



**UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

**EFFECTO DEL DESPALILLADO PARCIAL SOBRE VINOS
TINTOS DE LA VARIEDAD MARSELAN. ESTUDIO DE LA
COMPOSICIÓN QUÍMICA, AROMÁTICA Y POLIFENÓLICA**

Máster Universitario en Enología

Elisa Pérez García

Tutoras:

D^a M^a José García Esparza

D^a Victoria Lizama Abad

Curso Académico: 2019-2020

Valencia, julio de 2020

Resumen

El despalillado total es una técnica que se utiliza de forma generalizada en la elaboración de vinos tintos, con el fin de evitar ciertos sabores no deseados, que estos pueden aportar. Sin embargo, en los últimos años, se han llevado a cabo elaboraciones en bodegas, dejando un porcentaje de raspones con resultados dispares. En el presente trabajo, se ha planteado un ensayo, donde se abarcan varias posibilidades para optimizar el porcentaje de despalillado parcial. Para ello, se han realizado cuatro vinificaciones con la variedad Marselan, con distinto porcentaje de raspones, (20%, 40% y 60%).

Una vez finalizaron la fermentación alcohólica y maloláctica, se llevaron a cabo análisis de los parámetros convencionales, compuestos polifenólicos, así como de su composición aromática. La presencia de raspones produce cambios significativos en los vinos. A tenor de los resultados obtenidos, se deduce que la presencia de raspones provoca un aumento del pH y una disminución de la acidez total y del contenido de etanol. También liberan proantocianidinas que se corresponden con un aumento en la cantidad de polifenoles totales y de taninos, aumentando el grado medio de polimerización de los taninos, en la vinificación con 60% de raspón. En cuanto a la materia colorante, se produce una bajada en la cantidad de antocianos, pero más uniones antociano-tanino, por lo que hay una pérdida de color, pero es más estable. En relación a los compuestos volátiles, se observa un aumento generalizado de aldehídos, ésteres, ácidos y alcoholes; y una disminución de lactonas.

Palabras clave: vino, despalillado, raspón, Marselan, polifenoles, composición aromática, composición química

Abstract

Total de-stemming is a technique generally used in the production of red wines with the goal of avoiding some of the unwanted flavors attributed to the stems. However, in the last few years, there have been some experiments done on the inclusion of stems in the fermentation with varying results. This work is focused on the effects of various degrees of de-stemming of the variety Marselan for the optimization of the chemical and sensorial profile of the resulting wine. Four ferments were completed using three different amounts of stems: 20%, 40%, and 60%.

At the conclusion of the alcoholic and malolactic fermentations, an analysis was performed to evaluate the completed wines. The inclusion of stems provoked significant changes in the conventional parameters, polyphenolic, and aromatic compounds analyzed. Their presence increased pH and decreased total acidity and ethanol content in the wine. In addition, they released proanthocyanidins leading to an increase in total polyphenols and tannins, increasing the polymerization of tannins in the 60% stem vinification. Concerning wine color, the inclusion of stems leads to a decrease in total anthocyanins but higher levels of combination between anthocyanins and proanthocyanins, leading to the conclusion that the coloring compounds are more stable albeit in lower concentration. Finally, volatile compounds were also affected by the use of stems, with analysis showing an increase in aldehydes, esters, acids and alcohols alongside a decrease of lactones.

Key words: wine, de-stemming, stem, Marselan, polyphenols, aromatic compounds, chemical compounds

Índice

1.	Introducción	1
1.1	Raspón o escobajo.....	1
1.2	Compuestos polifenólicos presentes en los vinos tintos	1
1.3	Compuestos aromáticos presentes en los vinos tintos.....	3
1.4	Efecto de la presencia de raspones durante la vinificación	6
2.	Objetivos	7
3.	Materiales y métodos	8
3.1	Procesamiento de la uva	8
3.2	Parámetros convencionales	9
3.3	Compuestos polifenólicos	9
3.3.1.	Índice de polifenoles totales (Ribereau-Gayón, 1979).....	9
3.3.2.	Intensidad colorante y matiz (Glories, 1978)	9
3.3.3.	Índice PVPP (Blouin, 1977; Vivas et al.,1995).....	10
3.3.4.	Taninos Condensados Totales (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966), (Ribéreau-Gayon, 1979)	10
3.3.5.	Índice DMACH (Vivas, 1994).....	11
3.3.6.	Antocianos totales (Método de Puissant-León (Blouin, 1992))	12
3.4	Análisis de los compuestos volátiles	12
3.5	Tratamiento estadístico	13
4.	Resultados y discusión	14
4.1	Parámetros convencionales	14
4.2	Composición polifenólica	16
4.2.1.	Composición polifenólica relativa al color	16
4.2.2.	Composición polifenólica relativa a la astringencia	18
4.3.	Influencia del despalillado sobre el perfil aromático del vino	20
4.3.2.	Análisis de componentes principales	25
5.	Conclusiones.....	27
6.	Bibliografía	28

1. Introducción

En esta sección se van a introducir las nociones básicas en las que se fundamenta el presente estudio. En primer lugar, se describe el concepto de raspón o escobajo, seguidamente los principales tipos de polifenoles y aromas, y para finalizar, el procesamiento del raspón.

1.1 Raspón o escobajo

El raspón o escobajo es el elemento del racimo de uva con función de soporte de las bayas, así como de alimentación mediante los vasos conductores situados en su interior. Representa un 3-7% en peso de un racimo maduro. En cuanto a su composición, los raspones son pobres en azúcares con una cantidad menor a 10 g/kg, pero ricos en minerales con un 50-60% en peso de cenizas y, especialmente, en potasio. El jugo celular tiene un pH superior a 4,0 y está cargado de compuestos fenólicos (Hidalgo, 2018).

Los vinos presentan diferentes contenidos de compuestos fenólicos ya que dependen de varios factores como sus concentraciones iniciales en la uva, la tecnología utilizada en el proceso de vinificación, así como su transformación durante el envejecimiento del vino (Sun & Spranger, 2005). Este estudio se va a centrar en el segundo punto: la tecnología utilizada, concretamente en la influencia del despallado o eliminación del raspón en la composición y calidad de los vinos.

1.2 Compuestos polifenólicos presentes en los vinos tintos

Los compuestos fenólicos son una familia de sustancias implicadas en los aspectos principales organolépticos del vino como color, sabor, astringencia y cuerpo (Kennedy, 2008). Además también tienen otras propiedades como antioxidantes (Sun & Spranger, 2005). Como se observa en la Figura 1, se clasifican en dos familias principales: no flavonoides y flavonoides. (Pascual et al., 2016).

En primer lugar, entre los compuestos fenólicos **no flavonoides** se incluyen principalmente los estilbenos y ácidos fenólicos. Los estilbenos no tienen un efecto directo en las propiedades organolépticas sino que destacan por tener un efecto positivo en la salud (Pascual et al., 2016). Los ácidos fenólicos incluyen los ácidos benzoicos y ácidos cinámicos (Busse, 2013) y pueden actuar como copigmentos ayudando a la estabilidad del color. También se ha observado que pueden contribuir en el amargor (Pascual et al., 2016).

En segundo lugar, dentro de los **flavonoides**, se incluyen los flavonoles, antocianinas y flavanoles. Los flavonoles son pigmentos amarillos situados en la piel de las uvas, aunque también pueden contribuir al color rojo del vino como copigmentos y al amargor. (Pascual et al., 2016, Ribéreau-Gayon et al., 2006). Las antocianinas son pigmentos rojos situados principalmente en la piel y en la pulpa de variedades tintoreras, contribuyendo a la componente roja y morada del vino, pero no exclusivamente, ya que el color también depende de otros factores como el pH o los factores de copigmentación. Los flavanoles se encuentran en la piel, pepitas y raspón y forman los taninos condensados o proantocianidinas cuyas funciones principales son contribuir a la estabilidad de color combinándose con antocianinas, proteínas, polisacáridos y otros compuestos; se encuentran asociados al amargor, sensación de estructura y astringencia (Pascual et al., 2016).

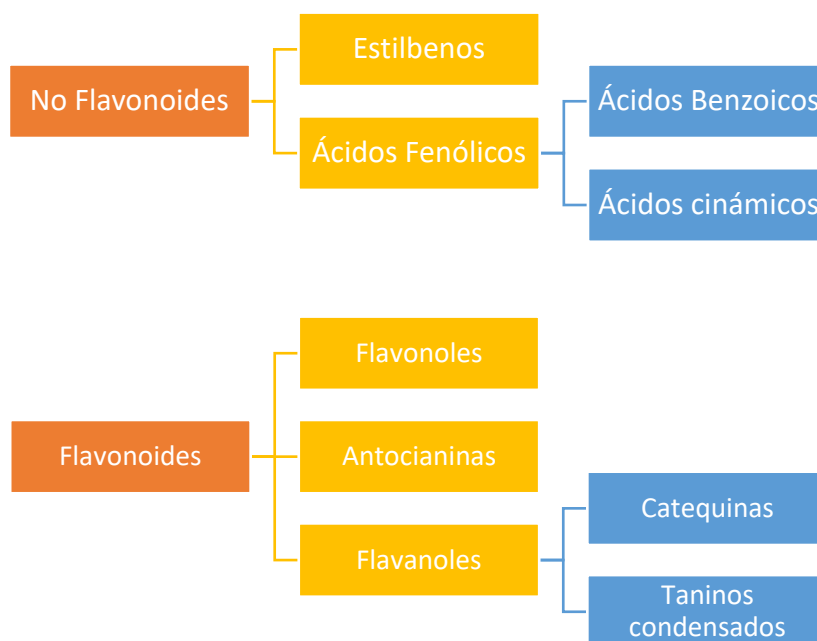


Figura 1: Clasificación de los compuestos fenólicos

Las proantocianidinas están compuestas por subunidades monoméricas flavan-3-ol que pueden presentar diversas formas isoméricas: (+)/(-)-catequina, (+)/(-)-epicatequina, (+)/(-)-galocatequina y (+)/(-)-epigalocatequina (Ribéreau-Gayon et al., 2006). En las uvas las estructuras mayoritarias son la a (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la (-)-epigalocatequina y la (-)-epicatequina-3-O-galato. Sin embargo, la cantidad de monómeros presentes en el vino es pequeña, ya que la mayoría se encuentran formando polímeros (Busse, 2013).

Cuando el vino se encuentra en contacto con madera, aparecen taninos hidrolizados con ácido gálico y ácido elágico conocidos como galotaninos y elagitaninos que dan complejidad y sensación de astringencia (Busse, 2013).

En cuanto a los raspones, tienen altas dosis de compuestos polifenólicos, especialmente ácidos fenólicos, flavonoles y flavanoles. Los vinos presentan mayores niveles de catequinas y proantocianidinas, tanto galoiladas como no galoiladas. Los principales ácidos fenólicos que se encuentran en los raspones son el ácido caftárico y el ácido cutárico; y el principal flavanol es la Astilbina (Souquet et al., 2000). Sin embargo, las cantidades de antocianidinas individuales y totales son más bajas (Sun et al., 2001).

1.3 Compuestos aromáticos presentes en los vinos tintos

El aroma del vino es muy variado, ya que es el producto de una secuencia bioquímica y tecnológica (Spranger et al., 2004) en el que además intervienen cientos de compuestos volátiles con rangos de concentración que varían desde mg/L hasta ng/L o incluso menos. Su percepción depende del tipo y la concentración en la que se encuentren (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

En el vino existen diferentes tipos de aromas estrechamente relacionados con la fermentación alcohólica (Spranger et al., 2004): varietales, prefermentativos o primarios; fermentativos o secundarios y postfermentativos o terciarios (Figura 2).

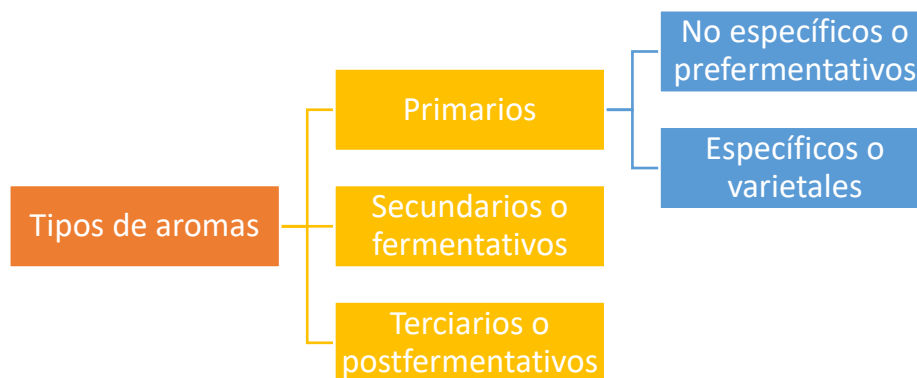


Figura 2: Clasificación de los compuestos aromáticos

Dentro de los aromas **primarios**, se distinguen entre no específicos y específicos. Los no específicos o prefermentativos son comunes a todos los vinos elaborados en determinadas condiciones tecnológicas (Hidalgo, 2018). Son esencialmente aldehídos y alcoholes (Belancic et al., 2018). Los aromas específicos o varietales provienen de la uva y reflejan la variedad, el clima y el suelo. Se localizan fundamentalmente en el hollejo y pueden caracterizar algunas variedades

de uva. Las sustancias volátiles ligadas a la tipicidad aromática pertenecen principalmente a dos familias: los terpenoles y las pirazinas (Cedrón, 2004).

Los aromas **fermentativos** aparecen durante la fermentación y son producidos por el metabolismo de la levadura, por lo que dependen del proceso de vinificación de la uva. En general son ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes superiores, ácidos, compuestos azufrados (Belancic et al., 2018) y lactonas. Los alcoholes y los ésteres son los más importantes cuantitativamente (González et al., 1996).

Los aromas **postfermentativos** tienen lugar durante la conservación y el envejecimiento del vino. Las barricas de madera aportan también compuestos aromáticos (Belancic et al., 2018).

En cuanto a la forma de percepción de los aromas, pueden encontrarse en formas libres o en formas combinadas. Las formas libres son captadas directamente por el olfato, mientras que las formas combinadas no suelen presentar propiedades olfativas en ese estado, pero pueden transformarse a formas libres durante el proceso de vinificación. A su vez, cada variedad de uva tiene un diferente grado de aromaticidad, desde variedades muy aromáticas como Moscatel de Alejandría hasta variedades poco aromáticas como Airén (Hidalgo, 2018).

Existen muchos compuestos volátiles que participan en el aroma del vino, pero los más importantes se explican a continuación.

Los **terpenos** son compuestos muy extendidos en el reino vegetal. Los más odorantes son los monoterpenos y sesquiterpenos. Se han identificado cerca de cuarenta compuestos terpénicos en uvas que crean un amplio espectro de aromas. Los más odorantes son el linalol, geraniol y citronelol, con aromas florales (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Las **metoxipiracinas** proceden del metabolismo de los aminoácidos. Están relacionadas con aromas vegetales que recuerdan sobre todo a pimienta verde. Son características de algunas variedades como Merlot, Cabernet Sauvignon y Pinot Noir. Normalmente aparece cuando las vendimias no han madurado bien o han madurado en condiciones meteorológicas frías (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Los **compuestos azufrados** de la familia de los tioles normalmente son responsables de defectos olfativos en el vino. Sin embargo, se ha identificado una contribución de aromas frutales. (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Los **alcoholes superiores** son, junto con los ésteres, cuantitativamente los más importantes. Su origen está ligado al metabolismo de aminoácidos, por lo que depende de la cepa de la levadura

y las concentraciones de nitrógeno amínico y amoniacal. En general no son factores de calidad, ya que su olor es considerado desagradable. El compuesto volátil más importante es el 2-feniletanol, pues contribuye de forma positiva en el perfil aromático al aportar notas dulces y florales, a rosa y lila (González et al., 1996). Cuando la concentración total de alcoholes está por debajo de los 300 mg/L, imparten un perfil agradable y contribuyen positivamente al aroma del vino. Esto es debido a que tienen función como precursores en la formación de ésteres, al igual que los ácidos (Luan et al., 2018).

Los **ésteres** son cualitativamente los constituyentes más importantes del vino. La mayoría se producen durante la fermentación (González et al., 1996) o en el almacenamiento (Cedrón, 2004). En general, son considerados como agradables por su olor afrutado (González et al., 1996), aunque el acetato de etilo se busca en bajas dosis, ya que en altas concentraciones tiene un aroma desagradable. Los principales ésteres que aparecen en el vino son éster de etilo, de butilo e isopentilo (Cedrón, 2004).

Los **ácidos** no se describen como aromas agradables. Su olor individual se identifica con el vinagre, mantequillas, queso... no se consideran de calidad si el número de átomos de carbono es menor de 5 ya que indican una actuación bacteriana o bien el inicio de la fermentación con levaduras esporógenas. Son de calidad cuando el número de átomos de carbono es mayor de 5 (Cedrón, 2004). Son deseables cuando se encuentran por debajo de su umbral de percepción, puesto que contribuyen a la complejidad del vino al esterificarse con los alcoholes dando lugar a ésteres afrutados (Englezos et al., 2018).

Las **lactonas** se relacionan con un aroma agradable que recuerda al coco, melocotón o piña. Se presentan en bajas concentraciones en el vino y, en general, no llegan al umbral de percepción (Nakamura et al., 1988).

Por último, es difícil determinar la influencia sensorial de compuestos individuales, ya que existen mezclas muy complejas con interacciones sinérgicas entre ellos y con la matriz (Ferreira et al., 2000), afectando a las características organolépticas de los compuestos en sí mismos (Cedrón, 2004).

En cuanto a la composición aromática de los raspones, presentan niveles de metoxipiracinas más altos que en otras partes de la planta, y permanecen tras la fermentación, por lo que el aporte a los vinos es mayor en presencia de raspones (Hashizume & Samuta, 1997).

También aportan mayores cantidades de algunos alcoholes como 1-butanol, 1-hexanol, hex-3-en-1-ol y 2-feniletanol (Spranger et al., 2004). En cuanto a los ésteres, el lactato de etilo es el

más representativo en vinos con raspones; y en referencia a los ácidos, de forma generalizada son más abundantes en presencia de raspones (Suriano et al., 2016).

1.4 Efecto de la presencia de raspones durante la vinificación

Generalmente, en el proceso de vinificación se realiza el despalillado ya que puede presentar ventajas como la economía del espacio, habiendo un ahorro en tanques de fermentación y menor cantidad de vendimia pesar. También suele haber una mejora gustativa en los vinos, ya que los raspones pueden presentar sabores y aromas no deseados (Suriano et al., 2016). Además, el raspón absorbe etanol y libera agua (Pascual et al., 2016) por lo que se produce un aumento de la graduación alcohólica con el despalillado.

Sin embargo, la tendencia a no despalillar es cada vez mayor, por ser capaz de mejorar los vinos considerablemente si se lleva a cabo de la manera adecuada. Además, si el proceso de despalillado no se realiza adecuadamente, las bayas pueden estallar y, si los raspones están dañados, pueden liberar sustancias negativas en el mosto (Suriano et al., 2016). Saltarse el paso del despalillado puede presentar efectos interesantes en el vino como un sombrero menos compacto (Pascual et al., 2016), que facilita el prensado al formarse una red tridimensional con canales que ayudan al drenaje. Los raspones absorben calorías facilitando la fermentación, Ribereau-Gayon (1979) demostró que las fermentaciones son más rápidas y completas con raspón. Por otra parte, los raspones al ser poco ácidos disminuyen la acidez de la vendimia (Hidalgo, 2018).

Los raspones, contienen muchos compuestos polifenólicos y monómeros de flavanoles, que son liberados durante la vinificación (Suriano et al., 2016). Por ello, hay una mayor extracción, obteniéndose más cantidades de polifenoles y proantocianidinas. Esto es reflejado en los vinos, ya que están dotados de una buena estructura y complejidad. También es importante el grado de polimerización de las proantocianidinas, ya que tiene una influencia considerable en la percepción de la astringencia (Pascual et al., 2016).

Relativo a la materia colorante, en un principio la presencia de raspones produce una pérdida de color, sin embargo, las proantocianidinas ayudan a fijar el color por medio de una polimerización entre antocianos y taninos. Por esta misma razón también tiene un efecto protector en vendimias con un alto porcentaje de podredumbre, pues los taninos presentan actividad antioxidásica (Hidalgo, 2018). Este aumento de contenido polifenólico con respecto a vinos despalillados mejora la predisposición de los vinos para el envejecimiento (Sun & Spranger, 2005).

2. Objetivos

En la mayoría de los vinos tintos se realiza de forma generalizada la técnica del despalillado total para la eliminación de los raspones. Sin embargo, en los últimos años, se ha profundizado más en la técnica de un despalillado parcial, pues se ha observado que puede tener grandes beneficios en la calidad del vino resultante.

Es por ello, que se ha planteado un ensayo con el objetivo general de estudiar cómo afectan a la calidad del vino diferentes porcentajes de despalillado parcial en la variedad Marselan.

El objetivo específico de este trabajo es la optimización del porcentaje de despalillado parcial de la uva (20%, 40% y 60%.) frente al despalillado total, mediante el estudio de su efecto sobre los parámetros convencionales, composición polifenólica y aromática de los vinos elaborados.

3. Materiales y métodos

3.1 Procesamiento de la uva

Se pesan 3,8-4kg de uva despalillada manualmente para cada uno de los tarros de cristal que se van a utilizar para la fermentación. Se realizan cuatro tipos de vinificaciones. La primera de ellas con un 0% de raspón, es decir, el 100% de la uva despalillada; la siguiente contiene un 20% de raspón; la tercera vinificación con un 40% de raspón y, la última, con un 60% de raspón. Todas las elaboraciones se realizaron por triplicado.

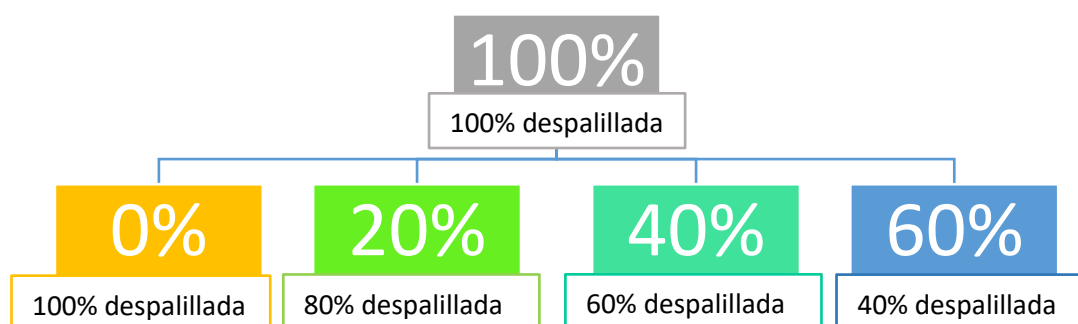


Figura 3: Microvinificaciones llevadas a cabo en el estudio

Seguidamente, las uvas estrujadas se introducen en los tarros de cristal y se añade metabisulfito potásico en una concentración de 10 g/hL (equivalente a 5g/hL de SO₂). Se toma una muestra para medir la densidad, °Brix, °Baumé, acidez total, pH y grado de alcohol probable y comprobar que todos los parámetros se encuentran dentro del rango esperado.

A continuación, se añaden levaduras comerciales (*Saccharomyces cerevisiae*) en una concentración de 30g/hL, hidratadas previamente.

Durante la fermentación se realiza un bazuqueo diario para romper el sombrero y aumentar la extracción de las partes sólidas. Tres veces a la semana se lleva a cabo un control sobre la fermentación midiendo temperatura y densidad. Pese a que lo ideal es determinar densidades diariamente, se optó por espaciar las medidas para evitar oxidaciones. Los indicadores del fin de la fermentación son una densidad aproximada de 995 y azúcares residuales cercanos a 1.

Una vez finalizada la fermentación, se realiza el prensado de las uvas, juntando todas las fracciones de vinos prensados. Después del prensado se añaden bacterias comerciales (*Oenococcus oeni*) para inducir la fermentación maloláctica, se mantiene el vino a una temperatura de 18-20°C. Para el seguimiento de esta segunda fermentación y saber cuándo finaliza, se realiza cromatografía en papel (Blouin, 1992). Cuando la fermentación maloláctica se da por finalizada, se trasiega el vino y se corrige el SO₂ hasta llegar a una concentración de

30mg/L de SO₂ libre. Los vinos fueron embotellados y seis meses después se llevaron a cabo los análisis de los parámetros convencionales, de los compuestos polifenólicos y de los compuestos aromáticos.

3.2 Parámetros convencionales

Los parámetros convencionales pH, densidad azúcares, acidez total (g/L de ácido tartárico), acidez volátil (g/L de ácido acético), grado alcohólico y sulfuroso libre y total, se han analizado siguiendo los métodos recogidos en el Reglamento Oficial de la Unión Europea (OIV, 1979).

3.3 Compuestos polifenólicos

3.3.1. Índice de polifenoles totales (Ribereau-Gayón, 1979)

El Índice de Polifenoles Totales (IPT) mide la totalidad de los compuestos polifenólicos a través de la absorbancia a 280 nm (UV) que es la longitud de onda en la cual se escinde el grupo fenol. Para ello previamente es necesario diluir la muestra por un factor de 100, bajo 10 mm de paso óptico en una cubeta de cuarzo, frente al agua.

Para obtener el valor final se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{I.P.T. de la solución} = A_{280} \times 100$$

Para expresar el resultado en g/L o mg/L de ácido gálico, se multiplica el IPT por el factor de corrección 0,08 o 80, respectivamente.

3.3.2. Intensidad colorante y matiz (Glories, 1978)

La Intensidad Colorante y la Tonalidad o Matiz se utilizan para medir las características cromáticas de los vinos.

El color se puede cuantificar sumando las densidades ópticas a 420 nm (amarillo), 520 nm (rojo) y 620 nm (azul) bajo 10 mm de paso óptico en una cubeta de cuarzo, frente al agua destilada. Para ello previamente es necesario centrifugar la muestra.

Como la absorbancia de los vinos tintos es muy elevada y sobrepasa los límites de linealidad del espectrofotómetro, se utilizan cubetas de 1 mm (o 2 mm) y el resultado se multiplica por 10 (o por 5) para referirlo a la cubeta estándar de 10 mm de recorrido óptico.

Por tanto, para obtener el valor final se utiliza la siguiente fórmula:

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

3.3.3. Índice PVPP (Blouin, 1977; Vivas et al.,1995)

Se realiza la medición del porcentaje de antocianos combinados con los taninos. Cuanto mayor sea la combinación, los vinos presentan rojos más intensos, más estabilidad en el color, evitan la oxidación de los antocianos y la disminución de la astringencia de los taninos.

En primer lugar, se diluye en vino 1/50 con agua destilada y se lee la absorbancia a 280 nm, con la cubeta de 10 mm de recorrido óptico, obteniéndose el valor DO_0 . El blanco se mide con agua destilada.

En un tubo de ensayo mantenido a 0°C se introducen 2 mL de vino diluido 1/5 con agua destilada y 2 ml de PVPP 0,6%. Se agita y se deja reposar durante 10 minutos. Seguidamente se añaden 6 mL de tricloroacético (TCA) al 20%, se agita y se deja reposar durante 10 minutos. Se centrifuga durante 8 minutos a 4700 rpm.

Finalmente se diluye a 1/2 una alícuota del sobrenadante para poder tener disolución del vino a 1/50. Se mide la absorbancia de dicha disolución en el espectrofotómetro a 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm de camino óptico, obteniéndose DO_1 . El blanco se mide con una disolución de TCA al 6%.

Para obtener el valor final de PVPP se utiliza la siguiente expresión:

$$\text{Índice PVPP (\%)} = [(DO_0 - DO_1) / DO_0] \times 100$$

Donde:

- DO_0 = densidad óptica a 275 nm del vino analizado, diluido 1:50 con agua destilada, y el espectrofotómetro ajustado con agua destilada, en una cubeta de cuarzo de 10 mm de camino óptico.
- DO_1 = densidad óptica a 275 nm del vino analizado, diluido 1:50 mediante el procedimiento descrito anteriormente, y espectrofotómetro ajustado con una disolución de TCA al 6%. Representa la cantidad de polifenoles no fijados por PVP; son los que quedan en el sobrenadante.
- $DO_0 - DO_1$ = cantidad de antocianos combinados con los taninos en la disolución. Corresponden a los polifenoles fijados por PVP; son los que forman parte del sedimento obtenido.

3.3.4. Taninos Condensados Totales (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966), (Ribéreau-Gayon, 1979)

Las proantocianidinas (taninos condensados) se transforman parcialmente en antocianidinas

rojas en medio ácido por calentamiento, lo cual lleva a la formación de carbocationes que se transforman parcialmente en cianidina y catequinas si el medio es suficientemente oxidante (reacción de Bete-Smith). Este método utiliza esta propiedad para la detección de taninos en el medio.

Esta reacción ocurre tanto con las formas monoméricas (catequinas) como con las formas polimerizadas (proantocianidinas), estas últimas se transforman en antocianidinas por hidrólisis de ciertas uniones y son las que se determinan por medición colorimétrica.

Para la determinación, se diluye el vino previamente centrifugado a 1/50. Se introduce en dos tubos de ensayo (Tubo 1 y Tubo 2): 1 mL de vino diluido, 0,5 mL de agua destilada y 3 mL de HCl 12 N. El Tubo 1 se cierra herméticamente, se protege de la luz con papel de aluminio y se introduce dentro de un baño maría a 100°C durante 30 minutos. El Tubo 2 se deja a temperatura ambiente.

Después del baño, el Tubo 1 se refrigera rápidamente. A continuación, a ambos tubos se les añade 1 mL de etanol absoluto (o de 96°) y después de agitarlo se leen las absorbancias a 550 nm en cubetas de 10 mm de camino óptico, utilizando como blanco agua destilada.

Para obtener el valor final de concentración de taninos condensados se utiliza la siguiente expresión:

$$\text{Taninos Condensados Totales (g/L)} = (T_1 - T_2) \times 19,33$$

Donde:

- T_1 = Tubo 1.
- T_2 = Tubo 2.

El coeficiente de 19,33 corresponde al coeficiente de extinción molar de la cianidina obtenida por la hidrólisis ácida de los taninos condensados, corregido para dar el resultado en g/L.

3.3.5. Índice DMACH (Vivas, 1994)

El grado de polimerización de los taninos se obtiene utilizando el aldehído p-dimetilaminoacetaldehído (D.M.A.C.H.) Debido a la complejidad de fraccionar los taninos, se hace mediante valoraciones químicas relacionadas con las dimensiones de los taninos.

La formación de procianidinas dímeras tiene lugar estableciendo un enlace entre el C4 de una molécula de catequina o epicatequina y el C6 o C8 de la otra molécula. La condensación prosigue formando un enlace entre el C6 de la catequina ya condensada y el C6 y C8 de una molécula monómera. Por tanto, el número de posiciones libres en 6 y 8 disminuye con el aumento de

moléculas polimerizadas.

La reacción de las procianidinas con el p-dimetilaminoacetaldehído tiene una coloración menos elevada cuantas menos posiciones C6 y C8 permanezcan libres, y esto sucede cuanto más elevado sea el grado de polimerización de los taninos.

Para llevarlo a cabo se diluye el vino previamente centrifugado con metanol a 1/20. En un tubo de ensayo se introducen 0,5 mL del vino diluido y 2,5 mL del reactivo DMACH. Se agita y, pasados 10 minutos, se mide la absorbancia de la muestra a 640 nm (A_m). Para el blanco se utiliza metanol y las cubetas pueden ser de vidrio o de cuarzo.

Se realiza un testigo con 0,5 mL de vino diluido y 2,5 mL de metanol y también se mide la absorbancia a 640 nm (A_t)

Para obtener el valor del índice de DMACH se utiliza la siguiente expresión:

$$\text{Índice de DMACH \%} = (\text{D.O.}_{\text{DMACH}} / [\text{Taninos}]) \times 100$$

$$\text{D.O.}_{\text{DMACH}} = (A_m - A_t)$$

3.3.6. Antocianos totales (Método de Puissant-León (Blouin, 1992))

Para la determinación de antocianos totales se utilizó el método de Puissant-León, con alguna modificación, descrito por Blouin en 1992.

Se introducen 0,2 mL de vino, 3,8 mL de HCl 1M y se deja reposar durante 3 horas. A continuación, se mide la absorbancia a 520 nm en una cubeta de 10 mm, utilizándose como blanco HCl 1M.

Para obtener el valor final de antocianos totales se utiliza la siguiente expresión:

$$\text{Antocianos (mg/L)} = A_{520} \times 20(\text{dilución}) \times 20$$

3.4 Análisis de los compuestos volátiles

La determinación de los compuestos volátiles de las muestras de vino se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Ortega et al., (2001) y las modificaciones especificadas realizadas por Hernandez-Orte et al., (2014). Se ha utilizado un Cromatógrafo de gas HP-6890, dotado de detector de ionización de llama y columna capilar HP-INNOWax (Crosslinked Polyethylene Glycol), de 60 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y H2 como gas portador. Condiciones de trabajo: temperatura del inyector y detector de 270°C, relación Split de 1:25. Flujo de hidrogeno de 40 mL/min y el flujo de aire de 450 mL/min. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

El procedimiento para la extracción y posterior análisis de los compuestos volátiles fue el siguiente:

En tubos de ensayo de 15 mL se añadió:

- 4,05 g de sulfato de amonio
- 2,7 mL de vino
- 6,3 mL de agua miliQ
- 0,25 mL de diclorometano
- 40 µL de patrón interno (2-butanol, 4-metil-2-pentanol y 2-octanol en etanol)

Una vez preparados los tubos con las muestras, se sellaron con "Parafilm" y se les aplicó un baño termostático con agitación sobre el eje horizontal durante 2 horas a 12°C y 75 rpm. Seguidamente, pasaron a una centrifugadora durante 15 minutos a 40 rpm. De esta forma se consigue la separación entre la fase acuosa del vino y la fase apolar del diclorometano que actúa como disolvente, la cual nos interesa debido a que en ella quedan disueltos los compuestos volátiles del vino. Posteriormente, de los tubos se extrajo el disolvente con jeringuilla, depositándolo en un vial de 2mL con microinserto. Todas las extracciones se realizaron por duplicado

3.5 Tratamiento estadístico

Se ha utilizado el programa Statgraphics Centurion XVII aplicando la función de análisis de la varianza (ANOVA) simple con un nivel de significación del 95% ($p < 0,05$) para estudiar si existen o no diferencias significativas entre los vinos elaborados con distintos porcentajes de raspón.

El análisis de Componentes Principales (PCA) se realizó con el programa SIMCA 16.

4. Resultados y discusión

En este apartado se muestran los resultados obtenidos tras el tratamiento estadístico de los datos obtenidos bajo el efecto de cada uno de los tratamientos realizados.

Todos los vinos fueron analizados a los seis meses del embotellamiento una vez finalizada la fermentación maloláctica.

4.1 Parámetros convencionales

En la Figura 4 se muestran los resultados de los parámetros convencionales de los vinos elaborados con diferente porcentaje de despallado.

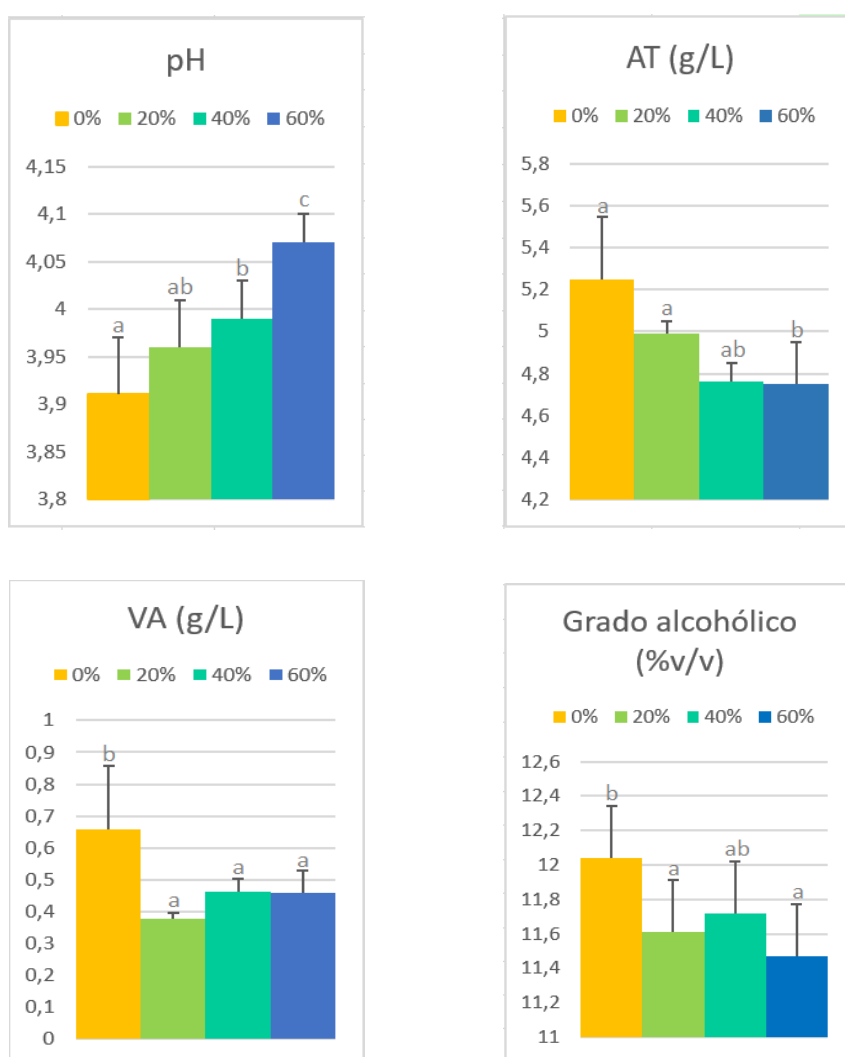


Figura 4: Efecto del despallado sobre los parámetros convencionales. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la Figura 4 se puede observar un aumento significativo de pH a medida que incrementa el porcentaje de raspón, partiendo de un pH de 3,91 con 0% de raspón hasta llegar a un pH de 4,07 con un 60%. Estos resultados coinciden con lo esperado, pues como se ha explicado

anteriormente, el pH del jugo del raspón es elevado, superior a 4, además, los raspones pueden liberar potasio provocando una precipitación de ácido tartárico (Pascual et al., 2016), que también contribuye al aumento del pH.

La cesión de potasio procedente de los raspones también va a afectar a los valores de acidez total. Se espera una bajada de esta según se produce un aumento de la cantidad de raspón. Aunque solo existan diferencias significativas en la muestra de 60% (Figura 4), se observa una tendencia de disminución que va desde una acidez total de 5,25 con 0% de raspones hasta llegar a una acidez total de 4,75 con 60% de raspones.

El grado alcohólico de los vinos, fue significativamente más bajo en los elaborados en presencia de raspón respecto al control sin raspones. Se observa un ligero aumento en las muestras con 40% de raspones, pero no hay diferencias significativas con respecto a 20% y 60% de raspones. Estos resultados coinciden con lo esperado, ya que, el raspón es capaz de absorber etanol y liberar agua (Pascual et al., 2016), de hecho, se ha constatado que los raspones tienen un contenido de agua de más del 70% (Soto, 2018)

En cuanto a la acidez volátil, se observa un comportamiento semejante, ya que en los vinos fermentados en presencia de raspón la acidez volátil es significativamente menor que en los vinos control con despalillado total. El ácido acético es el principal responsable de la acidez volátil. Es producido mayoritariamente por las bacterias *Gluconobacter* y *Acetobacter*, aunque también puede producirse por reacciones enzimáticas de las levaduras durante la fermentación alcohólica, pero sobre todo es peligroso cuando los vinos presentan podredumbre por *Botrytis cinérea*. Las bacterias acéticas utilizan etanol para obtener energía y lo oxidan a ácido acético (Vilela-Moura et al., 2008).

Se podría esperar un aumento de la acidez volátil con los tratamientos de raspones debido a que el pH es más alto y el porcentaje de alcohol más bajo, por lo que sería un medio más favorable para las bacterias acéticas. Sin embargo, se ha observado una disminución con diferencias significativas en los ensayos de 40% y 60% de raspones. Algunos estudios realizados demuestran que diferente porcentaje de raspón presente en la fermentación no afecta a la acidez volátil de los vinos (Soto, 2018). El aumento de la acidez volátil de los vinos con 0% de raspón podría ser debido a que, aunque se ajustaran todas las muestras a 30 mg/L de SO₂ libre, la cantidad en estas muestras puede haber disminuido más rápidamente que en el resto de los ensayos. También podría haber ocurrido por algún tipo de aireación que haya habido en las muestras de 0% de raspones haciendo que las bacterias acéticas se desarrollen más.

Atendiendo a los resultados, la vinificación con raspón tiene un efecto positivo, ya que según la normativa, los vinos no pueden superar 0,9 g/L de acidez volátil (Ministerio de Agricultura, 2011). Por ello, podría ser de gran utilidad el empleo de raspones en los casos de vinificaciones que se sospeche que podrían derivar en una alta acidez volátil o que presenten podredumbre.

En la Tabla 2 se muestran los resultados numéricos de los parámetros generales.

Tabla 2. Valores medios, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos elaborados con diferente despallado (0, 20, 40 y 60 representan el porcentaje de raspón presente en la fermentación)

Raspón (%)	0	20	40	60	F-ratio	P-value
<i>pH</i>	3.91 ± 0,06 a	3.96 ± 0,05 ab	3.99 ± 0,04 b	4.07 ± 0,03 c	11.59	0.0001
<i>TA (g/L)</i>	5.25 ± 0.3 a	4.99 ± 0.06 a	4.76 ± 0.09 ab	4.75 ± 0.2 b	3.61	0.0313
<i>Etanol (%v/v)</i>	12.04 ± 0.3 b	11.61 ± 0.3 a	11.72 ± 0.3 ab	11.47 ± 0.3 a	4.49	0.0145
<i>VA (g/L)</i>	0.658 ± 0.2 b	0.377 ± 0.02 a	0.463 ± 0.04 a	0.458 ± 0.07 a	5,6	0.0019

4.2 Composición polifenólica

A continuación, se lleva a cabo el análisis de los compuestos polifenólicos obtenidos en las diferentes vinificaciones, tales como el nivel de antocianos, taninos y polifenoles totales; así como diferentes índices relacionados con su calidad y polimerización.

En primer lugar, se va a hablar de los compuestos polifenólicos relacionados con el color del vino: Intensidad Colorante, Antocianos e Índice PVPP; y seguidamente, los compuestos polifenólicos relacionados con la astringencia: IPT, Taninos e Índice DMACH.

4.2.1. Composición polifenólica relativa al color

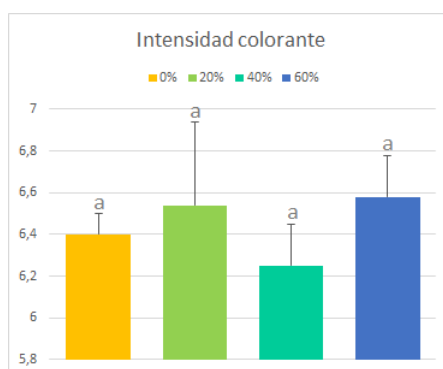


Figura 5: Efecto del despallado sobre la intensidad colorante. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En primer lugar, se ha determinado intensidad colorante en las muestras. Con los datos observados en la Figura 5, se podría esperar una pérdida de la intensidad de color en los vinos resultantes debido a la disminución en la concentración de antocianos, así como el aumento del pH. En general, la intensidad colorante se correlaciona positivamente con la concentración de

antocianos (Suriano et al., 2015). Sin embargo, no ha habido diferencias significativas ni entre los ensayos con raspones, ni con respecto al control, por lo que la intensidad colorante no se ha visto afectada. Aunque no se observan diferencias significativas, se advierte una tendencia ascendente de la intensidad colorante conforme aumenta el porcentaje de raspones (considerando las muestras 0, 20 y 60% de raspones) pese al efecto de dilución. El aporte de taninos procedentes de los raspones podría provocar un incremento de la IC (Spranger et al., 2004).

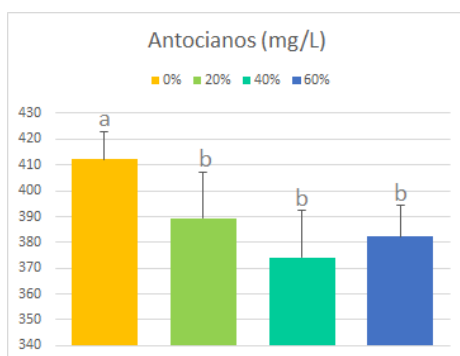


Figura 6: Efecto del despalillado sobre los antocianos totales. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En cuanto a la concentración de antocianos, como se puede observar en los resultados obtenidos (Figura 6), la presencia de raspones disminuye significativamente la concentración de antocianos. Se observan diferencias significativas con respecto al control, pero no hay diferencias significativas entre los diferentes porcentajes de raspón. Estos resultados concuerdan con lo esperado, ya que existen estudios que sugieren que las antocianinas pueden ser adsorbidas irreversiblemente por los raspones (Spranger et al. 2004) y que hay reacciones de degradación y condensación con otros compuestos (Suriano et al., 2016), además del factor dilución que es producido por la presencia de raspones. Resulta interesante comprobar que la concentración de antocianos en las muestras con 0, 20 y 60% de raspón posean un comportamiento inverso a la intensidad colorante.

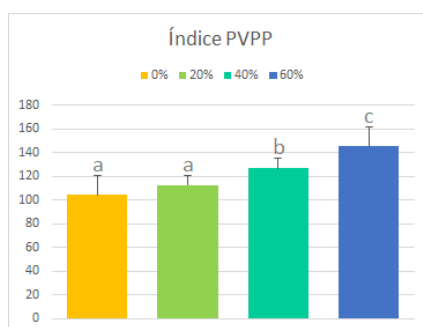


Figura 7: Efecto del despalillado sobre el índice PVPP. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Es muy importante conocer la estabilidad del color, y para ello se utiliza el índice PVPP que mide el porcentaje de antocianos combinados con taninos (Blouin, 1977; Vivas et al.,1995). Así, cuanto mayor sea el índice PVPP, mayor estabilidad en el color tendrá el vino analizado. En los resultados obtenidos (Figura 7) se observa un aumento en el índice de PVPP a medida que aumenta el porcentaje de raspón, con diferencias significativas entre las muestras de 40% y 60% de raspón, aunque, en el ensayo de 20% de raspón no hay diferencias significativas con respecto al control. Esto podría ser causado por la liberación por parte de los raspones, de grandes cantidades de flavan-3-ol, que estimularía la unión de antocianos-tanino (Spranger et al., 2004)

Por tanto, se puede deducir que los raspones estimulan la unión antociano-tanino que conlleva un aumento en la estabilidad del color, así como un descenso en la concentración total de antocianos y un incremento de la Intensidad Colorante (Figura 5), excepto en la muestra con 40% de raspón.

4.2.2. Composición polifenólica relativa a la astringencia

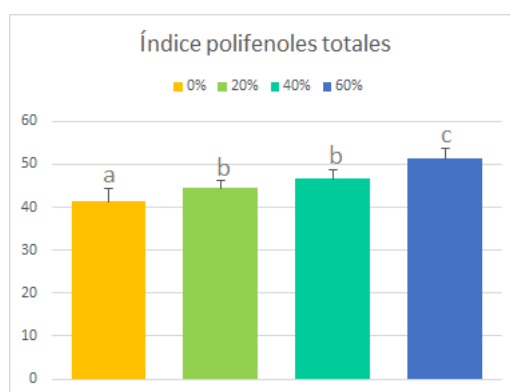


Figura 8: Efecto del despallado sobre el índice de polifenoles totales. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El IPT muestra la totalidad de compuestos polifenólicos. Por tanto, cuanto mayor sea el índice, mayor contenido polifenólico tendrá el vino analizado. En los resultados se observa un aumento del IPT con diferencias significativas en todos los porcentajes con respecto al control (Figura 8). Por ello, se deduce que cuanto mayor es la cantidad de raspón, mayor IPT y mayor contenido polifenólico en los vinos. Estos resultados concuerdan con lo esperado, ya que como se ha mencionado anteriormente, los raspones contienen una concentración importante de contenido polifenólico, liberando altas dosis de flavan-3-ol durante la vinificación (Spranger et al., 2004).

Por tanto, estos resultados son muy interesantes y podría aplicarse en ciertos tipos de vinificaciones si se busca una mayor extracción en variedades con poca carga polifenólica o una extracción más rápida en menor tiempo de maceración.

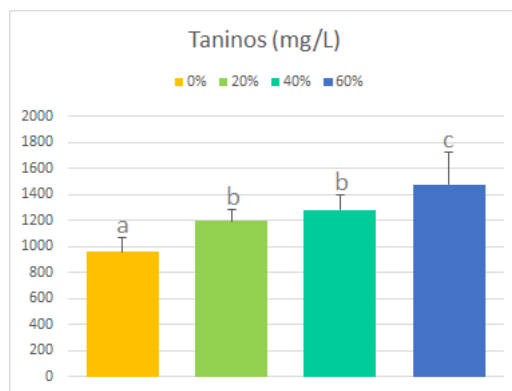


Figura 9: Efecto del despallado sobre los taninos condensados totales. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En cuanto a la cantidad de taninos, se esperaba también una mayor extracción a medida que aumenta el aporte de raspón, pues estos contienen una mayor concentración de proantocianidinas. En efecto, en la Figura 9 se puede observar un claro aumento del nivel de taninos a medida que aumenta la cantidad de raspón. Existen diferencias significativas entre el control y los ensayos de 20% y 40% de raspón, así como del 60% de raspón con respecto a los dos anteriores y el control, por lo que se observa un aumento progresivo del nivel de taninos.

Por ello, también podría ser muy interesante para vinificaciones en las que se busque una mayor complejidad y estructura en boca, así como un color más estable y una protección extra frente a la oxidación. Sin embargo, previo a la vinificación es necesario hacer un examen exhaustivo de su calidad y madurez, pues van a producir cambios significativos en el vino en cuanto a estructura y sensación en boca y podrían tener efectos muy negativos si no se hace adecuadamente.

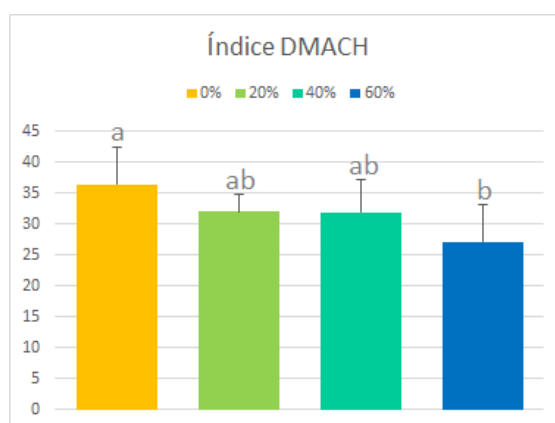


Figura 10: Efecto del despallado sobre el índice DMACH. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El Índice de DMACH estima el grado de polimerización de los taninos. Varía en sentido inverso a la masa molecular de los taninos y, por tanto, a su grado de polimerización. Cuanto mayor sea

este índice, menor es la polimerización de los taninos y viceversa. Observando los resultados en la Figura 10, nos encontramos con una tendencia a la disminución del índice, es decir, a un aumento en la condensación de los taninos. Sin embargo, solo se puede afirmar entre las muestras de 0% y 60% de raspones, ya que es donde existen diferencias significativas, mostrando los ensayos de 20% y 40% de raspón valores intermedios. Por tanto, a medida que aumenta la cantidad de raspón, se obtienen vinos con taninos más condensados.

Por último, en referencia a los porcentajes de raspón concretos, todos los parámetros han tenido diferencias significativas con respecto al control, excepto la intensidad colorante. Entre 20% y 40% no ha habido diferencias significativas en ninguna medida excepto en el índice de PVPP. Por lo que, se diferenciarían en que el del 40% tiene más uniones antociano-tanino que conlleva a un color más estable.

El porcentaje que más se ha diferenciado ha sido el del 60%. Ha seguido la misma tendencia, pero en la mayoría parámetros sí que ha habido diferencias significativas con respecto a los anteriores. Esto se puede observar en el índice PVPP (Figura 6), índice de polifenoles totales (Figura 8), taninos (Figura 9) e índice DMACH (Figura 10). Por lo que, se diferenciarían por tener una extracción todavía mayor y taninos más polimerizados.

Siendo conocedor de estos resultados y, dependiendo de las cualidades de la materia prima de la que se dispone, habría que elegir qué porcentaje se adapta mejor a esa situación concreta.

En la Tabla 2 se pueden observar los resultados numéricos de los compuestos polifenólicos.

Tabla 2. Valores medios, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos elaborados con diferente despalillado (0, 20, 40 y 60 representan el porcentaje de raspón presente en la fermentación)

Raspón (%)	0	20	40	60	F-ratio	P-value
Antocianos	412,12 ± 10,6 a	389,30 ± 17,8 b	374,22 ± 18,0 b	382,25 ± 12,2 b	3,78	0,019
IPVPP	104,64 ± 16,6 a	112,75 ± 8,5 a	126,79 ± 9,1 b	145,68 ± 16,5 c	14,9	0
IC	6,40 ± 0,1 a	6,54 ± 0,4 a	6,25 ± 0,2 a	6,58 ± 0,2 a	1,61	0,218
IPT	41,40 ± 3,0 a	44,46 ± 1,7 b	46,70 ± 2,1 b	51,23 ± 2,5 c	26,02	0
Taninos	957,56 ± 114,5 a	1194,32 ± 89,8 b	1281,15 ± 118,3 b	1479,82 ± 251,3 c	15,13	0
IDMACH	36,42 ± 6,1 a	32,08 ± 2,9 ab	31,97 ± 5,2 ab	27,21 ± 5,9 b	4,26	0,013

4.3. Influencia del despalillado sobre el perfil aromático del vino

La contribución aromática de la etapa fermentativa ha sido estudiada desde diversas perspectivas, identificando aquellas variables que más influyen en la producción de aromas,

comparando rendimientos entre distintas cepas en mostos específicos (Regodón et al., 2006) e interacciones de éstas durante la fermentación alcohólica (Fleet, 2003).

En los aromas fermentativos, se distingue entre aromas sintetizados por la levadura, y aromas revelados a partir de precursores no aromáticos por la levadura. Los primeros, son sintetizados a través del metabolismo de la levadura a partir de nutrientes presentes en el mosto y luego liberados en el medio. Los segundos, son liberados por procesos de hidrólisis enzimática por acción de la levadura a partir de precursores presentes en el mosto en forma no-volátil, al estar unidos a moléculas de gran tamaño. Estos últimos dependen principalmente de la variedad de uva utilizada para la elaboración del vino, por lo que también forman parte del aroma varietal (Regodón et al., 2006).

Los resultados del análisis ANOVA de los compuestos aromáticos con el factor presencia de raspón durante la fermentación se muestran en la Tabla 3. Se identificaron un total de 24 compuestos pertenecientes a diferentes familias: aldehídos, ésteres, ácidos, alcoholes y lactonas; con el fin de estudiar el efecto de los diferentes sistemas de elaboración.

Tal y como se observa en la Tabla 3, hay un efecto significativo del despalillado sobre la concentración de la mayoría de los compuestos volátiles analizados en los vinos tintos elaborados.

Diferentes estudios muestran que la contribución al aroma del vino es más bien por familias de odorantes que por compuestos individuales. El efecto de cada componente de una familia de aromas, como por ejemplo las lactonas, es aditivo o sinérgico, por lo que, aunque individualmente su valor de aroma sea inferior a uno, la suma lo supera a veces claramente. Como el aroma de los compuestos de una misma familia normalmente es igual o similar, y diferente al del aroma base, el resultado es que en el vino puede percibirse la nota aromática característica de la familia. Es por ello por lo que, para analizar mejor el efecto del despalillado, se ha realizado también un estudio atendiendo a las diferentes familias de compuestos aromáticos (Cacho, 2012) (Figura 11).

Con respecto a los resultados obtenidos en **aldehídos**, la concentración de benzaldehído (aroma a almendra) en los vinos elaborados depende del porcentaje de raspón presente durante la fermentación (Tabla 3), se observa un aumento significativo de este compuesto en los vinos con mayor proporción de raspón.

Tabla 3. Valores medios, desviación estándar y ANOVA de los compuestos volátiles (mg/L) de los vinos elaborados con diferente despalillado (0, 20, 40 y 60 representan el porcentaje de raspón presente en la fermentación)

Compuestos	0% raspón	20% raspón	40% raspón	60% raspón	F-ratio	P-value
Aldehídos						
<i>Benzaldehído</i>	1,010 ± 0,11 a	1,145 ± 0,22 ab	1,366 ± 0,20 bc	1,212 ± 0,21 c	7,06	0,0006
Ésteres						
<i>Acetato hexilo</i>	0,270 ± 0,08 a	0,360 ± 0,08 b	0,765 ± 0,073 c	0,257 ± 0,02 a	144,35	0,0000
<i>Acetato isobutilo</i>	0,338 ± 0,13	0,327 ± 0,09	0,284 ± 0,09	0,339 ± 0,09	0,73	0,5368
<i>Acetato de metilo</i>	0,710 ± 0,13 b	1,106 ± 0,23 a	0,826 ± 0,22 b	0,818 ± 0,16 b	9,51	0,0001
<i>Butirato etilo</i>	0,363 ± 0,086 b	0,523 ± 0,06 a	0,410 ± 0,09 b	0,548 ± 0,06 a	15,22	0,0000
<i>Decanoato etilo</i>	0,418 ± 0,09 ab	0,502 ± 0,09 bc	0,335 ± 0,10 a	0,518 ± 0,11 c	8,24	0,0002
<i>Dietil glutarato</i>	0,604 ± 0,17 b	0,415 ± 0,11 a	0,399 ± 0,15 a	0,749 ± 0,16 c	14,27	0,0000
<i>2-feniletacetato</i>	0,284 ± 0,14 a	0,605 ± 0,20 c	0,212 ± 0,047 a	0,409 ± 0,08 b	21,02	0,0000
<i>Hexanoato etilo</i>	0,489 ± 0,10	0,578 ± 0,06	0,467 ± 0,29	0,455 ± 0,09	1,40	0,2542
<i>Lactato etilo</i>	107,459 ± 18,44	111,461 ± 19,95	110,839 ± 25,07	122,307 ± 10,30	1,35	0,2702
<i>Octanoato de etilo</i>	0,291 ± 0,13	0,448 ± 0,18	0,427 ± 0,21	0,335 ± 0,09	2,54	0,0688
<i>Succinato dietilo</i>	0,347 ± 0,05 a	0,572 ± 0,20 b	0,422 ± 0,16 ab	0,504 ± 0,26 b	3,38	0,0263
Ácidos						
<i>Ácido butirico</i>	1,157 ± 0,14 a	0,946 ± 0,30 a	1,581 ± 0,90 b	0,950 ± 0,32 a	4,18	0,0110
<i>Ácido isobutirico</i>	2,013 ± 0,51 a	2,672 ± 0,68 bc	2,421 ± 0,90 ab	3,097 ± 0,21 c	6,23	0,0013
<i>Ác. isopentanoico</i>	4,642 ± 0,76	5,279 ± 1,01	5,572 ± 0,99	5,473 ± 1,02	2,32	0,0887
Alcoholes						
<i>Alcohol isoamílico</i>	865,095 ± 134,72	911,118 ± 73,06	980,754 ± 134,50	996,49 ± 149,69	2,15	0,1076
<i>2,3-butanodiol</i>	4,704 ± 1,22 b	4,960 ± 0,98 b	4,528 ± 0,74 b	3,691 ± 0,52 a	4,40	0,0086
<i>1-butanol</i>	2,106 ± 0,33	2,092 ± 0,354	2,091 ± 0,39	2,123 ± 0,18	0,03	0,9944
<i>Cis-3-hexenol</i>	0,468 ± 0,04	0,5131 ± 0,18	0,575 ± 0,15	0,603 ± 0,13	2,43	0,0782
<i>2-feniletanol</i>	366,573 ± 101,83 c	323,811 ± 50,12 bc	261,27 ± 40,85 ab	288,47 ± 67,97 a	5,20	0,0037
<i>1-heptanol</i>	0,429 ± 0,08	0,490 ± 0,17	0,421 ± 0,10	0,467 ± 0,10	0,91	0,4452
<i>1-propanol</i>	12,233 ± 2,65	12,104 ± 2,08	13,613 ± 2,90	13,522 ± 0,76	1,55	0,2154
Lactonas						
<i>γ-butirolactona</i>	16,752 ± 3,61 a	16,367 ± 3,25 a	16,219 ± 3,62 a	12,091 ± 1,62 b	5,86	0,0019

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

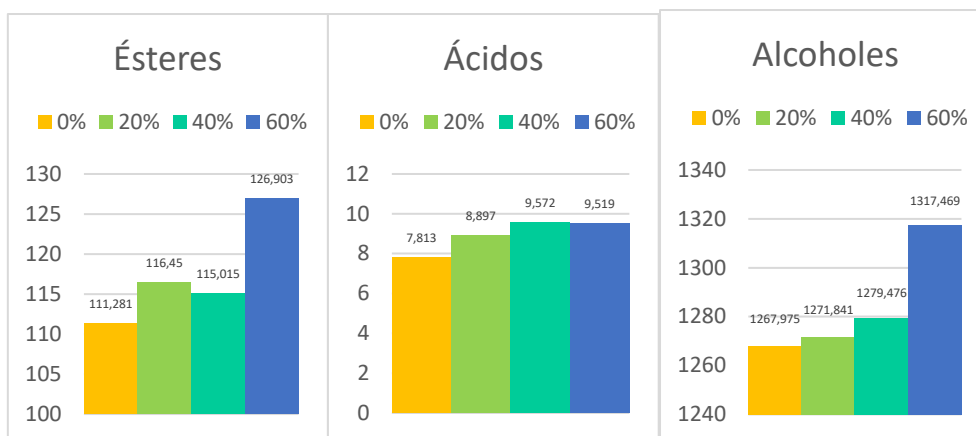


Figura 11: Efecto del despalillado sobre las familias de compuestos aromáticos. 0% (sin raspón), 20% raspón, 40% raspón y 60% raspón. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Asimismo, la presencia de raspón durante la fermentación ha tenido más impacto significativo en los **ésteres** con respecto a otros compuestos volátiles estudiados, como muestra la Tabla 3.

Se observa que la máxima concentración de butirato de etilo, decanoato de etilo y dietil glutarato (aroma afrutado, manzana, piña, fruta tropical) se da en los vinos que fermentaron con un 60% de raspón. Los vinos que fermentaron con un 20% de raspón son los que presentan la mayor concentración de 2-feniletacetato (rosa, miel) y acetato de metilo. Cuando el porcentaje de raspón presente es del 40% los vinos contienen mayor concentración de acetato de hexilo (fruta, pera).

En la Figura 11 se observa que la concentración total de ésteres en los vinos aumenta al incrementar el porcentaje de raspón durante la fermentación, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Suriano et al. (2016). Esto es importante porque la concentración total de ésteres puede ser un indicador del aroma frutal obtenido por una cepa (Ferreira et al., 2004).

En cuanto a los **ácidos**, en la Tabla 3 se observa que la presencia de raspón tiene un efecto significativo en la concentración de los ácidos butírico e isobutírico. La máxima concentración de ácido butírico se da en los vinos fermentados con un 40% de raspón. El ácido isobutírico presenta la máxima concentración en los vinos con 60% de raspón.

Los ácidos totales (Figura 11) fueron más abundantes en los vinos elaborados con 20% 40% y 60% de raspón frente a los vinos con despalillado total, es decir, con 0% de raspón. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Siurano et al. (2016).

Los ácidos grasos son compuestos que se consideran desagradables, pero son importantes a nivel aromático porque son la base de los ésteres afrutados. La influencia aromática de estos

compuestos no ha sido estudiada en extenso, en comparación a los ésteres etílicos, aunque algunos de éstos han sido señalados como compuestos químicos con alto impacto aromático en el vino (Aznar et al., 2001; Komes et al., 2006; Li et al., 2008).

Con respecto a los **alcoholes**, en la Tabla 3 se observa que la presencia de raspón durante la fermentación de los vinos produce un efecto significativo sobre la concentración de 2-feniletanol (rosa) que aumenta en los vinos al disminuir el porcentaje de raspón y sobre el 2,3-butanodiol cuya concentración mayor se da en el vino elaborado con 20% de raspón. Estudios realizados por Suriano et al., 2016 demostraron que con la presencia de raspones se producía un aumento de 2-feniletanol, este resultado no coincide con el de este estudio.

El contenido total de alcoholes (Figura 11) aumenta cuando el porcentaje de raspón durante la fermentación es mayor, confirmando los efectos aportados por otros autores (Spranger et al. 2004), quienes declararon que el tiempo de contacto durante la vinificación puede mejorar la formación de estos compuestos, también pueden deberse a una mejor aireación de los vinos debido a la presencia del raspón (Siurano et al., 2016).

Las concentraciones totales de alcoholes superiores son un indicador del aroma químico característico de esta familia de compuestos, aportan a los vinos caracteres vegetales y herbáceos considerándose desagradables, por lo que causan efectos negativos cuando se encuentran en concentraciones excesivas superando los 400 mg/L, pudiendo enmascarar los aromas aportados por los ésteres; o cuando superan su umbral de percepción (Zhang et al., 2018). En cambio, cuando la concentración total de alcoholes está por debajo de los 300 mg/L, imparten un perfil agradable y contribuyen positivamente al aroma del vino. Esto es debido a que tienen función como precursores en la formación de ésteres, al igual que los ácidos (Luan et al., 2018).

También aportan algunas notas frutales o florares, dependiendo de su concentración y tipo de compuesto. Solamente el 2-feniletanol se considera agradable y se relaciona con el aroma a rosa.

En la familia de las **lactonas** se ha cuantificado la γ -butirolactona cuya concentración es menor al aumentar el porcentaje de raspón durante la fermentación en los vinos elaborados, siendo este efecto significativo. (Tabla 3). Este compuesto es importante ya que proporciona aromas dulces característicos a coco, ciruela y caramelo (Ferreira et al., 2004; Jarauta, 2004).

4.3.2. Análisis de componentes principales

Los resultados obtenidos en los perfiles volátiles de cada fermentación fueron analizados mediante análisis de componentes principales (PCA) para explicar la variabilidad de los datos con el objetivo de buscar relaciones existentes entre algunos compuestos, y la clasificación de los vinos. Este análisis es uno de los métodos pioneros del análisis multivariante. Consiste en una técnica de reducción de la información disponible sobre el conjunto de individuos (en este caso los vinos objeto de estudio) en los cuales se han tomado diversas observaciones. El método condensa la matriz de correlaciones entre las variables en unos “componentes principales” de la variabilidad total. Es decir, permite transformar un conjunto de variables intercorrelacionadas con otro conjunto de variables no correlacionadas, denominadas componentes principales, que son combinación lineal de las variables originales.

El primer componente principal que se extrae en el análisis es el que resume lo mejor posible la información contenida en la matriz de datos original. Es decir, es el que mejor contribuye a explicar la varianza total. El segundo componente es el que resume lo mejor posible la varianza restante, siendo independiente del primero. La secuencia puede continuar extrayendo factores hasta explicar la varianza total.

Por este motivo, para mostrar relaciones más claras entre los compuestos volátiles identificados por cromatografía de gases con los diferentes ensayos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) representado en la Figura 12 y Figura 13, en el que también están incluidos los compuestos polifenólicos.

En el gráfico de scores (Figura 12) la PC1 que es la que mejor explica la varianza total, permite diferenciar los vinos elaborados sin raspón (0%) y con un 20% de raspón, de los elaborados con 40% y 60% de raspón.

El gráfico de Loadings (Figura 13) muestra que los vinos fermentados sin raspón o con solo un 20% de raspón poseen una mayor concentración de acetato de hexilo, succinato de dietilo, octanoato, butirato y hexanoato de etilo, 2 feniletacetato, acetato de metilo, γ -butirolactona, 2 feniletanol y 2-3 butanodiol, y también es mayor el IDMACH.

En cuanto a los vinos fermentados con el 40% y 60% de raspón se observa un aumento en la concentración de dietil glutarato, acetato de isobutilo, lactato de etilo, 1-propanol, 1-butanol, 1-heptanol, cis-3-hexenol, benzaldehído y ácido isopentanoico. También se produce un aumento de antocianos, taninos, IPT, IC e IPVPP.

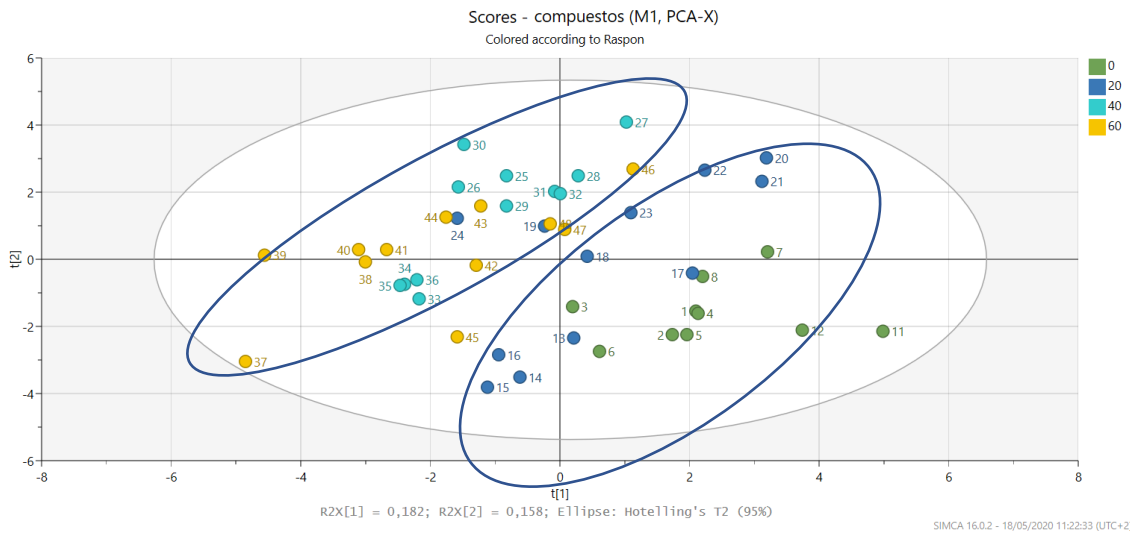


Figura 12: Análisis de Componentes Principales (Componente 1 frente a 2) realizado sobre los compuestos volátiles y polifenólicos identificados. Gráfico de puntuaciones (scores) (0, 20, 40 y 60 representan el porcentaje de raspón presente)

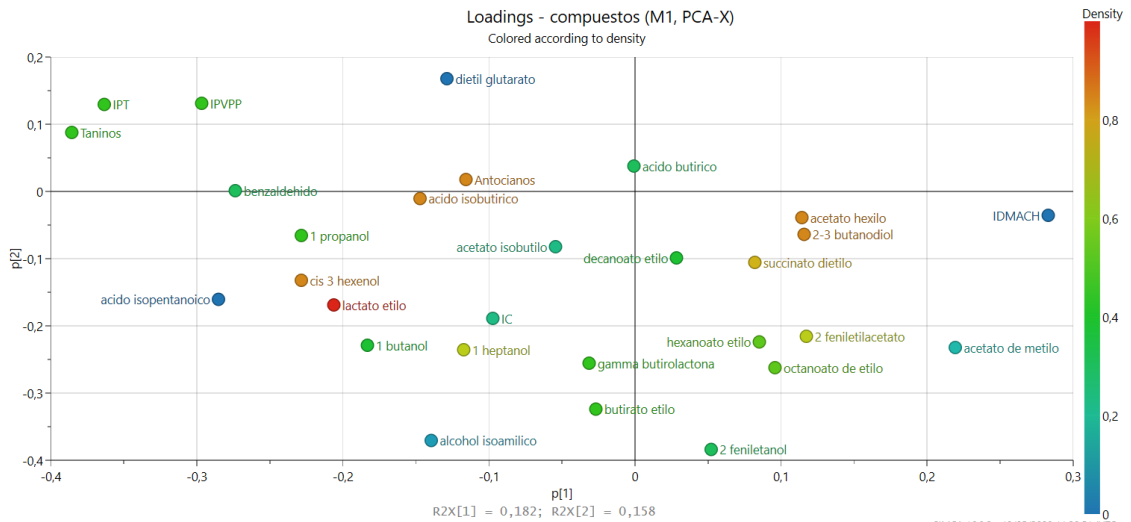


Figura 13: Análisis de Componentes Principales (PCA). Gráfico de cargas sobre los compuestos volátiles y compuestos polifenólicos identificados.

5. Conclusiones

La presencia de raspón durante la fermentación alcohólica tiene un efecto significativo sobre los parámetros convencionales, de forma que al aumentar el porcentaje de raspón aumenta el pH y la acidez total del vino, mientras que disminuye el grado alcohólico y la acidez total.

En cuanto a la composición polifenólica, también se han observado cambios significativos con la adición de raspones. En primer lugar, los raspones estimulan la unión antociano-tanino, lo que supone un descenso en la cantidad de antocianos, pero, sin embargo, son más estables. Por lo que, lo que podría parecer una pérdida de color a priori, es en realidad un color más estable y duradero en el tiempo.

Por otro lado, se produce un aumento en el Índice de Polifenoles Totales (IPT), así como en la cantidad de taninos y su nivel de polimerización. Esto confirma que los raspones son una fuente natural de taninos y polifenoles capaces de enriquecer los vinos. Por lo que sería útil en vinificaciones en las que se persiga una mayor extracción y complejidad en boca. Sin embargo, es muy importante asegurarse previamente de que los polifenoles sean de buena calidad.

Los raspones de los racimos de uva, presentes durante la fermentación alcohólica, afecta al aroma y las características olfativas de los vinos. La concentración total de esteres, alcoholes y ácidos en los vinos aumenta al incrementarse el porcentaje de raspón durante la fermentación (20% 40% y 60%) frente a los vinos con despallado total es decir con 0% de raspón.

El Análisis de Componentes principales (PCA) ha permitido diferenciar los vinos en cuanto a su composición aromática y polifenólica en dos grupos: los elaborados con un 0% y 20% de raspones y los elaborados con 40% y 60% de raspones.

La elección del porcentaje de raspones presentes en fermentación va a depender de las necesidades y de las características que se deseen acentuar de un vino para encontrar el balance sensorial y organoléptico deseado.

Por último, en el presente estudio se ha demostrado que el uso de raspones puede suponer numerosas ventajas a la hora de realizar las vinificaciones en tinto. Sin embargo, no es factible para todo tipo de vinos. Hay que tener en cuenta el estado y maduración de los raspones, así como las características de la uva para saber si en cada caso concreto es interesante la aportación de raspones, ya que hay muchos factores que pueden influir.

6. Bibliografía

- Alba, S. S. V, Gennaro, D. Di, & Tamborra, T. B. M. (2016). Major phenolic and volatile compounds and their influence on sensorial aspects in stem-contact fermentation winemaking of Primitivo red wines. *Journal of Food Science and Technology*, 53(8), 3329–3339
- Aznar, M., López, R., Cacho, J. F., Y Ferreira, V. (2001). Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2924-2929.
- Belancic, A. (2018). *AROMAS VARIETALES : Influencia de ciertas prácticas vitícolas y enológicas*
- Busse, N. (2013). Proantocianidinas de uvas y vinos de las variedades monastrell, Cabernet Sauvignon y Syrah.
- Cacho, J.2012. Conocimientos actuales sobre la hidrólisis de los compuestos glicosídicos del vino 63-65.
- Cedrón, T. (2004). Estudio analítico de compuestos volátiles en vino. Caracterización quimiométrica de distintas denominaciones de origen.
- Englezos, V.; Torchio, F.; Cravero, F.; Marengo, F.; Giacosa, S.; Gerbi, V.; Rantsiou, K.; Rolle, L.; Cocolin, L. (2016). Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Science and Technology*, 73: 567-575
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667
- Ferreira, V., Jarauta, I., Ortega, C., AND Cacho, J. (2004). A simple strategy for the optimization of Solid-Phase-Extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients. Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *J. Chromatogr. A* 1025: 147-156
- Fleet, G. H. (2003). Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1-2), 11-22.
- González, J. E. C., Delgado, M. a R., Bencomo, J. J. R., Valido, H. C., & Trujillo, J. P. P. (1996). *De Las Islas Canarias*. 135–144.

- Hashizume, K., & Samuta, T. (1997). *Green Odorants of Grape Cluster Stem and Their Ability To Cause a. 1333–1337*
- Hidalgo, J. (2018). *Tratado de enología*, Volumen I y II. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Jarauta, I. (2004). Estudio analítico de fenómenos concurrentes en la generación del aroma durante la crianza del vino en barricas de roble con diferentes grados de uso. Nuevos métodos de análisis de importantes aromas y caracterización de su papel sensorial, University of Zaragoza, Zaragoza.
- Komes, D., Ulrich, D., Kovacevic Ganic, K. and Lovric, T. (2006). Study of phenolic and volatile composition of white wines during fermentation and a short time of storage. *Vitis*, 46, 77-84.
- Li, H. (2008). Wine tasting. China Science Press, Beijing, pp 29–106
- Luan, Y.; Zhang, B.Q.; Duan, C.Q.; Yan, G.L. 2018. Effects of different pre-fermentation cold maceration time on aroma compounds of *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentation with *Hanseniaspora opuntiae* or *Pichia kudriavzevii*. *Food Science and Technology*, 92: 177-186.
- Ministerio de Agricultura, A. y M. A. (n.d.). *Anexo ii pliego de condiciones d.o.p. utiel - requena*
- Nakamura, S., Crowell, E. A., Ough, C. S., & Totsuka, A. (1988). Quantitative Analysis of γ -Nonalactone in Wines and Its Threshold Determination. *Journal of Food Science*, 53(4), 1243–1244
- Pascual, O., González-Royo, E., Gil, M., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Canals, J. M., Hermosín-Gutiérrez, I., & Zamora, F. (2016). Influence of Grape Seeds and Stems on Wine Composition and Astringency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(34), 6555–6566
- Regodón, j. A.; Pérez-Nevado, f. Y Ramírez, M. (2006). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine. *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 151-157.
- Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Doneche, B.; Lonvaud, A. (2006). The Microbiology of Wine and Vinifications. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. The chemistry of wine stabilization and treatments. In P. Ribéreau-Gayon (Ed.), Handbook of enology. Eds.; John Wiley and Sons, LTD: Chinchester, UK, 2006; Vol.1 & Vol.2.*

- Soto, O. G. (2018). *Influencia de la vinificación con y sin raspón a nivel analítico y sensorial*.
- Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guernevé, C., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2000). Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1076–1080
- Spranger, M. I., Clímaco, M. C., Sun, B., Eiriz, N., Fortunato, C., Nunes, A., Leandro, M. C., Avelar, M. L., & Belchior, A. P. (2004). Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 151–161
- Sun, B., Spranger, I., Roque-do-Vale, F., Leandro, C., & Belchior, P. (2001). Effect of different winemaking technologies on phenolic composition in Tinta Miúda red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(12), 5809–5816
- Sun, B., & Spranger, M. I. (2005). Changes in phenolic composition of Tinta Miúda red wines after 2 years of ageing in bottle: Effect of winemaking technologies. *European Food Research and Technology*, 221(3–4), 305–312
- Suriano, S., Alba, V., Tarricone, L., & Di Gennaro, D. (2015). Maceration with stems contact fermentation: Effect on proanthocyanidins compounds and color in Primitivo red wines. *Food Chemistry*, 177, 382–389
- Vilela-Moura, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A., & Côrte-Real, M. (2008). Reduction of volatile acidity of wines by selected yeast strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(5), 881–890
- Zhang, B.Q.; Luan, Y.; Duan, C.Q.; Yan, G.L. 2018. Use of *Torulaspota delbrueckii* cofermentation with two *Saccharomyces cerevisiae* strains with different aromatic characteristic to improve the diversity of red wine aroma profile. *Frontiers in Microbiology*, 9