



UNIVERSIDAD DE MURCIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

UTILIZACIÓN DE TANINOS
ENOLÓGICOS Y VIRUTAS DE ROBLE
PARA MEJORAR Y ESTABILIZAR EL
COLOR DE LOS VINOS TINTOS

TRABAJO FIN DE CARRERA
PEDRO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

2006



UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPTO. DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS,
NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

Facultad de Veterinaria

Dra. D^a ENCARNA GÓMEZ PLAZA, Profesora Titular del Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Murcia, y el **Dr. D. LUIS JAVIER PÉREZ PRIETO**, Enólogo de la Bodega Nuestra Señora del Rosario

HACEN CONSTAR,

Que el Trabajo Fin de Carrera titulado “Utilización de taninos enológicos y virtudes de roble para mejorar y estabilizar el color de los vinos tintos”, que presenta D. Pedro Rodríguez Rodríguez, ha sido realizado bajo nuestra dirección en los laboratorios y Planta Piloto del Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología y en las instalaciones de la Bodega Nuestra Señora del Rosario

Murcia, 22 de Junio de 2006

Fdo. Encarna Gómez Plaza

Fdo. Luis Javier Pérez Prieto

AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar, me gustaría agradecer la inestimable ayuda del Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, y más concretamente, a la doctora Encarnación Gómez Plaza a la cabeza del mismo, sin cuya dirección este proyecto no habría sido posible, gracias por contribuir a hacerlo realidad, gracias por la paciencia, gracias por el gran interés y dedicación.

También quisiera agradecer al catedrático del departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología, don José María López Roca su contribución a iniciarme en este apasionado mundo, transmitiéndome parte de sus conocimientos y haciendo muy entretenidas las horas de aprendizaje. Especialmente quisiera darle ánimos a seguir adelante en esta labor, a pesar de pequeños baches en el camino, para iniciar e incentivar a otros como yo en este largo camino.

De la misma forma, la elaboración de este proyecto de investigación no hubiera podido llevarse a cabo sin la colaboración de la empresa “Cooperativa Agrovinícola Nuestra Señora del Rosario” de Bullas por la cesión de vino e instalaciones. En especial me gustaría agradecer al Enólogo de Nuestra Señora del Rosario, el doctor don Luis Javier Pérez Prieto, por su colaboración y gran disposición al desarrollo de este proyecto. También me gustaría felicitarlo por los recientes acontecimientos, que hagan que siga creciendo como la gran persona que es.

A todos mis compañeros y colaboradores del laboratorio: Anita, Belén, Marta, Inma, Alfonso, Shere, Antonio... Por haberme dedicado gustosamente su tiempo y ayudado cuando lo necesitaba y por haberme soportado durante este tiempo contribuyendo a crear un gran ambiente de compañerismo y trabajo.

A mis amigos del pueblo, en especial a Cristóbal por ser una persona a la cual admiro y respeto con la que he pasado unos momentos inolvidables y espero seguir haciéndolo por muchos años.

A mis compañeros y amigos de carrera por haber contribuido a que estos años pasen sin apenas darme cuenta, a Juanjo, Antonio, César, David, Leo, Pedro Antonio, Alberto, Domingo, Sando, Eva, Adela, Asu, Isica y otros muchos que hacen interminable la lista y que no les olvido. Pero especialmente, querría agradecer a Borja por haberme permitido pasar dos intensivos años que han hecho surgir una amistad difícilmente rompible. Gracias por todo.

Por último, aunque no menos importante, me gustaría dedicar este trabajo a las personas que más aprecio: a mis padres: Domingo y Francisca y a mis hermanos: María y Francisco, gracias por vuestro apoyo y esfuerzo incondicional, sin el cual no habría podido emprender este largo y fructuoso camino. A toda mi familia, especialmente a mi abuela María, por ser un icono de la lucha, sacrificio y entrega por los suyos.

A todos vosotros os lo agradezco y os llevo dentro.

INDICE

1. OBJETIVO.	7
2. INTRODUCCIÓN.	10
2.1. Compuestos fenólicos: Definición y tipos	11
2.1.1. Antocianos y taninos: Propiedades.	27
2.1.1.1. Equilibrio de los antocianos.	27
2.1.1.2. Formación de compuestos derivados de los antocianos.	30
2.1.1.3. Degradación de los antocianos.	32
2.1.1.4. Hidrólisis y oxidación de los taninos.	33
2.1.1.5. Reacción de los taninos con las proteínas y polisacáridos.	34
2.1.1.6. Polimerización de los taninos.	36
2.1.1.7. Condensación de antocianos y taninos.	38
2.2. Antocianos y taninos en la uva.	45
2.2.1. Descripción del racimo de uva.	45
2.2.2. Localización de antocianos y taninos.	50
2.3. Taninos enológicos: Influencia en el color del vino.	53
2.3.1. Clasificación de los taninos enológicos.	53
2.3.1.1. Taninos condensados o procianidinas.	54
2.3.1.2. Taninos hidrolizables.	54
2.3.2. Propiedades de los taninos enológicos.	55
2.3.2.1. Efecto de los taninos enológicos sobre el color del vino.	55
2.3.2.2. Efecto sobre el cuerpo y la estructura del vino.	56
2.3.2.3. Efecto de los taninos sobre los olores a reducción.	56
2.3.2.4. Actividad antioxidante de los taninos enológicos.	57
2.3.2.5. Efecto quelante de los taninos enológicos.	57
2.4. Origen y clases de roble.	58
2.4.1. Composición Química de la Madera de Roble.	60
2.4.1.1. Compuestos mayoritarios.	60
2.4.1.2. Compuestos minoritarios.	60
2.4.2. Tostado de la madera.	62
2.5. Virutas de Roble.	64
2.5.1. Formatos y propiedades.	65
2.5.2. Fabricación de la viruta.	67

3. MATERIALES Y MÉTODOS.	71
3.1. Vinificación en tinto.	72
3.1.1. Elaboración de vino tinto.	72
3.1.2. Descripción de la experiencia realizada.	78
3.2. Análisis general.	86
3.2.1. Densidad, temperatura, grado Baumé.	86
3.2.2. Acidez total.	87
3.2.3. pH.	87
3.2.4. Determinación de ácido málico, ácido tartárico y láctico mediante cromatografía en papel.	88
3.2.5. Determinación de ácido málico mediante test enzimático.	89
3.3. Determinaciones espectrofotométricas.	89
3.3.1. Índice de polifenoles totales.	89
3.3.2. Antocianos totales.	90
3.3.3. Intensidad de color.	90
3.3.4. Taninos Totales.	91
3.4. Cromatografía líquida de alta presión .	93
3.4.1. Determinación de elagitaninos.	93
3.5. Análisis sensorial.	94
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	97
4.1. Evolución del color en vinos tintos.	98
4.1.1. Medidas espectrofotométricas.	98
4.1.1.1. Análisis del tono.	98
4.1.1.2. Intensidad de color.	101
4.1.1.3. Antocianos totales libres.	105
4.1.1.4. Índice de polifenoles totales (IPT).	106
4.1.1.5. Taninos Totales.	108
4.1.1.6. Determinación de elagitaninos.	110
4.2. Análisis sensorial.	113
4.2.1. Análisis Descriptivo.	113
4.2.2. Pruebas Triangulares.	116
5. CONCLUSIÓN.	119
6. BIBLIOGRAFÍA.	122
7. ANEXO.	132

1. OBJETIVO.

1.1. OBJETIVO.

El vino es la bebida alcohólica que se obtiene del zumo de la uva exprimido y fermentado. Entre las características que definen la calidad del vino, el color constituye un factor determinante. Depende del viñedo, de los procesos de elaboración y de la edad del vino. A través del mismo recibimos información del estado de un vino, la zona de procedencia, la variedad de la uva, de su cuerpo, de su edad y de su evolución en el tiempo.

La Región de Murcia reúne excelentes condiciones climáticas, edafológicas y humanas para el cultivo de la vid y para la elaboración de vinos de calidad. La variedad de suelos y de climas permite la producción de una amplia oferta de vinos tintos, rosados y blancos. Las zonas destinadas al viñedo se encuentran básicamente en los ámbitos de las tres denominaciones de origen de la Región: Bullas, Yecla y Jumilla.



figura 1.: Localización de las D.O. y vinos de la Tierra de la Región de Murcia.

Los vinos de la Región poseen las características derivadas de la cepa Monastrell, variedad tinta de racimos pequeños y apretados, que se adapta perfectamente a las condiciones medio-ambientales y de ella se obtiene vinos con mucho color y cuerpo en una gama muy amplia de vinos de calidad, a veces en coupage con las variedades tintas complementarias: Garnacha tintorera, Sensible, Cabernet-Sauvignon, Garnacha, Merlot y Syrah.

La pigmentación de las uvas y por consiguiente la de los mostos y vinos obtenidos de ellas es debida a los pigmentos antociánicos. No siempre hay una relación entre la cantidad de antociano en un tejido y la intensidad de color final que proporciona, puesto que existe la posibilidad de asociaciones entre moléculas de antocianos y fenómenos de copigmentación; polimerizaciones entre antocianos y otras moléculas, especialmente taninos, de manera que el color final de un vino puede verse influenciado de forma importante por los fenómenos de copigmentación en los que tiene lugar interacciones moleculares, que protegen parcialmente al heterociclo antociánico de las moléculas de agua, reduciendo así la formación de las formas incoloras de los antocianos.

Los vinos jóvenes de Monastrell muestran normalmente un alto contenido en antocianos y una alta intensidad de color. Pero este color muestra generalmente una cierta inestabilidad por una escasez de moléculas que ayuden a la estabilización de estos compuestos.

El objetivo de este proyecto es estudiar la influencia que ejerce la adición de taninos en forma de taninos enológicos y virutas de roble en la estabilización del color de los vinos y en el nivel cromático final que alcanzan los mismos así como comprobar cual presenta mayor eficacia en esta labor. También se comprobará el efecto de la viruta en cuanto al aporte de características de ligera crianza, es decir, el aporte aromas y sabores característicos de la madera.

2. INTRODUCCIÓN.

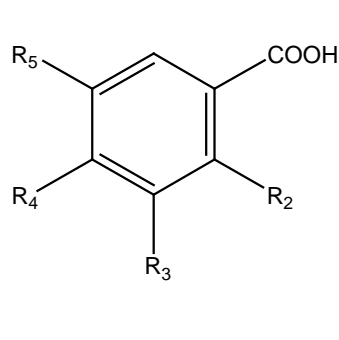
2.1. COMPUESTOS FENÓLICOS: DEFINICIÓN Y TIPOS.

Los compuestos fenólicos se caracterizan por tener un núcleo bencénico con uno o varios grupos hidroxilo, pudiendo clasificarse en compuestos no flavonoide (ácidos fenoles y sus derivados) y compuestos flavonoides (flavonoides propiamente dichos, antocianos y taninos, todos ellos de 15 átomos de carbono con una estructura: C6-C3-C6).

En general, los compuestos no flavonoides se localizan en todas las partes del racimo, especialmente en la pulpa, mientras que los flavonoides se encuentran en las pepitas, hollejos y raspones.

Ácidos fenólicos y sus derivados

Los ácidos fenólicos se dividen en dos grupos: los *ácidos benzoicos* de estructura C6-C1, y los *ácidos cinámicos* de estructura C6-C3. Estos ácidos se pueden encontrar en el vino en forma libre, procediendo de la hidrólisis de otros polifenoles, especialmente de los antocianos, que se degradan en presencia de oxígeno y calor, lo que supone un mecanismo de la destrucción del color; o bien pueden encontrarse en forma combinada, parcialmente esterificados especialmente con el ácido tartárico o ácidos hidroxicinámicos. (figura 2.1.1) (figura 2.1.2)



ÁCIDOS BENZOICOS	R2	R3	R4	R5
Ácido p-hidroxibenzoico	H	H	OH	H
Ácido protocatéquico	H	OH	OH	H
Ácido vanílico	H	OCH ₃	OH	H
Ácido gálico	H	OH	OH	H
Ácido siríngico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Ácido salicílico	OH	H	H	H
Ácido gentísico	OH	H	H	OH

figura 2.1.1. a) Ácidos Benzoicos. (Ribereau-Gayon, 1965).

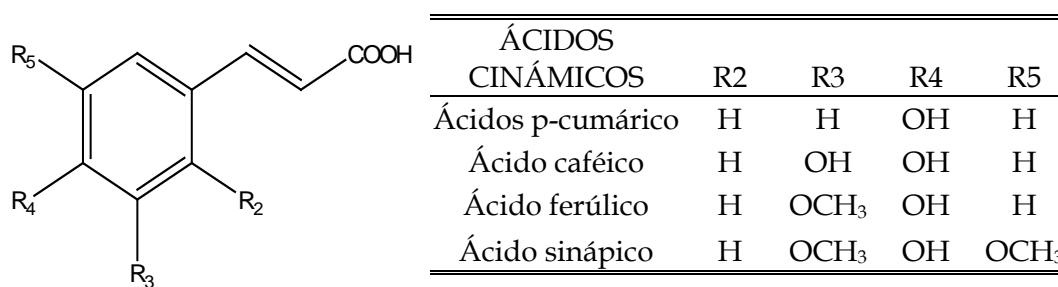


figura 2.1.1. b) Ácidos cinámicos (Ribereau-Gayon, 1965).

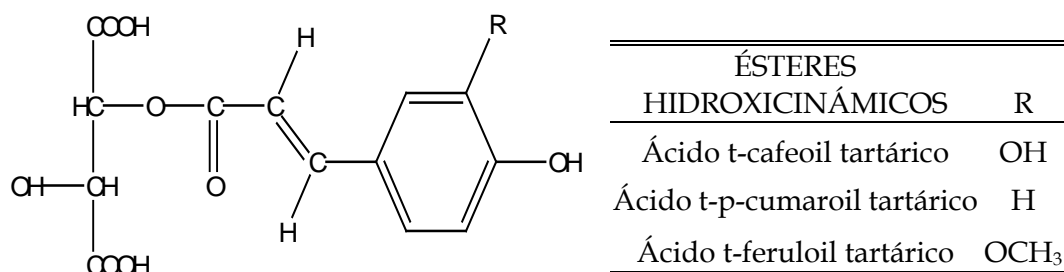


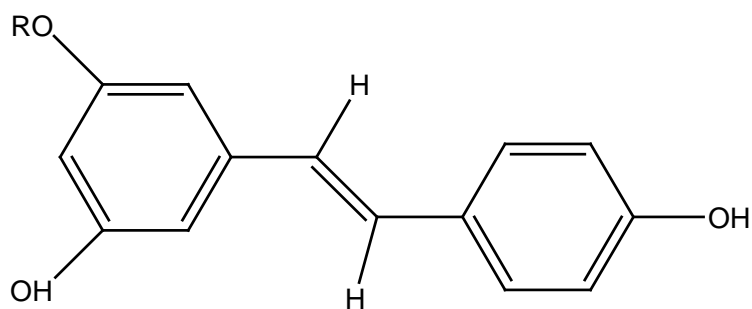
figura 2.1.2. Ésteres hidroxicinámicos de la uva (Cheynier y otros, 1989 a y 1989 b).

Los ácidos fenólicos son incoloros, inodores e insípidos, aunque con el tiempo y la oxidación pueden tornarse de color amarillo, así como también, bajo la acción de algunos microorganismos, pueden transformarse en *fenoles volátiles*, que presentan olores muy característicos y a veces defectuosos, tales como: etil-4-fenol, etil-4-guayacol, vinil-4-fenol, vinil-4-guayacol.

Otros compuestos fenólicos contenidos en la vendimia son los estilbenos (figura 2.1.3), entre los que destaca el resveratrol o 3,5,4'-trihidroxi-estilbeno, que se encuentra en el hollejo de la uva o en las pepitas, el cual es producido por la vid en respuesta a un ataque fúngico (Langcake, 1981).

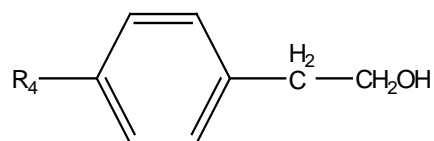
Durante fermentación alcohólica también se pueden formar otros compuestos fenólicos, como el *tirosol* procedente de la tirosina, conservándose

durante la crianza, y acompañado de otros alcoholes no fenólicos como: triptofol y alcohol fenil-etílico (figura 2.1.4.).

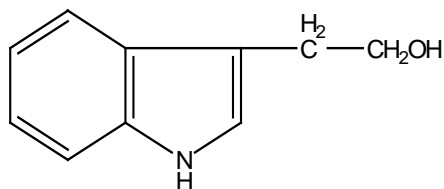


R= H o R= Glucosa

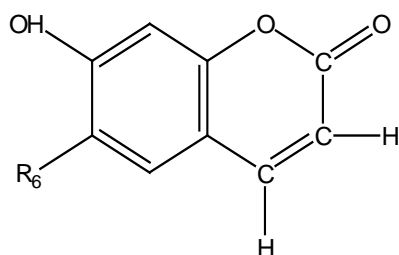
figura 2.1.3. Estilbeno de la uva.



R4: H, alcohol fenil-etílico
R4: OH, alcohol p-hidroxi-fenil- etílico (tirosol)



Triptofol



Cumarinas:
Agliconas

Heterósidos:

R6: OH, aesculetina
R6: OCH3, escopoletina

aesculina
ecopolina

figura 2.1.4. Alcoholes y cumarinas (Ribéreau-Gayon, 1965).

Por último, procedentes de la madera durante la crianza, pueden aparecer en los vinos otras sustancias fenólicas como las *cumarinas*, derivadas de los ácidos cinámicos del roble, y agrupadas de la siguiente forma:

- Forma glicosilada: aesculina madera verde, sabor amargo.
 escopolina
- Forma aglicona: aesculetina madera secada natural, sabor ácido.
 escopoletina

Durante el proceso de fabricación de las barricas, la madera sufre un importante calentamiento, pudiendo degradarse la lignina que contiene la madera, formándose otros *fenoles volátiles* aromáticos de aromas complejos ahumados o tostados, tales como: guayacol, metil-guayacol, etil-guayacol, propil-guayacol, alil-guayacol, sirigol, metil-siringol, etc.

Flavonoides

Su molécula se caracteriza por estar formada por dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado. Poseen un esqueleto de base de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil benzopirona (figura 2.1.5).

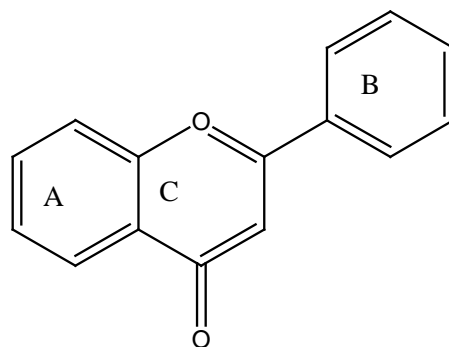


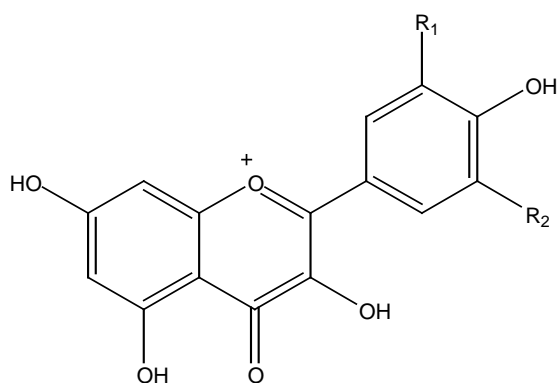
figura 2.1.5 Fenil benzopirona

Esta gran familia se divide en varias subclases que se distinguen por el grado de oxidación de su núcleo pirano.

Los flavonoides, en sentido estricto, basados en la estructura fenil-2-benzopirona, están principalmente representados en la uva por los flavonoles, mientras que los flavonoides en sentido amplio comprenden igualmente los antocianos y los flavan-3-oles (3-flavanoles). Se encuentran también en la uva otros grupos de menos importancia, como los dihidroflavonoles, y, en las hojas, las flavonas.

Flavonoles

Se caracterizan por una unión inestable entre C2 y C3, y un enlace doble con un oxígeno en C4. Pueden existir en uvas, como agliconas, pero más comúnmente tienen un grupo azúcar unido en C3. Los flavonoles más comunes en uvas son quercetina y kempferol, mientras que los glicósidos más comunes son los glucósidos, galactósidos y glucurónidos (Price et al. 1995a). Los flavonoles se encuentran mayoritariamente en la piel y raspón, aunque también en hojas, y se forman en respuesta a la exposición de radiación UV en la luz solar (Price et al. 1995a). Se extraen fácilmente en el vino, pero son insolubles en agua y algunos alcoholes han de estar presentes en la extracción. Son amargos, copigmentos muy fuertes, tienen un bajo potencial redox y pueden intervenir en las reacciones de polimerización de fenoles (Price et al. 1995b).



Flavonoles	R1	R2
Kaempferol	H	H
Quercitina	OH	H
miricetina	OH	OH

figura 2.1.6 Los flavonoles de la uva

Los flavan 3-oles (3-flavanoles).

Los 3-flavanoles están presentes en la uva en estado de monómeros. Los principales 3-flavanoles de la uva son la (+)-catequina y su isómero y la (-)-epicatequina, pudiendo ser encontrado este último en forma de éster gálico (3-galato de epicatequina). La galocatequina (Piretti et al., 1976), el 3-galato de catequina y el 3-galato de galocatequina (Lee y Jaworski, 1990) han sido igualmente puestos de manifiesto, pero parecen específicos de ciertas variedades del género *Vitis*.

Las estructuras de los flavanoles monómeros de la uva son las representadas en la figura 2.1.7:

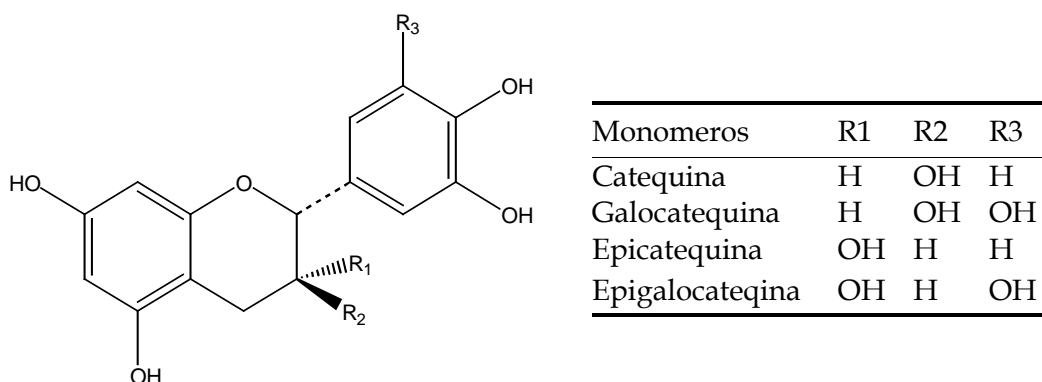


figura 2.1.7 Flavan-3-oles de la uva.

Antocianos

Los antocianos son los pigmentos tintos de la uva, que reciben su nombre del griego «antos» (flor) y «kyanos» (azul), estando localizados en el hollejo, especialmente dentro de las vacuolas de las 3 ó 4 primeras capas celulares de la hipodermis; así como también en la pulpa en las variedades tintoreras, y por fin en las hojas del viñedo al final de su ciclo vegetativo anual.

Están constituidos por dos anillos bencénicos unidos por medio de un anillo heterocíclico y presentan, según el antociano de que se trate, variantes en

algunos carbonos de los citados anillos bencénicos o del mencionado anillo heterocíclico, que puede ser del tipo pirano o del tipo pirilio.

En dicho grupo pirilio se observa el oxígeno tetravalente con un valencia libre, es decir la forma oxonio iónico, que confiere carácter iónico a la molécula entera del antociano. El grupo constituido por el primer anillo bencénico (A) ligado con el pirilio se llama grupo benzopirílico. El grupo benzopirílico ligado con el segundo anillo bencénico B, se llama conjuntamente flavilio (más exactamente: catión flavilio).

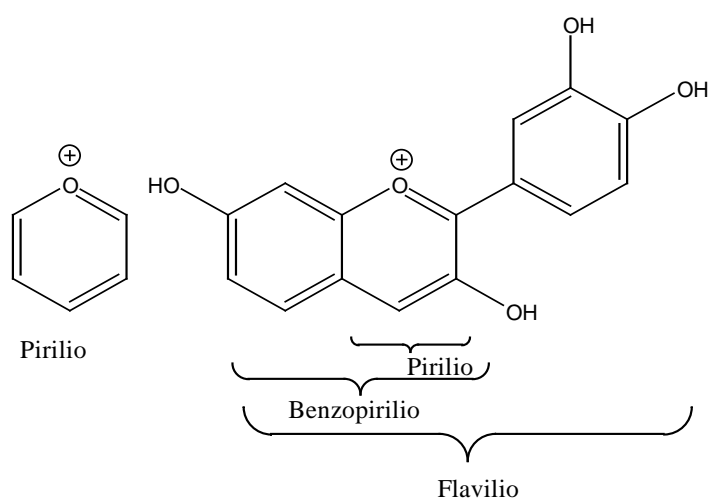


figura 2.1.8 Estructura de los antocianos.

Los antocianos de este esquema pertenecen por tanto al tipo fenil-2-benzopirilio. Forman parte del grupo de los flavonoides reunidos en el subgrupo de los flavanos. No existen normalmente en la naturaleza bajo forma antocianidina (agliconas) (figura 2.1.9), pero si como antocianina, dado que las antocianidinas están siempre esterificadas por una o varias moléculas de azúcar, que les confiere su estabilidad y es este complejo esterificado el que toma el nombre de antocianina, o antociano en el lenguaje común.

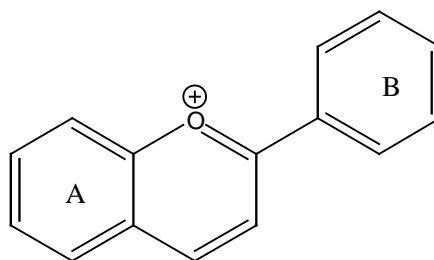
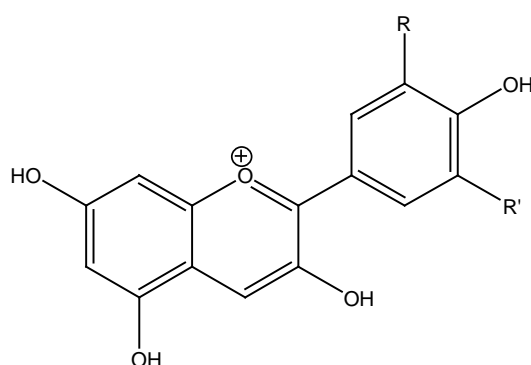


figura 2.1.9 Estructura general de las antocianidinas en forma aglicona

Las antocianidinas presentan característicamente, en varios carbonos, grupos hidroxilo (OH) y a veces también grupos metoxilo (OCH₃) (figura 2.1.10). Del número y de la posición de los citados grupos deriva la existencia de 6 agliconas: cianidina, delphinidina y pelargonidina que presentan solo grupo hidroxilos, malvidina, petunidina y peonidina que presentan también grupos metoxilos.



	R	R'
Pelargonidina	H	H
Peonidina	OCH ₃	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

figura 2.1.10 Estructura de las antocianidinas más comunes.

Se han descrito otras antocianidinas (nunca en uva), que aparecen con menor frecuencia que las anteriores, y entre las que se cuentan las que carecen de hidroxilo en posición 3 o 3-deoxiantocianidinas: apigenina, luteolinidina, tricetinidina y gesneridina, y la hirsutinidina, semejante a la malvidina pero con un grupo metoxilo en la posición 7.

Las antocianidinas surgen en casos excepcionales por hidrólisis del azúcar de las antocianinas (Ribéreau-Gayón y Peynaud, 1971).

En las antocianinas naturales, la posición 3 aparece siempre glicosilada por diferentes azúcares, según señalan Brouillard (1982) y Timberlake y Bridle (1982). Cuando existe un segundo azúcar este suele ocupar la posición 5, aunque se han encontrado antocianinas en las que el segundo azúcar está localizado en posición 7, 3' o 5'.

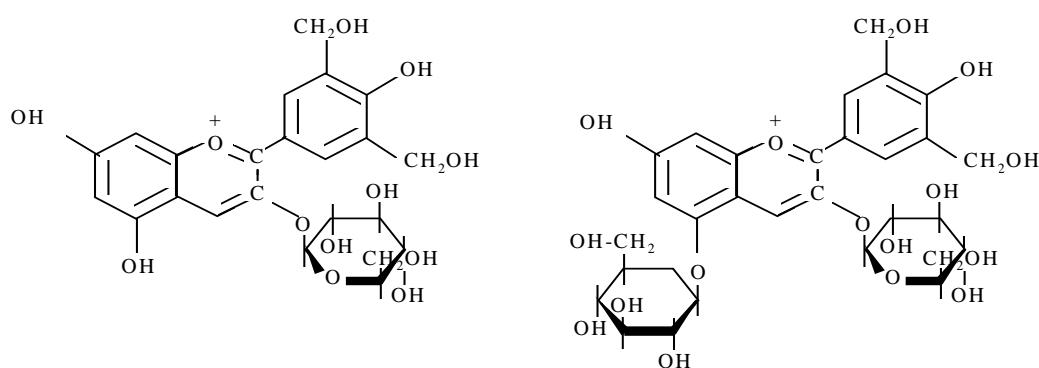


figura 2.1.11 Ejemplo de un monoglucósido y un diglucósido de la malvidina.

Los azúcares que forman parte de las antocianinas puede clasificarse en:

- Monósidos, principalmente glucosa, galactosa, ramnosa y arabinosa
- Diósidos, generalmente derivados de combinaciones de los cuatro monosacáridos anteriores, así como la xilosa, rutinosa, sambubiosa, genciobiosa y soforosa, entre otros.
- Triósidos, que contienen alguno de los azúcares anteriores dispuestos en cadenas lineales o ramificados.

Los glucósidos a veces se desarrollan de forma más compleja, entre las cuales tienen especial interés los acilados. En ellos la misma molécula de azúcar que esterifica la aglicona es a su vez esterificada por un ácido orgánico, frecuentemente un ácido hidroxicinnámico como el ácido p-hidroxicinnámico (p-cumárico) (figura 2.1.12), ácido caféico y el ferúlico, y otros como el ácido clorogénico, etc. También se han encontrado otros ácidos alifáticos como agentes acilantes, tales como el acético (Harborne, 1976; Hrazdina, 1982). Las últimas investigaciones en este campo señalan que en la naturaleza existen también

pigmentos antociánicos acilados con otros ácidos alifáticos dicarboxílicos, tales como malónico, málico y succínico (Takeda y Tominaga, 1983; Harborne y Boardely, 1986; Takeda et. al, 1986 y Terahara et al., 1986). Harborne (1986) señala que ambos tipos de agentes acilantes, ácido p-cumárico y alifáticos dicarboxílicos, pueden darse a la par en el mismo pigmento, estando esto directamente relacionado con la estabilidad de los pigmentos antociánicos en el medio vacuolar. Si se considera las seis antocianidinas de partida, y consideramos su esterificación con los posibles azucares, que a su vez pueden ser acilados con varios ácidos, resulta evidente el hecho del elevado numero de antocianos identificados.

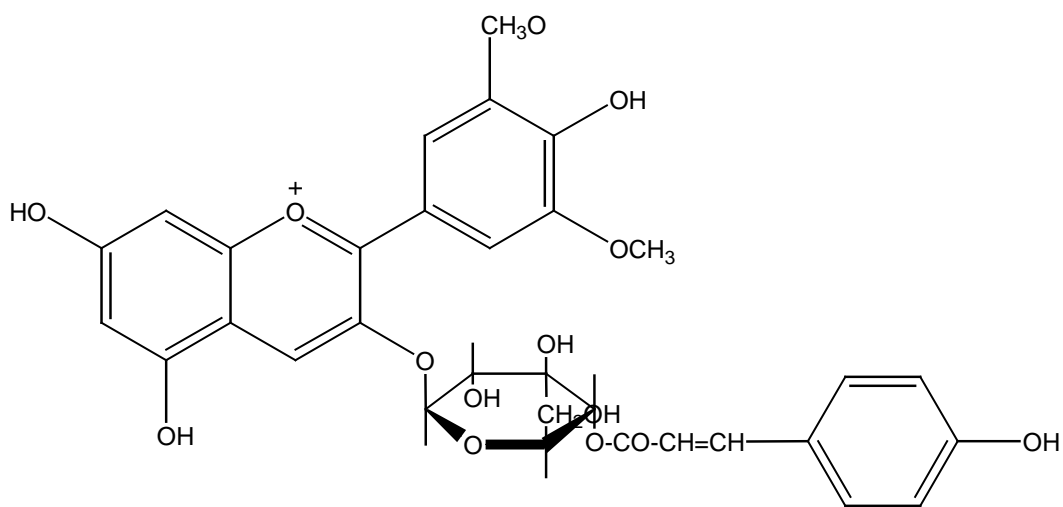


figura 2.1.12 Estructura del Malvidin-3-(4-cumaril)-glucosido

Taninos

Bajo el nombre genérico de taninos se agrupan una serie de sustancias fenólicas que pueden contener los vinos, pudiendo clasificarse según su procedencia en dos grandes grupos: taninos condensados procedentes de la uva y taninos hidrolizables procedentes de la madera de roble, en el caso de que el vino permaneciese en contacto con este material.

a) Taninos condensados.

Los taninos condensados son polímeros, más o menos complejos, de los flavanos-3-oles o 3-flavanoles, también llamados catequinas, aunque propiamente la catequina es la unidad monomérica. Estas sustancias se localizan en el hollejo, especialmente en las capas externas de la hipodermis, en forma libre dentro de las vacuolas de las células, o en forma combinada, estando ligados a los polisacáridos de las paredes celulares; encontrándose también de forma abundante en las pepitas, localizadas en la envoltura externa situada inmediatamente por debajo de la epidermis, y también en la envoltura interna que rodea al albumen. La pulpa no contiene apenas taninos, mientras que el raspón posee una buena cantidad de estas sustancias.

Las semillas de la uva contienen exclusivamente procianidinas, mientras que los hollejos contienen procianidinas y también prodelfinidinas. A su vez, la procianidinas de las semillas contienen un cierto nivel de unidades galoiladas, mientras que las de la piel no (Cheynier et al., 2000b; Vivas, 2001). Evidentemente, gran parte de las propiedades químicas, así como sus implicaciones sensoriales dependen de la estructura de estas moléculas.

Los taninos más sencillos son los 3-flavanoles monómeros, estando formados por dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado de núcleo fenil-2-cromano, pudiendo encontrarse cuatro isómeros: (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-catequina y (+)-epicatequina, donde destacan especialmente los dos primeros, así como también los derivados de la epicatequina en forma de éster gálico: galocatequina, 3-galato de catequina, y 3-galato de galocatequina, siendo éstos últimos específicos de ciertas variedades del género *Vitis*. (figura 2.1.13)

Otros taninos más complejos derivados de los anteriores son las procianidinas dímeras, que se agrupan en dos categorías: procianidinas tipo A ($C_{30}H_{26}O_{12}$) y las procianidinas tipo B ($C_{30}H_{24}O_{12}$) (figura 2.1.14), siendo las primeras las más abundantes en la uva. Del mismo modo también existen procianidinas trímeras, agrupadas en los tipos C y D.

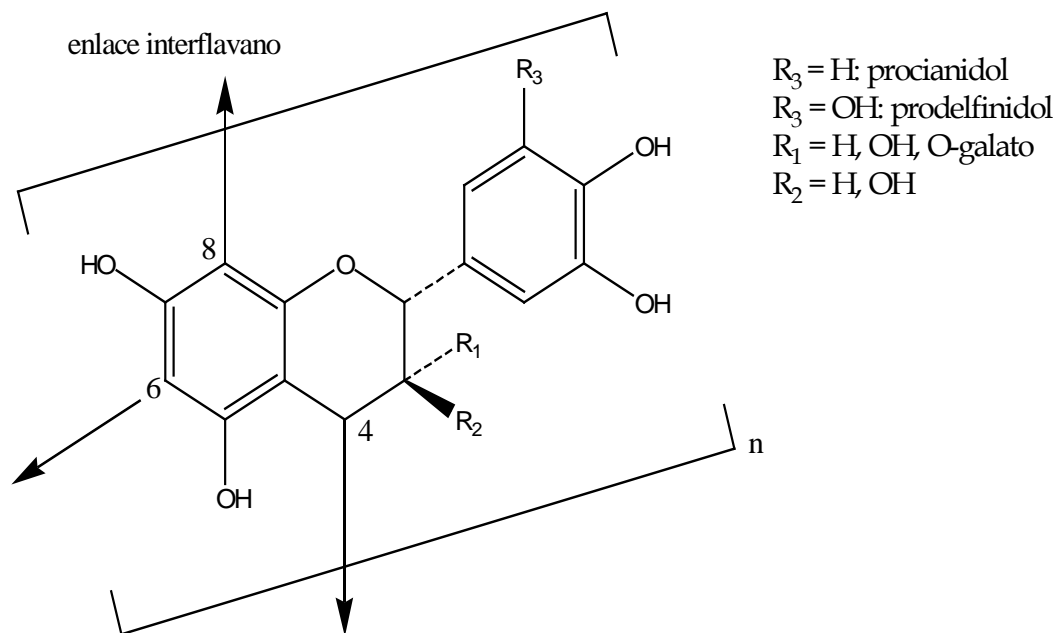
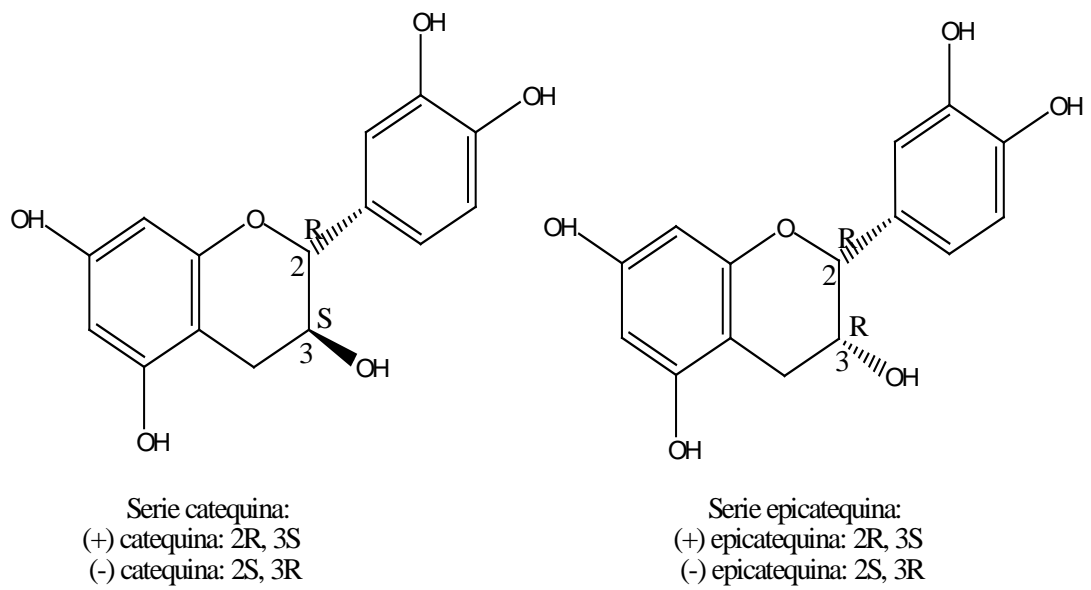


figura 2.1.13 Taninos monómeros de la uva.

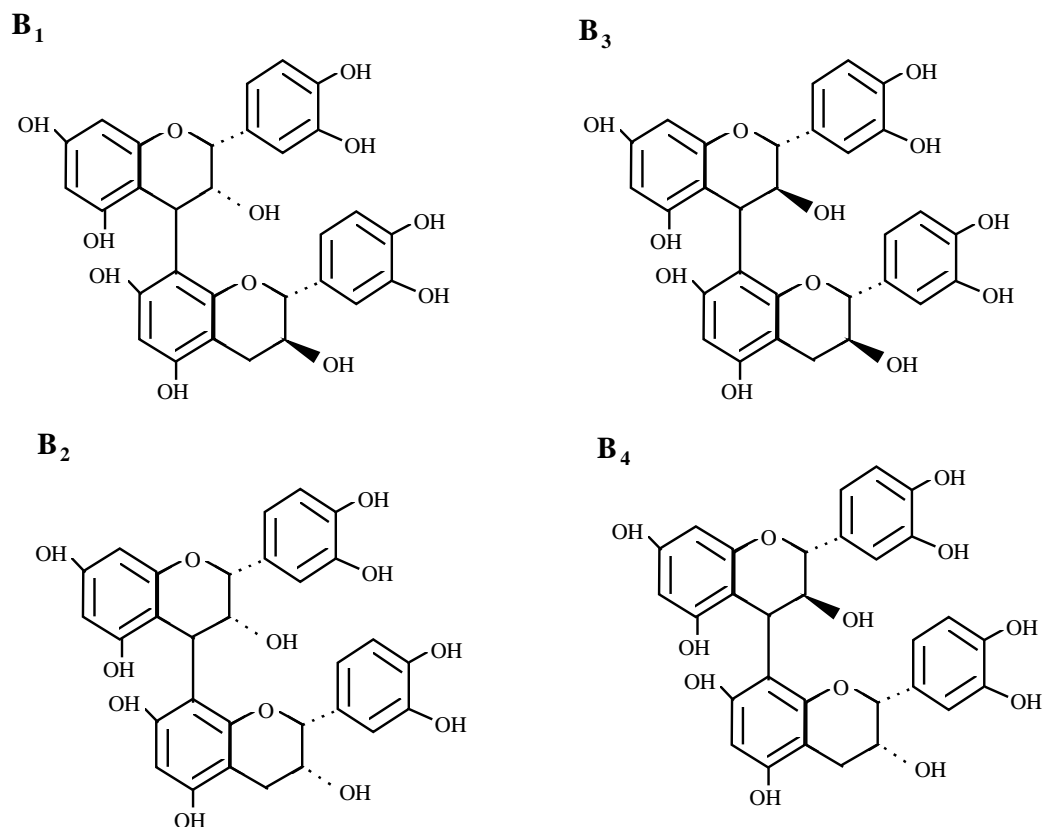


figura 2.1.14: Taninos proantocianidoles tipo B.

Las procianidinas oligómeros son polímeros mucho más complejos, formados por 3 a 10 unidades de favanoles, así como las procianidinas condensadas, formadas por más de 10 unidades de falvanoles, alcanzando un peso molecular superior a 3.000. Estas moléculas presentan la propiedad de liberar antocianidoles, en medio ácido y caliente, de donde toman el nombre de procianidinas, proantocanidinas o proantocianidoles. Antiguamente estas sustancias eran conocidas erróneamente como leucoantocianos o leucocianidoles, pues éstas derivan realmente de los 4-flavanoles y 3,4-flavanodioles que no existen en la uva.

En las pepitas los taninos se encuentran menos condensados, con un grado de polimerización cercano a 10, mientras que los de los hollejos son más complejos y con un grado de polimerización cercano a 30, encontrándose casi siempre una mayor cantidad de taninos en las pepitas. Los taninos de los hollejos se diferencian de los de las pepitas, por la presencia de epigallocatequina, por tener un mayor grado de polimerización, y también por una menor proporción de unidades galoiladas. En los vinos el contenido en taninos es muy variable,

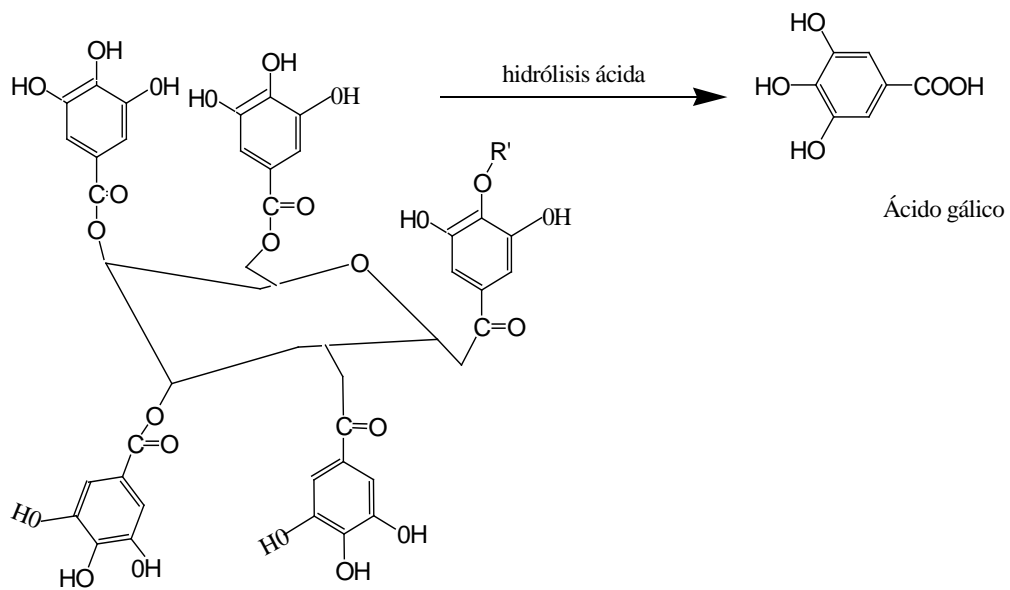
oscilando de 1 a 4 gramos/litro en los tintos, y de 0,1 a 0,3 gramos/litro en los blancos.

b) Taninos hidrolizables.

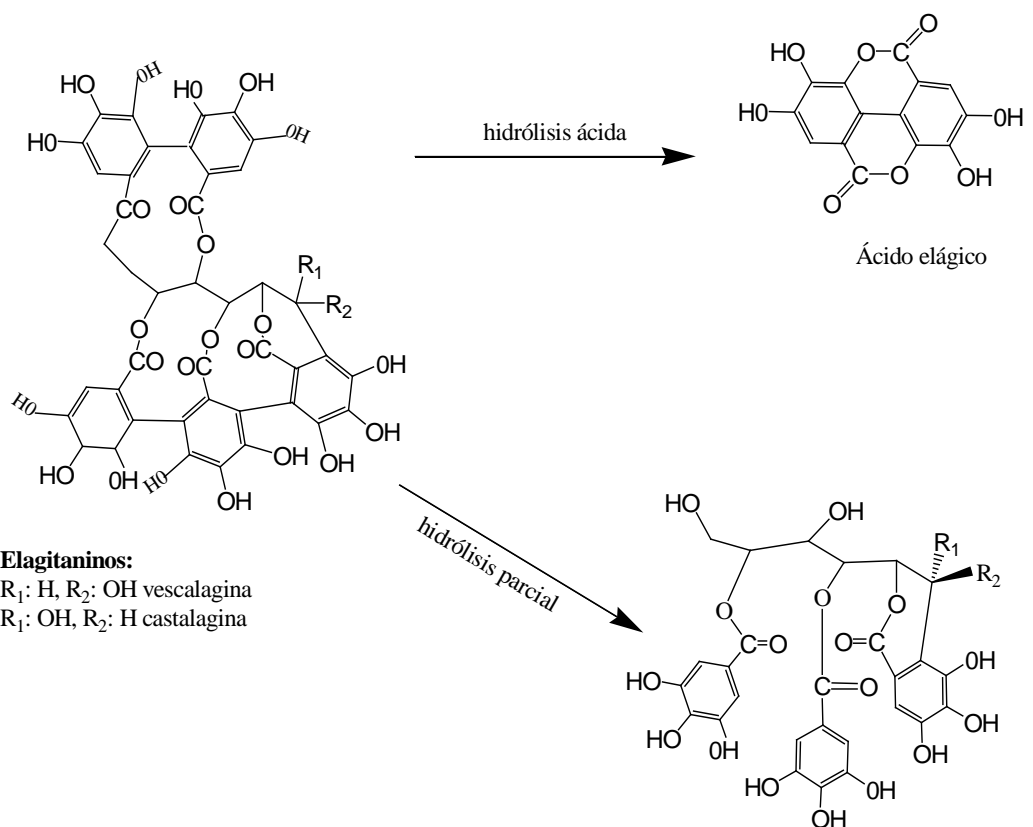
Los *taninos hidrolizables* están formados por los galotaninos y los elagitaninos, que por hidrólisis ácida liberan respectivamente ácido gálico y ácido elágico, conteniendo ambos una molécula de glucosa. Los más abundantes pertenecen a los elagitaninos, donde destacan la vescalagina y la castalagina, que al hidrolizarse se transforman respectivamente en vescalina y castalina (figura 2.1.15). Estas sustancias son muy solubles en medios hidroalcohólicos como es el vino o los aguardientes, y tienen unas propiedades muy distintas a los taninos condensados de la uva, siendo la presencia de ácido elágico una característica de los vinos criados en madera o adicionados de taninos comerciales. Los elagitaninos son obtenidos principalmente de la corteza y troncos de árboles como el roble (*Quercus* sp) de diferentes variedades, tales como: alba Missouri, alba Virginia, garrayana, pentrea, primus, así como de estas mismas, pero de distintas regiones como Francia, Checoslovaquia y Norteamérica, también de castaño (*castanea dentata*). Los elagitaninos vescalagina, castalagina y valonia se han encontrado frecuentemente en especies vegetales. Los árboles arbustivos o árboles de bayas son también una fuente importante de elagintinos; del granado (*Punica granatum*) se han extraído y caracterizado un buen número de estos. El-Toumy et al. (2001) reportaron la estructura del ácido elágico 4-O-L rhamnopiranososa, 6-O-galoil-D-glucopiranososa, 6-O-galoil-2,3-S-hexahidroxifenol-D-glucopiranososa, coralagin, 3,3/-di-O-metil ácido elágico. Sayed et al. (2002) reportaron punicorteina D, punicalina, punicalagina, 2-O-galoilpunicalina y dos nuevos elagitaninos, ácido dielágico rhamnosil (1-4) glucopiranososa y 5 galoilpunicacortein D y muchos más que han sido reportados de frutas de bayas, nueces, raíces y hojas de diferentes fuentes. Los elagitaninos están presentes en las frambuesas rojas en una gran cantidad, lo que las hace una buena fuente de obtención de ácido elágico. Otros alimentos, tales como las fresas, las granadas y los nogales contienen también cantidades de elagitaninos. Sin embargo, la viabilidad de estas otras fuentes no ha sido confirmada. Los elagitaninos y los

galotaninos son capaces de formar con los cationes metálicos Fe^{3+} y Cu^{2+} un gran número de quelatos que pueden precipitar dando lugar a “quiebras”.

En cuanto a la contribución organoléptica, los taninos gálicos presentan sabor amargo y son ligeramente astringentes. Afortunadamente, la madera de roble no posee una gran cantidad de este tipo de taninos y por tanto su contribución al sabor del vino será mínima. Los taninos elágicos también participan en la sensación de astringencia y añadidos en exceso puede producir efectos negativos al marcar excesivamente el vino con lo que se denomina "sabor a tablón".



Galotaninos



Elagitaninos:
 R₁: H, R₂: OH vescalagina
 R₁: OH, R₂: H castalagina

figura 2.1.15 Taninos hidrolizables de la madera.

R₁: H, R₂: OH vescalina
 R₁: OH, R₂: H castalina

2.1.1. Antocianos y taninos: Propiedades.

Los antocianos y taninos presentan, bien de manera individual, o bien de forma asociada, una serie de propiedades fisicoquímicas, que dan lugar a una evolución de las características organolépticas del vino durante su maduración y envejecimiento; de tal forma, que llegando a conocerlas en profundidad, pueden contribuir al mejor desarrollo de los vinos durante este período.

2.1.1.1. Equilibrio de los antocianos.

Los antocianos en los vinos pueden encontrarse bajo diferentes formas, dependiendo de diversos factores exteriores. (Figura 2.1.16).

Cuando el pH del medio es bajo, la molécula de antociano presenta en el Cl un oxígeno con carga positiva, dando lugar a una estructura llamada *cation flavilium* (A^+) de color rojo vivo, y con una cierta decoloración, que es máxima a valores de pH de 3,2 a 3,5. A medida que el pH se eleva, los antocianos se transforman en la forma *base quinónica* (AO) de color azulado, variando desde el malva hasta el azul con valores de pH superiores a 4,0, e incluso llegando a tomar un color amarillo con cifras de pH superiores a 7,0, siendo todas estas reacciones reversibles. (Ribéreau-Gayon et al.; 1998)

En medio acuoso los cationes flavilium se convierten a distintas formas a través de fenómenos de transferencia de protones y de reacciones de hidratación. Las propiedades de estas formas secundarias dependen principalmente del pH. Al aumentar el pH se transforman en bases quinónicas azules o son hidratadas a compuestos de adición incoloros (hemiacetal). El hemiacetal, en equilibrio con su isómero abierto (*cis-chalcona*) es un realidad la forma más abundante de malvidina-3-glucósido en un medio acuoso a pH entre 2 y 7. Finalmente, cuando las chalconas sufren oxidación pasan de manera irreversible hacia ácidos fenólicos incoloros, produciéndose una destrucción del color.

Por otra parte, los antocianos que posean dos grupos OH en posición orto, pueden formar con ciertos metales (*hierro, cobre, aluminio, magnesio, etc*) complejos de color azul a verdoso, siendo esta reacción también característica de otros polifenoles como los taninos, y responsables con el hierro de la llamada «quebra azul o negra» de los vinos tintos.

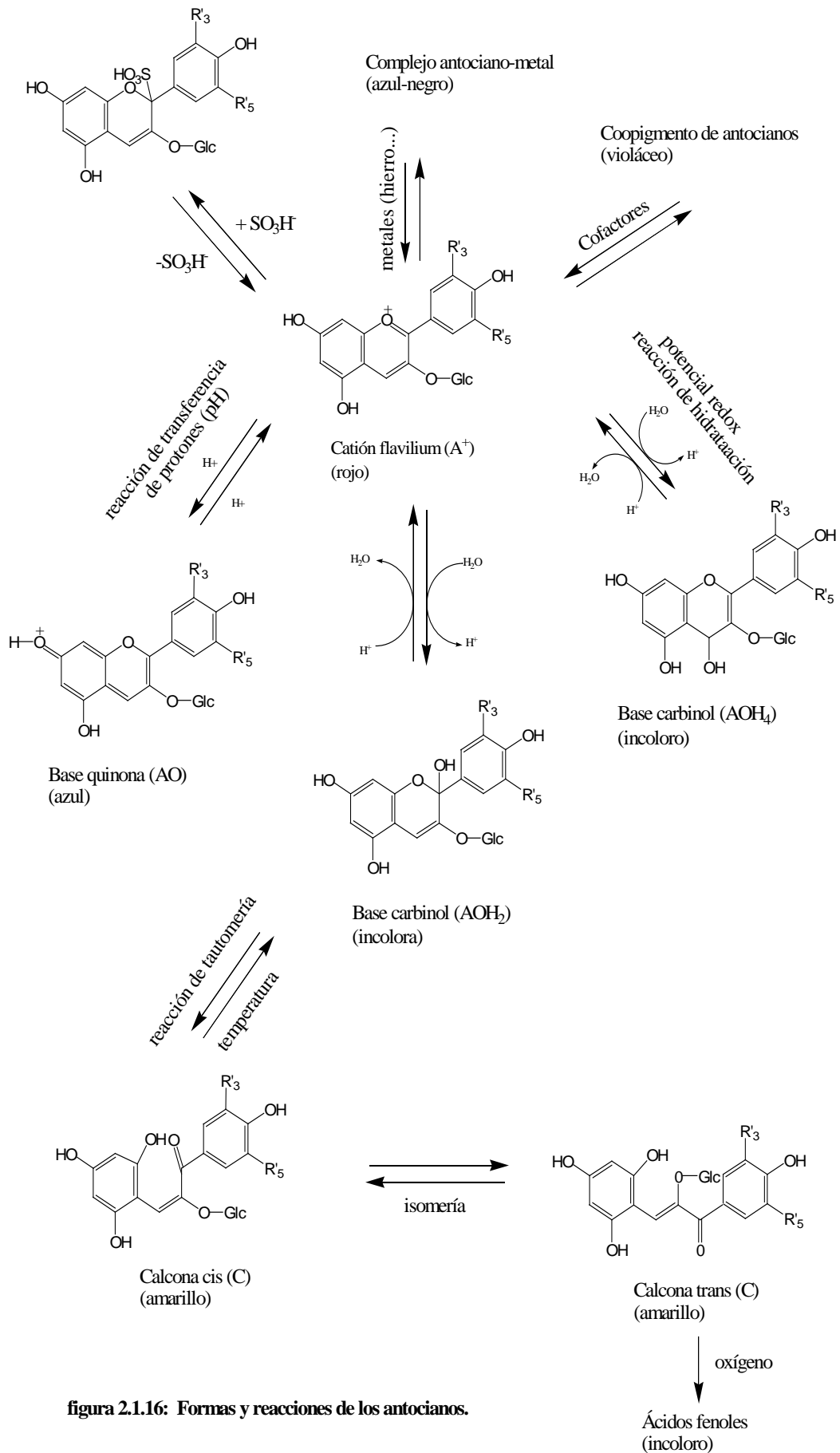


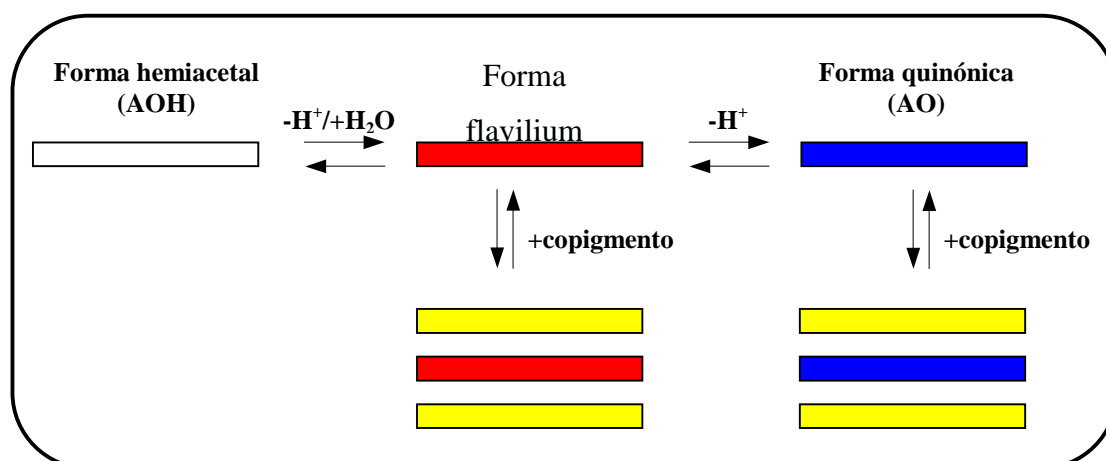
figura 2.1.16: Formas y reacciones de los antocianos.

La presencia de *anhídrido sulfuroso* en los vinos tintos, produce una fuerte decoloración de los antocianos, mediante una reacción totalmente reversible, que puede suponer una pérdida temporal de la intensidad de color. Al pH del vino, la mayor parte del anhídrido sulfuroso libre se encuentra bajo la forma de anión SO_3H^- , que se combina con los antocianos bajo la forma de catión flavilium, produciéndose un complejo incoloro, pero transcurrido un cierto tiempo se produce una descombinación de este compuesto por una reducción de la fracción de anhídrido sulfuroso libre.

A los valores del pH del vino, cerca del 80% de los antocianos se encuentran en forma hidratada incolora, excepto si tiene lugar algún mecanismo estabilizador del color. Los antocianos en forma de catión flavilium pueden acomplejarse con otros compuestos fenólicos de la vendimia o del vino, produciéndose un fenómeno conocido como de *copigmentación*, donde se produce un aumento de la cantidad de color, conocido como «efecto hipercromo», así como también un cambio de tonalidad hacia el color púrpura y azul, llamado «efecto batocromo». (Vivar Quintana et al. 2002).

Estas otras sustancias que intervienen se llaman cofactores, pudiendo ser las siguientes: ácidos cinámicos (ácido cafeíco y ácido caftárico), flavanoles (catequina y epicatequina), flavonoles y sus glucósidos (miricetina, quercetina, kaempferol). Entre los antocianos y cofactores se forma un complejo en forma de pila (Figura 2.1.17), donde alternan ambas sustancias, con un número de capas variables entre 2 a 10, presentando el conjunto una carga eléctrica positiva, por lo que pueden reaccionar con diversos aniones del vino.

figura 2.1.17: Principio del proceso de copigmentación.



Estos copigmentos son los responsables de la coloración característica de los granos de uva tintos, presentando un tono intenso y azulado que no se corresponde con el del vino elaborado, y ello es debido a que parte de los antocianos están copigmentados en el hollejo, rompiéndose esta estructura cuando la uva se airea en el estrujado. En los vinos jóvenes, donde existe un ambiente más bien reductor, los copigmentos se forman de nuevo y pueden ser responsables de un 40% de su intensidad de color, así como de su tonalidad violácea, perdiéndose ambos efectos cuando se produce una aireación, por ejemplo durante la crianza en barrica. Por otra parte, la copigmentación influye sobre las reacciones de oxidación, condensación y polimerización de sustancias fenólicas ya que disminuye la cinética de las reacciones que se producen durante el envejecimiento de los vinos (Boulton, 2001). La cinética de las reacciones de oxidación de flavonoides y de polimerización de pigmentos y flavonoides depende de la concentración de sustancias fenólicas en forma libre, no de su concentración en valor absoluto. Determinados flavonoides son fuertes copigmentos y rápidamente participan en reacciones de copigmentación, lo que hace que la concentración en forma libre de tales compuestos disminuya y, de este modo, no estén disponibles para reacciones de oxidación y polimerización. La copigmentación puede ser intermolecular si participan moléculas individuales de pigmento y copigmento, e intramolecular donde el pigmento y el copigmento son parte de la misma molécula (Asenstorfer et al., 1999).

2.1.1.2. Formación de compuestos derivados de los antocianos.

Otro mecanismo de cicloadición sobre los antocianos es la unión de estos con metabolitos procedentes del metabolismo de las levaduras (Fulcrand et al., 1998). Los nuevos pigmentos formados son generalmente de color anaranjado, estables e insensibles a las variaciones de pH y sulfuroso.

Así se ha puesto en evidencia otro grupo de pigmentos debidos a la adición de ácido pirúvico (Romero y Bakker, 1999; Hayasaka y Asenstorfer, 2002) (figura 2.1.18). Bakker y Timberlake (1997) demostraron con sus trabajos la existencia de cuatro nuevos pigmentos en vinos tintos: la vitisina A y B y las formas aciladas con ácido acético de ambas. Su formación resulta de la ciclación

entre C4 y el grupo hidroxilo del C5 de la molécula del antociano con el doble enlace de la forma enólica del ácido pirúvico, seguido de un proceso de deshidratación y rearomatización de la molécula. Estas nuevas estructuras poseen propiedades distintas a las de los antocianos monómeros. La vitisina A es menos roja que la malvidina-3-glucósido y es resistente a la decoloración por sulfuroso. La vitisina B es de color naranja y aunque pierde color en presencia de sulfuroso es más resistente que la malvidina-3-glucósido. Los pigmentos derivados de la combinación de antocianos y ácido pirúvico son más resistentes a los procesos de envejecimiento de los vinos que los antocianos en su forma monómera, sin embargo, las formas aciladas de ambos tipos de pigmentos son las menos estables (Mateus y de Freitas, 2001).

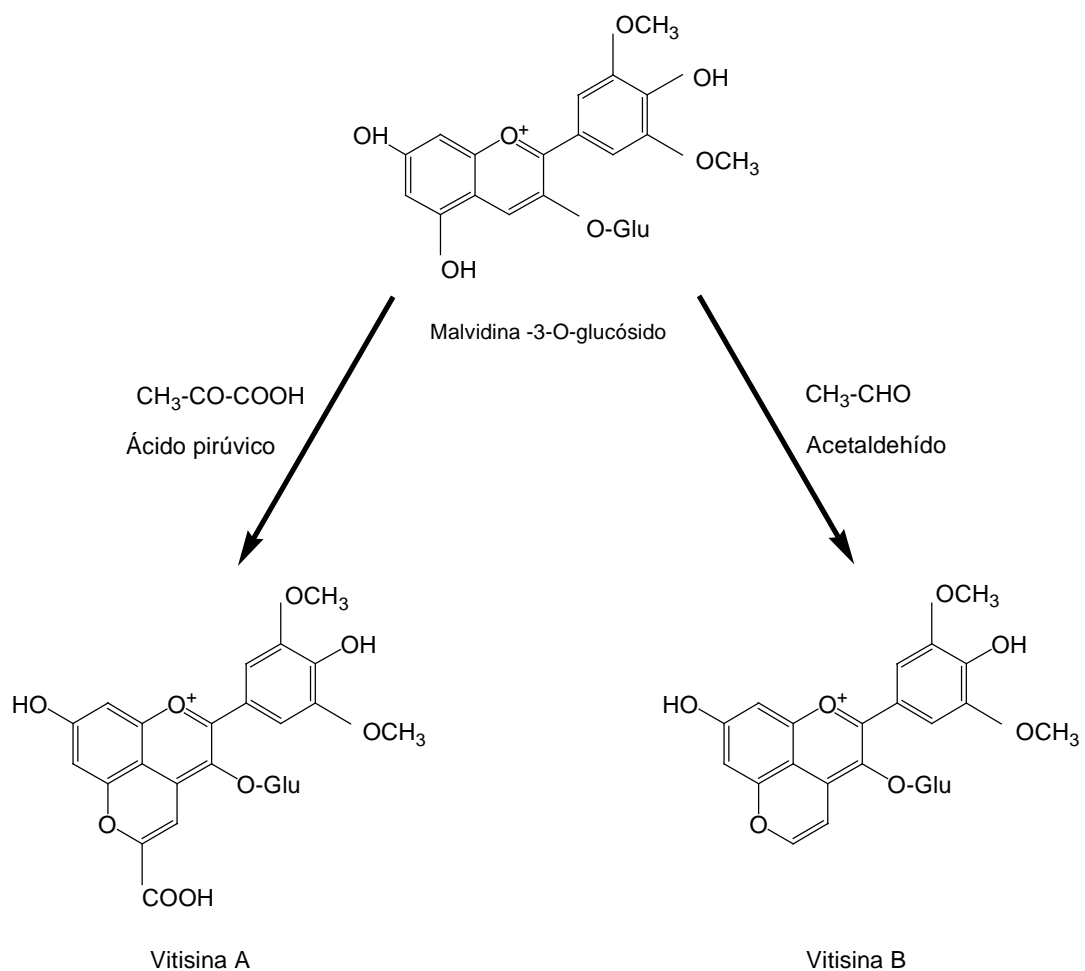


figura 2.1.18: Estructura de los piroantocianos.

El 4-vinilfenol, procedente de la descarboxilación del ácido p-cumárico por las descarboxilasas de las levaduras, puede reaccionar con la malvidina, sobre todo en forma de monoglucósido acilado (p-cumarilglucósido) (Asenstorfer et al., 1999) (figura 2.1.19). Los pigmentos propuestos son el resultado de la reacción de la malvidina-3-glucósido en su forma de catión flavilium con una molécula intermedia de flavanol que posea un residuo de vinilo en C8. Este intermedio vinilflavanol puede proceder bien de la ruptura de oligómeros de flavanol unidos por puente de etilo resultantes de la condensación de flavanoles en presencia de acetaldehído o bien de la deshidratación de una molécula intermedia de flavanol-etanol formado después de la reacción con acetaldehído (Aleixandre et al., 2002; Mateus et al., 2003a). Ambos procesos se ven favorecidos cuando el pH del medio no es muy ácido ya que en este caso se favorece la formación de catión etilflavanol que conducirá a la formación de pigmentos polímeros unidos por puentes de etilo.

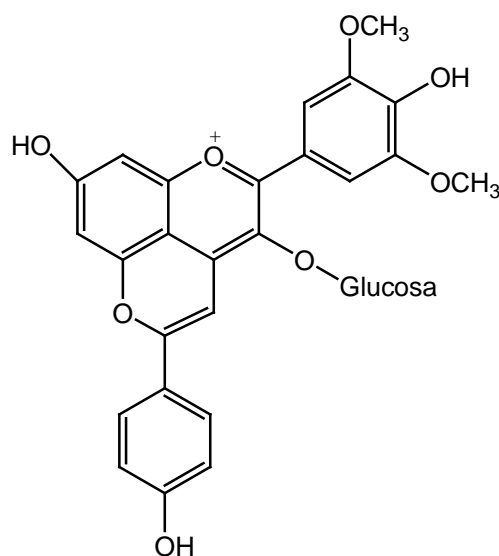


figura 2.1.19: Producto de condensación del 3-glucósido de valvidol con el vinilfenol.

2.1.1.3. Degradación de los antocianos.

Los antocianos no son moléculas estables en el vino y van desapareciendo en el tiempo. La temperatura es la primera causa de degradación de los antocianos, produciendo un desplazamiento de éstos hacia chalconas de color amarillo y, en consecuencia, hacia fenoles simples incoloros de manera

irreversible. La oxidación de los vinos también produce la degradación de antocianos por el mismo mecanismo. La adsorción de antocianos sobre levaduras y hollejos durante la maceración y fermentación es un fenómeno muy frecuente en las elaboraciones. Por último, el cuarto mecanismo importante de desaparición de antocianos es la precipitación de materia colorante coloidal. Los polisacáridos, extraídos de los tejidos vegetales del racimo durante la maceración con los hollejos, actúan como soportes coloidales de la materia colorante. Al precipitar por acción del calor o el alcohol, arrastran una importante cantidad de antocianos, produciéndose este fenómeno de manera muy acusada durante la fermentación alcohólica o los meses siguientes. Por otra parte, las moléculas de antocianos pueden polimerizarse con el tiempo, formando estructuras complejas de tamaño coloidal que llegan a precipitar a lo largo de los años. Este fenómeno se observa incluso en los vinos de crianza, donde los polímeros estables de antocianos y taninos pueden depositarse en las botellas con el tiempo. Las operaciones de bodega encaminadas a la estabilización del color coloidal eliminan la fracción de color inestable en ese momento, pero no impiden la formación de nuevos coloides con el tiempo.

2.1.1.4. Hidrólisis y oxidación de los taninos.

Una de las características de la función fenol es la oxidabilidad, siendo los compuestos fenólicos unas sustancias capaces de oxidarse con gran facilidad, y por lo tanto poseen una actividad protectora frente a las oxidaciones.

El mecanismo de *oxidación de los taninos* es bastante complejo, reaccionando más o menos fácilmente con los radicales libres oxigenados producidos por el oxígeno, que conduce a la formación de polímeros más complejos llamados flobafenos, de color amarillo oscuro o marrón y que pueden precipitar. La estructura de la molécula de tanino interviene en la reacción, siendo más oxidable la (-) epicatequina que la (+) epicatequina, aumentando del mismo modo la oxidación con el grado de polimerización, y produciéndose numerosas reacciones de oxidación-reducción que implican a una gran cantidad de sustancias que contiene el vino, como por ejemplo la del alcohol etílico en etanal.

Por otra parte, las procianidinas pueden ser *hidrolizadas mediante una catálisis ácida*, desdoblándose en una molécula de catequina (flavan-3-ol), y otra molécula de catequina activada también llamada carbocatión, que puede posteriormente unirse a diferentes compuestos nucleófilos, como las sustancias azufradas del vino, o también con el oxígeno transformándose en una cianamida de color rojo, presentando esta reacción un gran interés por la reducción de compuestos azufrados del vino con olor desagradable.

2.1.1.5. Reacción de los taninos con las proteínas y polisacáridos.

Los polifenoles y especialmente los taninos presentan la propiedad de unirse a las proteínas y a los polisacáridos, formando compuestos muy estables, que incluso pueden llegar a precipitar. La reacción de los taninos con las proteínas no es esteoquímica, pues depende del tipo de tanino que interviene y de su grado de polimerización, así como también de las características de las proteínas, siendo las más ricas en prolina y las de menor tamaño las que presentan una mayor afinidad.

Cuando la cantidad de proteínas que interviene es pequeña, entonces el tanino que reacciona con ellas es relativamente más elevado, y a la inversa, cuando la cantidad de proteínas es más alta entonces reaccionan proporcionalmente menos taninos (figura 2.1.20). Cuando los taninos presentan un peso molecular elevado superior a 3.000, las proteínas no floculan por un impedimento estérico, al no poder acercarse a las zonas activas de las mismas.

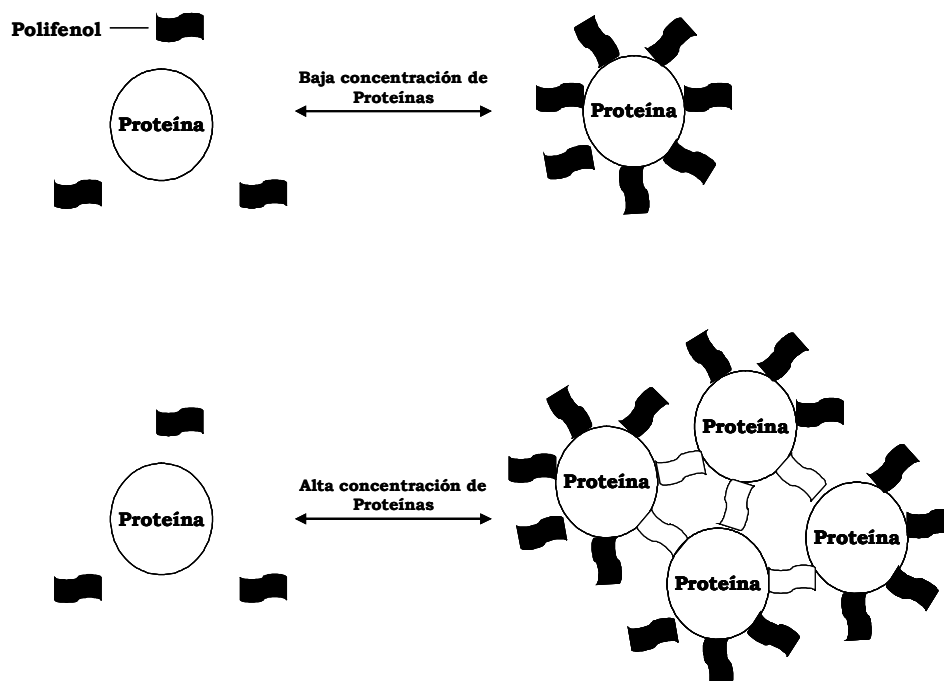


figura 2.1.20: Modelo de precipitación de las proteínas por los polifenoles.

La astringencia que presentan los taninos en la boca pueden ser explicada por la coagulación de la mucina de la saliva, que es una proteína con poder lubricante de la cavidad bucal; de tal forma que, cuando los vinos son muy ricos en «malos taninos», entonces se produce una gran coagulación y un fuerte efecto mecánico o de tacto entre la lengua y las mucosas de la boca, localizado sobre todo en la parte final de la misma. Sin embargo cuando el vino es rico en «buenos taninos» procedentes de una excelente vendimia o de una buena crianza, entonces el fenómeno de astringencia no es tan acusado, y entonces se producen sensaciones de volumen, cuerpo, grasas y algo dulzonas de gran calidad.

Cuando los taninos reaccionan con grandes polímeros, los compuestos formados suelen precipitar dado su tamaño y por las condiciones de bajas temperaturas, pero cuando los polímeros son menos complejos, como en el caso de los polisacáridos, las sustancias formadas precipitan con mayor dificultad, y su presencia en el vino contribuye a aumentar las sensaciones de volumen y carnosidad en la boca.

2.1.1.6. Polimerización de los taninos condensados.

Las soluciones ácidas de las procianidinas no son estables, y con el tiempo su color envejece hacia tonalidades marrones, e incluso pueden llegar a precipitar, debido a la formación de polímeros de elevada masa molecular. En el vino se pueden producir dos posibles reacciones:

- En *ausencia de oxígeno* con temperatura elevadas, las procianidinas se hidrolizan formando un carbocatión, que reaccione con la carga negativa de otra procianidina, formando un polímero de mayor peso molecular. Se dice entonces que la polimerización es homogénea u ordenada, también llamada como polimerización lineal, donde los compuestos formados son de color amarillo, pudiendo precipitar en función de su complejidad, y continúan presentando las mismas propiedades de astringencia que un tanino menos polimerizado (figura 2.1.21)

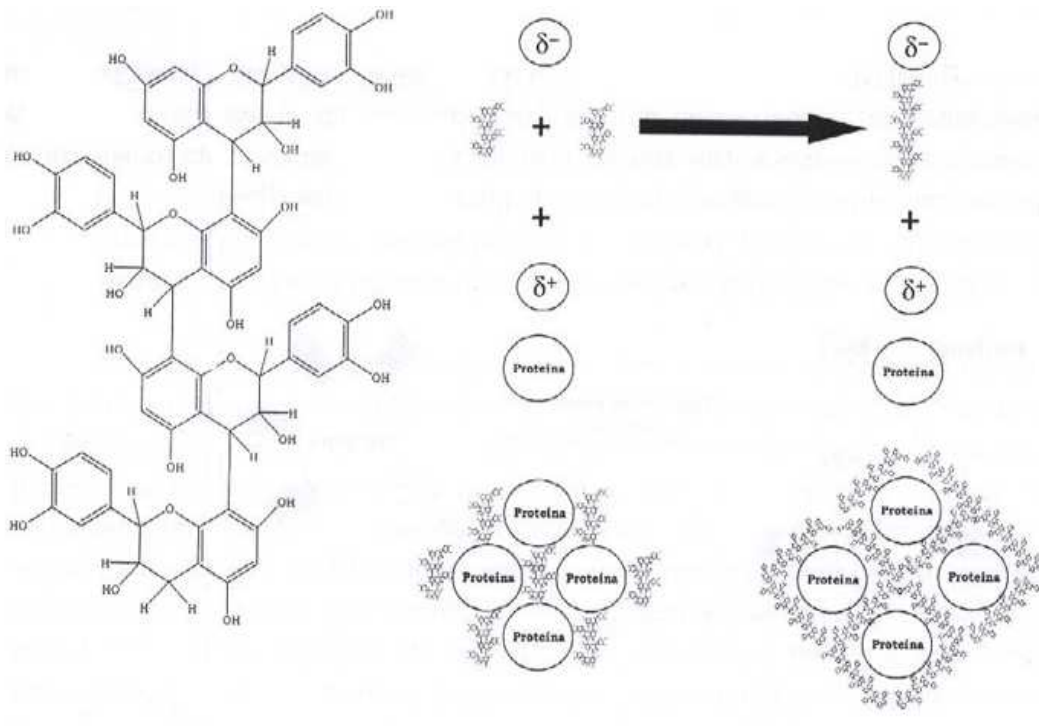


figura 2.1.21. Polimerización ordenada o lineal de los taninos.

- En *presencia de oxígeno* y con temperaturas más reducidas, la oxidación del alcohol forma etanal, y esta sustancia es capaz de unir moléculas de procianidinas, formando un polímero de elevado peso molecular; mediante una polimerización heterogénea o desordenada, también llamada como polimerización cruzada, donde los compuestos formados son también amarillos, pero son menos reactivos y su astringencia se ve muy atenuada, participando también en las sensaciones de volumen en la boca (figura 2.1.22). Este tipo de reacción tiene una cinética superior a la polimerización lineal lo que conduce a la formación rápida de compuestos polímeros susceptibles de precipitar en función del grado de polimerización y de la concentración.

Los taninos condensados procedentes de la uva, y los taninos hidrolizables extraídos de la madera durante la crianza en barrica, son las principales sustancias responsables de la astringencia de los vinos, siendo los flavanoles monómeros y el ácido gálico de la madera, los taninos más amargos y astringentes, mientras que los oligómeros y polímeros correspondientes formados durante el envejecimiento se suavizan al perder el carácter amargo (Singleton y Trousdale, 1992).

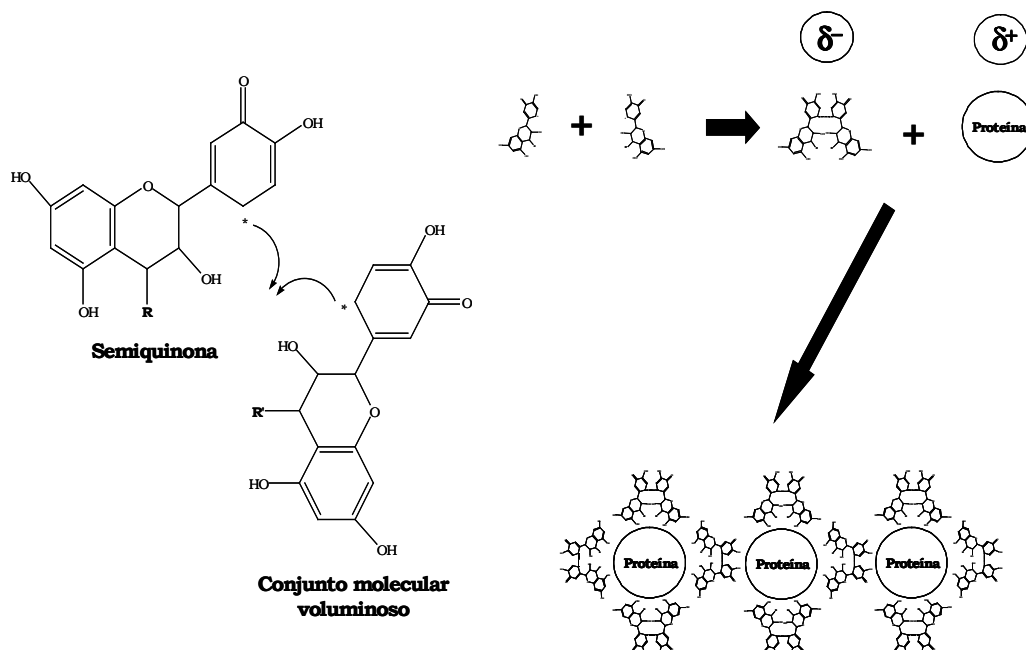


figura 2.1.22: Polimerización desordenada o cruzada de taninos.

2.1.1.7. Condensación de antocianos y taninos.

Los antocianos bajo la forma de catión flavilium pueden unirse con los taninos, formando un complejo estable de color rojo, poco sensible a las variaciones de pH y sulfuroso (Somers, 1971; Escribano-Bailón et al., 2001). Las condensaciones entre antocianos y taninos pueden producirse según tres mecanismos posibles y conducen a la aparición de compuestos con características diferentes (Ribéreau Gayon et al., 1998):

- *Condensación antocianos → taninos (A-T)*. Los antocianos bajo su forma catiónica (A^+) reaccionan con las valencias negativas de los carbonos 6 u 8 de los taninos, formando un flaveno incoloro, el cual posteriormente se puede colorear de rojo en presencia de oxígeno, estableciéndose un equilibrio entre: $A^+ - T \leftrightarrow AO - T$ (figura 2.1.23). La conservación al abrigo del aire de soluciones de antocianos en presencia de flavanoles y a temperaturas superiores a 20 °C, produce una disminución del color que puede recuperarse después de aireación. Este tipo de compuestos pueden evolucionar a tonalidades amarillas por la aparición de estructuras xantilium (Dallas et al., 1996; Gawel, 1998).
- *Condensación taninos → antocianos (T-A)*. Las procianidinas en medio ácido como ocurre en el vino, se pueden hidrolizar formando un carbocatión o catequina activada, reaccionando con los antocianos bajo la forma carbinol (AOH), produciendo un complejo incoloro, que se colorea seguidamente de rojo anaranjado después de su deshidratación. Esta condensación se produce en ausencia del aire y está favorecida por la temperatura, siendo ésta la explicación de la evolución de los vinos almacenados en ambientes reductores como en un depósito o una botella. Este tipo de reacción depende de la concentración de antocianos en el medio y el color varía con la naturaleza del carbocatión y el grado de polimerización (figura 2.1.24).

- *Condensación antociano-taninos por un puente de etilo.* El etanal o acetaldehído que contiene el vino procedente de la oxidación del etanol en presencia de polifenoles o de iones Fe^{3+} o Cu^{2+} (Somers y Evans, 1986), o bien de la descarboxilación del ácido pirúvico, reacciona con las valencias negativas de los taninos en las posiciones 4 y 8, así como también con los antocianos en la forma carbinol (AOH) neutra (figura 2.1.25). El polímero formado es de color rojo-malva muy estable, de tono vivo al principio y evolucionando con el tiempo hacia un matiz más oscuros. Además del etanol, el acetaldehído en el vino puede tener su origen en las levaduras, las bacterias acéticas y por la autooxidación de compuestos fenólicos (Liu y Pilone, 2000). Los antocianos y taninos también pueden unirse de una manera similar, mediante un puente donde el etanal es reemplazado por otro aldehído (Es-Safi et al., 2000), o bien con el ácido glioxálico procedente de la oxidación del ácido tartárico catalizada por el hierro, formándose compuestos incoloros, que rápidamente evolucionan hacia productos de color amarillo más intensos que los procedentes de las oxidaciones (Fulcrand et al., 1997; Asenstorfer et al., 1999).

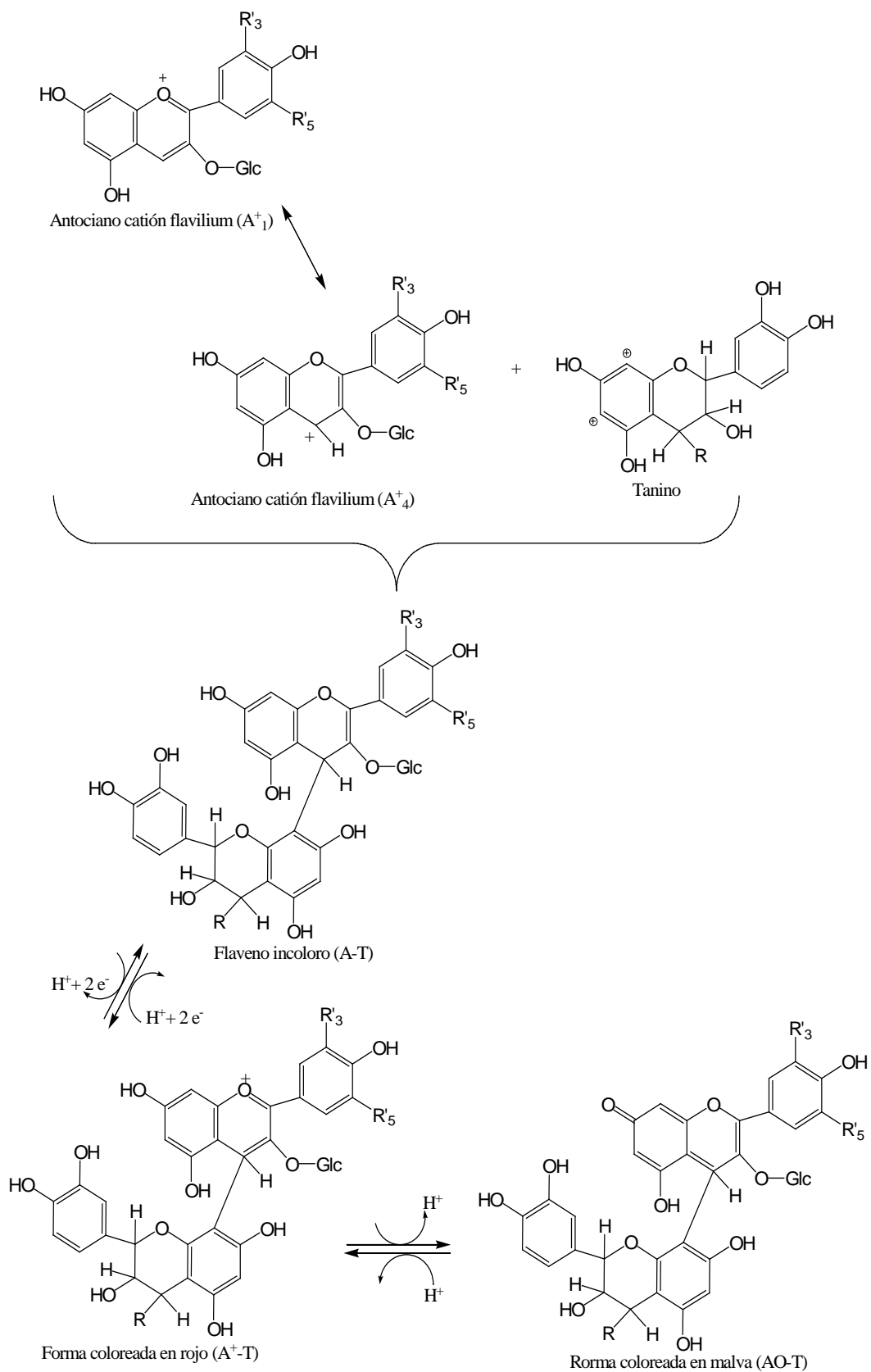


figura 2.1.23: Condensación de antocianos y taninos tipo A-T.

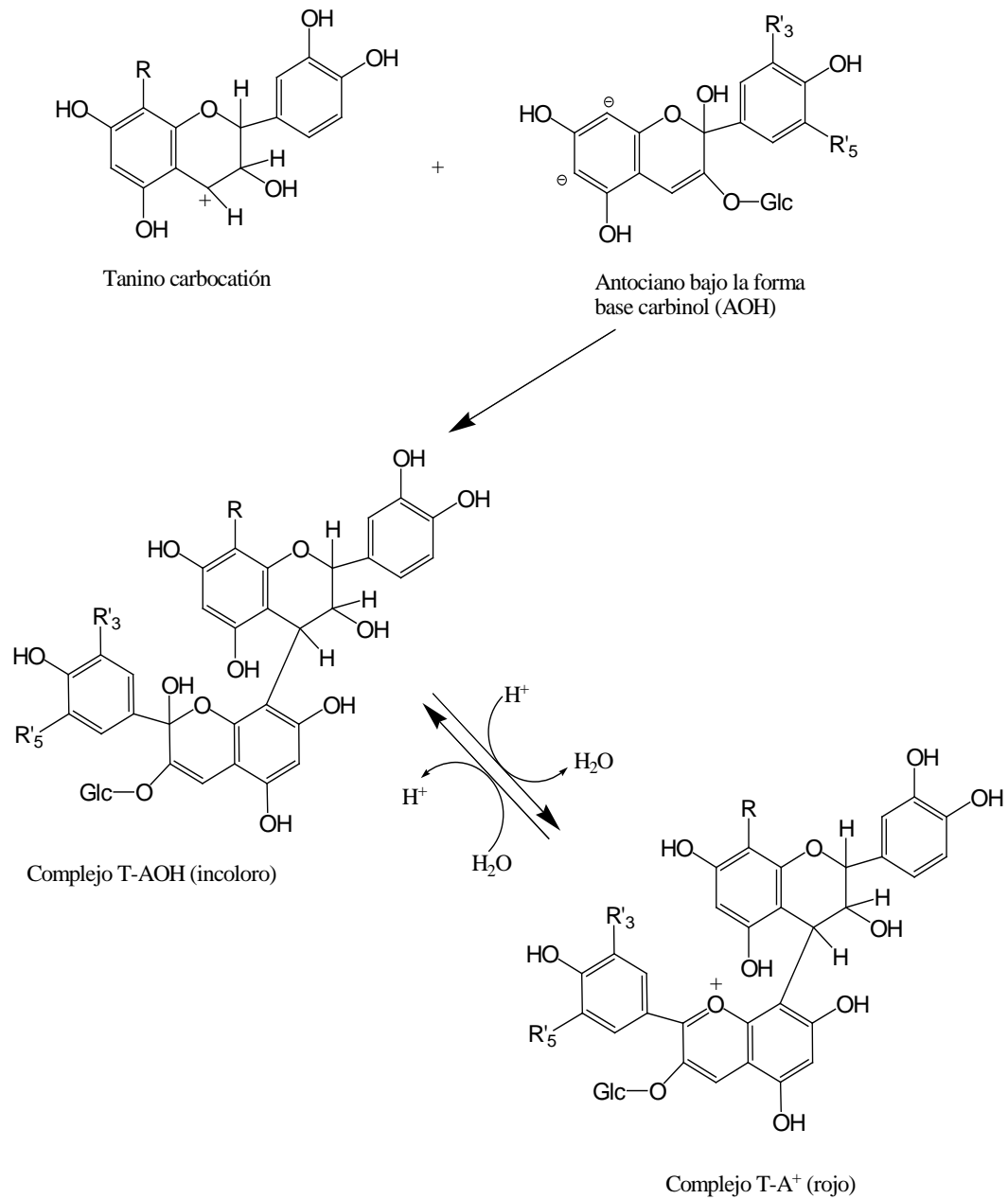


figura 2.1.24: Condensación de antocianos y taninos tipo T-A.

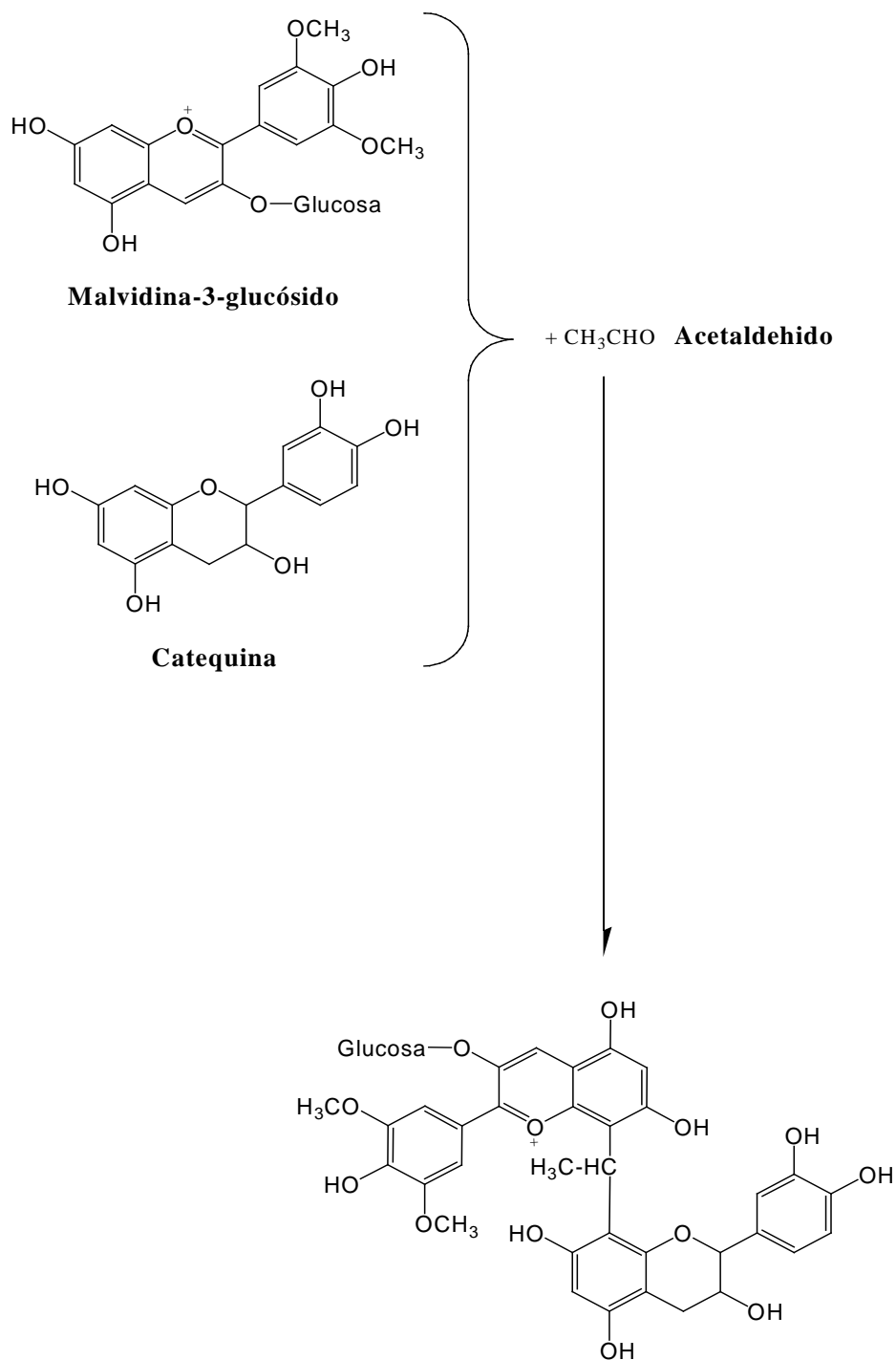


figura 2.1.25: Reacción entre catequina y malvidina-3-glucósido en medio ácido y en presencia de etanal

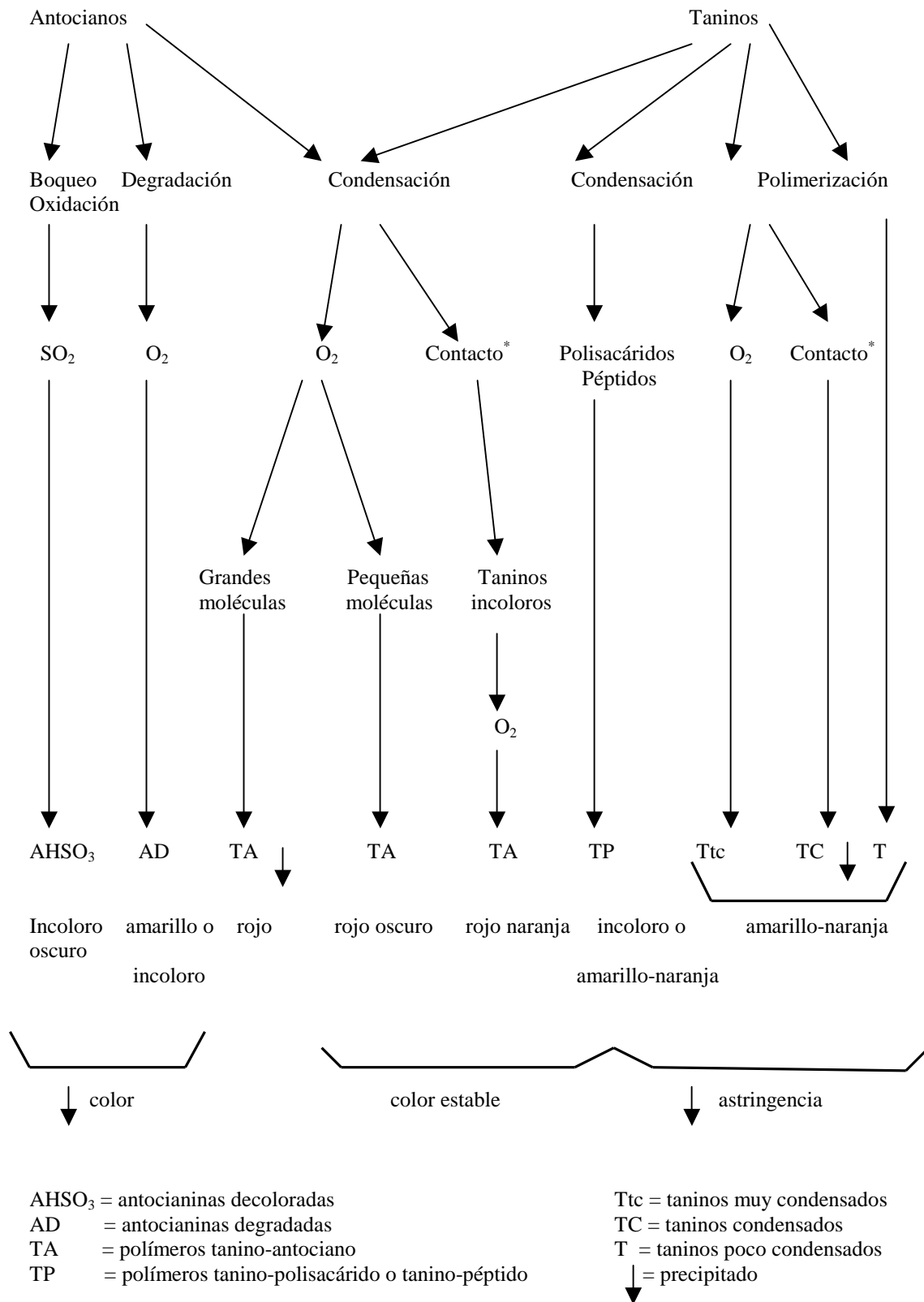


figura 2.1.26: Reacciones de antocianos y taninos en los vinos tintos.

Estas reacciones de combinación dependen de las condiciones del medio (temperatura, nivel de oxígeno) pero también de la naturaleza de los taninos y de

la relación entre la concentración de antocianos y taninos. La cantidad de antocianos que pueden reaccionar con los taninos oscila en una proporción de 1 a 4 respectivamente, aunque en algunos casos puede llegar a ser de hasta 1 a 10 dependiendo de la naturaleza de los antocianos y sobre todo la de los taninos. Todas estas reacciones son necesarias para la estabilización del color de los vinos.

Otro aspecto muy importante en estos fenómenos es la cantidad de aire que debe penetrar en el vino, donde el aporte de oxígeno deber oscilar de manera constante en el tiempo entre 0,5 a 5,0 ml/litro y mes, dependiendo de la estructura polifenólica del vino y también de la temperatura, pues estas reacciones de polimerización se producen con bastante lentitud. Los vinos ricos en flavanoles requieren durante el envejecimiento pocas cantidades de oxígeno para activar las reacciones de oxidación que llevan a formar pigmentos polímeros más solubles y menos astringentes, distintos de aquellos que se forman a través de reacciones entre flavanoles vía carbocatión. Un exceso de oxígeno produce la degradación de los antocianos y la aparición de tonos marrones en el color de los vinos (Di Stefano y González San José, 1991).

2.2. ANTOCIANOS Y TANINOS EN LA UVA.

2.2.1. Descripción del racimo de uva.

La viña es un cultivo muy extendido y característico dentro del paisaje mediterráneo.

Se trata de un tipo de enredadera leñosa perenne, perteneciente a la familia de las Vitáceas. Presenta hojas circulares u ovales, delgadas, que miden entre 5 y 23 cm de diámetro, dentadas o ligeramente melladas en sus bordes, y de color verde apagado en la cara superior y gris en la cara inferior, caracterizadas por presentar entre 4 y 5 lóbulos. Las flores son numerosas, disponiéndose en forma opuesta a las hojas, agrupándose en racimos. Los frutos son pulposos, pequeños, oscilando entre 6 y 12 mm de diámetro cada uno, con formas variables: circulares, oblongos, etc. Los colores varían según el tipo de uva: verdes, rojiza, rojo oscuras, etc. El número de semillas también varía: 2, 4 ó ausentes.

La vid es originaria de Asia menor, especialmente de la región del Mar Caspio. Luego fue introducida en Europa y más tarde en el resto de los continentes. Si bien existen más de 8.000 tipos diferentes de uvas, las mismas se pueden clasificar en dos grandes subespecies: silvestre, correspondiente a los ejemplares que crecen en forma espontánea; y viníferas, que representando a los ejemplares que comúnmente se cultivan. Los países con mayor cantidad de tierras cultivadas son países mediterráneos (Francia, España e Italia), Estados Unidos (California), Sudáfrica, Argentina (región de Cuyo, noroeste), Chile, Australia, Nueva Zelanda, etc. Como se puede observar se requiere un clima seco y cálido en verano, e inviernos templados con niveles pluviales mayores en esta estación.

El racimo de uva posee dos partes:

- El raspón.
- Los granos o bayas.

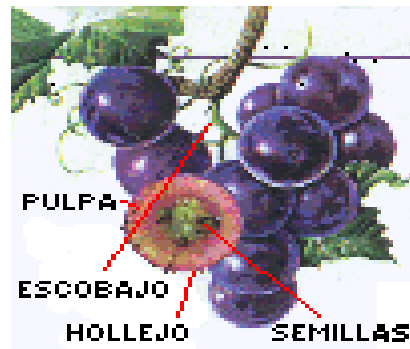


figura 2.2.1: Racimo de uva.

Raspón

El raspón o escobajo forma el esqueleto del racimo. Incluyendo además el pedúnculo y los peciolos. Durante el proceso de elaboración es eliminado debido a que aporta astringencia y sabores herbáceos que son indeseados. Su composición básicamente viene descrita en la tabla adjunta.



figura 2.2.2: Raspón eliminado.

RASPÓN	%
Agua	78-80
Ácidos orgánicos	0,5-1,6
Azucares	0,5-1,5
Taninos	2-7
Minerales	2-2,5
Compuestos nitrogenados	1-1,5
pH	4-4,5

Tabla 2.1: composición del raspón.

Grano de la uva.

El grano es la parte más importante, ya que en función de su constitución , se obtendrá un vino determinado.

El grano recién constituido por la fecundación de la flor es una pequeña “bola” verde formada fundamentalmente por clorofila y cierta cantidad de ácidos. Funciona como todo otro órgano verde de la planta. Crece, hasta llegar a un período crucial de la vida del grano conocido con el nombre de *envero*, que es cuando el grano de uva pierde su dureza y se ablandan los tejidos. Mientras en las variedades blancas presenta una coloración amarilla-verdosa hasta llegar al dorado, en las rosadas y tintas se revelan las diversas tonalidades del color, que partiendo del rosa, pueden llegar al azulado o violeta.

La baya está constituido por :

- La pulpa.
- La piel, película u hollejo.
- Las pepitas o semillas.

De estas tres fracciones, son los hollejos y la pulpa, los que poseen un mayor interés enológico.

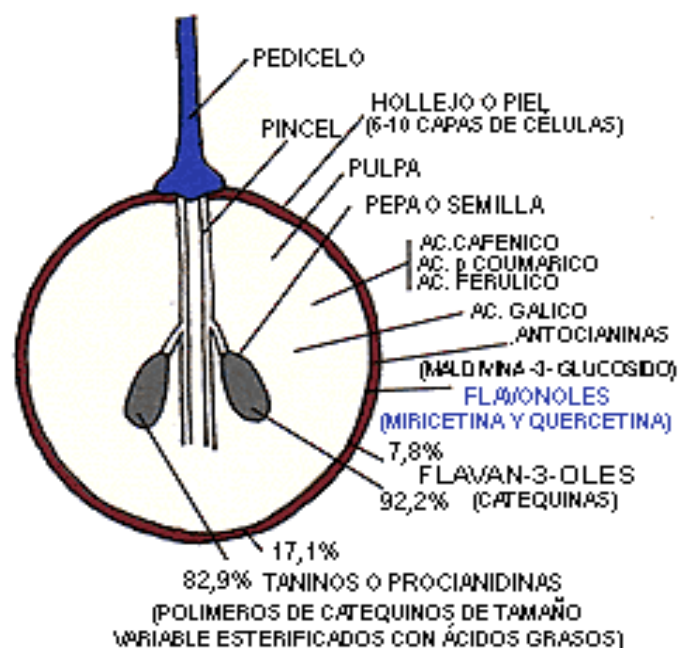


figura 2.2.3: Estructura de un grano de uva.

Pulpa

La pulpa es la parte principal del grano de uva (ocupa del 83 % al 92 % del grano). Está formada por células llenas de agua más otros constituyentes como azúcares, ácidos, sustancias nitrogenadas y minerales.

Hollejo.

La película u hollejo encierra en su interior a la pulpa y las semillas del grano. Es una membrana delgada y elástica, que se distiende a medida que el grano de uva va creciendo.

El hollejo tiene unos 0,3 mm de espesor. Está compuesto por una epidermis y varias capas de células subyacentes. Según Ribereau Gayon et al. (1998) representa del 14 al 21 % en peso del grano de uva, cumpliendo además un papel enológico de gran importancia dado que los hollejos atesoran la mayor parte del color y del aroma, determinando de forma decisiva el sabor de los mostos y vinos.

La epidermis, formada por una capa de células, está recubierta por la cutícula o pruina que es una sustancia cerosa, especie de barniz muy delicado y delgado al cual se adhieren gran cantidad de microorganismos presentes en el aire, entre ellos las levaduras que desencadenan la fermentación espontánea. De

acuerdo con Radler (1965, 1968, 1970) está compuesta en sus dos terceras partes por ácido oleanólico y el tercio restante por un centenar de compuestos diferentes como alcoholes, ésteres, ácidos grasos, aldehídos, etc. Esta cera cuticular impermeabiliza a la película del grano de uva oponiéndose a la evaporación del agua interior, observándose un aumento de la permeabilidad del hollejo en el transcurso de la maduración del fruto.

Por lo que respecta a las capas de células subyacentes a la epidermis, los hollejos suelen presentar entre 6 y 10 capas, siendo las capas del exterior las que poseen células de menor tamaño y de paredes más gruesas, mientras que por el contrario en las más internas se encuentran las células de mayor tamaño y de paredes más delgadas.

Desde el punto de vista químico, la película contiene: agua, celulosa, algunos ácidos orgánicos, minerales, y finalmente dos grupos de sustancias muy importantes, los taninos y la materia colorante o antocianos. Se ha comprobado que estos contienen cantidades variables de azúcares, así por ejemplo en los hollejos de 1000 granos de uva se encontraron cantidades de azúcares que oscilan entre 0,7 a 3,0 g. Son ricos en celulosa, siendo sus contenidos la cuarta parte del peso seco del hollejo, en pectinas insolubles y en proteínas las cuales llegan a representar entre un 10 y un 15 %. En la tabla adjunta se muestra una aproximación de la composición de los hollejos.

HOLLEJO	%
Agua	25-45
Taninos	0,4-3
Antocianos	0-0,5
Ácidos orgánicos	0,8-1,6
Compuestos nitrogenados	1,5-2
Ceras	1-2
Minerales	1,5-2
Sustancias aromáticas	<1

Tabla 2.2: Composición del hollejo.

En el interior, cerca de la pulpa de la uva, el hollejo tiene una capa que contiene los antocianos. Después otra capa más externa que contiene los taninos y finalmente la cutícula.

Si la uva está madura, acumula en sus capas muchos antocianos y muchos taninos. En cambio si la uva no está bien madura la concentración de antocianos es baja y también la de taninos y en ese vacío de componentes existe clorofila que da sabores a hierba.

Semillas.

Las semillas, generalmente se encuentran en el interior del grano de uva, en número de 4, ya que se originaron a partir de dos ovarios de la flor, y cada ovario tenía 2 óvulos. Pero como la fecundación no es perfecta, el número de semillas varía de 1 a 4. Algunos, como la Sultanina, no poseen ninguna.

Las semillas contienen numerosas sustancias de las que las más importantes son los taninos y las materias grasas.

2.2.2. Localización de antocianos y taninos.

El almacenamiento de los compuestos fenólicos se produce en todos los órganos de la planta, siendo esta acumulación, en cada género, específica para cada tipo de tejido. De forma general esta acumulación se localiza, preferentemente, en las capas tisulares epidérmicas o subepidérmicas. Sin embargo, determinados órganos, como frutos y raíces, son una excepción ya que se encuentran flavonoides en el pericarpio de algunos frutos: naranja roja, uva tintorera, fresa, grosella, etc., Así como betaninas en raíces de remolacha.

En la uva se distinguen los taninos situados en las pepitas de aquellos localizados en las películas (Souquet et al., 1996).

En las pepitas, los taninos ocupan una posición de defensa del embrión en las envolturas externas e internas (Da Silva et al., 1991); su difusión en el medio exterior depende de la solubilización de la cutícula.

En las películas se identifican tres tipos de taninos (Amrani-Joutei et al., 1993):

1. Taninos situados en las vacuolas, bajo la forma de amontonamientos condensados, en las células próximas de la epidermis y granulaciones difusas en las células internas del mesocarpo. Las células externas, de pared gruesa, son denominadas *células de taninos*.
2. Taninos unidos muy fuertemente a la membrana proteofosfolipídica (tonoplasto), insensibles a la acción de los ultrasonidos (Amrani-Joutei et al., 1994).
3. Taninos integrados a la pared celulosopéctica.

Así como ocurre en otros frutos, los antocianos se encuentran ubicados en el hollejo o película del grano de uva (salvo en el caso particular de algunas variedades de vid conocidas como tintoreras, como serían la Alicante Bouchet, Salvador, Rubired y Royalty en las que la pulpa del grano también se encuentra coloreada). Ordinariamente, los antocianos están localizados en las 3 o 4 capas más interiores de la película, donde los antocianos se concentran en las vacuolas, bajo la forma de gránulos más o menos finos. Estos *antocianoplastos* se han encontrado en 70 especies pertenecientes a 33 familias. Se forman solamente mientras dura la síntesis de antocianos, desapareciendo cuando ésta termina y difundiendo entonces los antocianos por todo el volumen de la vacuola. Los estudios de la ultraestructura de los antocianoplastos muestran que están formados por una membrana sencilla tripartita de 10 nm de espesor (Pecket y Small, 1980). El citoplasma y la pared celular no contienen antocianos, pero cuando la célula muere, la difusión de los antocianos a partir de las vacuolas citoplasmáticas coloran el conjunto de tejidos y finalmente pasan en gran parte al mosto durante la maceración. Estos compuestos fenólicos van variando sus concentraciones en el curso de la maduración de la fruta, por lo que generalmente se observa un cambio de color en la maduración, que puede utilizarse como criterio de fecha de recolección.

Estos compuestos coloreados tienen una distribución poco regular, no siendo uniforme, incluso dentro de un mismo tejido (Timberlake y Bridle, 1975; Harbone, 1976; Grisebach, 1982).

En la figura 2.2.4. observamos el esquema de una célula característica de la piel de la uva, mostrando la distribución de los distintos compuestos que podemos encontrar.

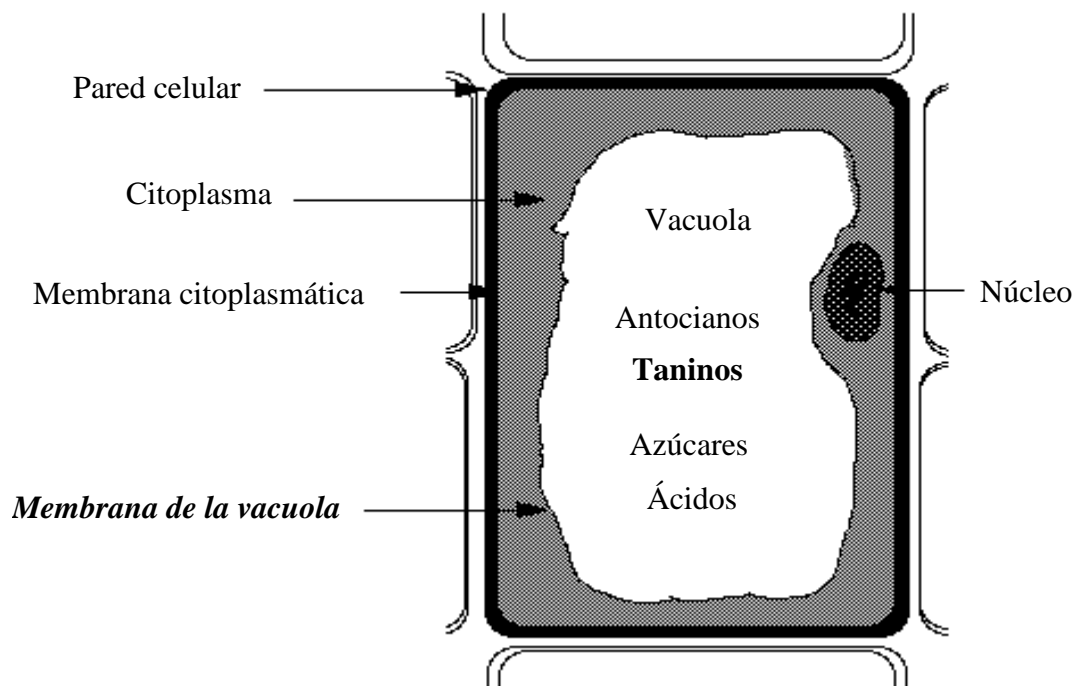


figura 2.2.4:Célula vegetal.

2.3. TANINOS ENOLÓGICOS: INFLUENCIA EN EL COLOR DE LOS VINOS.

Los taninos pueden ser considerados como los antioxidantes naturales de la uva, pueden proteger la materia colorante y los compuestos aromáticos de la acción de los enzimas oxidásicos, como las lacasas, y de los radicales libres que se forman inmediatamente después de la oxidación de moléculas polifenólicas.

La fase que transcurre desde el estrujado hasta el inicio de la fermentación alcohólica es un momento delicado en la que hay una presencia importante de oxígeno disuelto; debido a la escasa presencia de etanol, los taninos presentes en el hollejo y en las pepitas de la uva aún no pueden extraerse eficazmente. Estos compuestos se inmovilizan en la baya y no pueden desarrollar las funciones de protección de los antocianos y de consumo del oxígeno.

Los antocianos, en esta fase, son extraídos rápidamente del hollejo, produciéndose seguidamente su oxidación.

El técnico puede solventar el obstáculo efectuando una adición de taninos exógenos que pueden preservar esta materia colorante mediante enlaces estables. La materia colorante de esta forma se protege de las oxidaciones durante el proceso de transformación de los azúcares en alcohol, hasta el momento en que los taninos de la uva se extraen masivamente.

2.3.1. Clasificación de los taninos enológicos.

Los taninos enológicos pueden clasificarse en dos grandes grupos: taninos condensados o procianidinas y taninos hidrolizables. A su vez, los taninos hidrolizables se subdividen en taninos gálicos o galotaninos y en taninos elágicos o elagitaninos. Como ya se ha comentado anteriormente.

2.3.1.1. Taninos condensados o procianidinas.

Estas moléculas pueden presentar un número muy elevado de unidades, ya que los grados de polimerización medios son del orden de 11 en las semillas (Poinsaut, 2000) y de 30 en los hollejos (Sarni Manchado et al., 1999), si bien el grado de polimerización medio en los vinos se sitúa alrededor de 7 (Ribéreau Gayon et al., 1998a).

El grado de polimerización, así como la presencia de unidades galoiladas parece ejercer una gran influencia sobre la astringencia. Así, ésta crece con el grado de polimerización y también con el porcentaje de unidades galoiladas (Cheynier et al., 2000b).

2.3.1.2 Taninos hidrolizables.

Los taninos hidrolizables no se encuentran de forma natural en la uva, si bien pueden estar presentes en el vino gracias al contacto del mismo con la madera de las barricas (Vivas, 2001). Las principales fuentes de taninos gálicos son la nuez de agallas, la tara y el miribalano, aportando esta última fuente vegetal también algo de tanino elágico.

Las principales fuentes de estos taninos son la madera de roble y de castaño. Los preparados de tanino de quebracho y de mirobalano también aportan ciertas cantidades de tanino elágico.

2.3.2. Propiedades de los taninos enológicos.

Las propiedades atribuidas a los taninos enológicos que pueden ser útiles en la elaboración del vino son múltiples. La propiedad más evidente de los taninos enológicos es la capacidad para unirse a las proteínas, razón por la cual son utilizados en la industria del encurtido de las pieles y para la estabilización del vino blanco. El interés de su aplicación en vinos tintos sería fundamentalmente para estabilizar su color e incrementar su cuerpo, aunque también se ha sugerido otras aplicaciones como eliminación de los olores de reducción, limitación de la oxidación y efecto quelante.

2.3.2.1. Efecto de los taninos enológicos sobre el color del vino.

El efecto sobre el color del vino tinto depende del tipo de tanino utilizado. Los taninos condensados, al tener una naturaleza similar a las procianidinas naturales de la uva y del vino, pueden participar facilitando las combinaciones antociano-tanino y por tanto contribuir a la estabilización de su color (Bautista et al., 2006). Sin embargo, los taninos gálicos y los taninos elágicos no pueden participar directamente en este tipo de proceso. Aun así, pueden contribuir a proteger a los antocianos de la oxidación, ya que son capaces de actuar regulando los fenómenos de oxidoreducción (Vivas, 1997) y también favoreciendo la condensación entre antocianos y taninos con acetaldehído. Al oxidarse ellos, protegerían a los antocianos de la oxidación, logrando de este modo que el vino tenga al final del proceso una mayor concentración de estos compuestos. Otro aspecto a considerar es la posibilidad de que estos taninos contribuyan a incrementar el color del vino gracias al fenómeno de la copigmentación (Lempereur et al., 2002).

La bibliografía existente sobre el efecto de la adición de taninos sobre el color del vino no es muy amplia y en ocasiones contradictoria. Algunos autores constatan un efecto claro sobre el color del vino (Celotti et al., 2000; Pardo, 2001), mientras que otros dudan abiertamente sobre su utilidad (Delteil, 2000). Su

efecto también puede variar, para un mismo tipo de vino, de año en año (Bautista et al., 2005).

2.3.2.2. Efecto de los taninos enológicos sobre el cuerpo y la estructura del vino.

El efecto de los taninos enológicos sobre el cuerpo y la estructura del vino parece ser evidente, ya que en la mayoría de los casos, al adicionar taninos al vino, si que se observa un aumento del índice de polifenoles totales (IPT), así como un incremento de la sensación de cuerpo y estructura (Pardo, 2001). Para conseguir estos efectos, los taninos condensados y los taninos elágicos parecen ser los más aconsejables (Vivas, 1997). Aun así, se recomienda prudencia en su aplicación, ya que la adición en exceso de producto pueden aportar al vino algo de dureza y un cierto sabor amargo (Delteil, 2000).

2.3.2.3. Efectos de los taninos enológicos sobre los olores a reducción.

Uno de los motivos de aparición a aromas a reducido durante la fermentación es debido a bajos niveles del potencial redox en los mostos. Los taninos son sustancias electroactivas que, añadidas al vino o al mosto, son capaces de provocar, en ausencia de oxígeno, variaciones de potencial de oxidoreducción. Por otra parte, también los taninos hidrolizables se transforman en quinonas, que van a formar peróxidos que oxidarán compuestos con grupos tiol como el disulfuro, etanotiol, metanotiol, disminuyendo o eliminando así los compuestos responsables del mal olor en el vino. Parece ser que los taninos hidrolizables son los más eficaces para eliminar estos olores a reducción (Vivas, 1997).

2.3.2.4 Actividad antioxidante de los taninos enológicos.

Los taninos enológicos presentan un elevado poder antioxidante ya que son capaces de reducir tanto la actividad tiroxinasa de la uva como las lacasas fúngicas. La actividad anti-lacasa de los taninos enológicos puede ser de gran utilidad en vendimias afectadas por *Botrytis cinerea*, en las que el riesgo de pérdida de color por la acción de la enzima lacasa es verdaderamente elevado (Leske, 1993).

Los taninos enológicos y especialmente los hidrolizables, sirven de antioxidantes naturales, reforzando la acción protectora de anhídrido sulfuroso y manteniendo su fracción libre por más tiempo en comparación con vinos donde no han sido adicionados.

2.3.2.5 Efecto quelante de los taninos enológicos.

Los taninos enológicos poseen en sus estructuras grupos hidroxilo capaces de formar complejos con cationes metálicos como el Fe^{3+} y Cu^{2+} . Estos complejos precipitan, conduciendo así a la eliminación de parte de los metales presentes en los vinos. Los taninos hidrolizables tienen un efecto quelante mayor que los condensados.

2.4. ORIGEN Y CLASES DE ROBLE.

El roble pertenece al género *Quercus*, de la familia de las fagáceas. Son árboles robustos, de copa ancha, y su vida puede alcanzar hasta mil años. Mundialmente, se encuentra distribuido a lo largo de Europa, América del norte y central, el sudeste asiático y en menor medida, en el norte de África y norte de Sudamérica. De las 250 especies que existen, sólo unas pocas son usadas en tonelería. Francia y Estados Unidos son los dos productores principales de roble destinado a elaborar barricas.

Dentro de los dos subgéneros, *ciclobalanopsis* y *euquercus*, éste último es, al que pertenecen las dos especies más utilizadas en Europa, el **Quercus Robur o pedunculata** y el **Quercus Sessilis o petraea**. El primero crece en suelos fértiles y necesita mucha luz.



1.

2.

3.

figura 1.: 1. *Quercus Robur*; 2. *Quercus Petraea*; 3. *Quercus Alba*.

Suele cultivarse de manera que se generan árboles de gran diámetro, estructuras muy porosas (o grano ancho), y gran cantidad de taninos. El segundo prefiere suelos más pobres, arenosos y exige menos luz. Se cultiva de manera que se consiguen árboles más delgados y altos, con mayor densidad de plantación, grano más fino y menor contenido en polifenoles.

Francia, como principal productor en Europa, presenta varias zonas: Limusin para *Quercus robur* y Argonne, Voges, Bourgogne y Centre para *Quercus petraea*.

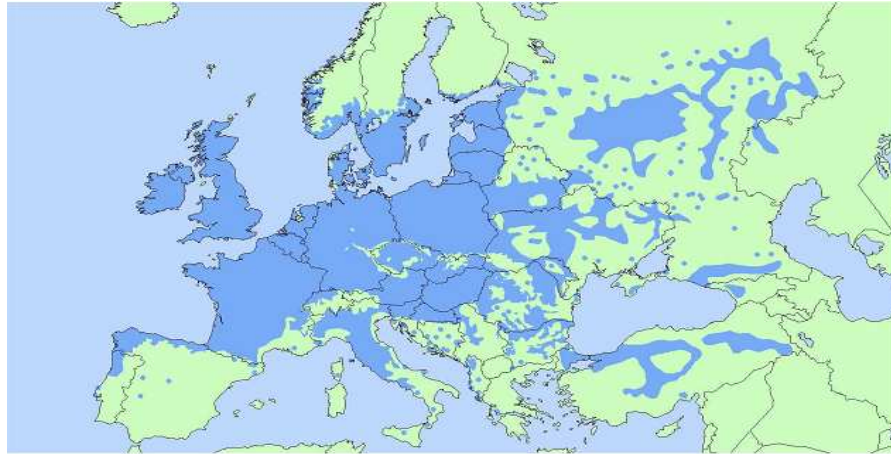


figura 2.: Localización del Roble en Europa.

En cuanto a E.E.U.U., por su gran extensión, conviven varias especies como *Q. Macrocarpa*, *Q. Muehlerbergii*, *Q. Garryana* (muy abundante en Oregón), pero el uso para tonelería se basa prácticamente en la especie *Quercus alba*, que se extiende por los bosque de Virginia, Carolina del Norte, Tennessee, Kentucky, Missouri, Ohio, Wisconsin, y Oregón principalmente. La superficie de cultivo es más extensa en E.E.U.U. que en Francia, pero en Europa han comenzado a explotarse bosques de países como Hungría, Rusia, Polonia, Yugoslavia, Italia e incluso España, en el País Vasco, donde predomina la especie *Q. Pyrinaice* y *Q. Toza* (Serrano, 2002).

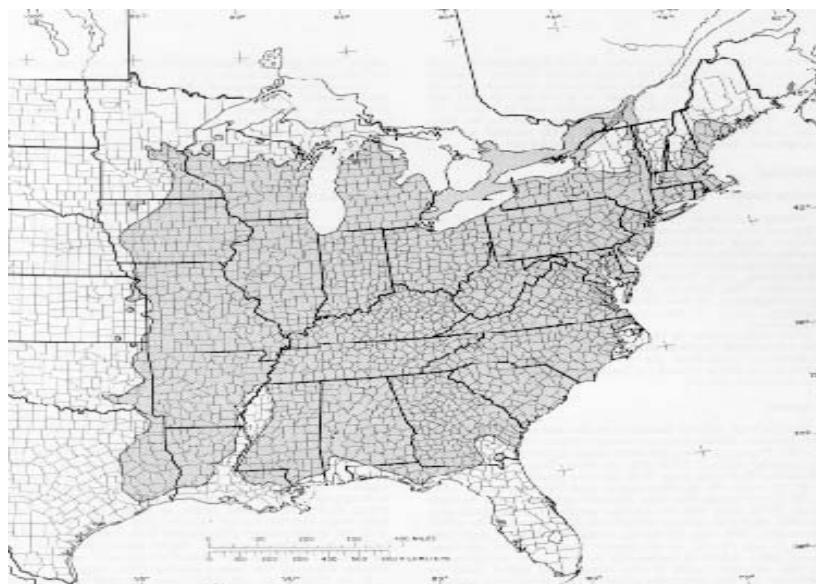


figura 3.: Principal zona de producción de Roble americano.

2.4.1. Composición Química de la Madera de Roble.

2.4.1.1. Compuestos mayoritarios.

Celulosa

La celulosa es el constituyente más abundante en los vegetales. En el roble representa el 40% de la masa de la madera seca (Moutounet et al., 1999).

Hemicelulosa

Representan el 25% de la madera seca (Moutounet et al., 1999). Las cadenas de hemicelulosas están asociadas de forma no covalente a las fibras de celulosa en las paredes celulares. Dentro del término hemicelulosas están representados varios polisacáridos complejos como xilanos, xiloglucanos y mananos, algunas veces acetilados (Singleton, 1995).

Lignina y lignanos

La lignina es el tercer constituyente mayoritario de la madera y representa el 25-30% del peso seco (Moutounet et al., 1999). Es un polímero tridimensional formado mayoritariamente por copolimerización de tres unidades de fenilpropano sustituidas, unidas entre sí por enlaces éter.

La principal función de la lignina en los vegetales es de sostén y conducción y aporta a la madera resistencia a la compresión.

Según Vivas et al. (1998), la lignina puede clasificarse en dos categorías: la lignina soluble y la lignina extraíble. La primera se corresponde con la fracción de bajo peso molecular extraíble con soluciones acuosas o hidroalcohólicas. La segunda es extraíble con etanol en medio ácido. La lignina extraíble contiene mayor concentración de ácido elágico mientras que la lignina soluble es especialmente rica en aldehídos libres como vanilina y siringaldehído y lioniresinol.

2.4.1.2. Compuestos minoritarios.

Cumarinas y quinonas

Las cumarinas pueden considerarse como derivados de los ácidos hidroxicinámicos que se forman mediante esterificaciones intramoleculares.

Pueden estar en forma de heterósido, forma en la que se encuentran mayoritariamente en la madera de roble, con un sabor muy amargo, y en su correspondiente aglicona, mucho menos amarga. La escopoletina, estructuralmente próxima al ácido ferúlico, es la cumarina más abundante en el roble de origen americano y europeo, aunque también se ha demostrado la aparición de otras cumarinas como aesculetina, ombelliferona y metilombelliferona (Salagoity-Auguste et al., 1987).

Ácidos y aldehídos benzoicos y cinámicos

Los ácidos gálico y elágico han sido descritos en la madera de roble (Viriot et al., 1994; Klumpers et al., 1994), así como también la presencia de ácido vanílico, siríngico y ferúlico (Fernández de Simón et al., 1999). Los aldehídos cinámicos puestos en evidencia en la madera de roble, sinapaldehído y coniferaldehído, son productos de degradación de la lignina, al igual que la formación de aldehídos benzoicos como la vainillina y el siringaldehído (Artajona Serrano, 1991). El eugenol es el fenol volátil más abundante en las maderas de roble americano y europeo, y la concentración de otros fenoles como isoeugenol, fenol, cresol, guayacol, acetovanillona y 4-vinilguayacol no es abundante en la madera de roble blanco americano (Marco et al., 1994).

Taninos condensados e hidrolizables

La descripción de estos compuestos la encontramos en el punto 2.1. Compuestos fenólicos: Definiciones y Tipos; en el apartado “ Taninos”. Aunque en este apartado deben ser destacados los taninos hidrolizables.

Los taninos hidrolizables son ésteres oligoméricos en los que la unidad estructural es un poliol, generalmente glucosa, cuyos grupos hidroxilo están esterificados por los ácidos gálico y elágico. Aunque algunos autores señalan la presencia de galotaninos en la madera de roble (Viriot et al., 1994), cuantitativamente son mucho menos importantes que la familia de taninos elágicos o elagitaninos (Masson et al., 1996).

Lactonas

El principal componente volátil de la madera de roble, la β -metil- γ -octalactona, es altamente específico de esta especie y sus propiedades organolépticas hacen que tenga una gran influencia sobre el aroma de los vinos (Mosedale et al., 1999; Pérez-Prieto et al., 2002).

El potencial aromático de una madera de roble está condicionado no solamente por el valor total de concentración de la β -metil- γ -octalactona, sino sobre todo por su concentración en el isómero *cis*- ya que tiene un umbral de detección de 2 a 12 veces más bajo que el isómero *trans*- en una solución modelo acuosa o hidroalcohólica (Chatonnet, 1992) y 20 veces más bajo en medio gaseoso (Abbott et al., 1995).

2.4.2. Tostado de la madera.

El tostado influye en la composición química de la madera ya que el calentamiento causa una reorganización de la estructura macromolecular de sus polímeros seguida por reacciones químicas, originándose monómeros que dan a la madera nuevas características (Mosedale y Puech, 1998; Hale et al., 1999) y favoreciendo la extracción de sustancias (Giménez Martínez et al., 1996). La intensidad del tostado tiene gran influencia sobre la cesión de compuestos aromáticos de la madera, existe un nivel óptimo de tostado a partir del cual la concentración en compuestos extraíbles desciende fuertemente (Chatonnet et al., 1990; Moya, 2003). La termodegradación química se manifiesta en varios aspectos (Aleixandre y García, 1991).

Los poliósidos se degradan con formación de aldehídos furánicos. Las aldohexosas, constituyentes de la celulosa, producen hidroximetilfurfural y metilfurfural y, las pentosas, componentes principales de las hemicelulosas, producen furfural. Estos aldehídos furánicos tienen olores de almendras tostadas y caramelo (Marco et al., 1994).

La degradación térmica de la lignina forma fenoles volátiles, fenilcetonas y aldehídos fenólicos. Entre los fenoles volátiles destacan el guayacol y eugenol. Respecto a los aldehídos, se forman grandes cantidades de vainillina, siringaldehído, coniferaldehído y sinapaldehído. La vainillina participa intensamente en el olor característico de la madera tostada.

Los taninos hidrolizables son también susceptibles de modificación por los procesos de termólisis durante el tostado. Se origina una disminución de la cantidad global de elagitaninos extraíbles. El incremento del tiempo de tratamiento provoca una acentuación de este efecto, pudiendo desaparecer de las capas superficiales (Moutounet et al., 1992).

Finalmente, el tostado también degrada los lípidos para formar lactonas y se el calentamiento se prolonga puede incluso producirse la destrucción total de estas sustancias (Chatonnet et al., 1989).

2.5. VIRUTAS DE ROBLE.

Como es sabido, el envejecimiento de vinos de calidad en barricas de roble es una práctica tradicional en nuestro país, y en otros países de la Unión Europea con alta tradición vitivinícola. Este sistema de envejecimiento lleva consigo un incremento importante de la calidad del vino, especialmente en sus características de aroma, gusto, color y cuerpo, pero tiene sin embargo un alto coste económico, ya que necesita el mantenimiento y la inversión constante en barricas de roble y la inmovilización de la producción de vino en la bodega durante largos periodos de tiempo, con el consiguiente gasto en personal especializado y espacio e instalaciones adecuadas. Este coste económico queda repercutido en el precio del producto final, que será tanto mayor cuanto más largos sean el tiempo de estancia del vino en barrica y el necesario periodo posterior de envejecimiento en botella. Esto ha hecho que técnicos de países con una menor tradición vitivinícola diseñen métodos de envejecimiento alternativo El uso de roble fragmentado: virutas, pequeñas duelas o serrín de roble, surge en países vinícolas emergentes como, Australia, Estados Unidos, Chile, Canada, Sudafrica, Argentina o Nueva Zelanda que no tienen tradición enológica, ni controles reglamentarios estrictos, contrariamente a lo que sucede en la Unión Europea. Estos países han constituido, como ya hemos indicado, el denominado “Grupo Mundial del Comercio del Vino” (GMCV), tomando como acuerdo básico la “Aceptación Mútua de Prácticas Enológicas”, sobre la filosofía de actuación de que “El Cultivo de la Vid y las Prácticas Enológicas Evolucionan Continuamente”.

Estas prácticas de imitación del envejecimiento no estaban totalmente permitidas por la legislación de la Unión Europea y las legislaciones nacionales de los estados miembros, pero sí eran prácticas admitidas por la Oficina Internacional de la Vid y el Vino (OIV), ya que no presentan problemas de salud, seguridad o integridad. Ya en la Asamblea General de la Organización Internacional de la Vid y el Vino (OIV), reunida en Adelaida (Australia) en Octubre del año 2.001, se aprobó la resolución OENO 9/2.001, por la que se incorporaba al Código Internacional de Prácticas y Tratamientos Enológicos, a demanda de los denominados “nuevos países productores” (GMCV), el empleo de trozos de roble en la elaboración de vinos. Ahora bien, mientras que esta práctica no se incorporara al Anexo IV- Lista de Prácticas y Tratamientos Enológicos

Autorizados, del Reglamento CE 1.493/1.999 del Consejo, que establece la Organización Común del Mercado del Vino, seguía estando prohibida en la Unión Europea.

No obstante, se continuaba permitiendo la importación de vinos de EEUU, obtenidos con prácticas enológicas no asumidas en la UE.

Esto situaba a los vinos europeos en otro nivel de competitividad, especialmente en los llamados nuevos mercados, y frente a los vinos del Nuevo Mundo.

Todo esto llevó a la Unión Europea a aprobar el Reglamento (CE) nº 2165/2005 de 20 de diciembre de 2005 que modifica el Reglamento (CE) nº 1493/1999 por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola. En el anexo IV del Reglamento (CE) nº 1493/1999 recoge la lista de prácticas y tratamientos enológicos autorizados para la elaboración de los vinos. Una serie de prácticas y tratamientos enológicos que no figuraban en dicho anexo han sido autorizados por algunos Estados miembros de acuerdo con las condiciones previstas en el Reglamento (CE) nº 1622/2000 de la Comisión, de 24 de julio de 2000, que fija determinadas disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1493/1999, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola, e introduce un código comunitario de prácticas y tratamientos enológicos. El anexo IV queda modificado en varios puntos de los cuales destacamos el punto cuatro, en el que se incluye la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de los vinos. Queda condicionada la aprobación a que se desarrollen posteriormente, ya en un Reglamento, las normas de utilización (reglamento de prácticas enológicas) y de presentación (etiquetado).

2.5.1. Formato y propiedades.

Con la adición de viruta lo que se busca es:

- Intensificación de la parte frutal: La wiskylactona (β -methyl γ -octalactone) con su tipo aromático que se acerca del coco, aporte una nota frutal. Por lo tanto la madera interviene de manera favorable intensificando los aromas frutales naturales de los vinos.
- Amplitud de la gama aromática (con viruta tostada): Las modificaciones de la madera aportada por el tostado, dependen del nivel de tostado al que se la

somete. Temperatura y tiempo son los parámetros principales. Cada nivel de tostado tiene sus propias características: neutro o aromático, especia, tostado, vainillado, torrefacción, ahumado..., la gama es amplia y contribuye fuertemente a la complejidad de los grandes vinos.

- Aumento del volumen y de la estructura: El aumento de la estructura y del volumen en boca está provocado por la liberación de taninos y de polisacáridos de la madera. Intervienen de manera directa o indirecta, por el intermediario de reacciones con los compuestos del vino.
- Aumento del dulzor: Otros compuestos extraíbles participan al aumento del dulzor y de la redondez de los vinos. La extensión de este aporte depende del tratamiento (temperatura de tostado, eliminación o no de los taninos...).
- Estabilización del color del vino: La estabilización del color es debida a la protección de los antocianos gracias a los compuestos que aporta la madera de la viruta, ya sea durante fermentación o durante una ligera crianza. Estos compuestos son principalmente taninos hidrolizables los cuales se oxidan y evitan que lo hagan los antocianos, de manera que preserva el color y aumenta la calidad del vino.

El tamaño y la forma de los chips de roble les confieren distintas propiedades: volatilidad de los aromas, difusión de los elementos solubles, reacción a los tratamientos térmicos, en función de la relación superficie / volumen. Como no existe una forma ideal, cada forma debe ser tratada de manera específica. Los chips tienen un tamaño de 5 a 20 mm.(figura 2.5.1)

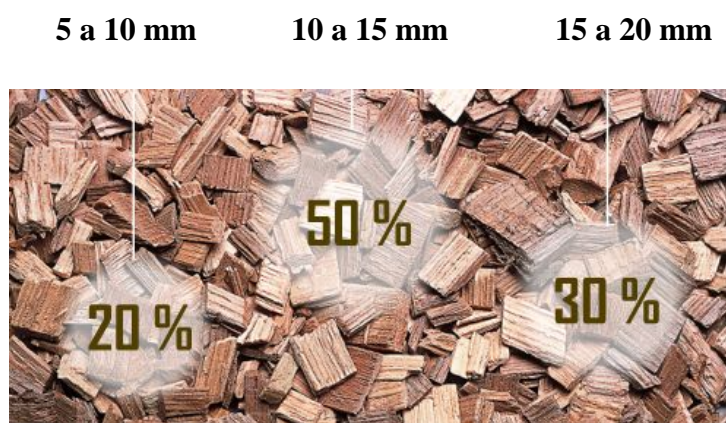


figura 2.5.1: Diferentes tamaños de las virutas de roble.

2.5.2. Fabricación de la viruta.

La madera de tonelería es secada de manera tradicional, pero durante ese periodo se produce más que una deshidratación una madurez de la madera. En ese momento, los compuestos de la madera se modifican, con una evolución propia para cada compuesto, en función de las condiciones de almacenamiento.

Esta etapa condiciona la calidad de las maderas, utilizadas en enología. Se sigue y controla un stock de madera secándola durante 2 años, para garantizar la calidad requerida.

La madera adquiere sus características principales que valorizarán el vino, beneficiando al productor.

Los compuestos característicos de la madera de roble de uso enológico vienen recogidos en el punto 2.4.1. Composición Química de la Madera de Roble.



Almacenamiento durante maduración de la madera.

El tostado modifica de manera fuerte los compuestos de la madera. La madera adquiere más complejidad aromática, que va desde las especias al tostado, con notas de vainilla o café, según el nivel de tostado. En el apartado 2.4.2. Tostado de la madera, podemos encontrar los efectos que produce el tostado en la madera y los compuestos y características que se van a aportar con el mismo.

Los parámetros de tostado (tiempo y temperatura) están controlados de manera rigurosa para la reproducibilidad de la producción de los distintos tipos de virutas.

El proceso de fabricación sigue un esquema simple: corte y producción de los chips, extracción o no de los taninos (según la gama), tostado o no, mezclas, acondicionamiento.

Cada lote debe ser seguido, para recibir un tratamiento apropiado. En consecuencia, la identificación a la recepción de los lotes de madera es indispensable para un buen control de la madurez.



Marcado de las tablas de roble para su identificación.

Los controles de calidad se efectúan por el seguimiento efectivo de cada lote durante su elaboración, los cuales quedan registrados y permiten reencontrar la composición y la historia del lote a partir de su número de identificación, con lo que se asegura la calidad concreta y específica de la madera.



Unidad de producción de las virutas de roble.



Sistema de tostado.



Sistema de cortado de las tablas en chips de roble.



Obtención de viruta.



Viruta sin tostar.



Viruta tostada.

Los chips utilizados suelen estar acondicionados en sacos de uso alimentario de poliéster de 10 Kg., que se sumergen directamente en la cuba.

Un código color sobre cada bolsa permite identificar el tipo de chips acondicionado, antes y después de su utilización, para facilitar el control y de asegurar la manipulación.

Otra bolsa transparente en polietileno protege cada saco. Una etiqueta menciona el tipo de madera y el número de lote.



Formatos para su uso.

El tipo de manera a utilizar y las dosis a aplicar deben estar pensadas según el tipo de vino, el objetivo buscado, y según el momento de aplicación (pre o post FA). Por eso las dosis pueden variar de 0.25 a 15 g/L.

La liberación de los compuestos solubles parece rápida. Sin embargo, el aroma intenso que aparece de 2 a 3 semanas después se funde posteriormente ; de igual forma para todos los compuestos aportados por la madera.

Los distintos tipos usados se diferencian en el tipo de tratamiento térmico al que han sido sometidas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

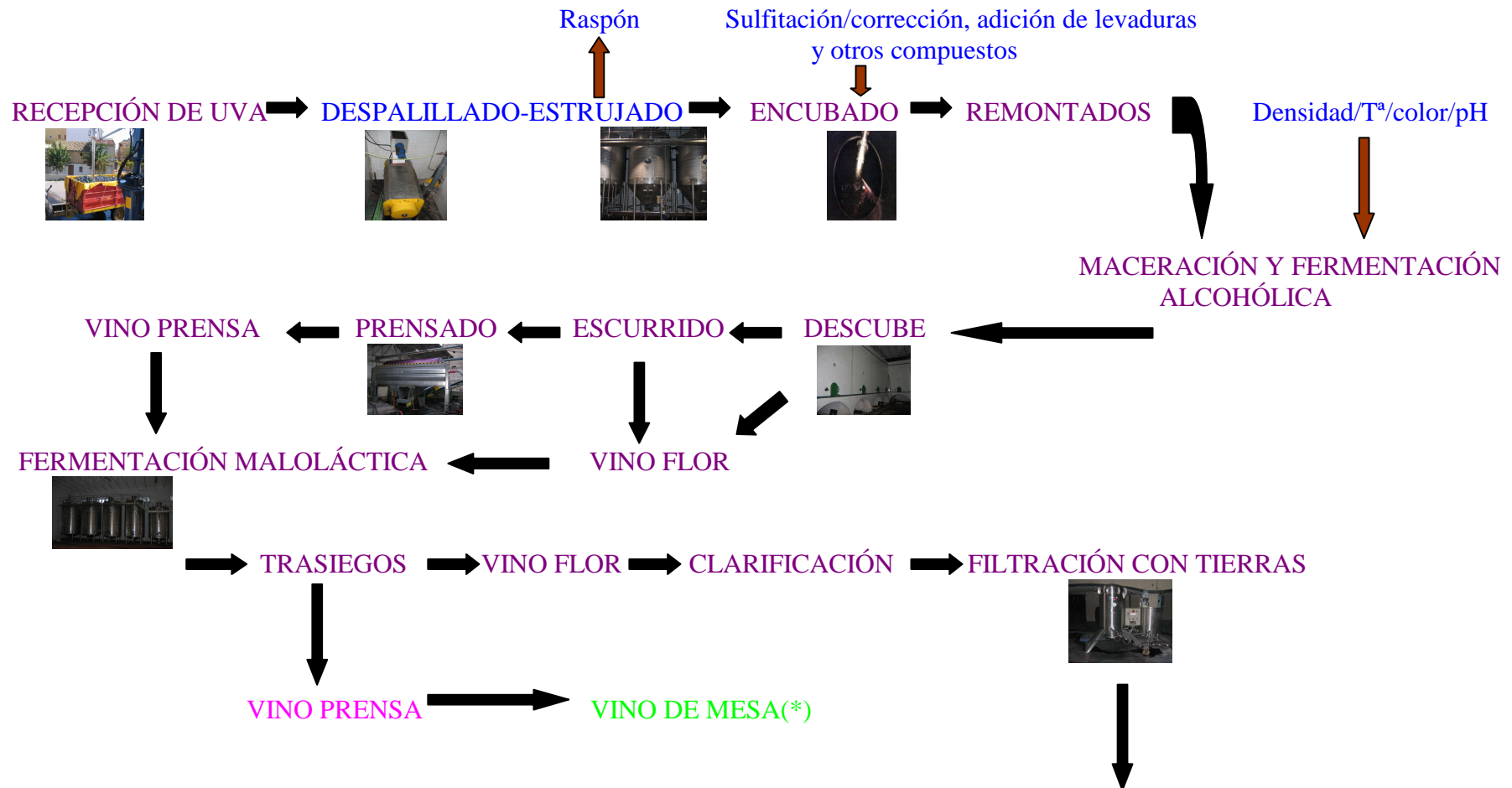
3.1 VINIFICACIÓN EN TINTO.

3.1.1. Elaboración de vino tinto.

El vino es una bebida alcohólica obtenida por la fermentación del jugo del fruto de la “*Vitis vinífera*”, las uvas, frescas o ligeramente pasificadas, que presenta una graduación mínima natural adquirida del 9% vol. Existen en este último punto algunas excepciones, las de los chacolies (7% vol., mínimo) y los vinos dulces naturales (no menos del 8% vol.).

Las etapas llevadas a cabo durante un proceso general de elaboración de vino tinto son las que se muestran en el siguiente esquema:

VINIFICACIÓN EN TINTO





(*) No todos los vinos de calidad pasan por microfiltración o si lo hiciesen no pasarían por todas las etapas.

(*) Antes de ser embotellado también pasa por estabilización con frío y microfiltración.

Uva Monastrell: Variedad de origen español, de gran rusticidad y elevada resistencia a la sequía, necesitando una buena isolación. Su producción no es muy elevada. De esta variedad se obtienen mostos de grado medio o alto, con acidez total media-baja, ricos en oxidasas y muy aromáticos. Sus vinos presentan un aroma varietal extraordinario, con sensaciones de fruta madura, dulce y baja astringencia.



Recepción de uva: Una vez dados los permisos para la recolección de la uva, ésta se recibe en bodega, donde el primer paso es la pesada de la misma y análisis iniciales, para lo que se realiza una toma de muestras mediante un muestreador automático que realiza la toma en diferentes zonas del remolque para lograr una muestra representativa.

Despalillado-estrujado: Con la eliminación del escobajo de los racimos lo que se pretende es que el mosto no posea un exceso de tanino ni sabores herbáceos demasiado predominantes. Una vez eliminado, los granos de la uva son molidos ligeramente para liberar el zumo y facilitar la acción posterior de las levaduras.

Encubado: Toda la pasta creada junto con el mosto se llevan a fermentadores de acero inoxidable semiautomatizados que nos permiten el control de la temperatura y establecer la frecuencia de regado del sombrero para realizar la extracción de los pigmentos que darán el color al vino.

Antes de llenar los fermentadores estos se siembran con enzimas pectolíticas que facilitarán la extracción de los productos deseados.

Durante esta fase se realizaran una serie de correcciones:

* Sulfitación (SO_2).

Son varias las razones por las que se adiciona, entre ellas podemos destacar su acción protectora como antiséptico, antioxidante, desinfectante, abrillantador y facilita la extracción del color.

Dosis empleada: es función del estado de la uva.

* Corrección de acidez total.

Para ello utilizamos ácido tartárico, ya que es el ácido natural de la uva. Con esta corrección llevamos el mosto a su pH óptimo para llevar la fermentación (en torno a 3,60). Dosis: es función del estado de la uva.

*Adición de otros productos que favorecerán el desarrollo de las levaduras, tales como, fosfato biamónico, vitaminas del grupo B, como tiamina, riboflavina, niacina, etc; otros minerales esenciales para el buen desarrollo de las mismas y productos como los taninos y virutas que son el objeto de estudio de este proyecto.

*Finalmente, también se adicionan en esta fase las levaduras, que son microorganismos unicelulares capaces de transformar el azúcar en alcohol y aportar ciertos aromas característicos al vino.

Remontados: Consisten en regar el sombrero flotante de hollejos que se acumula en la parte superior de la cuba con el mosto en fermentación proveniente de la base del depósito para así extraer la mayor cantidad de color y tanino desde el hollejo. En instalaciones automatizadas se programan en función del color que se pretenda obtener en el vino.

Maceración y fermentación alcohólica: La maceración es el periodo en el que el vino permanece en contacto con los hollejos, los cuales aportan al vino cuerpo, estructura, concentración, taninos y color.

La fermentación es el proceso bioquímico mediante el cual las levaduras transforman los azúcares del mosto en alcohol, gas carbónico y otros compuestos que aportan sabor y aromas característicos en función de la levadura usada.

Trasiegos: Una vez acabada la fermentación alcohólica se traslada el vino a otros depósitos para que precipiten los compuestos que le dan turbidez como fangos, agregados de proteínas, restos de hollejos, pepitas, etc, con el fin de que esté lo más limpio posible para la siguiente etapa.

Descube: Transcurrido el tiempo de maceración (corto o largo, dependiendo del tipo de vino a obtener), el mosto/vino se separa de los hollejos.

Prensa: Se presan los orujos, los cuales originan el vino “prensa”. Este posee más color es más duro, astringente y áspero. Se destina a vinos de menor calidad, como los vinos de mesa.

Fermentación maloláctica: No intervienen las levaduras. Es llevada a cabo por bacterias lácticas, que son las encargadas de transformar el ácido málico del vino en ácido láctico, consiguiendo hacer al vino más suave y agradable.

Filtración con tierras: Se utilizan las tierras fósiles o las perlitas como materias filtrantes, donde una vez formada una precapa de éstas sobre un soporte del filtro, se hace pasar el líquido a filtrar de forma continua, a medida que recibe un aporte o aluvionado de los mismos materiales, consiguiéndose de este modo la limpieza de los mostos o vinos en profundidad.

Estabilización con frío: Con este método se pretende evitar que luego en botella se produzcan precipitaciones indeseadas, tales como sales de ácido tartárico, metales, proteínas, materia colorante, etc; que causarían un efecto visual negativo hacia ese vino.

Microfiltración: Consiste en hacer pasar un líquido a través de una membrana porosa, donde por el efecto del tamizado quedan retenidos en su superficie los microorganismos: levaduras y bacterias de mayor tamaño que los poros de la membrana. Con este motivo es importante que los líquidos a filtrar lleguen lo más limpio posible.

Crianza en bodega: Con la crianza se pretende obtener aromas complejos en el vino y una estabilización del color que asegure una vida más larga al vino. La bodega puede ser de roble francés o roble americano. Durante este proceso se controla la temperatura, humedad y aireación del ambiente.

Crianza en botella: El vino puede reposar en la botella por un número de años que va a depender de la capacidad de guarda dada principalmente por su cuerpo y estructura. La legislación exige un tiempo mínimo en botella, después de una crianza en bodega, antes de que el vino pueda ser comercializado.

3.1.2. Descripción de la experiencia realizada.

Se han elaborado cuatro vinificaciones distintas, con objeto de estudiar la influencia en la estabilización del color de la adición de dos tipos de virutas de madera y dos tipos de taninos enológicos. Las vinificaciones estudiadas son:

- 1) Vinificación con adición de *taninos condensados*.
- 2) Vinificación con adición de *virutas de roble sin tostar*.
- 3) Vinificación con adición de *virutas de roble con tostado simple*.
- 4) Vinificación con una *mezcla de taninos*; condensados e hidrolizables.

Todas estas elaboraciones se han realizado en la campaña 2005 y han sido elaboradas con la variedad Monastrell.

Las vinificaciones se han realizado a nivel industrial en la cooperativa “Nuestra Señora del Rosario”; Bullas; por lo que la uva pertenece a la D.O. de Bullas. En estas se han empleado fermentadores industriales de 60.000 litros para ver el efecto de los productos adicionados en procesos industriales.

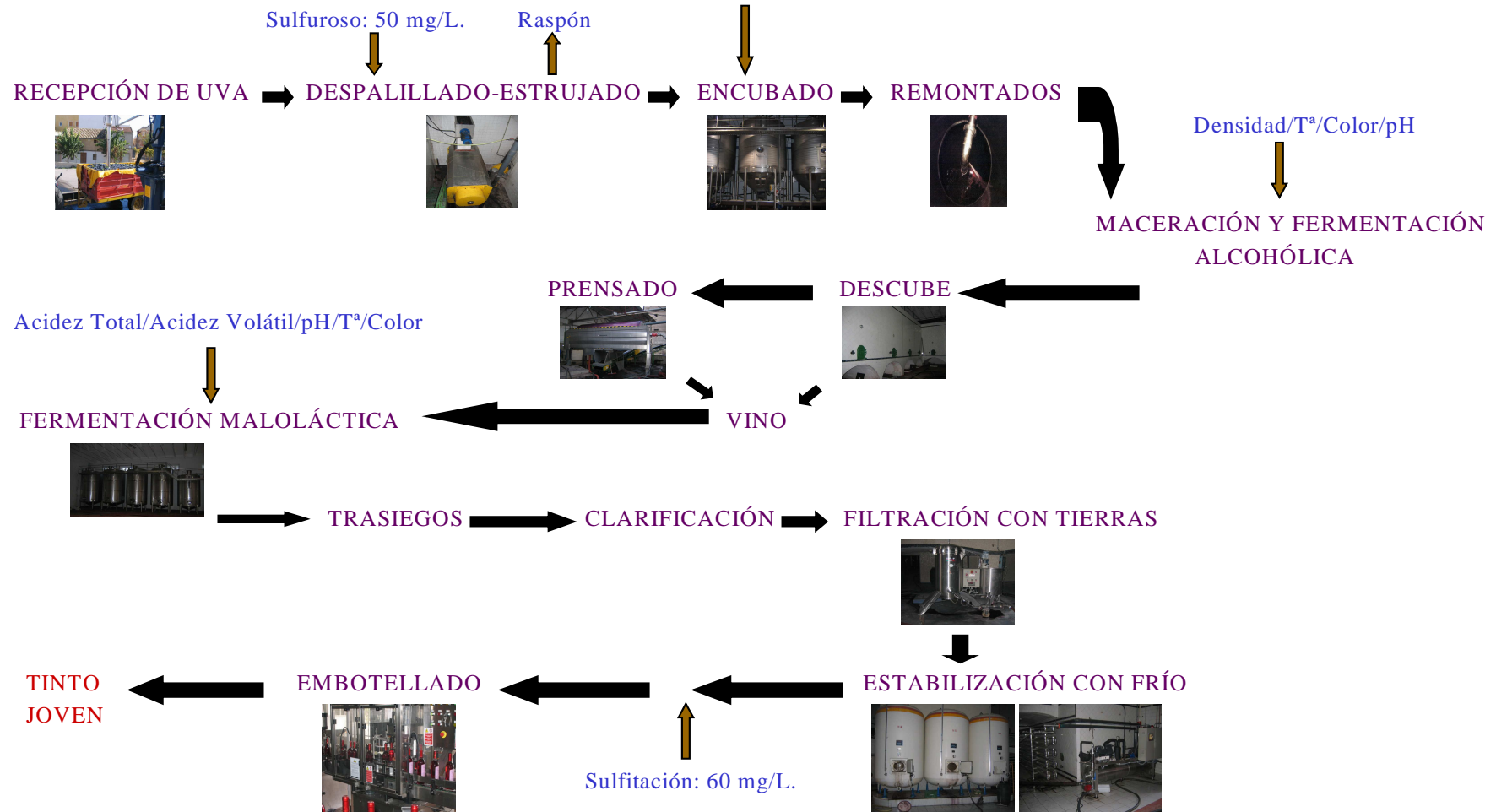
En todas ellas se han usado los mismos productos para llevarla a cabo, exceptuando los que son objeto de este estudio.

Se ha finalizado el proceso de vinificación en la Bodega de la Planta Piloto del Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, tras quedarnos unos depósitos de 100 litros de cada fermentador para seguir la evolución individual de cada vino.

El diagrama de elaboración de todas las vinificaciones se indica a continuación:

VINIFICACIÓN EN TINTO DE LA EXPERIENCIA

Ác. Tartárico: 1-1,5 g/L.; Fosfato biamónico: 10 g/hL.; Actipasa plus: 10 g/hL.;
 Endozym ICS-10 Rouge: 0,67 mL/hL.; Actimax Vit.: 20 g/hL.; Uvaferm L2056:
 200 mg/hL.; Viruta tostado simple: 1 g/L.; Viruta sin tostar: 1 g/L.; Taninos
 condensados: 10 g/hL.; Mezcla taninos: 50 mg/L.



Los productos usados y las dosis empleadas son:

- **SULFOFERMENT.**

Es una solución concentrada de bisulfito amónico para el tratamiento de mostos en fermentación. Contiene 600 g/L de SO₂ total y 172 g/L de nitrógeno expresado en ión amonio NH₄⁺.

La adición de SO₂ al mosto o vino está encaminada a mantener la estabilidad microbiológica, aportando a su vez un efecto antioxidante y reductor en ambos.

Sin embargo, no todo el SO₂ añadido contribuye a proporcionar tales efectos. El SO₂, una vez añadido al mosto/vino se combina rápidamente con compuestos del medio, encontrándose en el medio con dos fracciones bien diferenciadas, la fracción de SO₂ combinada y la fracción de SO₂ libre.

La fracción de SO₂ libre corresponde a un pequeño porcentaje del SO₂ total, y se encuentra influenciado por la temperatura del medio. Esta fracción es la responsable del efecto antioxidante, principalmente debido a dos hechos:

- Inhibición de enzimas oxidantes:
 - DPO
 - Lacasa.
- Efecto reductor.

Su efecto antimicrobiano es debido a una pequeñísima fracción dentro del SO₂ libre denominada SO₂ molecular, también denominada fracción activa o eficaz. El SO₂ molecular es el responsable de la acción antimicrobiana, y está directamente relacionado con el pH del medio.

La dosis empleada en todas las vinificaciones ha sido de 50 mg/L.

- **ENDOZYMIC 10 ROUGE.**

Es un enzima pectolítico indicado para extracción del color y de los aromas en uvas tintas. Es un preparado enzimático completo que complementa con la actividad pectolítica una elevada acción celulásica y hemicelulásica. Su empleo permite obtener la máxima concentración de sustancia colorante, taninos nobles del hollejo y aromas varietales,

permitiendo al mismo tiempo reducir la intensidad de prensado o los tiempos de maceración, una de las causas principales de la extracción de taninos amargos. El uso de este producto determina un aumento de hasta el 4% del rendimiento en vino flor.

El formato en que se presenta comercialmente es en cajas con 10 blisters de 100 gramos, en forma líquida súper-concentrado, de fácil empleo.

La dosis empleada en todas las vinificaciones ha sido de 0,67 mL/hL.

- **ÁCIDO TARTÁRICO.**

El ácido tartárico usado es autorizado para uso alimentario. Su función es llevar el pH del mosto a su valor correcto (pH 3,6), para realizar la fermentación alcohólica.

La dosis empleada depende de la uva de partida, por lo que no hubo que adicionarle la misma dosis a todos los “vinos”. La dosis empleada varió entre 1 y 1,5 g/L.

- **FOSFATO BIAMÓNICO.**

Su principal función es aportar nitrógeno al mosto para facilitar el desarrollo de las levaduras. Se presenta en forma de sal biamónica en sacos de 25 kg.

La dosis empleada en todas las vinificaciones ha sido de 10 g/hL.

- **ACTIPASA PLUS.**

Este producto es un activador de la fermentación, siendo a su vez un nutriente de fermentación a base de fosfato de amonio y tiamina. Compensa las carencias de nitrógeno y fósforo del mosto, facilitando la multiplicación celular. La asimilación temprana de tiamina acorta la fase de latencia celular y permite un arranque más rápido de la fermentación.

Su composición principal es:

- *Fosfato biamónico*: fuente de nitrógeno inorgánico, de rápida asimilación. Posibilita

- síntesis de aminoácidos y proteínas. El aporte de fósforo compensa las deficiencias del mosto en este elemento, vital para la síntesis de energía en forma de ATP.
- *Tiamina (vitamina B1)*: activa el crecimiento celular, de utilidad en los primeros estadios de la fermentación. Coenzima fundamental en la descarboxilación de los cetoácidos, limita la producción de ácido pirúvico y acetaldehído.

La dosis empleada en todas las vinificaciones ha sido de 10 g/hL.

- **ACTIMAX VIT.**

Este producto es un nutriente que equilibra los mostos en nitrógeno orgánico y bioelementos.

Es un autolisado de levaduras preparado para su aplicación en mosto o vino terminado.

- En fermentación alcohólica, las levaduras autolisadas constituyen una importante fuente de nitrógeno orgánico en forma de aminoácidos primarios, de asimilación lenta. Corrige las carencias nitrogenadas del mosto sin riesgos de subida de temperatura ni desviaciones sensoriales.
- Supone un aporte equilibrado en vitaminas y minerales, cofactores metabólicos de levaduras y bacterias lácticas.
- Las paredes celulares de las levaduras inactivas incrementan el contenido de polisacáridos. También son un excelente adsorbente de sustancias tóxicas.

La dosis empleada en todas las vinificaciones ha sido de 20 g/hL.

- **UVAFERM L2056.**

Las levaduras usadas son de la especie *Saccharomyces cerevisiae* (raza fisiológica *cerevisiae*). Seleccionada de los viñedos de la Ribera del Ródano, por el Comité Interprofesional CICDRV, Francia.

Características fermentativas:

- Es una cepa de óptimo vigor fermentativo, con cinética de fermentación muy regular.

- Es capaz de fermentar a partir de 13 °C, soportando las altas temperaturas de fermentación.

Presenta excelente tolerancia al alcohol y elevado poder alcoholígeno (16% vol.).

- Posee carácter Killer, capaz de inhibir las levaduras contaminantes y facilitar su implantación.

- Presenta baja producción de acidez volátil y sulfhídrico y es sensible a uvas excesivamente botritizadas.

Efectos sobre la composición del vino:

- Seleccionada por su capacidad para exaltar el aroma del vino, ya sea partiendo de variedades neutras, o de variedades de gran aroma primario, tanto en rosados como en tintos.

- Cepa capaz de producir ésteres y otros aromas secundarios que exaltan el carácter odorante del vino, resaltando los componentes aromáticos varietales de la uva.

- Impide la pérdida de color por tener su pared celular con muy poca adherencia a los polifenoles y antocianos.

Efectos organolépticos:

- Mantenimiento de los aromas varietales afrutado y del color del vino.

La dosis usada en todas las vinificaciones ha sido de 200 mg/L.

ADICIÓN DE TANINOS ENOLÓGICOS.

a) Vinificación 1.

FERMOTAN LÍQUIDO.

Presenta tres tipos de taninos (elágicos, proantocianídicos y gálicos), los cuales desarrollan una triple acción protectora de los antocianos. La misión principal de este aditivo es proteger del oxígeno los antocianos extraídos de la uva, generando formas poliméricas con las proantocianidinas adicionadas.

La dosis usada ha sido de 20 mL/hL.

b) Vinificación 2.

TANICOL SUPRA.

Es un extracto proveniente de semillas de uva, quebracho, castaño y vainas de ara caramelizadas. Básicamente se trata de taninos condensados (proantocianidinas) con un bajo porcentaje de taninos hidrolizables.

La dosis usada ha sido de 10 g/hL.

ADICIÓN DE VIRUTAS ENOLÓGICAS.

c) Vinificación 3.

VIRUTA DE ROBLE SIN TOSTAR.

La madera sin tostar conserva todas las características atribuidas a su origen botánico, zona geográfica de procedencia y también a la calidad del acondicionamiento que ha recibido.

La madera puede intervenir de manera favorable sobre el color del vino, protegiendo y estabilizando los antocianos. Cuando se utiliza en fermentación puede procurar un color más intenso y más estable. Los polisacáridos naturales de la madera pueden aportar dulzor, reforzando la estructura en boca. El volumen también se podría ver aumentado, logrando mayor redondez y estructura. La dosis usada ha sido 1 g/L.

d) Vinificación 4.

VIRUTA DE ROBLE CON TOSTADO SIMPLE.

El surtido de maderas con un tostado simple se logra dando a cada madera diferentes niveles de tostado, que luego al mezclarlas, da complejidad al vino.

Junto con la expresión frutal, las características aromáticas se enriquecen de notas aportadas por el tostado, que van desde la especia a la fruta seca, frutas secas tostadas, vainilla, café, hasta un sutil toque ahumado, aportado por las temperaturas más elevadas del proceso de elaboración de este tipo de viruta.

La madera con tostado simple también podría intervenir de manera favorable sobre el color del vino, fijando los antocianos por aporte de taninos y furfurales. De manera que usándolas en fermentación pueden conseguir un color más intenso y más estable.

La estructura en boca puede verse reforzada y aumentar el volumen, tanto en tintos como en blancos. La dosis empleada ha sido 1 g/L.

3.2. ANÁLISIS GENERAL.

Durante la elaboración en bodega se controlaron varios parámetros:

Temperatura, acidez volátil, acidez total, pH, densidad, índice de polifenoles totales, antocianos totales, intensidad de color y color de los copigmentos poliméricos.

Una vez terminada fermentación alcohólica se controló la evolución del vino durante fermentación maloláctica (esto ya se llevó a cabo en la Universidad de Murcia).

3.2.1. Densidad, temperatura y grado Baumé.

Son medidas que permiten observar la evolución de la fermentación alcohólica. Se llevan a cabo una vez al día hasta el finalización de la fermentación.

El control de la temperatura es importante, puesto que la temperatura de fermentación influye en la velocidad de multiplicación de las levaduras y consecuentemente en el tiempo de formación del etanol. A una temperatura superior a 35 °C puede producirse una parada en la fermentación debido a la intolerancia de las levaduras al calor.

El grado Baumé determina la cantidad de azúcar que contiene un mosto. Un grado Baumé equivale a 14 gramos de azúcar por litro de mosto. Permite establecer una estimación del grado alcohólico final del vino, ya que en la fermentación el azúcar de la uva se transforma en etanol con ayuda de las levaduras. Esta medida se realiza al principio y luego la evolución de la fermentación se controla con la densidad y temperatura.

La densidad relativa a 20 °C es la relación en forma decimal, entre la masa de un cierto volumen de vino o mosto a una temperatura de 20 °C y la masa del mismo volumen de agua también a 20 °C.

- Materiales:
 - Probeta cilíndrica de 250 mL \pm 1.
 - Densímetro.
 - Termómetro contrastado, graduado en grados Celsius de 0-100 °C \pm 1.

- Refractómetro.

- **Procedimiento:**

El grado baumé se determina con un refractómetro que además de darnos grado brix también nos da el grado baumé.

Para determinar la densidad se toma una probeta, limpia y seca; si no estuviera seca se enjuaga un par de veces con el mosto que se va a graduar, y se echa en ella el mosto. Se agita para eliminar el CO₂. Se mete en el mosto el termómetro y se deja unos minutos, y sin sacar del mosto el termómetro, se lee y apunta la temperatura. Se sumerge poco a poco el densímetro cogido con dos dedos por la parte alta de la varilla, se suelta de manera que no se mojen más de dos o tres divisiones de la escala por encima de aquella en que quedará parado, flotando en el mosto. Una vez quieto el aparato, y sin que toque las paredes de la probeta, se lee la división en la que el mosto deja de mojar la varilla, o sea, en lo alto del menisco, anotándose ese número, el cual nos dará la densidad del mosto/vino.

3.2.2. Acidez total.

Análisis mediante valoración potenciométrica según el método oficial CEE, reglamento nº 2676/90, con un valorador automático (Metrohm, modelo 686). Los resultados se expresan en g/L de ácido tartárico.

3.2.3. pH.

Se determina siguiendo el método oficial CEE, reglamento nº 2676/90, con un valorador automático (Metrohm, modelo 686).

3.2.4. Determinación de ácido málico, ácido tartárico y láctico mediante cromatografía en papel.

Supone un método semicuantitativo y rápido de realizar.

Sobre un papel Whatman marcado con lápiz en un línea paralela a la base, se determinan algunos puntos separados algunos centímetros, y con la ayuda de una micropipeta se deposita en cada punto el vino y la solución patrón. En cada punto se sitúa el mismo número de microgotas, de una a dos, dejándolas secar entre aplicaciones, bien a la intemperie o con la ayuda de un secador de aire caliente. A continuación el papel se coloca vertical sobre una solución de eluyente, compuesta de una solución de butanol más 1 g/L de azul de bromotimol, y una solución de ácido acético al 50%, mezclando ambas en la proporción 5:2; respectivamente, y colocada dentro de una cubeta o recipiente hermético de cristal, con un nivel de líquido inferior al de la raya del papel. La solución sube por capilaridad por el papel en forma de frente, arrastrando los ácidos del vino depositados en las gotas y situándolos en distintos lugares. Por último el papel se extrae del recipiente y se deja secar a al intemperie, apareciendo unas manchas amarillas a distintas alturas, que corresponden a los distintos ácidos: el ácido tartárico se queda próximo a los puntos de salida, luego a media altura aparece la mancha del ácido málico, y por fin más arriba aparece la mancha del ácido láctico. Observando la cromatografía se puede determinar si existe o no ácido málico, e incluso también evaluar su concentración haciendo comparar el tamaño e intensidad de las manchas del vino con la de los patrones.

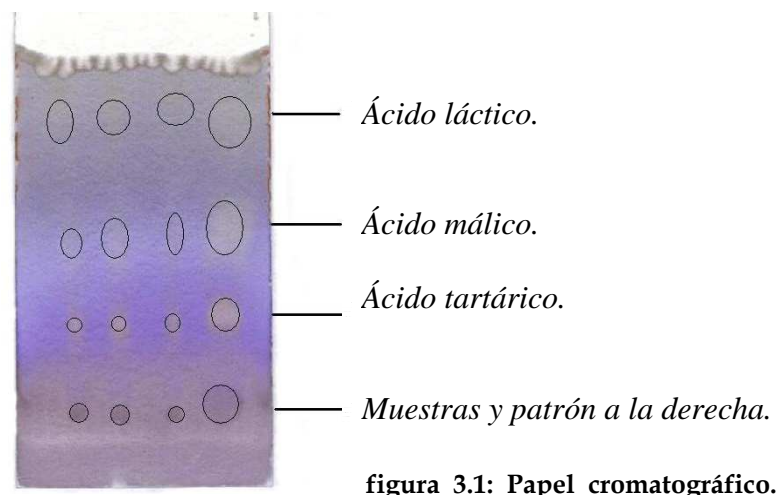


figura 3.1: Papel cromatográfico.

3.2.5. Determinación de ácido málico mediante test enzimático.

Mediante test enzimático con secuenciador automático Hycel, modelo Lisa 200 (Hycel Diagnostics, EEUU), según el método oficial CEE Reglamento nº 2676/90. Los resultados se expresan en g/L de ácido málico en el vino.

3.3. DETERMINACIONES ESPECTROFOMÉTRICAS.

En el mosto/vino obtenido por centrifugación a 4500 ppm durante 10 minutos, se analizan la intensidad de color, antocianos totales, índice de polifenoles totales y color de los pigmentos poliméricos.

3.3.1. Índice de polifenoles totales (IPT).

El índice de polifenoles totales (I.P.T.), se determina según el método descrito por Ribéreau Gayon et al., 1998. En un vaso de precipitado se adicionan 0,5 ml de vino y 50 ml de agua destilada, se agita y se mide la absorbancia a 280 nm con cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro UV/visible (Thermo Spectronic, modelo Helios-Alpha). El blanco se hace con agua destilada. El índice de polifenoles totales es:

$$\boxed{\text{I.P.T.} = A_{280} * \text{Factor de Dilución (101)}}$$

3.3.2. Antocianos totales.

Se utiliza el método descrito por Puissant-Leon (Blouin, 1992). En un tubo de 50 mL se adicionan 0,5 mL de vino y 25 mL de HCl 0,1 N. Se agita y se deja reposar durante 30 minutos. A continuación se mide la absorbancia a 520 nm con cubetas de cristal de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro UV/visible (Termo Spectronic, modelo Helios-Alpha). El blanco se ajusta con agua destilada. La concentración de antocianos se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianos (mg/L)} = A_{520} * \text{Factor de Dilución (51)} * 22,76$$

3.3.3. Intensidad de color y tono.

La intensidad de color se mide mediante el método CEE 1990, por la suma de las absorbancias del vino correspondientes a las longitudes de onda de 420, 520 y 620 nm medidas en un espectrofotómetro UV/visible (Thermo Spectronic, modelo Helios-Alpha). Según algunos autores, el equilibrio de los pigmentos se modifica apreciablemente por las diluciones (Somers y Evans, 1977), por lo que deben realizarse en vino no diluido. Se utilizan en vinos tintos cubetas de 0,2 cm de paso óptico, multiplicándose por cinco los resultados obtenidos, para referirlos a cubetas de 1 cm.

El tono se obtiene según el método CEE 1990, que consiste en el cociente entre las absorbancias de 420 y 520 nm.

$$IC = A_{620} + A_{520} + A_{420}$$

$$\text{Tono} = A_{420} / A_{520}$$

3.3.4. Taninos totales.

La determinación de taninos se realiza mediante el método descrito por Hagerman y Butler., 1978; modificado por Harbertson *et al.*, 2002. El ensayo se basa en la capacidad de los taninos para precipitar proteínas en una disolución, en este caso albúmina de suero bovino (BSA), redisolviendo el precipitado resultante y determinando la cantidad de taninos mediante reacción con cloruro férrico. Este procedimiento produce una muestra coloreada que puede ser cuantificada mediante la lectura de la absorbancia a 510 nm.

La muestra se diluye con un tampón de etanol al 12% (v/v) (1:1) y 5 g/L de bitartrato de potasio ajustado a pH 3,3 con HCl. En un tubo de microcentrífuga se coloca 1 mL de tampón de albúmina de suero bovino (BSA) (ácido acético 200 mM, 170 mM de NaCl ajustado a pH 4,9 con NaOH y 1 mg/mL de BSA) y 500 μ L del extracto diluido. La mezcla se mantiene a temperatura ambiente durante 15 minutos en agitación lenta. Después de la incubación, la muestra se centrifuga en una microcentrífuga Heraeus modelo Biofuge pico (Heraeus Instruments, Osterode, Alemania), 5 min a 13.500 g para precipitar el complejo tanino-proteína. El precipitado se lava con 250 μ L del mismo tampón utilizado para disolver la BSA (ácido acético 200 mM y NaCl 170 mM ajustado a pH 4,9 con NaOH, sin BSA) y la muestra se vuelve a centrifugar durante 1 min a 13.500 g para volver a precipitar el complejo tanino-proteína. La disolución de lavado se elimina y se añaden 875 μ L de un tampón que contiene trietanolamina (TEA) al 5% (v/v) y dodecilsulfato de sodio (SDS). El tubo se mantiene a temperatura ambiente durante 10 min. Posteriormente, el tubo se agita en un vortex hasta redisolver completamente el precipitado.

Como el vino presenta una absorbancia base a 510 nm, la muestra se mantiene a temperatura ambiente durante 10 min después de agitar y se mide la absorbancia base a 510 nm. Después de la lectura, se añaden 125 μ L del reactivo de cloruro férrico y después de 10 min se determina nuevamente la absorbancia a 510 nm. La absorbancia debida a los taninos se determina restando la absorbancia base de la lectura final a 510 nm. La adición del reactivo de cloruro férrico y la

lectura de la absorbancia se realiza en un autoanalizador Syssta modelo Easy chem plus (Analytical Technologies, Roma, Italia) utilizando tampón de TEA como blanco.

La concentración de taninos totales se obtiene usando una recta de calibrado estandar obtenida a partir de (+)-catequina, ya que la concentración de taninos es equivalente a la concentración de (+)-catequina.

Para la obtención de la recta de calibrado se toman alícuotas comprendidas entre 50 y 300 μg de (+)-catequina para obtener varios puntos y se disuelven con una disolución de etanol al 10% con TEA/SDS, llevándolas hasta un volumen final de 875 μL . A continuación se adicionan 125 μL de FeCl_3 y se mezclan con un vortex, dejándolos reaccionar durante diez minutos. Tras ese tiempo se mide la absorbancia de la disolución final a una longitud de onda de 510 nm.

El cero de la recta se obtiene operando de manera similar, pero esta vez no se adiciona nada de (+)-catequina; simplemente se adiciona a un volumen de 875 μL de la disolución de etanol con TEA/SDS 125 μL de FeCl_3 y tras el tiempo de reacción se mide la absorbancia a 510 nm.

Hay que tener en cuenta que con este método sólo podemos determinar taninos polimerizados con cuatro o más subunidades, ya que no es capaz de determinar bien los dímeros y trímeros.

3.4. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN.

3.4.1. Determinación de elagitaninos.

El método seguido es el descrito por Vivas *et al.* (1996), con ligeras modificaciones para adecuarlo a nuestras condiciones de trabajo. Se fundamenta en la hidrólisis ácida de los elagitaninos en un baño-maría, seguido de un análisis cuantitativo mediante HPLC del ácido elágico liberado.

Se evaporan hasta sequedad 5 mL de vino en un rotavapor a 40°C. En un tubo de hidrólisis cerrado con un sello de Teflon, se solubiliza el contenido con 5 mL de metanol/HCl 6N (8,4:1,6). Se mide el ácido elágico presente y, después de dos horas de hidrólisis ácida (baño de aceite a 100°C), el ácido elágico liberado. La diferencia entre los dos valores corresponde a la concentración de elagitaninos. Los resultados se expresan en mg/L de equivalentes de castalagina, ya que en estas condiciones, un mol de castalagina corresponde a un mol de ácido elágico:

Elagitaninos (mg/L)	$y = 10806x - 8977,4$	$r^2 = 0,9993$
---------------------	-----------------------	----------------

Las muestras son inyectadas en el equipo cromatográfico tras ser filtradas con filtros de nylon de 0,45 μm (Millex-HN, Millipore). El análisis se lleva a cabo en un cromatógrafo líquido (Alliance 2690, Waters) acoplado a un detector multidiodos (modelo 996, Waters). Las condiciones cromatográficas son las siguientes:

- Columna Lichrospher® 100 RP-18 250 mm (5 μm), Merck.
- Fase móvil compuesta por ácido fórmico 5 % (Eluyente A) y metanol (Eluyente D).

- Gradiente.

Tiempo (min)	Flujo(mL/min)	Eluyente A	Eluyente D
0	1,00	98	2
30	1,00	75	25
45	1,00	75	25
50	0,80	75	25
65	0,80	75	25
70	0,80	0	100
75	1,00	0	100
80	1,00	98	2
85	1,00	98	2

- Detección 360 nm.

3.5. ANÁLISIS SENSORIAL.

Se llevaron a cabo dos tipos de pruebas sensoriales, una descriptiva de perfil y otra de tipo triangular. En el primer caso, los atributos a valorar ya están descritos (Figura 3.5.1), y se les pide a los catadores que señalen la magnitud de las características del vino que se pretende describir y cuantificar. Estas características se dividen en tres grupos, el color, el aroma y el gusto. El panel de cata para este tipo de pruebas estaba formado por cinco catadores del departamento de Enología de Tecnología de los alimentos de la Universidad de Murcia y algunos colaboradores con cierta experiencia.

Fecha:
Catador:

MUESTRA


	1	2	3	4
COLOR				
Intensidad				
Tonalidad (violeta)				
AROMA				
Intensidad				
Calidad				
Vainilla				
Madera				
Especiado (Clavo, Pimienta)				
Empíreumático (Humo, Tostado)				
Herbáceo (hierba, heno)				
Animal (Cuero, cuadra)				
Fruta fresca				
Fruta madura				
Lácteo				
GUSTO				
Intensidad				
Calidad (Armonía)				
Cuerpo				
Equilibrio				
Persistencia				
Amargor				
Astringencia				
Sequedad				

PUNTUAR de 1 a 10 A MAYOR SENSACIÓN MAYOR PUNTUACIÓN

Figura 3.5.1.: Ficha cata descriptiva.

La prueba triangular se aplica para determinar si existen diferencias entre las características de dos vinos. Es una prueba de diferenciación en la que se presentan al catador tres muestras codificadas, dos de las cuales son iguales, y se le pide que indique cual es la muestra diferente y cual es su muestra preferida. Para determinar los resultados se utilizó la técnica del “juicio forzado” en la que se suman únicamente las respuestas correctas y se comprueba mediante tablas estadísticas si la diferencia es significativa. Los catadores utilizados en esta prueba fueron doce, algunos con poco entrenamiento previo y otros

pertenecientes al departamento de enología, a los que se le presentó una ficha de cata (Figura 3.5.2) en la que debían evaluar el grado de diferencia apreciado para los atributos de la fase visual, olfativa y gustativa.



**UNIVERSIDAD
DE MURCIA**

DEPTO. DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS,
NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

Facultad de Veterinaria

FECHA:

SERIE:
NOMBRE:

Ante usted hay tres muestras. Dos de ellas son iguales entre sí. Dígase que muestra es diferente, cual prefiere y las diferencias percibidas. Es obligatorio elegir una muestra preferida, aunque no se encuentren diferencias.

MUESTRAS IGUALES

MUESTRA DISTINTA

MUESTRA PREFERIDA

ATRIBUTOS	Diferencia percibida entre las muestras				
	NULA	DEBIL	MEDIA	FUERTE	MUY FUERTE
FASE VISUAL					
FASE OLFATIVA					
FASE GUSTATIVA					

*Campus Universitario de Espinardo
Apartado de Correos 4021 • 30071 Murcia*

Figura 3.5.2.: Ficha de cata triangular.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. EVOLUCIÓN DEL COLOR EN VINOS TINTOS.

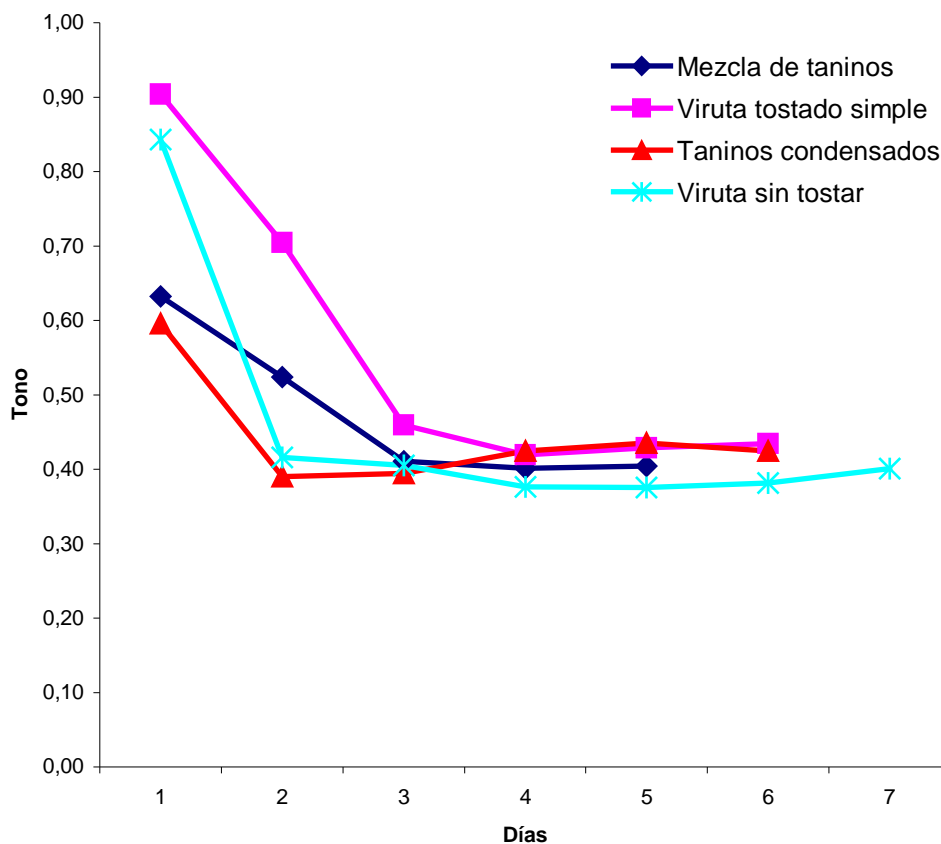
Se ha estudiado el efecto estabilizante en el color del vino de la adición de virutas de roble y de taninos.

Se ha querido ver que tipo de tanino adicionado y que tipo de viruta es más eficaz en esta labor y en las propiedades organolépticas posteriores, de ahí el uso de los distintos productos con diferentes características.

4.1.1. Medidas espectrofotométricas.

4.1.1.1. Análisis del tono.

El tono proporciona una relación de la proporción de compuestos que absorben a 420 nm frente a los que absorben a 520 nm y se calcula realizando el cociente entre ambas absorbancias. Aporta una idea de la edad de los vinos y de su estado de conservación. Depende al igual que la intensidad colorante, además de la cantidad de antocianos, de la forma en que estos se encuentran. También depende de la concentración de los compuestos que aportan el color amarillo e intervienen en la absorción de las muestras a 420 nm; estos compuestos son los taninos y polímeros de varios compuestos fenólicos.



Grafica 4.1: Variación del tono en fermentación alcohólica.

Al comienzo de la elaboración del vino, los valores de tono son muy elevados alcanzando cotas próximas a la unidad, lo que nos indica que durante este periodo predominan compuestos amarillos frente a los rojos. Este fenómeno tiene una explicación lógica, puesto que al principio del proceso, el zumo obtenido del estrujado de la uva es prácticamente incoloro.

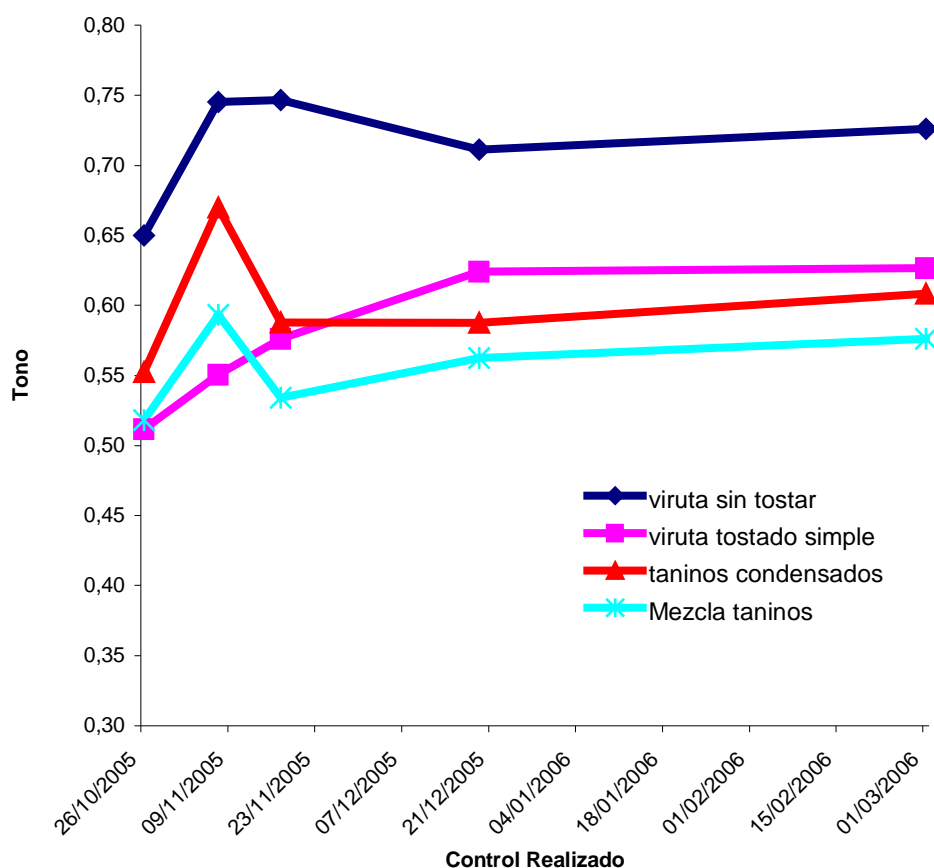
Durante el proceso de fermentación alcohólica y maceración, el tono disminuye, tomando valores comprendidos entre 0,4 y 0,5; valores más adecuados a vinos jóvenes, debidos a la extracción, durante la maceración, de la materia colorante roja.

El tono es un parámetro que tiende a ir aumentando conforme transcurre el envejecimiento y evoluciona el vino. Esto es debido a la disminución de compuestos que absorben luz a 520 nm (componente roja), ya que se generan combinaciones entre antocianos y taninos que, aunque estabilizan el color, poseen

un color rojo-anaranjado que hacen que tienda a aumentar el tono (Martínez, 1999; Pardo y Navarro, 1993).

Los valores de tono son muy similares en las cuatro vinificaciones durante la fermentación alcohólica, aunque al final del proceso, las vinificaciones con adición de viruta sin tostar y tostado simple tienen una tendencia creciente en el valor del tono, mientras que en el caso de taninos la tendencia no es tal. Esto nos puede indicar que las virutas pueden generar vinos más evolucionados con menos matices púrpura, característico de vinos jóvenes, que los taninos. Este fenómeno de carácter evolutivo por parte de la viruta, es confirmado por la experiencia realizada por Del Álamo et al. (2004), aunque su estudio está basado en la crianza del vino con distintos tipos sistemas de envejecimiento.

Esta tendencia se deja ver más claramente tras llevarse a cabo la fermentación maloláctica y la estabilización por frío de los vinos.



Gráfica 4.2.: Evolución del tono durante fermentación maloláctica y tras estabilización por frío.

En la gráfica se confirma lo que habíamos especulado. Vemos como la tonalidad de los vinos tratados con viruta presentan un mayor valor de tono que los tratados con taninos, lo que nos indica una mayor evolución del color (mayor componente amarilla).

Se aprecia claramente como el vino tratado con viruta sin tostar presenta el mayor tono de las cuatro vinificaciones, lo que nos indica que presenta menos tonos violáceos-púrpura, propios de los vinos jóvenes, y más tonos amarillos. Los otros tres presentan tonalidades similares, aunque el vino tratado con viruta con tostado simple presenta claramente una tonalidad mayor.

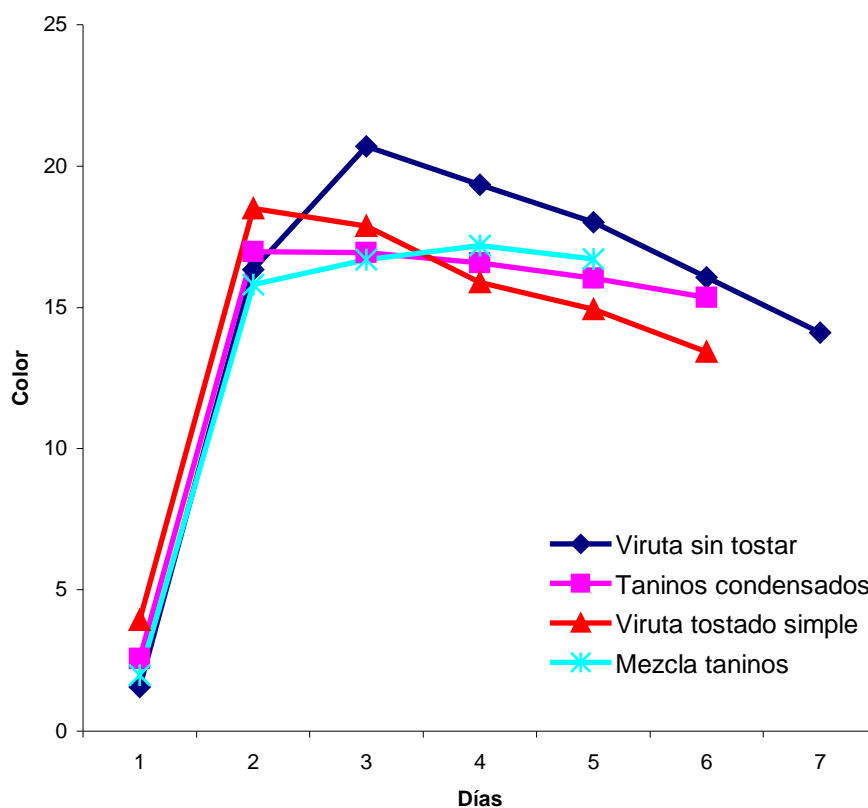
4.1.1.2. Intensidad de color.

La intensidad de color informa de cómo contribuyen los componentes rojo (A_{520}), amarillo (A_{420}) y azul (A_{620}), al color del vino y se calcula sumando las tres componentes.

La intensidad colorante de los vinos la proporcionan principalmente los antocianos, pero no es una relación directa de su contenido, ya que los antocianos que realmente dan color son los que están en forma ionizada, y parte de ellos se pueden encontrar en forma incolora (Di Stefano y Cravero, 1989).

A lo largo de la vida de un vino, su intensidad colorante disminuye y evoluciona de las tonalidades rojo-violeta a los tonos rojo-ladrillo (Mareca, 1981). Una evolución similar encontramos en la experiencia realizada.

Ya en el proceso de elaboración, durante la fermentación alcohólica y maceración empiezan a observarse descensos en la intensidad de color tal y como muestra la gráfica que se muestra a continuación.



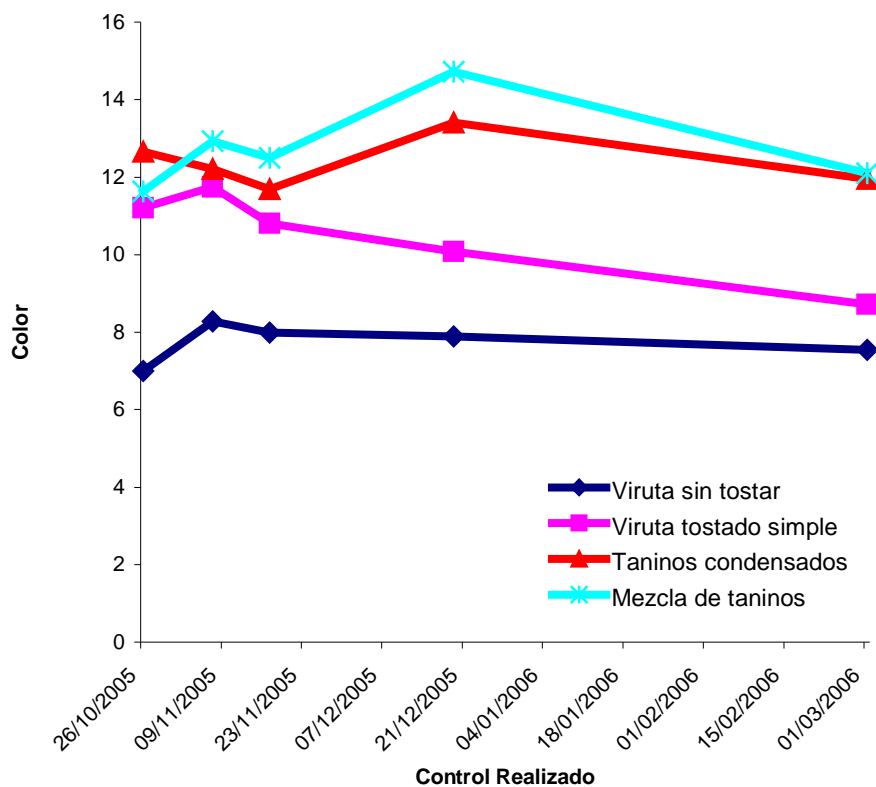
Gráfica 4.3.: Evolución de la intensidad durante fermentación alcohólica.

El descenso que se aprecia en el color de todas las vinificaciones, una vez alcanzado el máximo, es común a cualquier proceso de elaboración. Entre las causas que generan la pérdida de color tenemos: la temperatura durante el proceso de elaboración, que provoca la evolución de los antocianos a las chalconas (incoloras) y favorece la cinética de reacción con el oxígeno, otra causa del descenso de color por destrucción de los antocianos. También hay que tener en cuenta que una vez extraídos de los hollejos, los antocianos pueden volver a adsorberse en los propios hollejos de los que proceden y también pueden adsorberse sobre las levaduras. Por último también podemos decir que pueden precipitar junto a restos de pulpa y otras proteínas que posea el mosto. Asimismo, el ambiente reductor del depósito puede hacer que parte de los antocianos estén de forma incolora.

En el momento del descube de la vinificación con mezcla de taninos vemos, según la gráfica 4.3, como el nivel de intensidad colorante de la

vinificación con viruta sin tostar presenta el mayor nivel, siendo a continuación las vinificaciones con taninos las que presentan mayores niveles y la vinificación con viruta con tostado simple la que presenta menor valor en ese momento. Pero si atendemos al descube de los otros fermentadores se aprecia como las vinificaciones con viruta tienen una mayor caída en el valor de la intensidad colorante, mientras que las vinificaciones con taninos no caen tan notablemente.

Esto puede ser debido a que los taninos condensados adicionados favorecen la estabilización del color al formar combinaciones con los antocianos procedentes de la uva, ya que en los momentos iniciales todavía no hay taninos propios de la uva y éstos realizan su función. En el caso de la viruta, la intensidad colorante es menor porque los taninos que aportan las virutas son taninos hidrolizables principalmente, los cuales son particularmente oxidables y al oxidarse antes que los antocianos y procianidinas los protegen de la oxidación y degradación. Pero una vez realizada su función desaparecen, y si en los vinos no hay todavía bastantes taninos extraídos de la propia uva no se pueden formar los complejos entre antocianos-taninos que estabiliza el color, de manera que el color cae a valores más bajos. De esta manera, parece demostrado que los únicos capaces de combinarse directamente con los antocianos son los taninos condensados, aunque los hidrolizables también participan en la estabilización del vino (Oliva, 2001; Marquette, 1999; Martínez, 1999).



Gráfica 4.4.: Evolución de la intensidad de color durante F.M. y tras estabilización por frío.

Tras fermentación maloláctica y estabilización por frío se confirma lo que habíamos previsto antes. Claramente se observa que las vinificaciones a las que se adicionó tanino presentan un mayor nivel de intensidad de color, obteniéndose valores muy similares con los dos tipos de taninos.

También observamos como la viruta sin tostar presenta un mayor cambio en cuanto a la intensidad de color, ya que sufre un cambio brusco de intensidad de color desde el momento del descube hasta el inicio de los controles de fermentación maloláctica, pasando de un valor de intensidad de color próximo a trece a un valor aproximado de siete. Esto nos podría indicar de partida que la viruta sin tostar consigue una menor estabilización del color, por lo que ya nos podría avisar del menor color final del vino.

Comparando con taninos, los niveles de intensidad alcanzados con virutas son significativamente inferiores, observándose una gran diferencia incluso entre ambos tipos de viruta, siendo la viruta sin tostar la que presenta menores niveles de color final. Este hecho ya lo podríamos haber intuido por el aspecto comentado

anteriormente. Tampoco podemos olvidar que las virutas pueden adsorber antocianos y por tanto eso también contribuirá a la menor intensidad de color.

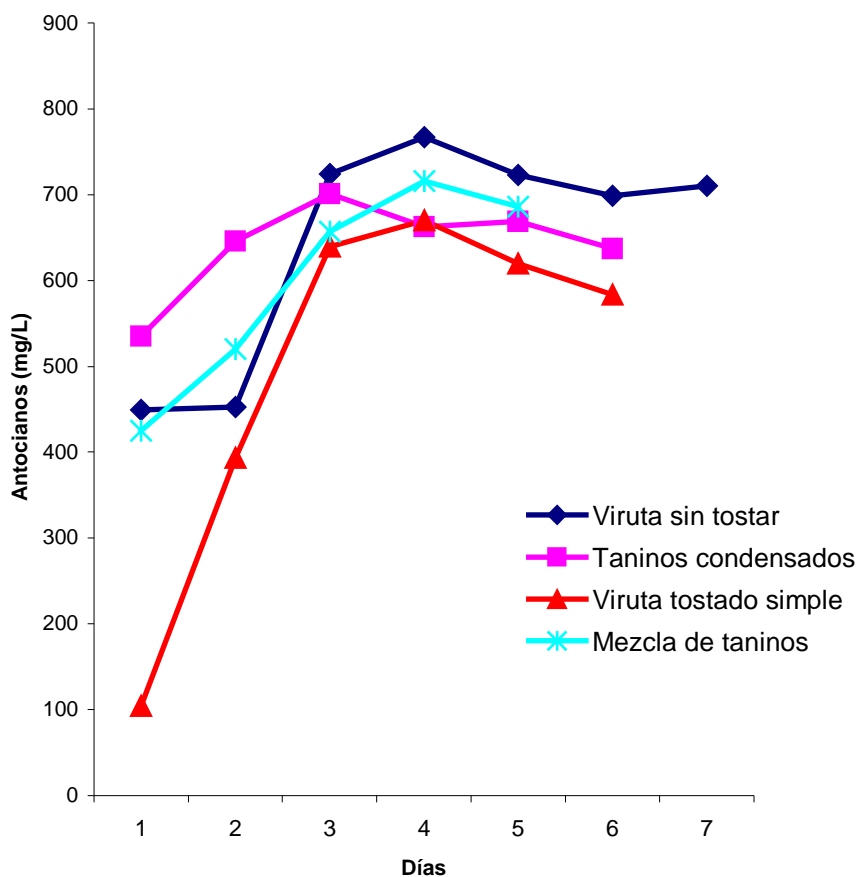
4.1.1.3. Antocianos totales libres.

En el mosto, a partir del proceso fermentativo y remontado diario, asciende progresivamente la cantidad de antocianos libres, totales e ionizados hasta la mitad del proceso en que se alcanza un máximo y tras éste comienza a descender por fijación de levaduras, hollejos, otras partes sólidas (raspones) y por precipitación junto a la pulpa. (Ruiz, 1990; Morata, 2003).

El descenso del nivel de antocianos que se aprecia conforme nos acercamos al descube del vino también puede ser debido a la formación de polímeros estabilizados por copigmentación (Alonso et al., 1986), condensaciones antociano-tanino vía etanal (Thorngate and Singleton, 1994), o por la formación de copolímeros entre antocianos y quinonas del ácido caftárico (Cheynier et al., 1994).

Como se observa en la gráfica, el mayor nivel de extracción de antocianos totales es el perteneciente a la vinificación con viruta de roble sin tostar. Este hecho puede ser debido al mayor nivel de SO₂ que presentó esta vinificación (los parámetros de cada vinificación vienen recogidos en tablas en el anexo), lo que facilitaría una mejor extracción de los mismos (Cacace y Mazza, 2002). El tiempo de contacto de la maceración de esta vinificación fue mayor que en los otros casos debido a la menor velocidad de la fermentación, por lo que la extracción de compuestos es mayor, de ahí su mayor valor final (Bautista, 2005).

Las vinificaciones con taninos presentan niveles parecidos de antocianos totales y superiores a la vinificación con viruta con tostado simple. Este fenómeno se podría justificar por la estabilidad que aportan los taninos enológicos adicionados, evitando la degradación de los antocianos, sobre todo los taninos condensados que posean los preparados tánicos (Oliva, 2001).



Gráfica 4.5.: Variación de los antocianos totales extraídos durante F.A.

4.1.1.4. Índice de polifenoles totales (IPT).

Como podemos ver en la figura 4.6., se aprecian diferencias notables entre las vinificaciones con adición de taninos y aquellas con virutas. Se aprecia como las vinificaciones con taninos presentan mayores niveles de IPT, sobre todo la vinificación con taninos condensados. Este hecho es lógico, ya que ellos mismos participan en la medida de ese parámetro aportando compuestos que absorben a 280 nm. Este fenómeno también fue descrito por Martínez García et al.(2003) y por Bautista Ortín et al.(2005), dónde también encontraron aumentos en los valores de absorbancia a 280 nm con la adición de tanino enológico.

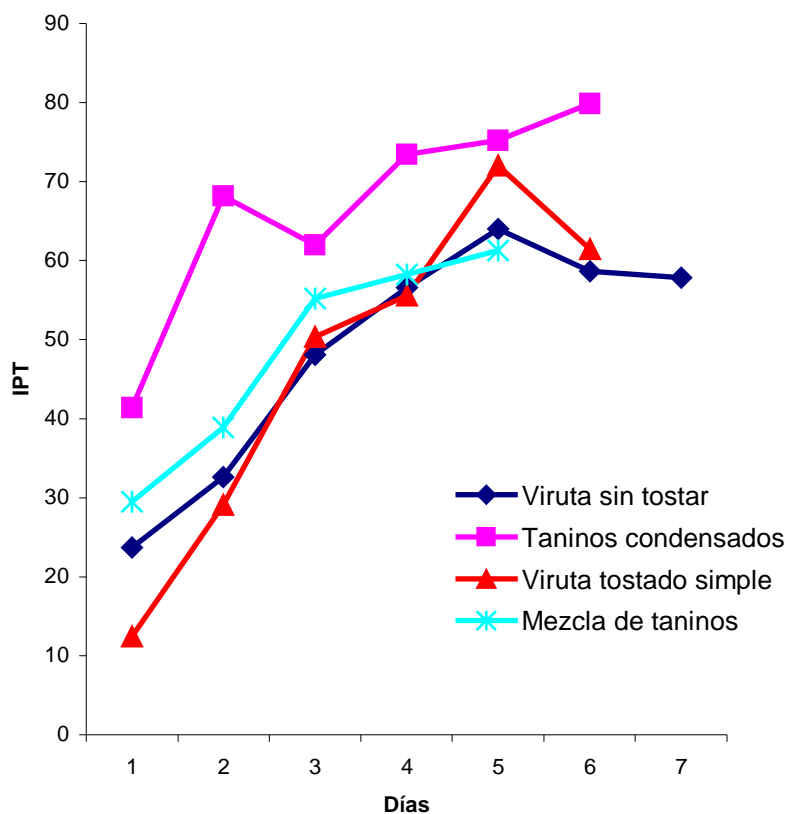
En las vinificaciones con viruta sus niveles inicialmente son inferiores, puesto que el aporte de compuestos fenólicos por parte de la madera es menor y

más lenta, ya que se tienen que ir extrayendo poco a poco de la misma (depende de la cinética de extracción).

La extracción aumenta conforme aumenta el contenido alcohólico del vino, favoreciendo la extracción de los taninos de las pepitas, los cuales; antes de la aparición del alcohol, son difíciles de extraer, ya que el alcohol rompe la cutícula de las semillas facilitando la extracción de los taninos de las mismas (Delteil, 1995). Este fenómeno hay que tenerlo en cuenta porque los taninos de las pepitas son más astringentes y amargos que los de los hollejos, de manera que son más desagradables en boca, pero también son necesarios si el vino va destinado a guarda, ya que aseguran su longevidad.

En la gráfica se aprecia como el valor de IPT crece en todos los casos, pero en el caso de la utilización de virutas se aprecia que alcanza un máximo y después comienza a descender. Esto puede ser debido a la precipitación o degradación de algunos compuestos polifenólicos, sobre todo antocianos.

A pesar de todo, el valor de IPT en todos los casos es elevado al final del descube, por lo que a priori, estos vinos se podrían destinar a crianza; ya que superan, en los cuatro casos, el valor de 50 unidades (Oliva, 2001). Este dato es importante porque los compuestos fenólicos influyen en parámetros tan importantes como el color, la astringencia e incluso el aroma (Ruiz, 1999; Valls, 2000).



Gráfica 4.6.: Variación del I.P.T. durante F.A.

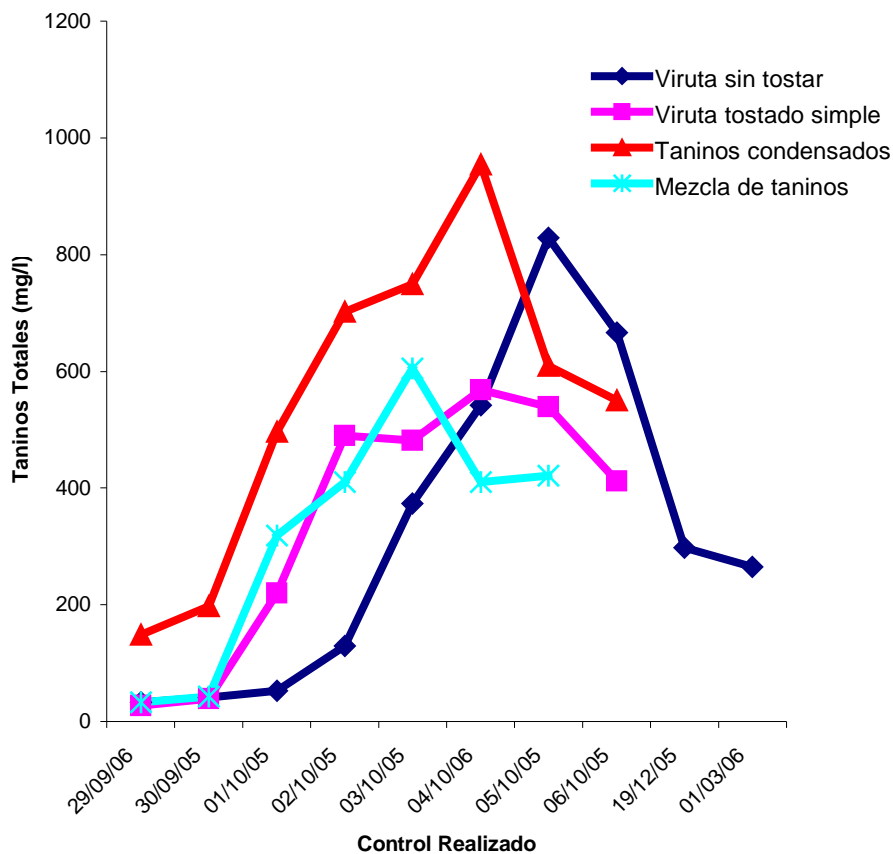
4.1.1.5. Taninos totales.

Como se aprecia en la figura 4.8, en el caso de adición de taninos condensados, el valor de taninos totales es superior que en el resto de los casos. Este hecho es coherente ya que lo que adicionamos son taninos y estos entran a formar parte de la medida. En la vinificación que adicionamos mezcla de taninos también posee niveles mayores que en las vinificaciones con virutas, pero niveles inferiores a la vinificación con taninos condensados. Esto puede ser debido a que en este preparado enológico no todos los taninos son condensados y los hidrolizables no son determinados por esta medida.

Al inicio del proceso fermentativo primero se extraen los taninos de la piel, los cuales se extraen lentamente y a un nivel inferior a otros polifenoles, como los antocianos (Ribéreau-Gayon et al., 1999), debido a los bajos niveles de alcohol y a las temperaturas moderadas. Conforme avanza la fermentación

aumenta el alcohol y la temperatura favoreciendo la extracción de aninos de las pieles. Además, el alcohol disuelve la cutícula de las semillas, permitiendo la extracción de los taninos de las mismas (Delteil, 1995). Este fenómeno podría ser una de las causas que hacen que el nivel de taninos de la vinificación con viruta sin tostar sea mayor al final del descube que en el caso del uso de viruta con tostado simple e incluso en el caso de mezcla de taninos, ya que permanece un día más en el fermentador con altos niveles de alcohol que favorece una mayor extracción de taninos.

Al final del proceso, tras estabilización por frío, se observa como las vinificaciones con adición de taninos enológicos presentan mayores niveles de taninos. Algo que a su vez es coherente debido a que hemos aportado una cantidad adicional a la que llevaba la uva. Esto nos puede indicar que los vinos con taninos podrían poseer niveles de color mayor, tal y como corroboran las medidas colorimétricas antes aportadas, y presentar en boca mayor tanicidad.



Gráfica 4.8.: Variación de los taninos totales.

4.1.1.6. Determinación de elagitaninos.

Los elagitaninos son un tipo de tanino hidrolizable, cuya fuente más común es la madera de roble. No participan en el aroma de los vinos pero si que pueden tener una importancia en los fenómenos de astringencia, así como en la evolución del color de los vinos. Su concentración puede disminuir con el tiempo en el vino porque pueden ser oxidados o interaccionar con polisacáridos, levaduras o manoproteínas. También se ha propuesto que influyen en el vino regulando las reacciones que ocurren durante el envejecimiento, mejorando el color y estabilidad del vino y reduciendo la astringencia favoreciendo condensaciones tanino-antociano.

En esta experimentación se han utilizado virutas de roble francés. Este hecho es un factor a tener en cuenta, ya que la madera de roble francés aporta

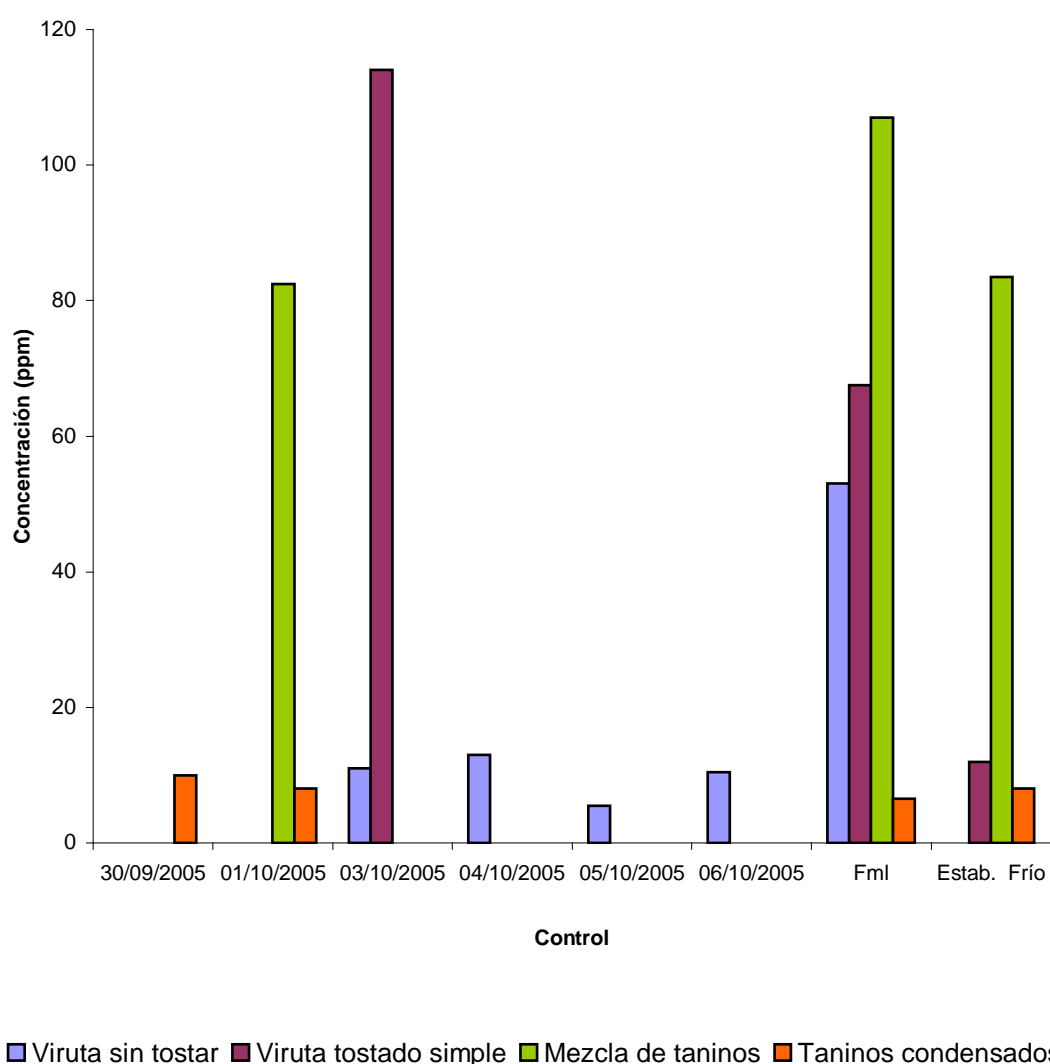
mayor concentración de estos compuestos que otros tipos de madera de roble (Perez Prieto, 2004).

También hay que tener en cuenta que uno de los preparados de taninos enológicos estaba formado por una mezcla de taninos condensados e hidrolizables, por lo que tal y como demuestra la gráfica 4.9, también aporta elagitaninos. También se puede apreciar como el preparado de taninos condensados presenta un pequeño nivel de ácido elágico, lo que nos indica que en la mezcla de tanino enológico existía un pequeño porcentaje de estos compuestos.

Si analizamos más detenidamente la gráfica vemos que la mayor concentración de elagitaninos (expresados como ácido elágico), se obtiene en la vinificación con viruta con tostado simple. También se aprecia que la mezcla de taninos presenta niveles próximos a los obtenidos con la viruta mencionada. Este hecho puede indicar una rápida solubilización de estos compuestos en el vino, ya que los hemos adicionado de forma directa. En ambos casos tras alcanzar un máximo, comienza a decrecer la concentración. Este fenómeno puede ser debido a la intervención de los elagitaninos en reacciones de degradación o por la participación de éstos (de forma indirecta), en reacciones de condensación y polimerización de antocianos y taninos condensados. Los fenómenos de condensación entre tanino y antociano podrían contribuir a la estabilidad del color y el descenso de la astringencia de los vinos tintos todo ello favorecido por los elagitaninos, los cuales pueden actuar como reguladores y tampón de reacciones de oxidación de los compuestos fenólicos (Vivas y Glories, 1996).

En la vinificación con viruta sin tostar también se ha encontrado ácido elágico, pero inicialmente la concentración encontrada ha sido muy baja en comparación a la viruta con tostado simple y a la mezcla de taninos; incluso el tiempo transcurrido para alcanzar el máximo de concentración en estos compuestos ha sido mayor que en el caso de la viruta con tostado simple. Este fenómeno podría ser debido al tratamiento que han sufrido las virutas durante su proceso de elaboración. Entre los distintos tratamientos se ha de destacar la influencia del tostado de la madera, ya que aunque el proceso en si podría destruir los elagitaninos más superficiales, éste podría destruir parte de la estructura de la madera y permitir una mejor penetración y extracción de compuestos por parte del vino (Puech et al, 1999). De ahí que el proceso de extracción en el caso de viruta sin tostar haya sido más lento.

El último punto obtenido en la gráfica en todos los casos, muestra la concentración de ácido elálgico que queda en el vino tras sufrir el proceso de estabilización por frío. Se puede observar que en todos los casos ha habido un descenso notable, pero cabe destacar el caso de la vinificación con viruta sin tostar, el cual destaca por la ausencia de este compuesto. Esto nos puede inducir a pensar que este vino va a estar más evolucionado que el resto porque ha sufrido más reacciones de oxidación que han condicionado la desaparición del ácido elálgico.



Gráfica 4.9.: Variación de la concentración de ácido elálgico a lo largo de la vinificación.

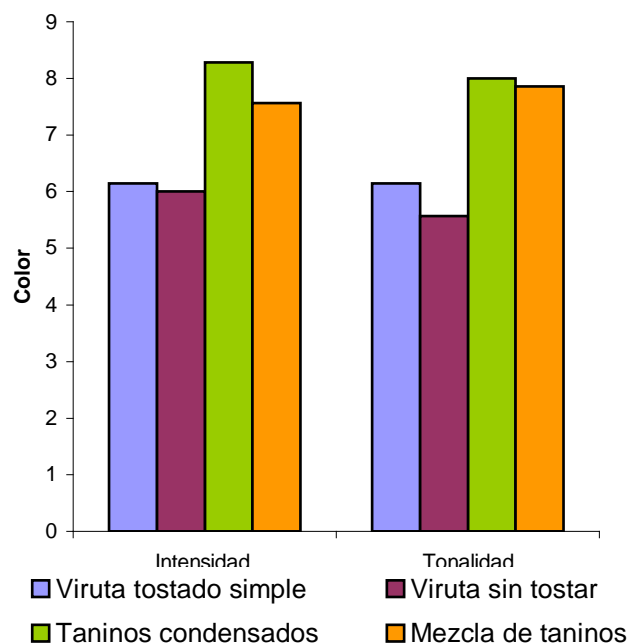
4.2. ANÁLISIS SENSORIAL.

4.2.1. Análisis Descriptivo.

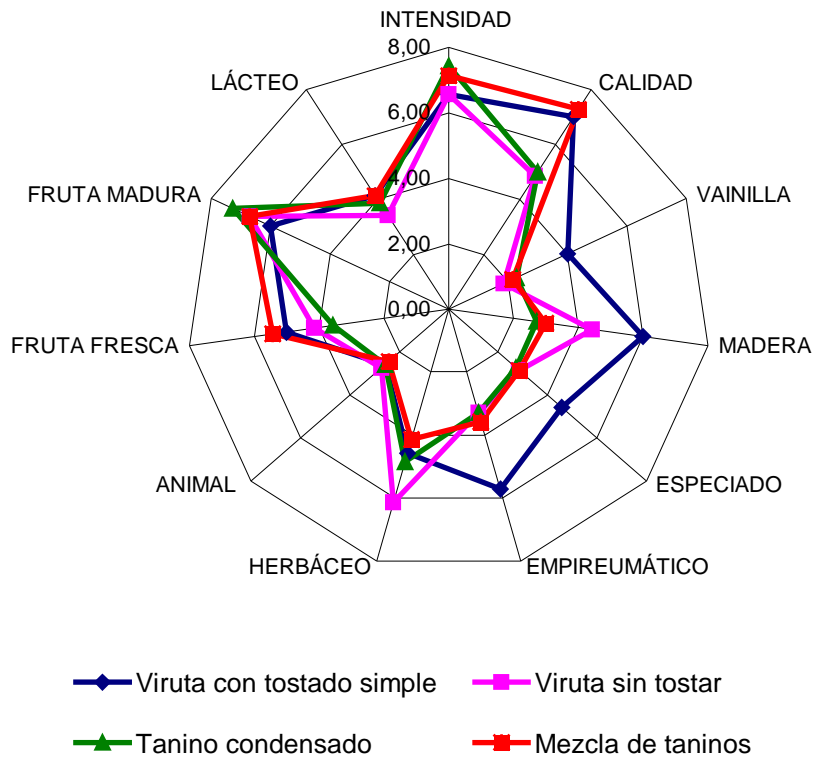
En las gráficas 4.9, 4.10, 4.11 se presentan los resultados de la cata descriptiva de los vinos elaborados durante la campaña 2005 tras su estabilización por frío. En cada una de las gráficas se puede observar el análisis de la fase visual, olfativa y gustativa de los diferentes vinos.

La intensidad de cada uno de los parámetros fue valorada en una escala de cero a diez, dando mayor puntuación a mayor sensación. Tras la estabilización por frío, hay diferencia apreciable entre los vinos tratados con taninos y los tratados con virutas. En el caso de taninos enológicos, la intensidad de color y la tonalidad violácea es bastante mayor que en el caso del uso de virutas. Dentro de los taninos enológicos destaca el uso de taninos condensados frente a la mezcla de taninos; los cuales originan una mayores valores de intensidad de color y tonalidad del vino.

Dentro de las virutas sucede algo similar, siendo en este caso las virutas con tostado simple las que presentan mayores valores de intensidad y tonalidad en el vino.



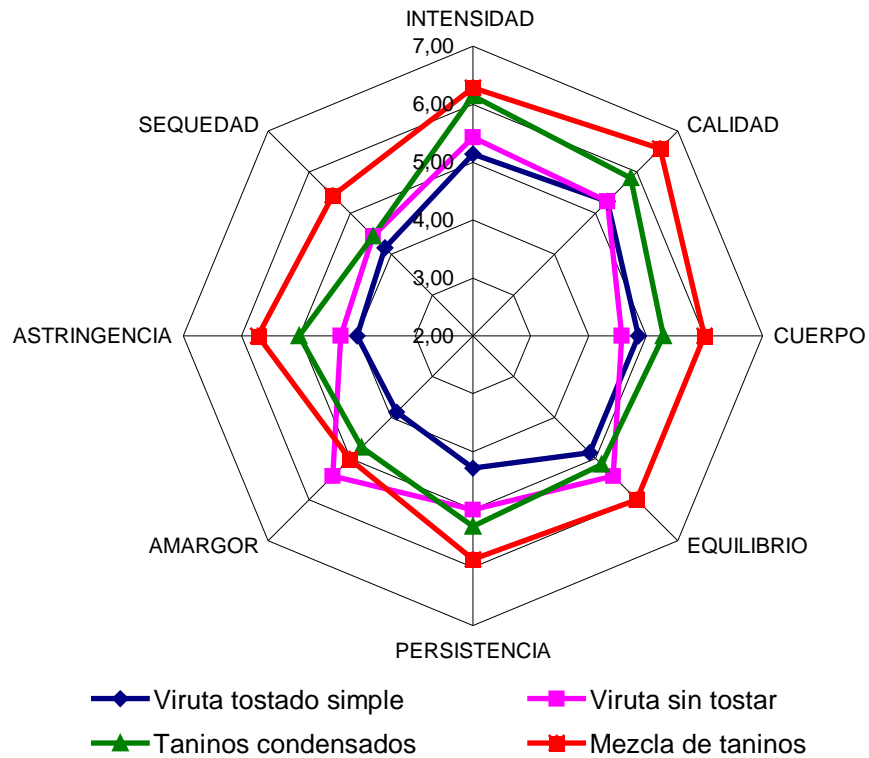
Gráfica 4.9.: Evaluación sensorial de la intensidad y tonalidad del color de los vinos elaborados en la experiencia. Cada punto es la media de evaluación de siete catadores.



Gráfica 4.10.: Evaluación sensorial del aroma de los vinos elaborados en la experiencia. Cada punto es la media de la evaluación de siete catadores.

En cuanto al aroma, todos los vinos presentan una intensidad aromática similar, aunque la calidad es inferior en los vinos tratados con viruta sin tostar y taninos condensados. Si atendemos a los aromas característicos de un vino de crianza (vainilla, madera, especiado, empireumático), destaca claramente la vinificación de viruta con tostado simple, en la que se han encontrado estos aromas con una intensidad que le confiere un grado de crianza. Con viruta sin tostar hay mayores recuerdos a hierba que en el resto de casos y un ligero recuerdo a madera, superior que en las vinificaciones con taninos. También destaca el recuerdo a fruta en todas las vinificaciones, siendo más destacado el recuerdo a fruta madura o pasificada que el recuerdo a fruta fresca; donde las vinificaciones con mezcla de taninos y virutas con tostado simple tienen los

mayores recuerdos a fruta fresca, y los dos tipos de taninos también destacan en el recuerdo de fruta madura.



Gráfica 4.11.: Evaluación sensorial del gusto de los vinos elaborados en la experiencia. Cada punto es la media de la evaluación de siete catadores.

En boca, los vinos elaborados con adición de tanino presentan mayor calidad, intensidad, cuerpo y persistencia que los vinos tratados con virutas de roble. Sin embargo, las vinificaciones con taninos presentan una mayor astringencia y sequedad (Delteil, 2002), lo que hace que los taninos adicionados no terminen de integrarse en el conjunto del vino, siendo demasiado destacados.

En cuanto al uso de virutas, cabe destacar en el caso de viruta sin tostar la sensación de amargor, alcanzando esta sensación la mayor puntuación de las cuatro vinificaciones, y la viruta con tostado simple es la que presenta menor valor de esta sensación. También destaca el menor cuerpo en el caso de los vinos con viruta sin tostar y seguidamente viruta con tostado simple. Esto hace que los vinos al ser bebidos apenas produzcan sensación de plenitud, y pasan muy ligeramente por el paladar.

Crespy (2002) indicó que los taninos pueden incrementar las sensaciones a amargo y que aunque los taninos participen en la estructura del vino, algunas veces no tienen una buena integración y el vino pierde equilibrio, resultando en un endurecimiento de éste. En nuestro caso se aprecia que los taninos presentan un nivel considerable de amargor, pero es la viruta sin tostar la que destaca en este parámetro.

4.2.2. Pruebas Triangulares.

La tabla 4.1. muestra los resultados del análisis sensorial mediante pruebas triangulares efectuado sobre los vinos estudiados en función del tipo de producto usado en la vinificación.

Tabla 4.1.: Resultados del análisis triangular de los vinos tras estabilización por frío.

T1 = Mezcla taninos. T2 = Taninos condensados. V1 = Viruta tostado simple. V2 = Viruta sin tostar.

(* Diferencias significativas $p < 0,05$; ** Diferencias significativas $p < 0,01$;

*** Diferencias significativas $p < 0,001$).

Muestras	Número Catadores	Número Aciertos	Muestra Preferida	Promedio Visual	Promedio Olfativa	Promedio Gustativa
T1 T2	12	10***	T1 (6) T2 (4)	2,00	2,80	3,00
V1 V2	12	12***	V1 (8) V2 (4)	2,67	3,42	3,58
V1 T1	12	11***	V1 (7) T1 (4)	2,82	3,45	2,91
V2 T1	12	12***	V2 (5) T1 (7)	3,17	3,75	3,17
V1 T2	12	10***	V1 (5) T2 (5)	2,80	3,00	3,30
V2 T2	12	11***	V2 (5) T2 (6)	3,09	3,82	3,73

Tras realizar el análisis triangular vemos que las diferencias en todos los enfrentamientos realizados son significativas, tanto si enfrentamos taninos con taninos, viruta con viruta o viruta con tanino.

Para cuantificar la intensidad de las diferencias apreciadas por los catadores, se ha tomado una escala de 1 a 5, dando el menor valor cuando no hay diferencia alguna entre las características de los vinos enfrentados, y el máximo valor cuando las diferencias encontradas son muy fuertes.

Se observa que las mayores diferencias se encuentran en las sensaciones del gusto (entre 2,91 y 3,73) y aroma (entre 2,80 y 3,82) de los vinos, mientras que las diferencias en el color son algo menos acusadas, aunque tienen un promedio comprendido entre 2,00 y 3,17.

Analizando las vinificaciones con taninos vemos que la mayor diferencia entre ambos tipos de taninos se encuentra en la fase gustativa, donde alcanza un valor medio, aunque también en la olfativa es próxima a este valor. Si atendemos a la preferencia de la gente vemos que la mezcla de taninos tiene mayor aceptación, aunque la diferencia es pequeña (también habría que considerar la mayor valoración de la descriptiva).

Del mismo modo, analizando las vinificaciones con viruta podemos apreciar que las diferencias en los tres análisis sensoriales son considerables, ya que tanto la fase olfativa, como la gustativa se encuentran en valores promedio entre 3 y 4 (entre diferencias medias y fuertes). En la fase visual también se puede apreciar diferencias notables, aunque no tanto como en las otras dos fases analizadas. Atendiendo a los gustos de los catadores, en estos enfrentamientos, vemos como la viruta con tostado simple prevalece sobre la viruta sin tostar.

Atendiendo a los enfrentamientos entre los taninos y virutas, cabe destacar la gran diferencia existente en todas las fases sensoriales, destacando la fase olfativa (3,82) y la gustativa (3,73), entre la vinificación con taninos condensados y viruta sin tostar. Aunque en cuanto a la preferencia entre los catadores, se encuentran muy equilibrada, por lo que podríamos decir, que ambos vinos tienen una aceptación parecida. Algo similar sucede cuando enfrentamos la vinificación con viruta sin tostar frente a la vinificación con mezcla de taninos, donde la muestra preferida por los catadores es la que lleva la mezcla de taninos, estando algo más marcada la preferencia por el vino con mezcla de taninos. En este caso

también destaca la diferencia encontrada entre ambos en la fase olfativa, tomando un valor promedio próximo a diferencia fuerte (3,75).

Cuando se enfrentan los vinos que llevan viruta con tostado simple frente a los que llevan mezcla de taninos, la mayor diferencia se encuentra en la fase olfativa (3,45), estando esta diferencia en el intervalo comprendido entre medio y fuerte. Las diferencias encontradas en las otras dos características organolépticas, gusto y vista, alcanzan valores próximos a diferencias medias (2,82 en la fase visual y 2,91 en la fase gustativa).

Del mismo modo, si enfrentamos los vinos que llevan virutas con tostado simple frente a los que llevan taninos condensados, la mayor diferencia se encuentra en la fase gustativa (3,30), estando las otras dos características organolépticas dentro del intervalo de diferencias medias.

En ambos casos (vinos con viruta con tostado simple vs mezcla de taninos y viruta con tostado simple vs taninos condensados) las diferencias se encuentran en un intervalo entre medio y fuerte, de manera que se distinguen claramente organolépticamente.

Si nos fijamos en las preferencias de los catadores se observa cómo el vino con viruta con tostado simple prevalece frente a los vinos con mezcla de taninos, sin embargo, cuando enfrentamos los vinos con virutas con tostado simple frente a los vinos con taninos condensados no prevalece ninguno, estando ambos vinos igualmente aceptados.

5. CONCLUSIONES.

♦ Atendiendo al nivel cromático final y a la estabilización del color de los vinos tintos elaborados, podemos concluir que los preparados tánicos presentan una mayor eficacia en la labor de protección del color y estabilización del mismo, frente a los dos tipos de viruta usadas.

Si nos fijamos en los valores finales del nivel de color podemos decir que ambos preparados tánicos alcanzan niveles muy similares, luego en bodega podemos utilizarlos indistintamente si lo que buscamos es la estabilización del color y que alcance un buen nivel para una posterior crianza en barrica.

Si nos fijamos en los valores finales de los resultados obtenidos con virutas vemos que están en un nivel inferior a los taninos, por lo que si sólo atendemos a la labor estabilizante del color no serían demasiado aptas, aunque los niveles alcanzados con la viruta con tostado simple son notablemente mayores, por lo que en caso de la toma de decisión de usar viruta sería este tipo de viruta la más recomendada.

♦ En consonancia con los resultados obtenidos en la estabilización del color y nivel cromático podemos decir que el valor del tono final alcanzado en vinos tintos será bastante menor cuando usamos taninos enológicos. Esto nos indica que son vinos menos evolucionados y en mejor estado, presentando una mayor calidad.

En este caso sería recomendable el uso de preparados tánicos que presentan una mezcla de taninos (condensados e hidrolizables), ya que el tono final será menor.

Las virutas presentan mayor valor de tono que los taninos, siendo la viruta sin tostar la menos recomendable, debido a que genera vinos con mayor tono y más evolucionados, algo que no nos interesa en vinos jóvenes.

♦ Los preparados tánicos de taninos condensados generan vinos más ricos en taninos que el resto de sistemas empleado. Este hecho también hay que tenerlo en cuenta de cara a una posible crianza del vino, porque nos podría generar vinos con mayor intensidad de color. Aunque también habría que tener cuidado, ya que un exceso de los mismos puede dar demasiada astringencia en vinos jóvenes, de manera que no se integrasen completamente en el vino.

- ◆ Se afirma que el carácter de crianza que se buscaba con la adición de las virutas en el vino se consigue, siendo en este caso las virutas con tostado simple las que consiguen una mejor labor. Este hecho puede tenerse en cuenta de cara a la venta del vino obtenido, ya que podríamos venderlo con un mayor valor añadido, ya que presenta características que en vinificaciones tradicionales no se obtienen.

- ◆ Usando preparados tánicos con mezcla de taninos conseguimos vinos que organolépticamente obtienen mejores resultados, originando vinos de mayor calidad aromática y gustativa. Luego podrían ser más indicados para obtener vinos jóvenes de rápido consumo; aunque presentan el pequeño inconveniente de presentar un mayor nivel de astringencia provocado por una peor integración de los taninos en el vino, a pesar de presentar menores niveles de taninos totales que los vinos preparados con taninos condensados.

- ◆ En el análisis triangular, los vinos elaborados adicionando viruta con tostado simple han sido los que mayor aceptación han tenido junto con los elaborados con adición de preparado tánico con mezcla de taninos. Atendiendo a las preferencias podríamos decir que el orden de preferencia de los vinos podría ser: vino con viruta con tostado simple, vino con mezcla de taninos, vino con taninos condensados y por último, vino con viruta sin tostar.

- ◆ Los resultados obtenidos con viruta sin tostar no han cumplido demasiado bien las expectativas que se buscaban con la adición de las mismas, por lo que no se aconseja su uso en la elaboración, ya que además presentan menor aceptación de acuerdo a los resultados obtenidos tras los análisis sensoriales.

6.BIBLIOGRAFÍA.

- ABBOTT, N., PUECH, J. L., BAYONOVE, C. Y BAUMES, R. (1995). Determination of the aroma threshold of the *cis* and *trans* racemic forms of β -Methyl- γ -Octalactone by Gas-Chromatography-Sniffing Analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 292-294.
- ALEIXANDRE, J. L. Y GARCÍA, M. J. (1991). La madera de roble y su utilización enológica. *Vitivinicultura*, **9**, 29-39.
- ALEIXANDRE, J. L., LIZAMA, V., ALVAREZ, I. Y GARCÍA, M. J. (2002). Varietal differentiation of red wines in the valencian region (Spain). *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 751-755.
- ALONSO, E., ESTRELLA, M. I. Y REVILLA, E. (1986). Los compuestos polifenólicos en la elaboración y envejecimiento del vino. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, **9-10**, 163-168.
- AMRANI-JOUTEI, K. (1993). Localization of anthocyanins and tannins in grapevine berries. Study of their extractibility. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux II.
- AMRANI-JOUTEI, K., GLORIES, Y. Y MERCIER, M. (1994). Localization of tannins in grape berry skins. *Vitis*, **33**, 133-138.
- ARJONA SERRANO, J. (1991). Caracterización del roble según su origen y grado de tostado mediante la utilización de GC y HPLC. *Viticultura/Enología Profesional*, **14**, 61-72.
- ARTAJONA-SERRANO, J. (2002). El roble y la crianza del vino. *Viticultura/Enología Profesional*, **78**, 56-62.
- ASENSTORFER, R. E., HAYASAKA, Y., ILAND, P. G., LAMBERT, S. G. Y JONES, G. P. (1999). Wine phenolics: the development of pigments in red wine. *Proceedings of New Zealand Society for Viticulture and Oenology, Novembre 4-5*, 83-87.
- BAKKER, J. Y TIMBERLAKE, C. F. (1997). Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 35-43.
- BAUTISTA-ORTÍN, A. B. (2005). Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico. Tesis doctoral, Universidad de Murcia.
- BAUTISTA-ORTÍN, A. B., MARTÍNEZ-CUTILLAS, A., ROS-GARCÍA, J. M., LÓPEZ-ROCA, J. M. Y GÓMEZ-PLAZA, E. (2005). Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins. *International Journal of Food Science and Technology*, **40**, 867-878.

BAUTISTA-ORTÍN, A. B., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. I., ORTEGA-REGULES, A., LÓPEZ-ROCA, J. M. Y GÓMEZ PLAZA, E. (2006). Aplicación de diferentes técnicas enológicas para mejorar el color de los vinos de Monastrell. *Enólogos*, **41**, 40-45.

BLOUIN, J. (1992). Techniques d'analyses des moûtes et des vins. **Ed.** Dujardin-Salleron, Paris.

BOULTON, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, **52**, 67-87.

BROUILLARD, R. (1982) Chemical structure of anthocyanins. En: Anthocyanins as Food Colors. Markakis, P., Ed., Ac. Press, Nueva York.

CACACE, J. E. Y MAZZA, G. (2002). Extraction of Anthocyanins and Other Phenolics from Black Currants with Sulfured Water. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5939-5946.

CELOTTI, E., BATTISTUTTA, F., COMUZZO, P., SCOTTI, B., POINSAUT, P. Y ZIRONI, R. (2000). Emploi des tannins oenologiques: experience sur Cabernet Sauvignon. *Revue des Oenologues*, **27**, 14-18.

CHATONNET, P. (1992). Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins. Applications technologiques. *Bull. O.I.V.*, **731-732**, 88-89.

CHATONNET, P., BOIDRON, J. N. Y PONS, M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2^a Partie:Évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *Conn. Vigne vin*, **23**, 223-250.

CHATONNET, P., BOIDRON, J. N. Y PONS, M. (1990). Élevages des vins rouges en fûts de chêne: évolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique. *Sci. Aliments*, **10**, 565-587.

CHEYNIER, V., MOUTOUNET, M. Y SARNI MANCHADO, P. (2000b). Los compuestos fenólicos . En: *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*, Flancy, C. **Ed.**, AMV Ediciones, Madrid, pp. 114-136.

CHEYNIER, V., SOUQUET, J. M., KONTEK, A. Y MOUTOUNET, M. (1994). Anthocyanin degradation in oxidising grape musts. *J. Sci. Food Agric.*, **66**, 283-288.

CRESPY, A. (2002). Les tannins oenologiques: origins, propriétés. Le cas des tannins de raisin. *Revue des Oenologues*, **104**, 17-19.

DA SILVA, J. M. R., CHEYNIER, V., RIGAUD, J., CHEMINAT, A. Y MOUTOUNET, M. (1991). Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochem.*, **30**, 1259-1264.

DALLAS, C., RICARDO DA SILVA, J. M. Y LAUREANO, O. (1996). Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B₂, and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2402-2407.

DEL ÁLAMO SANZA, M., NEVARES-DOMÍNGUEZ, I. Y GARCÍA-MERINO, S. (2004). Influence of different aging systems and oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *Eur. Food Res. Technol.*, **219**, 124-132.

DELTEIL, D. (1995). Les macerations en rouge: L'art du détail. *Rev. Oenol.*, **77**, 23-25.

DELTEIL, D. (2000). Utilisation de tannins oenologiques sur les raisins et les vins rouges mediterraneens et rhodanines. *Rev. Franc. Oenol.*, **181**, 20-22.

DI STEFANO, R. Y CRAVERO, M. C. (1989). L composti fenolici e la natura del colore dei vini rossi. *Vini d'Italia*, **25**, 81-87.

DI STEFANO, R. Y GONZÁLEZ SAN JOSÉ, M. L. (1991). Flavans and anthocyanins in model solution and in must. *Riv. Vitic. Enol.*, **1**, 53-69.

EL-TOUMY, S. A., MARZOUK, M. S. Y RAUWALD, H. W. (2001). Ellagi and gallotannins from *Punica granatum* heartwood. *Pharmazie*, **56**, 823-824.

ESCRIBANO-BAILÓN, T., ÁLVAREZ-GARCÍA, M., RIVAS-GONZALO, J. C., HEREDIA, F. J. Y SANTOS-BUELGA, C. (2001). Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-O-glucoside and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1213-1217.

ES-SAFI, N. E., CHEYNIER, V. Y MOUTOUNET, M. (2000). Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5946-5954.

FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B., CADAHÍA, E., CONDE, E. Y GARCÍA VALLEJO, M. C. (1999). Evolution of phenolic compounds of spanish oak wood during natural seasoning. First results. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1687-1694.

FULCRAND, H., BENABDELJALIL, C., RIGAUD, J., CHEYNIER, V. Y MOUTOUNET, M. (1998). A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochem.*, **47**, 1401-1407.

FULCRAND, H., CHEYNIER, V., OSZMIANSKI, J. Y MOUTOUNET, M. (1997). An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochem.*, **46**, 223-227.

GAWEL, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Aust. J. Grape Wine Res.*, **4**, 74-95.

GIMÉNEZ MARTÍNEZ, R., LÓPEZ GARCÍA DE LA SERRANA, H., VILLALÓN MIR, M., QUESADA GRANADOS, J. Y LÓPEZ MARTÍNEZ, M. C. (1996). Influence of wood heat treatment, temperature and maceration time on vanillin, syringaldehyde and gallic acid contents in oak wood and wine spirit mixtures. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 441-446.

GRISEBACH, H. (1982). Anthocyanins as food colors. *Ed. P. Markakis. Ac. Press. Nueva York*. 69.

HAGERMAN, A. E. Y BUTLER, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 809-812.

HALE, M. D., MCCAFFERTY, K., LARMIE, E., NEWTON, J. Y SWAN, J. S. (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **50**, 495-502.

HARBERTSON, J. F., KENNEDY, J.A. Y ADAMS, D. O. (2002). Tannin in skin and seeds of Cabernet sauvignon, Syrah and Pinot noir berries during ripening. *Am. J. Enol. Vitic.*, **53**, p 54-59.

HARBONE, J. B. Y HALL, E. (1976). Plant polyphenols. XIII. The systematic distribution and origin of anthocyanins containing branched trisaccharides. *Phytochem.*, **3**, 453-463.

HARBORNE, J. B. (1976). Chemistry and biochemistry of plant pigments. I. *Ac. Press. Nueva York*.

HAYASAKA, Y. Y ASENSTORFER, R. E. (2002). Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 756-761.

HRAZDINA, G. (1982). The flavonoids. Advances in research. Chapman and Hall, Londres, New York, 135-188.

KLUMPERS, J., SCALBERT, A. Y JANIN, G. (1994). Ellagitannins in european oak wood: polymerization during wood ageing. *Phytochem.*, **36**, 1249-1252.

LEE, C. Y., JAWORSKY, A.W. (1990). Identification of some phenolics in white grapes. *Am. J. Enol. Vitic*, **41**, 87-89.

LEMPEREUR, V., BLAYTEYRON, L., LABARBE, B., SAUCIER, C., KLEBEK, H. Y GLORIES, Y. (2002). Groupe National de travail sur les tanins oenologiques. Premiers résultats. *Rev. Franc. Oenol.*, **196**, 23-29.

LIU, S. Q. Y PILONE, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **35**, 49-61.

MARCO, J., ARTAJONA, J., LARRECHI, M. S. Y RIUS, F. X. (1994). Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**, 192-200.

MARECA, I. (1981). Alteraciones en el color de los vinos. Prevención y soluciones. *Sem. Vitiv.*, **1841**, 4623-4629.

MARTÍNEZ-GARCÍA, J., LÓPEZ-MARTÍN, R., SANTAMARÍA-AQUILUE, P., BARUA-GONZÁLEZ, M. Y GUTIERREZ-VIGUERA, A. (2003). Efecto de la aplicación de taninos enológicos durante la maceración en la composición y estabilidad polifenólica de los vinos tintos. *Viticultura y Enología Profesional*, **85**, 53-62.

MASSON, G., PUECH, J. L. Y MOUTOUNET, M. (1996). Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. O.I.V.*, **785-786**, 635-657.

MATEUS, N. Y DE FREITAS, V. A. P. (2001). Evolution and stability of anthocyanin derived pigments during port wine aging. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5217-5222.

MATEUS, N., CARVALHO, E., CARVALHO, A. R. F., GONZÁLEZ PARAMÁS, A. M., SANTOS BUELGA, C., SILVA, A. M. S. Y DE FREITAS, V. A. P. (2003a). Isolation and structural characterization of new acylated anthocyanin-vinyl-flavanol pigments occurring in aging red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 277-282.

MORATA, A., GÓMEZ-CORDOVÉS, M. C., SUBERVIOLA, L., BARTOLOMÉ, B., COLOMO, B. Y SUÁREZ, J. A. (2003). Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 4084-4088.

MOSEDALE, J. R. Y PUECH, J. L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. *Food Sci. Tech.*, **9**, 95-101.

MOSEDALE, J. R., PUECH, J. L. Y FEUILLAT, F. (1999). The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *Am. J. Enol. Vitic.*, **50**, 503-512.

MOUTOUNET, M., PUECH, J. L., KELLER, R. Y FEUILLAT, F. (1999). Les caractéristiques du bois de chêne en relation avec son utilisation en oenologie. Le phénomène de duramisation et ses conséquences. *Rev. Franç. Oenolog.*, **174**, 12-17.

MOUTOUNET, M., RABIER, P., SARNI, F. Y SCALBERT, A. (1992). Les tanins du bois de chêne. Les conditions de leur présence dans les vins. *Vigne Vin Pub. Int. Martillac*, **33**, 75-79.

MOYA, M. (2003). Determinación de componentes aromáticos en vinos de crianza mediante el uso de patrones deuterados. Tesis licenciatura. Universidad de Murcia.

OLIVA, J., AZORÍN, P., CÁMARA, M. A. Y BARBA, A. (2001). Incidencia de la adición de distintos tipos de taninos enológicos en el color de vinos tintos Monastrell. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, **156**, 87-92.

PARDO, F. (2001). Incidencia de la adición de distintos taninos enológicos en el color de los vinos tintos de Monastrell. *Alimentación, equipos y tecnología*, **20**, 87-92.

PARDO, F. Y NAVARRO, G. (1993). Influencia del tiempo de maceración sobre el contenido de compuestos fenólicos en la vinificación en tinto de uvas Monastrell. *Viticultura y Enología Profesional*, **26**, 51-55.

PECKET, R. C. Y SMALL, C. J. (1980). Occurrence, localitation and development of anthocyanoplasts. *Phytochem.*, **19**, 2571-2576.

PÉREZ-PRIETO, L. J., LÓPEZ-ROCA, J. M., MARTÍNEZ-CUTILLAS, A., PARDO-MÍNGUEZ, F. Y GÓMEZ-PLAZA, E. (2002). Maturing wines in oak barrels. Effect of oak origin, volume and age of the barrel on the wine volatile composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3272-3276.

PÉREZ-PRIETO, L. J. (2004). Influencia del tamaño, edad y tipo de madera de las barricas sobre la calidad de los vinos de crianza de la región de Murcia. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

PIRETTI, M.V., GHEDINI, M., SERRAZANETTI, G. (1976). Isolation and identification of the polyphenolic and terpenoid constituents of *Vitis vinifera* v. Trebbiano variety. *Phytochem.*, **36**, 781-784.

POINSAUT, P. (2000). Les tannins oenologiques-propriétés et applications pratiques. *Reveu des Oenologues*, **95**, 33-35.

PRICE, S.F., WATSON, B. T., VALLADAO, M., (1995b). Vineyard and winery effects on wine penolics-flavanols in Oregon Pinot noir. En: Proceedings of te ninth Australian Wine Industry Technical Confernece., Adelaide. Stockley, C. S. Sas, A. N., Johnstone, R. S., and Lee, T. H. (Eds.).

PRICE, S.F., BREEN, P.J., VALLADAO, M., WATSON, B. T., (1995a) : Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 187-194.

PUECH, J. L., MERTZ, C., MICHON, V., LE GUARNEVÉ, C., DOCO, T. Y HERVÉ DU PENHOAT, C. (1999). Evolution of castalagin and vescalagin in etanol solutions. Identification of new derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2060-2066.

RADLER, F. (1965). The main constituents of the surface waxes of varieties and species of the genus *Vitis*. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 159-167.

RADLER, F. (1968). La cire cuticulaire des grains de raisin et des feuilles de vigne. *Connais. Vigne Vini*, **2**, 271-294.

RADLER, F. (1970). Cuticular waxes of *Vitis vinifera silvestris* and *Vitis vinifera*. *Angew. Bot.*, **44**, 187-194.

RIBERAU-GAYON, J., PEYNAUD, E. (1971). Sciences et techniques de la vigne. Tomo I. Traité d'Ampelologie. Ed. Dunod. Paris.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A. Y DUBOURDIEU, D. (1998a). Traité d'Oenologie. 2. Chimie du vin. Stabilisation et traitements. Dunod, Paris.

RIBERAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A. Y DUBOURDIEU, D. (1999). Phenolic Compounds. En "Handbook of enology, Vol 2." "The chemistry of wine, Stabilization and treatments". *John Wiley & sons, Ltd, Chichester*, 129-186.

ROMERO, C. Y BAKKER, J. (1999). Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3130-3139.

RUIZ, M. (1990). Compuestos fenólicos de la uva y fermentación. Síntesis. *Semana Vitivinícola*, **2303**, 4303-4307.

RUIZ, M. (1999). La crianza del vino tinto. **Ed. Mundi-Prensa**.

SALAGOITY-AUGUSTE, M. H., TRICARD, CH. Y SUDRAUD, P. (1987). Dosage simultané des aldéhydes aromatiques et des coumarines par chromatographie liquide haute performance. Application aux vins et eaux-de-vie vieillies en fût de chêne. *J. Chromatogr.*, **392**, 379-387.

SARNI MANCHADO, P., DELERIS, A., AVALLONE, S., CHEYNIER, V. Y MOUTOUNET, M. (1999). Analysis and characterization of wine condensed tannins precipitated by protein used as fining agent in enology. *Am. J. Enol. Vitic.*, **50**, 81-86.

SAYED, A. A., EL-TOUMY, S. A. Y RAUWALD, H. W. (2002). *Phytochem.*, **61**, 971-974.

SINGLETON, V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: comparisons, facts and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 98-115.

SINGLETON, V. L. Y TROUSDALE, E. K. (1992). Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **43**, 63-70.

SOMERS, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochem.*, **10**, 2175-2186.

SOMERS, T. C. Y EVANS, M. E. (1986). Evolution of red wines. I. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis*, **25**, 31-39.

SOUQUET, J., CHEYNIER, V., BROUSSAUD, F. Y MOUTOUNET, M. (1996). Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochem.*, **43**, 509-512.

TAKEDA, K., HARBORNE, J. B., SELF, R. (1986). Identification and distribution of malonated anthocyanins in plants of the compositae. *Phytochem.*, **25**, 1337-1342.

TERAHARA, N., YAMAGUCHI, M. A., TAKEDA, K., HARBORNE, J.B. (1986). Anthocyanins acylated with malic acid in *Diantheyophyllus* and *D. Deltoids*. *Phytochem.*, **25**, 1715-1717.

THORNGATE, J. H. Y SINGLETON, V. L. (1994). Reactions of monomeric and polymeric flavan-3-ols with monomeric pigment in model wine solutions. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**, 349-352.

TIMBERLAKE, C. F. Y BRIDLE, P. (1975). En *The flavonoids*. Academic Press. New York.

TIMBERLAKE, C. F. Y BRIDLE, P. (1982). *Anthocyanins as food colors*. Academic Press. Nueva York.

VALLS, J., LAMPREAVE, M., NADAL, M. Y AROLA, I. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, **2**, 119-124.

VIRIOT, C., SCALBERT, A., HERVÉ DU PENHOAT, C. L. M. Y MOUTOUNET, M. (1994). Ellagitannins in woods of sessile oak and sweet chestnut dimerization and hydrolysis during wood ageing. *Phytochem.*, **36**, 1253-1260.

VIVAR-QUINTANA, A. M., SANTOS-BUELGA, C. Y RIVAS-GONZALO, C. (2002). Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta*, **458**, 147-155.

VIVAS, N. (1997). Composition et propriétés des préparations commerciales de tanins à usage oenologique. *Rev. Oenol.*, **23**, 15-21.

VIVAS, N. (2001). Les tannins oenologiques: d'hier à aujourd'hui: une révolution discrète que nous devons assimiler dans les pratiques de chais. *Rev. Oenol.*, **98**, 11-16.

VIVAS, N. Y GLORIES, Y. (1996). Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during ageing. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 103-107.

VIVAS, N., GLORIES, Y., BOURGEOIS, G. Y VITRY, C. (1996). Les ellagitanins de bois de coeur de diferentes espeses de chênes (*Quercus sp.*) et de châtaignner (*Castanea sativa* Mill.). Dosage dans les vins rouges eleves en barrique. *J. Sci. Tech. Tonnell.*, **2**, 25-49.

VIVAS, N., PLANET, I., BOURGEOIS, G., VITRY, C., SERVERNS, CC. Y GLORIES, Y. (1998). Characterization of hertwood lignin fractions from *Quercus robur*. L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl., the main oak species used for barrel making. *Am. J. Enol. Vitic.*, **49**, 49-55.

7. ANEXO.

7.1. OTROS PARÁMETROS CONTROLADOS DURANTE ELABORACIÓN.

7.1.1. Durante fermentación alcohólica.

Para tener controlado el proceso fermentativo se controlan varios parámetros.

En el análisis inicial del mosto de partida se determina: grado Baumé, sulfuroso libre, sulfuroso total, acidez total o titulable, estado fitosanitario de la uva, nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) y si se puede acidez volátil. (Todos los parámetros comentados en este apartado vienen recogidos en tablas en el anexo).

Este control se realiza para saber si el mosto que poseemos lo vamos a poder destinar a vino de calidad o no. Para ello se establecen unos parámetros característicos de referencia, entre los cuales tenemos:

El pH del mosto debe estar entre 3,4-3,7, el grado Baumé entorno a 12-14 ° Be y poseer un estado fitosanitario correcto. Estos parámetros son los controlados al recibir la uva.

El grado Baumé nos dará una idea del contenido final que podrá tener el vino, ya que aproximadamente obtendremos un porcentaje alcohólico equivalente a los grados Baumé que posea el mosto.

El pH de un vino tinto suele estar entorno a 3,6, de ahí el rango delimitado.

El estado fitosanitario va a determinar la dosis de sulfuroso a añadir a la uva, puesto que cuanto mayor sea la putrefacción, mayor cantidad habrá que adicionar.

Una vez clasificada, y tras llenar el fermentador, se continua con la analítica del mosto.

Con la determinación de la acidez total veremos si tenemos que acidificar el mosto o reducir la misma. Normalmente en zonas del sureste español, debido a la gran cantidad de irradiación solar, la uva posee un alto contenido en azúcar y en consecuencia su acidez es baja, por lo que se suele acidificar. Para ello añadimos ácido tartárico hasta conseguir una acidez total entre 5,5 a 6 g/L en vinos tintos.

El sulfuroso que posee el mosto, tanto libre como total, es un parámetro importante, porque no sólo indicará el estado fitosanitario de la uva, sino que también nos dará una idea de cómo va a ser la extracción de los compuestos que hay en los hollejos, puesto que el sulfuroso favorece la extracción de los mismos.

El nitrógeno fácilmente asimilable es un parámetro que nos dirá si será posible el desarrollo de las levaduras, ya que el nitrógeno es un nutriente principal para el desarrollo de las mismas, sin el cual no se desarrollarían y no realizarían la fermentación. En función de éste parámetro tendremos que adicionar más o menos fosfato biamónico para un correcto desarrollo de las mismas.

La acidez volátil es un parámetro que no siempre se mide inicialmente. Tan sólo se realiza para comprobar que poseemos un buen mosto, porque es un indicativo de ello. En un vino tinto se permiten de 1,2 a 1,4 g/L de ácido acético (que es en lo que se expresa la acidez volátil); por encima de este valor no se permite su venta. Luego cuanto mayor sea su valor inicialmente mayor será su valor final, puesto que este parámetro aumenta durante la elaboración del vino.

Una vez comenzada la fermentación se controlan los siguientes parámetros: densidad, temperatura, pH y se realizan medidas espectrofotométricas para ver el contenido en antocianos totales, color, índice de polifenoles totales y copigmentación.

La temperatura debe mantenerse en un intervalo de 22 a 26 °C. En este intervalo las levaduras se encuentran en buenas condiciones para desarrollar su labor, y se consigue una buena extracción de los compuestos de los hollejos. Por encima y por debajo de este intervalo no conseguiríamos buenos resultados.

La densidad se relaciona directamente con la cantidad de azúcar que posee el mosto; la cual debe ir descendiendo conforme avanza la fermentación. Un mosto se considera vino cuando alcanza una densidad de 994-996 g/L., pero es un valor indicativo de proceso. Realmente, consideramos que un vino ya no posee azúcares residuales cuando su valor es de 2 g/L o inferior. Para determinar este valor se realiza la prueba de azúcares reductores. Esta prueba sigue una secuencia, donde adicionamos distintas sustancias.

El pH nos permite controlar la evolución del proceso y ver si se producen variaciones extrañas.

Tanto el pH como la densidad son función de la temperatura, siendo ésta otra causa por lo que se controla la temperatura.

Las misiones de las medidas espectrofotométricas realizadas ya se ha comentado en apartados anteriores.

Una vez que ha terminado la fermentación alcohólica se trasiega el vino para eliminar impurezas y se almacena en depósitos de acero inoxidable para que se lleve a cabo la fermentación maloláctica.

7.1.2. Durante fermentación maloláctica.

En esta fase las analíticas ya no se realizan diariamente, sino que se van analizando los vinos semanalmente, sobre todo en función de los valores obtenidos de los parámetros de control (los resultados de los parámetros controlados los encontramos en las tablas del anexo).

Aquí los parámetros controlados son: acidez total, pH, temperatura, acidez volátil y color, aunque no en todas las analíticas.

Los parámetros determinantes en esta etapa son la acidez volátil y el pH, ya que un incremento de estos valores puede indicar que ha finalizado el proceso. Cuando sucede esto y sospechamos que ha podido terminar, se realiza una determinación de ácido maloláctico mediante cromatografía en papel. Y finalmente se realiza una determinación del contenido en ácido málico mediante test enzimático.

Se considera que se ha realizado la fermentación maloláctica, cuando la concentración de ácido málico es inferior a 0,2 g/L.

Una vez terminado el proceso se determina el sulfuroso libre y total del vino y se envía a estabilización por frío.

Tabla 1.: Variables controladas durante la vinificación con virutas sin tostar.

°Be: 12,60 SO₂L: 18 mg/L SO₂T: 34 mg/L NFA: 164,64 mg/L
 AT: 4,93 mg/L

Fecha	I.P.T.	Ant. Tot.	A ^{SO₂}	T ^a	Densidad	pH	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀
29/09/05				20,9	1096	3,68			
30/09/05	23,73	449,21	0,25	21,5	1095	3,52	0,65	0,77	0,17
01/10/05	32,62	452,70	1,47	22,4	1085	3,45	4,32	10,39	1,62
02/10/05	48,08	724,31	2,75	24,8	1029	3,38	5,40	13,31	1,99
03/10/05	56,56	767,26	1,73	24,2	1001	3,42	4,91	13,03	1,40
04/10/05	64,03	723,15	1,76	23,2	997	3,44	4,57	12,17	1,27
05/10/05	58,68	696,78	1,65	23,0	996	3,40	4,13	10,81	1,13
06/10/05	57,87	710,39	1,97	21,7	996	3,51	3,71	9,26	1,14

Tabla 2.: Productos adicionados durante la vinificación con virutas sin tostar.

Fecha	Producto	Dosis	Cantidad
28/09/05	Sulfoferment	50 mg/L	3 L
“	Endozym ICS-10 Rouge	0,67 mL/hL	400 mL
“	Oenotannin BF	1 g/L	60 kg
29/09/05	Ácido tartárico	1,5 g/L	75 kg
“	Actipasa plus	10 g/hL	6 kg
“	Actimax Vit.	20 g/hL	12 kg
“	Uvaferm L2056	200 mg/L	10 kg
“	Fosfato Biamónico	10 g/hL	6 kg

Tabla 3.: Variables controladas durante la vinificación con viruta tostado simple.

°Be: 12,60 SO₂L: 15 mg/L SO₂T: 29 mg/L NFA: 167,44 mg/L
 AT: 5,68 mg/L AV: 0,11

Fecha	I.P.T.	Ant. Tot.	A ^{SO₂}	T ^a	Densidad	pH	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀
28/09/05	12,42	104,47	0,28	21,8	1097	3,68	1,56	1,72	0,65
29/09/05	29,09	393,50	2,73	24,8	1070	3,48	6,12	8,69	3,70
30/09/05	50,40	639,58	2,49	26,0	1025	3,56	5,00	10,88	2,02
01/10/05	55,55	669,76	1,52	26,4	1000	3,63	4,30	10,24	1,36
02/10/05	72,01	619,85	1,53	24,5	995	3,65	4,10	9,56	1,29
03/10/05	61,41	583,86	1,40	23,6	995	3,67	3,72	8,56	1,15

Tabla 4.: Productos adicionados durante la vinificación con viruta tostado simple.

Fecha	Producto	Dosis	Cantidad
27/09/05	Sulfoferment	50 mg/L	3 L
“	Endozym ICS-Rouge	0,67 mL/hL	400 mL
“	Oenotannin SCA	1 g/L	60 kg
28/09/05	Actimax Vit.	20 g/hL	12 kg
“	Uvaferm L2056	200 mg/L	10 kg
“	Ácido tartárico	1 g/L	50 kg
“	Actipasa plus	10 g/hL	6 kg
29/09/05	Fosfato Biamónico	10 g/hL	6 kg

Tabla 5.: Variables controladas durante la vinificación con taninos condensados.

°Be: 12,20 SO₂L: 5 mg/L SO₂T: 17 mg/L NFA: 161 mg/L
 AT: 5,25 mg/L AV:0,18

Fecha	I.P.T.	Ant. Tot.	A ^{SO₂}	T ^a	Densidad	pH	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀
25/09/05				22,40	1090	3,75			
26/09/05	41,41	535,11	1,51	23,80	1057	3,49	0,78	1,31	0,48
27/09/05	68,18	646,02	1,30	23,30	1020	3,57	4,38	11,24	1,36
28/09/05	62,01	701,10	1,48	24,80	1001	3,60	4,42	11,21	1,31
29/09/05	73,43	662,79	1,58	25,10	996	3,56	4,51	10,61	1,46
30/09/05	75,24	668,60	1,57	24,40	996	3,55	4,42	10,17	1,46
01/10/05	79,89	637,26	1,59	23,60	995	3,63	4,20	9,89	1,28

Tabla 6.: Productos adicionados durante la vinificación con taninos condensados.

Fecha	Producto	Dosis	Cantidad
24/09/05	Sulfoferment	50 mg/L	3 L
“	Endozym ICS-10 Rouge	0,67 mL/hL	400 mL
25/09/05	Ácido tartárico	1,5 g/L	75 kg
“	Actipasa plus	10 g/hL	6 kg
“	Uvaferm L2056	200 mg/L	10 kg
“	Actimax Vit.	20 g/hL	12 kg
26/09/05	Fosfato Biamónico	10 g/hL	6 kg
“	Tanicol Supra	10 g/hL	6 kg

Tabla 7.: Variables controladas durante la vinificación con mezcla de taninos.

°Be: 13,20 SO₂L: 7 mg/L SO₂T: 29 mg/L NFA: 161,7 mg/L
 AT: 5,44 mg/L AV:0,15

Fecha	I.P.T.	Ant. Tot.	A ^{SO₂}	T ^a	Densidad	pH	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀
27/09/05				22,4	1100	3,65			
28/09/05	29,49	424,84	2,60	24,0	1062	3,43	0,62	0,97	0,39
29/09/05	38,88	520,02	2,12	26,6	1024	3,45	4,64	8,86	2,31
30/09/05	55,25	657,17	1,48	26,3	1002	3,55	4,43	10,79	1,48
01/10/05	58,29	716,19	1,53	24,7	996	3,59	4,53	11,27	1,40
02/10/05	61,31	686,01	1,56	23,9	994	3,60	4,42	10,94	1,36

Tabla 8.: Productos adicionados durante la vinificación con mezcla de taninos.

Fecha	Producto	Dosis	Cantidad
26/09/05	Sulfoferment	50 mg/L	3 L
“	Endozym ICS-10 Rouge	0,67 mg/hL	400 mL
27/09/05	Ácido tartárico	1 g/L	50 kg
“	Actipasa plus	10 g/hL	6 kg
“	Uvaferm L2056	200 mg/L	10 kg
“	Actimax Vit.	20 g/hL	12 kg
28/09/05	Fosfato Biamónico	10 g/hL	6 kg
“	Fermotán líquido	20 mL/hL	12 L

Tabla 9.: Evolución de los parámetros seguidos durante fermentación maloláctica en vino con viruta sin tostar.

A°: 12,69 % vol.

Fecha	AT	AV	pH	T ^a	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀	SO ₂ L	SO ₂ T
13/10/05	6,87	0,22	3,70	20					
18/10/05	7,37	0,31	3,79	23					
26/10/05	5,78	0,37	3,88	24	2,43	3,73	0,85	32	52
07/11/05					3,01	4,04	1,23		
17/11/05					2,98	3,99	1,02		
19/12/05	4,77	0,49	4,00	19	2,86	4,02	1,01	5	35
01/03/06	4,44	0,46	3,87	20	2,77	3,82	0,97	22	27

Tabla 10.: Evolución de los parámetros seguidos durante fermentación maloláctica en vino con viruta tostado simple.

A°: 13 % vol.

Fecha	AT	AV	pH	T ^a	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀	SO ₂ L	SO ₂ T
10/10/05	7,13	0,31	3,69	22					
18/10/05	7,05	0,24	3,51	23					
24/10/05	6,55	0,33	3,68	25					
26/10/05					3,41	6,67	1,13		
04/11/05	6,38	0,35	3,75	21					
07/11/05				25	3,74	6,80	1,21		
10/11/05	7,35	0,51	3,74	22					
14/11/05					3,54	6,45	1,21		
17/11/05					3,51	6,09	1,22		
22/11/05	7,83	0,77	3,74	22				23	47
19/12/05	5,87	0,75	3,80	19	3,44	5,51	1,14	8	32
01/03/06	8,44	0,68	3,69	20	3,00	4,78	0,94	10	10

Tabla 11.: Evolución de los parámetros seguidos durante fermentación maloláctica en vino con taninos condensados.

A°: 13 % vol.

Fecha	AT	AV	pH	T ^a	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀	SO ₂ L	SO ₂ T
07/10/05	7,54	0,24	3,49	23					
18/10/05	7,15	0,22	3,49	24					
24/10/05	8,74	0,29	3,69	25					
26/10/05					4,01	7,25	1,40		
04/11/05	5,60	0,44	3,74	20				54	85
07/11/05				25	4,40	6,61	1,22		
17/11/05					3,84	6,52	1,34		
19/12/05	5,45	0,42	3,84	19	4,36	7,42	1,64	0	31
01/03/06	5,14	0,46	3,71	20	3,96	6,51	1,49	0	19

Tabla 12.: Evolución de los parámetros seguidos durante fermentación maloláctica en vino con mezcla de taninos.

A°: 13,18 % vol.

Fecha	AT	AV	pH	T ^a	A ₄₂₀	A ₅₂₀	A ₆₂₀	SO ₂ L	SO ₂ T
08/10/05	7,27	0,29	3,69	22					
18/10/05	7,37	0,26	3,46	24					
24/10/05	6,54	0,35	3,69	27					
26/10/05					3,57	6,88	1,19		
03/11/05	8,54	0,46	3,75	25					
04/11/05								29	46
07/11/05					4,32	7,36	1,25		
17/11/05					3,90	7,29	1,32		
19/12/05	5,52	0,42	3,77	19	4,60	8,17	1,95	5	27
01/03/06	5,04	0,35	3,63	20	3,84	6,66	1,61	0	14

Tabla 13.: Control de ácido málico mediante test enzimático.

Tipo vinificación	Fecha	Concentración Ác. Málico(g/L)
Viruta tostado simple	17/10/05	1,75
	28/10/05	0,78
	07/11/05	0,35
	14/11/05	0,17
Viruta sin tostar	17/10/05	0,09
Taninos Condensados	17/10/05	1,41
	28/10/05	0,07
Mezcla de Taninos	17/10/05	1,39
	28/10/05	0,07

Tabla 14.: Evolución de los taninos totales en las vinificaciones.

Tipo de Vinificación	Fecha	Concentración (mg/L)
Viruta sin tostar	29/09/05	32,8
	30/09/05	40,8
	01/10/05	53,2
	02/10/05	129,6
	03/10/05	374,0
	04/10/05	542,0
	05/10/05	829,2
	06/10/05	666,4
	Final de maloláctica	298,0
	Estabilización por frío	264,8
Viruta tostado simple	28/09/05	27,6
	29/09/05	39,6
	30/09/05	220,0
	01/10/05	489,6
	02/10/05	482,0
	03/10/05	568,8
	Final de maloláctica	538,8
	Estabilización por frío	412,0
Taninos Condensados	26/09/05	148,8
	27/09/05	197,6
	28/09/05	496,4
	29/09/05	701,6
	30/09/05	749,2
	01/10/05	954,0
	Final de maloláctica	609,2
	Estabilización por frío	550,4
Mezcla de Taninos	28/09/05	32,8
	29/09/05	42,8
	30/09/05	318,8
	01/10/05	410,0
	02/10/05	604,8
	Final de maloláctica	410,8
	Estabilización por frío	421,2

Tabla 15.: Evolución de los elagitaninos en las vinificaciones.

Tipo de Vinificación	Fecha *	Concentración (ppm)
Viruta tostado simple	03/10/05	114,0
	Final de maloláctica	67,5
	Estabilización por frío	12,0
Viruta sin tostar	03/10/05	11,0
	04/10/05	13,0
	05/10/05	5,5
	06/10/05	10,5
	Final de maloláctica	53,0
Mezcla de Taninos	01/10/05	82,5
	Final de maloláctica	107,0
	Estabilización por frío	83,5
Taninos Condensados	30/09/05	10,0
	01/10/05	8,0
	Final de maloláctica	6,5
	Estabilización por frío	8,0

* Sólo se han incluido los días en los que se detectó el ácido elágico.