

## REVALORIZACION DE SUBPRODUCTOS DEL VINO COMO APORTE A LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y A UN DESARROLLO SOSTENIBLE

### PRESENTACION ORAL

Diana Chaves<sup>1</sup>, Steven Terranova<sup>2</sup>, Patricia Chaparro<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Universidad de La Salle, Ingeniería de Alimentos. Cra. 2 N° 10-70, Bogotá D.C

[mchaparro@unisalle.edu.co](mailto:mchaparro@unisalle.edu.co)

#### Resumen

En la industria vinícola por cada litro de vino producido se obtienen aproximadamente 13 litros de residuos, subproductos que generan impacto ambiental. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue extraer los compuestos fenólicos presentes en el bagazo de uva (*Vitisvinifera*) obtenido luego de la elaboración del vino Cabernet Sauvignon, con el fin de utilizarlos como antioxidantes en el control del pardeamiento enzimático de papa pastusa mínimamente procesada (PMP). El material biológico fue recolectado en el viñedo Marqués de Villa de Leiva (Boyacá) y fue liofilizado y almacenado a -30 °C. Los extractos se obtuvieron por maceración utilizando como disolventes agua (1:10 w/w%) y etanol (1:5 w/w%) a temperatura de 90 °C y 70 °C respectivamente durante 3 horas. Los extractos se caracterizaron en cuanto al contenido de fenólicos totales (CFT) por el método Folin - Ciocalteu y a su capacidad antioxidante (CA) por el método DPPH. Para el análisis estadístico se empleó un ANOVA de dos factores, con dos niveles y tres repeticiones. Para la evaluación del control de pardeamiento enzimático, al PMP se le adicionó el extracto con mayor cantidad de CFT y CA que fue el obtenido utilizando etanol como disolvente y bagazo proveniente del proceso de prensado (19010,85±101,68 mg GAE/gr para CFT y 1592,36 ± 40,70 µm Trolox/gr para CA. Las concentraciones de extracto evaluado fueron 0,5% y 1% y se compararon con un blanco y un control positivo. El almacenamiento del PMP se realizó durante 11 días a temperatura de 4-6 °C. Durante este tiempo se realizó el seguimiento del color utilizando coordenadas L\*b\*a\*. Referente al porcentaje de inhibición de la enzima fue del 19% y del 37,54% para una concentración de extracto de 0,5 y 1% respectivamente. Dichos resultados corroboran el poder antioxidante de este extracto natural con potencial de uso en la industria alimentaria.

**Palabras claves:** bagazo, antioxidante, mínimamente procesado, prensado.

## Abstract

In the wine industry are obtained around 13 liters of waste per liter of wine produced, sub-products which generate an environmental impact. Consequently, the aim of this study was to remove the phenolic compounds present in grape pomace (*Vitisvinifera*) obtained after the Cabernet Sauvignon winemaking method, in order to use as antioxidants in the control of enzymatic browning in pastusa potatoe minimally processed (BMP). The biological material was collected in the Marqués Vineyard in Villa de Leiva (Boyacá) and was lyophilized and stored at a temperature -30 °C. The extracts were obtained by maceration using as solvents water (1:10 w/w%) and ethanol (1:5 w/w%) at a temperature of 90 °C and 70 °C during 3 hours. Extracts were characterized in terms of total phenolic content (TPC) by the method Folin-Ciocalteu and their antioxidant capacity (AC) by DPPH method. For statistical analysis an ANOVA of two factors, with two levels and three repetitions was used. For the evaluation of enzymatic browning control, the BMP was added the extract with the most amount of TPC and AC which was obtained using ethanol as a solvent and grape pomace from the pressing procedure ( $19010.85 \pm 101.68$  mg GAE/g to TPC and  $1592.36 \pm 40.70$   $\mu$ m Trolox/gr to AC. Extract concentrations tested were 0.5% and 1% and were compared with a white and positive control. El BMP storage was held for 11 days at a temperature of 4-6 °C. During this time the color tracking was performed using coordinates L\*b\*a\*. Concerning the percentage of inhibition of the enzyme was 19% and 37.54% for a concentration of 0.5 extract and 1 per cent respectively. These results confirm the antioxidant power of this natural extract with potential use in the food industry

**Keywords:** grape pomace, antioxidant, minimally processed, pressing.

## I- INTRODUCCIÓN

La producción mundial de vino en 2015 se estima en 275,7 Millones de hL, siendo Italia el primer productor (48,9 Mill. hL), seguido de Francia (47,4 Mill. hL). En América del Sur, Se destacan Argentina (13,4 Mill. hL) y Chile (12,87 Mill. hL)

(OIV, 2015). Mientras que Colombia no es un país de gran tradición vinícola. Sin embargo, el consumo de vino nacional y de importación ha crecido en los últimos años, lo que ha generado que productores vinícolas, se ubiquen en los municipios boyacenses de Nobsa y Villa de Leyva,

sitios con características climáticas y suelos tan especiales, que se asemejan a las mejores zonas vinícolas del mundo (Portafolio, 2006). El ICEX 2005, informó que la producción local de vino en Colombia, aproximadamente es de 1 a 3%, siendo Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Blanc y Chardonnay las cepas de mayor cultivo.

En la cadena productiva del vino, los subproductos como cáscaras y semillas se encuentran entre los residuales orgánicos de mayor efecto contaminante sobre la flora y la fauna del planeta, Por cada litro de vino producido se obtiene alrededor de 13 litros de residuos, que en muchos lugares estos subproductos son vertidos en ríos, lagos, represas y canales sin ningún tratamiento los cuales contaminan en gran medida las fuentes de aguas superficiales y subterráneas con un fuerte impacto sobre el medio ambiente, o son utilizados en proceso de compostaje sin tener en cuenta el potencial y gran valor que tienen para la industria, el medio ambiente y la salud del consumidor. (Lezcano & Mora, s.f). Es el caso del viñedo Ain Karim (Marqués de Villa de Leyva) que produce 50.000 botellas al año y genera aproximadamente de 200 a 500 kg de

cáscara y semilla por vendimia, lo cual es usado para compostaje.

Las cáscaras y semillas de uva se constituyen de una gran cantidad de compuestos fenólicos, los cuales son de gran importancia a nivel nutricional e industrial, debido a su papel directamente relacionado sobre el proceso de oxidación (Sandoval, Lazarte y Arnao, 2008), además la FAO (2012) informa que en la reducción de pérdidas y desperdicios de alimentos, está el aprovechamiento de subproductos, que contribuyen a generar productos con valor agregado. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue extraer los compuestos fenólicos presentes en el bagazo de uva (*Vitis vinifera*) obtenido luego de la elaboración del vino Cabernet Sauvignon, por prensado y descubre, con el fin de utilizarlos como antioxidantes en el control del pardeamiento enzimático de papa pastusa mínimamente procesada (PMP).

## **II- Materiales y Métodos**

El material vegetal fue recolectado del viñedo Aim Karim (Marqués de Villa de Leiva, Boyacá). Se obtuvieron 600 g de bagazo (cáscara de uva *Vitis Vinifera*, semilla y pulpa) de la elaboración de vino

Cabernet Sauvignon (vino tinto y vino blanco) provenientes del proceso de prensado (333) y 600 g del proceso de descube (separación partes sólidas después de la fermentación) (334). Seguido se congelaron a -30 °C para continuar el proceso de liofilizado, utilizando un equipo liofilizador Thermo, Super Modulyo, ubicado en la Universidad de La Salle. Las condiciones de trabajo fueron: con vacío y a temperatura de -80 °C, por un tiempo de 110 h. Luego, se envasaron al vacío, hasta continuar la parte experimental.

### **Extracción y cuantificación compuestos fenólicos**

Para la extracción y cuantificación de los compuestos fenólicos de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* provenientes de 333 y 334, se siguió la metodología citada por Gracia A. (2007), Paladino & Zuritz. (2011) y Escobar (2010). Los extractos acuosos se obtuvieron por maceración utilizando como disolventes agua (1:10 w/w%) y etanol (1:5 w/w%) a temperatura de 90 °C y 70 °C respectivamente durante 3 horas. El contenido de fenoles totales (CFT) se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Se construyó una curva

patrón usando como estándar ácido gálico. Se diluyó el extracto a una concentración en la cual el contenido de fenoles se encontraba dentro del intervalo de la curva patrón. Los resultados se expresaron como mg GAE /gr de muestra. (GAE-equivalentes de ácido gálico). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 40 a 760 nm.

### **Determinación capacidad antioxidante**

La actividad Antioxidante se llevó a cabo mediante el ensayo de decoloración del catión radical  $\alpha$ - $\alpha$ -difенил- $\beta$ -picrilhidrazilo (DPPH $\cdot$ ): para cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de los extractos se determina el grado de decoloración que provocan sus componentes a una solución metanólica de DPPH mediante el método de Brand-Williams, Se preparó una solución madre de DPPH aproximadamente 20 mg/L del radical en metanol, 990 mL de esta solución se mezclaron con 10 mL de solución de extracto (a diferentes concentraciones). Se preparó un blanco de muestra que contenía 990 mL MeOH con 10 mL de muestra y un blanco de referencia con 990 mL DPPH y 10 mL de solvente. Se incubó a temperatura

ambiente durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresaron como valores TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX®.

Para el análisis estadístico se empleó un ANOVA de dos factores, con dos niveles y tres repeticiones, se utilizó el software Minitab 16.

#### **Actividad de la polifenoloxidasas**

La actividad de PFO fue determinada aplicando el método propuesto por Potig & Joslyn (1948), utilizando un espectrofotómetro UV-Visible – Genesys 10 Vis Thermo spectronic. Shimadzu UV 160-A. Se determinó experimentalmente la longitud de onda correspondiente a la máxima absorción, formados por la oxidación de catecol por PFO de papa. De esta manera, se determinó la actividad de la enzima midiendo el aumento de absorbancia a 420 nm. La velocidad inicial fue calculada a partir de la pendiente de la curva absorbancia versus tiempo. Se definió una unidad de actividad de polifenoloxidasas (PFO) como el aumento de 0,001 unidades de absorbancia por

minuto y por mL de enzima. Para los distintos ensayos se utilizaron 3 mL de solución buffer a los que se adicionó catecol, de manera tal que la concentración del mismo en la mezcla fue 50 mM, y 200 mL del extracto de la enzima. Se realizaron medidas de absorbancia a la respectiva longitud de onda de máxima absorbancia, cada 10 segundos, durante 10 minutos, a 25 °C.

#### **Efecto de la actividad de (PFO) y del tiempo de almacenamiento en el color de la papa mínimamente procesada**

Papas (pastusa suprema) seleccionadas de acuerdo a su calidad externa, fueron lavadas, desinfectadas en solución de hipoclorito de sodio (NaClO) 150 ppm/5min, tras el cual, se realizó un segundo lavado con agua potable. Posteriormente, se llevó a cabo el pelado manual, seguido se pasaron a un procesador donde se obtuvieron bastones de 6 X1 cm, siendo recibidas en un recipiente conteniendo agua desionizada. Seguidamente fueron escurridas y secadas. Para evaluar el efecto inhibitorio del extracto del bagazo de uva *Vitis Vinifera* en la enzima PFO se les adicionó con una brocha a 50 ± 1g de papas el tratamiento 333 (ya que éste obtuvo mayor

contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante) en concentración al 0.5%, 1% y se dejó un blanco a 50 g de papas. La mejor concentración fue comparada frente al metabisulfito de sodio a una concentración de 0,75%. Las muestras una vez empacadas, fueron almacenadas en una cámara refrigerada a  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  con una humedad relativa del 70-75%, y analizadas durante 11 días de almacenamiento. De cada tratamiento fueron preparadas dos réplicas y dos repeticiones, para cada día de análisis, evaluándose el color sobre la superficie externa de la papa. Se utilizó un colorímetro Minolta con iluminante C, observador  $2^{\circ}$ , y se calibró con placa blanca en el espacio de color CIEL\*A\*B\*. Se determinó porcentaje de inhibición y  $\Delta E$ .

Para determinar diferencias o el efecto significativo entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA con un intervalo de confianza del 95%. Si existieron diferencias en las medidas se

corrió por la prueba de Tukey, utilizando Minitab 16.

### III- Resultados

En la tabla 1, se evidencia que los valores más altos corresponden al tratamiento 333 usando como disolvente etanol; siendo el valor más alto (diferencia significativa  $P < 0.05$ ), con un promedio de 19010 mg GAE/g  $\pm 101,68$  mg GAE/g. El bagazo o subproducto está constituido por cáscara, semillas, pulpa de uva en los cuales se encuentra la mayor cantidad de compuestos polifenólicos especialmente en las células epidérmicas, en las pepas y en la pulpa. La cantidad y calidad de polifenoles en la uva depende, principalmente, de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo, factores tales como la temperatura y la acción mecánica producida en el proceso de prensado pudo influir en la concentración de polifenoles totales según lo reportado por Leighton & Urquiaga, 1999.

Tabla 1. Cuantificación de fenoles totales utilizando agua y etanol como disolvente.

DISOLVENTE	TRATAMIENTO	PROMEDIO (mgGAE/gr)
AGUA	333	8594,8 ± 16,03
	334	5041,2 ± 118,09
ETANOL	333	19010,85 ± 101,68
	334	6012,5 ± 182,38

Al comparar la concentración del contenido fenólicos en los tratamientos 333 y tratamiento 334 se observó que empleando agua caliente como disolvente, es posible preparar extractos activos, pero se tiene una mayor concentración en la extracción utilizando etanol como disolvente. Esto coincide con lo observado por otros autores en diferentes materiales vegetales. (Kähkönen *et al.* 2001).

El aumento en la concentración del contenido de polifenoles totales utilizando etanol como disolvente posiblemente se debe a que la capacidad de capturar anión super-óxido es mayor, a medida que el grado de polimerización de los flavanoles

aumenta, también la actividad anti úlcera de una serie de pro-cianidinas aumenta a medida que crece el grado de polimerización de la unidad de catequina (Yamaguchi *et al.*, 1999). Por otra parte, se presume que la temperatura de extracción para el agua que fue de 90 °C, incida directamente en la reducción de los componentes bioactivos.

Referente a la capacidad antioxidante, el tratamiento 333 con etanol como disolvente, presentó mayor capacidad antioxidante, con un promedio de 1592,36± 40,70 µm Trolox/gr encontrándose diferencias significativas P < 0.05 (Tabla2).

Tabla 2. Actividad antioxidante en tratamiento 333 y tratamiento 334

DISOLVENTE	TRATAMIENTO	PROMEDIO (µm Trolox/gr)
AGUA	333	854,39 ± 59,41
	334	664,59 ± 13,42
ETANOL	333	1592,36 ± 40,70
	334	643,3 ± 15,83

La variación del poder antioxidante presentada en los tratamientos 333 y 334, está relacionado con los distintos polifenoles, pues estos poseen diferentes capacidades antioxidantes, las cuales están relacionadas con sus estructuras químicas, por lo tanto, para una misma concentración de fenoles totales pueden obtenerse diferentes valores de poder reductor en un extracto, dependiendo de cuáles grupos fenólicos se han extraído (Fuhrman *et al.*, 2001). Por otra parte, lo trabajado por Landrault *et al.*, (2001), establecieron una relación directa entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en vinos, donde se expresa la influencia de los disolventes en la concentración fenólica, como el poder antioxidante o reductor del extracto.

Los resultados referentes a la evaluación del extracto 333 en la actividad de la PFO en papa pastusa se aprecian en la Figura 1. A medida que transcurre el tiempo hay un aumento de la absorbancia,

ya que la presencia de la PFO, trae como consecuencia el inevitable cambio de coloración del tejido dañado, en este momento la enzima está completamente saturada con el sustrato, causando la desaparición de éste sustrato. Dicho cambio se dio con las condiciones propicias de pH (6,7) en que trabaja la enzima. Se observa que el blanco tuvo un fue efecto directo, pues por la ausencia del inhibidor tuvo mayor absorbancia, seguido del tratamiento con 0,5% de concentración. La concentración de 1%, actuó directamente sobre la enzima con su poder antioxidante, éste tuvo la capacidad de captura de iones  $\text{Cu}^{++}$  que se forman en el sitio activo de la enzima y son una especie de cofactores que promueven reacciones oxido-reducción. En relación con lo descrito por Torres y Carminah (1983) se hace contexto a una inhibición acompetitiva de carácter irreversible, porque hay una tentativa de formación enzima- sustrato- inhibidor.



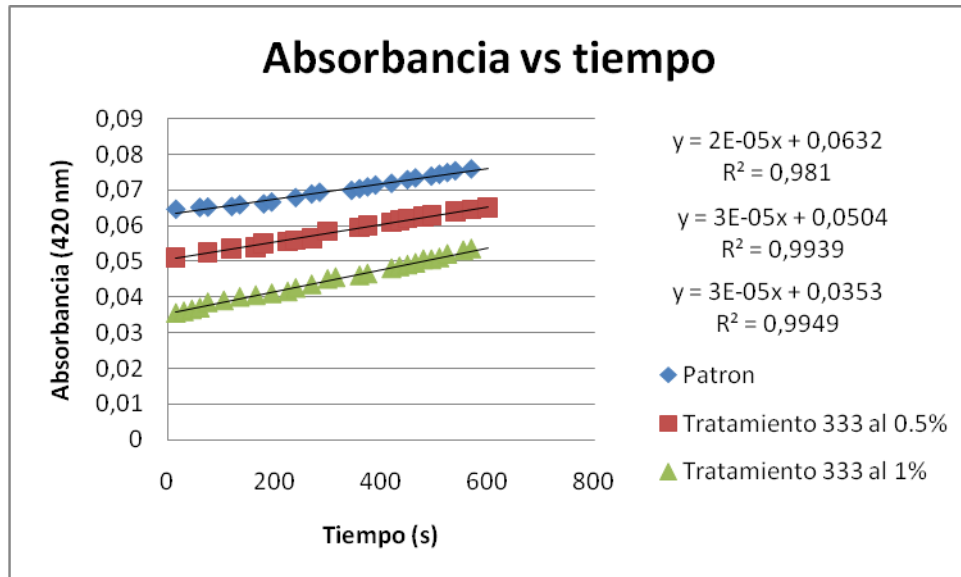


Figura 1. Absorbancia de papa pastusa mínimamente procesada en muestra patrón, tratamiento 333 al 0,5% y tratamiento 333 al 1%.

Tabla 3. Porcentaje de Inhibición del tratamiento 333 a diferentes concentraciones.

MUESTRA	UA	AE	% INHIBICION
PATRON	0,00075 (7,07E-05)	0,000158 (1,49E-05)	-
TRATAMIENTO 333 AL 0,5%	0,000933 (9,43E-05)	0,000196 (1,98E-05)	19,62
TRATAMIENTO 333 AL 1%	0,0012 (9,43E-05)	0,000253 (1,98E-05)	37,54

La Tabla 3 corroboran los resultados obtenidos, mostrando que el tratamiento 333 en concentración del 1% inhibió la enzima PFO en un 37,54%, dichos resultados se atribuyen a que moléculas fenólicas de compuestos altamente polimerizados con pesos moleculares mayores de 30000 Da, son

los encargados de la inhibición. (Würsch, Bravo. 1998). Por otra parte se evidencia que las agliconas de los flavonoides resultaron tener mayor potencia anti-lipoperoxidativa que sus correspondientes glicósidos (Ratty, A.K. 1998).

Para el análisis estadístico ANOVA unidireccional, entre el porcentaje de

inhibición vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%), se evidencia que existen diferencias significativas entre el porcentaje de inhibición y la muestra con ( $P_b < 0.05$ ), usando el método Tukey.

La tabla 4 muestra los resultados de la comparación de un aditivo natural (tratamiento 333) frente aditivo comercial (metabisulfito) en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa.

Tabla 4. Comparación del tratamiento 333 frente metabisulfito en papa suprema mínimamente procesado.

TRATAMIENTO	DIAS	L*	a*	b*	$\Delta E$
PATRON	1	64,04	-2,14	14,47	4,76
	11	66,39	1,25	16,85	
METABISULFITO	1	67,99	-2,67	17,13	2,64
	11	69	-0,46	18,15	
BAGAZO MUESTRA 333	1	68,8	-3,04	14,39	2,81
	11	68,07	-0,88	12,76	

De acuerdo con los datos obtenidos se presentó un aumento de luminosidad ( $L^*$ ), para todas las muestras (blanco, muestra con metabisulfito (MBS) y tratamiento 333), pero los valores no cambiaron de una manera drástica, ya que los valores se encuentran muy cercanos para los tres; esto se debe a que la muestra va perdiendo una intensidad en cuanto a su color y esto produjo una oxidación de los pigmentos presentes en el alimento, pero hubo mejor comportamiento para el tratamiento 333 ya que este tuvo valores más altos (más cercano a 100) lo cual indica que la papa tenía un color más

claro. En cuanto a las coordenadas para  $a^*$ , el blanco tiende a acercarse hacia las coordenadas positivas, lo cual indica notablemente que se comenzó a formar los pigmentos rojizos en la papa a causa de la oxidación, esto no se presentó con el tratamiento 333 ya que este siempre tuvo valores negativos. Por último, las coordenadas para  $b^*$ , para el tratamiento 333, éste presentó colores menos amarillos a comparación de la muestra con metabisulfito, ya que se evidenció que al transcurrir los días éste tomó colores más amarillos lo cual demostraba que era más notable la oxidación. De acuerdo con las

diferencias globales de color, el patrón presento un  $\Delta E$  de 4,76 lo cual indica una diferencia global de color obvia para el ojo humano ya que esta muestra presento cambios de color notables (pigmentos oscuros) en el transcurso de los 11 días. Para las muestras con metabisulfito de sodio y tratamiento 333 (bagazo), se obtuvieron valores entre 1 y 3, lo cual se

relaciona con diferencias globales de color no apreciables para el ojo humano (contenía pocos pigmentos oscuros). Dichos resultados corroboran el poder inhibitorio frente al pardeamiento enzimático. Cambios que son sustentados en las figuras 2 al 5.

Seguimiento del cambio de color con los diferentes tratamientos en el tiempo.



#### IV- Conclusiones

El bagazo producido por el proceso de prensado en la elaboración del vino Cabernet Sauvignon presentó alto contenido fenólico y capacidad antioxidante (19010 mg GAE/g  $\pm$ 101,68 mg GAE/g y 1592,36 $\pm$  40,70  $\mu$ m Trolox/gr respectivamente) frente al producido por descube (6012,5 $\pm$  182,38 mg GAE/g y 664,59 $\pm$  13,42  $\mu$ m Trolox/gr), lo que determina su poder antioxidantes en una papa mínimamente procesada refrigerada Inhibiendo la actividad de la polifenoloxidasas en un 37,5%. Además comparado con un aditivo químico como es el metabisulfito de sodio durante 11 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración, tuvo un comportamiento similar respecto al color. Este trabajo aporta el potencial que tiene estos subproductos provenientes de la industria vinícola, para ser implementados como un aditivo natural en la industria alimentaria, logrando así la revalorización del subproducto, pero además contribuir a un desarrollo sostenible, al disminuir el impacto ambiental.

#### V- Recomendaciones

Continuar la investigación utilizando una concentración mayor al 1%

para determinar si hay mayor porcentaje de inhibición en la polifenoloxidasas. Además del seguimiento de color, realizar la cinética enzimática.

#### VI- Bibliografía

FAO, 2012. Pérdidas y desperdicios de alimentos en el Mundo.

ICEX. (2005). El mercado de vinícola en Colombia. Bogotá. Online. [http://www.icex.es/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/paises/navegacion-principal/portada/index.html?JSESSIONID\\_ICEX=sspcroh-LyU1Tn8BM4aDBdHt4ISlw6bEVX\\_eZe\\_IoM2sjnUPPq8!810608196?idPais=CO](http://www.icex.es/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/paises/navegacion-principal/portada/index.html?JSESSIONID_ICEX=sspcroh-LyU1Tn8BM4aDBdHt4ISlw6bEVX_eZe_IoM2sjnUPPq8!810608196?idPais=CO)

Fuhrman, B.; Volkova, N.; Suraski, A.; Aviram, M. (2001). White wine with red wine-like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine. *J. Agric. Food Chem.*

Kähkönen, Marja; Anu I. Copia and Marina Heinonen. (2001). Berry phenolics and their Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*

Landrault, N., P. Poucheret, P. Ravel, F. Gasc, G. Cros y P. Teissedre. 2001. Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages. *J. Agr Food Chem.*, 49:3341-3348.

Leighton, F., & Urquiaga, I. (1999). Fac. Retrieved Septiembre 12, 2015, from <http://fac.org.ar/revista/00v29n2/leighton/leighton.htm>

Lezcano, P., & Mora, L. M. (s.f). Las vinazas de destileria de alcohol. Contaminacion ambiental o tratamiento para evitarlo. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos, (págs. 48-52). La Habana, Cuba.

Sandoval, M; lazarte, K y Arnao, I. 2008. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). *An. Fac. med.*, vol.69, n.4. pp. 250-259.

Ratty, A.K. & N.P. Das (1998) *Biochem. Med. Metab. Biol.* 39: 69-79

Revista Portafolio. Vinos: de Boyacá en los campos. Noviembre, 2006. Online.  
<http://www.portafolio.co/economia/finanzas/vinos-boyaca-campos-420352>.

Torres, H.N, Carminah, H (1983). *Bioquímica General*. Buenos Aires: El Ateneo. 314- 351

Würsch, P., S. del Vedobo, J. Rosset & M. Smiley (1984) *Lebens Wiss Technol.* 17: 351-548.