

UNIVERSIDAD DE SONORA



EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA

“Proyecto experimental de *levadura W0992-LSA* *Saccharomyces cerevisiae*”

Memoria de Prácticas Profesionales

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta

Miguel Antonio Salazar Munguía

Hermosillo, Sonora

Diciembre 2011

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la empresa Industrias Vinícolas Pedro Domecq S.A. de C.V. ya que, durante el tiempo que permanecí realizando las prácticas profesionales siempre me apoyó para que mi estancia fuera fructífera.

La asesoría del Ingeniero Higinio Enrique Morales Soto fue muy importante para poder entender el control en los procesos de fermentación y así como el adiestramiento en las técnicas analíticas que realicé en el laboratorio para el control de calidad de las muestras provenientes del proceso de fermentación.

La experiencia que adquirí durante las prácticas en la empresa y posteriormente en la realización de la memoria o reporte, considero fue de gran ayuda en mi formación profesional en la carrera de Ingeniería Química.

JUSTIFICACIÓN

En esta empresa, realice mis prácticas profesionales, participando en un proyecto sobre la evaluación del proceso de fermentación, el cual consistió en monitorear la fermentación de los tanques para determinar los índices de °Brix, pH, temperatura, riqueza alcohólica, conteo de población y acidez volátil; esto con el objetivo de observar el comportamiento de la fermentación y así recabar información importante para obtener una fermentación de 24 horas y poder lograr un impacto en la inversión de horas de refrigeración.

Otro objetivo fue generar información importante para producir alcohol a mayor temperatura, teniendo un impacto directo en la inversión de horas de refrigeración y por consiguiente una disminución en los costos de producción.

CONTENIDO

	Página
INDICE DE TABLAS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
INDICE DE GRÁFICAS.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Casa Pedro Domecq.....	1
1.2 Localización.....	5
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1 Orígenes del cultivo de uva.....	6
2.2 Principales productores de uva en el mundo.....	6
2.3 La Uva en México.....	7

2.4 Viticultura de Sonora.....	7
2.5 Principales variedades de Uva Producidas en Sonora.....	9
2.6 Composición Química de la uva.....	9
2.7 Proceso para la obtención del aguardiente.....	11
2.8 Levaduras Alcohólicas.....	14
2.9 Reproducción de las levaduras.....	14
2.10 Fisiología de las levaduras.....	15
2.11 Influencia de la temperatura.....	15
2.12 Influencia de la acidez.....	16
2.13 Influencia del pH.....	17
2.14 Influencia de la aireación.....	18
2.15 Azúcar residual en vinos.....	19

2.16	Grado	20
Alcohólico.....		
2.17		21
Fermentación.....		
2.18	Fermentación	22
Alcohólica.....		
2.19	El	22
Vino.....		
2.20		23
Clasificación.....		
3.		25
METODOLOGÍA.....		
3.1	Actividades de la Práctica.....	25
3.2	Determinación de azúcar residual en vinos (°Brix).....	25
3.3	Determinación de pH.....	28
3.4	Determinación de grado	30
alcohólico.....		
3.5	Determinación de acidez volátil en vinos y mostos.....	33
3.6	Determinación de la población de levaduras presentes en mostos y	37
vinos.....		

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1 Primera prueba.....	42
4.2 Segunda prueba.....	46
4.3 Tercera prueba.....	50
4.4 Cuarta prueba.....	54
4.5 Quinta prueba.....	58
5. CONCLUSIONES.....	62
6. RECOMENDACIONES.....	63
7. BIBLIOGRAFÍA.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Producción de uva en Sonora.....	8
2.	Composición química de la uva. (Valores expresados para 100g de materia prima).	10
3.	Comportamiento de la primera fermentación.....	43
4.	Comportamiento de la segunda fermentación.....	47
5.	Comportamiento de la tercera fermentación.....	51
6.	Comportamiento de la cuarta fermentación.....	55
7.	Comportamiento de la quinta fermentación.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Diagrama del proceso para la obtención del aguardiente.....	12
2.	Descripción de cada parte del proceso.....	13
3.	Cámara de Neubauer.....	39
4.	Orden de conteo.....	40
5.	Dirección de conteo a seguir en cada cuadro.....	40
6.	Levaduras que se deben contar.....	40

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto en fermentación (1era prueba)...	44
2. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (1era prueba)...	45
3. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (2da prueba).....	48
4. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (2da prueba)...	49
5. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (3era prueba).....	52
6. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (3era prueba)...	53
7. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (4ta prueba).....	56
8. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (4ta prueba)....	57
9. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (5ta prueba).....	60
10. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (5ta prueba)....	61

INTRODUCCIÓN

La uva (*Vitis vinífera* L.) es uno de los frutos más antiguos de los que el hombre tenga conocimiento. Es probable, que el primer uso que recibió fuera como alimento, aunque una vez descubierta la forma de obtener vino y conocida sus propiedades, el mayor porcentaje de la producción, fue utilizada para este fin, por lo que la uva, se ubica como uno de los frutos de mayor importancia económica.

La fermentación alcohólica constituye una de las etapas más importantes de la elaboración de los vinos; es conducida por las levaduras. Aunque, en mayor o menor medida, puede intervenir un cierto número de especies e incluso de géneros, es claro que el papel principal lo realiza la *Saccharomyces cerevisiae*.

Industrias Vinícolas Casa Pedro Domecq es una empresa que se encarga de producir vinos y bebidas espirituosas. En la ciudad de Hermosillo, Sonora, la empresa Industrias Vinícolas Casa Pedro Domecq produce aguardiente y vino semiterminado.

Casa Pedro Domecq

La tradición familiar de las bodegas Domecq se inicia en 1730 con el precursor de la bodega, el irlandés Patrick Murphy, que adquiere la espectacular dimensión que la distingue en la actualidad a mediados del siglo XIX. En 1816 Pierre de Domecq Lembeye, joven y emprendedor aristócrata francés, que era socio de la firma inglesa Ruskin, Telford & Domecq y su misión era, precisamente, la de representar en España a esa prestigiosa casa londinense en el comercio de vinos, convirtió al poco tiempo a Pierre Domecq en Pedro Domecq, razón social de la empresa fundada en 1822.

Pedro Domecq Lembeye fallece prematura y accidentalmente el año de 1839 y sus descendientes reciben su legado de más de 800 hectáreas que constituyen, todavía hoy, la base de sus históricos viñedos. La familia Domecq posee 1.100 hectáreas de viñedo, donde, de la veintena de variedades de vid realmente importantes que se producen, casi con carácter exclusivo en Andalucía, las que en Pedro Domecq interesan son únicamente dos: el palomino, para los vinos secos, y la Pedro Ximénez, para los dulces. Sólo dos clases de cepas pero con calidad y en cantidad suficientes como para crear algunos de los vinos más importantes del mundo.

En el período de los años treinta, dirigen el negocio cuatro hombres, Pedro Domecq Rivero, Pedro Domecq González, Pedro Soto Domecq y Juan Pedro Domecq. En ese periodo, la empresa inicia un segundo proceso de expansión, esta vez de cara a la exportación. En 1941, Pedro Domecq Rivero cambia la Sociedad Regular Colectiva a Sociedad Anónima. Los hermanos Pedro y José Ignacio Domecq González, se ocuparán de potenciar el mercado europeo e implantarán empresas con tecnología propia en varios países de América Latina. Dada la aceptación y el éxito de los productos Domecq, Rafael Uceró de Pina, representante exclusivo de Domecq en México, solicitó una persona emprendedora y conocedora del ramo y de los productos de la Casa Matriz y es así como Antonio Ariza Cañadilla (1921-2005) realiza una travesía entre Cádiz y Veracruz del 2 al 29 de mayo de 1947 para instalarse definitivamente en México.

En 1948, el gobierno mexicano prohíbe la importación de productos suntuarios, entre estos, los vinos y licores, al tiempo que la revolución cubana obliga el cierre de las exportaciones a la Isla. En cortos meses Casa Domecq perdía sus dos principales mercados de Latinoamérica: México y Cuba, y para 1950 se producen importantes desequilibrios en las balanzas de pago de los países de Hispanoamérica que hacen caer las exportaciones.

Casa Pedro Domecq México, pionera en el desarrollo del valle de Calafia, en la Baja California —cuyas condiciones climáticas tienen puntos en común con las de Rioja y otras denominaciones del altiplano español— diversificó sus estrategias para cristalizar el ambicioso proyecto del cultivo de la vid y de la creación de sus propias marcas nacionales.

Con financiamiento del Banco Nacional de México por cinco millones de pesos, en 1953 se instala la planta de producción en Los Reyes la Paz, Estado de México, se constituye la empresa “Aguardientes Vínicos, S.A., presidida por Antonio Ariza Cañadilla (que en 1956 cambiará su razón social a Pedro Domecq México, S.A. de C.V.), y se realizan las primeras pruebas de destilación en Ramos Arizpe, Coahuila para crear en colaboración con los hermanos Ibarra y José Ignacio Domecq, la marca PRESIDENTE, primer brandy de América y el de mayor volumen de venta en el mundo.

En 1980 se incorpora el grupo Mora-Figueroa al accionariado de Domecq. En este periodo se comienzan los procesos de diversificación e incorporación de nuevas marcas para su comercialización en el mercado nacional. A principios de la década de los 90, tanto las ventas como la producción de la compañía en México llegaron a ser tres veces superiores a las de España lo que junto a la incorporación de DYC, primer productor de whisky nacional, en 1991 y de Fernando A. De Terry, empresa productora del brandy Centenario, en 1992, llevan al Grupo Domecq al liderazgo nacional. Es una nueva etapa de pujanza y de brillantes resultados empresariales.

La multinacional británica Allied Lyons, que ya tenía participación en el accionariado de la compañía, adquiere en 1994, la totalidad de Domecq, pasando a denominarse Allied Domecq y constituyendo uno de los primeros grupos mundiales en el sector de vinos y bebidas espirituosas.

EL 26 de julio de 2005, se consolidó la venta de Allied Domecq al Grupo Pernod Ricard. Patrick

Ricard, su presidente. La operación convirtió al Grupo en el primer productor de vinos en España, el número dos mundial del sector de vinos y licores y el cuarto en el mercado de los vinos, enriqueció su cartera con marcas de renombre internacional y reforzó su presencia geográfica "con una talla crítica" en ciertos mercados como Canadá, Corea del Sur, España, Estados Unidos, México y el Reino Unido.

En los años recientes, Casa Pedro Domecq se ha transformado en una empresa que, respetando valores arraigados en la más honda tradición, ha sido capaz de situarse a la cabeza en innovaciones tecnológicas e implantación de sistemas que aseguran y garantizan la calidad a sus miles de clientes y consumidores. Casa Pedro Domecq México, ahora bajo la conducción de Francois Bouyrá Lacombe, su Director General, cumplió el 29 de junio de 2006 medio siglo de vida, convertida en una de las compañías líderes en el mercado de vinos y licores del país.

En la ilustración 1, se observa la imagen de la localización de la planta en la ciudad de Hermosillo, Sonora.

Localización

Industrias Vinícolas Pedro Domecq S.A. de C.V.
A Bahía De Kino Km 13
Hermosillo, Sonora, 83220
La Manga



Ilustración 1. Imagen de la localización de la planta.

ANTECEDENTES

Orígenes del Cultivo de la Uva

A lo largo de la historia, han existido ciertos productos agropecuarios que el hombre se ha procurado para su dieta, y han estado presentes, tanto en las mesas más humildes como en los grandes banquetes; en el Imperio Romano, los banquetes de los emperadores estaban pletóricos de una gran variedad de frutas, entre ellas, las uvas. La misma situación se podía observar en las bodas que se realizaron antes de Cristo, hasta nuestros días. Debido a su amplia aceptación, tanto como alimento directo, como por su valor nutritivo, como por su gran utilidad para obtener otros derivados, el cultivo de la uva ha tenido gran importancia para algunos países, los que destinan grandes recursos financieros y humanos para el desarrollo y consolidación del sector, ya sea con el fin de abastecer su mercado interno, o como fuente de divisas mediante el comercio internacional.

El origen de la vid en nuestro continente, y específicamente en el país, se remota a la época colonial, ya que la vid europea fue traída por Cristóbal Colón durante su segundo viaje, en el año de 1493.

Principales Productores de Uva en el Mundo

Las principales regiones productoras de uva en el mundo, son aquellas zonas de clima mediterráneo sobresaliendo los países Italia, China y Estados Unidos, en el cual Italia ocupa el primer lugar como productor de uva, con una producción promedio de 81,500 millares de quintales.

La Uva en México

El cultivo de uva en México tiene como primer antecedente histórico, las ordenanzas dictadas en el año de 1524 por Hernán Cortes. Podemos considerar que la explotación comercial de la uva, fue llevada a cabo por los mineros de origen europeo que se establecieron en el valle de Santo Tomás en Ensenada Baja California (Claridades agropecuarias, 2002).

Los primeros plantíos de México fueron en Puebla (Tehuacán y Huejotzingo) después en Querétaro, Aguascalientes, Coahuila y posteriormente en California y en Sonora (Rongel Soto 2004).

Viticultura de Sonora.

En Sonora el cultivo de la uva es relativamente reciente, ya que data de la primera mitad de los años sesenta y en la actualidad es la entidad con mayor número de superficies dedicada a este fruto.

La viticultura en Sonora, desde sus inicios se enfocó a producir uva para la industria vinícola, mostrando un rápido crecimiento durante los setentas, alcanzando en el año de 1981 la mayor superficie de la producción, con un poco más de las 24,000 has. (Rongel Soto 2004)

En la tabla 1, se muestra la producción de uva en el estado de Sonora, considerando a Hermosillo y Caborca durante el período de 1998-2008.

Tabla1. Producción de uva en Sonora

Producción por Zona (cajas)

Año	Hermosillo	Caborca	Total.
1998	9,505,308	4,340,300	13,845,608
1999	8,245,995	4,532,625	12,778,620
2000	9,590,854	4,194,870	13,785,724
2001	10,131,871	4,236,483	14,368,354
2002	12,351,115	3,726,173	16,077,288
2003	14,276,995	6,151,368	20,428,363
2004	10,190,500	4,000,753	14,191,253
2005	17,038,337	5,153,759	22,192,096
2006	10,538,533	3,955,476	14,494,009
2007	15,168,222	5,874,339	21,042,560
2008	15,089,697	4,568,720	19,658,417

Fuente. Asociación Agrícola de Productores de Uva de Mesa (2008)

Principales variedades de Uva Producidas en Sonora

Entre los cultivos más importantes de uva para la generación de vinos, se encuentran las variedades: Thompson Seedless, Palomino, Flame Seedles, Carignane, Ruby Seedles, entre otras. (Rongel Soto 2004)

Composición Química de la uva

La uva es una fruta rica en potasio, tiene poco sodio y mucha vitamina B, son ricas en azúcares así que son una gran fuente de energía natural.

El valor nutritivo de la uva es muy alto y aunque no existen estudios detallados de composición diferenciadores, por cultivares sí podemos establecer una tabla general de composición de la uva de mesa.

Un esquema básico del valor nutritivo de la uva fresca se indica en la tabla 2, que ha sido elaborada a partir de Watt y Merrill citados por Westwood (1982).

Tabla 2. Composición química de la uva. (Valores expresados para 100g de materia prima)

Componentes	Cantidad
Agua	84.14 %
Proteínas	0.6 g
Lípidos	0.2 g
Carbohidratos	17.3 g
Fósforo	20 mg
Hierro	3.5 mg
Calcio	12 mg
Potasio	173 mg
Sodio	3 mg
Vitamina A	100 UI
Vitamina B₁	0.05 mg
Vitamina B₂	0.3 mg
Niacina	0.3 mg
Vitamina C	4 mg

Fuente: Ampelografía Básica de Cultivares de uva de mesa. (2006)

Proceso para la obtención del aguardiente

El proceso principal mediante el cual se transforma el mosto de uva en vino, se conoce con el nombre de fermentación alcohólica. La fermentación alcohólica consiste en la transformación de los azúcares contenidos en la uva (glucosa y fructuosa) en alcohol etílico y anhídrido carbónico.

Aproximadamente se produce 1° alcohólico por cada 17 gramos de azúcar contenidos en el mosto. Así, un mosto con 221g/litro daría lugar a un vino con 13 grados alcohólicos (13°).

En este proceso también se produce anhídrido carbónico en estado gaseoso, lo que genera el burbujeo, la ebullición y el aroma característico de una cuba de mosto en proceso de fermentación.

El proceso de fermentación lo realizan las levaduras adheridas al hollejo de la uva (mediante una capa cerosa denominada purina) las que, para cubrir sus necesidades de crecimiento, ayudan al proceso. Son levaduras del género *Sacharomyces* las que suelen desempeñar la parte más importante de este proceso.

El final del proceso de fermentación es cuando ya se han desdoblado casi todos los azúcares y se detiene la ebullición. En bodega esto se calcula mediante los pesamostos o densímetros.

Es importante controlar la temperatura de fermentación continuamente durante todo el proceso, ya que cada vino requiere determinados márgenes de temperatura.

En las figuras 1 y 2, se presentan el diagrama del proceso para la obtención del aguardiente y la descripción de cada parte del proceso.

Diagrama del Proceso



Figura 1.- Diagrama del proceso para la obtención del agua ardiente.

Descripción del Proceso



Figura 2.-Descripción de cada parte del proceso.

Levaduras Alcohólicas

Las levaduras alcohólicas son seres vivos unicelulares, extremadamente pequeños, clasificados en el reino fungi. Tienen diversas formas según las especies: redondas, ovaladas, elípticas y a veces muy alargadas.

Las levaduras de la vinificación pueden presentar una de las cuatro formas siguientes: elíptica u ovoide, alargada en forma de salchicha, esférica y apiculada, es decir, alargada y con los extremos en punta, como un limón.

Reproducción de las levaduras

Las levaduras se reproducen por esporulación, gemación o fusión. El sistema más común es la gemación. En este procedimiento se proyecta un túbulo a partir de la vacuola nuclear adyacente al núcleo de la célula madre hacia el punto de la pared celular cercana a la vacuola. Ahí se forma una pequeña protuberancia en la superficie externa de la célula producida por debilitamiento local de la pared celular. El túbulo pasa entonces por la protuberancia, la cual se alarga y se llena con material nuclear y citoplásmico procedente de la célula madre. La pared de la yema recién formada contiene sólo material recientemente sintetizado. Cuando la yema ha crecido casi al tamaño de la célula madre, el aparato nuclear de las dos células se reorienta de tal manera que los centrosomas de cada célula queden distantes del punto de unión. Después de terminada la división nuclear se forma una pared transversal similar a la de las levaduras en división o a la de otros hongos. En este momento las células madre e hijas se separan, aunque pueden seguir unidas mientras se forman nuevas yemas.

Cuando se coloca la levadura en un líquido azucarado y se examina al microscopio, se ve aparecer en un punto de su superficie una pequeña excrescencia. Este abultamiento crece y después se desprende; es una célula hija idéntica a la que dio origen y que es capaz, a su vez, de reproducir y de producir por gemación otras células hijas.

Fisiología de las levaduras

En un grupo de microorganismos tan grande y diverso como el de las levaduras, se puede encontrar una gran variedad de reacciones fisiológicas, aspectos morfológicos, y mecanismos de reproducción.

El catabolismo de azúcares como la glucosa, es anaerobio (fermentación) o aerobio (respiración). El proceso más típico es el catabolismo anaeróbico, también conocido como fermentación alcohólica. Los productos finales son alcohol etílico y dióxido de carbono:



La reacción de la fermentación es anaeróbica; y si los cultivos se airean durante el desarrollo, la fermentación se reprime a favor de las vías oxidativas.

Algunos minerales para el desarrollo de las levaduras son potasio, magnesio, sodio y calcio. Se necesitan también trazas de boro, cobre, zinc, manganeso, hierro, yodo y molibdeno para obtener cosechas óptimas en los medios de cultivo sintéticos.

Influencia de la temperatura

Las levaduras también son capaces de crecer en un amplio margen de temperatura desde 0 a 47°C; algunas no se desarrollan a más de 15°C, aunque otras pueden hacerlo a mucho menores temperaturas. La óptima para la mayor parte está entre los 20 y 30°C. Las variedades patógenas crecen bien entre 30 y 37°C.

La rapidez de la transformación del azúcar aumenta con la temperatura (por lo menos hasta cierto límite). Esta es la primera ley que hay que recordar. La fermentación es mucho más rápida a 30°C que a 25°C y a 25°C que a 20°C. Su actividad se duplica con una diferencia de 10°C.

La cantidad de azúcar que pueden transformar las levaduras, o el grado alcohólico que pueden alcanzar, depende de la temperatura. Es la segunda ley importante para comprender los fenómenos de la fermentación: cuanto más elevada es la temperatura más rápido es el comienzo de la fermentación, pero se define antes y el grado alcohólico alcanzado es menor. Esta ley se enuncia también así: La población máxima de las levaduras es inferior a temperatura elevada.

A medida que la temperatura aumenta por encima de 20° C hasta los 32-34°C, la proliferación y la actividad fermentativa de las levaduras crecen en grandes proporciones. La mejor temperatura es hacia los 25° C. Si la temperatura es mayor, se observa que por encima de 35°C las levaduras alcohólicas se hacen perezosas, y en ciertos casos, la fermentación puede detenerse aun sin morirse las levaduras ni haber descompuesto todo el azúcar.

Se puede deducir que para obtener una fermentación normal que se efectúe en un tiempo relativamente limitado (3 a 5 días), es preciso que la temperatura del mosto encubado esté comprendida al principio entre 18 y 22°C, y que la temperatura de fermentación no exceda de 35°C.

Influencia de la acidez

La determinación de acidez total en las bebidas alcohólicas y no alcohólicas, es de gran utilidad pues proporciona datos de apreciación de su calidad, de sus características o del control de su proceso de producción.

El jugo de uva fresco contiene rastros de ácidos volátiles. Sin embargo, durante la fermentación alcohólica del azúcar se forma siempre una pequeña cantidad de ácido por oxidación del Acetaldehído.

El método habitual para la determinación de la acidez volátil es el de arrastre de vapor de agua, el cual permite la separación completa del ácido acético.

Las levaduras no necesitan de la acidez para multiplicarse, incluso hacen fermentar mejor los azúcares en un medio neutro o poco ácido. Trabajan mejor con un pH 4.0 que con un pH 3.0. A pH más bajo aumenta la acidez volátil.

Cuando una fermentación se detiene no se debe a una falta de acidez, sino a un exceso de temperatura que asfixia las levaduras. Pero, sin embargo, una acidez débil puede convertir en muy graves las consecuencias de esa detención, pues las bacterias de enfermedades se desarrollan más fácilmente cuanto más débil es el medio ácido. Es preciso interpretar el papel de la acidez en vinificación del siguiente modo: no favorece el desarrollo de las levaduras, pero perjudica a las bacterias peligrosas en caso de cese de la fermentación.

Influencia del pH

La concentración de ion Hidrogeno juega un papel importante en la producción del vino, Esto envuelve un rango que va desde lo fisicoquímico hasta lo biológico, concerniente a los atributos sensoriales del vino. La actividad del ion Hidrogeno usualmente es un medio en términos de la concentración logarítmica negativa del ion Hidrogeno (pH). El valor del pH presente en los mostos se encuentra en un rango de 3.4 a 3.8, sin embargo en algunos vinos tintos su valor es ligeramente más alto.

La concentración del ion Hidrogeno (pH) y la acidez titulable en la fruta madura no puede ser aplicada simplemente en términos de concentración de iones de ácidos orgánicos, los investigadores sugieren que cationes de metales monovalentes, tales como sodio y el potasio entran en la célula en directo intercambio de protones derivados de los ácidos orgánicos. En el jugo de uva solo del 68 al 74% de los protones esperados son concentrados por titulación,

los protones faltantes pueden ser cuantificados por un proceso de intercambio iónico en las membranas de la celda que intercambia iones de sodio y potasio por protones.

Desde el punto de vista enológico, los niveles de pH de mostos y vinos son de importante consideración; como en cualquier sistema biológico. El pH es envuelto en una multiplicidad de interacciones, se sabe que la concentración de iones Hidrogeno tiene efectos significativos en la estabilidad biológica, color, grado de oxidación, estabilidad del bitartrato, estabilidad proteica y en la actividad microbiológica. (Casa Pedro Domecq, 2010)

Es particularmente importante por el efecto sobre los microorganismos, el color, el sabor, el potencial redox y sobre la proporción entre el dióxido de azufre libre y el combinado.

Los vinos de mesa deben de tener un pH inferior a 3.6 y los vinos de postre a 3.8.

Influencia de la aireación

Las levaduras necesitan oxígeno para multiplicarse. En ausencia completa de aire, en un mosto de uva, se producen sólo algunas generaciones y su reproducción se detiene. Basta entonces proporcionarles un poco de aire para que su gemación se reemprenda. PASTEUR definió la fermentación como la vida sin aire porque una célula de levadura privada de oxígeno encuentra la energía que le es necesaria en la transformación del azúcar. Pero para conseguir una fermentación prolongada y obtener productos fermentados que cifren 10° de alcohol e incluso más, deben formarse constantemente nuevas generaciones de levaduras y, por lo tanto, les es indispensable el oxígeno.

Esta necesidad de oxígeno es indirecta. Las levaduras necesitan el oxígeno para sintetizar los esteroides y asimilar los ácidos grasos de larga molécula donde es necesario. Al comienzo de la fermentación las primeras generaciones de levaduras se benefician de las reservas de esteroides de las células madres, y después de los esteroides del medio natural. Si la fermentación

se efectúa al abrigo del aire, los esteroides se agotan y no se renuevan. El oxígeno es entonces indispensable para síntesis y la contaminación de la fermentación.

En la industria, cuando se quiere conseguir muchas levaduras, se airea abundantemente el medio nutritivo.

Como todos los seres vivos, la levadura necesita oxígeno para multiplicarse (vida aerobia); al abrigo del aire, en el mosto, continúa viviendo (vida anaerobia), gracias a la descomposición de los azúcares que ella provoca y que le proporcionan la energía que necesita.

Durante el encubado, para obtener por un lado un rápido comienzo de la fermentación, y por otro, un vino rico en alcohol, se deberá al principio airear el líquido para favorecer la multiplicación de las levaduras, y en cuanto la fermentación se haya declarado francamente, se disminuirá la aireación cuanto lo permitan otras consideraciones técnicas, para obtener más alcohol.

Azúcar residual en vinos

Los azúcares son elementos importantes en la uva, una parte de ellos será transformados en alcohol por las levaduras durante su fermentación alcohólica.

Se dividen en dos grupos los azúcares simples o azúcares reductores que son:

Hexosas (glucosa y fructosa); son fermentables, es decir que pueden ser transformados en alcohol por las levaduras. Las bacterias también pueden atacarlos provocando alteraciones graves del vino como por ejemplo la picadura láctica.

Pentosas (arabinosa, xilosa, etc.) no son fermentables, pero pueden ser atacados por las bacterias.

Los azúcares complejos (sacarosa). Hay pocos en la uva, la sacarosa aportada es transformada en glucosa y fructosa por levaduras para ser fermentada.

La cantidad de azúcares reductores restantes en el vino luego de la fermentación tendrá una influencia muy grande en la evolución y calidad del producto (vino). En el vino la determinación de los azúcares alcanzada, si el contenido de azúcares reductores es menor al 0.5%.

Azúcares: Son elementos importantes de la uva los cuales, permiten seguir la evolución de la madurez y determinar la fecha probable de la cosecha.

Azúcar residual: Es la mínima cantidad de azúcar fermentables que queda en el vino, después de terminada la fermentación, y el cual tendrá una influencia muy determinante en la evolución y calidad del producto terminado.

Azúcares reductores: Son los azúcares fermentables presentes en la uva (glucosa y fructosa); que se encuentran en mayor cantidad. (Casa Pedro Domecq, 2010)

Grado Alcohólico

La determinación del grado alcohólico expresa el número de volúmenes de alcohol etílico puro, contenidos en 100 volúmenes de una mezcla hidroalcohólica.

La determinación del porcentaje de alcohol en las bebidas alcohólicas es de suma importancia ya que es el primer dato que sirve como base para las transacciones comerciales y para la definición de las denominaciones controladas.

La separación del alcohol por destilación y determinación de su grado por medición de la densidad, es el procedimiento oficialmente adoptado en todos los países. (Casa Pedro Domecq, 2010).

Fermentación

Para muchas personas el término fermentación significa solamente producción de alcohol; la fermentación de los granos de cereales y las frutas produce cerveza y vino. Si un producto alimenticio tiene un sabor agrio, a menudo se afirma que está “fermentado”. La fermentación es cualquier proceso metabólico que libere energía a partir de un azúcar u otra molécula orgánica, no necesite la presencia de oxígeno ni de una cadena transportadora de electrones y utilice una molécula orgánica como aceptor final de electrones.

Fermentación es una forma de respiración anaeróbica, llamada también respiración intramolecular. El término fermentación generalmente se reserva para la actividad de algunos microorganismos, como ciertos hongos y bacterias. Los productos de la fermentación son muy variados, según el substrato, el microorganismo y los factores que gobiernan el proceso. Algunos de los productos más conocidos son: alcohol etílico, ácido láctico, ácido butírico, ácido cítrico y ácido acético; el tipo de fermentación se designa de acuerdo con el producto obtenido. La presencia de oxígeno gaseoso es necesaria para algunas fermentaciones, por ejemplo, la fermentación oxidativa de alcohol etílico para formar ácido acético.

Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica es una de las etapas principales que transforman el mosto o zumo azucarado, en un líquido con un determinado contenido de alcohol etílico.

La fermentación alcohólica se efectúa en ausencia de oxígeno molecular; es un proceso muy conocido, y el vino y la cerveza son los productos primarios más importantes. El primer paso en el proceso de fermentación, la glucólisis, tiene lugar en igual forma que en la respiración aeróbica. En vez de que el ácido pirúvico formado entre en el ciclo de Krebs y sea oxidado

completamente, en la fermentación alcohólica ocurre una descarboxilación de ese ácido, formándose acetaldehído; esta sustancia sirve luego, en lugar del oxígeno gaseoso del aire como aceptor del hidrógeno y se forma alcohol etílico.

Como materia prima para la fermentación alcohólica se utilizan generalmente jugos de frutas, las cuales contienen mucha glucosa y fructuosa; igualmente es fácil de fermentar azúcar común (sacarosa).

El Vino

El vino está considerado como el producto procesado frutícola más antiguo de la humanidad y se conoce desde hace más de 6000 años; la vinicultura se inicio en el medio Oriente y fue perfeccionada posteriormente por los romanos y galos; los mayores avances tecnológicos y mejoras en cuanto a la calidad del vino se desarrollaron en los últimos 100 años.

El vino es el producto final de la fermentación alcohólica total o parcial del jugo de uvas frescas. Se clasifica en tres tipos: vinos rojos, blancos y rosados que se diferencian por la variedad de la uva de la que provienen y el tipo de procesamiento que reciben. Las principales operaciones que se llevan a cabo en la elaboración del vino son la vendimia, despalillado, molienda, prensado, maceración y fermentación. (Valenzuela, 2008)

Clasificación

Hay varias maneras de agrupar los vinos, siendo una de las más efectivas la que se basa en la técnica de producción, llamada vinificación que es aquella que los divide en vinos calmos o naturales, vinos fuertes o fortificados y vinos espumantes los cuales son descritos a continuación.

1.- Vinos Calmos o naturales.

Son los que se elaboran a partir del mosto, y la fermentación se lleva a cabo usando la uva en forma natural, o con algún aditivo en concentraciones controladas como levaduras, azúcar o concentraciones muy pequeñas de sulfuros. La graduación alcohólica de estos vinos son del 10% al 15%, ya que se les detiene la fermentación alcanzando estos valores.

2.- Vinos fortificados o fuertes.

A estos vinos se les adiciona una dosis de alcohol o una bebida alcohólica, usualmente un brandy, en alguna etapa de su vinificación. El contenido alcohólico de estas variedades va desde el 16% Alc. Vol. Al 23% Alc. Vol.

3.- Vinos espumantes.

Son aquellos del tipo Champagne, a los cuales se les aplica dos fermentaciones. La primera que es la habitual del vino natural, y una segunda que se lleva a cabo en la botella. Para la elaboración de vino espumoso existen distintos métodos, siendo el más barato el de carbonatación forzada usando dióxido de carbono.

Otra clasificación que se hace de los vinos según Moura (2007) es a través de sus colores, como son los tintos (rouge-red), blancos (blanc-white) y rosados (rose-pink).

- Vinos tintos (rojos)

El color del vino proviene del color de la piel de la uva, donde el mosto es dejado en contacto con la piel de la uva hasta que se alcance un color deseado. Toda la materia colorante, además de sus múltiples compuestos saborizantes y taninos, se encuentran en los hollejos de las uvas.

- Vinos blancos

Los vinos blancos son aquellos producidos a partir de uvas verdes o blancas; o bien a partir de uvas negras pero en estos casos nunca se deja al mosto en contacto con la piel de las uvas. El color obtenido en los vinos blancos es de tono verdoso o amarillento.

- Vinos rosados

El rosado es producido dejando el mosto en contacto por un tiempo breve con la piel de las uvas. Se producen generalmente utilizando uvas rojas que permanecen en contacto con los hollejos (piel de uva) por breves períodos. Con menor frecuencia se produce mezclando vinoso tintos y blancos. (Valenzuela, 2008)

METODOLOGÍA

Actividades de la Práctica.

En los tanques de fermentación, cada dos horas se tomaron muestras del mosto para obtener los siguientes parámetros:

- Temperatura
- °Brix

En los tanques de fermentación, cada cuatro horas se tomaron muestras del mosto para obtener los siguientes parámetros:

- Población de levadura
- Riqueza Alcohólica
- pH
- Acidez Volátil

Estos parámetros se obtuvieron de la siguiente manera.

Determinación de azúcar residual en vinos (°Brix)

Principio, reacciones e interferencias.

La determinación de azúcar residual se basa en la medición del porcentaje de azúcar en mostos y vinos, esto a través de un Densímetro Brix (sacarímetro o sacarómetro, brixometro) y corrigiéndolo según la temperatura de la muestra con la tabla de °brix por variación de temperatura. Dado que la glucosa puede estar influenciada por la temperatura.

Referencias.

Instructivo de toma de muestras en fermentación y almacenamiento (ILAB-014S)

Formato. Reporte de análisis de mostos y vinos.(FLAB-001S)

Manual operativo del laboratorio Hillo. M-6/0 (“Tabla de °brix por variación de temperatura”)

Material, equipos e instrumentos.

- Vaso de precipitado 1000 ml
- Probeta de 500 ml
- Densímetro Brix de vidrio
- Termómetro

- Franela de tela (utilizada como filtro)
- “Tabla de °Brix por variación de temperatura” (Se encuentra en el manual operativo del laboratorio Hillo. M-6/0)

Preparación de muestras

En todas las muestras en que se aplica esta metodología, es necesario filtrar o decantar la muestra de mosto o vino a analizar, para establecer una estabilidad suficiente de la coloración final de la reacción.

Procedimiento:

Tomar la temperatura de la muestra. En el vaso de precipitado colocar la franela de tela cubriendo de tal manera toda la boca del vaso, agregar la muestra aproximadamente 500ml, cuidando que toda la muestra pase por la franela, posteriormente verterla en la probeta cuidando que se llene completamente, después el densímetro de Brix de vidrio es introducido a la probeta cuidadosamente, dejando que se establezca por un tiempo y ya que se dejó de mover leemos el número que marcan las líneas de arriba cuidando bien el sentido de la lectura; después la lectura es corregida utilizando la “tabla de °Brix por variación de temperatura” y el valor de temperatura y el número que marco el densímetro brix, la lectura se observara que va en intervalos de 0 -19°C (se le restan) y de 21-35°C (se suman) al número que nos marcó el densímetro brix.

Cálculos y expresión de resultados:

El resultado obtenido es el mostrado en el Densímetro Brix \pm el factor que viene en la “tabla de °Brix por variación según la temperatura”. Los °Brix van de la mano con los ° Alcohol, es decir cuando tenemos mayor cantidad de ° Brix tenemos muy poco alcohol y cuando los °Brix llegan a 0 significa que tenemos el máximo ° Alcohólico.

Aseguramiento de la calidad de los resultados.

Para dos determinaciones de una misma muestra por un mismo analista la diferencia no debe exceder de 0.2 unidades.

Precauciones y seguridad.

Buenas prácticas de manufactura

- Todo personal deberá presentarse al centro de trabajo bien aseado, con su ropa limpia incluyendo zapatos
- Utilizar el equipo de protección adecuado a las actividades que realiza, tales como gafas, guantes y bata para evitar accidentes por salpicaduras, derrames, contacto...
- No comer ni fumar dentro de las áreas de trabajo
- En caso de sufrir una herida se debe cubrir apropiadamente con material impermeable, para evitar cualquier contacto con el producto que pueda propiciar la contaminación del mismo.
- Los residuos generados de las determinaciones y de la envoltura se deben enviar al área de confinamiento, por seguridad al medio ambiente.

Determinación de pH

Principio, reacciones e interferencias.

Se basa en la medición de la concentración de los iones Hidrogeno presentes en las muestras, como una medida de la intensidad de la acidez o alcalinidad de los mismos, utilizando un medidor comercial y un electrodo de vidrio. Las soluciones amortiguadoras que son usadas para calibrar el potenciómetro; el valor del pH de la muestra se podrá leer al introducir el electrodo en una porción de la muestra de mosto, vino, etc.

Reacciones e interferencias no aplica.

Referencias.

ILAB-006S Verificación y calibración de potenciómetro

FLAB-014S Verificación del potenciómetro

Material, equipos e instrumentos.

- Vasos de precipitado de 100ml
- Electrodo de vidrio y referencia o combinado.
- Potenciómetro equipado
- Pizeta

Reactivos y soluciones.

- Solución Buffer pH 4.0
- Solución Buffer pH 7.0
- Solución Buffer pH 10.0
- Agua destilada
- Solución saturada de KCl

Cuidados.

- No utilizar el electrodo como agitador
- Verificar el nivel de KCl en el electrodo
- Verificar sus conexiones

Preparación de muestras.

Productos líquidos:

Mezclar cuidadosamente la muestra hasta su homogenización, ajustar la temperatura a $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y determinar su pH como lo indica el procedimiento.

Productos semisólidos:

Mezclar el producto para obtener una pasta uniforme. Adicionar cuando el caso lo requiera, entre 10 y 20 ml de agua recientemente hervida por cada 100g de producto, ajustar la temperatura a $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y determinar su pH.

Hay modelos de potenciómetros que cuentan con ajuste automático de temperatura, por lo que no es necesario el ajuste manual.

Procedimiento

En un vaso de precipitado, verter de 80 a 100ml de la muestra ya preparada, mezclarla bien por medio de un agitador y ajustar su temperatura a $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sumergir el electrodo en la muestra de manera que cubra la membrana perfectamente. Hacer la medición del pH. Oprimiendo la tecla (READ) y esperar alrededor de un minuto que nos despliegue el resultado en el Display, posteriormente retirar el electrodo, lavarlo con agua y secarlo con un pañuelo Facial (kleenex), quedando listo para tomar la siguiente lectura o dejarlo en su solución Buffer pH 4.0 o 7.0

Cálculo y expresión de resultados:

El valor de pH de la muestra se lee directamente en la escala del potenciómetro y se expresa en unidades de pH.

Aseguramiento de la calidad de los resultados.

La diferencia máxima permisible en el resultado de pruebas efectuadas por duplicado por un mismo analista, no debe exceder de 0.2 unidades de pH en caso contrario, se debe repetir la determinación.

Para dos determinaciones hechas de pH por dos analistas diferentes la diferencia no debe exceder de 0.3 unidades.

Precauciones y seguridad.

- Utilizar bata de laboratorio
- Zapatos de seguridad
- Lentes de seguridad
- Guantes de nitrilo.

Determinación de grado alcohólico

Principio.

El método se basa primeramente en un proceso de separación física del alcohol contenido en las muestras de vino o aguardiente, para posteriormente determinar el % Alc. Vol. del destilado utilizando el densímetro Anton Paar.

Referencias.

- Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-1995
- Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002

Reactivos y materiales.

- Matraz de destilación de fondo plano de 1000 ml

- 2 matraces volumétricos de 200 ml
- Chaqueta eléctrica de calentamiento
- Condensador
- 2 Mangueras
- Trampa de vapor
- Jeringa de 5 ml
- Tapón para matraz volumétrico de 200 ml
- 2 Pinzas de tres dedos
- Agua destilada

Aparatos y equipos.

- Densímetro Anton Paar

Procedimiento.

- **Destilación**
 1. Homogeneizar perfectamente la muestra y medir 200 mL de ella en un matraz volumétrico. Agregar los 200 mL de la muestra en el matraz de destilación de 1000 mL.
 2. Agregar 200 mL de agua destilada al mismo matraz utilizado para medir la muestra y agregarlos al matraz de destilación.
 3. Colocar el matraz de destilación en la chaqueta de calentamiento y conectarlo al refrigerante del equipo de destilación.
 4. Encender el compresor y luego la bomba de la tubería de agua del laboratorio. Encender la chaqueta de calentamiento y seleccionar la opción de calentamiento
- 9.

5. Recibir 200 mL del destilado en un matraz volumétrico, al llegar a la marca de aforo, suspender la destilación y retirar el matraz tapándolo inmediatamente.
 6. Apagar la chaqueta de calentamiento, la bomba y el compresor de la tubería.
- **Medición del Grado de Alcohol por medio del Densímetro Anton Paar**
 1. Encender el equipo y dejar que el programa se instale.
 2. Para enjuagar la celda de lectura, inyectar dos jeringas (5 ml) de agua destilada y colocar el extremo de la manguera en el punto de inyección, oprimir la tecla PUMP para que realice el secado del equipo y que no queden residuos de agua que pudieran interferir con el equipo.
 3. Retirar la manguera del punto de inyección e inyectar muestra suficiente verificando sin sacar la jeringa que no existan burbujas en la celda y oprimir la tecla START para que empiece la medición de la muestra.
 4. Cuando el equipo ya ajustó la temperatura de la muestra con el sensor de medición proyecta la lectura en pantalla y emite un sonido indicando el término del análisis.
 5. Una vez realizada la medición, enjuagar la celda de lectura de igual manera que en el paso 2.

Expresión de resultados.

El resultado obtenido se expresa directamente en % Alc. Vol. a 20 °C.

Cuidados y precauciones de seguridad.

- Utilizar bata de laboratorio, guantes y lentes de seguridad para evitar posibles quemaduras.

Colocar los desechos de las muestras analizadas en sus contenedores destinados para ello

Determinación de acidez volátil en vinos y mostos

Principio.

Se determina mediante la separación de los ácidos volátiles por arrastre de vapor de agua y condensación de los vapores, para su posterior titulación con una solución alcalina valorada (NaOH 0.1N).

Referencias.

- Instructivo de Toma de muestras en Mostos, Vinos y Aguardiente (ILAB – 014S)
- Instructivo de muestreo de materia prima con equipo muestreador mecánico y manual (ILAB – 001S)
- Reporte de análisis de mostos y vinos (FLAB – 001S)
- Reporte de inspección de materia prima (FLAB – 004S)
- Reporte de materia prima no conforme (FPRD – 040S)

Reactivos:

- Solución de NaOH 0.1N (Con certificado de calidad)
- Solución de fenolftaleína 1% en solución agua-alcohol (1:1)
- Agua destilada

Material:

- Vaso precipitado de 100ml
- Matraz Erlenmeyer de 250ml
- Probeta graduada de 10ml (con certificado de lote)

- Probeta graduada de 100ml
- Bureta de 25ml con subdivisiones de 0.05ml (con certificado de lote)
- Material común de laboratorio

Equipo para determinación de acidez volátil por arrastre de vapor:

- Embudo para introducir muestra
- Válvula para drenado
- Refrigerante de serpentín
- Resistencia eléctrica o mechero
- Entrada de agua destilada
- Cable y Switch de corriente
- Titulador automático
- Bureta graduada de 25 ml
- Probetas de 10 y 50 ml
- Matraz erlenmeyer de 25 0ml
- Vaso precipitado de 20 0ml.

Materia Prima.

La muestra no requiere de ninguna preparación previa a su análisis, porque ya la entregan filtrada.

Mostos y Vinos.

La muestra no requiere de ninguna preparación previa, solo si presenta semillas o pulpa se recomienda filtrarla antes de realizar el análisis.

Procedimiento.

1.- Se instala el equipo de destilación por arrastre de vapor, esto incluye el refrigerante y las mangueras de entrada y salidas de agua.

2.- Abrir la llave de agua y verificar que este circulando por el refrigerante, enseguida abrir la válvula de agua destilada para que se llene el matraz de ebullición hasta las $\frac{3}{4}$ partes aproximadamente o hasta que cubra completamente la resistencia.

3.- Medir 10ml de muestra (con una probeta de 10ml) e introducirla por el embudo, agregando aquí mismo de 5 a 10ml de agua destilada con la misma probeta, para arrastrar los residuos de muestra que le pudieran quedar y cerrar la válvula por donde se introduce la muestra.

4.- Encender el compresor y la bomba para que empiece a funcionar el refrigerante.

5.- Oprimir el interruptor de encendido de equipo y cuando el agua del matraz empiece la ebullición colocar un matraz erlenmeyer de 250ml a la salida del refrigerante y cerrar la válvula de salida (drenado) para que no se escape vapor.

6.- Cuando el matraz tenga de 100 a 125ml de destilado proceder a retirarlo agregándole inmediatamente de 2 a 4 gotas de fenolftaleína (indicador) al 1% y proceder a titular con la solución de NaOH 0.1N hasta la aparición de coloración rosa la cual debe de permanecer por lo menos 30 seg.

7.- El resultado se saca multiplicando los ml gastados por 0.6 y se expresa en g/l, de acuerdo con el formato correspondiente para Mostos y Vinos en el FLAB-001S y/o para materia prima en el FLAB-004S.

8.-Para el lavado del equipo se abre la válvula de salida (drenado), se apaga el equipo y se le agrega agua por el embudo para que succione la muestra y arrastre los residuos que pudieran quedar y con esto el equipo ya está listo para la siguiente determinación.

Cuidado y precauciones de seguridad.

- Todo el personal deberá presentarse al centro de trabajo bien aseado, con su ropa limpia incluyendo los zapatos.
- Utilizar el equipo de protección adecuado como son guantes, gafas y bata para evitar posibles accidentes como son salpicaduras, derrames, etc.
- No fumar ni comer en el área de trabajo.
- Tomar en cuenta las condiciones de manejo y almacenamiento de las soluciones incluidas en el ILAB – 018S.
- En caso de sufrir una herida se debe cubrir apropiadamente con material impermeable, para evitar cualquier contacto que pudiera provocar la contaminación de las muestras y soluciones.
- En caso de derrame utilizar el kit especial para contener utilizando el EPP adecuado para este caso, enviando los residuos al área de confinamiento.
- Los residuos generados de las titulaciones y posibles drenados de la bureta deben ser colocados en un recipiente adecuado para posteriormente enviarlos al área de confinamiento o disposición en lagunas de evaporación previamente neutralizados.

Determinación de la población de levaduras presentes en mostos y vinos

Objetivo

Establecer el método para determinar la población de levaduras presente en mostos y vinos.

Alcance y campo de aplicación

El alcance de este método es para las destilerías de Sonora, debiéndose aplicar en los departamentos de recepción de materia prima, maceración y fermentación, así como en almacenamiento de vinos para asegurar la calidad del producto terminado.

Responsabilidades

Analista:

- Esterilizar o en su defecto sanitizar con solución de alcohol (Isopropanol al 10%) todo el material que se utilizará en la determinación.
- Realizar correctamente la determinación de la población a todas las muestras que lo requieran, prestando especial atención a la técnica de conteo en los cuadros de la cámara de Neubauer.
- Realizar al menos dos determinaciones para corroborar resultados (ambos cuadrantes de la cámara de Neubauer)
- Registrar los resultados del conteo en una bitácora, en la cual se indique la fecha, hora y muestra a la cual se le está realizando el conteo.
- Coordinador de Aseguramiento de Calidad.
- Contar con el equipo y material necesario para el análisis.
- Archivar y tener disponibles registros de las determinaciones realizadas previamente.
- Informar de cualquier resultado fuera de especificaciones al Jefe de Producción.

Reactivos:

- Solución de alcohol isopropílico al 10% (Sanitizante)
- Agua destilada

Material:

- Colador (poro fino)
- Vaso de precipitado 100 ml
- Perilla de succión
- 2 Pipetas serológicas 1 ml
- Matraz aforado 100 ml
- Pizeta 1L
- Vaso de precipitado 250 ml

Aparatos y Equipos

- Cámara de Neubauer
- Microscopio Óptico

Preparación de Muestras

Mosto:

Una vez tomada la muestra (en el segundo tercio del tanque), se sanitiza rápidamente la botella que la contiene, evitando que haya un descenso en la temperatura de la muestra, posteriormente se filtran aproximadamente 20 ml utilizando un colador de tamaño de poro fino, para evitar contaminación y obstrucción del material empleado.

Procedimiento

1. Lavar con solución jabonosa todo el material a utilizar, posteriormente enjuagar con solución de alcohol isopropílico al 10 % y agua destilada, utilizar el material una vez que se haya secado por completo. Lavar la cámara de Neubauer **únicamente** con agua

- destilada, frotando con la yema de los dedos la parte metálica de ésta evitando raspaduras en esa zona; secar con un pañuelo fino.
2. Aforar con agua destilada el matraz de 100 ml.
 3. Filtrar aproximadamente 10-20 ml de mosto en un vaso de precipitado de 100 ml.
 4. Verter los 100 ml de agua destilada del matraz en un vaso de precipitado de 250 ml y agregar 1 ml de mosto filtrado, homogenizar completamente la dilución. Esta es una dilución 1:100 del mosto.
 5. Colocar el cubreobjeto sobre la parte metálica de la cámara, ya que es en ésta donde se encuentra la zona de conteo, cuidando que los canales de inyección de la muestra no sean cubiertos por completo.
 6. Verter aproximadamente 1 gota de la dilución en el canal de inyección de la muestra, la cual se esparcirá posteriormente por capilaridad sobre toda el área de ese cuadrante. Realizar lo mismo para el segundo cuadrante.
 7. Observar al microscopio con el objetivo 40X y realizar el conteo de levaduras sólo en los cuadros señalados en rojo (Figura 3) del cuadro central de la Cámara de Neubauer, siguiendo la siguiente técnica:

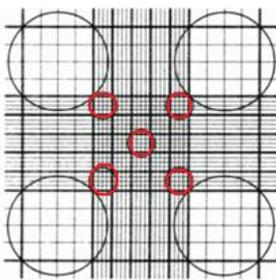


Figura 3.- Cámara de Neubauer

- El conteo se realiza en los 5 cuadros señalados pertenecientes al cuadro central, siguiendo el orden señalado (Figura 4).

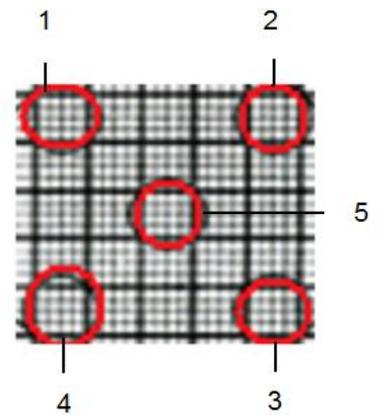


Figura 4.- Orden de conteo

- En cada uno de los cuadros se cuenta renglón por renglón, siguiendo una misma dirección (Figura 5), para evitar estarse devolviendo y perder el conteo.

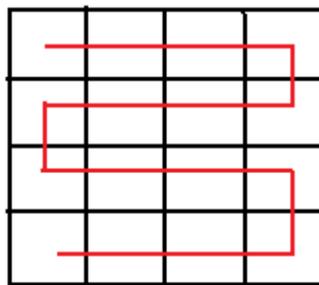


Figura 5.- Dirección de conteo a seguir en cada cuadro

Las células que no tocan la segunda línea son contables, si la tocan o están encima de ella no se incluyen. Gráficamente se puede apreciar la forma correcta de conteo. Las células que tiene una X son las que no se deben contar.

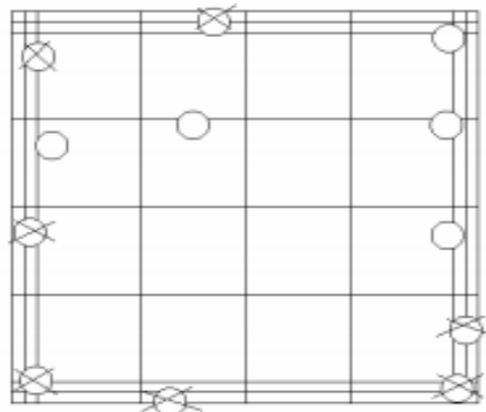


Figura 6.- Levaduras que se deben contar.

Cuidados y precauciones de seguridad

Buenas Prácticas de Manufactura

- Todo el personal debe presentarse aseado, con su ropa limpia incluyendo los zapatos.
- Utilizar el equipo de protección personal adecuado como son bata, guantes y lentes, para evitar posibles accidentes como salpicaduras, derrames, contacto con sustancias irritantes, etc.
- No se permite comer y fumar dentro del laboratorio.
- En caso de sufrir una herida se debe cubrir apropiadamente con material impermeable, para evitar cualquier contacto con el producto que pueda propiciar la contaminación del mismo.
- Los residuos generados de las diluciones se deben enviar al área de confinamiento, por seguridad al medio ambiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primera prueba

En esta fermentación se utilizó la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*.

En la tabla 3 se muestra como fue el comportamiento de la primera fermentación.

Durante la primera fermentación se pudo observar que la fermentación duró 38 horas, aunque el tiempo de refrigeración fue de 6 horas. A esta prueba no se le aplicó oxígeno al principio, lo cual muestra que fue una fermentación lenta. En la gráfica 1 se muestra como la riqueza alcohólica va aumentando de 0.22 hasta 10.1 mientras que los °Brix van disminuyendo de 18.1 hasta 0.2, lo que nos indica la conversión de azúcar en alcohol.

La gráfica 2 nos muestra que el punto máximo de crecimiento de población de levaduras se alcanzó a las 30 horas de fermentación con una temperatura de 33 °C por la mañana, por lo que no se ocupó muchas horas de refrigeración.

.

REGISTRO DE COMPORTAMIENTO EN FERMENTACION

PARAMETROS INICIALES

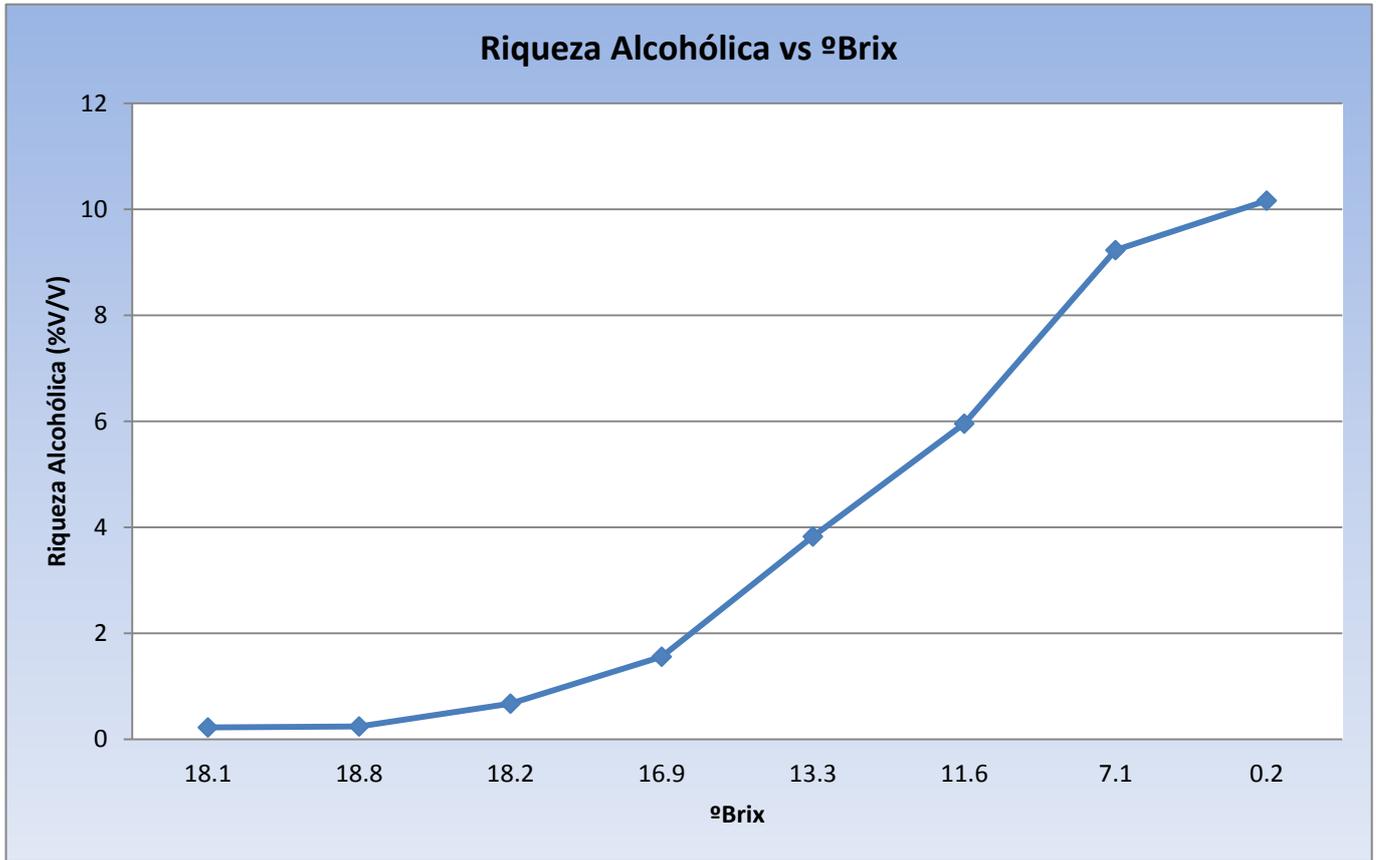
N° de Prueba	1era
Fecha de Carga	10/07/2010
Capacidad Total del Tanque	78603 l
Tanque N°	5V
Volumen a Ocupar en la Prueba	60000 l
Cantidad de Levadura	7 Kg
Cantidad de Nutriente	25Kg
PH	3.84
Con Oxigeno	NO
Otro	Dosis normal

PARAMETROS FINALES

Fecha en que Termino	11/07/2010
Hr de Fermentación	38 Hr
Acidez Volátil	1.21
% Alcohol Volumen	10.164
Grados y Hr de Refrigeración	6 Hr
Comentarios Finales	Se encontró que la temperatura ideal es de 27°C a 33°C, en este rango de temperatura se observa que la riqueza alcohólica se dispara y es en donde los °Brix más disminuyen.

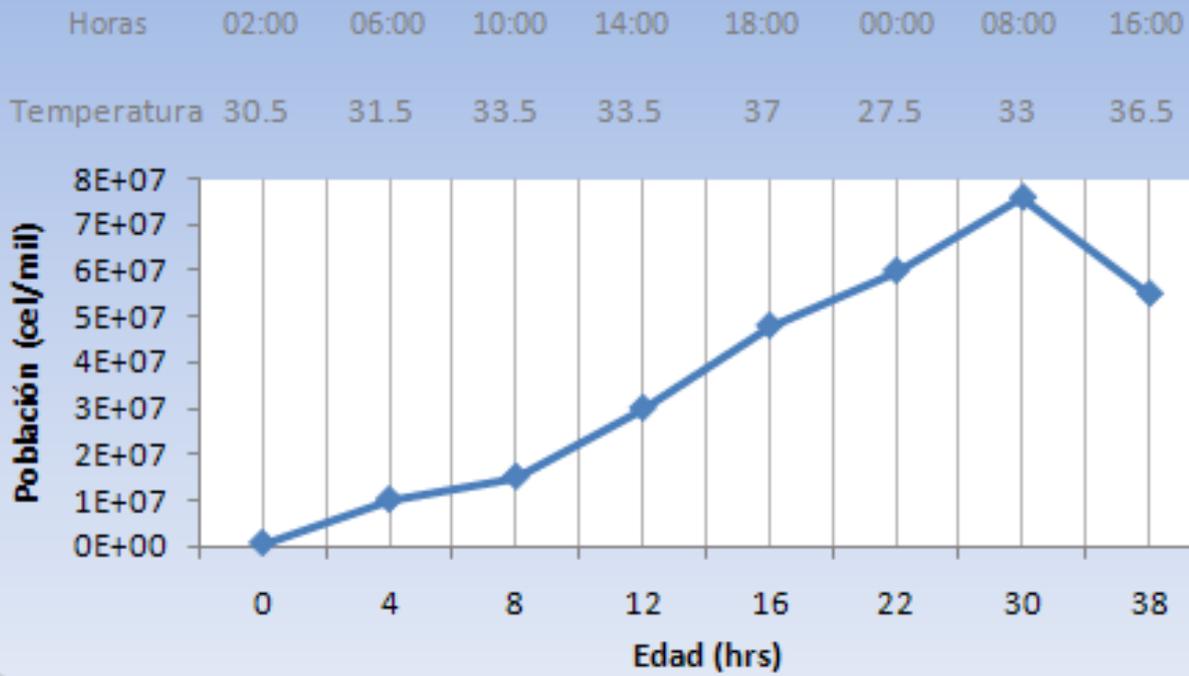
Tabla3. Comportamiento de la primera fermentación.

HORA	EDAD(HRS)	°BRIX	TEMP(°C)	POBLACION(cel/mL)	RIQUEZA ALCOHOLICA (%V/V)	PH
02:00	0	18.1	30.5	5E+05	0.224	3.84
04:00	2	19	31.5			
06:00	4	18.8	31.5	1E+07	0.242	3.79
08:00	6	18.7	32.5			
10:00	8	18.2	33.5	1.5E+07	0.673	3.73
12:00	10	17.2	33			
14:00	12	16.9	33.5	3E+07	1.559	3.65
16:00	14	15.7	34			
18:00	16	13.3	37	4.8E+07	3.826	3.54
08:00 p.m.	18	12.6	27			
12:00	22	11.6	27.5	6E+07	5.958	3.52
04:00	26	8.9	31			
08:00	30	7.1	33	7.6E+07	9.23	3.5
12:00	34	4.3	35			
04:00	38	0.2	36.5	5.5E+07	10.164	
	42					



Gráfica 1. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto en fermentación (1 una muestra)

Gráfica 2. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (Temperatura)



Segunda prueba

En la segunda fermentación se utilizó la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*.

Para esta fermentación se pensó que se aumentará el pH a 4.0 la levadura estaría en un medio más adecuado y su comportamiento sería mejor. Para lograr esto, antes de inocular la levadura, al tanque se le agrego 7kg de NaOH al 10% esto en base a los 167775 l para subir el pH. También se le aplico oxígeno durante una hora, esto para ayudar a las levaduras a que su crecimiento al inicio de la fermentación sea mayor.

En la tabla 4 se muestra el comportamiento de la segunda fermentación.

Se puede apreciar que la fermentación duró 34 horas lo que nos indica que no fue una fermentación muy rápida por lo que se piensa que se debió a las 8 horas de refrigeración. Sí se observan las primeras horas de fermentación la temperatura aumentó mucho, ya que a las 10 horas de fermentación la temperatura ya alcanzaba los 36°C. Esto se puede deber que al principio antes de inocular en el mosto, se había aplicado sosa caustica por lo que el mosto se calentó.

En la gráfica 3, se muestra como la riqueza alcohólica va aumentando desde 0.12 hasta 10, mientras que los °Brix van disminuyendo desde 20.6 hasta los 3.9, lo que nos indica la conversión de azúcar en alcohol.

La gráfica 4 nos muestra que el punto máximo de crecimiento de población se alcanzó a las 30 horas de fermentación con una temperatura de 27.5 °C, por la mañana. Este valor de temperatura casi al final de la fermentación demuestra que el tanque se calentó mucho al inicio de la fermentación.

HORA	EDAD(HRS)	°BRIX	TEMP(°C)	POBLACION(cel/mL)	RIQUEZA ALCOHOLICA (%V/V)	pH
03:33	0	20,6	30,0	5.00E+06	0,124	3,95
05:55	2	18,6	32,5			
07:55	4	17,6	33,0	2.00E+07	1,253	3,99
09:55	6	17,1	33,5			
11:55	8	16,8	34,0	3.00E+07	2,699	3,67
13:55	10	15,8	36,0			
16:00	12	14,0	34,5	4.50E+07	3,986	3,98
18:00	14	12,5	30,5			
20:00	16	10,8	27,0	5.10E+07	6,853	4,05
22:00	18	9,7	24,0			
02:00	22	6,6	25,0	5.50E+07	7,740	4,05
06:00	26	5,7	26,0			
10:00	30	4,8	27,5	7.50E+07	9,561	3,98

REGISTRO DE COMPORTAMIENTO EN FERMENTACION	14:00	34	3,9	27,5	7.50E+07	9,999	3,97
						10,240	

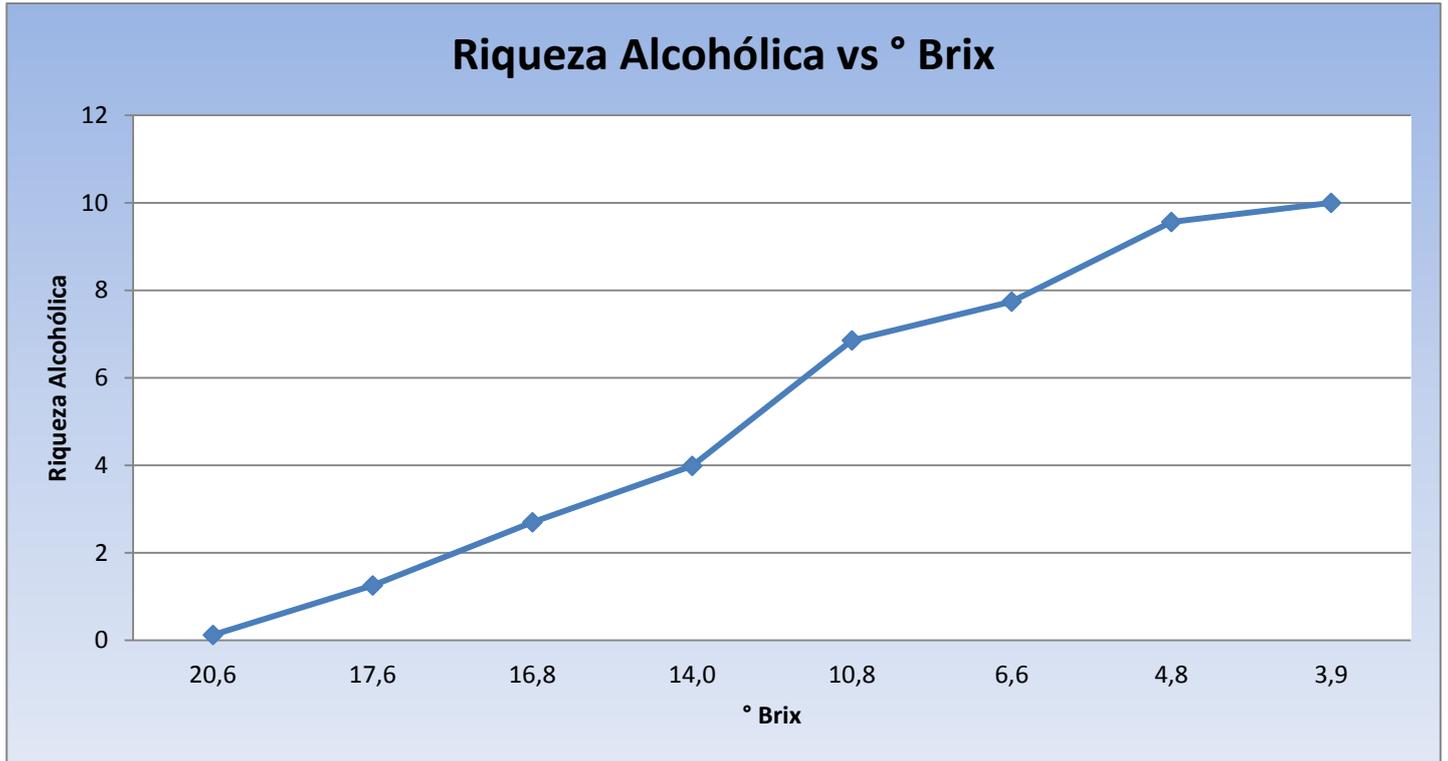
PARAMETROS INICIALES

N° de Prueba	2da
Fecha de Carga	14/07/2010
Capacidad Total del Tanque	195,244 l
Tanque N°	14V
Volumen a Ocupar en la Prueba	167,775 l
Cantidad de Levadura	19 Kg
Cantidad de Nutriente	59 Kg
PH	3,955
Con Oxigeno	1 Hr
Otro	Dosis normal

PARAMETROS FINALES

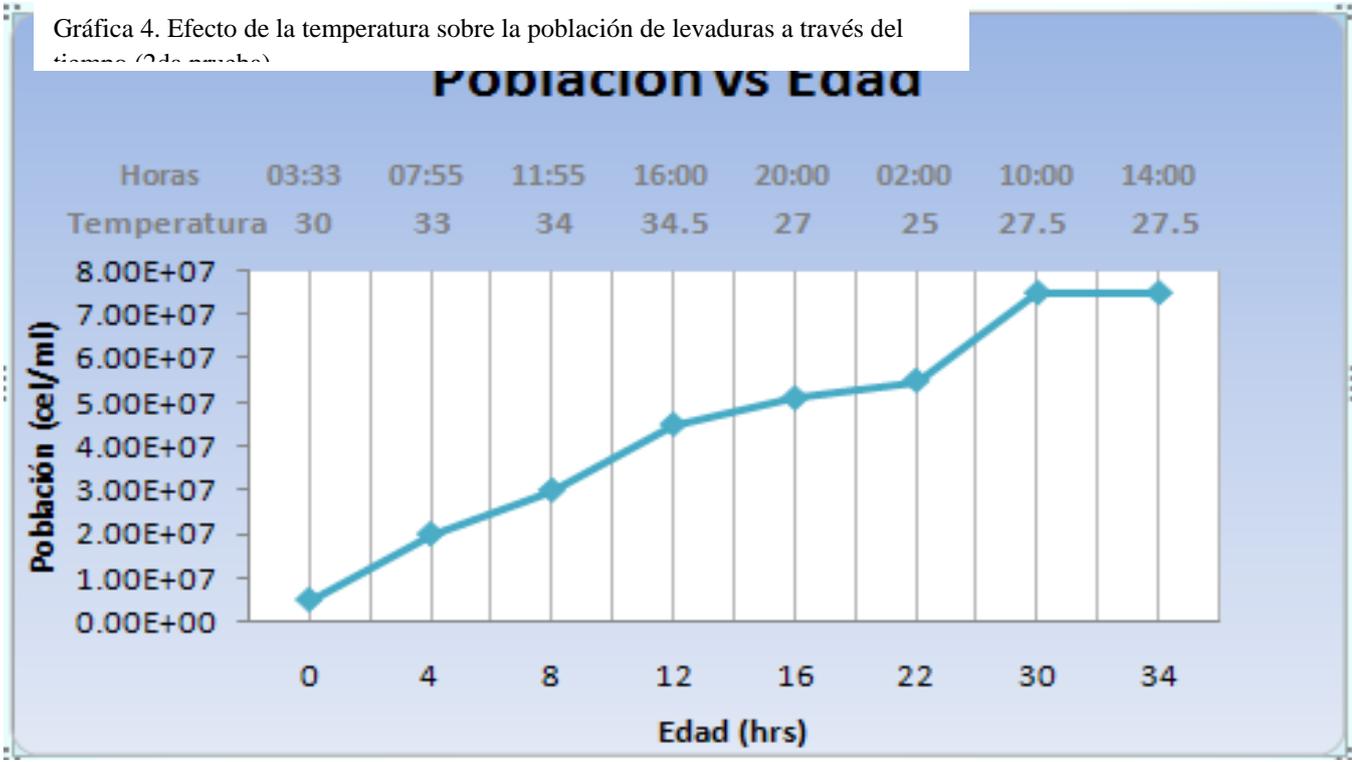
Fecha en que Termino	15/07/2010
Hr de Fermentación	34 Hr
Acidez Volátil	Falta
% Alcohol Volumen	10,24
Grados y Hr de Refrigeración	8 hr encendido
Comentarios Finales	El pH es un 3,955 en promedio en el tanque, hay que recordar que en esta prueba se le agrego Sosa cáustica para aumenta el pH. El valor de la riqueza alcohólica fue medida el día viernes 16 a las 10:30 am, pero el tanque se dio por muerto el día jueves 15 julio esta prueba se realizo con la última muestra obtenida a las 34 hr

Tabla4. Comportamiento de la segunda fermentación.



Gráfica 3. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (2da prueba).

Gráfica 4. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (Ode omaha)



Tercera prueba

La tercera fermentación se utilizó la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*.

En la tabla 5 se muestra el comportamiento de la fermentación.

En esta prueba se puede apreciar que la fermentación fue de 30 horas con 4 horas de refrigeración. A esta prueba se le aplicó oxígeno, lo que demuestra que fue una fermentación rápida.

Sí se observa el comportamiento de la temperatura, al inicio de la fermentación la temperatura era de 27°C. Esto se debe a que el tanque se enfrió antes de ser inoculado. También se puede apreciar que en esta fermentación hubo gran crecimiento de población de levaduras.

En la gráfica 5 se muestra como la riqueza alcohólica va aumentando de 0.47 hasta 10.41 mientras que los °Brix van disminuyendo de 19.1 hasta 5.9, lo que nos indica la conversión de azúcar en alcohol.

En la gráfica 6 se muestra que el punto máximo de crecimiento de población de levaduras se dio a las 12 horas de fermentación con una temperatura de 30 °C a medio día.

**REGISTRO DE
COMPORTAMIENTO
EN FERMENTACION**

PARAMETROS INICIALES

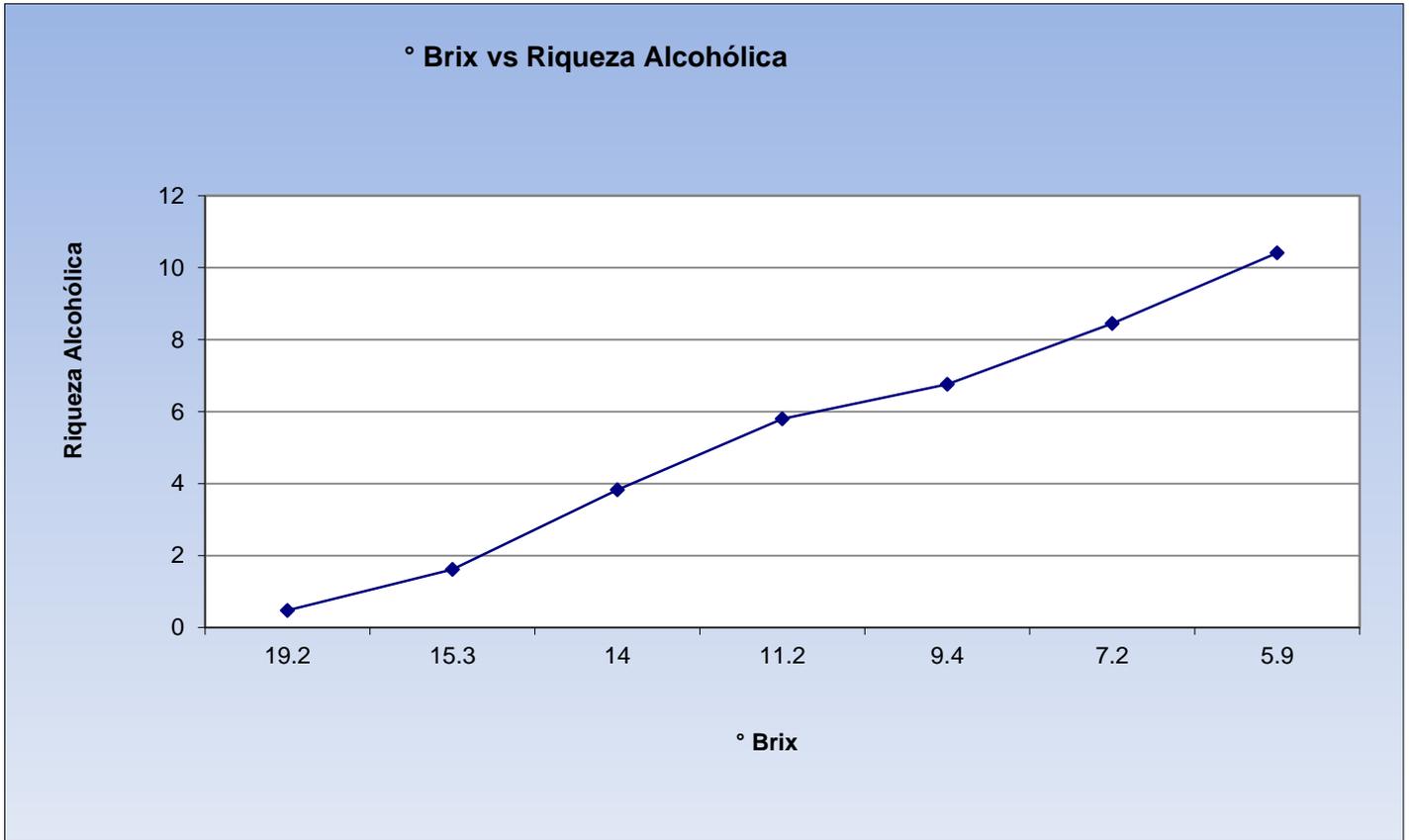
N° de Prueba	3era
Fecha de Carga	21 Julio 2010
Capacidad Total del Tanque	195244 l
Tanque N°	14V
Volumen a Ocupar en la Prueba	167775 l
Cantidad de Levadura	19 Kg
Cantidad de Nutriente	59 Kg
pH	no modificado
Con Oxigeno	si
Otro	-

PARAMETROS FINALES

Fecha en que Termino	22 Julio 2010
Hr de Fermentación	30 horas
Acidez Volátil	0.42
% Alcohol Volumen	10.1
Grados y Hr de Refrigeración	4 hr
Comentarios Finales	En la noche del 20 Julio 2010 se comenzó a enfriar el tanque de 10:00 pm a 11:53pm antes de ser inoculado.

Tabla5. Comportamiento de la tercera fermentación.

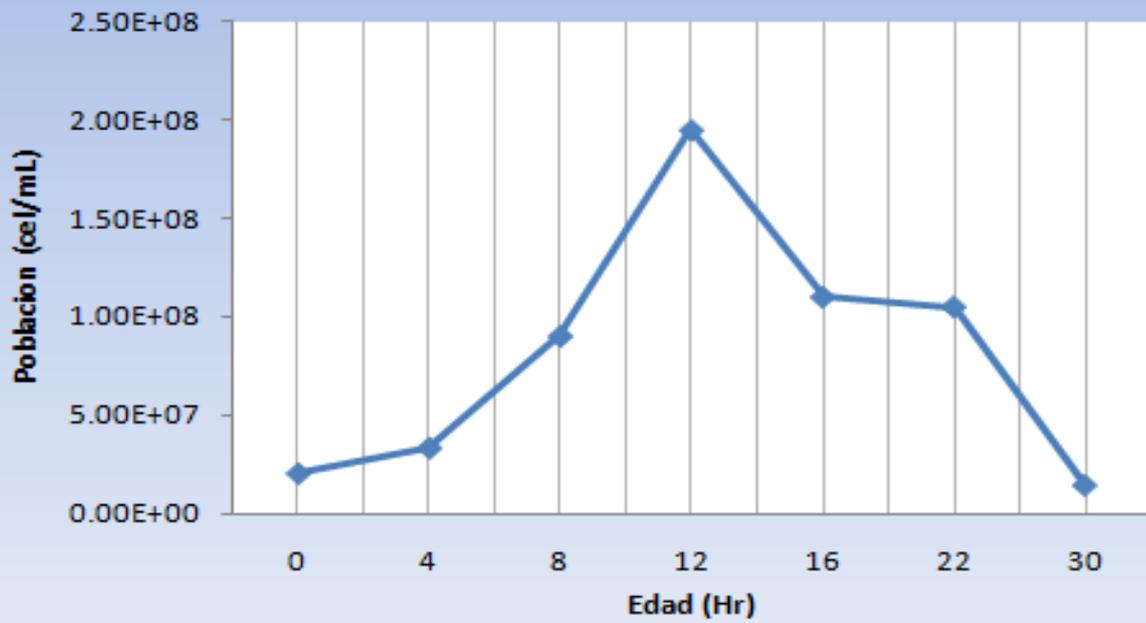
HORA	EDAD(HRS)	°BRIX	TEMP(°C)	POBLACION(cel/mL)	RIQUEZA ALCOHOLICA (%V/V)	pH	ACIDEZ VOLATIL	OBSERVACIONES
02:24	0	19.2	27	2.00E+07	0.479	3.96		
04:24	2	17.3	28					
06:24	4	15.3	28.5	3.30E+07	1.617	3.88		
08:24	6	16	28.5					
10:24	8	14	33	9.00E+07	3.83	3.86	0.864	
12:24	10	13	33					
14:24	12	11.2	30	1.95E+08	5.8	3.83	0.822	
16:24	14	8.9	27					
18:24	16	9.4	28	1.10E+08	6.76	3.85	0.88	
20:24	18	7.9	29					
22:24	22	7.2	30.5	1.05E+08	8.45	3.82	0.732	Pastillas °Brix 2%
00:24	24	7	31				0.798	
02:24	26	6.3	32.5					Pastillas °Brix 3/4%
06:24	30	5.9	34	1.40E+07	10.41	3.87	0.786	Pastillas °Brix 0.2%



Gráfica 5. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (3era muestra)

Poblacion vs Edad

Horas	2:24	6:24	10:24	14:24	18:24	22:24	6:24
Temperatura	27	28.5	33	30	28	30.5	34



Gráfica 6. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (2000 ppm)

Cuarta prueba

La cuarta fermentación se realizó con la levadura *Safoenos*, esto para observar su comportamiento y así comparar los resultados con la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*.

En la tabla 6 se muestra el comportamiento de la fermentación.

En esta prueba se puede apreciar que la fermentación fue de 38 horas con 6 horas de refrigeración. A pesar de que a esta fermentación se le aplicó oxígeno al inicio, se puede ver que la población de levaduras tardó en desarrollarse en las primeras horas de fermentación.

En la gráfica 7 se muestra como la riqueza alcohólica va aumentando de 0.12 hasta 8.29 mientras que los °Brix van disminuyendo de 19.7 hasta 0.91, lo que nos indica la conversión de azúcar en alcohol.

En la gráfica 8 se muestra que el punto máximo de crecimiento de población de levaduras se dio a las 22 horas de fermentación con una temperatura de 26.5 °C por la noche. Lo que demuestra que fue una fermentación lenta.

Haciendo una comparación de esta 4ta prueba con la 3era prueba se puede ver que en la 3era prueba el crecimiento de población de levaduras fue mayor, además que al inicio de la fermentación, en la 3era prueba las levaduras se desarrollaron más rápido y en la 4ta prueba tardaron en desarrollarse, a pesar de que en las dos pruebas se les aplicó oxígeno al inicio de la fermentación y las dos fermentaciones iniciaron con una temperatura baja.

En cuanto a la acidez volátil, en la 3era prueba y 4ta prueba vemos el comportamiento del pH y nos damos cuenta que se comportó de una manera más estable en la 3era prueba que es donde obtuvimos mejor acidez volátil, dada que en la 4ta prueba varió mucho y la acidez volátil resultó muy alta.

**REGISTRO DE
COMPORTAMIENTO
EN FERMENTACION**

PARAMETROS INICIALES

N° de Prueba	4ta
Fecha de Carga	27 Julio 2010
Capacidad Total del Tanque	195244 l
Tanque N°	14 V
Volumen a Ocupar en la Prueba	167775 l
Cantidad de Levadura	19 kg
Cantidad de Nutriente	59 Kg
pH	No modificado
Con Oxigeno	si
Otro	Levadura: Safoenos

PARAMETROS FINALES

Fecha en que Termino	29 julio 2010
Hrs de Fermentación	38 Hr
Acidez Volátil	1,50
% Alcohol Volumen	8.8
Grados y Hrs de Refrigeración	6 Hr
Comentarios Finales	los ° Brix a partir de las 14 hrs de fermentación se comenzaron a medir con el brixómetro manual dado que es un poco más exacto que el que usábamos anteriormente, la acidez volátil final fue de 1,5 y los grados alcohol finales fueron de 8,8

Tabla6. Comportamiento de la cuarta fermentación.

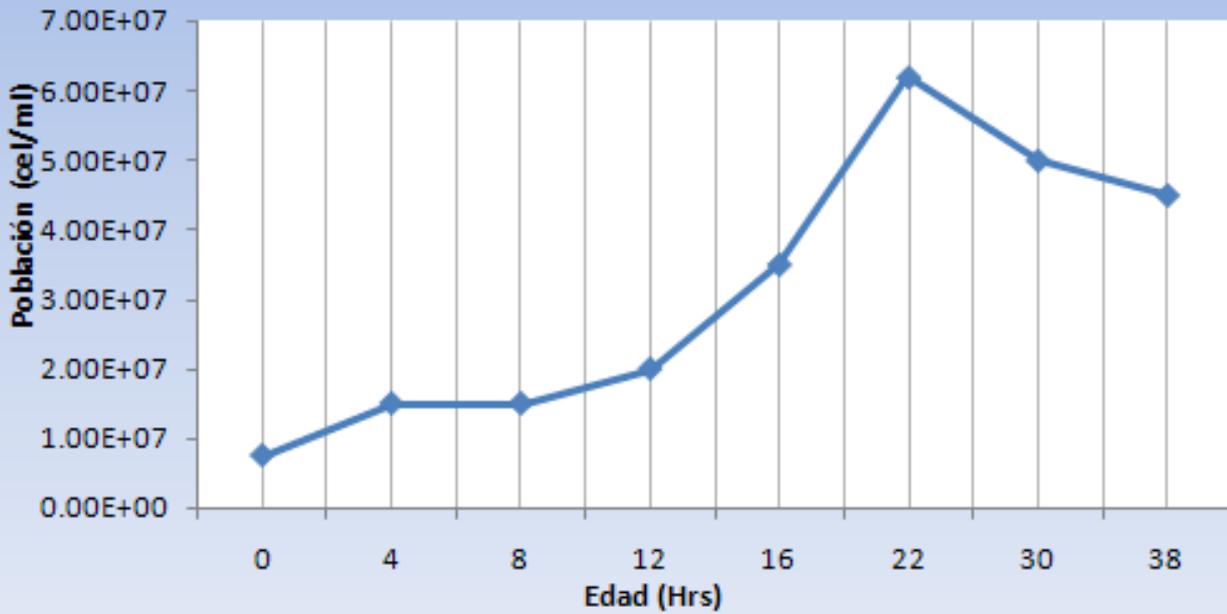
HORA	EDAD(HRS)	°BRIX	TEMP(°C)	POBLACION(cel/mL)	RIQUEZA ALCOHOLICA (%V/V)	pH	ACIDEZ VOLATIL	OBSERVACIONES
22:30	0	19.7	29	7.50E+06	0.12	3.88		
00:30	2	16.7	30				0.54	
02:30	4	14.5	30	1.50E+07	0.16	3.84		
04:30	6	13.5	30					
06:30	8	13	30	1.50E+07	0.42	3.86	0.84	
08:30	10	14.1	30					
10:30	12	13.7	31.1	2.00E+07	0.95	3.71		
12:30	14	13.3	33.1					
14:30	16	12.9	34	3.50E+07	2.32	3.58	1.098	
16:30	18	10.4	30					
20:30	22	9.4	26.5	6.20E+07	4.54	3.57		
22:30	24						1.38	
00:30	26	5.6	29.5					
04:30	30	3.8	32	5.00E+07	6.86	3.99		
06:30	32						1.392	
08:30	34	2	33					
10:30	36	1	34					Pastillas °Brix 1%
12:50	38	0.911	35	4.50E+07	8.29	3.78	1.5	Pastillas °Brix 0.2%



Gráfica 7. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (4ta prueba).

Población vs Edad

Horas	22:30	2:30	6:30	10:30	14:30	20:30	4:30	12:50
Temperatura	29	30	30	31.1	34	26.5	32	35



Gráfica 8. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (4to ensayo)

Quinta prueba

En la quinta fermentación se utilizó la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*.

Hay que mencionar que esta quinta fermentación se realizó en un tanque con una capacidad de medio millón de litros y que el tanque no cuenta con un material aislante por lo que la temperatura del medio exterior afecta mucho a la fermentación.

En la tabla 7 se muestra el comportamiento de la fermentación.

En esta prueba se puede apreciar que la fermentación fue de 30 horas con 10.4 horas de refrigeración. Aunque al tanque no se le aplicó oxígeno al inicio de la fermentación, muestra una fermentación no muy lenta. Si se observa el comportamiento de la temperatura, se puede ver que el tanque se refrigeró al inicio de la fermentación para alcanzar una temperatura adecuada para la levadura y se volvió a enfriar por la tarde, aunque lo único que se logró fue mantener la temperatura a 35°C.

En la gráfica 9 se muestra como la riqueza alcohólica va aumentando de 0.11 hasta 9.53 mientras que los °Brix van disminuyendo de 17.1 hasta 0.99, lo que nos indica la conversión de azúcar en alcohol.

En la gráfica 10 se muestra el punto máximo de población de levaduras a las 26 horas de fermentación con una temperatura de 36 °C por la madrugada.

**REGISTRO DE
COMPORTAMIENTO
EN FERMENTACION**

PARAMETROS INICIALES

N° de Prueba
Fecha de Carga
Capacidad Total del Tanque
Tanque N°
Volumen a Ocupar en la Prueba
Cantidad de Levadura
Cantidad de Nutriente
pH
Con Oxígeno
Otro

5
03-Ago-10
558,569 l
19 F
500,000 l
56 kg
175 kg
No modificado
No
tanque no adiabático

PARAMETROS FINALES

Fecha en que Termino
Hrs de Fermentación
Acidez Volátil
% Alcohol Volumen
Grados y Hrs de Refrigeración
Comentarios Finales

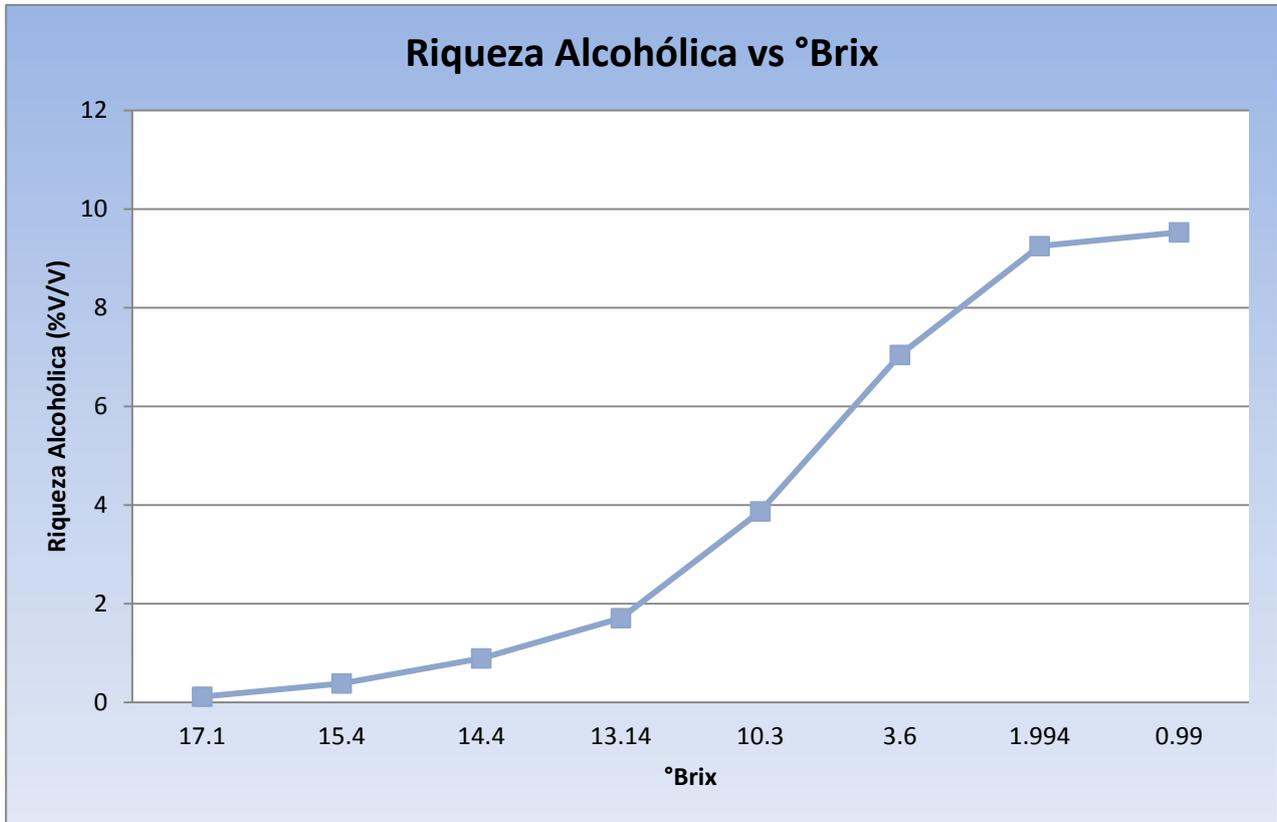
04-Ago-10
30
1.29
8.5
10:40 Hr

Las horas de refrigeración comenzaron el día 2 de agosto a las 18:00 hasta las 00:40, posteriormente el día 3 de agosto de 17:00 a 21:00 hrs, dándonos un total de 10:40 hrs

La riqueza alcohólica final (8.5) fue tomada el día 05 de agosto.

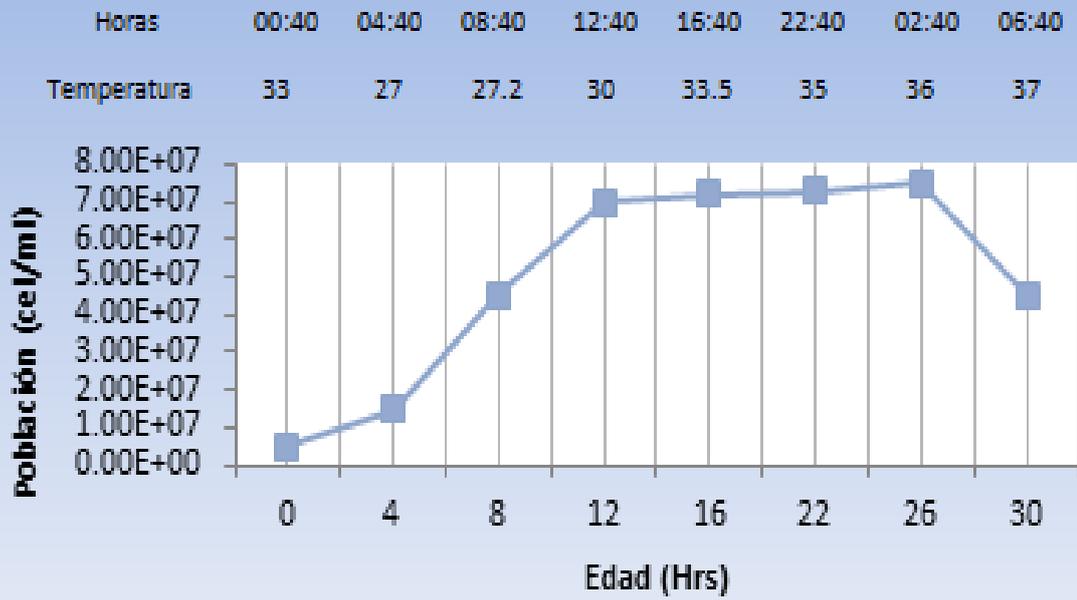
Tabla7. Comportamiento de la quinta fermentación.

HORA	EDAD(HRS)	°BRIX	TEMP(°C)	POBLACION(cel/mL)	RIQUEZA ALCOHOLICA (%V/V)	pH	ACIDEZ VOLATIL
00:40	0	17.1	33	5.00E+06	0.113	3.73	0.504
02:40	2	16.4	27				
04:40	4	15.4	27	1.50E+07	0.382	3.77	
06:40	6	15.3	27				
08:40	8	14.4	27.2	4.50E+07	0.89	3.73	0.774
10:40	10	14	28				
12:40	12	13.14	30	7.00E+07	1.707	3.67	
14:40	14	12	32				
16:40	16	10.3	33.5	7.20E+07	3.871	3.57	0.846
18:40	18	7.2	35				
22:40	22	3.6	35	7.30E+07	7.043	3.6	
00:40	24						0.672
02:40	26	1.994	36	7.50E+07	9.251	3.63	
06:40	30	0.99	37	4.50E+07	9.531	3.56	1.26



Gráfica 9. Porcentaje de riqueza alcohólica de las muestras de mosto (5ta prueba).

Población vs Edad



Gráfica 10. Efecto de la temperatura sobre la población de levaduras a través del tiempo (5to prueba)

CONCLUSIONES

En base a los datos obtenidos en las pruebas es muy conveniente aplicar oxígeno al principio de cada fermentación ya que genera mayor cantidad de biomasa (levadura) y es cuando más azúcar (°Brix) contiene el mosto.

En cuanto a la levadura, se observó que a temperaturas que oscilan entre los 27°C y 30°C se desarrollan mejor, así como con pH en un rango de 3.5 – 4.5, las levaduras trabajan mejor en un medio neutro o poco ácido, sin embargo también se sabe que las bacterias se desarrollan mejor en un pH mayor de modo que la acidez debe ser tal que favorezca el desarrollo de las levaduras pero que perjudique el desarrollo de las bacterias peligrosas.

Se observó que la levadura *Safoenos* no es tan viable ya que al inicio de la fermentación no se desarrolló tan rápido como la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*. Además que su punto máximo de crecimiento de población fue por debajo a comparación al punto máximo de crecimiento de población de la levadura *W0992-LSA Saccharomyces Cerevisiae*. Se puede apreciar que cada fermentación se comporta de manera diferente y también que cada fermentación será influenciada dependiendo del clima que se presente.

Por lo anterior las mejores condiciones obtenidas para lograr un mayor grado alcohólico y menos horas de refrigeración en el proceso de fermentación fue manejando una temperatura en un rango de 27 °C a 34°C, con un pH que esté entre los valores de 3.82 y 3.96.

RECOMENDACIONES

No enfriar los tanques de fermentación al iniciar la inoculación de la levadura.

Inocular la levadura cuando el tanque de fermentación se encuentre cerca del nivel deseado, ya que esto evitará que la levadura se estrese.

Las muestras que se tomen de los tanques de fermentación para ser analizadas, siempre deben de ser tomadas del mismo punto.

Recubrir los tanques con un aislante para que no les afecte el calor exterior.

Tratar que la fermentación inicie por las tardes para cuando la población de levadura esté acercándose a su punto más alto, la temperatura del medio ambiente sea la más adecuada.

Lograr que la iniciación de la fermentación se realice en un turno.

Realizar un lavado de uva antes de que entre al proceso.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvares, B. S., Zaragoza, C. L., Vincent Vela María Cinta. 2006. Química Industrial Orgánica. Capítulo cinco. Editorial. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- Amerine M.A., Ough C.S. 1976. Análisis de vinos y mostos. Editorial. Acriba. Zaragoza, España.
- ASERCA. 2002. Un horizonte ASERCA del mercado Agropecuario. Séptimo aniversario 08/93-09/00
- Asociación Agrícola de Productores de Uva de Mesa Hermosillo, Sonora, México. (2008).
- Casa Pedro Domecq. 2010 Método de prueba LLAB 009S. Determinación de Grado alcohólico. Documento interno no publicado.
- Casa Pedro Domecq. 2010 Método de prueba LLAB 001S. Determinación de Acidez Volátil. Documento interno no publicado.
- Casa Pedro Domecq. 2010. Determinación de Acidez Total en Mostos y Vinos. Método LLAB-007S. Documento interno no publicado.
- Casa Pedro Domecq. 2010. Determinación de Azúcar Residual en Vinos. Método LLAB-006S. Documento interno no publicado.
- Claridades Agropecuarias. No. 105. Mayo 2002 (SAGARPA Y ASERCA), ISSN 0188-9974
- Flanzy, C. 2003. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Capítulo once. AMV ediciones. Segunda edición. Madrid España.
- Müller E. Ludwig. 1964. Manual de Laboratorio de Fisiología Vegetal. Editorial. SIC. Turrialba, Costa Rica.
- Negre E., Fmcot. 1980. Manual Práctico de Vinificación y conservación de los vinos. Capítulo dos. Tercera Edición. Barcelona, España.

Pelczar J. M., Reid D. R., Chan E.C.S. 1977. Microbiología. Editorial. Mc Graw-Hill.
Cuarta Edición. U.S.A.

Peynaud E. 1989. Enología práctica, conocimiento y elaboración del vino. Editorial:
Ediciones Mundi-Prensa. Tercera Edición. España.

Rongel. A.S. 2004, Caracterización de las Propiedades Organolépticas y los Compuestos
Congenéricos del Aguardiente Obtenido de las Variedades de Uva Palomino y
Thompson Seedless Cosechadas a Diferentes Grados Brix. Tesis Profesional.
Universidad de Sonora.

Salazar M. D., López C. I. 2006. Ampelografía Básica de Cultivares de uva de mesa.
Capitulo uno. Tomo IV. Editorial de la UPV. Valencia España.

Valenzuela, B.C. 2008. Determinación de las condiciones de proceso para la elaboración de
un vino a base de uva Carignane y miel de abeja. Tesis Profesional. Universidad de
Sonora.

Botica casera (web en línea) <http://www.botica-casera.com/2010/09/para-que-es-buena-la-uva.html> (consulta 28 de Mayo del 2011)

Industrias Vinícolas Casa Pedro Domecq (web en línea) <http://www.domecq.com.mx>
(consulta 16 de Abril del 2011)

Nuestros vinos (web en línea) <http://www.nuestrosvinos.com/proceso-elaboracion-vino/>
(consulta 14 de Junio del 2011)