OFI[illegible] DE PARTES 2 FIA
RECEPCIONADO
Fecha 17 AGO 2012
Hora 10
N° Ingreso 3318

FIA
Ministerio de Agricultura
Gobierno de Chile

PLAN OPERATIVO

PROYECTOS 2012

NOMBRE INICIATIVA:	Desarrollo de un Cepario Comercial para la Producción de Levaduras y Bacterias Lácticas Autóctonas que Permitan Potenciar el Terroir, la Calidad y la Producción Orgánica de los Vinos Chilenos.
EJECUTOR:	Vinotec Chile S. A.
CODIGO:	PYT-2012-0057
FECHA:	26 – julio - 2012

CONTENIDO

I. PLAN DE TRABAJO TÉCNICO 3

A. Antecedentes Generales 3
B. Plan de Trabajo 5
C. Costos y Dedicación 23
D. Fichas Curriculares 27
E. Indicadores Minagri 32

I. PLAN DE TRABAJO TÉCNICO

A. Antecedentes Generales

1. Nombre Ejecutor (Entidad Responsable)

Nombre	Giro / actividad	RUT	Representante(s) Legal(es)
Vinotec Chile S. A.	Productos para la industria Vitivinícola y pisquera		Patricia Susana Roca Jara

2. Identificación de Agentes Asociados

Nombre	Giro / actividad	RUT	Representante(s) Legal(es)

3. Coordinadores Principal y Alterno

Nombre	Formación / grado académico	Empleador	Función dentro del proyecto
Patricia Roca Jara	Ingeniera Agrónoma	Vinotec Chile	Coordinador del proyecto
Danilo Segovia Alfaro	Ingeniero Civil Químico. Ingeniero Civil en Biotecnología	Vinotec Chile	Coordinador alterno del proyecto

4. Duración y ubicación del Proyecto

Duración		Período de ejecución	
Meses	36	Fecha de inicio	1 de Junio de 2012
		Fecha de término	31 de Mayo de 2015
Territorio			
Región(es)		Comuna(as)	
Metropolitana VI Región, Del Libertador Bernardo O´higgins.		Huechuraba. Marchigüe.	

5. Estructura de financiamiento

		Valor	%
FIA			
Contraparte	Pecuniario		
	No Pecuniario		
	Total contraparte		
TOTAL			

6. Resumen ejecutivo (máximo 400 palabras)

La tendencia mundial en el mercado de los vinos se orienta a la búsqueda de productos de calidad, más saludables y con un sello propio principalmente obtenido de su terroir. Muchos esfuerzos buscan mejorar la calidad de la uva, sin embargo, estas mejoras no se han extrapolado a los procesos productivos muy importantes en la obtención de un vino. Uno de los factores en este manejo es el control en la fermentación, que permite obtener vinos equilibrados, balanceados y que destaquen por su carácter único. Estas fermentaciones se realizan en la actualidad en su mayoría con microorganismos foráneos que no se han adaptado del todo a los mostos nacionales, por lo que su utilización se limita a la obtención de vinos estandarizados, que no logran diferenciarse por terroir y tipicidad de la bodega.

Si bien es cierto, existen microorganismos aislados a nivel nacional, estos son producidos por empresas transnacionales que han masificado su uso, impidiendo la tipificación por lugar de origen y terroir. Además, el uso de estos microorganismos permitirán controlar la producción de metabolitos perjudiciales para la salud y sobre los cuales ya se han establecido barreras en el mercado internacional, ejemplo de ello es el límite en el contenido de aminas biogénicas en vinos en diversos países.

El proyecto desarrollará un cepario comercial de microorganismos para la producción a escala piloto de levaduras y bacterias lácticas autóctonas, que potencien el terroir, la elaboración de vinos diferenciados, de calidad, con potencial orgánico, inocuos y de acuerdo a las tendencias de los productos demandados en la actualidad. Junto con ello, este cepario permitirá a los productores acceder a un servicio que les permita aislar y preservar sus propios microorganismos en el tiempo, garantizando de esta forma una producción única y estandarizada por bodega.
En la actualidad, el servicio propuesto no se encuentra disponible en el mercado local y regional, en consecuencia de obtener resultados positivos en este desarrollo, el negocio se proyecta al mercado local y a toda la región, permitiendo que a nivel nacional se desarrolle un nuevo concepto de negocio como es la producción comercial de microorganismos.

Con el objeto de vincularse con cepas de microorganismos autóctonos que han sido obtenidos de otros proyectos de I+D, se ha contemplado el uso de parte de los resultados técnicos obtenidos del proyecto Fondef D98I1037, liderado por la Dra. Ganga de la U. de Santiago. En este sentido se generará una gran oportunidad de transferir resultados obtenidos desde la ciencia básica realizada en Chile en productos comerciales que se generarán con el desarrollo de este proyecto.

Se espera que los resultados del desarrollo del proyecto en su conjunto generen productos y servicios protegidos industrialmente.

7. Propiedad Intelectual

¿Existe interés por resguardar la propiedad intelectual?	Si	X	No	
Nombre institución que la protegerá	% de participación			
Vinotec Chile S.A.	100%			

B. Plan de Trabajo

8. Objetivos

Objetivo general	
Desarrollo de un cepario comercial para la producción en escala piloto de cepas de levaduras y bacterias lácticas autóctonas que potencien el terroir vitivinícola de Chile y favorezcan la elaboración de vinos diferenciados, de calidad y con potencial orgánico.	
Nº	Objetivos específicos (OE)
1	Obtener levaduras y bacterias lácticas autóctonas desde bodegas nacionales y viñedos, con características enológicas y tecnológicas deseadas, para conducir la Fermentación Alcohólica (FA) y Maloláctica (FML) exitosas.
2	Desarrollar un cepario comercial de levaduras y bacterias lácticas autóctonas con fines comerciales
3	Incorporación de tecnologías de última generación en investigación científica para el desarrollo de la investigación privada.
4	Producir a nivel piloto cultivos frescos y evaluar la factibilidad técnica de la producción en seco de las cepas de levaduras y bacterias lácticas seleccionadas con las cualidades enológicas y tecnológicas deseadas por cada empresa.
5	Estudiar el posicionamiento comercial y tecnológico de los resultados obtenidos.
6	Difundir mediante seminarios, medios web, publicaciones y congresos los resultados del proyecto.
7	Introducir en el mercado el servicio de aislamiento de cepas o venta de éstas a las viñas.

Mes 1: 1° junio 2012

9. Resultados esperados (RE)

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicadores de RE			Fecha de Cumplimiento
			Indicador de cumplimiento	Línea base (valor actual)	Meta proyecto (valor deseado)	
1	1	Cepas Aisladas USACH evaluadas	Cepas evaluadas	Cepas no evaluadas tecnológicamente	Cepas evaluadas tecnológicamente a nivel laboratorio.	Mes 12
1	2	Cepas de levaduras y bacterias aisladas por valle.	Microorganismos aislados	En las Universidades chilenas existen microorganismos del vino aislados de manera independiente	Al menos 500 microorganismos aislados por valle	Mes 36
1	3	Cepas de S. *cerevisiae* y O.oeni., caracterizadas a nivel molecular por valle.	Cepas de S. *cerevisiae* y O. oeni	En las Universidades chilenas existen ceparios de manera independiente	Al menos 100 Cepas de S. cerevisiae y O. oeni caracterizadas por valle	Mes 36
1.	4	Identificación de cepas autóctonas.	Cepas de S. *cerevisiae* y O. oeni autóctonas	En las Universidades chilenas existen ceparios de manera independiente	Al menos 60% de Cepas de S. cerevisiae y O. oeni autóctonas	Mes 24
1.	5	Cepas autóctonas de S. *cerevisiae* y O.oeni., caracterizadas a nivel tecnológico por valle.	Cepas autóctonas de S.*cerevisiae* y O. oeni	En las Universidades chilenas existen ceparios de manera independiente	Al menos 50 Cepas de S.cerevisiae y O.oeni caracterizadas por valle.	Mes 36
1	6	Cepas autóctonas seleccionadas en el proyecto a nivel laboratorio que realicen la FA y FML de forma exitosa.	FA y FML exitosas	Dos cepas de S. cerevisiae nativas llevan a cabo este proceso. En el caso de O. oeni no existen cepas nativas	Al menos 15 Cepas de S. cerevisiae y O. oeni comercializables	Mes 36
2	7	Desarrollo de un cepario comercial de levaduras y bacterias lácticas autóctonas, mantenidas exitosamente en el tiempo.	Cepario comercial	No existe a nivel nacional	Al menos 10 Cepas de S. cerevisiae y O. oeni comercializables	Mes 36
3	8	Perfeccionamiento de personal altamente especializado para la industria vitivinicola	Incorporación de profesionales con postgrado al área de desarrollo de la empresa	Se desconoce el número de profesionales con postgrado que trabajen directamente en el tema de investigación a nivel empresarial	Al menos 1 profesional con postgrado incorporado a la empresa	Mes 36
3	9	Incorporación de tecnologías de última generación para la detección e identificación de microorganismos de importancia en la industria del vino	Métodos biotecnológicos aplicados en la empresa	Estos métodos son solo aplicados y usados a nivel de investigación en las universidades	Aplicación de al menos 3 métodos biotecnológicos para la identificación y selección de microorganismos (ITS. PCR, RAPD)	Mes 24

4	10	Tecnología de producción en fresco de cepas de levaduras y bacterias lácticas autóctonas a nivel piloto.	Producción fresca de cepas	A nivel local no existe producción en escala de estas cepas	Al menos 10 cepas de S. cerevisiae y O. oeni producidas para su comercialización	Mes 36
4	11	Procedimiento de producción en seco de cepas de levaduras y bacterias lácticas autóctonas a nivel piloto evaluadas.	Proceso de producción en seco	A nivel local no existe producción en seco de cepas autoctonas	Proceso validado de producción en seco	Mes 36
5	12	Informe de Factibilidad Técnico Económica a nivel local y regional de los resultados obtenidos en el proyecto	Estudio de Factibilidad Técnica-Económica	No existen estudios o informes públicos disponibles	Estudio de factibilidad del posicionamiento comercial de los productos y servicios originados del proyecto en el mercado local y regional	Mes 36
6	13	Resultados del proyecto difundidos a la industria	Difusión de Resultados	Sin Difusión	Seminarios de resultados del proyecto. Página Web con avance y resultados del proyecto. Asistencias a congresos nacionales e internacionales. Publicaciones en revistas científicas y de divulgación técnica.	Mes 36
7	14	Introducción comercial del servicio de aislamiento de cepas o venta de éstas a las viñas	Ventas de servicio o producto	Servicio de aislamiento de cepas o venta de ellas no existente.	A lo menos tres ventas realizadas del servicio o producto	Mes 36

10. Actividades

Nº OE	Nº RE	Actividades	Fecha de inicio	Fecha de término
1, 2	1, 7	Validación de datos USACH	Mes 1	Mes 12
1, 2	2, 3, 7	Aislamiento de levaduras y bacterias lácticas mediante muestreos	Mes 1	Mes 21
1, 2, 3	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Identificación molecular de los microorganismos	Mes 1	Mes 27
1, 2, 3	2, 3, 5, 6, 7, 8	Selección de los microorganismos	Mes 10	Mes 36
2, 4	7, 10, 11	Escalamiento en la producción de Biomasa	Mes 7	Mes 36
5, 7	12, 14	Evaluación Técnico económica	Mes 19	Mes 36
6	13	Difusión de resultados	Mes 1	Mes 36

11. Hitos Críticos

Nº RE	Hitos críticos	Fecha Cumplimiento
2, 3, 4	Obtención de metodología para la definición de autóctono de O.oeni validada	Último trimestre año 2
4	Obtención de cepas seleccionadas autóctonas	Último trimestre año 2
10, 11	Cepa de levadura o bacteria autóctona cumple los estándares requeridos para el escalamiento piloto.	Tercer trimestre año 2

12. Método

Objetivo Nº 1	Obtener levaduras y bacterias lácticas autóctonas desde bodegas nacionales y viñedos, con características enológicas y tecnológicas deseadas, para conducir la Fermentación Alcohólica (FA) y Maloláctica (FML) exitosas.

1. Levaduras aisladas de la zona del Maule. Convenio Usach

Con el fin de avanzar en la búsqueda de productos comerciales y en forma paralela al desarrollo de este proyecto, se utilizarán los microorganismos que ya han sido evaluados tecnológicamente por la Universidad de Santiago, estos microorganismos involucran cepas de levaduras autóctonas.

Por lo cual se materializará un acuerdo con la Universidad de Santiago para el uso de las cepas de levaduras que la Dra. Angélica Ganga logró aislar en el proyecto Fondef D98I1037 (Ganga, 1998) y de otros muestreos en los cuales posee bacterias lácticas aisladas. En este último caso se deberá realizar la caracterización a nivel molecular, tecnológico, su carácter de autóctono, que desarrollen la fermentación maloláctica de la manera deseada y que puedan ser producidas comercialmente.

2. Obtención de nuevos aislados de distintas zonas del país.

Con el fin de aumentar el cepario de levaduras y bacterias, además se llevaran a cabo nuevos ensayos de aislamientos, en diferentes regiones del país. Esto se llevara en primer lugar mediante métodos microbiológicos tradicionales. Para tal efecto se tomaran muestras en:

Levaduras: en el viñedo y al finalizar la FA
Bacteria: al inicio y al final de la FML

Cada muestra será diluida 1:100 y 1:1000 con agua peptonada 0.1% y será sembrada en:

Levaduras: Placas de agar YPD (medio de crecimiento rico para el crecimiento de levaduras (Ganga y Martinez, 2004) y en medio selectivo de agar con L- lisina (específico para levaduras del género no-*Saccharomyces*).
Bacterias lácticas: Placas en medio MRS y MRS-modificado (Bae et al., 2006).

Posteriormente las levaduras deberán ser identificadas mediante métodos moleculares (Ver métodos del objetivo 3).

3. Ensayos para determinar su potencial enológico

En ambos casos la metodología para avanzar con los desarrollos realizados será la siguiente:

S. cerevisiae:

Validación de ensayos a nivel de laboratorio: Una vez determinadas las cepas de *S. cerevisiae* ha estudiar se realizara un caracterización en base a criterios enológicos como son: crecimiento en altas concentraciones de glucosa, resistencia a SO_2, factor killer, (Ganga, 1998). Así se logrará seleccionar aquellas cepas que entreguen mejores indicadores enológicos. Además se llevarán a cabo fermentaciones en mosto sintético con el fin de estudiar la cinética de fermentación y definir aquellas que poseen los mejores parámetros enológicos (consumo de azúcares, producción de alcohol, entre otros). Los mostos serán inoculados con una concentración de $2x10^5$ células/ml. El proceso de vinificación se llevara a cabo a 20ºC.

Ensayos a nivel piloto: Aquellas levaduras que muestren parámetros enológicos de interés serán ensayadas

en mosto natural. Para ello, se llevaran a cabo en fermentadores del CIAC. Para ello, se crecerán las levaduras que se han seleccionado en la primera parte de este trabajo en un medio sintético para posteriormente realizar un "pie de cuba". Además se utilizará una cepa de levadura control, con el fin de comparar la cepa de levadura nativa con la cepa de *S. cerevisiae* EC1118, habitualmente usada en nuestras bodegas. Cada fermentación se realizará por duplicado. La fermentación será seguida mediante la medición de la densidad así como se tomarán muestras del medio para ser inoculada (previa dilución con medio isotónico estéril) inmediatamente en placas de medio YPD (Ganga, 1998). Cada siembra será hecha por triplicado. Se dejarán creciendo a 30ºC durante 5-7días. Con el fin de determinar la imposición de la levadura inoculada se llevara a cabo la técnica del patrón de restricción del DNA mitocondrial.

Terminada la fermentación se seguirán cada una de las etapas habituales para el embotellado de los vinos. Se realizaran los análisis fisicoquímicos típicos de los vinos obtenidos de las fermentaciones realizadas, además de hacer una cata de los mismos por un panel de enólogos.

De esta manera se seleccionaran la(s) cepa(s) de *S. cerevisiae o S. bayanus* que hayan dado las mejores características organolépticas al vino.

Todas las muestras de levaduras que se recolecten en este trabajo serán guardadas tanto en agar inclinado como glicerinadas con el fin asegurar su pureza y disponibilidad.

O. oeni:

Validación de ensayos a nivel de laboratorio: Con el fin de caracterizar cada aislado de manera fisiológica y así elegir las mejores cepas para estudios posteriores, se harán en primer término ensayos a nivel de laboratorio en vino sintético. Para ello, el medio utilizado corresponderá al descrito por Reguant et al. (2003), el que está compuesto por: glucosa 1g/L, fructosa 1g/L, trealosa 0,5 g/L, glicerol 87%, ac tartárico 5,75 g/L ácido málico 10 g/L, acetato de Na 0,28 g/L, ácido cítrico 0,5g/L, L-cisteina 0,5 g/L, extracto de levadura 4g/L, casaminoácidos 5 g/L, KH_2PO_4 0,6 g/L, $MgSO_4$ 0,13 g/L, $MnSO_4$ 0,03 g/L, $CaCl_2$ 0,13 g/L y KCl 0,45 g/L. A este medio se le realizaran las modificaciones de pH, concentración de etanol y SO_2 para determinar la viabilidad de estas bacterias bajo estas condiciones. Se ensayaran pH que irán desde 3,2 a 3,7. Con respecto al etanol las concentraciones ensayadas serán 0, 10, 12 y 15% (v/v), mientras que para el SO_2 total irán de 20, 25 y 30 ppm. En cada caso se utilizará una bacteria control (bacteria comercial) de manera de comparar las bacterias aisladas en este trabajo con aquellas que ya son comercializadas. Se comparará además en cada uno de los casos sus cinéticas de crecimiento con el fin de valorar la velocidad en que cada una de ellas lleva a buen éxito la FML. Así también se seguirá la utilización del ácido málico mediante el kit enzimático u otro.

Ensayos a nivel piloto:
Para estudiar el comportamiento de las cepas de *O. oeni* en terreno se harán ensayos directamente en vinos, basado en el trabajo realizado por Izquierdo et al. (2004). Se llevaran a cabo ensayos en barricas de 180L en donde se inoculara cada barrica con $1x10^6$ celulas/ml, previa ambientación en el propio vino de las bacterias. En este caso particular y con el fin de poder controlar el mayor número de variables, los vinos que se usaran habrán sido previamente fermentados con la levaduras comercial *S. cerevisiae* EC1118. Para la FML se usara como control una cepa de *O. oeni* comercial y otra espontánea.
Los ensayos serán realizados en barricas de roble a escala en el CIAC, que serán llenadas con vino de variedad C. Sauvignon. Posteriormente, las muestras de bacterias lacticas serán primero sembradas en 1L de medio MRS (Landete et al., 2005b) dejándolo crecer por 3 días a 25-28°C, posteriormente la población obtenida será centrifugada y traspasada a 3L de un nuevo medio de MRS, dejándola crecer nuevamente

durante 3 días a 25-28°C. La población así obtenida será nuevamente será centrifugada y ahora será traspasada a 5L de vino que ha sido ajustado el pH a 3,6. Con esta última inoculación se espera que las cepas se ambienten a las condiciones adversas del vino. Luego de 2 días se tomará una muestra de este vino inoculado y se observará al microscopio con el fin de ver si las bacterias se están reproduciendo. Se realizará una comparación estimativa entre un mismo volumen tomado inicialmente cuando ha sido inoculado el vino y posterior a los dos días de incubación. Posteriormente, este inóculo que se espera contar con una población de aproximadamente $1x10^6$-$1x10^7$ células/mL será agregado a las barricas con vino para realizar la FML. De esta manera se dejará reposar a 20°C aproximadamente en la sala de barricas y la FML será seguida mediante la desaparición del ácido málico del vino (cromatografía en papel (Bordeu y Scarpa, 1998), así como con el recuento de bacterias lácticas (Landete et al., 2005). Los ensayos serán realizados en duplicado.

Los vinos obtenidos serán filtrados y embotellados. A cada uno de ellos se le realizará los análisis fisicoquímicos generales (acidez volátil, acidez total, pH, azúcares reductores, grado alcohólico, concentración final de ácido málico, etc.) (Bordeu y Scarpa, 1998) y se cuantificará la presencia de aminas biogénicas y etilcarbamato, con el fin de confirmar que sus concentraciones no se han visto modificadas por el uso de estas cepas de bacterias. Como vinos controles se contará con un vino que realizará la FML espontánea y otro que será inoculado con una cepa comercial. Estos vinos se llevaran a cata.

Con el fin de definir que las cepas de *O.oeni* que fueron inoculados los vinos fueron las que predominaron en el proceso de FML, en aquellas placas obtenidas al final de este proceso se aislará un 20% de los microorganismos obtenidos y se analizaran con el fin de determinar la especie a la cual pertenece (mediante la técnicas de PCR) y aquellas que pertenezcan a la especie *O. oeni* (se espera una población sobre el 80% del total) se analizará mediante la técnica de RAPD (Zavaleta et al., 1997; Zapparoli et al., 2000). El patrón así obtenido será comparado con el obtenido del inoculo incial, de manera de ver si las cepas iniciales fueron las que se impusieron en la FML, siendo por ende las responsables de las propiedades entregadas al vino.

Objetivo Nº 2	Desarrollar un cepario comercial de levaduras y bacterias lácticas autóctonas con fines comerciales

Método

Aislados y caracterizados fisiología y molecularmente los microorganismos aislados, estos en una primera instancia serán mantenidos en tubos con agar extendido a 4ºC para su estudio. Posteriormente estos serán mantenidos a -86ºC en medio con glicerina. Para esto será necesario ensayar en una primera parte mezclas de crioprotectores de tal manera que aseguren la viabilidad de los microorganismos por largos periodos de congelación.

Las características de estos microorganismos serán mantenidas en planillas Excel (u otro programa computacional aun no definido) de tal manera de tener cada aislado ubicado correctamente en el congelador, así como las características del mismo (tipo de microorganismo, nombre de la especie, origen de colecta, factor killer + o -; propiedades enológicos (producción de alcohol, azúcar residual, acido málico en el medio, etc.)

Objetivo Nº 3	Incorporación de tecnologías de última generación en investigación científica para el desarrollo de la investigación privada.

Método

Identificación molecular de los microorganismos

a. Identificación de géneros de levaduras y bacterias lácticas

Una vez crecidos los microorganismos en los medios anteriormente mencionados, se procederá a resembrar cada muestra en estrías con el fin de aislar en condiciones puras y de esa manera guardarlos en tubos de agar inclinado en medio YPD para levaduras y medio MRS para bacterias lácticas, para su identificación molecular.

En el caso de las levaduras se utilizará la metodología descrita por Esteve-Zarzozo et al. (1998). Esta se basa en la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los espaciadores que están presentes en el gen que codifica el RNA ribosomal 18S, 5.8S y 28S. Se ha observado que los amplificados de cepas de una misma especie y de especies del mismo género tienen tamaños moleculares similares o muy próximos. Más aún se ha demostrado que es posible diferenciar miembros de un mismo género mediante el uso de enzimas de restricción que actúen sobre estos productos de PCR, este es el caso específico del género *Saccharomyces*. La aplicación de esta novedosa técnica en el trabajo entregara resultados en menor tiempo que lo hacen las técnicas tradicionales y con resultados más claros y definitorios. Es así como con el uso de esta técnica permitirá conocer los tipo de especies de *Saccharomyces* que están presentes en los mosto ya sean del tipo *S. bayanus*, *S. cerevisiae* o *S. pastorianus*.

En el caso de bacterias lácticas con el fin de realizar una primera diferenciación, los aislados obtenidos se someterán a tinción de Gram y definición de la actividad catalasa. Posteriormente se identificará la capacidad hetofermentativa o homofermentativa al metabolizar glucosa. De esta manera dividiremos en dos grandes grupos los microorganismos aislados los heterofermentativo y homofermentativos. La especie *O. oeni* posee forma de coco y es heterofermentativa (Suarez-Lepe e Iñigo, 2004). Posteriormente, para confirmar los aislados perteneceientes a la especie *O. oeni*, se aplicara la técnica descrita por Zapparoli et al. (1998). Por ello, cada aislado será crecido en medio MRS durante 5 días a 25°C. Posteriormente, el DNA de los aislados serán obtenidos usando el protocolo de extracción de DNA genómico de bacterias de Promega para luego amplificar el gen que codifica la enzima malato descarboxilasa, el cual debe entregar un amplificado de 1025 pb.

b. Identificación a nivel de cepas de S. cerevisisae y O. oeni.

Uno de los mayores problemas que se encuentra el investigador cuando se plantea la selección de levaduras es cómo diferenciar la levadura que él ha seleccionado con las otras cepas de la misma especie presente en el mosto. Querol et al. (1992) desarrollaron una técnica rápida para solucionar este problema. Ellos pudieron diferenciar sin problemas la levadura seleccionada por ellos en una vinificación a nivel industrial pudiendo demostrar la imposición de ésta frente a las otras cepas de la misma especie.

Levaduras: Basados en esta información y con el uso de esta técnica se podrá seguir la(s) cepa(s) de *S. cerevisiae* que se aíslen y la(s) que se inoculará en los ensayos. Esta técnica consiste en la caracterización del patrón de restricción del DNA mitocondrial. Para esto solo es necesario crecer las levaduras y realizar una extracción de su DNA total, luego mediante enzimas de restricción se podra caracterizar el patrón del mtDNA de cada cepa presente.

Junto con el análisis del DNA mitocondrial existe un segundo método de identificación de cepas, este método corresponde al análisis de cariotipos de las levaduras. La técnica de electroforesis en campo

pulsante permite visualizar los cromosomas de las levaduras y así identificar las diferentes cepas de *S. cerevisiae* o *S. bayanus* que estén presentes en el proceso fermentativo. Esta última técnica es utilizada a nivel industrial para certificar el origen de las cepas de levaduras.

Oenococcus oeni: Para diferenciación a nivel cepa se han empleado técnicas moleculares que son sensibles contra las pequeñas diferencias genotípicas de los aislados. Entre las técnicas que han dado buenos resultados para la diferenciación entre cepas, se utiliza el amplificado al azar del DNA polimórfico -PCR (RAPD-PCR, Randomly Amplified Polymorphic DNA) (Zavaleta et al.1997; Zapparoli et al. 2000), técnica que será utilizada en este trabajo.
Con el fin de determinar que las cepas de *O. oeni* no cuentan con la capacidad de producir histamina, se llevara a cabo la técnica de descrita por Landete et al. (2005), quienes modificaron y mejoraron a partir de la técnica de Le Jeune et al. (1995). Esta consiste en la amplificación del gen que codifica la enzima histidina descarboxilasa, responsable de descarboxilar la histidina, presente en el moto y producir la histamina. Mediante el alineamiento de la secuencia aminoacidica y nucleotidica de la enzima histidina descaboxilasa de Lactobacillus 30a y *Clostridium perfringens* y la secuencia de aminoácido de *Lactobacillus buchneri* and *Micrococus sp.* se diseñaron partidores degenerados para el gen *hdc*, En el caso de *O. oeni* el fragmento amplificado tiene un tamaño de 458 bp.

Objetivo Nº 4	Producir a nivel piloto cultivos frescos y evaluar la factibilidad técnica de la producción en seco de las cepas de levaduras y bacterias lácticas seleccionadas con las cualidades enológicas y tecnológicas deseadas por cada empresa.

Método

Para realizar el cultivo de microorganismo para la producción de biomasa, se preferirá la modalidad de Cultivo Fed Batch, en que el microorganismo crezca en condiciones favorables evitando los fenómenos de represión por sustrato y la producción de metabolitos no determinantes para la producción de biomasa.

Experimentalmente se medirán los parámetros cinéticos de cada microorganismo relacionados con el incremento en la producción de biomasa y el consumo de sustrato, estas experiencias se realizarán inicialmente en cultivos por lotes en matraces. Se utilizarán medios ricos en nutrientes para que los microorganismos crezcan adecuadamente (medio YM (yeast medium) para levaduras y medio LB (Luria Bertani) para bacterias), los que serán suplementados con complejos vitamínicos (medio YNB (yeast nitrogen base). Los crecimientos se realizarán en matraces dentro de un shaker con agitación y con temperatura controlada. Los medios utilizados serán la base de los medios de cultivos a mayor escala, para lo que se buscarán alternativas económicas de cultivo.

La biomasa será medida por espectrofotometría a 600 o 640 nm, siempre y cuando el medio de cultivo no ofrezca mucha interferencia a la medición y la curva de calibración que permita corroborar los valores. A partir de éstos perfiles se pueden obtener las velocidades específicas del microorganismo

Medición de la concentración de sustrato
El sustrato es un factor determinante para el crecimiento del microorganismo y económicamente importante. Por lo cual su medición es fundamental, cuando se esté trabajando con el medio definitivo, esto permitirá obtener valores de cuanta biomasa se puede obtener por cantidad de sustrato. se evaluará el rendimiento global y el rendimiento en crecimiento.

Determinación y selección del mejor medio de cultivo

Para determinar el mejor medio de cultivo se requerirá en la etapa de caracterización de los microorganismos conocer su origen, sus requerimientos y composición.

En cuanto a bacterias lácticas existen diversas formas de cultivar y distintas alternativas de fuentes de carbono y energía que se pueden emplear para éste fin. Para el caso de las levaduras, existen opciones estándares que serán exploradas (lactosa, glucosa, melasa, licor de maiz u otro) se revisará la adición de factores (biotina, piridoxina, pantoteonato y tiamina).

Para seleccionar el mejor medio de cultivo, se realizará un screening con las diversas posibilidades de ingredientes y se medirán los parámetros cinéticos del microorganismo cultivados en matraces. El análisis de los resultados obtenidos permitirá determinar los medios más favorables para el cultivo del microorganismo, el cual se empleará en el escalamiento en el biorreactor en donde las condiciones de agitación son más adecuadas que en el matraz y se pueden realizar mejores modalidades de cultivo.

Cultivos en biorreactor
Para la producción de biomasa se utilizará la modalidad de cultivo Feed Batch, partiendo con pruebas en un período de Batch, con el objetivo de generar la biomasa suficiente para comenzar el cultivo.

Cultivo por lote (batch)
Se realizará el modelamiento de la biomasa y la obtención del rendimiento del sustrato. Es importante determinar estos parámetros en las nuevas condiciones de fermentación, para que las estimaciones de cultivos a nivel de biorreactor sean precisas.

Cultivo por lote alimentado (fed batch)
Conociendo el funcionamiento de la etapa de lotes, es posible estimar la forma de alimentar el sustrato dentro del biorreactor, con el fin de generar un cultivo en el cual el microorganismo se encuentre creciendo a una velocidad apropiada durante la etapa de alimentación. Para ello se definirá una velocidad de alimentación adecuada para el propósito.

Objetivo Nº 5	Estudiar el posicionamiento comercial y tecnológico de los resultados obtenidos.

Método

Durante la ejecución del proyecto se realizará una exhaustiva revisión de los costos de producción de los inóculos de bacterias y levaduras, tanto en su forma fresca como seca. Se realizarán planillas que relacionen la producción estimada con los datos experimentales obtenidos del desarrollo de las experiencias. Ello permitirá orientar el desarrollo técnico de los inóculos con valores dentro de los márgenes de los costos de producción admitidos, para asegurar de esta forma un costo de producción factible a las opciones de mercado.

Una vez realizado el estudio de costos, se realizará el estudio de factibilidad técnico-económica para la producción de los inóculos, que considerará todas las variables técnicas, obtenidas por la ejecución del proyecto y de mercado, obtenidas desde información primaria y secundaria por Vinotec Chile y que son necesarias para la materialización del proyecto.

Objetivo Nº 6	Difundir mediante seminarios, medios web, publicaciones y congresos los resultados del proyecto.

Método

Al inicio del proyecto, se definirá una estrategia de promoción y publicidad del mismo, que estará orientada a destacar los beneficios del uso de cepas de levaduras y bacterias autóctonas para la elaboración de vinos. Para lo cual se realizarán durante la ejecución del proyecto las siguientes actividades:

- Difusión constante a través de página web, sobre los beneficios del uso de las cepas de levadura y bacterias autóctonas.
- Elaboración de Newsletter, como informativo a las potenciales empresas productoras de vino.
- Seminario de Clausura del proyecto
  - Asistencia a congresos
  - Charlas por industrias (alimentaria y vitivinícola).

Objetivo Nº 7	Introducir en el mercado el servicio de aislamiento de cepas o venta de éstas a las viñas.

Método

Luego de desarrollar los productos en su etapa piloto, Vinotec Chile realizará reuniones con viñas de la zona para la dar a conocer sus servicios y materializar la venta de los mismos. Vinotec ofrecerá dos tipos de servicios exclusivos; por una parte ofrecerá el servicio de aislación y expansión de levaduras autóctonas específicas por bodega, especialmente en aquellas bodegas orgánicas en que se le atribuye a la fermentación espontánea de las levaduras la obtención de vinos diferenciados con tipicidad y terroirs únicos. En este servicio la bodega será la dueña de su cepa y Vinotec entregará el servicio de aislación, preservación y reproducción de su cepa por al menos dos temporadas.
El segundo servicio es la venta de inóculos frescos (de propiedad de Vinotec) de bacterias lácticas y levaduras aisladas y seleccionadas por valle.

La estrategia que se utilizará será el marketing directo enfocado en un primer lugar al segmento de grandes Viñas y en un segundo segmento a Viñas orgánicas que buscan la diferenciación a través del terroir.

13. Carta Gantt (Trimestral)

Nº OE	Nº RE	Actividad/Hito Crítico	AÑO 1				AÑO 2				AÑO 3			
			TRIMESTRE				TRIMESTRE				TRIMESTRE			
			1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1, 2	1, 7	**Actividad 1: Validación de datos USACH**												
		Acuerdo con Universidad para uso de cepas.												
		Traspaso de cepas a Vinotec												
		S.cerevisiae												
		Crecimiento de los microorganismos en medio YPD												
		Caracterización fisiológica (resistencia a SO_2, factor killer, etc.)												
		Caracterización en mosto sintético (cinética de fermentación, análisis físico químico, etc)												
		Cepa S. cerevisiae seleccionada USACH												
		O.oeni												
		Crecimiento de los microorganismos en medio MRS												
		Caracterización fisiológica (resistencia a alcohol y crecimiento en diferentes pH)												
		Confirmación de cepa autóctonas												
		Caracterización en mosto sintético (cinética de fermentación y degradación de ácido málico)												
		Cepa O. oeni seleccionada USACH												
1, 2	2, 3, 7	**Actividad 2: Aislamiento de levaduras y bacterias lácticas mediante muestreos**												
		año1												
		Toma de muestras y diluciones/plaqueo												
		Crecimiento de los microorganismos (levaduras en YPD; bacterias en MRS, MRS modificado)												
		Resiembra de los microorganismos para su aislamiento												
		Microorganismos aislados												

		año2														
		Toma de muestras y diluciones/plaqueo														
		Crecimiento de los microorganismos (levaduras en YPD; bacterias en MRS, MRS modificado)														
		Resiembra de los microorganismos para su aislamiento														
		Microorganismos aislados														
1, 2, 3	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	**Actividad 3: Identificación molecular de los microorganismos**														
		Levaduras														
		Crecimiento de los microorganismos en medio YPD y L-lysina														
		Crecimiento de los microorganismos en medio YPD liquido														
		Extracción del DNA														
		Amplificación de la zona ITS														
		Digestión con enzimas de restricción														
		Identificación de la especie de levadura														
		Bacterias lácticas														
		Observación morfológicas de las colonias obtenidas en medio sólido														
		Seleccionar aquellos microorganismos posibles de ser O. oeni														
		Crecimiento en medio líquido MRS en condiciones anaeróbicas														
		Extracción del DNA														
		Amplificación del gen de la malolato descaboxilasa														

		Identificación de las colonias que corresponden a O. oeni														
		Mantención y preservación de los microorganismos														
		Glicerinado de los microorganismos														
		Microorganismos preservados														
		Identificación de cepas														
		S. cerevisiae														
		Crecimiento de levaduras en medio YPD														
		Extracción del DNA														
		Digestión del DNA con enzima de restricción														
		Cepas de S.cerevisiae diferenciadas														
		O. oeni														
		Crecimiento de las colonias de O oeni en medio de cultivo liquido de MRS														
		Extracción de DNA														
		Amplificación con partidor														
		Análisis de resultado														
		Cepas de O. oeni diferenciadas														
1, 2, 3	2, 3, 5, 6, 7, 8	**Actividad 4: Selección de los microorganismos**														
		A nivel de laboratorio														
		S. cerevisiae														
		Crecimiento de los microorganismos en medio YPD														
		Caracterización fisiológica (resistencia a SO_2, factor killer, etc.)														
		Inoculación en mosto sintético														
		Crecimiento de los microorganismos														

		Análisis mediante perdida de CO2															
		Análisis de los vinos obtenidos mediante HPLC (azucares reductores, alcohol, acidos organicos, etc.)															
		Cepas seleccionadas para nivel laboratorio 1ª seleccion															
		Cepas seleccionadas para nivel laboratorio 2ª seleccion															
		O. oeni															
		Crecimiento de los microorganismos en medio MRS															
		ensayo de crecimiento en medio de cultivo a distintos pH, concentración de etanol, So2															
		Inoculación en mosto sintético															
		Seguimiento mediante la degradación de ac málico															
		Cepas seleccionadas para nivel laboratorio 1er año															
		Cepas seleccionadas para nivel laboratorio 2º año															
		Definición de la calidad de autóctono de los microorganismos seleccionados															
		Crecimiento de los microorganismos controles (comerciales) tanto S. cerevisisae como O. oeni															
		Extracción del DNA															
		Aplicación de técnica molecular (RAPD)															
		Análisis de datos y aplicación de programa para la dendrograma															
		Crecer los microorganismos seleccionados en este estudio en los medios de cultivos adecuados															
		Aplicación de la técnica molecular															
		Análisis de resultado incorporando en base de datos															
		Dendrograma															
		Definición de la calidad de autóctono 1a seleccion															
		Definición de la calidad de autóctono 2ª selecciona															
		Ensayos de vinificación a nivel piloto															

		S. cerevisiae														
		Crecimiento de los microorganismos seleccionados en YPD														
		Pie de cuba														
		Inoculación en fermentaciones piloto														
		seguimiento mediante la densidad														
		Vino terminado														
		Análisis fisicoquímico de los vinos obtenidos														
		Cata														
		Definición de la predominancia del microorganismo inoculado														
		Definición de los microorganismos que entregaron mejores resultados														
		O. oeni														
		Crecimiento de los microorganismos seleccionados en MRS														
		Adaptación en vino														
		Inoculación en fermentaciones piloto														
		seguimiento mediante la degradación del acido málico														
		Vino terminado														
		Análisis fisicoquímico de los vinos obtenidos														
		Cata														
		Definición de la predominancia del microorganismo inoculado														
		Definición de los microorganismos que entregaron los mejores resultados														
2, 4	7, 10, 11	**Actividad 5: Escalamiento en la producción de Biomasa**														
		Medición de la concentración de sustrato														

		Rendimiento Global														
		Rendimiento en crecimiento														
		Determinación y selección del mejor medio de cultivo														
		Parámetros Definidos														
		Cultivos en biorreactor														
		Procesos posteriores														
		Proceso Diseñado														
2, 4	7, 10, 11	**Actividad 6: Evaluación Tecnico económica**														
		Estudio de costos														
		Factibilidad Técnico-Económica														
		Informe de Factibilidad														
6	13	**Actividad 7: Difusión de resultados**														
		Seminario														
		Página Web														
		Congreso														
		Publicaciones														

Nota:

Corresponde a Hito técnico

14. Función y responsabilidad del ejecutor(es) y asociado(s) en el desarrollo del proyecto

Ejecutor(es) / Asociado(s)	Función y responsabilidad
Ejecutor	Vinotec Chile se encargará de la dirección estratégica del proyecto, coordinar que todas las actividades se desarrollen de forma adecuada. Gestionará los recursos monetarios y físicos.

15. Actividades de Difusión Programadas

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Perfil de los participantes	Medio de Invitación
Meses: 7, 13, 19, 25, 31, 34	Página WEB	Difusión Resultados Proyecto en página web corporativa.	No determinado	Agrónomos, enólogos, empresarios, ingenieros, interesados	Acceso público
Mes 36	CIAC	Seminario clausura de difusión resultados proyecto	30 - 50	Agrónomos, enólogos, empresarios, ingenieros, interesados	Invitación directa (vía mail o correo).
Mes 28	Por determinar	Asistencia a congreso para presentación de póster	200 – 500	Investigadores, Científicos, empresas, estudiantes.	N/A
Meses 9, 21, 33	Revistas especializadas	Publicaciones técnicas	No determinado	Agrónomos, enólogos, empresarios, ingenieros, interesados	N/A

C. Costos y Dedicación

16. Cuadro de costos totales consolidado

COSTOS TOTALES Y ESTRUCTURA DE FINANCIAMIENTO DEL INSTRUMENTO						
Ítems de costos	Subítems	TOTAL	FIA	Contraparte		
				Pecuniario	No pecuniario	Total contraparte

17. Fuentes de financiamiento de contraparte

Agente Participante	Monto en $		Total
	Pecuniario	No Pecuniario	
Vinotec Chile			

18. Aportes de contraparte

Ítem	Sub Ítem	Ejecutor	Total

19. Tiempos de dedicación del equipo técnico*.

Nombre	Rut	Cargo dentro del proyecto	Nº de resultado sobre el que tiene responsabilidad	Nº de Meses de dedicación	Período dd/mm/aa - dd/mm/aa	Horas/Mes
Patricia Roca Jara		Coordinador Proyecto	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13	36	01/06/2012 – 31/05/2015	59
Danilo Segovia Alfaro		Coordinador Alterno Proyecto	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13	36	01/06/2012 – 31/05/2015	15
Kristell Bertaud		Encargada Logística	1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 13	36	01/06/2012 – 31/05/2015	46
Dra. Angélica Ganga, USACH		Asesora	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	36	01/06/2012 – 31/05/2015	9
Bioquímico(a) (por contratar)		Desarrollo técnico	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	36	01/06/2012 – 31/05/2015	180
Prof. Charlie Edwards PhD. U.Washington		Asesor internacional en Bacterias lácticas	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,	3	01/11/2012 – 01/11/2014	2
Lucy Joseph PhD. UC Davis		Asesora internacional en cepario y conservación de cepas	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	3	01/11/2012 – 01/11/2014	3
Dr. Jorge Rojas PhD.		Asesor en PI	12, 13	3	01/11/2012 – 01/11/2014	1
Dr. Reinaldo López, PhD.		Asesor en diseño experimental y análisis estadístico	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11	3	01/11/2012 – 01/11/2014	1
Dr. en Escalamiento Piloto		Asesor en escalamiento de producción de bacterias y levaduras	11	15	01/11/2012 – 01/11/2014	4
Alejandra Vargas		Analista en microbiología	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,	36	01/06/2012 – 31/05/2015	51
Susana Esquerra		Desarrollo de muestreos	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,	26	01/06/2012 – 31/07/2014	26

*Equipo Técnico: Todo el recurso humano definido como parte del equipo de trabajo del proyecto. **No incluye RRHH de servicios de terceros**

20. Flujo de horas de dedicación al proyecto por trimestre del equipo técnico

Recurso Humano	Año 2012			Año 2013				Año 2014				Año 2014	
	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
Patricia Roca Jara	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1	59,1
Danilo Segovia Alfaro	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6
Kristell Bertaud	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6	45,6
Dra. Angélica Ganga, USACH	16,0	10,7	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Bioquímico(a) (por contratar)	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0
Charlie Edwards PhD. U.Washington	0,0	0,0	8,4	0,0	0,0	0,0	8,4	0,0	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0
Lucy Joseph PhD. UC Davis	0,0	0,0	13,5	0,0	0,0	0,0	13,5	0,0	0,0	0,0	11,8	0,0	0,0
Dr. Jorge Rojas PhD.	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0
Dr. Reinaldo López, PhD.	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0
Dr. en Escalamiento Piloto	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	8,0	0,0	2,7	8,0	2,7	0,0	8,0	8,0
Alejandra Vargas	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3
Susana Esquerra	29,8	29,8	29,8	29,8	29,8	29,8	29,8	29,8	29,8	9,2	0,0	0,0	0,0

D. Fichas curriculares

21. Ficha del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre o razón social	Vinotec Chile S. A.			
Giro / Actividad	Productos para la industria Vitivinícola y pisquera			
RUT				
Tipo de entidad (1)	Empresas productivas y/o de procesamiento			
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	**Micro empresa** menos de 2400 UF/ año	**Pequeña** 2.401 a 25.000 UF / año	**Mediana** 25.001 a 100.000 UF / año	**Grande** más de 100.001 UF / año
Exportaciones, año 2011 (US$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región	Metropolitana			
País	Chile			
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web	http://www.vinotec.com			

(1) Tipo de entidad

Empresas productivas y/o de procesamiento
Personas Naturales
Universidades Nacionales
Universidades Extranjeras
Instituciones o entidades Privadas
Instituciones o entidades Públicas
Instituciones o entidades Extranjeras
Institutos de investigación
Organización o Asociación de Productores
Otras (especificar)

22. Ficha representante(s) Legal(es) del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre	Patricia Susana
Apellido paterno	Roca
Apellido materno	Jara
RUT	
Cargo en la organización	Gerente General
Género	Femenino
Etnia (2)(clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional
Firma del representante legal	

23. Ficha del Asociado Nº1. (Repetir esta información por cada asociado)

Nombre o razón social				
Giro / Actividad				
RUT				
Tipo de entidad (1)				
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	**Micro empresa** (menos de 2400 UF/ año)	**Pequeña** (2.401 a 25.000 UF / año)	**Mediana** (25.001 a 100.000 UF / año)	**Grande** (más de 100.001 UF / año)
Exportaciones, año 2010 (US$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región				
País				
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web				

24. Ficha representante(s) Legal(es) de Asociado(s) Nº1. Repetir esta información por cada asociado

Nombre	
Apellido paterno	
Apellido materno	
RUT	
Cargo en la organización	
Género	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	
Firma del representante legal	

25. Fichas de los Coordinadores

Nombres	Patricia Susana	
Apellido paterno	Roca	
Apellido materno	Jara	
RUT		
Profesión	Agrónoma - Enóloga	
Empresa/organización donde trabaja	Vinotec Chile S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Gerente General	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto ($)

Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

Nombres	Danilo Yuri	
Apellido paterno	Segovia	
Apellido materno	Alfaro	
RUT		
Profesión	Ingeniero Civil Químico - Ingeniero Civil en Biotecnología	
Empresa/organización donde trabaja	Vinotec Chile S.A./ Consorcio de Cereales Funcionales S.A. y Granotec Chile S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Gerente Innovación	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto ($)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

26. Ficha Equipo Técnico. Se deberá repetir esta información por cada profesional del equipo técnico

Nombres	Kristell	
Apellido paterno	Bertaud du Chazaud	
Apellido materno		
RUT		
Profesión	Enóloga	
Empresa/organización donde trabaja	Vinotec Chile S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Encargada de Aplicaciones Técnicas y Ensayos	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto ($)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

Nombres	Alejandra Claudia	
Apellido paterno	Vargas	
Apellido materno	Arteaga	
RUT		
Profesión	Técnico superior en microbiología industrial de alimentos	
Empresa/organización donde trabaja	Vinotec Chile S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Responsable laboratorio de microbiología	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto ($)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	

Etnia (2) (clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional
Firma	

Nombres	Susana Andrea	
Apellido paterno	Esquerra	
Apellido materno	Veas	
RUT		
Profesión	Analista Químico	
Empresa/organización donde trabaja	Vinotec Chile S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella		
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto ($)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

27. Cuantificación e identificación de Beneficiarios directos de la iniciativa

Género	**Masculino**		**Femenino**		
Etnia	Pueblo Originario	Sin Clasificar	Pueblo Originario	Sin Clasificar	Subtotal
Agricultor micro-pequeño					
Agricultor mediano-grande					
Subtotal					
Total					

E. Indicadores Solicitados por el Ministerio de Agricultura

28. Indicadores Minagri

*Nivel de ventas, costos y mano de obra deben estar enfocados exclusivamente al alcance del proyecto propuesto.

(2) Etnia

Mapuche
Aimará
Rapa Nui o Pascuense
Atacameña
Quechua
Collas del Norte
Kawashkar o Alacalufe
Yagán
Sin clasificar

(3) Tipo

Productor individual pequeño
Productor individual mediano-grande
Técnico
Profesional
Sin clasificar

FIA
Ministerio de Agricultura

Gobierno de Chile

III. DETALLES ADMINISTRATIVOS

- Los Costos Totales de la Iniciativa serán ($):

Costo total de la Iniciativa		
Aporte FIA		
Aporte Contraparte	**Pecuniario**	
	No Pecuniario	
	Total Contraparte	

Período ejecución	
Fecha inicio:	01/06/2012
Fecha término:	31/05/2015
Duración (meses)	36

- Calendario de Desembolsos

Fecha	Requisito	Observación	Monto ($)
	Firma de Contrato		
13/02/2013	Aprobación Informes Técnico N°1 y Financiero N°1		
13/08/2013	Aprobación Informes Técnico N°2 y Financiero N°2		
12/02/2014	Aprobación Informes Técnico N°3 y Financiero N°3		
13/06/2014	Aprobación Informes Técnico Nº 4 y Financiero Nº4		
02/01/2015	Aprobación Informes Técnico Nº 5 y Financiero Nº5		
31/08/2015	Aprobación Informes Técnico y Financiero N°6 y Técnico y Financiero finales		
Total			

* El Informe Financiero Final debe justificar el gasto de este aporte

FIA
Ministerio de Agricultura

Gobierno de Chile

- Calendario de Entrega de Informes

Informes Técnicos	
Informe Técnico de Avance 1:	10/12/2012
Informe Técnico de Avance 2:	10/06/2013
Informe Técnico de Avance 3:	09/12/2013
Informe Técnico de Avance 4:	08/04/2014
Informe Técnico de Avance 5	08/10/2014
Informe Técnico de Avance 6:	09/02/2015

Informes Financieros	
Informe Financiero de Avance 1:	10/12/2012
Informe Financiero de Avance 2:	10/06/2013
Informe Financiero de Avance 3:	09/12/2013
Informe Financiero de Avance 4:	08/04/2014
Informe Financiero de Avance 5:	08/10/2014
Informe Financiero de Avance 6:	09/02/2015

INFORME TECNICO FINAL:	08/06/2015
INFORME FINANCIERO FINAL:	08/06/2015

CONFORME CON PLAN OPERATIVO

EJECUTOR O COORDINADOR PRINCIPAL