

“INFLUENCIA DE LOS FENÓMENOS DE COPIGMENTACIÓN SOBRE LA CALIDAD FENÓLICA DE LOS VINOS TINTOS DE TEMPRANILLO”

MASTER EN CIENCIA E INGENIERIA DE LOS ALIMENTOS

José Luis Aleixandre Tudó

Directores:
Inmaculada Alvarez Cano
José Luis Aleixandre Benavent

Centro:
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos
Universidad Politécnica de Valencia

“INFLUENCIA DE LOS FENÓMENOS DE COPIGMENTACIÓN SOBRE LA CALIDAD FENÓLICA DE LOS VINOS TINTOS DE TEMPRANILLO”.

J. L. Aleixandre Tudó, I. Álvarez Cano y J.L. Aleixandre Benavent

RESUMEN

El color de los vinos tintos depende de la concentración de antocianos, y de su estado en el vino, estado que depende de varios factores, siendo uno de ellos el fenómeno de la copigmentación. La copigmentación se define como la asociación entre antocianos y otros compuestos fenólicos menos coloreados, dando lugar a una estructura compleja que aumenta la intensidad del color rojo del vino. Este efecto es muy importante en los vinos jóvenes, ya que es el responsable del 30-50% de su color.

El objetivo de este trabajo es estudiar el posible incremento del color de los vinos tintos de Tempranillo mediante la adición prefermentativa de copigmentos, estableciendo una metodología de elaboración que permita incrementar la extracción fenólica y los niveles de copigmentación. Para ello se va a determinar el efecto de la maceración prefermentativa en frío y de la maceración prefermentativa con nieve carbónica en la composición antocianica y tánica de los vinos, en los compuestos del color, y en su valoración organoléptica.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las técnicas de maceración prefermentativas aplicadas en la elaboración de los vinos de Tempranillo presenta un efecto significativo en los parámetros fenólicos analizados, relacionados con el color, los antocianos y los taninos. La adición prefermentativa de copigmentos también contribuye al aumento de los parámetros fenólicos, siendo la rutina, la catequina y las proantocianidinas los que aportan un mayor incremento de los polifenoles al color.

El análisis sensorial de los atributos considerados revela que si bien la adición de copigmentos no influye en gran medida, las técnicas de vinificación con maceración en frío y nieve carbónica si que contribuyen a mejorar los caracteres organolépticos de los vinos estudiados.

PALABRAS CLAVE: vino tinto, maceración prefermentativa, copigmentación, Tempranillo.

RESUM

El color dels vins negres depen de la concentració de antocians i del seu estat en el vi, estat que depen de diferents factors, sigent un d'ells el fenomen de la copigmentació. La copigmentació es defineix com l'associació entre antocians y altres compostos fenòlics menys colorejats, donant lloc a una estructura complexa que augmenta la intensitat del color roig del vi. Aquest efecte es molt important en vins joves, ja que es el responsable del 30-50% del seu color.

L'objectiu d'aquest treball es estudiar el possible increment del color en el vins negres de la varietat Tempranillo mitjançant l'adició prefermentativa de copigments, establint una metodologia d'elaboració que incremente la extracció fenólica i els nivells de copigmentacion. Per lo tant es va a determinar l'efecte de la maceració prefermentativa

en fred i la maceració prefermentativa amb neu carbònica en la composició antociànica y tànica del vins, en els compostos del color i en la seua valoració organolèptica.

Els resultats posen de manifest que les tècniques de maceració prefermentativa aplicades en l'elaboració del vins de Tempranillo presenten un efecte significatiu en els parametres fenòlics analitzats, relacionats amb el color, el antocians y el tanins. L'adició prefermentativa de copigments també infueix a l'augment dels parametres fenòlics, sigent la rutina, la catequina y les proantocianidines els que aporten un major increment dels polifenols al color.

L'anàlisi sensorial dels atributs considerats revela qué, si be l'adició de copigments no influeix molt, les tècniques de vinificació amb maceració amb fred i amb neu carbònica si que contribuïxen a millorar les característiques organolèptiques del vi.

PARAULES CLAUS: vi negre, maceració prefermentativa, copigmentació, Tempranillo.

ABSTRACT

The colour of the red wines depend the antocyannes concentration and own state in the wine wich depend the several factors being one of them the copygmentation fenomenom. Copygmentation is the assosation between antocyannes and other phenolics compounds less coloured givingplace a complex structured which increase the intensity of red colour. The effect is very important in young wines because is the responsible of the 30-50% the colour.

The pourpose of this woprk is to study the increase and stability of the colour in red wines made from Tempranillo grapes using prefermentative addition of copygments and stablising a vinification methodology to increase the phenolic extraction and copygmentation levels. To obtained this pourpose are going to stablised the prefermentative cold maceration and prefermantative dry ice maceration effects on the antocyannes and tannins compounds of the wines and on the organoleptic assesement.

The results shown that the prefermentative maceration techniques applied to vinification wines the Tempranillo grapes have a significance effect in the phenolics parameters related with colour, antocyannes and tannins. The prefermentative addition of the copygments also contribute to increase the phenolics parameters being rutine, catequine and proantocyanidene wich more increase values.

The sensorial analysis shown that the addition of copygments don't have a big influence but the cold and dry ice vinification techniques are a influence in the organoleptic characteristics of the wines elaborated.

KEY WORDS: red wine, prefermentative maceration, copigmentation, Tempranillo.

1. INTRODUCCION

El color es una de las características organolépticas más importantes para el consumidor a la hora de apreciar un vino y va unido a sensaciones gustativas y táctiles (Cacho, 2003). Los compuestos primarios que aportan el color rojo al vino son los antocianos, metabolitos secundarios de las plantas, responsables también de los tonos azules, púrpuras y morados (Mazza y Brouillard, 1990). Puede afirmarse que los antocianos son las principales moléculas coloreadas tanto de uvas como de los vinos tintos, ya que los colores rojos y azules provienen bien directamente de ellas o de sus uniones a otras moléculas presentes en el vino (Zamora, 2003).

Los antocianos se almacenan en las uvas tintas durante su maduración. Localizados habitualmente en el hollejo y en las 3 ó 4 primeras capas celulares del hipodermo, estos pigmentos se encuentran también en el seno de la pulpa en las uvas tintoreras. A nivel subcelular, se encuentran en las vacuolas, en orgánulos especializados definidos como antocianoplastos (Pecket y Small, 1980).

El mercado actual del vino tinto de calidad demanda vinos de gran intensidad de color y alta concentración tánica, pero que no resulten excesivamente astringentes. La elaboración de este tipo de vinos no resulta sencilla, ya que siendo imprescindible una aceptable madurez polifenólica de las uvas, habría que adaptar las prácticas de vinificación para limitar al máximo la extracción de compuestos astringentes, realizando una maceración prefermentativa previa, para acortar el tiempo de contacto entre hollejos y mostos durante la fermentación. Sin embargo, limitar la extracción de compuestos polifenólicos puede afectar a la estabilidad del color del vino tinto con el paso del tiempo.

Las técnicas de vinificación ejercen una gran influencia en la extracción de los compuestos de las uvas, afectando a la concentración y composición de los vinos tintos. Tanto la temperatura y la duración de la maceración, como la presencia o ausencia de etanol, son factores que afectan a las características y composición de los antocianos, así como a los fenómenos de copigmentación (Gómez-Minguez y Heredia, 2004).

La maceración prefermentativa en frío ha sido utilizada para aumentar la concentración de compuestos volátiles del mosto (Okubo et al., 2003; Zamora, 2004), y muchos investigadores sostienen que en la vinificación de vinos tintos puede ser una alternativa para una mayor y mejor extracción de los compuestos polifenólicos, influyendo en el aumento de la concentración de antocianos, del índice de ionización y de la copigmentación de los mismos, que afecta directamente a la estabilidad del color, facilitando además la formación de estructuras poliméricas y la condensación de los taninos que a su vez dan volumen y redondez al vino (Reynolds et al., 2001; Álvarez et al., 2004a, b). Se consigue también disminuir la intensidad de la extracción durante el proceso fermentativo, con lo que se minimiza el riesgo de extracción de taninos de las pepitas.

La copigmentación consiste en el aumento del color de los pigmentos debido a la presencia de componentes incoloros e implica la asociación preferencial y no covalente de los antocianos libres con un grupo de componentes, fenólicos o no, que se denominan copigmentos (sustancias poco coloreadas o incoloras), para formar complejos de apilamiento vertical tipo “sándwich” (Boulton, 2001). Los copigmentos poseen sistemas capaces de asociarse con el ión flavilium, lo que lo protege del ataque nucleofílico del agua (Bakowska et al., 2002) impidiendo que éstas alcancen al antociano, lo hidraten y lo decoloren. Dado que el ataque por el agua convierte al ión flavilium en la pseudobase no coloreada, la copigmentación es uno de los principales factores de estabilización de la estructura del flavilium in vivo (Osawa, 1982; Brouillard, 1983). Además, los copigmentos

pueden formar complejos coloreados con las formas incoloras de los antocianos (Baranac et al., 1996, 1997 a, b, c; Brouillard et al., 1989). Los cambios de color que se producen en frutos, vegetales y flores pueden ser atribuidos a estas reacciones (Asen et al., 1972; Mistry et al., 1991; Davies y Mazza, 1993). A medida que van copigmentándose se va produciendo un aumento de la intensidad del color.

Las reacciones de copigmentación han sido estudiadas en soluciones modelo, encontrándose que intervienen en ellas algunos compuestos del grupo de los ácidos hidroxicinámicos y de los flavonoides, que actúan sobre la coloración de los antocianos, en distintas condiciones de pH, temperatura y concentraciones de copigmento y de antociano, dando lugar a un aumento en la intensidad del color (efecto hiperacrómico) y un desplazamiento de la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorbancia (efecto batocrómico) (Baranowski y Nagel, 1983; Brouillard et al., 1989; Bloor y Falshaw, 2000). En algunos de estos estudios se ha investigado y precisado el mecanismo de reacción y la constante de estabilidad del complejo formado entre el antociano y el copigmento. Un incremento en la concentración de copigmentos conduce a una intensificación del color, dado que, hay un desplazamiento de las formas menos coloreadas de los antocianos libres hacia las formas coloreadas, y por otro lado, los propios antocianos copigmentados que se forman aportan mayor intensidad colorante que el catión flavilio. Estos estudios que surgieron como investigación del color en plantas y frutos, han permitido derivar estos conocimientos hacia el color de los vinos (Dangles y Brouillard, 1992; Boulton, 1996, 1997, 1999, 20001; Gómez-Minguez y Heredia, 2004).

El objetivo principal de este trabajo es estudiar el posible incremento del color de los vinos tintos de Tempranillo mediante la adición prefermentativa de copigmentos y la aplicación de técnicas de maceración prefermentativa en frío.

Para ello se han elaborado diferentes tipos de vinos utilizando diferentes tecnologías de vinificación y distintos tipos de copigmentos, realizándose posteriormente las determinaciones analíticas relacionadas con el color, antocianos y taninos. También se ha realizado una valoración sensorial de los diferentes vinos obtenidos.

2. MATERIALES Y METODOS

La uva para realizar el estudio procede de una parcela de la Bodega Chozas Carrascal, situada en la D.O. Utiel-Requena. El viñedo tiene 10 años de edad y es de la variedad Tempranillo injertada sobre el portainjerto 110-Richter, estando cultivada en secano y con riego de apoyo por goteo.

La vendimia se ha realizado en cajas de plástico de 18 a 20 Kg, transportándose rápidamente a la bodega. La uva se ha despallado y estrujado encubándose para su vinificación en depósitos de acero inoxidable de 50 litros de capacidad, sulfitándose con 5 g/hL de anhídrido sulfuroso. A continuación se han añadido los copigmentos: ácido cafeico (ACF), rutina (RU), catequina (KT), proantocianida del hollejo de uva blanca (PRO), y proantocianidina de pepita de uva blanca (TAN), obteniéndose 18 vinos diferentes contando con los testigos. Se han realizado tres tipos de vinificaciones, todas ellas por duplicado:

- 1^a. Vinificación sin maceración prefermentativa.
- 2^a. Vinificación con maceración prefermentativa a 6-8 °C durante 4 días.
- 3^a. Vinificación con maceración prefermentativa con enfriamiento previo a 0° en nieve carbónica y mantenimiento a 6-8 °C durante 4 días.

Los mostos se han sembrado con 20 g/hL de levaduras seleccionadas de *Sccharomyces cerevisiae*. La fermentación se ha realizado por el sistema tradicional en depósitos cilíndricos de acero inoxidable con camisas de refrigeración para mantener la temperatura entre 27-28 °C. Durante el proceso de maceración-fermentación se han realizado dos remontados diarios de la mitad del volumen del depósito, descubándose a los 10 días de maceración (densidad entre 997-994).

En las vinificaciones de maceración prefermentativa se ha dejado de aplicar frío a los cuatro días, calentándose el depósito hasta temperatura ambiente, para realizar la siembra de levaduras. En estos depósitos se ha seguido la misma pauta de fermentación-maceración que en los que no se realiza maceración prefermentativa. El descube se ha realizado con el mismo criterio que en los testigos, para que no haya diferencias en el tiempo y temperatura de maceración fermentativa.

Una vez terminada la fermentación alcohólica, se ha realizado la fermentación maloláctica previa adición a todos los depósitos de 1 g/hL de bacterias *Oenococcus oeni*. Terminada ésta los vinos se han corregido a 30 mg/L de sulfuroso libre, trasegándolos para que se homogeneizen y finalmente se embotellen.

La figura 1 recoge un esquema del diseño experimental del trabajo con los diferentes tipos de vinos elaborados.

Las determinaciones analíticas de los parámetros mas comunes de los vinos tales como densidad, grado alcohólico, azúcares reductores, acidez total, pH, acidez volátil y sulfuroso total y libre se ha realizado según los métodos que aparecen en el Reglamento Oficial de la Unión Europea. (OIV, 1979). Para los compuestos fenólicos analizados se han utilizado los métodos siguientes: Antocianos totales y Antocianos Copigmentados, Polimerizados y Libres (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayon, 1979), Catequinas (Sun *et al.*, 1959), Índice de Etanol, Índice de Gelatina, e Índice de Ionización (Glories, 1978), Índice de Polifenoles Totales (Ribereau-Gayón, 1979), Índice de Polimerización (Ruiz, 1994), Índice de PVPP (Blouin, 1977; Vivas, 1995), Índice de Ácido Clorhídrico (Vivas *et al.*, 1995). Índice de DMACH (Vivas *et al.*, 1994). Intensidad Colorante y Tono o Matiz (Comisión Europea, 1990), Taninos Condensados Totales (Saint-Criq *et al.*, 1998).

Para la valoración sensorial de los vinos se ha utilizado un panel de catadores seleccionados y entrenados. La cata de los vinos se realizó en la sala de catas del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV. El modelo de ficha utilizado es el correspondiente a las diferentes tablas que aparecen en el apartado de valoración sensorial de los vinos donde se evalúan los atributos considerados. La puntuación utilizada va de 1 a 7 según la siguiente escala: 1 (Muy mal), 2 (Mal), 3 (Regular), 4 (Aceptable), 5 (Bien), 6 (Muy bien) y 7 (Excelente).

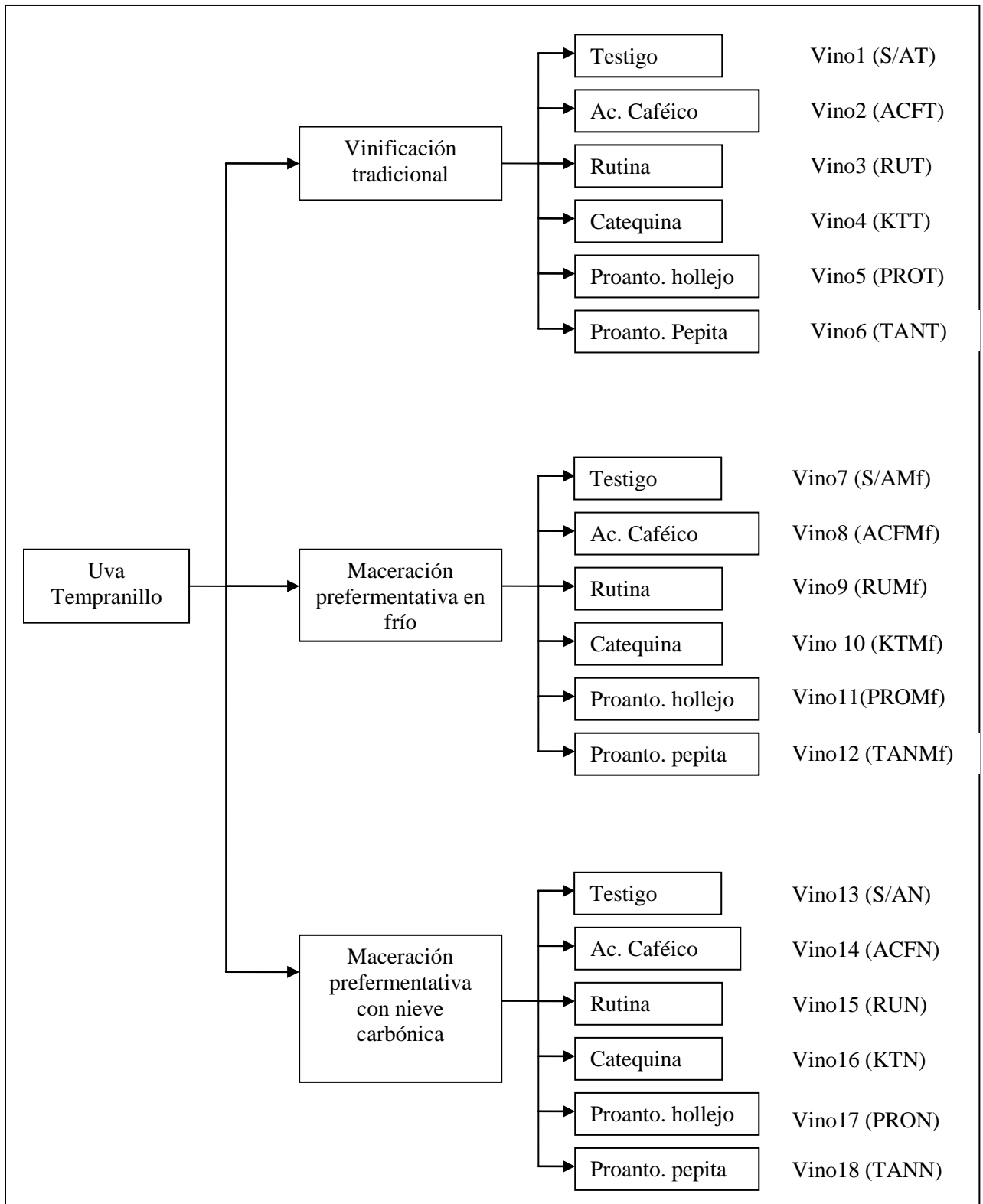


Figura 1. Esquema del diseño experimental del trabajo

El tratamiento estadístico se ha llevado a cabo con el programa informático *STATGRAPHICS Plus 5.1* for Windows. Se ha realizado un análisis de la varianza (ANOVA) para ver si existen diferencias significativas entre los parámetros analizados de los vinos obtenidos.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

El mosto de Tempranillo obtenido tiene 12,85 °Bé, 6,92 g/L de acidez total expresada en ácido tartárico y un pH de 3,41. En la tabla 1 se recogen los valores medios de los parámetros comunes más característicos de los vinos de Tempranillo elaborados con diferentes técnicas de vinificación y adición de distintos copigmentos.

Tabla 1. Valores de los parámetros comunes de los vinos de Tempranillo

VINOS	Densidad (g/L)	Gadro alcohólico (%Vol)	Acidez total (g/L ácido tartárico)	pH	Azúcares reductores (g/L)	SO ₂ L (mg/L)	Acidez volátil (g/L ácido acético)	SO ₂ T (mg/L)
S/AT	0,997	12,70	5,52	3,62	1,28	30	0,22	90
ACFT	0,996	12,72	5,63	3,71	1,51	28	0,21	98
RUT	0,997	12,75	5,61	3,66	1,33	27	0,30	99
KTT	0,997	12,72	5,65	3,59	1,42	29	0,26	89
PROT	0,997	12,70	5,55	3,64	1,36	30	0,24	88
TANT	0,996	12,70	5,54	3,70	1,24	30	0,28	94
S/AMf	0,996	12,73	5,60	3,55	1,11	26	0,23	95
ACFMf	0,995	12,73	5,65	3,58	1,31	28	0,25	86
RUMf	0,997	12,75	5,63	3,60	1,40	32	0,29	97
KTMf	0,997	12,70	5,62	3,65	1,42	33	0,30	98
PROMf	0,996	12,72	5,66	3,60	1,46	30	0,30	87
TANMf	0,995	12,75	5,50	3,66	1,18	29	0,26	89
S/AN	0,995	12,76	5,68	3,70	1,20	28	0,24	86
ACFN	0,996	12,75	5,65	3,62	1,13	30	0,24	87
RUN	0,997	12,76	5,55	3,63	1,26	32	0,28	96
KTN	0,994	12,75	5,70	3,64	1,34	31	0,29	94
PRON	0,996	12,74	5,60	3,66	1,17	30	0,23	95
TANN	0,994	12,73	5,64	3,70	1,13	26	0,24	97

3.1. EFECTO DE LA ADICIÓN DE COPIGMENTOS

En las tablas 2, 3 y 4 se recogen los valores medios de los parámetros fenólicos estudiados, en función de la adición prefermentativa de los distintos copigmentos.

El tratamiento estadístico se ha realizando considerando conjuntamente todos los vinos en los que no se ha adicionado copigmentos, y todos aquellos en los que se ha adicionado el copigmento: ácido caféico, rutina, catequina, proantocianidina de hollejo y de pepita, independientemente de la técnica de vinificación utilizada, valorando así exclusivamente el efecto de la adición de copigmentos en los vinos de Tempranillo.

Para un mismo parámetro analítico los valores de las columnas con la misma letra indican que no existen diferencias significativas entre los vinos obtenidos con la adición de los distintos copigmentos, y con diferente letra que existen diferencias significativas al 1% según el test de rango múltiple de Tuckey.

Como puede observarse en la tabla 2, para la Intensidad Colorante (I.C.) y el Índice de ionización no existen diferencias significativas, no obstante los mayores valores de ambos parámetros se obtienen en los vinos elaborados con adición de taninos de pepita de uva blanca.

Tabla 2. Efecto de la adición de copigmentos sobre los valores medios de los parámetros relacionados con el color.

COPIGMENTOS	IPT	I.C.	Tono	I. Ionización
S/A	29,79±1,47 a	10,80 ± 0,71	69,11±1,33 ab	32,91 ± 4,51
ACf	30,92±0,69 ab	10,43 ± 0,75	68,36±0,92 ab	33,57 ± 3,28
Ru	30,54±2,58 ab	10,78 ± 0,71	69,82±1,35 b	30,04 ± 3,74
Cat	31,18±1,78 ab	11,00 ± 0,21	69,20±1,71 ab	32,10 ± 4,45
Pro	32,03±1,63 b	10,98 ± 0,61	69,40±1,49 ab	31,45 ± 3,23
Tan	31,01±1,27 ab	11,86 ± 0,92	67,62±3,23 a	33,64 ± 3,78

El Índice de ionización indica el porcentaje de antocianos que contribuyen al color del vino, oscilando su valor entre 10 y 30 en vinos jóvenes (Glories, 1984). Todos los vinos superan este valor independientemente del copigmento que se haya añadido.

El IPT y el Tono presentan diferencias significativas entre los vinos elaborados con los distintos copigmentos, alcanzándose los valores más elevados en aquellos que se ha utilizado proantocianidina de hollejo.

Los valores que aparecen en la tabla 3 no presentan diferencias significativas para el % de Antocianos libres y el Índice de PVPP, correspondiendo los valores más elevados a los vinos elaborados sin copigmentos y con adición de ácido caféico respectivamente.

Los Antocianos totales, los % de Antocianos copigmentados y polimerizados así como el índice de Polimerización aunque presentan diferencias significativas, los valores máximos corresponden en cada caso a un vino diferente no existiendo una tendencia definida que establezca preferencias en la aplicación de los distintos copigmentos.

Tabla 3. Efecto de la adición de copigmentos sobre los valores medios de los parámetros relacionados con los antocianos.

COPIG- MENTOS	Antocianos Totales (mg/L)	%Ant. Copigm.	% Ant. Libres	% Ant. Polimer.	I. Polimerización	I. PVPP
S/A	388,47±48,70 ab	19,94±8,70 a	46,36±5,72	33,68±3,42 cd	28,72±0,70 abc	39,66±6,96
ACf	365,99±41,67 a	24,45±4,32 ab	41,45±3,94	34,11±1,16 d	28,48±1,08 c	41,25±4,73
Ru	377,26±31,05 a	24,62±5,23 ab	44,83±4,38	30,95±1,95 bc	28,17±0,62 bc	39,28±5,65
Cat	413,23±41,46 ab	25,71±7,12 ab	43,15±4,51	31,14±3,03 bc	27,47±0,47 abc	39,28±5,06
Pro	357,27±41,46 b	29,15±4,28 b	42,34±4,22	29,42±2,96 ab	27,33±0,88 ab	40,10±6,20
Tan	436,77±54,97 b	31,29±7,18 b	43,00±6,11	25,66±2,17 a	26,92±1,93 a	39,89±7,10

Los valores medios de los parámetros que aparecen en la tabla 4 tienen diferencias significativas entre los vinos elaborados con los distintos copigmentos utilizados. Como es obvio los vinos que presentan las mayores concentraciones de catequinas y taninos son los vinos procedentes de mostos a los que se les ha añadido Catequina.

Tabla 4. Efecto de la adición de copigmentos sobre los valores medios de los parámetros fenólicos relacionados con los taninos.

COPIG- MENTOS	Catequinas (mg/L)	Taninos (g/L)	I. HCl	I. DMACH	I. Gelatina	I. EtOH
S/A	148,85±12,95 a	1,72±0,15 ab	44,43±1,25 ab	54,76±4,77 a	60,07±4,69 c	32,23±4,26 abc
ACf	155,54±11,26 ab	1,57±0,20 a	45,24±2,72 abc	57,23±7,03 ab	50,58±11,23b	29,30±2,23 a
Ru	149,69±16,16 a	1,72±0,28 ab	48,81±4,04 bc	55,07±8,09 a	51,83±5,25 b	33,83±4,09 c
Cat	179,89±12,92 c	1,86±0,24 b	41,62±3,84 a	53,90±4,76 a	56,03±9,23 bc	31,89±5,01 abc
Pro	172,97±16,42 c	1,56±0,18 a	42,63±1,86 a	61,81±6,98 b	40,45±8,34 a	33,42±3,45 bc
Tan	170,44±14,24 bc	1,62±0,23 a	49,95±9,22 c	58,30±6,53 ab	37,69±2,22 a	29,50±3,01 ab

Para el Índice de clorhídrico, que mide el porcentaje de taninos con un alto grado de polimerización, el máximo valor lo alcanzan los vinos elaborados con tanino de pepita de uva. No ocurre lo mismo con el Índice DMACH, que indica el grado de polimerización de los taninos, y cuyo valor máximo lo alcanzan los vinos elaborados con proantocianidina de hollejo de uva blanca, al igual que ocurre con el Índice de etanol, que mide el porcentaje de taninos unido a sales y polisacáridos.

Finalmente el Índice de gelatina, que mide el porcentaje de taninos capaces de reaccionar con las proteínas y por tanto susceptibles de producir la sensación de astringencia, alcanza los máximos valores en vinos testigo obtenidos sin la adición de copigmentos.

3.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN

En la tabla 5 se recogen los valores medios de los parámetros polifenólicos analizados en los vinos considerando conjuntamente los distintos tipos de copigmentos utilizados según que la vinificación se realice de forma tradicional, con maceración prefermentativa en frío a 6-8 °C o bien con una maceración prefermentativa en nieve carbónica.

Para un mismo parámetro analítico los valores de las filas con la misma letra indican que no existen diferencias significativas entre los vinos obtenidos con las diferentes técnicas de vinificación, y con distinta letra que existen diferencias significativas al 1% según el test de rango múltiple de Tuckey.

Existen diferencias significativas para todos los parámetros analizados a excepción del Índice DMACH y el % de Antocianos polimerizados.

Los vinos elaborados con una vinificación tradicional alcanzan los máximos valores en parámetros relacionados con el color (I.C.), con los antocianos (% de Antocianos libres y polimerizados e Índice de PVPP), y con los taninos (Índices de gelatina, clorhídrico y Catequinas. Lo mismo ocurre con los vinos elaborados con maceración en nieve carbónica cuyos valores máximos de los parámetros significativamente diferentes están relacionados con el color (IPT, Tono e Índice de ionización), con los antocianos (% de Antocianos copigmentados e Índice de polimerización), y con los Taninos (Taninos e Índice de etanol). Sin embargo los vino obtenidos por maceración prefermentativa en frío son los que tienen la máxima concentración de Antocianos totales de todos los vinos elaborados.

Tabla 5. Efecto del tipo de vinificación sobre los valores medios de los parámetros fenólicos analizados.

	TRADICIONAL	M. FRIO	M. NIEVE
I.C.	11,37±0,24 b	10,66±0,58 a	10,39±0,60 a
Tono	67,06±1,64 a	69,69±1,02 b	70,00±1,02 b
IPT	30,57±0,92 a	29,73±1,35 a	32,44±1,25 b
Antoc. Totales (mg/L)	345,33±23,03 a	442,52±33,75 b	419,56±45,54 b
Taninos (g/L)	1,60±0,08 a	1,66±0,23 ab	1,77±0,31 b
I.Polimerización.	27,19±0,73 a	27,68±0,96 ab	28,22±0,77 b
I. DMACH	57,93±1,55	58,13±5,42	54,48±10,70
I. Gelatina	55,97±10,27 b	43,79±9,99 a	49,06±9,59 ab
I. HCL	48,42±2,46 a	46,73±6,48 ab	46,79±4,64 b
I.ETH	30,86±3,50 a	29,08±1,73 a	35,15±3,17 b
Catequinas (mg/L)	172,61±12,91 b	164,83±21,18 b	151,25±9,22 a
I. Ionización	28,22±1,57 a	33,75±1,61 b	35,39±2,71 b
%Ant. Copigm.	19,22±5,89 a	26,09±3,20 b	32,27±3,88 c
% Ant.Libres	49,31±2,54 c	42,43±1,83 b	38,83±1,89 a
% Ant. Polimer.	31,74±4,76	31,38±2,57	29,12±3,33
I.PVPP	47,68±1,57 b	36,21±1,49 a	35,84±1,31 a

3.3. EFECTO COMBINADO DE LA ADICIÓN DE COPIGMENTOS Y LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN.

A continuación se expone el efecto combinado de la adición de copigmentos y las técnicas de vinificación de forma individualizada para los distintos parámetros fenólicos estudiados.

Compuestos fenólicos relacionados con el color

El color del vino es un atributo sensorial muy importante, no sólo por ser la primera imagen del vino, sino también porque es un indicador de otros atributos relacionados con su aroma y su sabor. Por el color del vino se puede tener una idea de su edad, concentración tánica, estado de conservación, e incluso de su calidad sanitaria, como la ausencia de alteraciones, enfermedades y defectos.

La determinación del Índice de Polifenoles Totales (IPT) es una metodología que habitualmente se realiza en bodega, que está directamente relacionada con la concentración total de polifenoles, siendo mayoritarios los antocianos y los taninos. No es un índice que valore directamente el color del vino, pero al ser los antocianos los polifenoles mayoritarios en los hollejos de uvas tintas, existe una correlación directa entre los valores de IPT y la concentración de antocianos, compuestos responsables del color en los vinos tintos (Blouin, 1977).

En la figura 2 se recoge la representación gráfica de los valores medios del Índice de Polifenoles Totales para los vinos elaborados con adición de distintos copigmentos mediante las tres técnicas de vinificación utilizadas. Tal como se observa y se ha puesto de manifiesto en el análisis estadístico realizado con anterioridad, hay un efecto destacado de la maceración prefermentativa con nieve carbónica, que incrementa la concentración de polifenoles totales de forma significativa tanto en los vinos elaborados sin adición de copigmentos, como en los adicionados. Este incremento de la concentración de polifenoles puede ser atribuible a la mayor permanencia del mosto con los hollejos (Pardo et al., 1994) y sobre todo cuando ésta se realiza con nieve carbónica. La mayor extracción polifenólica es debida al efecto de desestructuración celular que ocasiona la rotura de las membranas celulares al congelarse los líquidos intracelulares por efecto de la nieve carbónica, este fenómeno ha sido referenciado también por otros autores (Pardo, 1994; Reynolds, 2001; Parenti et al., 2004; Álvarez et al., 2005).

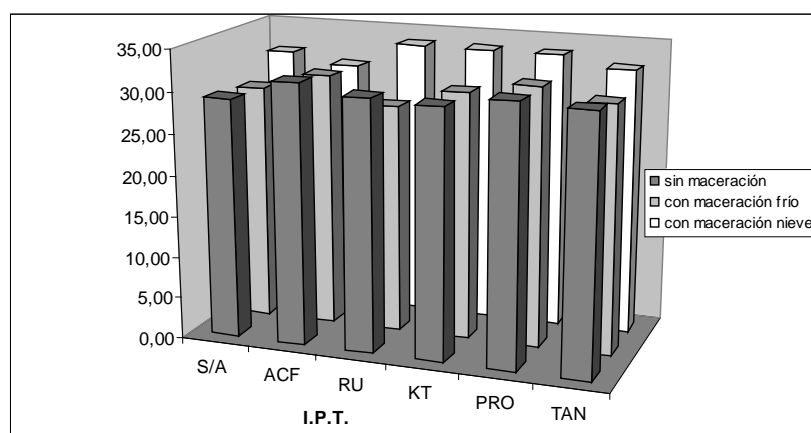


Figura 2. Representación gráfica de los valores medios del Índice de Polifenoles Totales en los vinos.

Con respecto a los copigmentos utilizados, se observa un incremento más o menos significativo del IPT prácticamente en todos los vinos, correspondiendo a los vinos adicionados con procianidina, tanto de hollejo como de pepita, los mayores incrementos de compuestos polifenólicos, debido no solo a que su adición incrementa la concentración de polifenoles, sino a que contribuyen a combinarse con otros polifenoles dificultando la precipitación de éstos y por tanto su pérdida (Rivas-Gonzalo, 1995; Francia-Aricha, 1998).

La **Intensidad Colorante** es la medida más representativa del color de los vinos, ya que contempla la aportación al color de los tonos amarillos, rojos y azules característicos de los vinos. Esta medida depende de la concentración de compuestos coloreados y del estado de estos compuestos.

La representación gráfica de los valores del IC (figura 3) muestra un efecto ligeramente negativo de la maceración prefermentativa con respecto a la vinificación tradicional, algo más acentuado cuando la maceración se lleva a cabo con nieve carbónica. Esta disminución del color atribuida a la maceración prefermentativa fue apreciada anteriormente por Manchón et al. (2005) con vinos de Tempranillo, pero en cambio otros autores observan que la maceración prefermentativa en frío puede incrementar la extracción de componentes polifenólicos de la uva y aumentar con ello el color de los vinos (Pardo et al., 1994).

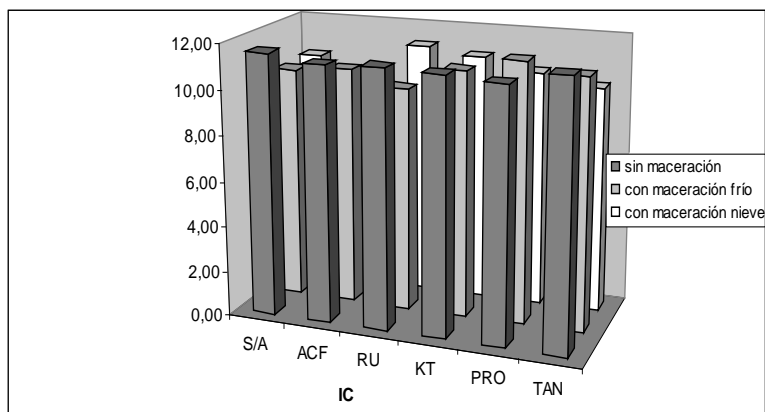


Figura 3. Representación gráfica de los valores medios de la Intensidad Colorante

El efecto de la maceración prefermentativa sobre el color parece estar contrapuesto con el observado anteriormente con el IPT, ya que la maceración prefermentativa, al aumentar la concentración total de polifenoles debería traer consigo un aumento del color. Pero el hecho de que no todos los compuestos polifenólicos sean responsables del color, puede ocasionar que momentáneamente el color sea inferior, aunque podría ser más estable en el tiempo, con lo que se lograría uno de los principales objetivos de la aplicación de estas técnicas de vinificación.

La adición de copigmentos no modifica significativamente el color de los vinos tal como puede observarse en la tabla 2. En cambio, en las vinificaciones con criomaceración los distintos copigmentos incrementan ligeramente el color, destacando especialmente los elevados valores de IC observados en la maceración prefermentativa con nieve y adición de rutina. Parece ser que las ligeras pérdidas de color ocasionadas por la maceración prefermentativa son compensadas e incluso superadas mediante la adición de copigmentos.

Este incremento del color por efecto de los copigmentos fue también observado por Mirabel *et al.* (1999) y Darías-Martín *et al.* (2001, 2002).

El tono de los vinos nos indica la contribución del amarillo al color de los vinos. Todos los vinos elaborados con maceración prefermentativa muestran un significativo incremento del Tono con respecto a los vinos no macerados (figura 4), independientemente de que ésta se realice en frío o en frío con adición de nieve carbónica. El alargamiento de la fase prefermentativa es siempre un proceso peligroso, ya que los vinos están expuestos a la acción del oxígeno sin la protección que aporta la fermentación. En esta experiencia los vinos han sido protegidos con carbónico durante la maceración prefermentativa, pero el aumento de la tonalidad amarilla parece indicar que esta protección no ha sido suficiente, y que durante este periodo tuvo lugar una ligera oxidación que se traduce en un ligero incremento del componente amarillo, independientemente del tipo de copigmento aplicado.

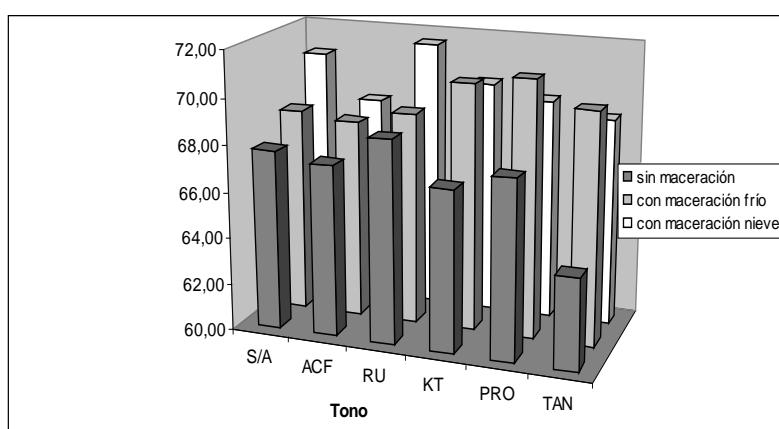


Figura 4. Representación gráfica de los valores medios del Tono

En la figura 5 se representan gráficamente los valores medios del Índice de Ionización. Este índice hace referencia a la proporción de antocianos que se encuentran ionizados en estado de catión flavilio contribuyendo al color rojo del vino.

Tal como han puesto manifiesto los tratamientos estadísticos anteriores, la maceración prefermentativa ocasiona un elevado incremento del Índice de Ionización, y por tanto de la fracción de antocianos coloreada de rojo, aumento más elevado cuando la maceración se lleva a cabo con nieve carbónica. Esta preponderancia del color rojo puede ser debida a las reacciones que se producen entre los polifenoles durante la maceración prefermentativa, que ocasiona un mantenimiento de los tonos rojos y a su vez una mayor estabilidad de estos complejos (Liao *et al.*, 1992).

La presencia de copigmentos no tiene un efecto significativo en el Índice de ionización cuando se consideran conjuntamente los tres tipos de vinificaciones, observándose diferencias en su comportamiento cuando los copigmentos se adicionan en vinos elaborados con maceración prefermentativa.

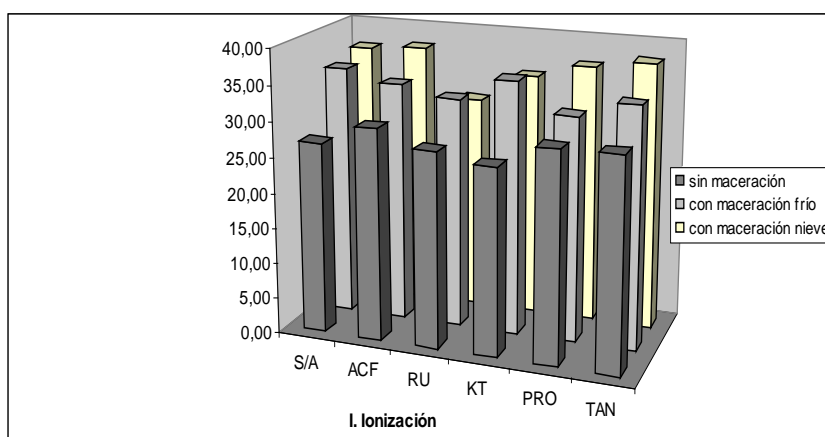


Figura 5. Representación gráfica de los valores medios del Índice de Ionización

Parámetros polifenólicos relacionados con los antocianos

A continuación se estudia el efecto combinado de la adición de copigmentos y técnicas de vinificación en la concentración de antocianos y en su estado en los vinos.

La figura 6 recoge el comportamiento de la concentración de antocianos en los vinos estudiados. Se observa un incremento significativo en los vinos macerados prefermentativamente, alcanzando valores similares en los vinos macerados en frío y en los macerados con nieve carbónica. Este comportamiento es similar al observado para los polifenoles totales, aunque como se ha visto no se traduce en un aumento inmediato del color de los vinos, y coincide con lo observado por otros autores (Reynols, 2001; Parenti et al., 2004; Álvarez et al., 2005). El incremento es estadísticamente significativo en todos los vinos premacerados, independientemente de que se hayan utilizado o no copigmentos.

La adición de copigmentos incrementa mayoritariamente la concentración de antocianos en los vinos de forma generalizada, siendo significativo el aumento observado con los copigmentos catequina, proantocianidina de hollejo y proantocianidina de pepita de uva blanca, tanto para la vinificación tradicional como para las realizadas con criomaceración. La participación de estos copigmentos en los fenómenos de copigmentación, y especialmente en los de polimerización, puede ser la causa de una menor pérdida de antocianos durante la vinificación, lo que se traduce en el aumento final de la concentración en los vinos (Liao et al., 1992; Mirabel et al., 1999). En cambio, otros autores (Darias-Martín et al., 2001, 2002; Gris et al., 2005) encontraron un incremento significativo de la concentración de antocianos cuando realizaron adiciones prefermentativas de rutina o ácido caféico, efecto no observado en este trabajo.

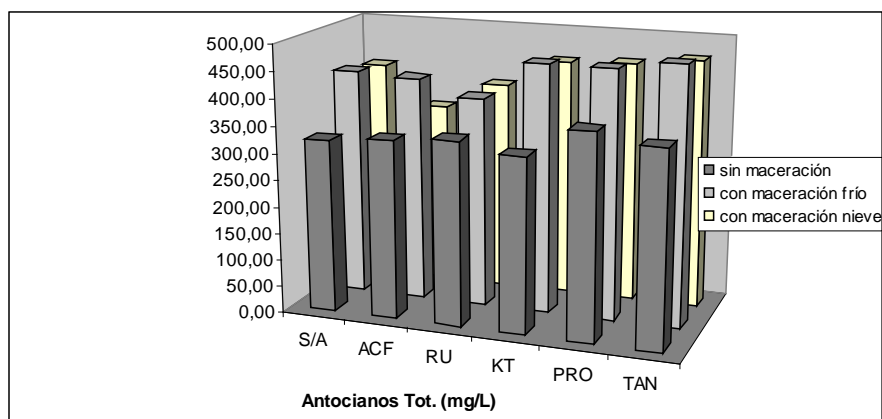


Figura 6. Representación gráfica de los valores medios de Antocianos Totales

En la figura 7 se observa el comportamiento de los antocianos copigmentados. La copigmentación es un factor determinante del color del vino y de su futura estabilidad. A medida que aumenta la concentración de compuestos polifenólicos, aumenta el porcentaje de antocianos copigmentados en la uva (Price *et al.*, 1995; Mazza, 1990), pero la presencia de etanol en los vinos contribuye a la disociación de los complejos formados por copigmentación, disminuyendo el porcentaje de copigmentación, y dando lugar de nuevo a antocianos libres (Hermosin *et al.*, 2003). Además, la copigmentación actúa retirando los antocianos copigmentados del pool de antocianos libres produciendo una mayor extracción de éstos de los hollejos y su difusión hacia el vino, y facilitando además posteriores procesos de condensación y polimerización, responsables de la estabilidad del color (Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995, 2003; Boulton, 1996, 2001; Mirabel *et al.*, 1999). Las técnicas de vinificación tienen que ir encaminadas a mantener los antocianos en forma copigmentada, para que no precipiten ni se oxiden durante el proceso de fermentación y conservación de los vinos (Boulton, 2001; Gris *et al.*, 2005).

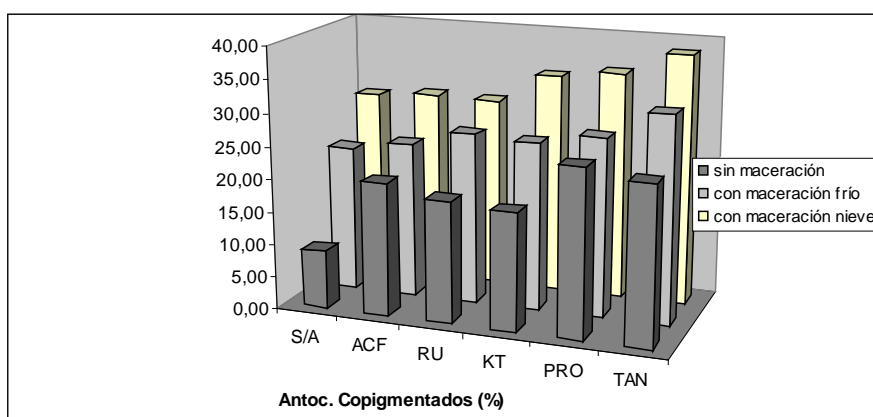


Figura 7. Representación gráfica de los valores medios de Antocianos Copigmentados.

Los valores menores de antocianos copigmentados se observan en los vinos a los que no se les adicionó copigmentos y en los vinos elaborados sin maceración prefermentativa, siendo la maceración prefermentativa con nieve carbónica la técnica que da lugar al mayor grado de copigmentación.

De todos los copigmentos utilizados, la catequina y las proantocianidinas de hollejo y de pepita son las que dan lugar al mayor incremento de la copigmentación, tal como sucede con los Antocianos totales, según se ha visto anteriormente. La adición de ácido cafeico y rutina incrementan significativamente la copigmentación, tal como observaron también Baranac *et al.* (1996), Hermosín *et al.* (2005), Darias-Martín *et al.* (2001, 2002), Schwarz *et al.* (2005).

En la figura 8 se muestra el comportamiento de los Antocianos libres. La adición de copigmentos no afecta significativamente a la fracción libre de los antocianos cuando consideramos conjuntamente los tres tipos de vinificaciones realizadas, no existiendo una clara tendencia del efecto combinado de copigmentos y tipo de vinificación.

En cambio, el tipo de vinificación si da lugar a ligeras diferencias, aunque significativas. La vinificación tradicional si que da lugar a mayor porcentaje de Antocianos libres, al contrario de lo que sucedía con los copigmentados. El comportamiento de los Antocianos copigmentados y libres puede ser opuesto, ya que los complejos copigmentados liberan antocianos libres cuando se rompen. El incremento de antocianos libres a costa de los copigmentados da lugar a una mayor inestabilidad del color ya que pueden ser fácilmente oxidados.

Por tanto, la maceración prefermentativa, a la vez que aumenta los procesos de copigmentación, hace los vinos más estables ya que contribuye a disminuir la fracción inestable de los antocianos representada por los Antocianos libres.

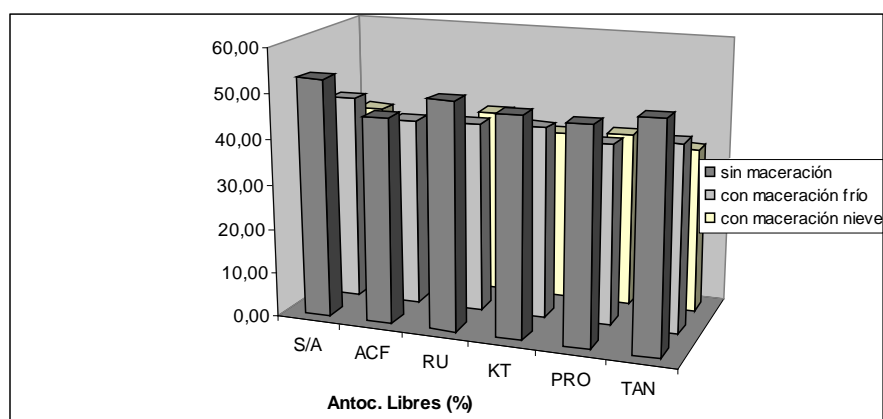


Figura 8. Representación gráfica de los valores medios de Antocianos Libres

Los antocianos se polimerizan con otros compuestos, principalmente flavanoles, dando lugar a estructuras más resistentes a la degradación y menos sensibles a la decoloración (Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995), por tanto su formación representa un incremento de la estabilidad del color en los vinos. Las reacciones de polimerización entre los antocianos y flavanoles permiten preservar el color de los vinos, aseverando algunos autores que las reacciones de copigmentación de antocianos son el primer paso hacia la formación de los pigmentos poliméricos estables (Liao *et al.*, 1992).

En el estudio realizado se observa que los antocianos polimerizados disminuyen con la adición de copigmentos, mientras que la técnica de vinificación no influye significativamente en esta disminución (figura 9).

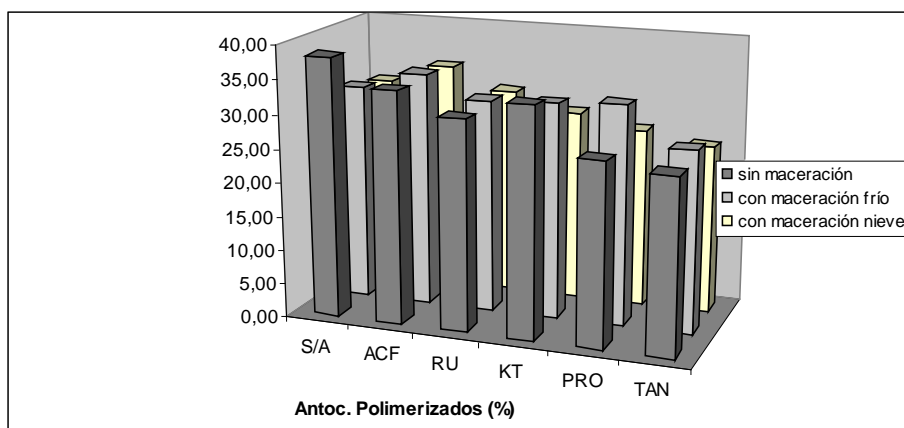


Figura 9. Representación gráfica de los valores medios de Antocianos Polimerizados

El comportamiento de los copigmentos es contrario al observado con el porcentaje de Antocianos copigmentados, correspondiendo los valores más bajos de Antocianos polimerizados a los vinos adicionados de proantocianidina de hollejo y pepita, y los más elevados a los adicionados de ácido caféico, que da lugar a mayor porcentaje de antocianos polimerizados en los vinos criomacerados con relación a los vinificados tradicionalmente, tal como observó Darias-Martín *et al.* (2002). Este comportamiento puede ser debido a que aún perduren en los vinos los fenómenos de copigmentación de antocianos, en detrimento de los de polimerización. Para que esto se produzcan será necesario un proceso de conservación en el que intervenga el oxígeno mediante la formación de puentes de etanal entre antocianos y otros compuestos, principalmente flavanoles, siendo necesario para ello la presencia de antocianos libres no oxidados y de antocianos procedentes de las estructuras copigmentadas (Bakker *et al.*, 1993; Bishop y Nagel, 1984; Boulton, 1997; Castellari *et al.*, 1999).

El Índice de polimerización valora también el porcentaje de antocianos combinados, bien entre si o con otros compuestos. Proporciona una información complementaria a la aportada por los antocianos polimerizados.

En la figura 10 se observa que el porcentaje de Polimerización, al igual que sucedía con los Antocianos polimerizados, presenta inferiores en los vinos adicionados de copigmentos y en los elaborados con vinificación tradicional, aunque la presencia de algunos copigmentos como el ácido caféico y la rutina en los vinos criomacerados, junto con la catequina y proantocianidina de hollejo en los vinos de vinificación tradicional, incrementan de forma significativa la polimerización.

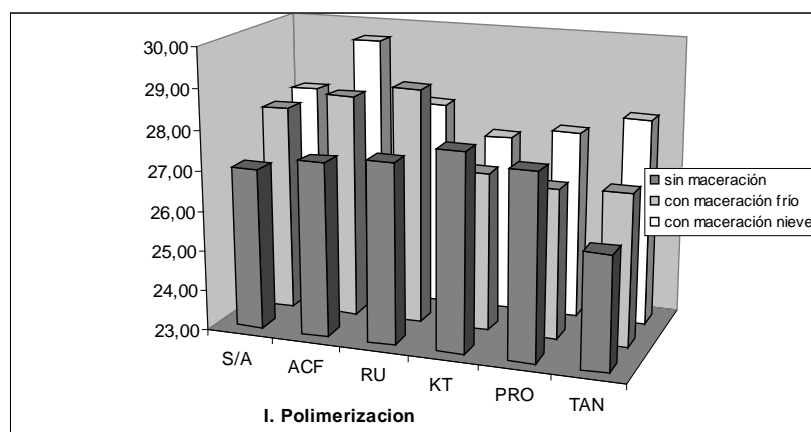


Figura 10. Representación gráfica de los valores medios de Índice Polimerización

La presencia de antocianos polimerizados da lugar generalmente a estructuras más resistentes, pero si la combinación es entre antocianos, puede dar lugar a macromoléculas coloidales de gran tamaño, que precipitan ocasionando disminución del color.

El porcentaje de taninos combinado con antocianos se valora mediante el Índice PVPP. Las combinaciones antociano-tanino producen una mayor estabilización del color, sin comportar pérdidas de taninos por precipitación. Tal como se observa en la figura 11, el Índice de PVPP alcanza valores bastante elevados en los vinos elaborados con vinificación tradicional, disminuyendo significativamente con la maceración prefermentativa, independientemente de que ésta se realice en frío o con nieve carbónica, siendo altamente significativo el incremento en los vinos testigo en relación con los macerados con nieve carbónica. Este efecto, contrario al observado en los antocianos copigmentados hace pensar que en estos vinos la fracción de antocianos unidos a taninos se encuentra disminuida porque los antocianos están formando parte de complejos de copigmentación.

El efecto de la adición de copigmentos no es significativa cuando se consideran los tres tipos de vinificaciones conjuntamente, pero considerando cada tipo de vinificación por separado, el mayor incremento tiene lugar con el ácido caféico, y las proantocianidinas de hollejos y pepitas. Un comportamiento similar de estos copigmentos se ha observado para el porcentaje de Antocianos polimerizados y para el Índice de polimerización, ya que los antocianos unidos a flavanoles determinados por el Índice PVPP constituyen una fracción muy importante de los antocianos polimerizados.

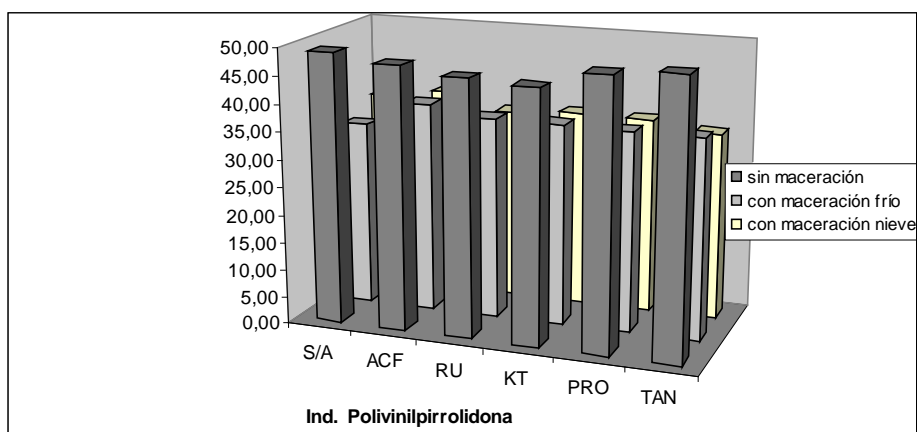


Figura 11. Representación gráfica de los valores medios del Índice de PVPP

Parámetros polifenólicos relacionados con los taninos

En este apartado se estudia el efecto combinado de la adición de copigmentos y de las tres técnicas de vinificación en los flavanoles (o taninos) y en los parámetros relacionados con el estado de éstos en los vinos.

Las Catequinas o monómeros de flavanoles se encuentran en la uva y van aumentando a medida que se produce su madurez, aunque al mismo tiempo se van produciendo reacciones de polimerización entre estos monómeros dando lugar a estructuras más complejas conocidas como procianidinas o taninos condensados. Durante la vinificación se producen al mismo tiempo reacciones de polimerización y de rotura de polímeros, resultando muy difícil establecer el verdadero estado de polimerización de las catequinas en los vinos (Reynols et al, 2001; Gómez-Mínguez y Heredia, 2004).

En la figura 12 se muestra el efecto de los distintos tratamientos en la concentración de catequinas, observando que la influencia de las técnicas de vinificación sólo da lugar a diferencias significativas cuando se realiza con maceración en nieve carbónica, encontrándose en este caso valores ligeramente inferiores.

La adición de los copigmentos catequina, procianidina de hollejo y pepita incrementa significativamente la concentración de catequina en los vinos, tal como era de esperar ya que estos copigmentos contienen catequina en su composición.

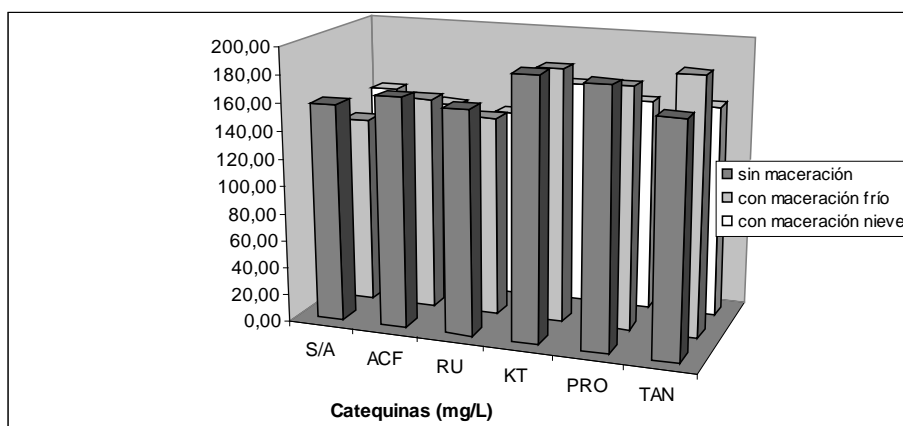


Figura 12. Representación gráfica de los valores medios de Catequinas

A medida que aumenta la madurez de la uva, aumenta paralelamente la concentración de taninos en los hollejos, haciéndose más fácilmente extraíbles. Para que la extracción de taninos sea efectiva se precisa un medio hidroalcohólico, por tanto los efectos de la maceración prefermentativa no pueden ser muy evidentes. Tanto en la uva como en el mosto, durante el proceso de vinificación y conservación de los vinos, las catequinas y los taninos interaccionan entre si, produciendo modificaciones en su composición que trae consigo una modificación de sus características, disminuyendo el amargor y amentando la sensación de astringencia.

Tal como se aprecia en la figura 13, la maceración prefermentativa en frío no da lugar a importantes diferencias respecto a la vinificación tradicional, debido a la necesidad de etanol para realizar una intensa extracción de taninos. En cambio, la maceración con nieve carbónica, debido a su efecto desestructurante de las células del hollejo, que potencia la extracción en general incluso en ausencia de etanol (Parenti et al., 2004; Álvarez et al., 2005), da lugar a una mayor concentración de taninos.

El comportamiento de los copigmentos se traduce en un aumento generalizado de la concentración de taninos, y es distinto en función del tipo de vinificación, siendo la rutina, la catequina y las proantocianidinas los copigmentos que más incrementan la concentración de taninos.

El efecto de las proantocianidinas es fácilmente justificable, ya que son taninos condensados, que aunque añadidos en baja concentración, contribuyen a incrementar la del vino. La justificación del incremento observado con el ácido caféico y la rutina no resulta fácil, desconociéndose como pueden afectar a la concentración de taninos, ya que no existe bibliografía al respecto.

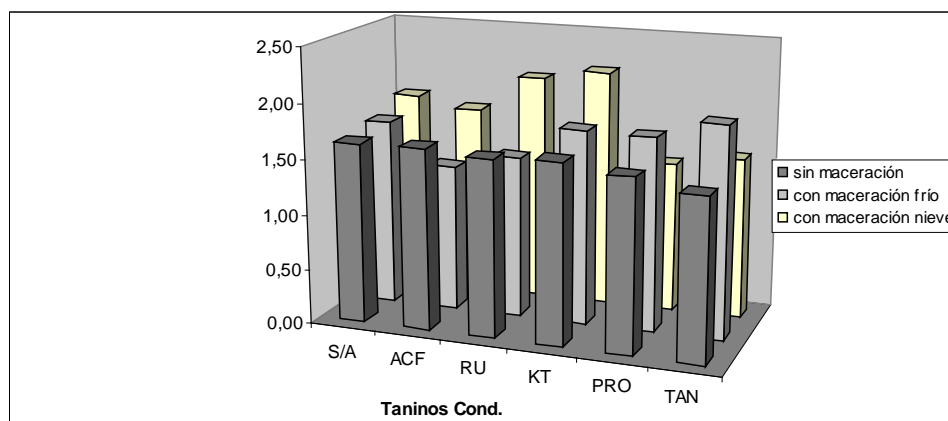


Figura 13. Representación gráfica de los valores medios de Taninos Condensados

Los taninos tienden a polimerizarse entre ellos, dando lugar a moléculas más voluminosas y menos amargas, que organolépticamente aumentan la estructura y el volumen en boca de los vinos, pero que pueden llegar a precipitar cuando el grado de polimerización es muy elevado y las macromoléculas son excesivamente voluminosas, con la consiguiente pérdida de estructura de los vinos. Estos fenómenos de polimerización se producen tanto durante la maduración de la uva, como durante la vinificación y conservación de los vinos.

El Índice de clorhídrico valora la proporción de taninos con alto grado de polimerización en los vinos. En la figura 14 se observa como el grado de polimerización se incrementa ligeramente con la maceración prefermentativa, especialmente la realizada con nieve carbónica, para la mayor parte de los vinos adicionados con los distintos copigmentos.

En cuanto a la acción de los copigmentos, se encuentran diferencias significativas para el ácido caféico, rutina y proantocianidinas de pepita. Para las dos primeras la justificación es compleja, tal como sucedía para la concentración de taninos encontrados con anterioridad, pero el aumento de la polimerización de los taninos observado con las proantocianidinas de pepitas es debido a que éstas contienen una elevada cantidad de taninos con alto grado de polimerización (Ribereau-Gayón, 1971).

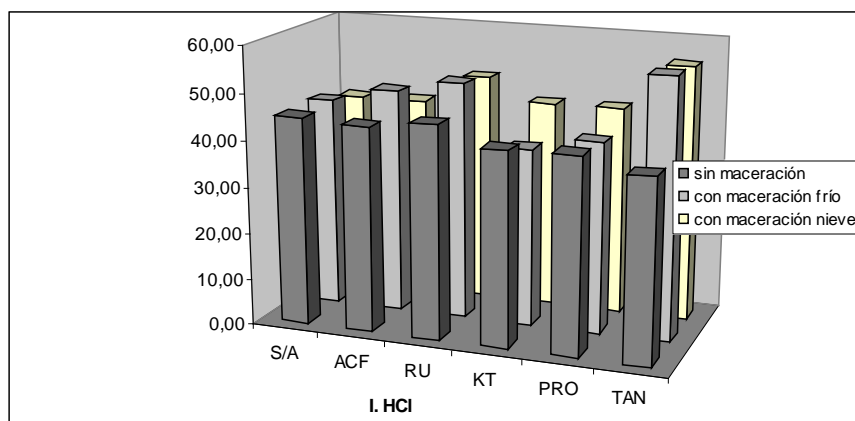


Figura 14. Representación gráfica de los valores medios del Índice de Clorhídrico

El Índice de DMACH se basa en la estimación del grado de polimerización de los taninos. El fraccionamiento de los taninos según su grado de polimerización tiene gran dificultad debido a que tienden a formar complejos muy estables con los compuestos con los que se están en contacto. La determinación del grado de polimerización ha de hacerse mediante valoraciones químicas relacionadas con las dimensiones moleculares de los taninos, de forma que cuanto mayor es el grado de polimerización menor será este índice, ya que quedarán menos posiciones libres para reaccionar.

En la figura 15 se observa un comportamiento opuesto al del apartado anterior, que permite afirmar que la maceración prefermentativa con nieve carbónica incrementa el grado de polimerización de los taninos, ya que disminuye el Índice DMACH y aumenta el Índice de clorhídrico.

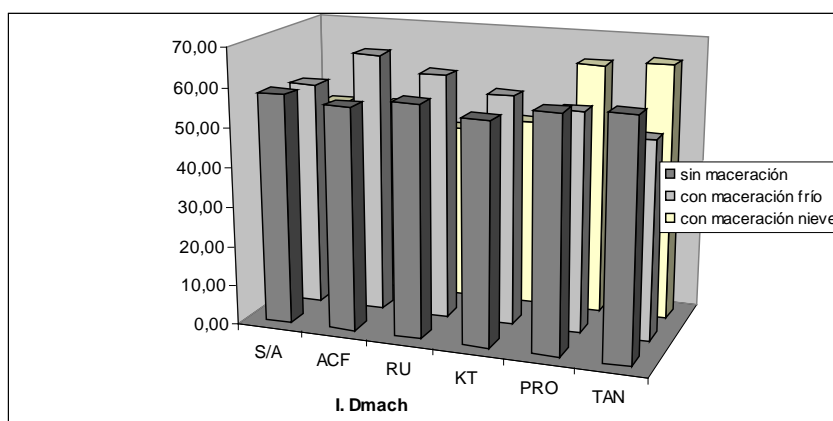


Figura 15. Representación gráfica de los valores medios del Índice de DMACH

Cuando los taninos presentan un peso molecular elevado precipitan con facilidad, disminuyendo su astringencia pero también la estructura de los vinos (Glories, 1978). Así mismo, la polimerización de los taninos con antocianos, polisacáridos, péptidos, etc., trae una disminución de la astringencia ya que neutraliza los grupos químicos susceptibles de unirse a las proteínas (Glories, 1978).

El Índice de Gelatina (figura 16) muestra un descenso de la astringencia en los vinos con copigmentos y en los vinos macerados prefermentativamente. Esta disminución de la astringencia debe atribuirse al aumento de las reacciones de polimerización con antocianos, polisacáridos y otros compuestos (Zamora, 2003).

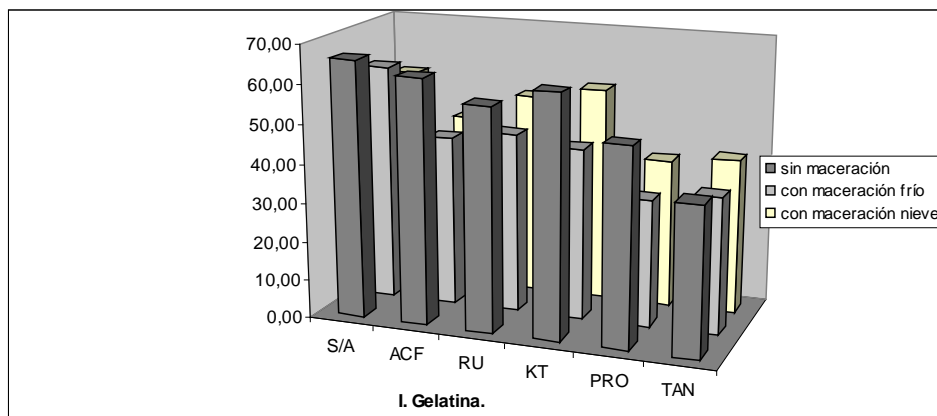


Figura 16. Representación gráfica de los valores medios del Índice de Gelatina

Los taninos interactúan con otros compuestos dando lugar a estructuras más estables y menos astringentes, que proporcionan un mayor cuerpo y suavidad al vino con menor riesgo de precipitación que las reacciones entre taninos (Glories, 1978). El Índice de etanol valora los taninos unidos a los polisacáridos. En este trabajo (figura 17) se observa un incremento de estas uniones en los vinos macerados con nieve carbónica, y en los que se ha añadido algunos copigmentos. Este comportamiento es contrario al observado para el Índice de gelatina, lo que hace pensar que sea la combinación de los taninos con los polisacáridos la causante de la disminución de astringencia observada en los vinos macerados con nieve carbónica, debido a la desnaturalización celular producida por la congelación (Zamora et al., 2003). La acción positiva de la catequina y de las proantocianidinas de hollejo y pepita podría deberse a que el incremento de las concentraciones de estos compuestos en los vinos se produce paralelamente el aumento de su polimerización con polisacáridos (González et al., 2004).

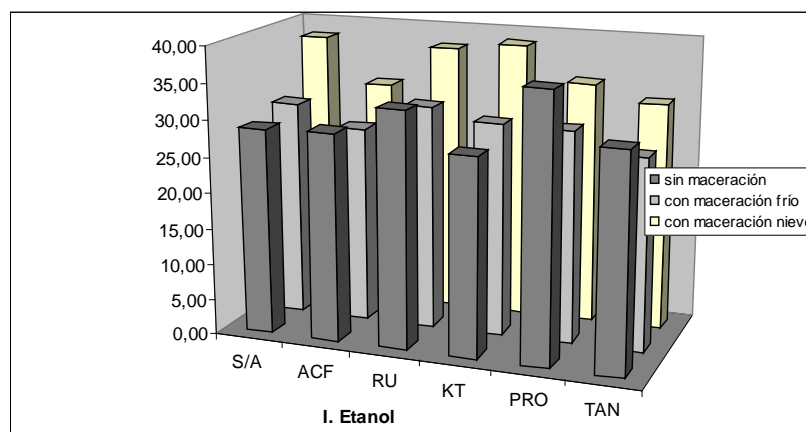


Figura 17. Representación gráfica de los valores medios del Índice de Etanol

3.4. VALORACIÓN SENSORIAL

La valoración sensorial de los vinos se ha realizado teniendo en cuenta la influencia de la adición de copigmentos y la influencia de las técnicas de vinificación utilizadas.

ADICIÓN DE COPIGMENTOS

En la tabla 6 se exponen los valores medios de los atributos considerados en la análisis sensorial de los vinos de Tempranillo obtenidos con la adición de los distintos copigmentos utilizados en la experiencia.

No existen diferencias significativas entre los diferentes tipos de vinos elaborados, no obstante los vinos elaborados con la adición de tanino de pepita son los que han alcanzado la mayor puntuación en cuanto a estructura y equilibrio, e incluso en la evaluación global, mientras que los vinos obtenidos sin la adición de copigmentos son los peor valorados para estos mismos atributos.

En cuanto al color destaca el vino elaborado con rutina que es el que ha alcanzado la mayor puntuación, siendo también este vino el que ha obtenido las mejores puntuaciones en cuanto a la intensidad y calidad del aroma.

Tabla 6. Efecto de la adición de copigmentos sobre los valores medios de los atributos considerados en el análisis sensorial de los vinos.

COPIG.	COLOR	AROMA		GUSTO			EVALUACION GLOBAL
		INTENSID.	CALIDAD	AMARGOR	ESTRUCT.	EQUILIBRIO	
S/A	5,25 ± 0,75	3,75 ± 0,87	3,67 ± 1,07	3,42 ± 1,00	3,92 ± 1,00	3,92 ± 1,16	3,83 ± 1,11
ACf	5,25 ± 0,45	4,08 ± 1,00	4,00 ± 1,13	3,00 ± 0,74	3,92 ± 0,90	3,92 ± 0,90	4,08 ± 0,90
Ru	5,58 ± 0,67	4,17 ± 1,03	4,00 ± 1,28	3,58 ± 1,24	4,50 ± 0,80	4,50 ± 0,80	4,42 ± 0,90
Cat	5,50 ± 0,90	3,92 ± 0,90	3,54 ± 1,03	3,71 ± 1,05	4,33 ± 0,89	4,25 ± 1,06	3,92 ± 0,67
Pro	5,25 ± 0,45	4,50 ± 1,17	3,42 ± 1,00	3,75 ± 0,97	4,25 ± 0,62	4,17 ± 0,94	4,17 ± 0,72
Tan	5,17 ± 0,83	4,17 ± 0,94	3,50 ± 0,80	3,17 ± 1,11	4,58 ± 1,16	4,50 ± 1,09	4,58 ± 1,16

TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN

En la tabla 7 se recogen los valores medios del análisis sensorial de los vinos obtenidos con los distintos tipos de copigmentos según que la vinificación se realice de forma convencional, con maceración prefermentativa en frío o bien con maceración prefermentativa en nieve carbónica.

Tabla 7. Efecto del tipo de vinificación sobre los valores medios de los atributos considerados en el análisis sensorial de los vinos.

VINIFICACIÓN		TRADICIONAL	M. FRÍO	M. NIEVE
COLOR		5,21 ± 0,66	5,38 ± 0,58	5,42 ± 0,83
AROMA	INTENSIDAD	4,21 ± 0,98	4,17 ± 1,09	3,92 ± 0,88
	CALIDAD	3,83 ± 0,96	3,73 ± 1,28	4,00 ± 1,02
GUSTO	AMARGOR	3,60 ± 1,01	3,33 ± 1,01	3,38 ± 1,10
	ESTRUCTURA	4,04 ± 0,75	4,50 ± 1,08	4,21 ± 0,88
	EQUILIBRIO	4,29 ± 0,81	4,17 ± 1,13	4,17 ± 1,05
EVALUACIÓN GLOBAL		4,21 ± 0,59	3,92 ± 0,93	4,38 ± 1,10

No existen diferencias significativas con los resultados obtenidos en el análisis sensorial, si bien el color, la calidad del aroma y la evaluación global alcanzan la máxima puntuación en los vinos elaborados con maceración en nieve carbónica, lo cual pone de manifiesto las ventajas que supone la utilización de esta tecnología de vinificación desde el punto de vista sensorial.

4. CONCLUSIONES

La maceración prefermentativa aumenta la concentración de polifenoles, de antocianos y del porcentaje de antocianos copigmentados, así como la de taninos y su polimerización con otros taninos y polisacáridos, disminuyendo el color y la astringencia. Siendo mayores estos incrementos cuando la maceración se realiza con nieve carbónica.

La adición prefermentativa de copigmentos aumenta la concentración de polifenoles totales, antocianos, catequinas y taninos, así como la intensidad colorante, la componente amarilla del color, el porcentaje de copigmentación y los taninos polimerizados, disminuyendo la astringencia. Siendo la rutina, la catequina y las proantocianidinas las que dan lugar a resultados más favorables, encontrándose un efecto menos intenso con el ácido caféico.

La acción conjunta de los copigmentos y maceración prefermentativa, incrementa la concentración de polifenoles, aumenta los procesos de copigmentación, hace el color de los vinos mas estable, aumenta los procesos de copigmentación y polimerización de antocianos, incrementa la concentración de taninos, su polimerización y la disminución de la astringencia.

Los vinos adicionados de rutina son los que alcanzan mejores puntuaciones en cuanto al color y al aroma, siendo los vinos obtenidos con tanino de pepita de uva blanca los mejor valorados en cuanto a estructura, equilibrio y evaluación global.

La maceración prefermentativa con nieve carbónica da vinos con mas color, mayor calidad aromática y sobre todo mejor evaluados globalmente por los catadores

5. BIBLIOGRAFIA

ÁLVAREZ, I.; GARCÍA, M. A.; MARTÍN, P.; GONZÁLEZ, R.; RODRÍGUEZ, M. (2004). Efecto de la maceración prefermentativa en frío en la composición de vinos tintos de Tempranillo. En “III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos”. Pamplona.

ASEN, S., STEWART, R.N. and NORRIS, K.H., (1972) “Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color”. *Phytochemistry*, 11, 1139 – 11145.

BAKKER, J., PICINELLI, A. and BRIDLE, P. (1993). Model wine solutions: colour and composition changes during ageing. *Vitis*, 32, 111-118.

BAKOWSKA, A., KUCHARSCA, A.Z., OSZMIANSKI, J. (2002). The effects of Heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chemistry* 81 (2003) 349 – 355.

BARANAC, J.M., PETRANOVIV, N.A. and DIMITRIC-MARKOVIC, J.M., (1997a). Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 2. *J. Agric. Food Chem.* 45 :1694-1697.

BARANAC, J.M., PETRANOVIV, N.A. and DIMITRIC-MARKOVIC, J.M., (1997b). Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 3. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1698-1700.

BARANAC, J.M., PETRANOVIV, N.A. and DIMITRIC-MARKOVIC, J.M., (1996). Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1333-1336.

BARANOWSKI, E.S.; NAGEL, C.W. (1983). Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model solutions. *J. FoodSci.* 38, 932-936.

BISHOP, P.D. NAGEL, C.W. (1984). Characterization of the condensation product of Malvidin 3,5-diglucoside and catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 1022-1026.

BLOOR, S.J.; FALSHAW, R. (2000). Covalently linked anthocyanin-flavonol pigments from blue *Agapanthus* flowers. *Photochemistry*, 53, 575-579.

BOULTON, R. *Am. J Enol Vitic.* 52 (2001) 2.

BOULTON, R. B., (1996). Methods for the assement of copigmentation in red wines. Presented at the 47th Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno, NV

BOULTON, R., (1997). Copigmentation in red wines. Some skin contact, a seedy side or is it just pulp fiction?. *American Vineyard: UC Davis Viticulture and Enology Lab* 05/97.

BOULTON, R., (1999). Copigmentation in Pinot Noir Wines. 2nd Joint Burgundy – California – Oregon Winemaking Symposium.

BOULTON, R., (2001). The copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52 , 67–87.

BROUILLARD, R. MAZZA, G., SAD, Z., ALBRECHT-GARY, A.M. and CHEMINAT, A., (1989). “The copigmentation reaction of anthocyanins: a microprobe for structural study of aqueous solutions”. *Journal of the American Chemical Society*, 111, 2604 – 2610.

BROUILLARD, R., (1983). *Phytochemistry*, 20 Pg 1311.

- CACHO, J. (2003). El vino y su composición y nuestros sentidos. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (España) 47: 13
- CASTELLARI, M., MATRICARDI, L., ARFELLIS, G., GALASSI, S., AMATI, A., (1999). "Level of single phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during stotag". Food Chemistry 69 (2000) 61 – 67.
- DANGLES, O.; BROUILLARD, R. (1992). A spectroscopic method based on the anthocyanin copigmentation interaction and applied to the quantitative study of molecular complexos. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2,247-257.
- DARIAS-MARTÍN, J., B. MARTÍN, M. CARRILLO, R. LAMUELA, C. DÍAZ AND R. BOULTON (2002). The effect of caffeic acid on the color of red wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50 (7): 2062-2067.
- DARIAS-MARTÍN, J., CARRILLO, M., DÍAZ, E., BOULTON, R.B., (2001). "Enhancement of wine colour by prefermentation addiction of copigments". Food Chemistry 73 (2001) 217–220.
- DAVIES, A.J. and MAZZA, G. (1993). Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colourless phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 716-720.
- FRANCIA-ANCHA, E.M.; RIVAS-GONZALO, J.C.; SANTOS-BUELGA, C. (1998). Effect of malvidin-3-monoglucoside on the browning of monomeric and dimeric flavanols. Z Lebensm. Unters. Forsch. 207(3), 223-228.
- GLORIES, Y. (1978) *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- GÓMEZ-MINGUEZ, M.; HEREDIA, F. (2004). Effect of the maceration techniques on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. J. Agric. Food Chem., 52, 5117-5123.
- GONZÁLEZ-MANZANO, S., RIVAS-GONZALO, J.C., SANTOS BUELGA, C. (2004). Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. Analytica Chimica Acta, 513: 283-289.
- GRIS, E.F.; FERREIRA, E.A. ; FALCAO, LD ; BORDIGNON-LUIZ, M.T., (2005). Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extract in model system. Food Chemistry, en prensa.
- HERMOSÍN GUTIÉRREZ, I. and SCHWARZ, M. (2005). Efectos de la naturaleza del copigmento y de la variedad de uva en el color de vinos tintos elaborados con adición prefermentativa de copigmentos. Actas de las VIII Jornadas de los Grupos de Investigación Enológica (GIENOL). Palencia. 80-82.
- HERMOSÍN GUTIÉRREZ, I.; GONZÁLEZ (2003). Influence of etanol content on the extend of copigmentation in a Cencibel young red wine. J. Agric. Food Chem, 51, 4079-4083.
- LIAO, H.,Y. CAI Y E. HASLAM, (1992). " Polyphenol interactions. Anthocyanins : Copigmentation and colour changes in red wines", J. Sci. Food. Agric., 1992; 59: 299-305.
- MAZZA, G., BROUILLARD, R. (1990). "The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions." Phytochemistry, 29, 1097 – 1102.
- MIRABEL, M.; SAUCIER, C.; GUERRA, C.; GLORIES, Y. (1999). Copigmentation model wine solutions: occurrence and relation to wine aging. Am. J. Enol. Vitíc. 50, 211-

- MISTRY, T. V., CAÍ, Y., LILLEY, T. H., HASLAM, E. (1991). Polyphenol interactions. Part 5. Anthocyanin co-pigmentation. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1287-1296.
- OKUBO, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; OKAZAKI, N. (2003). Effect of prefermentative cold soak on extraction of anthocyanin during red wine making. *Nippon Jozo Kyokaiishi*, 98: 193-200.
- OSAWA, Y. (1982). "Anthocyanins as Food colors" Markakis, Ed., London academic Press, London. Pg. 41.
- PARDO, F. ; NAVARRO, G, (1994). Evolución de los compuestos fenólicos de vinos tintos obtenidos con diferente tiempo de maceración. *Viticultura y Enología Profesional*, 34, 51-57.
- PARENTI, A.; SPUGNOLI, P.; CALAMAI, L.; FERRARI, S.; GORI, C. (2004). Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovesi grape. *Eur. J. Food Res. Technol*, 218: 360-366.
- PECKET, R.C.; SMALL, C.J., (1980). Occurrence, location and development of anthocyanoplasts. *Phytochem*, 19: 2571.
- PEYNAUD, E. (1987). "El gusto del vino". Ed. Mundi – Prensa. Madrid.
- PRICE, S.F. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2): p. 187-194.
- REYNOLS, A.; CLIFF, M.; GIRARD, B; KOPP, T. (2001). *Am. J. Enol. Vit.*, 52(3), 235-242.
- RIVAS-GONZALO, J., C. SANTOS BUELGA Y O. LOCK, (2003). Química y Estabilidad. pp.26-59. In: Muñoz, O (Ed). *Antocianos y Betalainas, colorantes naturales de aplicación industrial CYTED*. Editorial Salesianos, Santiago, Chile..
- RIVAS-GONZALO, J.C.; BRAVO-HARO, S.; SANTOS-BUELGA, C. (1995). Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the presence ofacetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.*, 43,1444-1449.
- ZAMORA, F. (2003). Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. 21-22. AMV. Ediciones, Madrid.
- ZAMORA, F. (2004). Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. 21-22. AMV. Ediciones, Madrid.