vini d'Italia 2: 26-33.
- Dharmadhikari MR & Wilker KL (1998) Deacidification of high malate must with *Schizosaccharomyces pombe*. American Journal of Enology and Viticulture 49: 408-412.
- Di Stefano R (1985) Gli etil fenoli nel vini. Vigne-vini 5: 35-38.
- Di Stefano R, Cravero MC & Gentilini N (1989) Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini. L'Enotecnico 83-89.
- Dias L, Sancho T, Stender H, Querol A, Malfeito-Ferreira M & Loureiro V (2003) Identification of yeasts isolated from wine-related environments and capable of producing 4-ethylphenol. Food Microbiology 567-574.
- Diaz L, Gasque F & Lafuente B (1976) Estabilidad de los pigmentos antociánicos de los zumos de uvas viníferas e híbridas. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 16: 509-515.

- Díaz-Montaño DM & Ramírez- Córdova J (2009) The fermentative and aromatic ability of *Kloeckera* and *Hanseniaspora* yeasts. *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*, (Satyanarayana T & Kunze Te, Eds.), pp. 281-305. Springer Science+Business Media B.V.
- Díaz-Montaño DM, Favela-Torres E & Córdova J (2010) Improvement of growth fermentative efficiency and ethanol tolerance of *Kloeckera africana* during the fermentation of agave tequilana juice by addition of yeast extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 321-328.
- Domizio P, Romani C, Lencioni L, Comitini F, Gobbi M, Mannazzu I & Ciani M (2011) Outlining a future for non-*Saccharomyces* yeasts: selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 147: 170-180.
- Dupin IVS, Mckinnon VM, Ryan C, et al. (2000) *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins that protect wine from protein haze: Their release during fermentation and lees contact and a proposal for their mechanism of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 3098-3105.
- Echeverry C, Ferreira M, Reyes-Parada M, Abin-Carriquiry JA, Blasina F, González-Neves G & Dajas F (2005) Changes in antioxidant capacity of Tannat red wines during early maturation. *Journal of Food Engineering* 69: 147-154.
- Egli CM, Edinger WD, Mitrakul CM & Henick-Kling T (1998) Dynamics of indigenous and inoculated yeast population and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines. *Journal of Applied Microbiology* 85: 779-789.
- Epifanio SI, Gutiérrez AR, Santamaría MP & López R (1999) The influence of enological practices on the selection of wild yeast strains in spontaneous fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture* 50: 219-224.
- Escot S, Feuillat M, Dulau L & Charpentier C (2001) Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7: 153-159.
- Etiévant P (1981) Volatile phenol determination in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29: 65-67.

- Etiévant PX (1991) Wine. Volatile compounds in foods and beverages, (Maarse H, ed.), pp. 483-546. Marcel Dekker, New York.
- Etiévant PX, Issanchou SN, Marie S, Ducruet V & Flanzy C (1989) Sensory impact of volatile phenols on red wine aroma. Influence of carbonic maceration and time storage. *Sciences des Aliments* 9: 19-33.
- Fariña L, Medina K, Urruty M, Boido E, Dellacassa E, Carrau FM (2012) Redox effect on volatile compound formation in wine during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry* 134: 933-939.
- Favale S, Pietromarchi P & Cioffi G (2007) Metabolic activity and interaction between two strains, *Saccharomyces cerevisiae* r.f. *bayanus* (SBC2) and *Saccharomyces cerevisiae* r.f. *uvarum* (S6u), in pure and mixed fermentations. *Vitis* 46: 39-43.
- Fernández-González M, Di Stefano R & Briones A (2003) Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from Muscat must by different yeast species. *Food Microbiology* 20: 35-41.
- Feuillat M, Charpentier C, Picca C & Et Bernard P (1988) Production de colloïdes par les levures dans les vins mousseux élaborés selon la méthode champenoise. *Revue Française des Oenologues* 111: 36-45.
- Figueiredo P & Pina F (1994) Formation of anthocyanin ion-pairs. A copigmentation effect. *Journal of Chemical Society Perkin Trans 2*: 775-778.
- Fleet G (1993) Wine microbiology and biotechnology, (Fleet GH, ed.), Harwood academic publishers. Switzerland.
- Fleet GH & Heard GM (1993) Yeast growth during fermentation. *Wine Microbiology and Biotechnology*, (Fleet GH, ed.), pp. 27-54. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Fleet GH (2003) Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology* 86: 11-22.
- Fleet GH, Lafon-Lafourcade S & Ribereau-Gayon P (1984) Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux wines. *Applied and Environmental Microbiology* 48: 1034-1038.

- Flood AE, Johns MR & White ET (1996) Mutarotation of D-fructose in aqueous-ethanolic solutions y its influence on crystallization. *Carbohydrate Research* 288: 45-56.
- Fong RA, Webb AD & Kepner RE (1974) Acylated anthocyanins in a hybrid *Vitis* variety. *Phytochemistry* 13: 1001-1004.
- Forsberg H & Ljungdahl PO (2001) Sensors of extracellular nutrients in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genetic* 40: 91-109.
- Francia-Aricha EM, Guerra MT, Rivas-Gonzalo JC & Santos-Buelga C (1997) New Anthocyanin Pigments Formed after Condensation with Flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 2262-2266.
- Francis FJ (1989) Food colorants: anthocyanidins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28: 273-314.
- Francis I, Tate ME & Williams PJ (1996) The effect of hydrolysis conditions on the aroma released from Semillon grape glycosides. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2: 70-76.
- Frankel EN, Bosanek CA, Meyer AS, Silliman K & Kirk LL (1998) Commercial Grape Juices Inhibit the in Vitro Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 834-838.
- Fregoni M (1999a) *Viticultura di Qualita*. . Editorial Ciudad, Italia.
- Fregoni M (1999b) Maduración de la uva - desarrollo y metabolismo de las bayas. Evolución de los componentes polímeros y aromas. En Seminario Internacional "Hacia la tecnología del siglo XXI y curso avanzado de degustación de vino", pp. 31-49. Mendoza, Argentina.
- Fulcrand H, Cameira Dos Santos PJ, Sarni-Manchado P, Cheynier V & Favre-Bonvin J (1996a) Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *Journal of the Chemical Society - Perkin Transactions* 1 735-739.
- Fulcrand H, Doco T, Es-Safi NE, Cheynier V & Moutounet M (1996b) Study of the acetaldehyde induced polymerisation of flavan-3-ols by liquid chromatography-ion spray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 752: 85-91.

- Fulcry H, Benabdeljalil C, Rigaud J, Cheynier V & Moutounet MA (1998) A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid y grape anthocyanins. . Phytochemistry 47: 1407-1417.
- Galanti AN (1919) La industria vitivinícola uruguaya. Mendoza.
- Gámbaro A, Boido E, Zlotejablko A, Medina K, Lloret A, Dellacassa E & Carrau F (2001) Effect of malolactic fermentation on the aroma properties of Tannat wine. Australian Journal of Grape and Wine Research 7: 27-32.
- Gámbaro A, Varela P, Boido E, Gimenez A, Medina K & Carrau F (2003) Aroma characterization of commercial red wines of Uruguay. Journal of Sensory Studies 18: 353-366.
- Ganga MA & Martinez C (2003) Effect of wine yeast monoculture practice on the biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts. Journal Applied Microbiology 96: 76-83.
- Gao C & Fleet GH (1988) The effect of temperature and pH on the ethanol tolerance of the wine yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida stellata* and *Kloeckera apiculata*. Journal of Applied Bacteriology 65: 405-409.
- García-Beneytez E, Revilla E & Cabello F (2002) Anthocyanin patten of several red grape cultivars and wines made from them. European Food Research and Technology 215: 32-37.
- Gil JV, Mateo JJ, Jimenez M, Pastor A & Huerta T (1996) Aroma compounds in wines as influenced by apiculate yeasts. Journal of Food Science 61: 1247-1266.
- Glories Y & Augustin M (1993) Maturité phénolique du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992. C. R. Colloque Journée Techn., (CIVB, eds.), pp. 56-61. Bordeaux.
- Glories Y (1978) Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse de doctorat es Sciences Thesis, Université de Bordeaux Bordeaux.
- Glories Y (1984) La couleur des vins rouges. 2eme partier. Mesure, origine et interpretation. Connaissance de la Vigne et du Vin 18: 253-271.
- Glories Y (2001) Caractérisation du potentiel phénolique: adaptation de la vinification. Le Progrès Agricole et Viticole 118: 347-350.

- Gonzalez Neves G, Cordoves CG & Barreiro L (2001) Anthocyanic composition of Tannat, Cabernet Sauvignon and Merlot young red wines from Uruguay. *Journal of Wine Research* 12: 125-133.
- Gonzalez R, Quiros M & Morales P (2013) Yeast respiration of sugars by non-*Saccharomyces* yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. *Trends in Food Science and Technology* 29: 55-61.
- González Techera A, Jubany S, Ponce De León I, et al. (2004) Molecular diversity within clones of cv. Tannat (*Vitis vinifera*). *Vitis - Journal of Grapevine Research* 43: 179-185.
- González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Ferrer M, Moutounet M & Carbonneau A (2004a) Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay. *Analytica Chimica Acta* 513: 197-202.
- González-Neves G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Bochicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A, Carbonneau A, Moutounet M (2004b) Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta* 513: 191-196.
- Gonzalez-Neves G, Franco J, Barreiro L, Gil G, Moutounet M & Carbonneau A (2007) Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition. *European Food Research and Technology* 225: 111-117.
- González-Neves G, Gil G, Favre G, Baldi C, Hernández N & Traverso S (2013) Influence of winemaking procedure and grape variety on the colour and composition of young red wines. *South African Journal of Enology and Viticulture* 34: 138-146.
- González-Pombo P, Fariña L, Carrau F, Batista-Viera F & Brena B (2011) A novel extracellular β -glucosidase from *Issatchenkia terricola*: Isolation, immobilization and application for aroma enhancement of white Muscat wine. *Process Biochemistry* 46: 385-389.
- González-Pombo P, Pérez G, Carrau F, Carrascosa A, Guisán JM, Batista-Viera F & Brena B (2007) One-step purification and characterization of an intracellular β -

glucosidase from a native yeast strain of *Metschnikowia pulcherrima*. *Enzyme and Microbial Technology*

Grando MS, Versini G, Nicolini G & Mattivi F (1993) Selective use of wine yeast strains having different volatile phenols production. *Vitis* 32: 43-50.

Guedes de Pinho P, Silva AC, Mendes M, Gomez J & Hogg TA (2001) Determination of carotenoid profiles in grapes, musts, and fortified wines from Douro varieties of *Vitis vinifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5484-5488.

Gueguen Y & Chemardin P (1996) A very efficient β -glucosidase catalyst for the hydrolysis of flavor precursors of wines and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2336-2340.

Gueguen Y, Chemardin P, Arnaud A & Galzy P (1995) Comparative study of extracellular and intracellular β -glucosidases of a new strain of *Zygosaccharomyces bailii* isolated from fermenting agave juice. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 270-280.

Guichard E, Etiévant P, Henry R & Mosandl A (1992) Enantiomeric ratios of pantolactone, solerone, 4-carboethoxy-4-hydroxy butyrolactone and of sotolon, a flavour impact compound of flor-sherry and botrytized wines. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 195: 540-544.

Guilloux J (1981) These de 3^e cycle. Thesis, Université de Bordeaux II., Bordeaux.

Günata YZ, Bayonove C, Baumes R & Cordonnier R (1985) The aroma of grape. I. Extraction and determination of free and glicosidally bound fractions of some grape aroma components. *Journal of Chromatography* 331: 83-90.

Günata YZ, Bayonove CL, Tapiero C & Cordonnier RE (1990b) Hydrolysis of grape monoterpenyl β -D-glucosides by various β -glucosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 1232-1236.

Günata Z, Blondeel C, Vallier MJ, Lepoutre JP, Sapis JC & Watanabe N (1998) An endoglycosidase from grape berry skin of cv. M. Alexandria hydrolyzing potentially aromatic disaccharide glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2748-2753.

Günata Z, Dugelay I, Sapis JC, Baumes R & Bayonove C (1990a) Action des glycosidases exogenes au cours de la vinification: libération de l'aroma a partir de

- précurseurs glycosidiques. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 24: 133-144.
- Gurovich L (1998) Aplicaciones del riego deficitario controlado en la vid, efecto sobre la calidad de la uva y el vino. En "Tópicos de actualización en Vitivinicultura y Enología", pp. 58-82. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- Harborne JB & Grayer RJ (1988) The anthocyanins. Chapman and Hall Ed., Londres.
- Harborne JB & Williams CA (1998) Anthocyanins and other flavonoids. Natural Product Reports. 15: 631-652.
- Harris RL, Lacey MJ, Brown WV & Allen MS (1987) Determination of 2-methoxy-3-alkylpyrazines in wine by gas chromatography/mass spectrometry. Vitis 26: 201-207.
- Havlikova L & Mikov AK (1985) Heat stability of anthocyanins. Lebensm. Unten. Forsch 181: 427-432.
- Hayasaka Y & Asenstorfer RE (2002) Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 756-761.
- Heard GM & Fleet GH (1985) Growth of natural yeast flora during the fermentation of inoculated wines. Applied and Environmental Microbiology 50: 727-728.
- Heard GM & Fleet GH (1986) Occurrence and growth of yeast species during fermentation of some Australian wines. Food Technology Australian 38: 22-25.
- Heard GM & Fleet GH (1988a) The effect of sulfur dioxide on yeast growth during natural and inoculated wine fermentations. Wine Industry Journal 88: 57-60.
- Heard GM & Fleet GH (1988b) The effect of temperature and pH on the growth of yeast species during fermentation of grape juice. Journal Applied Bacteriology 65: 23-28.
- Hebrero E, Garcia-Rodriguez C, Santos-Buelga C & Rivas- Gonzalo JC (1989) Analysis of anthocyanins by HPLC-diode array spectroscopy in a hibrid grape variety (V. vinifera x V. berlyieni H1B). American Journal of Enology and Viticulture 40: 283-291.

- Henick-Kling T & Acree TE (1998) Modificazioni dell'aroma del vino con la fermentazione malolattica ed uso di colture selezionate negli USA. *Vignevini* 25: 44-50.
- Henick-Kling T, W. Edinger, P. Daniel, P. Monk. (1998) Select effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations and sensory characteristics of wine. *Journal Applied Microbiology* 84: 865-876.
- Henschke P (1997) Evaluating wine yeasts for improved wine quality. 7th Australian Wine Industry Technical Conference, (Williams PJ, Davidson DM, & Lee TH. eds), pp. 157-165. Australia.
- Henschke P & Jiranek V (1993) Yeast: Metabolism of nitrogen compounds. *Microbiology and Biotechnology*, (Fleet GH, ed.), pp. 77-164. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Herraiz T, Reglero G, Herraiz M, Martin-Alvarez PJ & Cabezudo MD (1990) The influence of the yeast and type of culture on the volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 313-318.
- Heyman H, Noble AC & Boulton RB (1986) Analysis of methoxy pyrazines in wines. I. Development of a quantitative procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34: 268-271.
- Holloway P, Subden RE & Lachance MA (1990) The yeast in a Riesling must from the Niagara grape growing region of Ontario. *Canadian Institute Food Science Technology Journal* 23: 121-216.
- Holloway P, van Twest RA, Subden RE & Lachance MA (1992) A strain of *Candida stellata* of special interest to oenologist. *Food Research International* 25: 147-149.
- Hoshino T, Matsutmoto U & Goto T (1981a) Self-association of some anthocyanins in neutral aqueous solution. *Phytochemistry* 20: 1971-1976.
- Hoshino T, Matsumoto U, Harada N & Goto T (1981b) Chiral exciton coupled stacking of anthocyanins: Interpretation of the origin of anomalous CD induced by anthocyanin association. *Tetrahedron Letters* 22: 3621-3624.

- Hrazdina G & Franzese AJ (1974) Structure and properties of the acylated anthocyanins from *Vitis* species. *Phytochemistry* 13: 225-229.
- Hrazdina G, Borzell AJ & Robinson WB (1970) Studies on the stability of the anthocyanidin -3,5- diglucosides. *American Journal of Enology and Viticulture* 21: 201-204.
- Hrazdina G, Parsons G & Mattick L (1984) Physiological and biochemical events during development and maturation of grape berries. . *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 220-227.
- Huang CJ, Lee SL & Chou CC (2001) Production of 2-phenylethanol, a flavor ingredient, by *Picchia fermentans* L-5 under various culture conditions *Food Research International* 34: 277-282.
- Hunter JJ & Archer E (2001a) Long-term cultivation strategies to improve grape quality. In VIIIth Viticulture and Enology Latin-American Congress, Uruguay.
- Hunter JJ & Archer E (2001b) Short-term cultivation strategies to improve grape quality. In VIIIth Viticulture and Enology Latin-American Congress, Uruguay.
- Hunter JJ & Visser JH (1988) Distribution of ¹⁴C-Photosynthetate in the shoot of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. The effect of leaf position and developmental stage of the vin. *South African Journal of Enology and Viticulture* 9: 3-9.
- Hunter JJ (1999) Present status and prospects of winegrape viticulture in South Africa - focus on canopy related aspects/practices and relationships with grape and wine quality. In 11th Meeting of the Study Group for Vine Training Systems (GESCO), pp. 70-85. Sicilia, Italy.
- Hunter JJ (2000) Implications of seasonal canopy management and growth compensation in grapevine. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21: 81-91.
- Hunter JJ, O.T. De Villiers, y J.E. Watts. (1991) The effect of partial defoliation on quality characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes II. Skin, skin sugar, and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture* 42: 13-18.

- Iacobucci GA & Sweeny JG (1983) The chemistry of anthocyanidins, anthocyanidinas y related 3-sophoroside-5-glucoside in the Violet-Blue Flowers of *Pharbitis nil*. *Phytochemistry* 33: 245-247.
- Iland P, Ewart A & Sitters J (1993) Techniques for chemical analysis and stability tests of grape juice and wine. Patrick Iland Wine Promotions, Adelaide.
- INAVI, Uruguay (2014) Información obtenida desde www.inavi.com.uy, consultada 19 de agosto 2014.
- ISO (1988) Sensory analysis: General guidance for the design of test rooms, ISO 8589. (International Organization for Standardization).
- IST (2001) "Method development in solid phase extraction using ISOLUTE ENV+ SPE columns for the extraction of aqueous samples". International Sorbent Technology.
- Jiranek V, Langridge P & Henschke PA (1991) Yeast nitrogen demand: selection criterion for wine yeasts for fermentating low nitrogen musts. In Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine, (Rantz J ed.), pp. 266-269. American Society for Enology and Viticulture, Davis.
- Jolly NP, Augustyn OP & Pretorius IS (2003a) The occurrence of non-*Saccharomyces* yeast strains over three vintages in four vineyards and grape musts from four production regions of the Western Cape, South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture* 24: 35-42.
- Jolly NP, Augustyn OP & Pretorius IS (2003b) The effect of non-*Saccharomyces* yeasts on fermentation and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture* 24: 55-62.
- Jolly NP, Augustyn OP & Pretorius IS (2003c) The use of *Candida pulcherrima* in combination with *Saccharomyces cerevisiae* for the production of Chenin blanc wine. *South African Journal of Enology and Viticulture* 24: 63-69.
- Jolly NP, Augustyn OP, Pretorius IS (2006) The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal of Enology and Viticulture* 27: 15-39.
- Jolly NP, Varela C & Pretorius IS (2013) Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Research* 1-23.

- Joslin WS & Ough CS (1978) Cause and fate of certain C6 compounds formed enzymatically in macerated grape leaves during harvest and wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture* 29: 11-17.
- Jubany ST, I; Ponce de León, I.; Medina, K.; Carrau, F.; Arrambide, N; Naya, H; Gaggero, C. (2008) Toward a global database for the molecular typing of *Saccharomyces cerevisiae* strains. . *FEMS Yeast Research* 8: 472-484.
- Karasu Yalcin S & Ozbas Z (2008) Effecto of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from Turkey. *Brazilian Journal of Microbiology* 39: 325-332.
- Kashyap D, Vohra PK, Chopra S & Tewari R (2001) Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology* 77: 215-227.
- Khan W, Augustyn OPH, van der Westhuizen TJ, Lambrechts MG & Pretorius IS (2000) Geographic distribution y evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from vineyards in the warmer, inly regions of the Western Cape in South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21: 17-31.
- Kim DH, Hong YA & Park HD (2008) Co-fermentation of grape must by *Issatchenkia orientalis* and *Saccharomyces cerevisiae* reduces the malic content in wine. *Biotechnology Letters* 30: 1633-1638.
- King A & Dickson JR (2000) Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulospira delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. *Yeast* 16: 499-506.
- King A, Swenny JC, Radford T & Iacobucci GA (1980) The ascorbic acid/O₂ degradation of anthocyanidins. *Bulletin Liaison Groupe Polyphenols* 9: 121-128.
- Kirk PM, Minter DW & Stalpers JA (2008) Ainsworth and Bisby's dictionary of the Fungi, (10th ed. Wallingford: CAB International eds.). United Kingdom.
- Kliewer WM & Torres RE (1972) Effect of controlled day y night temperatures on coloration of grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 23: 71-77.
- Kliewer WM (1977) Grape coloration as influenced by temperature, solar radiation, nitrogen y cultivar. In *International Symposium on the Quality of the Vintage*, pp. 89-105. Ciudad del Cabo.

- Kontek A & Kontek A (1986) Influence de l'anhydride sulfureux et de l'acetaldehyde sur la couleur et les spectres d'absorption des vins et des extraits anthocyaniques de raisin. Bulletin Liaison Groupe Polyphenols 13: 470-472.
- Kovac V, Alonso E, Bourzeix M & Revilla E (1992) Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40: 1953-1957.
- Kreger Van-Rij NJW (1984) The yeast: A taxonomic Study. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Kunkee RE & Amerine MA (1970) Yeasts in winemaking. The Yeasts: Yeast Technology, Vol. 3 (Rose, A.H. and Harrison J.S. eds.), pp. 5-72. Academic Press, London.
- Kunkee RE & Bisson LF (1993) Wine-making yeasts. The yeasts, Vol. 5 (Rose, A.H. and Harrison J.S. eds.), pp. 69-127. Academic Press: London.
- Kupiec M, Byers B, Esposito R & Mitchell AE (1997) Meiosis y sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. The molecular biology of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: cell cycle and cell biology, (Pringle B, Jones, Eds, eds.), pp. 889-1036. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Kurtzman CP (2011) Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Ascomycetous Yeasts and Yeast-like Taxa. The Yeasts, A Taxonomic Study, (Fell J, Kurtzman CP, Boekhout T, eds.), pp. 293-307. Elsevier B.V., London.
- Lacey MJ, Allen MS, Harris RL & Brown WV (1991) Methoxypyrazines in Sauvignon blanc grapes and wine. American Journal of Enology and Viticulture 42: 103-108.
- Lafon-Lafourcade S (1983) Wine and bryy. Biotechnology, Vol. 5, (H.J. Rehm GR, eds.), pp. 81-163. Verlag Chemie, Weinheim.
- Lambrechts MG & Pretorius IS (2000) Yeast and its importance to wine aroma a review. South African Journal of Enology and Viticulture 21: 97-129.
- Languet P, Ortiz-Julien A, Agüera E, Samson A & Salmon JM (2005) Valorisation aromatique des moûts par l'utilisation séquentielle de levure d'espèces non-*Saccharomyces* et *Saccharomyces*. Revue des Oenologues 117: 31-33.

- Larue F, Geneix C, Lafon-Lafourcade S, Bertry A & Ribereaau-Gayon P (1984) Premiers observtions sur le mode d' action des écores de levures. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 18: 155-163.
- Lê S, Josse J, & Husson F (2008) FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25 (1): 1-18.
- Lecas M, Günata ZY, Sapis J-C & Bayonove L (1991) Purification and partial characterization of b-glucosidase from grape. *Phytochemistry* 30: 451-454.
- Ledoux V, Dulau L & Dubourdieu D (1992) Interpretation de l'amélioration de la stabilité proteique des vins au cours de l'élevage sur lies. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 26: 239-251.
- Leighton F, Castro C, Barriga C & Urquiaga I (1997) Vino y Salud. Estudios Epidemiológicos y Posibles Mecanismos de los Efectos Protectores. *Rev Med Chile* 125: 483-491.
- Leroy MJ (1986) Incidence de la nature des souches de levure et des conditions de préparation des levains sur les phénomènes d'autolyse dans le Champagne. Thesis, Université de Bourgogne, Bourgogne.
- Leskó A, Nytrai-Sárdy D, Kállay M & Balga I (2014) The effect of yeast on the anthocyanin characteristics of fermented model solutions. *Acta Alimentaria* 34: 232-238.
- Lew DJ, T. Weinart, y J. R. Pringle (1997) Cell cycle control in *Saccharomyces cerevisiae*. The molecular biology of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: cell cycle and cell biology, (Pringle B, Jones, eds.), pp. 607-695. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA.
- Lloret A, Boido E, Carrau F, Disegna E, Menendez M & Dellacassa E (2003) Evaluación del contenido y perfil de componentes antocianicos durante la maduración de uvas Tannat con respecto a otras variedades tintas. *Proceeding of the IX Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*, pp. 64-65. Santiago de Chile, Chile.
- Lloret A, Boido E, Lorenzo D, Medina K, Carrau F, Dellacassa E & Versini G (2002) Aroma variation in Tannat wines: Effect of malolactic fermentation on ethyl

- lactate level and its enantiomeric distribution. Italian Journal of Food Science 14: 175-180.
- Loiseau G, Cuinier C, Berger JL, & Peyron D (1994) Fixation des anthocyanes par les levures œnologiques au cours de la vinification en rouge. Proceedings for Société Française de Microbiologie, (Société Française de Microbiologie eds.), pp. 175-178. Dijon, France.
- Longo E, Cansado J, Agrelo D & Villa TG (1991) Effect of climatic conditions on yeast diversity in grape musts from northwest Spain. American Journal of Enology and Viticulture 42: 141-144.
- Lubbers S, Charpentier C, Feuillat M & Voilley A (1994a) Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. American Journal of Enology and Viticulture 45: 29-33.
- Lubbers S, Leger B & Charpentier C (1993) Essai colloïdes protecteurs d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'un vin modèle. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 27: 13-22.
- Lubbers S, Voilley A, Feuillat M & Charpentier C (1994b) Influence of mannoproteins from yeast on the aroma intensity of a model wine. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie 27: 108-114.
- Maccarone E, Maccarone A & Rapisarda P (1985) Stabilization of anthocyanidins of blood orange fruit juice. Journal of Food Science 50: 901-904.
- Madigan MT, Martinko JM & Parker J (2003) Biología de los Microorganismos.
- Magyar I & Panyik I (1989) Biological desacidification of wine with *Schizosaccharomyces pombe* entrapped in Ca-alginate gel. American Journal of Enology and Viticulture 40: 233-240.
- Magyar I & Toth T (2011) Comparative evaluation of some oenological properties in wine strains of *Candida stellata*, *Candida zemplinina*, *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* Food Microbiology 28: 94-100.
- Manzanares P, Vallés S & Viana F (2011) Non-*Saccharomyces* yeasts in the winemaking process. Molecular Wine Microbiology, (Elsevier Inc, eds), pp. 85-110.
- Marais J (1983) Terpenes in the aroma of grapes and wines: a review. South African Journal of Enology and Viticulture 4: 49-60.

- Marinos VA, Tate ME & Williams PJ (1994) Protocol for FAB MS/MS characterization of terpene disaccharides of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 2486-2492.
- Markakis P, Suparmo H & Harp T (1986) Comparative stability of two anthocyanin pigments. *Developmental Food Science* 12: 705-710.
- Marquette B (1999) La madurez fenólica. Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del vino, pp. 25-29. Universidad de Chile. Chile.
- Martínez J, Millán C & Ortega JM (1989) Growth of natural flora during the fermentation of inoculated musts from "Pedro Ximenez" grapes. *South African Journal of Enology and Viticulture* 10: 31-35.
- Martini A, Federici F & Rosini G (1980) A new approach to the study of yeast ecology of natural substrates. *Canadian Journal of Microbiology* 26: 856-859.
- Mateo JJ & Jiménez M (2000) Monoterpenes in grape juice and wine. *Journal of Chromatography A* 881: 557-567.
- Mateo JJ, Jimenez M, Huerta T & Pastor A (1991) Contribution of different yeast isolated from musts of Monastrell grapes to the aroma of wine. *International Journal of Food Microbiology* 14: 153-160.
- Mateus N, Silva AMS, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC & De Freitas V (2002) Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2110-2116.
- Mateus N, Silva AMS, Vercauteren J & De Freitas V (2001) Occurrence of anthocyanin-derived pigments in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4836-4840.
- Mazza G & Brouillard R (1987) Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry* 25: 207-225.
- Mazza G (1995) Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35: 341-371.
- Medina K (2006) Selección de levaduras para vinos tintos. Efecto de las mismas sobre la composición polifenólica de la variedad Tannat. Thesis, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

- Medina K, Boido E, Barquet M, Gaggero C, Dellacassa E & Carrau F (2013a) Levaduras del género *Hanseniaspora*: Impacto sobre el contenido polifenólico de los vinos tintos. *Enologia* 10.
- Medina K, Boido E, Carrau F, Dellacassa E, Ferreri L, Gaggero C & Fariña L (2008) Aplicación de la levadura *Hanseniaspora vineae* en cultivos mixtos con *Saccharomyces cerevisiae* en la vinificación. *Enologia* 1: 1-6.
- Medina K, Boido E, Dellacassa E & Carrau F (2005) Yeast interactions with anthocyanins during red wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture* 56: 104-109.
- Medina K, Boido E, Dellacassa E & Carrau FM (2012) Growth of non-*Saccharomyces* yeasts affects nutrient availability for *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation
- Medina K, Carrau F, Gioia O & Brascoso N (1997) Nitrogen availability of grape juice limits killer yeast growth and fermentation activity during mixed-culture fermentation with sensitive commercial yeast strains. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 2821-2825.
- Medina K, Fariña L, Capra A, et al. (2007) Impacto del uso de levaduras nativas seleccionadas en la Enología de Mínima Intervención
- Medina K, Fariña L, Gioia O, Gómez ME, Barquet M, Gaggero C, Dellacassa E, Carrau F (2013b) Increased flavour diversity of Chardonnay wines by spontaneous fermentation and co-fermentation with *Hanseniaspora vineae*. *Food Chemistry* 141: 2513-2521.
- Meilgaard MC (1985) Aroma volatiles in beer: purification, flavour, threshold and interaction. *Biogenesis of aromas*, (Parliment TH & Croteau R, eds.), pp. 211-254. American Chemical Society, Washington.
- Mendes-Ferreira A, Clímaco MC & Mendes Faia A (2001) The role of non-*Saccharomyces* species in releasing glycosidic fraction of grape aroma components- A preliminary study. *Journal of Applied Microbiology* 91: 67-71.
- Middlebeek EJ, Stumm C & Vogels GH (1980) Effects of *Picchia kluyveri* killer toxin on sensitive cells. *Antonie van Leeuwenhoek* 46: 205-220.

- Mohr H & Schopfer P (1995) Monoglucoside on the browning of monomeric y dimeric flavanols. *Z. Lebensm. Unters Forsch* 207: 223-228.
- Monagas M, Nuñez V, Bartolome B & Gomez-Cordoves C (2003) Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture* 54: 163-169.
- Monterio FF & Bisson LF (1991) Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 42: 47-57.
- Morata A, Benito S, Loira I, Palomero F, González MC & Suárez Lepe JA (2012) Formation of pyranoanthocyanins by *Schizosaccharomyces pombe* during the fermentation of red must. *International Journal of Food Microbiology* 159 (1): 47-53.
- Morata A, Calderon F, Gonzalez MC, Gomez-Cordoves MC & Suarez JA (2007a) Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (vitisins A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chemistry* 100: 1144-1152.
- Morata A, Gomez-Cordoves M C, Colomo B & Suarez JA (2005) Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces strains* during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes. *European Food Research and Technology* 220: 341-346.
- Morata A, Gómez-Cordoves MC, Calderon F & Suárez JA (2006) Effects of pH, temperature and SO₂ on the formation of pyranoanthocyanins during red wine fermentation with two species of *Saccharomyces*. *International Journal of Food Microbiology* 106: 123-129.
- Morata A, Gomez-Cordoves MC, Colomo B & Suarez JA (2003b) Pyruvic acid and acetaldehyde production by different strains of *Saccharomyces cerevisiae*: relationship with vitisin A and B formation in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7402-7409.
- Morata A, Gomez-Cordoves MC, Suberviola J, Bartolome B, Colomo B & Suarez JA (2003a) Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4084-4088.

- Morata A, Gonzalez C & Suarez-Lepe JA (2007b) Formation of vinylphenolic pyranoanthocyanins by selected yeasts fermenting red grape musts supplemented with hydroxycinnamic acids. *International Journal of Food Microbiology* 116: 144-152.
- Moreira N, Mendes F, de Pinho RG, Hogg T & Vasconcelos I (2008) Heavy sulphur compounds, higher alcohols and esters production profile of *Hanseniaspora uvarum* and *Hanseniaspora guilliermondii* grown as pure and mixed cultures in grape must. *International Journal of Food Microbiology* 124: 231-238.
- Moreira N, Mendes F, Hogg T & Vasconcelos I (2005) Alcohols, esters and heavy compounds production by pure and mixed cultures of apiculate wine yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 103: 285-294.
- Moreno J, Millán C, Ortega JM & Medina M (1991) Analytical differentiation of wine fermentations using pure and mixed yeast cultures. *Journal of Industrial Microbiology* 7: 181-190.
- Moreno J, Zea L, Moyano L & Medina M (2005) Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control* 16: 333-338.
- Mori K, Yamamoto N, Kitayama M & Hashizume K (2007) Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* 58: 1935-1945.
- Morrison JC & Noble AC (1990) The effect of leaf y cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes y on fruit y wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 193-200.
- Mostert T & Divol B (2014) Investigating the proteins released by yeasts in synthetic wine fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 171: 108-118.
- Moussaoui KA & Varela P (2010) Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. *Food Quality and Preference* 21: 1088-1099.
- Moutonnet M, Battle JL, Saint Pierre B & Escudier JL (1999) Stabilisation tartrique. Détermination du degree d'instabilité des vins. *Mesure de l'efficacité des*

- inhibiteurs de cristallisation. 6e Symposium International d'Oenologie, (Lonvaud-Funel, ed.), pp. 531-534. Lavoisier Tec-Doc, Paris.
- Muñoz O (2003) Antocianos y Betalaínas. Colorantes naturales de aplicación industrial, (Muñoz E. & Maldonado C, eds.), pp. 205-228. Argentina.
- Nagel CW, Baranowski JD, Wolf LW & Powers JR (1979) The hydroxycinnamic acid-tartaric acid ester content of must and grape varieties grown in the pacific northwest. *American Journal of Enology and Viticulture* 30: 198-201.
- Nakamura S, Crowell EA, Ough CS & Totsuka A (1988) Quantitative analysis of γ -nonalactone in wines and its threshold determination. *Journal of Food Science* 53: 1243-1244.
- Neirotti E, Perez G, Carrau F & Gioia O (1995) Native killer yeasts isolated from vineyards and wineries ecosystems. *Arch. Biol. Technology* 38: 961-968.
- Nestrud MA & Lawless HT (2011) Recovery of subsampled dimensions and configurations derived from napping data by MFA and MDS. *Attention, Perception, & Psychophysics* 73: 1266-1278.
- Nguyen HV & Panon G (1998) The yeast *Metschnikowia pulcherrima* has an inhibitory effect against various yeast species. *Science Aliments* 18: 515-526.
- Nicolini G, Mattivi F, & Versini G (1994) Uso di glicosidasi esogene in mosti e vini ed attività enzimatiche collaterali. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 47: 45-60.
- Nicolini G, Versini G, Larcher R, Mattivi F, Moser S, Carlin S, Bertamini M, Stefanini M (2001) Qualità potenziale e possibili miglioramenti di uve e vini Merlot. *Atti Convegno 2a Mostra dei Merlot d'Italia*. Aldeno.
- Noble A & Bursick GF (1984) The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 110-112.
- Nykänen L (1986) Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture* 37: 84-96.
- Olmo HP (1995) The origin and domestication of the *Vinífera* grapes. The origins and ancient history of wine, (Gordon & Breach, eds.), pp. 31-43. Amsterdam.

- Ong BY & Nagel CW (1978) Hydroxycinnamic acid-tartaric ester content in mature grapes and during the maturation of white Riesling grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 29: 277-281.
- Ough CS, Huang Z, An D & Stevens D (1991) Amino acid uptake by four commercial yeasts at two different temperatures of growth and fermentation: effect on urea excretion and readsorption. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 26-40.
- Pagès J (2005) Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference* 16: 642-664.
- Pallmann CL, Brown JA, Olineka TL, Cocolin L, Milles DA & Bisson LF (2001) Use of WL Medium to profile native flora fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 198-203.
- Palomero F, Morata A, Benito S, Calderón F & Suárez-Lepe JA (2009) New genera of yeasts for over-lees aging of red wine. *Food Chemistry* 112: 432-441.
- Parish ME & Carroll DE (1985) Indigenous yeasts associated with muscadine (*Vitis rotundifolia*) grape and musts. *American Journal of Enology and Viticulture* 36: 165-170.
- Parsek MR & Greenberg EP (2005) Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiology* 13: 27-33.
- Pascual M, Carrau J, Serafini L & Dillon A (1990) A simple method to detect killer yeasts in industrial systems. *Journal of Fermentation Bioengineering* 70: 180-181.
- Pérez G, Fariña L, Barquet M, Boido E, Gaggero C, Dellacassa E & Carrau F (2011) A quick screening method to identify β -glucosidase activity in native wine yeaststrains: application of Esculin Glycerol Agar (EGA) medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 47-55.
- Perrin L, Symoneaux R, Maître I, Asselin C, Jourjon F & Pagès J (2008) Comparison of three sensory methods for use with the Napping® procedure: Case of ten wines from Loire valley. *Food Quality and Preference* 19: 1-11.
- Peynaud E & Domercq S (1959) A review of microbiological problem in winemaking in France. *American Journal of Enology and Viticulture*.

- Peynaud E (1996) *Enología Práctica. Conocimiento y elaboración del vino*. Editorial Mundi-Prensa.
- Pina C, Santos C, Couto JA & Hogg T (2004) Ethanol tolerance of five non-*Saccharomyces* wine yeasts in comparison with a strain of *Saccharomyces cerevisiae*. In fluence of different culture conditions *Food Microbiology* 21: 439-447.
- Pinal L, Cedeño M, Gutierrez H & Jacobs J (1997) Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process. *Biotechnology Letters* 19: 45-47.
- Pirie A & Mullins MG (1980) Concentration of phenolics in the skin of grape berries during fruit development y ripening. *American Journal of Enology and Viticulture* 31: 34-36.
- Pirie AJG (1977) Phenolics accumulation in red wine grapes (*Vitis vinifera* L.). PhD Thesis Thesis, University of Sydney, Sidney.
- Poei-Langston MS & Wrosted RE (1981) Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin flavonol model system. *Journal of Food Science* 46: 1218-1222.
- Pour Nikfardjam MP, May B & Tschiersch C (2009) Analysis of 4-vinylphenol and 4-vinylguaicol in wines from the Württemberg region (Germany). *Mitteilungen Klosterneuburg* 59: 84-89.
- Pretorius IS (2000) Tailoring wine yeast for the new millennium. . *Yeast* 16: 675-729.
- Pretorius IS, Van der Westhuizen TJ & Augustyn OPH (1999) Yeast biodiversity in vineyards and wineries and its importance to the South Africa wine industry. *South African Journal of Enology and Viticulture* 20: 61-74.
- Puyares V, Ares G & Carrau F (2010) Studying the influence of bottle shape and colour on consumer expectations and willingness to purchase Tannat wine. . *Food Quality and Preference* 21: 684-691.
- Querol A, Barrio E & Ramón D (1992) A comparative study of different methods of yeast strain characterization. *Systematic and Applied Microbiology* 15: 439-446.
- Querol A, Jiménez M & Huerta T. (1990) A study on microbiological y enological parameters during fermentation musts from poor y normal grape-harvest in the region of Alicante (Spain). *Journal of Food Science* 55: 114-122.

- Quesada MP & Cenis JL (1995) Use of amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) in the characterization of wine yeasts. *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 204-208.
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Radler F (1993) Yeasts, metabolism of organic acids. *Wine microbiology and biotechnology*, (Fleet GH, ed.), pp. 165-182. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Rankine BC, Fornachon JC & Boehm EN (1971) The influence of grape variety, climate y soil on grape composition y quality of table wines. *Vitis* 10: 33-50.
- Rankine BC, Fornachon JCM, Bridson DA & Cellier KM (1970) Malolactic fermentation in Australian dry red wines. *J. Sci. Food Agric.* 21: 471-476.
- Rantsiou K, Dolci P, Giacosa S, Torchio F, Tofalo R & Torriani S (2012) *Candida zemplinina* can reduce acetic acid produced by *Saccharomyces cerevisiae* in sweet wine fermentations. *Applied and Environmental Microbiology* 78: 1987-1994.
- Rapp A & Knipser W (1980) Eine neue methode zur anreicherung von dampfraumkomponenten. Dargestellt am beispiel des weines. *Chromatographia* 13: 698-702.
- Rapp A & Mandery H (1986) Wine aroma. *Experientia* 42: 873-884.
- Rapp A, Guentert M & Almy J (1984) Neue schwefelhaltige aromastoffe im wein - cis und trans 2-methyltiolan-3-ol. *Vitis* 23: 66-72.
- Rapp A, Guentert M & Almy J (1985) Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 36: 219-221.
- Ravaglia S & Delfini C (1994) Inhibitory effects of medium chain fatty acids on yeast cells growing in synthetic nutrient medium and in sparkling Moscato wine "Asti spumante". *Wein Wissenschaft* 49: 40-45.
- Razungles A, Bayonove C, Cordonnier R & Sapis JC (1988) Grape carotenoids: changes during the maturation period and localization in mature berries. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 44-48.

- Razungles A, Günata Z, Pinatel S, Baumes R & Bayonove C (1993) Etude quantitative de composés teréniques, norisoprénoides et de leur précurseurs dans diverses variétés de raisins. *Sciences des Aliments* 13: 59-72.
- Regueiro LA, Costas CL & Rubio JEL (1993) Influence of viticulture and oenological practices on the development of yeast population during winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture* 44: 405-408.
- Renault P, Miot-Sertier C, Marullo P, Hernández-Orte P, Lagarrigue L, Lonvaud-Funel A & Bely M (2009) Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species: potential applications in the wine industry. *International Journal of Food and Microbiology* 134: 201-210.
- Ribéreau-Gayon J, Peynaud E & Lafon M (1955) Recherches sur la g n se des produits secondaires de la fermentation alcoolique. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 37: 457-473.
- Ribereau-Gayon P (1985) New developments in wine Microbiology. *American Journal of Enology and Viticulture* 36: 1-10.
- Ribéreau-Gayon P, Boidron JN & Terrier A (1975) Aroma of Muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23: 1042-1047.
- Ribereau-Gayon P, Dubourdieu D, Doneche B & Lonvaud A (1998) *Traité d'oenologie. 1- Microbiologie du vin. Vinifications.* Dunod, Paris.
- Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A & Dubourdieu D (1998) *Traité d'oenologia. 2 - Chimie du vin. Stabilisation et traitements.* Dunod, Paris.
- Ristic R, Bindon K, Francis IL, Herderich M & Iland PG (2010) Flavonoids and C13-norisoprenoids in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz: relationships between grape and wine composition, wine colour and wine sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16: 369-388.
- Risvik E, McEwan JA & M. R (1997) Evaluation of sensory profiling and projective mapping. *. Food Quality and Preference* 8: 63-71.
- Risvik E, McEwan JA, Colwill S, Rogersa R & Lyonb DH (1994) Projective mapping: a tool for sensory analysis and consumer research. *Food Quality and Preference* 5: 263-269.
- Rivas-Gonzalo JC, Bravo Haro D & Santos Buelga C (1995) Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the

- presence of acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1444-1449.
- Rodriguez ME, Lopes CA, Barbagelata RJ, Barda NB & Caballero AC (2010) Influence of *Candida pulcherrima* Patagonian strain on alcoholic fermentation behaviour and wine aroma. *International Journal of Food Microbiology* 138: 19-25.
- Rodriguez SB & Thornton RJ (1988) Rapid utilization of malic acid by a mutant of *Schizosaccharomyces malidevorans*. *Proceedings of the Second International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology*, (Smart RE & Thornton R, eds.), pp. 313-315. New Zealand Society for Viticulture and Enology, Auckland.
- Rojas V, Gil JV, Piñaga F & Manzanares P (2001) Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 70: 283-289.
- Rojas V, Gil JV, Piñaga F & Manzanares P (2003) Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 86: 181-188.
- Romano P & Suzzi G (1992) Preliminary characterization of *Zygosaccharomyces* for oenological purpose. *Biologia Oggi* 1: 257-262.
- Romano P & Suzzi G (1993a) Higher alcohol and acetoin production by *Zygosaccharomyces* wine yeast. *Journal of Applied Bacteriology* 75: 541-545.
- Romano P & Suzzi G (1993b) Potential use for *Zygosaccharomyces* species in winemaking. *Journal of Wine Research* 4: 87-94.
- Romano P, Fiore C, Paraggio M, Caruso M & Capece A (2003) Function of yeast species and strains in wine flavor. *International Journal of Food Microbiology* 86 (1-2): 169-180.
- Romano P, Suzzi G, Comi G & Zironi R (1992) Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. *Journal Applied Bacteriology* 73: 126-130.
- Romano P, Suzzi G, Comi G, Zironi R & Maifreni M (1997) Glycerol and other fermentation products of apiculate wine yeasts. *Journal Applied Microbiology* 82: 615-618.

- Romano P, Suzzi G, Zironi R & Comi G (1993) Biometric study of acetoin production in *Hanseniaspora guillermondii* and *Kloeckera apiculata*. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 1838-1841.
- Romero C & Bakker J (1999) Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3130-3139.
- Romero C & Bakker J (2000) Effect of storage temperature and pyruvate on kinetics of anthocyanin degradation, vitisin A derivative formation, and color characteristics of model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2135-2141.
- Romero-Cascales I, Ros-García J, López-Roca J & Gómez-Plaza E (2012) The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall and colour evolution during maceration process. *Food Chemistry* 130: 626-631.
- Romeyer FM (1984) Les composés phénoliques du raisin *Vitis vinifera*. Evolution au cours de la maturation du fruit et conséquences technologiques. PhD Thesis, Université Montpellier II., Montpellier.
- Rose AH (1987) Responses to the chemical environment. *The Yeast*, Vol. 2 (Rose, A.H. and Harrison J.S. eds), pp. 5-40. Academic Press, London.
- Rosi I, Domizio P, Ferrari S, Zini S & Picchi M (1998) Influenza di diversi ceppi di batteri malolattici sulla qualità del vino. *Vignevini* 25: 60-63.
- Rosi I, Gheri A, Domizio P & Fia G (1999) Production of parietal macromolecules by *Saccharomyces cerevisiae* and their influence on malolactic fermentation. *Colloids and Mouthfeel in Wines*, Vol. 7, (Lallemant, ed.), pp. 35-39. Montreal.
- Rosi I, Vinella M & Domizio P (1994) Characterization of β -glucosidase activity in yeast of oenological origin. *Journal of Applied Bacteriology* 77: 519-527.
- Rosini G, Federici F & Martini A (1982) Yeast flora of grapes during ripening. *Microbial Ecology* 8: 83-89.
- Sabaté J, Cano J, Querol A & Guillamón JM (1998) Diversity of *Saccharomyces* strains in wine fermentation: analysis for two consecutive years. *Letters in Applied Microbiology* 26: 452-455.

- Saito N, Toki K, Suga A & Honda T (1998) Acylated pelargonidin 3,7-glycosides from red flowers of *Delphinium hybridum*. *Phytochemistry* 49: 881-886.
- Salmon JM (1989) Effect of sugar transport inactivation in *Saccharomyces cerevisiae* on sluggish y stuck enological fermentations. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 953-958.
- San-Juan F, Ferreira V, Cacho J & Escudero A (2011) Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7916-7924.
- Sapers GM & Biolkowski MA (1987) Comparison of erithorbic y ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *Journal of Food Science* 52: 1732-1733.
- Sarni-Manchado P, Fulcrand H, Souquet JM, Cheynier V & Moutounet M (1996) Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. *Journal of Food Science* 61: 938-941.
- Saucier C, Roux D & Glories Y (1996) Stabilité colloïdale polymers catéchiques. Influence des polysaccharides. 5e Symposium International d'Oenologie (Lonvaud-Funel, A. ed.), pp. 395-400. Lavoisier Tec-Doc, Paris.
- Scanes KT, Hohmann S & Prior BA (1998) Glycerol production by yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its relevance to wine: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 19: 17-22.
- Schoch CL, Sung GH, López-Giráldez F, et al. (2009) The Ascomycota Tree of Life: A Phylum-wide Phylogeny Clarifies the Origin and Evolution of Fundamental Reproductive and Ecological Traits. *Systems Biology* 58: 224-239.
- Schreier P, Drawert F & Junker A (1976) Gaschromatographisch-massenspektrometrische differenzierung der traubenaromastoffe verschiedener rebsorten von *Vitis vinifera*. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 4: 154-157.
- Schutz M & Gafner J (1993) Analysis of yeast diversity during spontaneous and induced alcoholic fermentations. *Journal Applied Bacteriology* 75: 551-558.

- Schütz M & Gafner J (1994) Dynamics of the yeast strain population during spontaneous alcoholic fermentation determined by CHEF gel electrophoresis. *Letters in Applied Microbiology* 19: 253-257.
- Schwarz M, Jerz G & Winterhalter P (2003a) Isolation and structure of Pinotin A, a new anthocyanin derivative from Pinotage wine. *Vitis* 42: 105-106.
- Schwarz M, Wabnitz TC & Winterhalter P (2003b) Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3682-3687.
- Scudamore-Smith PD, Hooper RL & McLaran ED (1990) Color and phenolic changes of Cabernet Sauvignon wine made by simultaneous yeast/bacterial fermentation and extended pomace contact. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 57-67.
- Seymour GB, Taylor JE & Tucker GA (1993) *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman & Hall, Londres.
- Shenoy VR (1993) Anthocyanins: Prospective food colours. *Current Science* 64: 575-579.
- Shi J, Yu J, Pohorly JE & Kakuda Y (2003) Polyphenolics in Grape Seeds - Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food* 6: 291-299.
- Shimizu T (1993) Killer yeast. *Wine microbiology and biotechnology*, (Fleet G, ed.), pp. 243-264. Harwood Academic Publishers, London.
- Shinohara T (1984) L'importance des substances volatiles du vin. Formation et effets sur la qualite. *Bulletin OIV* 641/642: 606-618.
- Shrikhye AJ & Francis FJ (1974) Effect of flavonols on ascorbic y anthocyanin stability in model systems. *Journal of Food Science* 39: 904-906.
- Sims CA & Morris JR (1984) Effects of pH, sulfur dioxide, storage time y temperature on the color y stability of red muscadine grape wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 35-39.
- Singleton VL & Trousdale E (1983) White wine phenolics varietal and processing differences as shown by HPLC. *American Journal of Enology and Viticulture* 34: 27-34.

- Smart RE, Dick JK & Gravett IM (1990) Canopy management to improve grape yield y wine quality -principles y practices. South African Journal of Enology and Viticulture 11: 3-17.
- Soden A (1998) The fermentation properties of non-*Saccharomyces* wine yeast and their interaction with *Saccharomyces cerevisiae*. PhD Thesis Thesis, University of Adelaide, Australia.
- Soden A, Francis L, Oakey H & Henschke P (2000) Effects of co-fermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. Australian Journal of Grape and Wine Research 6: 21-30.
- Somers T & Evans ME (1977) Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free y molecular SO₂, "chemical age". Journal of Science Food Agriculture 28: 279-287.
- Somers TC (1971) The polymeric nature of wine pigments. Phytochemistry 10: 2175.
- Somers TC (1980) Pigment phenomena - from grapes to wine. Proceeding in Grape y Wine Centennial Symposium, (Webb AD, ed.), pp. 254-257. Universidad de California, Davis.
- Sousa-Dias S, Goncalves T, Leyva JS, Peinado JM & Loureiro-Dias MC (1996) Kinetics y regulation of fructose y glucose transport systems are responsible for fructophily in *Zygosaccharomyces bailii*. Microbiology 142: 1733-1738.
- Spayd SE, Tarara JM, Mee DL & Ferguson JC (2002) Separation of Sunlight and Temperature Effects on the Composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries American Journal of Enology and Viticulture 53: 171-182.
- Sponholz WR (1993) Wine spoilage by microorganisms. Wine, microbiology and biotechnology, (Fleet GH, ed.), pp. 395-420. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Sponholz WR (1997) L' attività enzimatica dei lieviti e la stabilità del coloreross dei vini. Vignevini 7: 34-36.
- St. Leger AS, Cochrane AL & Moore F (1979) Factor Associated with Cardiac Mortality in Developed Countries with Particular Reference to the Consumption of Wine. Lancet 1: 1017-1020.

- Steger CLC & Lambrechts MG (2000) The selection of yeast strains for the production of premium quality South African brandy base products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 24: 431-440.
- Strauss CR, Gooley PR, Wilson B & Williams PJ (1987) Application of droplet countercurrent chromatography to the analysis of conjugated forms of terpenoids, phenols and other constituents of grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35: 519-524.
- Strauss CR, Wilson B, Gooley PR & Williams PJ (1986) Role of monoterpenes in grape and wine flavor. *Biogenesis of aromas*, (Parliament TH & Croteau R, ed.^eds.), p.^pp. 223-242. American Chemical Society, Washington.
- Strauss ML, Jolly NP, Lambrechts MG & Renault P (2001) Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Journal Applied Microbiology* 91: 182-190.
- Stumm C, Hermans JMH, Middlebeek EJ, Croes AF & de Vries GJ (1977) Killer-sensitive relationships in yeasts from natural habitats. *Antonie van Leeuwenhoek* 43: 125-128.
- Suárez Lepe JA (1997) *Levaduras Vínicas. Funcionalidad y uso en bodega*. MundiPrensa S.A. Madrid, España.
- Suarez-Lepe JA & Morata A (2012) New trends in yeast selection for winemaking. *Trends in Food Science and Technology* 23: 39-50.
- Suezawa Y & Suzuki M (2007) Bioconversion of ferulic acid to 4-vinylguaiacol and 4-ethylguaiacol and of 4-vinylguaiacol to 4-ethylguaiacol by halotolerant yeasts belonging to the genus *Candida*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71: 1058-1062.
- Suna S, Gonga H, Jianga X & Zhaob Y (2014) Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae* on alcoholic fermentation behaviour and wine aroma of cherry wines. *Food Microbiology* 44: 15-23.
- Suomalainen H & Lehtonen P (1979) The production of aroma compounds. *Journal of Institute of Brewing* 85: 149-156.

- Swiegers JH & Pretorius IS (2005) Yeast modulation of wine flavour. *Advances in Applied Microbiology* 57: 131-175.
- Swiegers JH, Bartowsky EJ, Henschke PA & Pretorius IS (2005) Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11: 139-173.
- Tatsuzawa F, Yo T, Saito N, et al. (1999) Acylated malvidin 3-rutinosides in dusky violet flowers of *Petunia integriflora* subsp. inflata. *Phytochemistry* 52: 351-355.
- Timberlake C & Bridle P (1976) Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, y acetaldehyde y their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 27: 97-105.
- Timberlake CF & Bridle P (1967) Flavylum salts, and anthocyanidins. Reactions with sulphur dioxide. *Journal of Science Food Agriculture* 18: 479-485.
- Tofalo R, Schirone M, Toriani S, Rantsiu K, Cocolin L & Perpetuini G (2012) Diversity of *Candida Zemplinina* strains from grapes and Italian wines. *Food Microbiology* 29: 18-26.
- Tominaga T, Peyrot des Gachons C & Dubourdieu D (1998) A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 5215-5219.
- Valle-Rodríguez JO, Hernández-Cortés G, Córdova J, Estarrón-Espinosa M & Díaz-Montaña DM (2012) Fermentation of Agave tequilana juice by *Kloeckera africana*: Influence of amino-acid supplementations. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* 101: 195-204.
- Van Buren JP, Bertino JJ & Robinson WB (1968) The stability of wine anthocyanins on exposure to heat y light. *American Journal of Enology and Viticulture* 19: 147.
- Van Der Vaart M & Verrips T (1998) Cell wall proteins of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Genetical Engineear* 15: 387-411.
- Van der Westhuizen TJ, Augustyn OPH & Pretorius IS (2000) Geographic distribution of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from vineyards in the Coastal Regions of the Western Cape in South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture* 21: 3-9.

- Vanbeneden N, Gils F, Delvaux F & Delvaux FR (2008) Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts. *Food Chemistry* 107: 221-230.
- Varela P & Ares G (2012) Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International* 48: 893-908.
- Vasserot Y, Arnaud A & Galzy P (1995) Monoterpenol glycosides in plants and their biotechnological transformation. *Acta Biotechnology* 15: 77-95.
- Vasserot Y, Caillet S & Maujean A (1997) Study of anthocyanin adsorption by yeast lees. Effect of some physicochemical parameters. *American Journal of Enology and Viticulture* 48: 433-437.
- Vasserot Y, Christiaens H, Chemardin P, Arnaud A & Galzy P (1989) Purification and properties of a β -glucosidase of *Hanseniaspora vineae* Van der Walt and Tscheuschner with the view to its utilization in fruit aroma liberation. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 271-279.
- Versavaud A, L. Dulau, y J.N. Hallet. (1993) Étude écologique de la microflore levurienne spontanée de vignoble des Charentes et approche moléculaire de la diversité intraspécifique chez *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev Fr Oenologie* 142: 20-28.
- Versavaud A, P. Corcoux, C. Pouilly, L. Dulau, y J.N. Hallet (1995) Genetic diversity y geographical distribution of wild *Saccharomyces cerevisiae* strains from the wine-producing area of Charentes, France. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 3521-3529.
- Versini G & Tomasi T (1983) Confronto tra i componenti volatili dei vini rossi otteniti con macerazione tradizionale e macerazione carbonica. Importanza differenziante del cinamato di etile. *L'Enotecnico* 9: 596-600.
- Versini G, Carlin S, Nicolini G, Dellacassa E & Carrau F (1999) Updating of varietal aroma components in wines. *Proceedings of VII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*, pp. 325-349. Mendoza, Argentina.

- Versini G, Dalla Serra A & Pellegrini R (1984) Contributo alla conoscenza dell'aroma dei vini da macerazione carbonica: analisi della formazione e contenuto dei componenti più qualificanti. *L'Enotecnico* 19: 595-600.
- Versini G, Dalla Serra A, Dell'Eva M, Stefanini M & Inama S (1987) Caratteristiche aromatiche dell'uva e del vino "Moscato rosa". *Atti Simp. Intern. sugli Aromi dell'Uva e del Vino*, S. Michele all'Adige, giugno 1987, (Scienza A & Versini G, eds.), pp. 399-410. Manfrini, Calliano.
- Versini G, Orriols I & Dalla Serra A (1994a) Aroma components of Galician Albariño, Loureira and Godello wines. *Vitis* 33: 165-170.
- Versini G, Rapp A, Dalla Serra A, Pichler U & Ramponi M (1994b) Methyl trans geranate and farnesoate as markers for Gewürztraminer grape skins and related distillates. *Vitis* 33: 139-142.
- Vetsch U & Lüthi H (1964) Farbstoffverluste während des biologischen Säureabbaus von Rotweinen. *Schweiz. Z. Obst. Weinbau* 73: 124-126.
- Viala P & Vernorell V (1903) *Traité général de viticulture*. Tomo IV - Ampélographie. Masson et cie., París.
- Viana F, Belloch C, Vallés S & Manzanares P (2011) Monitoring a mixed starter of *Hanseniaspora vineae*-*Saccharomyces cerevisiae* in natural must: Impact on 2-phenylethyl acetate production. *International Journal of Food Microbiology* 151: 235-240.
- Viana F, Gil JV, Genovés S, Vallés S & Manzanares P (2008) Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and oenological traits. *Food Microbiology* 25: 778-785.
- Viana F, Gil JV, Vallés S & Manzanares P (2009) Increasing the levels of 2-phenylethyl acetate in wine through the use of a mixed culture of *Hanseniaspora osmophila* and *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology* 135: 68-74.
- Vivar-Quintana AM, Santos-Buelga C & Rivas-Gonzalo JC (2002) Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta* 458: 147-155.

- Vivar-Quintana AM, Santos-Buelga C, Francia-Aricha E & Rivas-Gonzalo JC (1999) Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. Food Science and Technology International 5: 347-352.
- Vivas N, Lonvaud-Funel A & Glories Y (1997a) Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. Food Microbiology 14: 291-300.
- Vivas N, Lonvaud-Funel A, Glories Y & Augustin M (1997b) Effect of malolactic fermentation in barrels and tanks on red wine composition and quality. Practical vineyard and winery 68-77.
- Voirin S, Baumes R & Bayonove C (1990) Synthesis and NMR spectral properties of grape monoterpenyl glycosides. Carbohydrate Research 207: 39-56.
- Volschenk H, Viljoen M, Grobler J, Petzold B, Bauer F, Subden R E, Young R A, Lonvaud A, Denayrolles M, Van Vuuren H J (1997) Engineering pathways for malate degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. Nature Biotechnology 15: 253-257.
- Wang H, Nair MG, Strasburg G, Chang Y, Booren A, Gray JL & De Witts DL (1999b) Antioxidant y antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. Journal of Natural Products 62: 294-296.
- Wang H, Race EJ & Shrikhande AJ (2003a) Anthocyanin Transformation in Cabernet Sauvignon Wine during Aging. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 7989-7994.
- Wang J & Sporns P (1999a) Analysis of anthocyanins in red wine and fruit juice using MALDI-MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 2009-2015.
- Wang LS & Stoner G (2008) Anthocyanins and their role in cancer prevention. Cancer Letters 269: 281-290.
- Wang XD, Bohlscheid JC & Edwards CG (2003b) Fermentative activity and production of volatile compounds by *Sacharomyces* grown in synthetic grape juice media deficient in assimilable nitrogen and/or pantothenic acid. Journal Applied Microbiology 94: 349-359.
- Whitaker JR (1984) Pectic substances, pectic enzymes and haze formation in fruit juices. Enzyme and Microbial Technology 6: 341-349.

- Williams PJ (1993) Hydrolytic flavor release in fruit and wines through hydrolysis of nonvolatile precursors. Flavor science - Sensible principles and techniques, (Acree TE & Teranishi R, eds.), pp. 287-303. American Chemical Society, Washington D.C.
- Williams PJ, Sefton MA & Leigh F (1992) Glycosidic precursors of varietal grape and wine flavor. Flavor precursors: thermal and enzymatic conversions. American Chemical Society Symposium, (Teranishi R, Takeoka GR & Guntert M, eds.), pp. 74-86. Washington.
- Williams PJ, Strauss CR, Wilson B & Massy-Westropp RA (1982) Studies on the hydrolysis of *Vitis vinífera* monoterpene precursor compounds and model monoterpene β -D-glucosides rationalizing the monoterpene composition of grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 30: 1219-1223.
- Winterhalter P & Skouroumounis GK (1997) Glycoconjugated aroma compounds: occurrence, role and biotechnological transformation. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, Vol. 55 (Scheper T, ed.), pp. 73-105. Springer, Germany.
- Yamamoto N, Amemiya H, Yokomori Y, Shimizu K & Totsuka A (1991) Electrophoretic karyotypes of wine yeasts. American Journal of Enology and Viticulture 4: 358-363.
- Yanai T & Sato M (1999) Isolation and properties of β -glucosidase produced by *Debaryomyces hansenii* and its application in winemaking. American Journal of Enology and Viticulture 50: 231-235.
- Zahavi R, Droby S, Cohen L, Weiss B & Ben-Arie R (2002) Characterisation of the yeast flora on the surface of grape berries in Israel. Vitis 41: 203-308.
- Zambonelli C (1988) Microbiologia e Biotecnologia dei Vini. . Bologna.
- Zambonelli C, Grazia L, Giudice P & Tini V (1991) Autolysogeny and high isobutyl alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Food Biochemistry 15: 281-283.
- Zenoni S, Ferrarini A, Giacomelli E, et al. (2010) Characterization of transcriptional complexity during berry development in *Vitis vinífera* using RNA-Seq. Plant Physiology 152: 1787-1795.

- Zironi R, Romano P, Suzzi G, Battistutta F & Comi G (1993). Volatile metabolites produced in wine by mixed and sequential cultures of *Hanseniaspora guilliermondii* or *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology Letters 15: 235-238.
- Zoecklein B, J Marcy, J. Williams, & Jasinski I (1997). Effect of native yeasts and selected strains of *Saccharomyces cerevisiae* on glycosyl glucose, potential volatile terpens, and selected aglycones of white Riesling (*Vitis vinífera* L.) wines. Journal of Food Composition and Analysis 10: 55-65.
- Zohre D & Erten H (2002). The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation. Process Biochemistry 38: 319-324.
- Zott K, Miot-Sertier C, Claisse O, Lonvaud-Funel A & Masneuf-Pomarede I (2008). Dynamics and diversity of non-*Saccharomyces* yeasts during the early stages in winemaking. International Journal of Food Microbiology 125: 197-203.