

**FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
Y DE LOS ALIMENTOS**



**PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO**

TALLER DE TÍTULO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del efecto del uso de ultrasonido, maceración pre fermentativa en frío y vinificación tradicional sobre la composición fenólica y sensorial de vino elaborado a partir de *Vitis vinífera* cv. Cabernet Sauvignon proveniente del Valle del Maipo.

ERNESTO FERNANDO ARAYA JARA

QUILLOTA, CHILE

2019

Índice

1. Resumen	1
2. Definición del problema u oportunidad	2
3. Hipótesis.....	4
4. Objetivos	4
4.1. Objetivo general	4
4.2. Objetivo específico	4
5. Estado del arte	5
5.1. Compuestos fenólicos	5
5.2. Biosíntesis de flavonoides.	6
5.3. Antecedentes climáticos del lugar en estudio	7
5.4. Vinificación de uva tinta	8
5.5. Extractabilidad de los compuestos fenólicos.....	9
5.6. Maceración pre-fermentativa en frío	9
5.7. Ultrasonido	10
6. Materiales y métodos.....	11
6.1. Procedencia de la materia prima	11
6.2. Metodología de obtención de materia prima	11
6.3. Lugar de trabajo	11
6.4. Microvinificaciones	12
6.5. Descripción de los tratamientos	12
6.5.1. Vinificación estándar (control).....	12
6.5.2. Tratamiento de maceración pre fermentativa en frío.....	12
6.5.3. Tratamiento de aplicación de ultrasonido.....	13
6.6. Análisis químicos.....	13
6.6.1. Análisis de polifenoles totales.....	14
6.6.2. Análisis de antocianos totales.....	14

6.6.3.	Análisis de taninos totales	14
6.6.4.	Análisis de intensidad colorante	14
6.7.	Evaluación sensorial de los vinos	14
6.8.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	15
7.	Bibliografía	16
8.	Plan de trabajo	19
8.1.	Etapa 1: Trámites administrativos.....	19
8.2.	Etapa 2: Temporada 2020	19
8.3.	Etapa 3: Temporada 2021	19
8.4.	Etapa 4: Discusión de resultados, elaboración y entrega de informe final.....	19
8.5.	Carta gantt.....	20
9.	Resultados esperados	21
10.	Organización.....	22
10.1.	Cargos y funciones	22
10.2.	Presupuesto.....	23
10.2.1.	Presupuesto total por cuenta	23
10.2.2.	Presupuesto total por año	24
11.	Anexos.....	25
11.1.	Anexo 1: Tabla de descripción de ítem de gastos de operaciones.....	25
11.2.	Anexo 2: Tabla de descripción de fungibles por temporada.	25
11.3.	Anexo 3: Tabla de descripción de los servicios de terceros.	26

1. Resumen

Los compuestos fenólicos son los principales responsables de la calidad organoléptica del vino tinto, estando en directa relación su concentración, proporción y composición con el potencial de guarda y precio que puede lograr en el mercado. En la vid, estos son sintetizados en la baya desde la cuaja hasta que alcanza la madurez; específicamente, los flavanoles, responsables de las sensaciones de amargor y astringencia en el vino, en sus formas monoméricas como epicatequinas y catequinas son sintetizados desde la cuaja hasta el envero, y se encuentran principalmente en semillas y pieles; y los antocianos, responsables del color, son sintetizados desde aproximadamente una semana previo al envero para ser almacenados entre las paredes celulares de la piel de la uva. Estos eventos están mediados por enzimas que trabajan de manera óptima a una temperatura de entre 22 y 30°C, donde en la zona en estudio, el envero está registrado hacia fines de enero y principios de febrero, por lo que considerando un contexto de cambio climático, se esperaría que el período crítico de síntesis de compuestos fenólicos, especialmente antocianos, se vea perjudicados por la elevada temperatura en las bayas. Si bien la materia prima a utilizar para la elaboración de vino es determinante para lograr cierta calidad, las técnicas de vinificación podrán contribuir a mejorar ciertos atributos deseados, por lo que con la finalidad de contrarrestar la posible disminución de compuestos fenólicos en campo es que se pretende hacer más eficiente la extracción fenólica desde la uva al vino, planteando como hipótesis que la aplicación de ultrasonidos durante la fase acuosa de fermentación alcohólica mejorará extracción fenólica y características sensoriales de vino tinto en relación a la maceración pre fermentativa en frío, técnica ampliamente utilizada en enología que implica mayor uso de tiempo y energía, y una fermentación alcohólica por sí sola como tratamiento control.

2. Definición del problema u oportunidad

Los compuestos fenólicos son una familia de compuestos provenientes del metabolismo secundario de la vid vinífera (*Vitis vinífera* L.), comúnmente clasificados en flavonoides y no flavonoides, siendo los primeros los responsables de la calidad del vino tinto a producir; por su efecto en el color (antocianos), amargor y astringencia (catequinas y taninos condensados), además de condicionar su valor comercial (Cáceres *et al.* 2012). Los compuestos fenólicos flavonoides se encuentran principalmente en los hollejos de las bayas (Obreque-Slier *et al.*, 2013), pudiendo el hollejo representar hasta el 61% de la concentración de polifenoles totales de la uva (Lasanta, 2009). La síntesis de compuestos fenólicos tiene como precursor común a la fenilalanina, la cual bajo la acción de la fenilalaninamonoliase (PAL) conduce a la formación de ácido cinámico, que es el precursor de todos los compuestos fenólicos en la uva. Los antocianos, responsables del color de la uva tinta, son sintetizados en última instancia a través de la acción de la enzima Uridín di-fosfo (UDP)-glucosa:flavonoide 3-O-glucosyl transferasa (UFGT) (Downey *et al.* 2006). La actividad de la enzima PAL y UFGT aumenta con la temperatura e insolación (fotoprotección) siendo entre los 22 y 30°C el óptimo para su actividad, sin embargo, cuando la baya alcanza temperaturas superiores a los 35-37°C la síntesis de antocianos, compuestos fenólicos responsables del color, se detiene incluso de manera irreversible para temperaturas extremas (Castro, 2005; Mira de Orduña, 2010), perjudicando así el nivel de extracción de dichos compuestos en la vinificación. Además se debe tener en cuenta que la baya presenta por lo general entre 7-10°C, e incluso hasta 17°C, más que la temperatura ambiente (Castro, 2005; Keller, 2010), factor que dificulta la obtención de una buena proporción de antocianos en climas cálidos durante el periodo de crecimiento de la vid.

La fenología de la vid cv. Cabernet sauvignon está registrada para comunas de la cuenca del río Maipo bajo, Región Metropolitana, Chile, por Calderón (2004), y Kusch (2005). Estos registros indican que el envero ocurre durante la segunda mitad de enero (entre los días 15 y 28 con 829,6 días grado acumulados) y la madurez de cosecha desde el 20 de marzo (1363,9 días grado acumulados) pudiendo alargarse hasta el 30 de abril.

Según el Atlas Agroclimático de Chile (2017), el distrito de Santiago, donde se incluyen localidades pertenecientes a la cuenca del río Maipo (Buin, Paine, Pirque, etc), posee con un período cálido acentuado en los meses de diciembre, enero (periodo de envero) y febrero, donde enero corresponde al mes más cálido del año con una temperatura

máxima media de 29,5°C para la localidad de San Antonio de Naltahua. Además, se obtiene que para la localidad de Isla de Maipo la temperatura máxima promedio del mes más cálido (enero) es de 30,2°C, siguiendo una tendencia al alza proyectada para el año 2050 y 2070 con medias de 31,9° y 32,9°C, respectivamente. La acumulación de calor promedio anual corresponde a 2039 días grado base 10°-30°C, y como tendencia hacia el año 2050 y 2070 se espera un incremento anual a 2115 y 2281 días grado base 10°-30°C, respectivamente.

La actividad de la enzima UFGT en el hollejo de variedades tintas es máxima en el periodo de envero (enero) y disminuye durante el periodo de madurez. Esto gatilla la síntesis y acumulación de antocianos durante toda la maduración, encontrándose una concentración máxima cuando en el período de madurez la relación azúcar/acidez es mayor (Cáceres, 2005; Lasanta, 2009; Merrel *et al.*, 2017), por lo tanto, el aumento sostenido de las temperaturas durante los últimos años (efecto del cambio climático global), conlleva a una acumulación precoz de unidades de calor (base 10°C) y ello a la anticipación del momento de envero, lo que implica que el período crítico de maduración se desplaza hacia la parte más cálida de la temporada (Mozell y Thach, 2014).

En base a lo anterior, las prácticas de vinificación pueden alterar en gran medida el porcentaje de extracción de compuestos fenólicos desde la uva al vino (Merrel *et al.*, 2017), siendo la fermentación alcohólica por sí sola capaz de extraer hasta un 60% de los compuestos fenólicos presentes en la uva (Castro, 2005). Es por ello que con el objetivo de contrarrestar la disminución de la síntesis de compuestos fenólicos en la uva, principalmente antocianos y proantocianidinas, se busca aumentar dicho porcentaje de extracción de compuestos fenólicos desde la uva al vino. Para ello se propone la evaluación del efecto de la aplicación de ultrasonido en la etapa de fermentación alcohólica de la vinificación de uva tinta cv. Cabernet sauvignon proveniente del Valle del Maipo en comparación a la técnica de maceración pre fermentativa en frío y a la fermentación alcohólica de una vinificación control.

3. Hipótesis

La aplicación de ultrasonido en fase acuosa de fermentación alcohólica durante la vinificación de uva tinta cv. Cabernet sauvignon mejorará el nivel de extracción de antocianos, taninos y polifenoles totales desde la uva al vino en relación a la técnica de maceración pre fermentativa en frío y una fermentación alcohólica por si sola.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido en fase acuosa de fermentación alcohólica, de la técnica de maceración pre-fermentativa en frío y de fermentación alcohólica por si sola sobre la extracción de compuestos fenólicos desde la uva al vino y las características sensoriales del vino obtenido.

4.2. Objetivo específico

- Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonidos en fase acuosa de fermentación alcohólica en una vinificación de uva tinta sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante.
- Evaluar el efecto de la maceración pre fermentativa en frío sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante.
- Evaluar el efecto de la fermentación alcohólica de una vinificación estándar sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante.
- Evaluar el efecto de la extracción fenólica de las tres vinificaciones en estudio sobre las características sensoriales del vino obtenido.

5. Estado del arte

5.1. Compuestos fenólicos

La composición fenólica de la uva deriva del metabolismo secundario de la vid, por el cual se sintetizan los metabolitos necesarios para cumplir principalmente roles de defensa y dispersión; tales como terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos (Ribéreau *et al.*, 2003; Downey *et al.*, 2006; Keller, 2010; Moreno y Peinado, 2012).

Los compuestos fenólicos son una familia de compuestos cuyo común denominador es la base de su estructura química, correspondiente a al menos un anillo bencénico unido a al menos un grupo hidroxilo (fenol o hidroxibenceno). Se encuentran comúnmente clasificados en compuestos fenólicos flavonoides (de más de un anillo bencénico) y no flavonoides (de un anillo bencénico), los cuales los primeros se dividen en subgrupos de flavonoles, flavononoles y flavonas, flavanoles y antocianos, y los segundos en subgrupos de estilbenos y ácidos fenólicos (Downey *et al.*, 2006; Moreno y Peinado, 2012).

En la uva y el vino son comúnmente encontrados cuatro clases de flavonoides: los flavonoles; compuestos incoloros a los cuales se les atribuye un efecto protector contra la radiación ultravioleta, radicales libres y como copigmentos de antocianinas, los flavononoles y flavonas; que son compuestos de pigmentación amarilla identificados en la piel de la uva, los antocianos; compuestos responsables del color de la piel de la uva y el vino tinto, y flavanoles; que incluyen desde pequeñas formas oligoméricas hasta largos polímeros de proantocianidinas (taninos condensados), responsables del amargor y la astringencia de la uva y el vino, además de la estabilidad del color del vino en el tiempo. Estos oligómeros y polímeros de flavanoles están compuestos por monómeros denominados proantocianidinas, tal como la catequina y epicatequina, y su rol, debido a su amargor y astringencia es considerado como acción disuasoria contra animales herbívoros e insectos (Downey *et al.*, 2006; Moreno y Peinado, 2012; Bautista *et al.* 2017).

Los antocianos, nombre genérico de los pigmentos responsables del color, además de las proantocianidinas de interés enológico, están presentes principalmente en las paredes celulares y, en algunos casos, vacuolas de las células hipodermales de las pieles, y están compuestos de una base monomérica denominada antocianidina, las cuales para que expresen su pigmentación deben estar unidas a una molécula de glucosa a través del carbono tres por un puente de etilo, donde pasan a denominarse

antocianina. Según el tipo de antocianidina que forme el complejo, le otorgará una determinada coloración, las cuales pueden ser: cianidina; color rojo, delphinidina; color rosado, peonidina; color azul-púrpura, petunidina; color púrpura y malvidina; color rojo-púrpura (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003; Zamora, 2003; Downey *et al.*, 2006; Moreno y Peinado, 2012). Además, las antocianinas, afectadas por factores como la temperatura de síntesis o etapa en la maduración, se pueden encontrar aciladas con ácido p-cumárico, lo que altera su nivel de extracción del mosto al vino (Downey *et al.*, 2006).

Las moléculas que le otorgan al vino las sensaciones en boca de amargor y astringencia corresponden al subgrupo de flavonoides denominados flavanoles, dentro del cual se encuentran los taninos condensados, que son polímeros formados en base a proantocianidinas. Estos se encuentran en la uva tanto en las semillas como en la piel, y su síntesis ocurre inmediatamente después de la cuaja, teniendo su máxima concentración durante el envero, manteniéndose su acumulación hasta una a dos semanas después del envero. Los taninos condensados también contribuyen a la estabilidad del color del vino, a través de la formación de complejos poliméricos estables con antocianinas, donde se obtiene que la estabilidad del color es máxima cuando la relación antocianos/taninos es de 1:4, proporción que indica la aptitud de crianza de un determinado vino tinto (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003).

La calidad del vino tinto está especialmente determinada por el grado de presencia o ausencia de los compuestos fenólicos flavonoides, los cuales debido a su concentración e interacción otorgan las cualidades organolépticas de color, amargor y astringencia, que da lugar a lo que se conoce como cuerpo o estructura del vino tinto, que además se ve reflejado en la relación directa entre composición fenólica y el valor comercial al que se adquiere (Cáceres *et al.*, 2012).

5.2. Biosíntesis de flavonoides.

La síntesis de compuestos fenólicos flavonoides en la baya es la culminación de dos rutas metabólicas, la del ácido siquímico y malónico (o fenilpropanoide). Esta última sintetiza flavonoides desde el acetyl CoA carboxilado (malonil-CoA) y el aminoácido fenilalanina que es producido vía ácido siquímico. Bajo condiciones normales de crecimiento, cerca del 20% del carbono fijado por las plantas fluye mediante la ruta del siquimato, mientras que cerca del 2% de todo el carbono fijado por la planta fluye desde la ruta del siquimato hacia la del ácido malónico (Downey *et al.*, 2006).

La ruta fenilpropanoide es generalmente considerada como la culminación de la síntesis de antocianinas, sin embargo ramas en esta ruta producen un rango de otros compuestos tales como hidroxicinamatos, estibenos, lignina, aurones, flavonas, isoflavonoides y flavonoides (Downey *et al.*, 2006).

En uva tinta, la acumulación de antocianos comienza en el envero, el inicio de la maduración. Inicialmente, solo se acumulan glucósidos de las antocianidinas dihidroxiladas cianidina y peonidina, seguido por antocianinas trihidroxiladas basadas en delphinidina, petunidina y malvidina. La acumulación de antocianinas en la piel de uvas tintas coincide con la expresión del gen que codifica el paso final en la biosíntesis de antocianinas, la enzima UDP-glucosa:flavonoide 3-O-glucosyl transferasa (UFGT) (Downey *et al.*, 2006), la cual para su óptimo funcionamiento requiere un rango de temperaturas de entre 22 y 30°C, sin embargo, si la temperatura de la baya alcanza valores de entre 35 y 37°C, la síntesis de antocianos se puede inhibir e incluso degradar si la temperatura de la baya sobrepasa dicho rango (Mira de Orduña, 2010; Keller, 2010). Además se ha reportado que la exposición al sol eleva las temperaturas de la superficie de la baya entre 10 y 17°C por encima de la temperatura ambiente (Castro, 2005; Keller, 2010), por lo que la síntesis y acumulación de antocianos en la baya en lugares de clima cálido se torna aún más difícil.

5.3. Antecedentes climáticos del lugar en estudio

Según el Atlas Agroclimático de Chile (2017) el distrito de Santiago, donde se incluyen localidades pertenecientes a la cuenca del río Maipo (Buin, Isla de Maipo, Paine, Pirque, etc), posee una clasificación climática del tipo templado cálido supratermal con régimen de humedad semi-árido, con un período cálido acentuado en los meses de diciembre, enero (período de envero) y febrero, donde enero corresponde al mes más cálido del año con una media de 20,1°C y una temperatura máxima media de 29,5°C para la localidad de San Antonio de Naltahua. Además, a partir del desarrollo de una línea base de 35 años (período 1980-2015), se obtiene que para la localidad de Isla de Maipo la temperatura máxima promedio del mes más cálido (enero) es de 30,2°C, siguiendo una tendencia al alza proyectada para el año 2050 y 2070 con medias de 31,9° y 32,9°C, respectivamente. La acumulación de calor promedio anual corresponde a 2039 días grado base 10°-30°C, y como tendencia hacia el año 2050 y 2070 se espera un incremento anual a 2115 y 2281 días grado base 10°-30°C, respectivamente.

La fenología de la vid cv. Cabernet sauvignon está registrada para la comuna de San Bernardo, por Calderón (2004), y para la localidad de Huelquén, comuna de Paine por Kusch (2005), ambos puntos ubicados en la cuenca del río Maipo, Región Metropolitana, Chile. Estos registros indican que la cuaja ocurre a fines de noviembre; (entre los días 24 y 26 de noviembre con 342,9 días grado acumulados), el envero la segunda mitad de enero (entre los días 15 y 28 con 829,6 días grado acumulados) y la madurez de cosecha desde el 20 de marzo (1363,9 días grado acumulados) pudiendo alargarse hasta el 30 de abril.

Si bien los factores que afectan la síntesis de compuestos fenólicos, especialmente de flavonoides son diversos, tales como la nutrición, el tipo de suelo, el régimen hídrico, la aplicación de reguladores de crecimiento, la variabilidad genética entre cultivares, entre otros, y que además están estrechamente interrelacionados entre sí, los que ejercen mayor influencia sobre el contenido de flavonoides de cualquier cultivar son el sitio de cultivo y la variación estacional del clima, principalmente la luz y la temperatura, debido a que tales variaciones son superiores a las adaptaciones introducidas por prácticas culturales (Downey *et al.*, 2006; Keller, 2010), por lo que un calentamiento del clima en la zona en estudio, especialmente en la etapa donde se lleva a cabo la mayor síntesis de antocianos, que corresponde al momento de envero, perjudicará la adecuada madurez fenólica, adelantando las etapas fenológicas debido a la acumulación precoz de unidades de calor (base 10°C) y con ello a la anticipación del momento de envero, lo que implica que el período síntesis y acumulación de antocianos se desplaza hacia la parte más cálida de la temporada (Keller, 2010; Mozell y Thach, 2014).

5.4. Vinificación de uva tinta

La vinificación tradicional de uva tinta comienza con el estrujado y despalillado de los racimos, luego la pasta de vendimia obtenida es enviada a través de una bomba de vendimia a los tanques de maceración y fermentación para ser inoculada con levaduras, generalmente comerciales, y bacterias malolácticas (en algunos casos), para luego dar inicio a la fermentación alcohólica, que a 25°C de temperatura posee una duración aproximada de entre 7 a 10 días, donde una vez terminada se realiza una pos-maceración o se inicia el proceso de prensado. El vino obtenido es sometido a una segunda fermentación (maloláctica), para luego ser añadido una dosis relativa de dióxido de azufre, ser clarificado y/o filtrado, quedando óptimo para ser almacenado en barricas o embotellado, dependiendo del estilo de vino a producir (Ribéreau *et al.*, 2003a).

5.5. Extractabilidad de los compuestos fenólicos

En cuanto a la extractabilidad de los taninos condensados diversos autores han observado que a cierto nivel de madurez de la uva la extractabilidad de los taninos disminuye tanto en semillas como en la piel entre el envero y la cosecha, donde especialmente en la piel representa una disminución del amargor y astringencia general de la uva, lo que probablemente responde a la estrategia de dispersión de la planta, acompañado de la acumulación de azúcares en la pulpa y de la biosíntesis de antocianos en la piel. Estos son extraíbles principalmente en un medio rico en etanol (segunda mitad de la fermentación alcohólica), y su extractabilidad durante la vinificación oscila entre el 25 y el 75%, donde entre el 20 y 50% de ese tanino proviene de las semillas (Ribéreau *et al.*, 2003b; Downey *et al.*, 2006).

En cuanto a la extractabilidad de los antocianos, se sabe que la difusión de compuestos de la piel al mosto durante la vinificación depende, entre otros factores, de la degradación de las células de la piel, por lo tanto, cuanto más extensa es la degradación, más fácil es extraer antocianos, los cuales son mayormente solubles en agua, es decir durante la primera mitad de la fermentación alcohólica. A nivel de la baya, cuando las uvas se vuelven levemente maduras, aunque la concentración de los pigmentos es menor, la riqueza de antocianos en el vino es ligeramente mayor que la obtenida con uvas menos maduras, por lo tanto, el contenido de antocianos dependerá tanto de la concentración en la piel como de la facilidad de difusión en el mosto (Moreno y Peinado, 2012). En base a lo anterior es que enológico se han desarrollado técnicas que permiten una mayor extracción de compuestos fenólicos desde la uva al vino durante la vinificación, donde una técnica ampliamente utilizada corresponde a la maceración prefermentativa en frío y otra que ha comenzado a investigarse es la aplicación de ultrasonidos.

Autores como Romero (2008) indican que en una vinificación tradicional la fermentación alcohólica por si sola es capaz de extraer hasta el 70% de los antocianos desde la piel al vino. Donde el estado de madurez de la uva juega un rol fundamental en el nivel de extractabilidad, además de la temperatura durante la vinificación (Moreno y Peinado, 2012).

5.6. Maceración pre-fermentativa en frío

En vino tinto, la maceración pre fermentativa en frío es una técnica de vinificación que consiste en lograr una maceración de la pasta de vendimia a temperaturas que rondan

entre los 5 y 10°C por un periodo variable de entre 2 a 7 días, y que tiene como objetivo mejorar la extracción de compuestos de hidrosolubles en ausencia de etanol (Ortega-Heras *et al*, 2012), tales como los antocianos, proantocianidinas de mayor grado medio de polimerización y terpenos responsables del aroma, y así controlar la extracción de compuestos solubles en alcohol como los taninos de las semillas, que otorgan amargor y un nivel de astringencia más agresivo en boca, además, la ausencia de CO₂ evita la formación del sombrero y con ello se mejora el contacto entre las partes sólidas y el mosto.

5.7. Ultrasonido

La tecnología de ultrasonido se basa en ondas mecánicas a una frecuencia superior al límite máximo del oído humano (>16 kHz), que se transmiten a través de cualquier sustancia que posee propiedades elásticas. En la industria alimentaria, el ultrasonido se puede dividir en dos rangos de frecuencia: ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz-1 MHz), que comúnmente se aplica como técnica analítica, y el ultrasonido de potencia (16-100 kHz) que puede usarse para generar emulsiones, desorganizar células y dispersar materiales agregados (Bautista *et al*. 2017).

Durante la irradiación de ultrasonido en el vino ocurre el fenómeno de cavitación acústica, que consiste en la formación, crecimiento y colapso implosivo de microburbujas. Este fenómeno de cavitación crea instantáneamente puntos localizados de altas temperaturas y presiones. Con ello, autores como Carrera *et al*. (2012) y Bautista *et al*. (2017) evidencian la desorganización de las paredes celulares y como consecuencia se mejora la difusión de compuestos fenólicos en el mosto durante la maceración de la pasta sonicada antes de la fermentación alcohólica. Zhang y Wang (2017) al aplicar ultrasonido durante el envejecimiento del vino evidencian la inducción de ciertas reacciones químicas y aceleración de las velocidades de reacción, tales como las de copigmentación, asemejándose al envejecimiento natural del vino.

En la actualidad la composición fenólica refleja la calidad de este, y los consumidores tienden a preferir los vinos con un color más intenso (Cáceres *et al*. 2012; Zhang y Wang, 2017), por lo tanto diversas investigaciones apuntan a incrementar el nivel de extracción de color desde las uvas o bien a contrarrestar efectos del clima que vayan en detrimento de la acumulación de color en bayas.

6. Materiales y métodos

6.1. Procedencia de la materia prima

La obtención de la uva, cultivar Cabernet sauvignon, se llevará a cabo en el campo “La Patagüita” perteneciente a Viñedos y Bodegas Las Pircas Ltda. durante la temporada 2020 y 2021, ubicado en calle Balmaceda #1500, Isla de Maipo, Región Metropolitana, Chile; sobre plantas francas conducidas en doble cordón, con un marco de plantación de 1 x 2 m, en una superficie total de 12 ha con 22 ton/ha de rendimiento (UTM: 326569.05 m E, 6263681.04 m S) (Comunicación personal)¹.

6.2. Metodología de obtención de materia prima

A través de herramientas de teledetección se procesará una imagen multiespectral obtenida mediante vuelo de dron para la confección del Índice de Vegetación Diferencial Normalizado (NDVI) de la última temporada de crecimiento del cuartel en estudio (Best, 2013), con lo cual se elaborará un mapa de vigor de tres clases para establecer un bloque de plantas de vigor medio, donde se acotará la cosecha. Esto permite que la madurez fenólica de la materia prima sea homogénea para esa clase de vigor (Jackson, 2014), donde se medirán parámetros de madurez tecnológica (°Brix y acidez total), y fenólica (índice de extractabilidad de los antocianos (EA%) y de madurez de las semillas (SM%)) según el método de Glories expresado por Saint-Cricq *et al.* (1998), Ribereau-Gayon *et al.* (2003b) y Fragoso *et al.* (2010). La cosecha de materia prima se llevará a cabo según madurez tecnológica, establecida en 25° grados Brix, conociendo previamente el estado de madurez fenólica. Para cuantificar la extracción de compuestos fenólicos por cada tratamiento se debe conocer el contenido inicial de polifenoles, antocianos y taninos totales de la fruta previo a la cosecha, para lo cual se debe obtener una muestra representativa de la población en estudio a través de un muestreo de bayas siguiendo la metodología planteada por Blouin y Guimberteau (2004).

6.3. Lugar de trabajo

La realización de los tratamientos y determinaciones analíticas se llevarán a cabo en las dependencias del laboratorio de enología y cámaras de temperatura controlada pertenecientes al laboratorio de poscosecha de la Escuela de Agronomía de la Pontificia

¹ Raul Apraiz, Gerente Agrícola de Viñedos y bodegas Las Pircas Ltda. 12 de octubre de 2018.

Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), ubicados en calle San Francisco s/n, La Palma, Quillota, Chile.

6.4. Microvinificaciones

Las diferentes microvinificaciones se realizarán por triplicado (n=3) según lo descrito por Pszczółkowski y Ceppi de Lecco (2011), donde una vez llegada la uva al laboratorio, luego de ser pesada, el proceso de vinificación comienza con el estrujado y despalillado mecánico (Eno 3, Enoitalia, Italia), para luego la pasta de vendimia ser conducida a recipientes de acero inoxidable del tipo “siempre lleno” de 50 litros de capacidad siendo llenados a 33,3 litros para lo cual se necesitan 47,6 kg de uva por repetición por tratamiento (razón 1:0,7, kg vs l según Comunicación personal²). En total se requieren 428,1 kg de uva.

Antes de comenzar con la fermentación alcohólica (FA) se analizará el mosto midiendo: densidad, temperatura, sólidos solubles (°Bx), acidez total, pH y contenido de nitrógeno fácilmente asimilable (YAN) según OIV (2018), ajustando según Pszczółkowski y Ceppi de Lecco (2011). Todos los tratamientos serán inoculados con levaduras comerciales (Lalvin Clos®) y bacterias malolácticas (Lalvin Silka®). Cada tratamiento durante FA sigue un protocolo de bazuqueos dos veces por día cada 12 h por 2 min cada uno (Casassa *et al.* 2013).

6.5. Descripción de los tratamientos

6.5.1. Vinificación estándar (control)

Comienza luego de la molienda, correspondiendo al día 0 del tratamiento entendiéndose como el inicio de la extracción de compuestos fenólicos. Los tanques serán inoculados con levadura y comienza FA en cámara de temperatura controlada a 25°C, la cual se dará por finalizada al día 10 (Casassa *et al.* 2013).

6.5.2. Tratamiento de maceración pre fermentativa en frío

Comenzará luego de la molienda con los tanques dispuestos en cámara de temperatura controlada (7°C) para iniciar la maceración pre fermentativa en frío (día 0) por 6 días (Ortega-Heras *et al.*, 2012). Luego serán inoculados con levaduras comenzando FA, la cual se desarrolla a 25°C por 10 días (Casassa *et al.* 2013).

2 Dr. Alejandro Cáceres Mella, Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Av. San Francisco s/n, La Palma, Quillota, Chile

6.5.3. Tratamiento de aplicación de ultrasonido

Tal como el control, comenzará con la pasta de vendimia dispuesta en las tres repeticiones (día 0), luego se inocularán las levaduras y se inicia la fermentación, la cual se desarrollará por 10 días a 25°C (Casassa *et al.* 2013) en cámara de temperatura controlada. Para la aplicación de US se utilizará un equipo modelo UIP2000hdt (Hielscher®) con un sonotrodo de 50 mm de diámetro y se realizará antes de cada bazuqueo durante los tres primeros días de fermentación alcohólica (día 1, 2 y 3) con la finalidad de favorecer la extracción de color (Waterhouse *et al.*, 2016). Los parámetros de aplicación de US se determinan a partir de Carrera *et al.* (2012), Ferraretto *et al.* (2013) y Bautista *et al.* (2017), estableciendo temperatura (24°C), frecuencia (20 kHz), potencia (2000 W), tiempo de pulso (1 s), amplitud (100%) y tiempo aplicación (15 min).

Una vez terminada las FA, se prensará (Prensa Model 50, Enoitalia, Italy) separando el vino gota que se utilizará para los análisis. Los tres tratamientos por separado se mantienen por 14 días en una cámara de temperatura controlada a 20°C para el desarrollo de fermentación maloláctica (FM), donde una vez terminada se sulfita, estabiliza y decanta a 5°C por 5 días (Delgado *et al.*, 2018). Luego son separadas las borras, ajustado el sulfuroso y embotellado en 252 botellas verde oscuro de 750 ml mantenidas a 15°C por 56 días, donde luego se procederá al análisis químico y sensorial de las repeticiones por tratamiento.

6.6. Análisis químicos

La obtención de muestras para análisis básicos de densidad, sólidos solubles, contenido de azúcar, acidez total y pH se llevará a cabo mediante una moledora de cocina (KitchenAid® SKSM150), las cuales son analizadas mediante un densímetro electrónico (DMA® 4500M) y por titulación con hidróxido de sodio (0,5 M NaOH a pH 7) utilizando un valorador automático de pH y acidez (Crison® pH-Matic 23). Las muestras de bayas previo a su análisis se procesarán en lotes asegurando un coeficiente de variación menor al 5% (Pszczólkowski y Ceppi de Lecco, 2011), para posteriormente ser trituradas en un homogeneizador (Thermomix® modelo TM5) según Comunicación personal³, que será utilizado para la cuantificación de compuestos fenólicos, antocianos y taninos totales iniciales, la cual se llevará a cabo a partir de la preparación de un extracto desde

³ Dr. Ana Ruiz Rodríguez. Investigador de Centro Andaluz de Investigación Vitivinícola, Universidad de Cádiz.

el homogenizado de bayas según el método de extracción asistida por ultrasonido (EAU) propuesto por Carrera *et al.*, (2012).

6.6.1. Análisis de polifenoles totales

Se realizará una curva de calibrado a partir de una disolución madre de ácido gálico y el análisis se realiza mediante el método del ácido clorhídrico a pH 1 propuesto por Fragoso *et al.* (2010) y Carrera *et al.* (2012), midiendo la absorbancia a 280 nm con un blanco de HCl 1M.

6.6.2. Análisis de antocianos totales

Se realizará una curva de calibrado a partir de una disolución madre de malvidin-3-glucósido y el análisis se realizará mediante el método del ácido clorhídrico a pH 1 descrito por Fragoso *et al.*, (2010) y Carrera *et al.* (2012), midiendo absorbancia a 520 nm con un blanco de HCL 1M.

6.6.3. Análisis de taninos totales

Se realizará mediante análisis de absorbancia a 280 nm y la muestra se prepara según el método descrito por Sarneckis *et al.* (2006), el cual se basa en la precipitación de los taninos unidos a metilcelulosa por acción del sulfato amónico. Previamente se realiza una curva de calibrado con (+)-catequina ($R^2 > 0,99$).

6.6.4. Análisis de intensidad colorante

Se mide por espectrofotometría según Glories (1984), donde se utilizarán muestras de vino centrifugado en cubeta de cuarzo de 1 mm de paso óptico, para medir absorbancia a 420 nm, 520 nm y 620 nm. Se utilizará como blanco agua destilada.

6.7. Evaluación sensorial de los vinos

Se realizará un análisis sensorial descriptivo 56 días después del embotellado en el Laboratorio de Enología de la escuela de Agronomía de la PUCV, donde el panel estará compuesto por quince jueces entrenados. Los vinos son evaluados en cabinas de cata individuales utilizando copas estandarizadas transparentes (Viticole®, Arcoroc, Francia) (OIV, 2018) con 20 ml de vino cada una a una temperatura de 18–19°C en orden aleatorio cada una con un código de tres dígitos. Entre cada degustación, el miembro del panel descansará durante 30 segundos y se enjuagará la boca con agua. Se utilizará una escala no estructurada de 0 a 15 (donde 0: intensidad muy baja y 15: intensidad muy alta) para el atributo respectivo (Cáceres-Mella *et al.*, 2018; Delgado *et al.*, 2018).

Los parámetros evaluados corresponden, en fase visual a intensidad del color, fase olfativa; aroma de frutos rojos y fase gustativa; amargor, astringencia, plenitud y persistencia.

6.8. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental es completamente al azar donde la unidad experimental corresponde a 428,1 kg de uva (98 plantas), con un arreglo factorial de 3x2, donde por cada tratamiento se realizan 3 repeticiones. Los análisis químicos se realizan con 4 repeticiones por análisis. La evaluación de los datos se realizará mediante análisis de varianza ANDEVA, seguido de la prueba de Tukey si se encuentran diferencias ($p \leq 0,05$), con un nivel de significancia del 95% ($\alpha = 0,05$). Para el análisis estadístico de las pruebas sensoriales se utilizará ANDEVA seguido de un test LSD con un nivel de significancia del 90% ($p < 0,1$). Para relacionar la composición química y el análisis sensorial se utilizará la correlación de Pearson. Todo el análisis sensorial se realizará por triplicado. El procesamiento de datos se utilizará Minitab© 17.

7. Bibliografía

- Bautista, A., M. Jiménez, R. Jurado, J. Iniesta, S. Terrades, A. Andrés and E. Gómez. 2017. Application of high-power ultrasounds during red wine vinification. *International Journal of Food Science and Technology*. 52: 1314-1323.
- Best, S. 2013. Viticultura de precisión. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Centro Regional de Investigación Quilamapu. Boletín INIA N°269. Disponible en: <http://biblioteca.inia.cl/medios/quilamapu/boletines/NR39128.pdf>
- Blouin, J. y G. Guimberteau. 2004. Maduración y madurez de la uva. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España. 151 p.
- Cáceres, A. 2005. Efecto de dos niveles de carga sobre la composición fenólica de hollejos de los cv. Carménère, Syrah y Pinot noir durante su maduración en el valle del Maipo. 81 p. Memoria de Título. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.
- Cáceres, A., Á. Peña, A. Galves, E. Obreque, R. López and J. Miquel. 2012. Phenolic Compositions of Grapes and Wines from Cultivar Cabernet Sauvignon Produced in Chile and Their Relationship to Commercial Value. *J. Agric. Food Chem.* 60: 8694–8702.
- Cáceres-Mella, A., C. Ribalta-Pizarro, L. Villalobos-González, I. Cuneo and C. Pastenes. 2018. Controlled water deficit modifies the phenolic composition and sensory properties in Cabernet Sauvignon wines. *Scientia Horticulturae* 237: 105–111
- Calderón, A. 2004. Efecto del manejo del follaje y la temperatura en el desarrollo vegetativo, la actividad fotosintética y la calidad del mosto y vino en la variedad Cabernet sauvignon. 38 p. Memoria de Título. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.
- Carrera, C., A. Ruiz, M. Palma and C. Barroso. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*. 732: 100-104.
- Casassa, F., C. Beaver, M. Mireles and J. Harbertson. 2013. Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19, 25–39.
- Castro, A. 2005. Efecto del momento de cosecha de uva cv. Merlot sobre la composición química y sensorial de los vinos en el valle del Maipo. 108 p. Memoria de título. Universidad de Chile. Facultad de ciencias agronómicas. Santiago. Chile.
- Delgado, P., E. Salgado, C. Ribalta-Pizarro, J. Olaeta, C. Pastenes and A. Cáceres-Mella and E. Lopez. 2018. Phenolic composition and sensory characteristics of

- Cabernet Sauvignon wines: effect of water stress and harvest date. *International J. of Food Sci. & Technology* 53: 1726-1735
- Downey, M., N. Dokoozlian and M. Krstic. 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 3.
 - Ferraretto, P., V. Cacciola, I. Ferran and E. Celotti. 2013. Ultrasounds application in winemaking: grape maceration and yeast lysis. *Ital. J. Food Sci.* Vol. 25
 - Fragoso, S., M. Mestres, O. Busto and J. Guasch. 2010. Comparison of three extraction methods used to evaluate phenolic ripening in red grapes. *J. Agric. Food Chem.* 58: 4071-4076.
 - Glories, Y. 1984. La couleur des vins rouges, 2eme Partier. Mesure, origine et interpretation. *Connaiss. Vigne Vin.* 18, 253–271.
 - Jackson, R. 2014. Wine science: principles and applications. Ed. Academic press. USA. 960 p.
 - Keller, M. 2010. Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 16: 56-69.
 - Kusch, C. 2005. Caracterización del crecimiento vegetativo y de la fotosíntesis en la vid cv. Cabernet sauvignon, en el valle del Maipo. 42 p. Memoria de título. Universidad de Chile. Facultad de ciencias agronómicas. Santiago. Chile.
 - Lasanta, C. 2009. Estudio y aplicación de nuevos procesos para la mejora de la elaboración de vinos tintos en zonas de clima cálido. 304 p. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. Facultad de Ciencias. Puerto Real. España.
 - Merrell, C., R. Larsen and J. Harbertson. 2017. Effects of Berry Maturity and Wine Alcohol 2 on Phenolic Content during Winemaking and Aging. *Am J Enol Vitic.* 69: 1-11.
 - Mira de Orduña, R. 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International* 43: 1844–1855.
 - Moreno, J. and R. Peinado. 2012. Enological chemistry. p. 41-75. Ed. Elsevier. TNQ Books and Journals. Academic press, New York, USA.
 - Mozell, M. R., and L. Thach. 2014. The impact of climate change on the global wine industry: Challenges & solutions. *Wine Economics and Policy* 3: 81–89.
 - Obreque, E., Á. Peña, R. López, F. Zamora, J. Ricardo, and O. Laureano. 2010. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménere and Cabernet sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *J. Agric. Food Chem.* 58: 3591-3599.

- Obreque, E., Á. Peña, R. López, A. Cáceres, H. Toledo, A. López. 2013. Phenolic composition of skins from four Carmenet grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Food Science and Technology* 54: 404-413.
- OIV, 2018. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, vol I-II Sect 3. OIV Ed., Paris. Francia.
- Ortega, M., S. Pérez and M. González. 2012. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. *Food Science and Technology*. 48: 1-8.
- Pszczółkowski, P. y C. Ceppi de Lecco. 2011. Manual de vinificación: guía práctica para la elaboración de vinos. Ediciones UC. 122 p. Santiago, Chile.
- Ribéreau, P., Y. Glories, A. Maujean y D. Dubourdieu. 2003a. Tratado de enología 1: Microbiología del vino y vinificaciones. Ed. Mundi-Prensa. 655 p. Buenos Aires, Argentina.
- Ribéreau, P., Y. Glories, A. Maujean y D. Dubourdieu. 2003b. Tratado de enología 2: Química del vino, estabilización y tratamientos. Ed. Mundi-Prensa. 554 p. Buenos Aires, Argentina.
- Romero, I. 2008. Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino: papel de las enzimas de maceración. 273 p. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España.
- Saint-Cricq, N., Y. Glories, N. Vivas, et J. Ducruet. 1998. Maturation phénolique: Définition et controle. Journée Technique Cinquantenaire ITV. Talence. France.
- Santibáñez, F., P. Santibáñez, C. Caroca, P. González. 2017. Atlas Agroclimático de Chile. Tomo III: Regiones de Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y del Maule. p. 50, 72-73, 88-89, 92-93, 96-97, 150-156, 184. Fundación para la Innovación Agraria. Santiago. Chile.
- Sarneckis, C., R. Dambergis, P. Jones, M. Mercurio, M. Herderich and P. Smith. 2006. Quantification of condensed tannins by precipitation with methylcellulose: development and validation of an optimized tool for grape and wine analysis. *Aust. J. Grape Wine Res.* 12, 39–49.
- Waterhouse, A., Sacks, G., Jeffery, D. 2016. Understanding wine chemistry. John Wiley & Sons, USA. 480 p.
- Zhang, Q. and T. Wang. 2017. Effect of ultrasound irradiation on the evolution of color properties and major phenolic compounds in wine during storage. *Food Chemistry*. 234: 372-380.

8. Plan de trabajo

El proyecto tiene una duración de dos años, comienza su ejecución el 20 de enero del año 2020 y finaliza el 20 de enero del año 2022, el cual se divide en cuatro etapas:

8.1. Etapa 1: Trámites administrativos

Está destinado a la obtención de la inversión inicial, compra de fungibles para la temporada 2020, al desarrollo de acuerdo y contrato de trabajo con el viñedo y la institución educativa que proveerá el lugar de trabajo, además se destina a la selección y contrato del personal participante.

8.2. Etapa 2: Temporada 2020

Comienza con la determinación de la parcela en estudio donde se acotará la cosecha, se llevan a cabo las microvinificaciones, análisis químicos iniciales, finales y sensoriales.

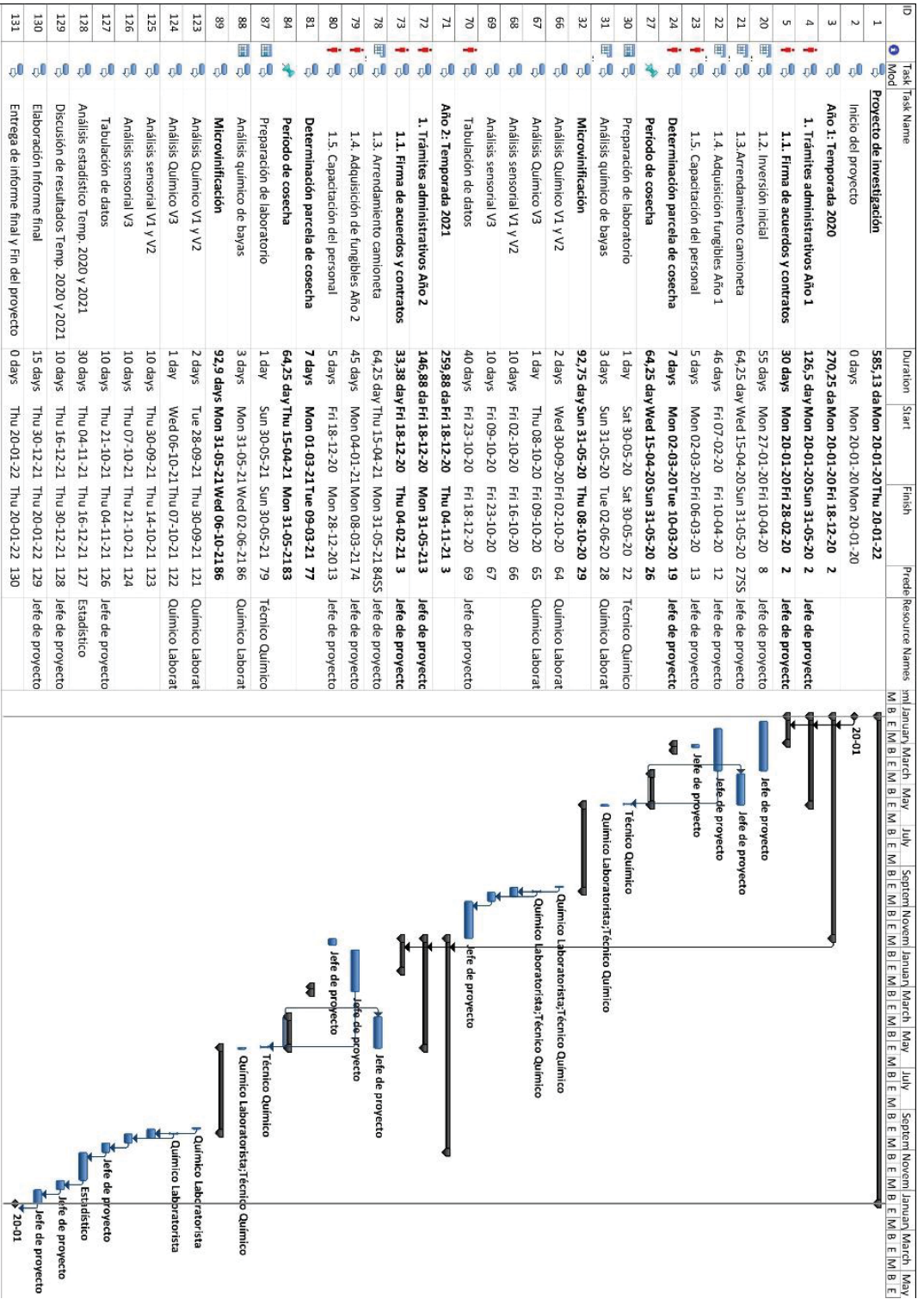
8.3. Etapa 3: Temporada 2021

Comienza con la compra de fungibles para el desarrollo del segundo año de investigación, se cosecha y registran los parámetros iniciales, se desarrollan las microvinificaciones correspondientes y los análisis químicos y sensoriales del vino.

8.4. Etapa 4: Discusión de resultados, elaboración y entrega de informe final.

Se analizan y discuten los resultados estadísticos, se verifican las posibles diferencias entre tratamientos y temporadas según estados de madurez. Se elaboran conclusiones, el informe final y finaliza con su entrega.

8.5. Carta gantt



9. Resultados esperados

Objetivo específico	Resultado esperado
Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonidos en fase acuosa de fermentación alcohólica en una vinificación de uva tinta sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante.	Se espera una extracción fenólica, principalmente antocianos, proantocianidinas e intensidad colorante, mayor al 70% en relación al tratamiento control y maceración pre-fermentativa en frío en menor tiempo de proceso.
Evaluar el efecto de la maceración pre-fermentativa en frío sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante	Se espera una mayor extracción de compuestos fenólicos que el tratamiento control en especial de contenido de antocianos, proantocianidinas e intensidad colorante.
Evaluar el efecto de la fermentación alcohólica de una vinificación estándar sobre la extracción de antocianos, taninos, polifenoles totales e intensidad colorante.	Se espera una extracción fenólica similar a la reportada por diversos autores, del orden del 60-70%, además de una menor concentración fenólica en general que los demás tratamientos.
Evaluar el efecto de la extracción fenólica de las tres vinificaciones en estudio sobre las características sensoriales del vino.	Se espera que el tratamiento de ultrasonido obtenga la mayor puntuación en cuanto a los atributos evaluados, en especial intensidad de color, astringencia y plenitud, sin embargo, se espera una menor puntuación en cuanto a calidad aromática.

10. Organización

10.1. Cargos y funciones

Nombre del profesional	Formación	Cargo en el proyecto	Funciones	Costo del personal *	Aporte fondo concursable *
Profesional 1	Ingeniero Agrónomo	Jefe de proyecto	Dirección de operaciones; principalmente muestreos de bayas, cosecha y microvinificaciones. Dirección administrativa, está a cargo de contratos de servicios y personal, capacitaciones, compras de materiales e insumos. Análisis de los resultados de laboratorio y responsable de la recopilación e interpretación de resultados. Realización de protocolos de análisis químicos.	\$26.880.000	\$26.880.000
Técnico 1	Químico laboratorista	Jefe de laboratorio	Responsable de la operación, mantenimiento y calibrado de equipos de laboratorio, preparación de reactivos, ejecución de protocolos de análisis químicos y entrega de resultados al jefe de proyecto.	\$2.000.000	\$2.000.000
Operario 1	Enseñanza media completa	Asistente de operaciones	Ejecución de labores de cosecha, muestreo y molienda, apoyo en las microvinificaciones, además de limpieza de equipos y lugar de trabajo.	\$1.120.000	\$1.120.000

*Monto calculado en base la duración total del proyecto equivalente a dos años.

10.2. Presupuesto

10.2.1. Presupuesto total por cuenta

	Cuenta	Aporte fondo concurable	Aporte contraparte		Total(\$)
			Pecuniario	No pecuniario	
A.	Total Recursos Humanos	\$30.000.000	\$0	\$0	\$30.000.000
B.	Total Subcontratos	\$10.311.295	\$1.042.465	\$0	\$11.353.760
C.	Total Capacitación	\$0	\$0	\$500.000	\$500.000
D.	Total Gastos de Inversión	\$44.110.297	\$0	\$13.108.468	\$57.218.765
E.	Total Gastos de Operación	\$5.370.434	\$0	\$20.216.206	\$25.586.640
F.	Total Gastos de Administración*	\$850.000	\$5.508.414	\$0	\$6.358.414
	Porcentaje de Aporte (%)	69,2%	5,0%	25,8%	100%
	SubTOTAL(\$)	\$90.642.026	\$6.550.879	\$33.824.674	\$131.017.579
	Imprevisto 5%				\$4.532.101
	TOTAL				\$135.549.680

*Este ítem está calculado según las bases del fondo concursable, la cual exige un monto inferior al 7% del aporte total FIA.

10.2.2. Presupuesto total por año

	Cuenta	Año 1	Año 2	Total (\$)
A.	Total Recursos Humanos	\$15.000.000	\$15.000.000	\$30.000.000
	<i>Pecuniario</i>	\$15.000.000	\$15.000.000	\$30.000.000
	<i>No Pecuniario</i>	\$0	\$0	\$0
B.	Total Subcontratos	\$5.676.880	\$5.676.880	\$11.353.760
	<i>Pecuniario</i>	\$5.676.880	\$5.676.880	\$11.353.760
	<i>No Pecuniario</i>	\$0	\$0	\$0
C.	Total Capacitación	\$250.000	\$250.000	\$500.000
	<i>Pecuniario</i>	\$0	\$0	\$0
	<i>No Pecuniario</i>	\$250.000	\$250.000	\$500.000
F.	Total Gastos de Inversión	\$57.218.765	\$0	\$57.218.765
	<i>Pecuniario</i>	\$44.110.297	\$0	\$44.110.297
	<i>No Pecuniario</i>	\$13.108.468	\$0	\$13.108.468
G.	Total Gastos de Operación	\$12.793.320	\$12.793.320	\$25.586.640
	<i>Pecuniario</i>	\$2.685.217	\$2.685.217	\$5.370.434
	<i>No Pecuniario</i>	\$10.108.103	\$10.108.103	\$20.216.206
H.	Total Gastos de Administración	\$3.179.207	\$3.179.207	\$6.358.414
	<i>Pecuniario</i>	\$3.179.207	\$3.179.207	\$6.358.414
	<i>No Pecuniario</i>	\$0	\$0	\$0
	Total(MM\$)	\$94.118.172	\$36.899.407	\$131.017.579
	<i>Pecuniario (fondo)</i>	\$70.651.601	\$26.541.304	\$97.192.905
	<i>No Pecuniario (pucv)</i>	\$23.466.571	\$10.358.103	\$33.824.674

11. Anexos

11.1. Anexo 1: Tabla de descripción de ítem de gastos de operaciones.

Gastos de operación	
ítem	Costo total por año (CLP)
Gastos generales*	\$8.570.000
Viáticos y movilización**	\$232.020
Fungibles	\$3.991.300
Total	\$12.793.320

*Este ítem incluye gastos básicos de electricidad, agua potable, internet, uso de biblioteca, teléfono móvil y difusión.

**Este ítem incluye alimentación, arriendo de camioneta, pasajes, peajes y combustible.

11.2. Anexo 2: Tabla de descripción de fungibles por temporada.

Fungibles			
Ítem	Costo Total (CLP)	Pecuniario	No Pecuniario
Materia Prima (kg)	\$115.830	\$115.830	\$0
Reactivos	\$1.100.268	\$1.100.268	\$0
Insumos vinificación	\$320.595	\$320.595	\$0
Materiales de oficina	\$10.207	\$10.207	\$0
Material de limpieza	\$28.924	\$28.924	\$0
Material de laboratorio	\$2.415.476	\$657.373	\$1.758.103
Total	\$3.991.300	\$2.233.197	\$1.758.103

11.3. Anexo 3: Tabla de descripción de los servicios de terceros.

Servicios de terceros*				
Contrato	Precio (CLP)	Unidad	Cantidad	Total (CLP)
Servicio de mapeo de vigor	\$22.214	Hectárea	6	\$133.284
Arriendo de cámaras de temperatura controlada	\$22.000	Día	115	\$2.530.000
Servicio de análisis sensorial descriptivo	\$134.844	Muestra	9	\$1.213.596
Contador	\$20.000	Jornada Hombre	15	\$300.000
Gasto por elaboración y formulación de la propuesta	\$1.500.000	Proyecto	1	\$1.500.000
Total Subcontratos				\$5.676.880

*Montos equivalentes a un año de funcionamiento del proyecto.