

USO DE LEVADURAS SELECCIONADAS PARA LA OBTENCION DE VINOS DE MESA A PARTIR DE MOSTOS CONCENTRADOS

M. J. RIGONE DE PRITZ y PEDRO ROSELL

SUMMARY

An experience, in order to obtain table wines concentrated grape must, using selected yeast strains, was carried on.

The behaviour of the yeast in natural must, is known and many of them are used in the wineries of our zone.

The variants tested, were specially, agregate of different doses of tartaric and the use of vitamins and yeast extract, being these latter, used as activators of the fermentation.

Determinations of density, number of cells, fructose, sugars and alcohol were made along the different trials. At end of each process a degustation test was made.

The strains of yeast that behave better were chosen and the more convenient doses of tartaric and activators are pointed out.

I — ANTECEDENTES

El uso de mostos concentrados para la elaboración doméstica de vinos fue corriente en EE. UU. durante la época de la prohibición, como los destaca CRUSSL (1).

En Italia, según GAROGLIO (2), si bien estos mostos se conocen desde la época de los romanos, las primeras fábricas para elaboración de estos mostos, se instalan en el S. XX; en 1931 la producción de concentrados empezó a alimentar la industria de los vinos blancos licorosos y semidulces. Se elaboran en ese año 50.000 q. y al año siguiente 100.000 q. Es el momento en que Italia fija una graduación alcohólica para los vinos.

En ese tratado GAROGLIO enumera y describe los principales tipos de concentrados como:

- a) mostos concentrados naturales
- b) mostos desacidificado y luego concentrados
- c) mostos naturales agregados de azúcar y luego concentrados

d) ligeramente concentrados y luego adicionados de azúcar.

Describe también los sistemas y la maquinaria que en Italia ya habían tratado entre otros OTTAVI y CERUTI (3) en 1927, y Bertuzzi (4) en 1949. Este último autor resume los sistemas de elaboración en:

- 1) concentración de efecto simple
- 2) concentración de doble efecto
- 3) concentración a termocompresión.

En el tratado de PARONETTO de 1963 (5), se describe con amplitud el problema de la desulfitación de los mostos concentrados y las características de los mismos. Considera que la desulfitación puede hacerse por:

- a) depresión combinada con corriente de aire
- b) insuflación de aire a diversas temperaturas y tiempos
- c) agitación
- d) centrifugación (que considera poco eficaz)
- e) trasvasado en lluvia.

Cita a GENTILINE (1948, en Ann. Sper. Agrar. Roma, pág. 351) que usó vacío y una corriente de aire insuflado alternadamente, con una eliminación del 86% del total.

Este autor experimentó con los agentes de concentración separadamente y combinándolos, demostrando la superioridad de los tratamientos combinados.

Por lo que se refiere a los efectos de la concentración, destaca que no sólo se concentran los azúcares, sino también las sustancias minerales extractivas y los ácidos. La acidez de los mostos, está formada por un 50% de tartárico y el resto es málico. El tartárico, al combinarse con calcio o potasio da sales insolubles, mientras que los otros ácidos, dan sales solubles que quedan en el mosto. Luego, del 30 al 70 % del tartárico se elimina, pero el málico no se reduce. Por consiguiente, la acidez de los mostos está representada por un 40% de tartárico y un 60% de los demás ácidos, entre los cuales, el málico es el más importante.

En nuestro medio, entre otros, han descripto los sistemas: MAVEROFF en 1949 (6), en su tratado tan difundido en su época, y últimamente OREGLIA (7), autor e investigador tan vinculado a nuestra industria, en su texto de Enología, enumera y describe los defectos más frecuentes en los mostos concentrados y las causas que los originan como: el amargo, el oscurecimiento, el gusto a cocido, etc. Las normas a que es indispensable ajustarse para evitarlos y finalmente una amplia descripción de los distintos sistemas que resume en:

1) Concentradores a presión ordinaria en contacto o al abrigo del aire, en sus diversos tipos y con las modificaciones que han recibido.

2) Concentradores a presión reducida: 72 a 74 mm, con temperaturas de ebullición a los 48°C (impropiamente llamados al vacío). En algunos tipos de equipos, la ebullición se realiza a 36-38°C.

3) Concentración mediante deshidratación por el frío (congelación) que considera impráctica por su costo y de muy pobres resultados (25° Bé).

En nuestra región de Cuyo, la difusión de los concentrados y la instalación de grandes equipos para la obtención de los mismos, se registra en los últimos años y coincide con un momento de crisis provocada por una cosecha extraordinariamente alta y la falta consecuente de mercado para la producción.

Estos concentrados se han abierto camino en el mercado interno y exterior, y se esperó que una gran canalización del mismo radicaría en la elaboración de vinos de mesa en los lugares de destino.

MATALAS, MARSH y OUGH (8), efectivamente sostienen que el uso de mostos concentrados para la producción de vinos secos está limitado a áreas donde no se cultivan viñas y resulta más barato importar el mosto concentrado que el vino, conceptos compartidos por Rodríguez (9).

AMERINE y OUGH (10) y (11), han experimentado también la obtención de vinos abocados, a partir de estos mostos.

En el trabajo citado de MATALAS y colaboradores (8), se usan mostos obtenidos a temperaturas aproximadas a los 21°C, 33°C y 55°C, y los mantienen almacenados por tiempos que oscilan entre 0 horas, 2 meses y medio y 9 meses. Las temperaturas de fermentación fueron aproximadamente de 12°C y 21°C. De las características del producto obtenido, deducen que la temperatura de almacenamiento del mosto es crítica: debe estar en lo posible cerca de 0°C.

Por su parte, GAROGLIO (2), refiriéndose a la temperatura de obtención del mosto, sostiene que si esta se mantiene debajo de 40°C se obtiene un mosto concentrado con el aroma del jugo fresco. También estableció que la concentración superior a 70° Brix, da lugar a que la dextrosa hidratada precipite y que ocurran pérdidas de tartratos a medida que aumenta la concentración.

En nuestra zona, no se dispone de bibliografía lo suficientemente ilustrativa por el momento, y lo que puede mencionarse se debe a referencias personales. Así puede afirmarse que las temperaturas de obtención oscilan entre los 32°C y los 55°C (32°C en la Facultad de Enología Don Bosco de Rodeo del Medio, 42°C en Bodega Orfila, que los almacena en piletas a 15°C).

El efecto individual de los ácidos presentes en los mostos ha sido estudiado por OUGH y KUNKEE (12). Trabajaron con mostos desanionizados y agregados de cantidades variables de ácidos. De la degustación practicada por 10 expertos sobre los vinos obtenidos, resultaron mejor clasificados los agregados con ácidos sulfúrico y los agregados con L-málico. Le siguieron DL-málico, cítrico más tartárico, más málico; tartárico y finalmente cítrico, en dicho orden. El que dio más gusto a ácido fue el tartárico. En cuanto a velocidad fermentativa, en

general se resintió por el agregado de ácidos. La atenuación mayor fue ejercida por cítrico y málico; la menor por el ácido sulfúrico, siendo intermedia la del tartárico. Esto concuerda con lo establecido por Salas y colaboradores (13), que el citrato inhibe la fosfofrutoquinasa.

El uso de cepas de levaduras seleccionadas: Existe una amplia bibliografía al respecto, tanto extranjera (14), (15), como del país (16), (17), (18), (19) y (20) entre otros.

Con tales cepajes puede obtenerse, como establecen VERONA y FLORENZANO (14), rapidez de fermentación y clarificación, mayor rendimiento y acidez volátil menor, ya que cada cepa (más que cada especie) se comporta en forma muy particular con respecto a cada uno de los componentes del vino.

Estos conceptos están ampliamente corroborados por la escuela francesa de Burdeos (trabajos resumidos por R. GAYON y PEYNAUD). Y en nuestro medio, entre otros trabajos que citamos por VEGA (20), que estudia la cantidad de alcohol, glicerina y ácidos volátiles producidos por distintos cepajes.

Un mosto concentrado no es, por supuesto, estéril, y la práctica evidenció la existencia de levaduras en los mismos, que se aislaron y usaron en nuestro presente trabajo, pero el uso de determinadas cepas es por lo antedicho fundamental.

Incentivación de la fermentación: Es este un problema de la mayoría de las regiones vitivinícolas, especialmente en años de vendimia anormales (R. GAYON y PEYNAUD) - (14).

La velocidad de fermentación también fue estudiada por OUGH (21), (22) y (23), entre 1964-66, con especial referencia a temperatura, concentración y pH, estando los óptimos alrededor de los 25°C, 25° Brix y pH 4, respectivamente.

Ya en 1929 PACOTTET y GUITTONNEAU (24), mencionan como activadores de la fermentación sólo a las sales de amonio y fosfato, en el caso de los mostos de uva.

Entre nosotros MAGISTOCCHI (25), en 1955, agrega a estas sales que considera muy eficaces, sobre todo en la forma monoamónica, las levaduras trituradas, en pasta, aplicadas a razón de 5 a 10 g. por Hl.

VERONA y FLORENZANO (14), destacan la influencia de la aereación, cuando se la aplica en el momento de la fase logarítmica de multiplicación de las levaduras.

AMERINE y CRUESS (26), citan como factores de crecimiento de las levaduras, además de tiamina y biotina, inositol, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido p-aminobenzoico y piridoxina. Pero sostienen que no se han obtenido resultados verdaderamente concluyentes de su eficacia como activadores de la fermentación, cuando se agregan a los mostos. Atribuyen estos resultados a que tales factores ya existen en los mostos o bien a que las levaduras, con su capacidad de síntesis, pueden suplir las deficiencias. Se apoyan en los trabajos de Silva (1953), GRÚDICE (1955), R. GAYON y PEYNAUD (1952), JOSLYN (1950), WIL-

KEN y RICHARD (1951-52), cuyas conclusiones, son, en efecto, bastante disímiles.

AMERINE y SINGLETON en 1966 (27), corroboraron lo expresado en el tratado anterior (26), de uno de los autores. Afirman que el mosto de uva contiene suficiente amino-ácidos y vitaminas para asegurar un buen desarrollo de la levadura y una buena fermentación y que es único en este sentido, ya que sí, los necesitan, los mostos de otras frutas en general.

Que gran parte de las especies de levadura son autotrofas, pero que su desarrollo se ve favorecido por factores de crecimiento, ya quedó perfectamente establecido con los trabajos de WICKERHAM (28) y más recientemente con los de la escuela francesa de Burdeos, resumidos por R. GAYON y PEYNAUD (ya citados - 15). Estos autores resumiendo los trabajos de dicho centro de investigación y de técnicos de otros países, como CASAS LUCAS, GARINO-CANINA, VERONA, DEL GIÚDICE, KNUCKEL, DESHUSSES, CORBAZ, etc., consideran activadores:

1 - El activador de Nielsen (conjunto de sustancias existentes en el líquido donde se cultivó *Aspergillus niger*); acelera al principio de la fermentación, la formación de triosa-fosfato, y duplica el número de levaduras.

2 - Los ácidos nucleicos: a razón de 0.5 a 1 g. p/l.

3 - Extracto de levaduras como el Difco y Oxoid a razón de 4 g. p/l. (prohibitivo para vinos finos y no sólo para los comunes).

4 - Otros extractos de levaduras surgidos especialmente en los países vitivinícolas europeos, como el Zymosan, el Zimol, el Tronozym, enriquecidos con sales minerales y N orgánico que se usan a razón de 3 g. p/l.

5 - El Roviferm, que además de vitaminas, contiene peptona y sulfato de amonio y que Luthi (Suiza), recomienda para mostos concentrados.

6 - El ácido pirúvico y la acetaldéhidra (tesis de S. Lafourcade).

7 - Entre las vitaminas la que ocupa el primer lugar es la tiamina, a veces el pantotenato y la biotina.

II - OBJETO DEL TRABAJO

Por los antecedentes mencionados se impuso un estudio comparativo, que abarcó cepas de la flora autóctona aisladas en los mismos mostos concentrados y cepas ya seleccionadas y probadas en nuestro medio.

Este trabajo se concretó fundamentalmente a determinar las condiciones en que un mosto concentrado debe fermentar y a la incremen-

tación del poder fermentativo, en particular en los estadios iniciales, mediante el uso de activadores.

Para cumplimentar lo antedicho, se procedió a:

- a) Preparado del mosto y prueba de su estabilidad.
- b) Preparación de los cepajes microbianos: aislamiento, multiplicación en estado puro.
- c) Prueba de fermentación, en condiciones de temperatura standardizadas.
- d) Activación de las fermentaciones.

El trabajo permitió la aplicación de los ensayos al estudio de aspectos que interesan a las fermentaciones, en general, como:

- a) el efecto de vitaminas y en particular de la tiamina en nuestros caldos.
- b) posibilidad de reducir la dosis de SO_2 , mediante el uso de tiamina.
- c) posibilidad de aplicar los datos obtenidos a la producción de vinos de gota.

III — MATERIAL

Mostos concentrados proporcionados por Bodega Orfila, con las siguientes características:

Alcohol p/100 en volumen ($^{\circ}\text{GL}$)	0.2
Peso específico a $15^{\circ}/15^{\circ}\text{C}$	1.300
Extracto seco a 100°C , g/l	824.00
Azúcares reductores g/l	810.00
Extracto seco libre de azúcar reductor	81.00
Acidez total en ácido tartárico	5.6
Anh. sulfuroso total mg/l	400.0
Observación polarimétrica	-34
Amoníaco mg/l	80
P_2O_5 mg/l	1000
S O_2 Libre mg/l	64

Cepas de levadura a inocular:

20 S.J. Sacch. cerev. var. ellip. aislado de mostos de la prov. de San Juan

AB Sacch. cerev. var. ellip. aislado de vinos reserva, de la prov. de Mendoza

Chl, aislada de Champagne de Mendoza

Sacch. rosei, cepa de Burdeos

Schizosaccharomyces pombé, aislada en Burdeos por Mlle. Domerq

Dos levaduras indígenas aisladas en mosto concentrado provisto por Bodega Orfila, que denominamos MCO, y la segunda provista por Bodega Turia, que denominamos MCT.

IV — METODOS Y EXPERIENCIAS REALIZADAS

Se realizaron pruebas de fermentación en recipientes de vidrio, de 1.500 ml, conteniendo mosto diluido, hasta una concentración de azúcar de 270 g/l, pasteurizados y sin pasteurizar.

Se efectuaron variantes con agregados de ácido tartárico, para corregir las deficiencias de acidez, en las siguientes dosis: de 1 gl. hasta 4,3 g/l.

También se probó, como activador, el fosfato de amonio a razón de 1 g/l, que no dio diferencias significativas.

Otra variante fue el uso de vitaminas: de un ensayo previo de orientación, la mejor dosis resultó, para este mosto, 0,4 mg/l. de tiamina.

Las restantes vitaminas y sus respectivas dosis para cuando se usa el complejo son:

Riboflavina	0.2 mg/l
Piridoxina	0.4 mg/l
Pantotenato de calcio	1,2 mg/l
Niacina	0.4 mg/l

Además se usó extracto de levaduras (yeast extract Difco) a razón de 0.5 y 0.1 g/l.

Diariamente se hicieron determinaciones de densidad, con balanza de Mohr Westfal, en los primeros ensayos, suprimiéndoselo en los finales por no disponerse de suficiente material, como para efectuar rellenos. Poco significativo fue el recuento de células.

También diariamente se determinó azúcares reductores, por el método de Schales y Schales (29), que se basa en la reducción en medio alcalino regulado del ferricianuro de potasio, por los azúcares.

La determinación de fructosa se hizo por el método de Roe (30), que se basa en la reacción entre resorcinol, en medio HCl con las ceto-hexosas, que da un producto coloreado.

El método para determinar etanol, se basa en la oxidación del etanol por el bicromato de potasio, en medio ácido, midiendo el color verde que aparece (32).

Las determinaciones de aldehida por SCHIFF (33), no pudo hacerse, por falta de sensibilidad del método para estas determinaciones.

La temperatura de fermentación se mantuvo en cámara acondicionada a 20°C. aproximadamente, durante todas las experiencias. El primer ensayo de fermentación, tuvo por objeto comparar el comportamiento de cepas importadas, con cepas indígenas.

La mejor de las cepas importadas fue Sacch. rosei, pero la superioridad de las indígenas fue neta en cuanto a velocidad fermentativa, producción de alcohol, rendimiento y caracteres organolépticos del vino obtenido.

En el segundo ensayo, se escogieron las mejores importadas y se las comparó con las locales. En este caso se usaron las siguientes cepas: AB, Chl, Sacch. rosci, 20 S. J., J. (lev. del Jerez), y 20 S. J. más Sacch

rosei (simultáneamente). En consecuencia, las cepas usadas determinaron seis variantes que se hicieron en dos lotes de recipientes: pasteurizados y sin pasteurizar.

Además, se dispuso otro lote, al cual se agregó tartárico a razón de 4.3 g/l de tartárico y fosfato de amonio a razón de 1.0 g/l, también una suspensión de células que en promedio dio 1.000.000 por cc.

Los resultados de esta experiencia, nos indujeron a eliminar la levadura del Jerez y Sacch. rosei (cuando se la empleó sola), dado que se trataba de escoger los cepajes más eficientes.

Por consiguiente, el trabajo continuó con las cepas restantes: 20 S. I., 20 S. J. más Sacch. rosei, AB, Chl, y MCO, esta última aislada del mosto concentrado de Bodega ORFILA (se eliminó la MCT, por ser notablemente lenta). En esta experiencia, la variante fue el agregado de tartárico, a razón de 4.3 g/l. Todas dieron una densidad inicial de 1.137 y se sembró a razón de 1.000.000 de células por cc.

Se tomaron muestras diarias para: densidad, azúcares, alcohol, y fructosa, como también cantidades mínimas para recuento de células.

A los dos días, o sea cuando la fermentación era neta, los datos de densidad oscilaban entre 1060, correspondiente a MCO, la de mayor velocidad hasta ese momento, y 1971 correspondiente a Chl y a 20 S. J. más Sacch. rosei; siendo 1069 para AB y 1070 para 20 S. J.

A los cuatro días después de sembrado, el recuento de células arrojó resultados muy parejos, la densidad no había llegado a 1.000 (1006 la MCO, que era la más veloz) y se hizo un primer trasiego.

A los ocho días de fermentación se llevaron a heladera y 24 hs. después se hizo un segundo trasiego a botellas de 1 litro con tapón de goma perforado por un capilar. Las densidades están alrededor de 0.994.

El último ensayo en pequeños recipientes, se hizo usando las cepas que mejor se comportaron, que fueron la 20 S. J. y la Chl, sin y con 1, 2, 3 g/l de tartárico y sin y con vitaminas (tiamina y pantotenato a razón de 0.4 y 1.2 mg/l respectivamente).

Se tuvo un total de 12 recipientes donde se determinó alcohol y se degustó, con el objeto de determinar una posible influencia del tartárico, en la producción de alcohol y en el "bouquet". También se determinó azúcar final, que estuvo entre los 4.5 y 6 g/l, con variaciones insignificantes entre tratamientos y cepas.

A continuación se hizo un ensayo en grandes recipientes, con las dos cepas mencionadas, adicionadas de tartárico a razón de 3 g/l y vitaminas en las dosis del ensayo anterior. Se procedió a tomar muestras diarias y se determinó azúcares reductores y alcohol. Estos resultados se expresan en gráficos.

Finalmente, en las condiciones del ensayo anterior, y con las mismas cepas, es decir la Chl y la 20 S. J., se efectuó un tratamiento comparativo entre el complejo vitamínico y el agregado de extracto de levadura Difco, en las dosis de 0.1 y 0.5 mg/l.

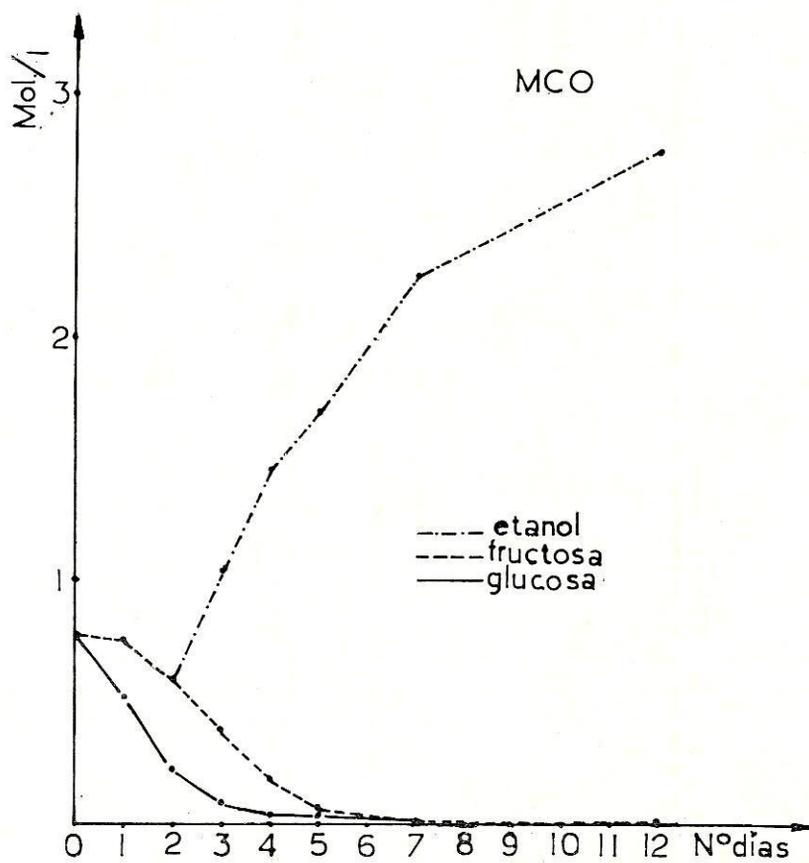
VI — CONCLUSIONES

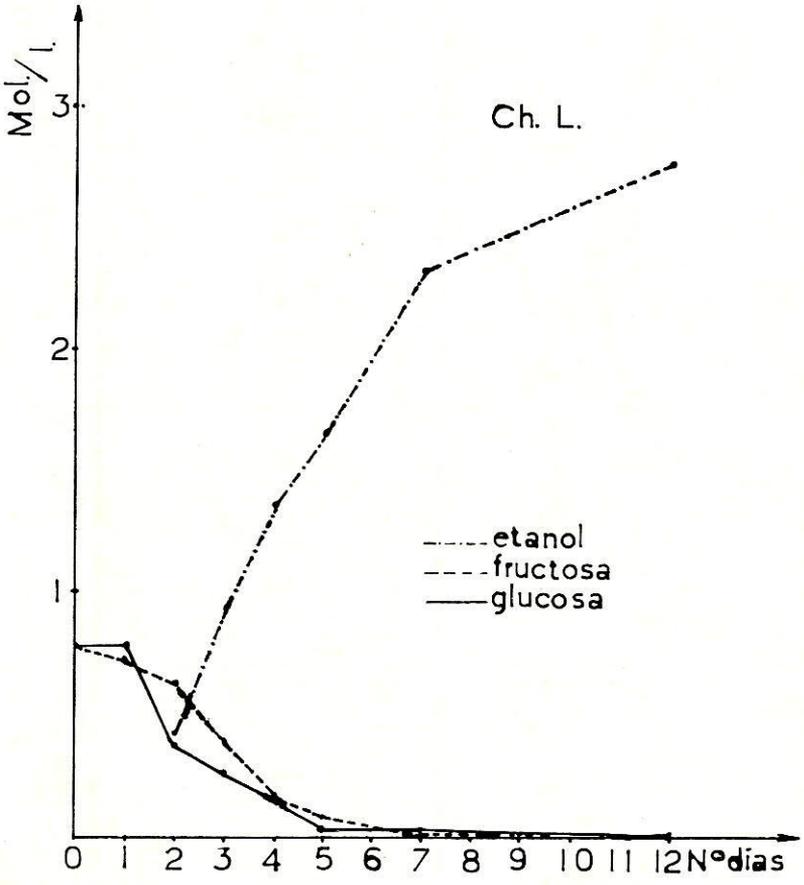
- 1 — El mosto concentrado usado carece del gusto y aroma del mosto fresco. Pierde gran parte de la acidez por precipitación, durante el proceso de concentrado. Esto último es fácilmente subsanable, con el agregado de ácido tartárico, no así lo que se refiere al aroma y gusto que hasta tanto no se cuente con sistemas efectivos de recuperación, es aparentemente insoluble.
- 2 — El defecto anterior es muy probablemente el responsable de la mala calidad del vino elaborado, el cual en un análisis corriente (ej. por los métodos oficiales) aparece como inobjetable, pero para un catador aún no experimentado, resulta un vino "chato" y sin aroma.
- 3 — El mejor (o menos malo) de los vinos, fue obtenido con el uso de una levadura de champagne: la Chl.
- 4 — La mejor dosis de tartárico fue de 3 g/l.
- 5 — La activación de la fermentación por las vitaminas, fue efectiva, salvo en el caso de la Chl, que por lo tanto debe considerarse independiente o capaz de síntesis, en las dosis requeridas, para una fermentación completa. Las dosis señaladas por la bibliografía extranjera, que son económicamente soportables por la industria fueron: 0.4 mg/l de tiamina y 1.2 mg/l de pantotenato.
- 6 — La activación por extracto de levaduras: se probaron únicamente dosis también económicamente factibles para la industria: 0.1 y 0.5 g/l. Resultó más efectiva la segunda dosis. Estos resultados se apartaron notablemente de bibliografía extranjera que establece 4 g/l.
- 7 — La que resultó más exhaustiva, en el consumo de azúcar fue también la cepa Chl, que llegó a rastros, en un período lo suficientemente corto, como para evitar autólisis y malos gustos (17 días). Estimamos que esta causal hace que el producto final, sea más aceptable.
- 8 — La conclusión anterior se apoya también en la circunstancia del ensayo en que se hicieron trasiegos a los 4 días y a los 8 días, tampoco se obtuvo un vino bien calificado en la degustación.

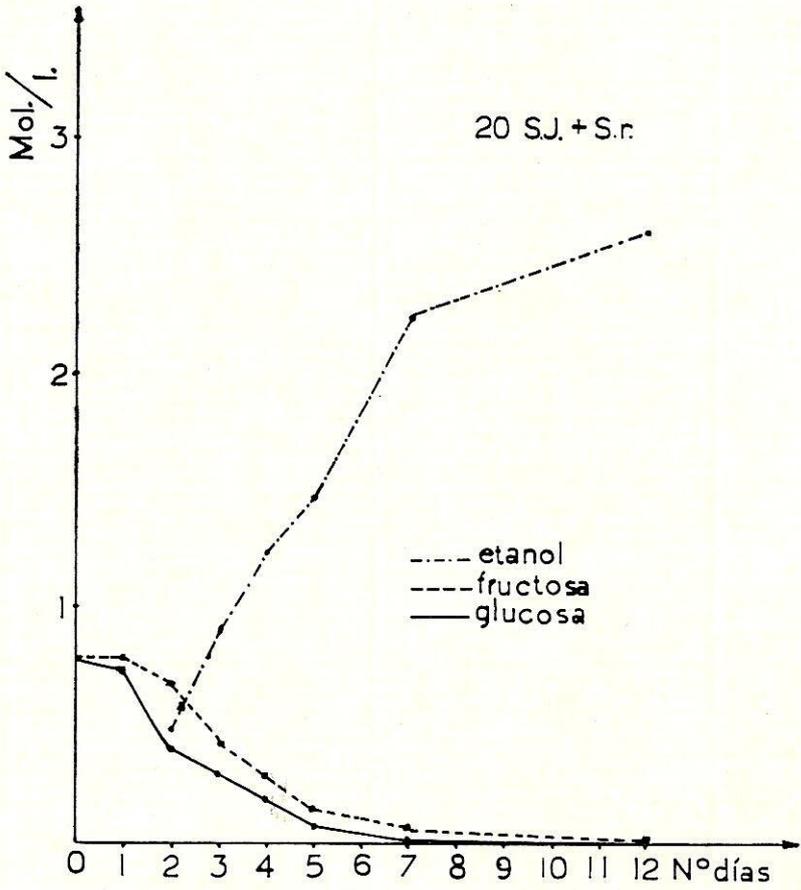
RESUMEN

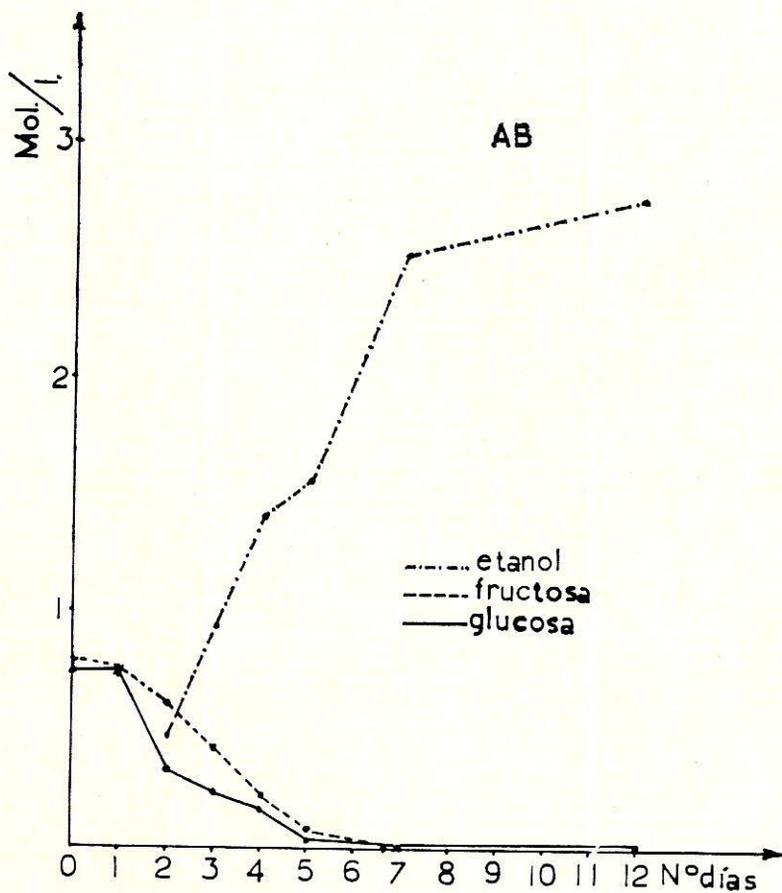
Se experimentó la posibilidad de obtener vinos de mesa a partir de mostos de uva concentrados, mediante el uso de cepas de levadura seleccionadas y cuyo comportamiento en mostos naturales es conocido y varias de ellas usadas por bodegas de nuestro medio.

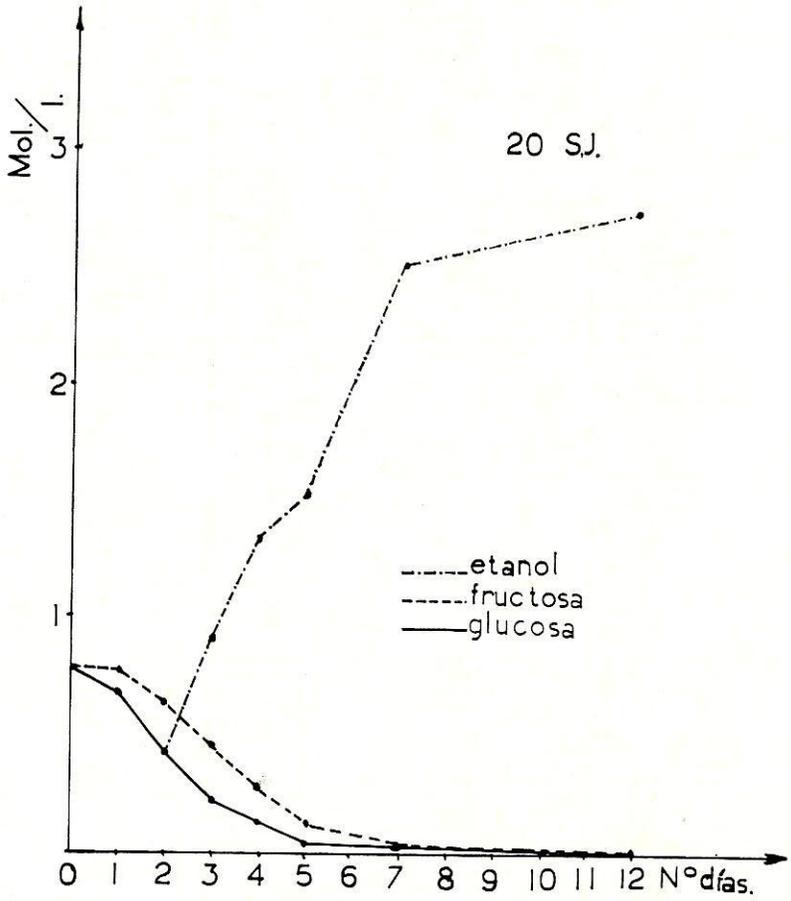
Las variantes ensayadas fueron, especialmente, agregado de distintas dosis de tartárico, y el uso de vitaminas y extracto de levaduras, estos últimos como activadores de la fermentación. A lo largo de los distintos ensayos se hicieron determinaciones de densidad, n° de células, fructosa, azúcares y alcohol. Cada proceso finalizó con un ensayo

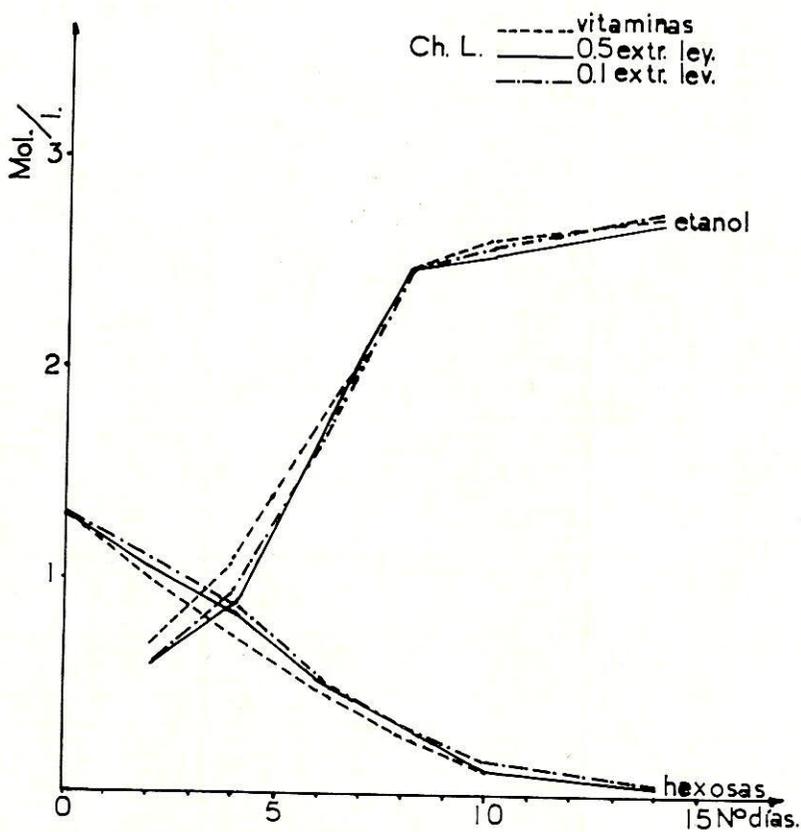


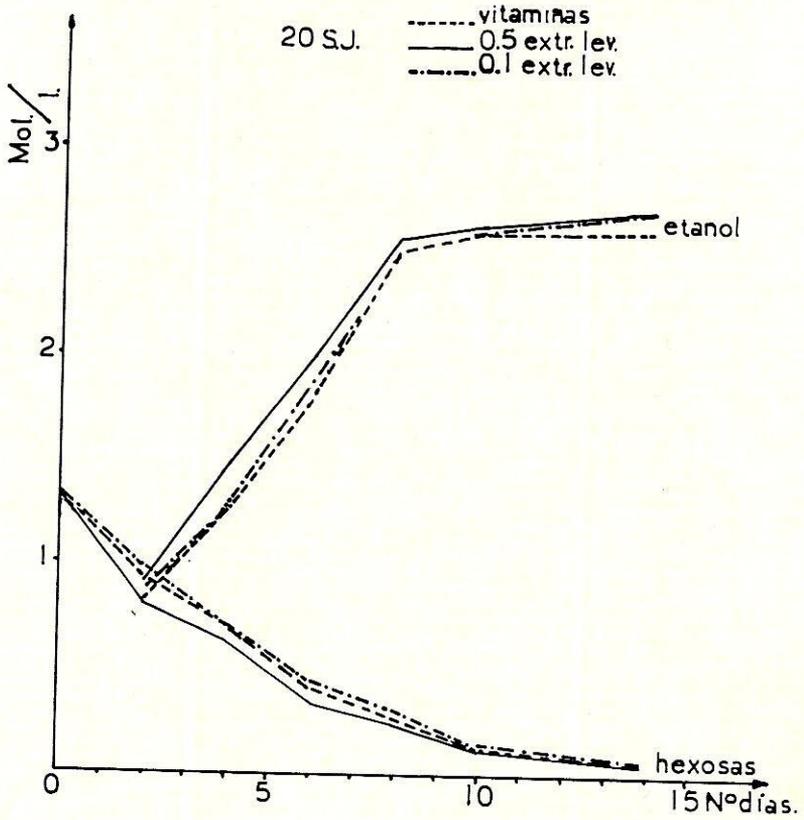


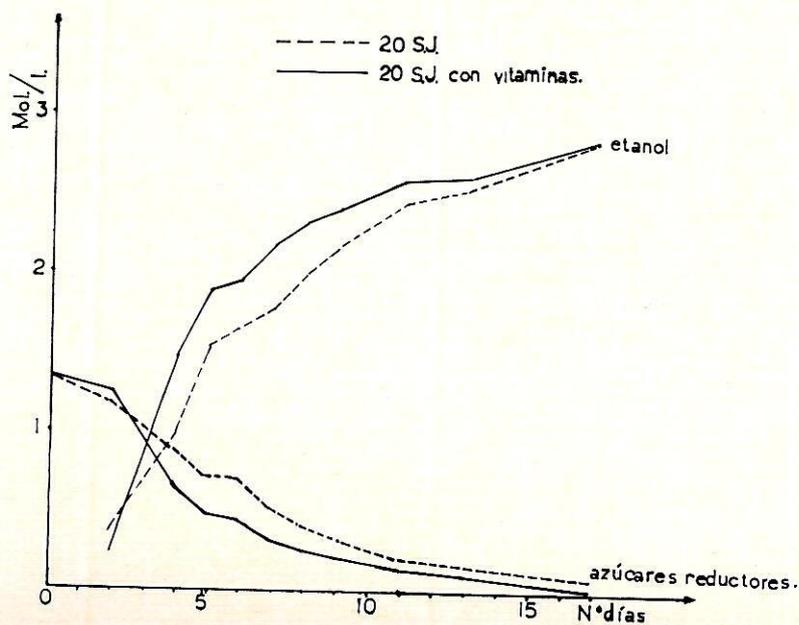
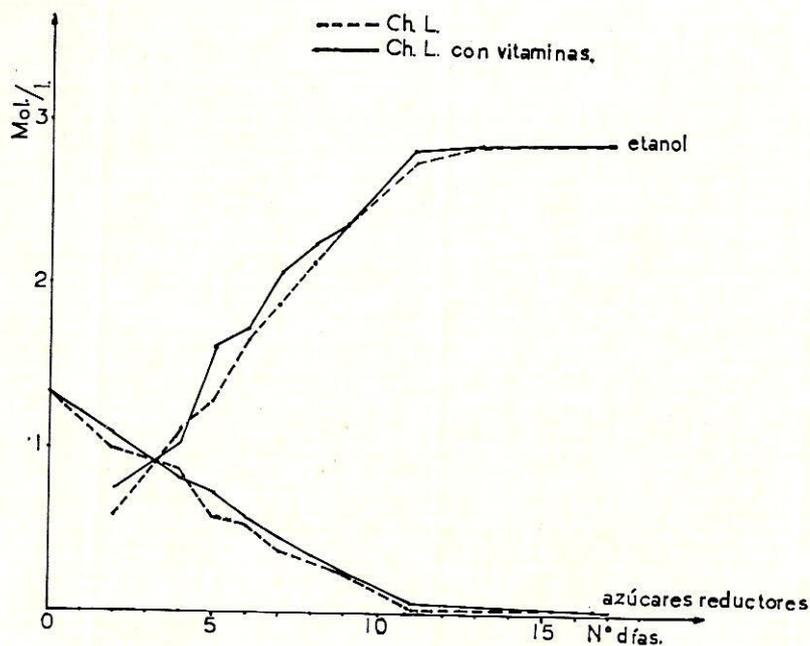












de degustación. Se escogieron las cepas de mejor comportamiento y se señalan las dosis de tartárico y de activadores más convenientes.

VII — BIBLIOGRAFIA

- 1 — CRUICK, W. V. (1958): Commercial fruit and vegetable products. Mc. Graw Hill Co. New York.
- 2 — GAROGLIO, P. G. (1959). La nuova enologia. Istituto di industria agrarie. Firenze. Piazzale delle Cascine 28.
- 3 — OTTAVI E. e I. CERUTTI (1929): L'uva ed i suoi derivati non alcolici. Casale Monf. Fratelli Ottavi. Milano.
- 4 — BERTUZZI, A. (1949): Enologia industriale. Le macchine enologiche. Ulrico Hoepli ed. Milano.
- 5 — PARONETTO, L. (1963): Auxiliari físicos-químicos-biológicos en enología. Enostampa ed. Via N. Bixio 22. Verona.
- 6 — MAVEROFF, A. (1949): Enología ed. autor p. 495-503. Mendoza.
- 7 — OREGLIA, F. (1964): Enología teórico-práctica. Rodeo del Medio - Mendoza.
- 8 — MATALAS L., G. L. MARSH and C. S. OUGH (1965): The use of reconstituted grape concentrate form dry table wine production. Amer. J. Enol. Vitic. 16 (3) 136-146.
- 9 — RODRÍGUEZ, M. D. (1963): Elaboración de vinos con mostos concentrados en los países de la ALAC. Vinos y viñas nº 794, pág. 848-859.
- 10 — AMERINE, M. A. and C. S. OUH (1960): Methods of producing sweet table wine. Wines and Vines 41 (2); 23-29.
- 11 — OUGH, C. S. and M. A. AMERINE (1963): Use of grape concentrate to produce sweet table wines. Amer. J. Enol. Vitic. 14, 194-204.
- 12 — OUGH, C. S. and R. E. KUNKEE (1967): Effects of acid additions to grape juice on fermentation rates and wine qualities.
- 13 — SALAS, M., E. VIÑUELA, M. SALAS and SOLS (1965): Citrate inhibition of phosphofruktokinase and the Pasteur effect. Biochem. Biophys. Res. Comm. 19 : 371-376.
- 14 — VERONA, O. e G. FLORENZANO (1956): Microbiología aplicada all'industria enologia. ed. Agric. Bologna.
- 15 — RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD (1961): Traité d'Oenologie Lib. Polytech. Ch. Béranger. Paris.
- 16 — ALAZRAQUI, J. (1910): Empleo de levaduras vínicas seleccionadas y del bisulfataje en la región cuyana. La Viticultura Argentina 1, 2, 3, 4, 86-89 y 5, 6, 257-270. Mendoza.
- 17 — R. DE PRITZ y R. VEGA (1958): Levaduras vínicas de San Juan. Bol. Tech. 17 F. C. Agrar. U. N. Cuyo. Mendoza.

- 18 — R. DE PRITZ M. J. (1958): Contribución al estudio de las levaduras vínicas de la prov de La Rioja. Bol. Tec. 18 F. C. Agrar. U. N. Cuyo.
- 19 — VEGA, R. (1955): Estudio zimotécnico del Dpto. de San Rafael. Bol. Tec. 16 F. C. Agrar. U. N. Cuyo. Mendoza.
- 20 — VEGA, R. (1955): Cantidad de alcohol, glicerina y ac. volátiles producidos por distintas levaduras. Bol. tec. 15 F. C. Agrar. U. N. Cuyo. Mendoza.
- 21 — OUGH, C. S. (1966): Fermentation rates of grapes juice II — Effects of initial Brix, pH and fermentation temperature. Amer. J. Enol. Vitic. 17 (1) 20-26.
- 23 — OUGH, C. S. (1966): Fermentation rates of grape juice III — Effects of initial ethylalcohol, pH and fermentation temperature. Amer. J. Enol. Vitic. 17 (2) 74-81.
- 24 — PACOTTET, P. y L. GUITONNEAU (1929): Vinos de Champagne y vinos espumosos. Salvat ed. Barcelona.
- 25 — MAGISTOCCHI, G. (1965): Tratado de Enología ed. El Ateneo. Bs. Aires.
- 26 — AMERINE, M. A. and W. V. CRUESS (1960): The echnology of wine making. The Avi. Pub. Co. Inc.
- 27 — AMERINE, M. A. and V. L. SINGLETON (1966): Wine - An introduction for americans Univ. Calif. Press. Berkeley and Los Angeles.
- 28 — WICKERHAM L. J. (1951): Tech. Bull. 1020 U. S. Dept. Agric. Washington D. C. May 1951.
- 29 — SCHALES, O. and SCHALES, S. S. (1945): Arch. Biochem. 8, 285.
- 30 — ROE, S. H. (1934): J. B. Chem. 107?-15.
- 31 — DRURG, H. F. (1958): Arch. Biochem. 19-455.
- 32 — PALLERONI, N. y P. ROSELL: Micrométodo modificado p/ el dosaje de alcohol etílico (inédito).
- 33 — TOBIE, W. C. (1942): Ind. Eng. Chem. Anal. ed. 14, 405-406.
- 34 — LAPPIN, G., RAYD CLARK, L. C. (1951): Ann. Chem. 23, 541-542.
- 35 — KLEWER, W. M. (1967): Amer. J. Enol. Vitic. 18 (1) 32-41.