

# Desarrollo de “espumante de naranja” como alternativa biotecnológica en la actividad citrícola regional \*

Stefani Leal, A. <sup>(1)\*</sup>, Cayetano Arteaga, M. C. <sup>(1)</sup>, Schwab, M. del C. <sup>(1)</sup>, Ferreyra, M. M. <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Facultad de Ciencias de la Alimentación. Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina.

Contacto: cayetanoc@fcal.uner.edu.ar

\* Primer premio al trabajo innovador por el comité científico de INNOVA 2011: V Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, (Montevideo 11 al 13 de octubre de 2011). Montevideo: LATU, 2011.

## Resumen

El objetivo de la producción citrícola de la región de Salto Grande es obtener fruta para consumo fresco. No existen a nivel nacional productos industriales derivados de la biotransformación de jugo de naranja. En este trabajo se sometieron “vinos de naranja” a una segunda fermentación en botella adaptando el método “champenoise” para obtener un “espumante de naranja”, estudiando así su factibilidad técnica. Se elaboró vino base, con jugo de naranja var. Valencia, inoculado con pie de cuba adaptado al medio. Se preparó licor de tiraje con levaduras del género *Saccharomyces*, sacarosa y coadyuvantes de clarificación. Se distribuyó el vino con el licor en botellas resistentes a la presión, se taparon con opérculos y tapa corona, se dispusieron horizontalmente en oscuridad a temperatura controlada. Finalizada la segunda fermentación se desarrolló la crianza, se dispusieron en pupitres para remover las borras, se realizó el degüelle, se adicionó con licor de expedición preparado con vino de naranja añejado y azúcar y se procedió al cierre con tapón de corcho y mordazas de metal. El “espumante de naranja” presentó 6,5 atm de presión, 13,27±0,52 %v/v de alcohol; pH=3,46±0,04; acidez=9,39±0,04 g de ácido Cítrico/l.

Palabras clave: Biotransformación, variedad Valencia, método champenoise.

## Abstract

The aim of citrus production in the Salto Grande region is fruit for the fresh market. There are no industrial products derived from biotransformation of orange juice in Argentina. The objective of this study was to obtain an orange sparkling wine from “orange wine”, by a second fermentation in bottles –as stated in traditional “champenoise” method– and study its technical feasibility. Orange base wine was prepared from orange juice inoculated with started culture adapted to the environment. Tirage liquor was prepared with *Saccharomyces* yeasts, sucrose and aids. The wine with the liquor tirage was distributed in pressure resistant bottles and capped with crown caps. The bottles were arranged horizontally in a dark cellar room and kept at controlled temperature. Once the second fermentation was finished, the aging process was developed, the bottles were riddled to facilitate settling of the yeast lees to the neck of the bottles, and disgorgement was performed. The wine supplemented with dosage liquor prepared with aged orange wine and sugar. Then the bottles were closed with corks and metal jaws. The orange sparkling wine contained 6,5 atm pressure, 13,27±0,52 %v/v alcohol; pH=3,46±0,04; acidity=9,39±0,04 g Citric acid/l.

Keywords: Biotransformation, Valencia variety, Champenoise method.

## Introducción

### La cadena citrícola de la región de Salto Grande

En la región de Salto Grande la producción citrícola es una actividad económica muy relevante, que comenzó a desarrollarse en la década del 50 y actualmente representa el 42,77 % de la actividad citrícola regional; se desarrolla en una región agro económica de 30 km (oeste – este) de suelos arenosos sobre la costa del Río Uruguay, se inicia al norte del departamento Colón en Entre Ríos, se extiende hacia el norte por los departamentos Concordia y Federación, siguiendo hasta el departamento Monte Caseros en la provincia de Corrientes, y en Uruguay en los departamentos de Salto y Paysandú. La cadena citrícola de Entre Ríos está formada por:

- Producción primaria, desde la plantación hasta la obtención de la fruta en condiciones de ser cosechada.

- Etapas secundarias: cosecha, transporte a empaque, procesos de acondicionamiento, conservación y transporte de la fruta a mercados mayoristas o puertos; industria: compuesta por la industria elaboradora de jugos y derivados, obtención de aceite esencial, de elevado valor agregado, que se utiliza en la industria alimenticia, cosmética y de limpieza.

Los actores principales en la cadena citrícola regional incluyen los viveristas, productores, empacadores (mercado interno y externo), las industrias de jugos y derivados. En otro nivel de análisis aparecen los proveedores de insumos, las empresas de servicio de cosecha y acondicionamiento, las empresas proveedoras de cámaras de desverdizado, de fumigación, frío y transportistas, fábricas de envases (aserraderos, cajoneros), etcétera.

También existe un entramado institucional específico de apoyo a la cadena, como cámaras de productores y empacadores locales (Concordia, Federación, Chajari, Villa del Rosario) nucleados a nivel provincial en la Federación de Citrus de Entre Ríos (Federicitrus), cámaras vinculadas a otros eslabones de la cadena y con jurisdicción mayor a la provincia, como la Asociación de Viveristas del NEA y la

Cámara de Exportadores del NEA.

Desde ciencia y tecnología se cuenta con INTA, Estación Experimental Agropecuaria Concordia (y sus Agencias de Extensión Rural de Chajarí y Concordia), y la Facultad de Ciencias de la Alimentación de la UNER (Universidad Nacional de Entre Ríos), con cierta especialización en la actividad, que aportan en la investigación y servicios en temas como determinación de plaguicidas, recubrimientos comestibles, biotecnología, entre otros. A nivel interinstitucional el Polo Tecnológico de la Región de Salto Grande tiende a articular actividades de ciencia y tecnología y las actividades productivas (Díaz Vélez, 2010).

El objetivo principal de la citricultura de la provincia es la producción de fruta para consumo fresco, el destino a industria es secundario o más bien un subproducto. El sector industrial cuyo componente fundamental es la producción de jugos concentrados y derivados es complementario a la producción de fruta fresca y habitualmente la fruta procesada en industria no supera el 20 % del total de producción (Vera et al., 2007). El volumen de producción de cítricos en Entre Ríos representa aproximadamente el 30 % de la producción nacional. De la producción de cítricos de Entre Ríos, un 15-18 % es destinado a exportación como fruta fresca. Existen en la región citrícola de Entre Ríos 14 empaques dedicados a exportación, el 14,5 % del total del país, mientras que hay 368 empaques que destinan su producción al mercado interno. Éstos representan el 78,3 % del total de empaques de mercado interno argentino (Federcitrus, 2011). Estos empaques de mercado interno integran gran parte de la cadena citrícola, ya que los mismos actores son productores, empacadores, transportistas y comercializadores en la etapa mayorista.

La noción de agregar valor se presenta como mecanismo de aumentar las rentas y de retenerlas en el ámbito de la economía local, donde se encuentra la producción primaria (Wilkinson, 2003). En el caso de los *specialities* (productos diferenciados de alto valor unitario que son elaborados con técnicas apropiadas que en muchos casos resaltan su carácter personal y/o artesanal), la competitividad se basa en poder ofrecer un producto casi único con el máximo nivel de calidad posible para su venta en canales apropiados y claramente identificados (Tito y Cattaneo, 2000).

Son conocidos los vinos de frutas, en particular los de naranja, como productos regionales, elaborados de manera artesanal, pero no se han registrado a nivel industrial nacional productos derivados de la biotransformación de jugo de naranja.

En este contexto en la Facultad de Ciencias de la Alimentación se ha desarrollado y caracterizado el llamado "vino de naranja" (Ferreira, 2006; Schwab, 2006), obtenido por biotransformación de jugo de naranja.

Los espumantes son bebidas alcohólicas obtenidas a partir de vino base sometido a una segunda fermentación. El término "champagne" con Denominación de Origen Controlada (DOC) es una marca protegida legalmente por el Tratado de Madrid (1891) y confirmado en el Tratado de Versalles después de la Primera Guerra Mundial. Se refiere únicamente a vino espumoso producido en su región homónima, y sus estándares son definidos por una Appellation d'Origine Controlée. En España el producto obtenido aplicando el método tradicional se conoce con denominación de origen "Cava" (reglamentada por BOE 189278:37587-93, 1991); en Italia se produce de manera similar el "prosecco". En el Código Alimentario Argentino (Ley 18284/69, Decreto 2126/71), Art. 1099, se definen los vinos espumosos o espumantes.

En Argentina, aunque la producción de estos vinos espumantes es menor comparada con la de los vinos (representan 1,6 % de la producción mundial de vinos), el impacto económico para la industria enológica es muy importante por el elevado valor agregado de la mayoría de los espumantes (Pozo-Bayón et al., 2009).

El aumento de la demanda durante los últimos años se relaciona con los precios más accesibles y con una mejor calidad de las marcas de menor valor. Además, una oferta más variada en sabores dulces y secos permitió captar nuevos consumidores. La producción nacional de champaña creció 122 % en el período 1990-1996, esto equivale a una tasa promedio anual del 20 %. El aumento en los niveles de

producción a partir de 1991 coincide con la recuperación del sector vitivinícola que se inclinó a la elaboración de productos con alto valor agregado.

## Elaboración de espumantes

Los espumantes se clasifican, según las diferentes tecnologías de producción, en vinos espumantes fermentados en botellas y aquellos fermentados en grandes *cuvée* o *granvas*.

El método de *cuvée* o *granvas* consiste en fermentar el vino base en tanques herméticamente sellados durante al menos 20 días antes de ser transferidos a las botellas, con lo que se ahorran costosas manipulaciones. Algunos vinos italianos, como Lambrusco y Asti, se producen por este medio.

En 1916 se ideó otro sistema para elaborar espumosos en grandes cantidades, el procedimiento llamado *Charmat*, que se realiza en grandes recipientes o cubas, como se muestra en la Figura 1.

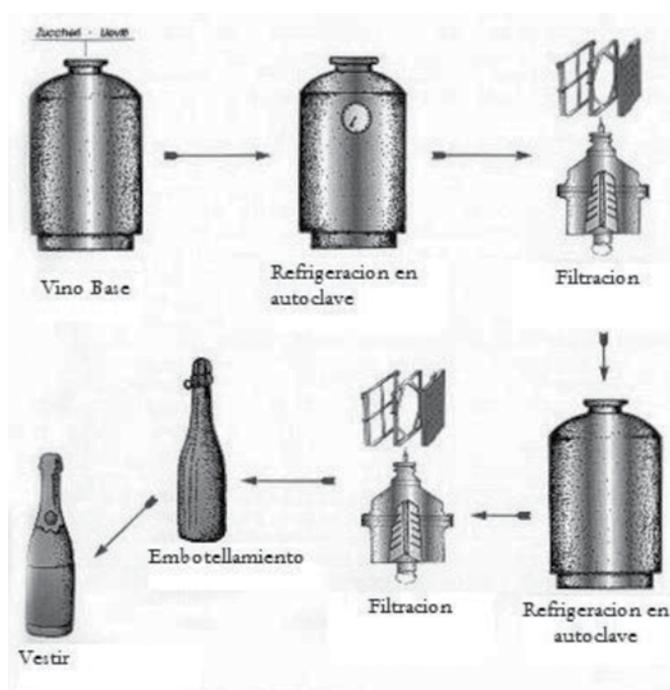


Figura 1. Esquema de obtención de espumantes por el método Charmat

El vino base es encubado en el primer recipiente, donde es envejecido artificialmente por calentamiento. Más tarde se transvasa a una segunda cuba, en la que se le añaden las levaduras y el licor azucarado para que fermente durante 10 o 15 días. En la tercera cuba se clarifica por refrigeración. Por último, desde la cuarta cuba se filtra y se embotella, manteniendo todo el proceso en condiciones isobáricas para conservar el dióxido de carbono formado.

El proceso de elaboración según el método tradicional o *champanoise* (Figura 2) conduce a la obtención de los espumantes de mejor calidad. Consta de dos etapas claramente diferenciadas: la elaboración del vino base y la segunda fermentación en botella.

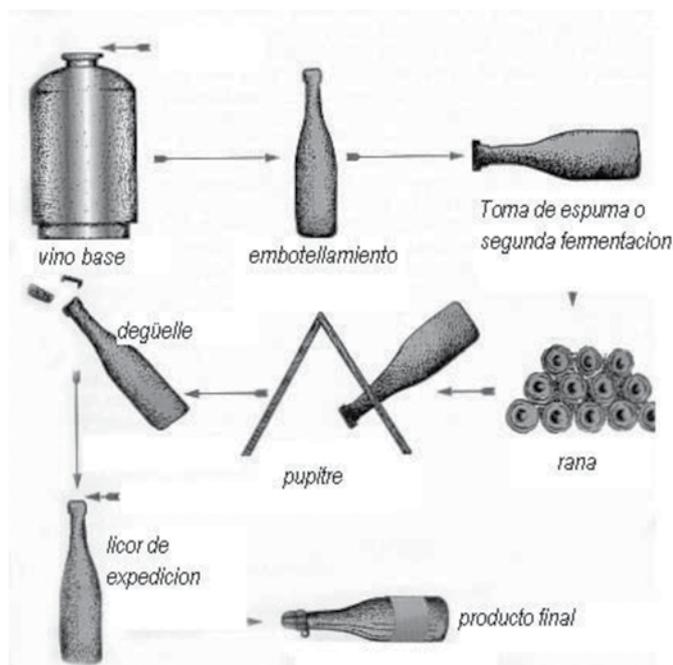


Figura 2. Esquema de obtención de espumante por el método champenoise.

Las características recomendadas para un vino base de uva apropiado para la elaboración de espumantes, según la norma BOE189278:37587-93,1991 son las siguientes:

Graduación alcohólica adquirida: mínima 9,5%(v/v); máxima 11,5% (v/v)

Acidez total mínima 5,5 g/L

Acidez volátil total (en ácido acético) inferior a 0,50 g/L

pH: mínimo 2,8-máximo 3,3

Resulta cada vez mayor la necesidad de contar con tecnologías alternativas para generar productos innovadores, de creciente demanda por los consumidores, con más valor agregado e identidad local, teniendo en cuenta el concepto de *specialities*. Surge así la idea de someter a los vinos de naranja a una segunda fermentación en botella, adaptando el tradicional método *champenoise* y obtener así un vino espumante de naranja.

El desarrollo de este nuevo producto se plantea como factible técnicamente, lo que permitiría la generación de nuevos puestos de trabajo y el posicionamiento del sector cítrico en mercados emergentes.

## Materiales y Métodos

Para la obtención del vino base de naranja se seleccionó la variedad Valencia Late, por sus condiciones sápidas aromáticas y alto rendimiento en jugo. La naranja Valencia Late utilizada en este trabajo se cosechó en noviembre de 2009 en óptimas condiciones fisiológicas.

### Obtención del vino base de naranja

La vinificación comenzó con la extracción del jugo de naranjas en extractora FMC modelo FS BR 1, el cual se recogió en tanque de acero inoxidable donde se sulfitó con  $\text{KHSO}_3$  (150 ppm) para evitar el desarrollo de levaduras *non Saccharomyces*. Se realizó tratamiento enzimático para clarificar el jugo, con enzimas Rheopect (20 ppm). Luego de la inactivación enzimática se dejó decantar y se trasegó el jugo clarificado, se ajustó la concentración de azúcar con sacarosa, hasta 15°Brix. La cantidad de azúcar necesaria para alcanzar 9-10° GL se agregó en varias etapas para evitar el efecto inhibitorio osmótico sobre las levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*: al preparar el mosto, a las 24 horas y luego del primer trasiego. El método que se

usó para la fermentación fue el agregado de un pie de cuba que se preparó a partir de jugo de naranja adicionado de nutrientes para el desarrollo de la biomasa (Ferreira, 2006).

El jugo se distribuyó en damajuanas de vidrio oscuro de 25 litros, donde se inoculó con el pie de cuba, se cubrieron las damajuanas con torundas de algodón y se mantuvieron en aerobiosis durante 24 horas para desarrollo de biomasa. Se agregó nuevamente sacarosa y se colocaron los tapones hidráulicos, dando comienzo a la etapa de fermentación tumultuosa; la temperatura de la cámara se mantuvo a  $15 \pm 1$  °C durante todo el proceso. Finalizada la fermentación tumultuosa se efectuó el primer trasiego por decantación natural. Se realizó un nuevo agregado de azúcar y nuevamente se sellaron las damajuanas con los tapones hidráulicos. El proceso fermentativo continuó hasta agotamiento de los azúcares. A los 30 días se filtraron los vinos con filtros de celulosa y se obtuvo así el vino base de naranja.

### Segunda fermentación

La segunda fermentación, por adaptación del método Champenoise (Figura 1), comenzó con la preparación del licor de tiraje en vino base adicionado de un cultivo de levaduras del género *Saccharomyces*, de manera tal que la población fue superior a  $4 \times 10^6$  células viables /mL, la cantidad necesaria de azúcar para obtener una presión de  $\text{CO}_2$  no mayor a 6 atm a 15 °C (aprox. 4-4,3 g/l para producir 1 atm a 10 °C), nutrientes y coadyuvantes de clarificación. Se ensayaron diferentes concentraciones de bentonita: 0,2g/l y 0,5 g/l.

Se mezcló el licor con el vino base y se llenaron las botellas resistentes a la presión con agitación para favorecer la presencia de oxígeno en la mezcla; se taparon con opérculos y tapa corona.

Las botellas se dispusieron en rima para la toma de espuma, a temperatura de cámara de  $15 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$  y al resguardo de la luz. Para asegurar el contacto de las levaduras con la masa del líquido durante esta etapa de fermentación se aplicó movimiento de "clavas" a las botellas, que consiste en una agitación manual vigorosa, hacia atrás y adelante, tomando la botella del cuello y girando su posición una media vuelta cada día.

Una vez finalizada la segunda fermentación comenzó la crianza del espumante. Las levaduras inactivadas por el gas acumulado y el agotamiento del azúcar se depositaron en el fondo. Al cabo de 9 meses las botellas se dispusieron en pupitres de madera para la remoción de las borras hacia el cuello. Diariamente se les aplicó un movimiento giratorio de 1/8 de vuelta en sentido horario hasta completar dos vueltas y luego en sentido antihorario 1/4 de vuelta cada día hasta completar dos giros. El pupitre se desplazó paulatinamente hasta que las botellas finalmente quedan en punta (de cabeza). Cuando el líquido se observó límpido se procedió al degüelle de las botellas, etapa que se realizó en instalaciones de una bodega comercial.

Las botellas, previamente enfriadas en heladera, se sumergieron en un baño de solución congelable (etilenglicol al 45 %) a una temperatura de -25 °C. Al quitar la tapa corona se expulsaron los opérculos arrastrando las borras acumuladas, se completó el volumen de las botellas con el denominado licor de expedición, preparado con vino de naranja añejado y azúcar. Se utilizó cantidad de azúcar para lograr una concentración en botella: de 25 g/L y obtener un espumante de la categoría demi-sec; otra fracción de botellas sin agregado de azúcar obteniendo un espumante tipo extra brut. Por último se procedió al cierre definitivo de las botellas con tapón de corcho y mordazas de metal.

### Parámetros enológicos en vino base de naranja y en espumante

Para caracterizar el vino base de naranja y el espumante se determinaron los siguientes parámetros enológicos:

- Graduación alcohólica: por aerometría (según técnica MA-E. AS312-01-TALVOL, O.I.V., 2009).

- pH: potenciométricamente (pHmetro BOECO BT- 500).

- Sólidos solubles: Con refractómetro ATAGO modelo DTM-1, expresados en °Brix.
- Sacarosa, glucosa y fructosa: método enzimático (Boehringer Mannheim/Biopharm, kit # 0716260), expresados como g/100 mL.
- Acidez total: por titulación (AOAC, 1984), determinada como ácido cítrico anhidro y expresada en g/L).
- Color: se determinó sobre muestras centrifugadas 5 min a 4000 rpm mediante la medida de las absorbancias a 450, 520, 570 y 630 nm en espectrofotómetro (Shimadzu UV 1603), paso de luz 10 mm, para obtener los parámetros CIELab (L\*, a\*, b\*) y se procesaron con programa MSCV (Grupo de color, Universidad de La Rioja-Universidad de Zaragoza; Ayala et al., 2001).

## Resultados y Discusión

Se procesaron 200 kg de naranjas, el rendimiento en jugo fue del 51 % y se obtuvieron 71 litros de espumante de naranja.

El vino base de naranja presentó las características mostradas en la Tabla 1:

	CONTENIDO
Alcohol (%v/v)	12,80±0,57
Sólidos solubles °Bx	8,28±0,28
Az. Reductores (%)	3,93±0,98
Acidez (g ac. Cítrico/l)	1,07±0,05
pH	3,44±0,02

Tabla 1. Parámetros enológicos del vino base de naranja.

El vino base presentó características similares a las requeridas para un vino base de uva: producto de sabor y aroma marcadamente afrutado. Se consideró apropiado para la elaboración del espumante. Podrá obtenerse un vino base con menor graduación alcohólica para obtener un espumante más suave, ya que el proceso de segunda fermentación aumenta hasta 1,5 % el contenido de alcohol.

En el sentido estrictamente químico un vino espumante es una solución hidroalcohólica sobresaturada en CO<sub>2</sub> que contiene una gran diversidad de moléculas, desde las más sencillas, producto de la fermentación, hasta las más complejas, liberadas al medio por la lisis celular durante el proceso de envejecimiento.

Es fundamental que la fermentación se realice a temperaturas controladas y no superiores a los 16 °C, para conducir a una mejor toma de espuma, es decir, una mejor integración del anhídrido carbónico en el líquido en el que se desprende y, por lo tanto, una mejora del «perlaje» por finura de la burbuja y por persistencia superior del fenómeno. De formarse burbujas más gruesas en la copa, al ser más inestable la unión del CO<sub>2</sub> con el vino, serán efímeras. Los aromas también están muy influenciados por la temperatura a la que se realiza la fermentación.

	CONTENIDO
Alcohol (%v/v)	13,27±0,52
Sólidos solubles (°Bx)	8,85±0,94
Az. Reductores (%)	0,728±0,010
Acidez (g ac. Cítrico/l)	9,39±0,04
pH	3,46±0,04

Tabla 2. Parámetros enológicos del espumante de naranja.

Se ensayaron dos dosis de bentonita en el licor de tiraje y los parámetros cromáticos mostraron los resultados expresados en la Tabla 3.

RESPUESTAS	Vino base	Espumante 0,2 g/L	Espumante 0,5 g/L
L	94,2±0,83	94,1±0,22	93,3±1,37
C*ab	24,21±1,811	19,10±1,344	14,43±0,327
h*	93,46±1,19	92,45±1,38	104,04±1,65
a*	1,55±0,08	0,76±0,05	2,08±0,61
b*	24,13±0,71	19,09±1,06	13,32±0,98
ΔE		6,201	

Tabla 3. Parámetros de color en vino base y espumantes de naranja

Al cabo de los 9 meses de crianza en el espumante de naranja se observó intensa formación de burbujas aunque de tamaño pequeño y poca estabilidad del collar de espuma. La formación y liberación de burbujas al servir una copa de vino espumante fascina a los consumidores desde los tiempos de Dom Pérignon. La efervescencia (del Latin *fervere*, hervir) de estos vinos es adquirida exclusivamente durante la segunda fermentación y puede definirse como la progresiva liberación de burbujas a través del medio líquido, que se genera al descorchar una botella de espumante.

Otros aspectos como el sabor y el aroma desempeñan un papel muy importante, pero son la efervescencia y la persistencia de la espuma los atributos particulares de los vinos efervescentes y, por tanto, presentan una importancia capital en su evaluación organoléptica (Pozo-Bayón et al., 2009; Moreno-Arribas et al., 2000; Obiols et al., 1998). Uno de los factores que más afectan las características visuales de los vinos espumantes es la persistencia de la espuma (Marchal, Bouquet & Maujean, 1996). La formación de un collar estable de burbujas es considerada por los consumidores como un criterio muy importante de calidad (Brissonet y Maujean, 1993). Por otro lado, la efervescencia y la espuma no son únicamente atributos visuales ligados a la belleza de un vino, sino que influyen de manera significativa sobre las sensaciones que se perciben en el paladar (Vanrell, 2007); el tamaño de las burbujas puede afectar la liberación de aromas y la percepción en boca (Liger-Belair, 2005).

Los componentes que afectan la formación y estabilidad de las burbujas son liberados al medio durante la etapa de crianza del espumante. Consecuencia de esta ruptura y fragmentación del material celular son liberadas al espumante moléculas de distinta naturaleza, que afectan a su equilibrio coloidal, estructura, estabilidad de color y perfil aromático, con importantes repercusiones organolépticas. Las moléculas mayoritariamente liberadas se pueden clasificar como procedentes del interior celular: nucleótidos y nucleósidos (se comportan como agentes de flavor), aminoácidos y péptidos (actúan como precursores de aromas, algunos pueden presentar sabores dulces o amargos y juegan un importante papel como activadores de la fermentación maloláctica); o bien de las paredes celulares: Glucanos y manoproteínas presentan interacciones con volátiles aromáticos, tienen un importante papel en la modificación de la estructura y densidad en boca y actúan como coloides protectores estabilizando la materia colorante. Un período más prolongado en contacto con las borras, además de favorecer el desarrollo del bouquet, podrá mejorar las características de la espuma.

La espuma se debe caracterizar y relacionar con características fisicoquímicas y sensoriales. Actualmente se está trabajando mediante técnicas cromatográficas (GC-MS y GC-O) en la construcción del perfil aromático del «vino base de naranja» y «espumante de naranja» y en la construcción del perfil sensorial por medio de ensayos con consumidores. Se estudiarán las características de la espuma en base a técnicas de análisis de imágenes digitales en movimiento. Este método

presenta la ventaja de evaluar la calidad de la espuma automáticamente y en tiempo real en una copa, utilizando una cámara de video (Pozo Bayón et al., 2009). Las consecuencias comerciales de las propiedades de la espuma son muy importantes; el conocimiento de los factores que influyen en la formación de burbujas y en la estabilidad de la espuma permite tomar decisiones y actuar sobre el proceso de elaboración del espumante.

## Conclusiones

Es factible obtener un “espumante de naranja” adaptando la tecnología tradicional “champenoise”, sometiendo a un vino base de naranja a una segunda fermentación en botella. Los parámetros evaluados de este nuevo producto nos alientan a seguir ajustando variables de proceso y caracterizarlo de manera más detallada (formación de espuma, correlación entre propiedades fisicoquímicas y sensoriales), a fin de optimizar el proceso y obtener un producto de óptima calidad.

El “espumante de naranja” se presenta como una alternativa potencial a desarrollar para agregar valor a la producción primaria de cítricos de la región.

## Reconocimientos

A las empresas Litoral Citrus y ECA S.A. de Concordia (Entre Ríos) y Bodegas Calvinor (Bella Unión, Uruguay) por su aporte en materia prima y recursos tecnológicos. Al grupo de la sección Enología de la Facultad de Química, Universidad de la República, por sus consejos y generosos aportes en el conocimiento del vino.

## Referencias

- AOAC INTERNATIONAL. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 14va ed. Gaithersburg: AOAC, 1984. Official Method 9.135.
- AYALA, F.; ECHÁVARRI, J.F.; NEGUERUELA, A.I. *Programa MSCV. Grupo de color*. La Rioja: Universidad de La Rioja; Universidad de Zaragoza, 2001.
- Boletín Oficial del Estado 20 de Noviembre de 1991. Reglamento de la Denominación “Cava” y de su Consejo Regulador. Orden 14 de Noviembre 1991 BOE nº 189278: 37587-93
- BRISSONET, F.; MAUJEAN, A. Identification of some foam-active compounds in champagne wines. En: *Am. J. Enol. Vitic.* 1993, 42:97-102.
- CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. [En línea]. Buenos Aires: Anmat, [s.d.]. [Consultado el 15 de diciembre de 2011]. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoo/Capitulo\\_XIII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoo/Capitulo_XIII.pdf)
- DÍAZ VÉLEZ, Rubén; VERA, Luis María. *PEA de cítricos 2010/2016*. Concordia: INTA EEA, 2010.
- FERREYRA, M.M. *Estudio del proceso biotecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de jugo de naranja*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 2006. (Tesis Doctoral)
- FEDERCITRUS. La actividad cítrica Argentina, año 2011 [En línea]. Federcitrus, 2011. [Consulta: 12 de noviembre de 2011] Disponible en: <http://www.federcitrus.org/actividad-citricola-2011.pdf>
- LIGER-BELAIR, G. The physics and chemistry behind the bubbling properties of champagne and sparkling wines: a state-of-the-art review. En: *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53(8):2788–2802
- MARCHAL, R.; BOUQUELET, S.; MAUJEAN, A. Purification and partial biochemical characterization of glycoproteins in a Champenois Chardonnay wine. En: *Journal Agric Food Chem.* 1996, 44:1716-1722.
- MORENO ARRIBAS, V.; PUEYO, E.; NIETO, F.J.; MARTÍN ÁLVAREZ, P.J.; POLO, M.C. Influence of the polysaccharides and the nitrogen compounds on foaming properties of sparkling wines. En: *Food Chemistry*. 2000, 70:309-317.
- OBIOLS, J.M.; DE LA PRESA-OWENS, C.; BUXADERAS, S.; BORI, J.L.; DE LA TORRE-BORONAT, M.C. Protocolo de evaluación de la formación de la efervescencia de la espuma en un vino espumoso, ACE. En: *Revista d.Enologia*. 1998, 15(44):3-15
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN. *Compendium of international methods of wine and must analysis*. [s.l.]: OIV, 2009.
- POZO-BAYÓN, M.A.; MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. En: *Trends in Food Science and Technology*. 2009, 20:289-299.
- SCHVAB, María del Carmen. *Bebida alcohólica de jugo de naranja: Estudio de los parámetros de calidad, influencia de las variables de proceso y caracterización del producto*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 2006. (Tesis Doctoral)
- TITO, G.; CATTANEO, C. *Producción de alimentos sanos a pequeña escala, comercialización y limitaciones reglamentarias: elementos para un análisis del tema*. Buenos Aires: PSA-PROINDER, 2000.
- VANRELL, G.; CANALS, R.; ESTERUELAS, M.; FORT, F.; CANAS, J.M.; ZAMORA, F. Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava). En: *Food Chemistry*. 2007, 104:148–155.
- VERA, L.; DIAZ VELEZ, R.; RIVANDERNEIRA, F.; GARRAN, S.; GARIN, R. *Informe cítrico regional de Entre Ríos*. Entre Ríos: INTA-FEDERCITRUS, 2007.
- WILKINSON, J. Oportunidades y desafíos para la pequeña producción en el nuevo cuadro de dominación del Sistema Agroalimentario en América Latina. En: ALACEA. *VII Congreso Internacional ALACEA*, (Lima 6-7 de noviembre de 2003). Lima: ALACEA, 2003.